

**PEMBERIAN ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia* sp) YANG DIBERIKAN MELALUI PAKAN TERHADAP HEMATOKRIT, TOTAL ERITROSIT DAN LEUKOSIT IKAN KERAPU MACAN(*Epinephelus fuscoguttatus*)**

**SKRIPSI  
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH:  
MEY RIA SAMAWATI  
0310858001**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERIKANAN**

**MALANG**

**2007**



**PEMBERIAN ALKALOID UBUR-UBUR (*Bougainvillia sp*) YANG DIBERIKAN MELALUI PAKAN TERHADAP HEMATOKRIT, TOTAL ERITROSIT DAN LEUKOSIT IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

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

**OLEH :**  
**MEY RIA SAMAWATI**  
**0310858001**

**DOSEN PENGUJI I**

**Dr. Ir. MAFTUCH, MS.**

**Tanggal :**

**DOSEN PEGUJI II**

**Ir. ELLANA SANOESI**

**Tanggal :**

**MENYETUJUI,**

**DOSEN PEMBIMBING I**

**Ir. SRI ANDAYANI, MS.**

**Tanggal :**

**DOSEN PEMBIMBING II**

**Ir. MOHAMMAD FADJAR, MSc.**

**Tanggal :**

**MENGETAHUI,**

**KETUA JURUSAN MSP**

**Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS**

**Tanggal :**

## KATA PENGANTAR

Segala puji hanya kepada Allah SWT karena atas karunia-Nya penulis sampai saat ini masih berada dalam nikmat Islam. Sholawat dan salam semoga selalu tercurah kepada junjungan kita Rasulullah SAW, keluarga, para sahabat dan para pengikutnya hingga akhir jaman.

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada ayah dan ibu tercinta atas doa restu dan dorongannya selama ini sehingga penulis dapat menjalani studi dengan lancar, juga terima kasih kepada saudara-saudaraku atas bantuannya selama penulis menjalankan studi di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.

Atas terselesainya laporan skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

- Ibu Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing I dan Bapak Ir. M. Fadjar, MSc selaku pembimbing II atas segala ilmu, arahan dan bimbingannya mulai penyusunan proposal hingga terselesaikannya laporan skripsi ini
- Bapak Dr. Ir. Maftuch, MS selaku penguji I dan ibu Ir. Ellana Sanoesi selaku penguji II atas semua ilmu dan arahnya.
- Bapak Ir. Slamet Subyakto, MSi. selaku Kepala Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo beserta staf yang telah memberikan fasilitas selama penelitian

Akhirnya penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi kepada semua pihak yang memerlukannya.

Malang, Juli 2007

Penulis



## RINGKASAN

**MEY RIA SAMAWATI.** Pemberian Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.) yang Diberikan Melalui Pakan terhadap Hematokrit, Total eritrosit dan Leukosit Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Dibawah bimbingan **Ir. SRI ANDAYANI, MS** dan **Ir. MOHAMMAD FADJAR, MSc.**

---

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hama Penyakit dan Lingkungan, Balai Budidaya Air Payau (BPAP) Situbondo, pada bulan Desember 2006 – Maret 2007. Tujuan diadakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. sebagai imunostimulan dengan dosis yang berbeda terhadap hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yaitu mengadakan serangkaian kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil. Sedangkan analisa data dilakukan dengan menggunakan analisa keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan, 1 kontrol dan 2 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perbedaan dosis alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. sebagai imunostimulan, yaitu dosis 0,5 gr/kg pakan, 0,75 gr/kg pakan, 1 gr/kg pakan, dan 1,25 gr/kg pakan. Hewan uji yang digunakan adalah ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang berukuran 7–8 cm dengan umur 90 hari (D 90). Ikan dipelihara dalam bak berisi air dengan volume 30 liter sebanyak 10 buah (4 perlakuan dengan 2 kali ulangan dan 2 kontrol), dengan kepadatan 10 ekor setiap bak. Penyesuaian atau adaptasi ikan terhadap pakan pelet dilakukan selama 2 minggu.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh sangat nyata terhadap hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan. Nilai hematokrit mengalami penurunan setelah terjadi infeksi bakteri *V. harveyi*. Adanya pemberian alkaloid dapat menjaga agar jumlah eritrosit tidak mengalami penurunan

yang drastis setelah terjadi infeksi bakteri *V. harveyi*. Dari hasil uji hematologis pada hari ke-34, didapatkan nilai hematokrit terendah terdapat pada perlakuan K sebesar 16,4% dan perlakuan tertinggi didapat pada perlakuan C yaitu 31,4 %. Jumlah eritrosit juga mengalami penurunan setelah terjadi infeksi. Pada perlakuan K pada hari ke-34 didapat jumlah eritrosit 1.430.000 sel/ml dan pada perlakuan C didapat jumlah eritrosit 2.640.000 sel/ml.

Dari analisa keragaman menunjukkan bahwa pemberian bahan aktif alkaloid dengan dosis 1gr/kg pakan memberikan peningkatan jumlah leukosit. Jumlah leukosit pada hari ke-28 adalah 72.100 sel/ml; hari ke-30 adalah 85.600 sel/ml; hari ke-32 adalah 97.800 sel/ml; dan hari ke-34 adalah 111.200 sel/ml.

Nilai kisaran kualitas air media pemeliharaan masih berada dalam kisaran normal untuk kehidupan ikan kerapu macan yaitu : suhu 25,4-29,3; DO 4-6,9 ppm; pH 7-8,1 dan amoniak 0,08-0,1925 ppm.

Dari hasil penelitian disarankan penggunaan immunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. pada dosis 1gr/Kg pakan merupakan dosis optimal untuk meningkatkan jumlah leukosit ikan kerapu macan.

## 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 GAMBAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>x</b>
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	3
1.2 Perumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Kegunaan Penelitian .....	4
1.5 Hipotesis .....	5
1.6 Tempat dan Waktu .....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Ikan Kerapu ( <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi Ikan Kerapu .....	6
2.1.2 Morfologi Ikan Kerapu .....	6
2.1.3 Penyebaran dan Habitat .....	8
2.1.4. Kebiasaan Makan.....	8
2.2 <i>Vibrio harveyi</i> .....	9
2.2.1 Klasifikasi .....	9
2.2.2 Biologi.....	10
2.3 <i>Bougainvillia sp</i> .....	13
2.3.1 Klasifikasi .....	13
2.3.2 Biologi.....	13
2.4 Senyawa Alkaloid .....	16
2.5 Immunostimulan .....	18
2.6 Hematologi Ikan.....	20
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....</b>	<b>28</b>
3.1 Materi Penelitian .....	28
3.1.1 Ikan Uji .....	28
3.1.2 Media penelitian.....	28
3.1.2 Pakan Uji.....	28
3.1.3 Bahan penelitian.....	29
3.1.4 Alat penelitian .....	29



3.2 Metode dan Rancangan Penelitian.....	30
3.2.1 Metode Penelitian .....	30
3.2.2 Rancangan Penelitian.....	30
3.3 Prosedur Penelitian .....	32
3.3.1. Persiapan Tempat.....	32
3.3.2. Persiapan Ikan Uji.....	32
3.3.3. Penyesuaian Pakan.....	33
3.3.4. Perlakuan Pemeliharaan.....	33
3.3.5. Sterilisasi Alat dan Bahan.....	34
3.3.6. Pembuatan Media TCBSA.....	34
3.3.7. Pembuatan Biakan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> Untuk Penginfeksian.....	35
3.3.8. Sanitasi Air dan Alat-alat Untuk Penelitian.....	36
3.3.9. Proses Penginfeksian .....	37
3.3.10. Teknik pengambilan contoh darah.....	37
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>41</b>
4.1. Jumlah Total Hematokrit .....	41
4.2. Jumlah Total eritrosit .....	44
4.3. Jumlah Total Leukosit.....	48
4.4. Reaksi Immunostimulan terhadap Hematokrit, Total eritrosit dan Leukosit.....	53
4.5. Perubahan Patologis Ikan Uji.....	54
4.6. Kualitas Air.....	55
4.6.1. Suhu .....	56
4.6.2. Oksigen Terlarut (DO).....	56
4.6.3. pH (Derajat Keasaman).....	56
4.6.4. Amonia.....	57
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>58</b>
5.1 Kesimpulan .....	58
5.2 Saran .....	58
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>59</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>64</b>

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Permintaan dan kebutuhan ikan dunia terus meningkat dari tahun ke tahun, sebagai akibat pertambahan penduduk dan perubahan konsumsi masyarakat ke arah protein hewani yang lebih sehat. Sementara itu pasokan ikan dari hasil penangkapan cenderung semakin berkurang, dengan adanya kecenderungan semakin meningkatnya gejala kelebihan tangkap dan menurunnya kualitas lingkungan, terutama wilayah perairan tempat ikan memijah, mengasuh dan membesarkan anak. Di Indonesia gejala overfishing terjadi pada hampir seluruh perairan Barat Indonesia, kecuali bagian barat Sumatera dan selatan Jawa (Anonymous, 2003).

Guna mengatasi keadaan ini, maka pengembangan budidaya laut merupakan alternatif yang cukup memberikan harapan. Hal ini didukung oleh potensi alam Indonesia yang memiliki 81.000 km garis pantai dan penduduk yang telah terbiasa dengan budaya pantai dengan segala pernik-perniknya. Kegiatan budidaya laut dan pantai berpeluang besar menjadi tumpuan bagi sumber pangan hewani di masa depan, karena peluang produksi perikanan tangkap yang terus menurun. Ikan kerapu merupakan salah satu jenis ikan yang terus dikembangkan produksinya karena mempunyai nilai ekspor cukup tinggi, terbukti pernah mencapai angka peningkatan ekspor sebesar 300 % pada tahun 1987, yaitu dari 19 ton menjadi 57 ton pada tahun 1988 (Deptan dalam Anonimous, 1998). Salah satu jenis ikan kerapu yang terus dikembangkan usaha pembudidayaannya adalah ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Terhitung sampai akhir tahun 2002, sekitar 2 juta benih ikan kerapu macan telah dihasilkan di Bali



(sekitar Gondol), Lampung dan Jawa Timur (Situbondo) (Dinas Perikanan dan Kelautan, 2003).

Kegagalan terbesar yang selalu dihadapi pada kegiatan budidaya ikan kerapu adalah terjadinya serangan bakteri patogen. Hal ini menimbulkan penurunan kualitas pada produksi usaha pembenihan ikan kerapu, bahkan kematian dan kegagalan panen. Rukyani (1993), melaporkan bahwa akibat adanya serangan penyakit, hanya sekitar 40% dari seluruh areal pertambakan di Indonesia yang masih beroperasi sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar sekurang-kurangnya 300 milyar rupiah telah hilang per tahunnya dari seluruh areal pertambakan di Indonesia.

Mikroorganisme virus, bakteri atau parasit merupakan penyebab penyakit yang sering ditemukan dalam pembenihan atau budidaya ikan. Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Nuchsin dan Ariani (2004) diperoleh hasil patogen yang berhasil diisolasi adalah *Vibrio* laut dan bakteri patogen *Vibrio harveyi* dari kolam budidaya ikan kerapu di Balai Besar Riset Perikanan Laut, Dinas Kelautan dan Perikanan, Gondol, Bali. Menurut Saeed (1995), dalam budidaya kerapu bakteri *V. harveyi* menyebabkan terjadinya peradangan kulit pada ikan kerapu sehingga ikan tersebut menjadi lemah dan akhirnya mati.

Berbagai upaya pengobatan dan preventif yang berbasis ilmu pengetahuan dan teknologi maju telah dilakukan untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh *V. harveyi* pada ikan kerapu. 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. Salah satu upaya preventif terhadap penyakit adalah dengan cara menerapkan prinsip

*immunoprolifaksis* yaitu suatu pencegahan penyakit yang dilakukan untuk meningkatkan kekebalan tubuh terhadap berbagai penyakit. Peningkatan kekebalan tubuh tersebut dapat dilakukan dengan pemberian immunostimulan atau vaksinasi. Immunostimulan merupakan sekelompok senyawa biologi dan sintesis yang dapat meningkatkan respon imun non-spesifik.

Dengan adanya penemuan di bidang farmakologi kelautan saat ini, maka perlakuan immunostimulan pada ikan dapat juga memanfaatkan senyawa aktif biota laut tertentu seperti binatang laut dari golongan coelenterata, yakni ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang mempunyai kandungan senyawa aktif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Afriandini (2004), dalam ekstrak kloroform ubur-ubur mengandung senyawa alkaloid dan fenolik. Karena kandungan-kandungan kimia yang dimiliki ubur-ubur secara alami ini maka ubur-ubur dari jenis *Bougainvillia* sp. memiliki kemampuan sebagai bakterisida. Hasil penelitian Fadjar, Andayani, Arfiati dan Prajitno (2003) bahan ekstrak cair ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) menghasilkan zona hambatan rata-rata pada bakteri *V. harveyi* 7 - 8,8 mm. Untuk itu penelitian ini berupaya untuk melihat pengaruh penggunaan immunostimulan yang dicampurkan pada pakan bentuk pellet dengan dosis berbeda melalui pemeriksaan darah ikan kerapu macan, yang meliputi : hematokrit, total eritrosit dan leukosit.

## 1.2. Perumusan Masalah

Sehubungan dengan kemampuan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) sebagai bakteriosida, untuk menekan pertumbuhan dan menghambat infeksi bakteri *V. harveyi*, maka perlu dilakukan suatu kajian lebih lanjut tentang :

- Apakah dengan pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) melalui pakan dapat meningkatkan sistem ketahanan tubuh (imun) ikan dari serangan bakteri khususnya bakteri *V. harveyi*?
- Apakah dengan pemberian bahan alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) terhadap ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dapat berpengaruh terhadap hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)?

### 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan diadakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian immunostimulan dari bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dengan dosis yang berbeda yang diberikan melalui pakan terhadap hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) setelah uji tantang dengan bakteri *Vibrio harveyi*.

### 1.4. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi untuk beberapa pihak, diantaranya :

- Dapat dijadikan sebagai tambahan ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian bahan aktif alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui pakan dengan mengetahui perubahan hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*.



- Sebagai pedoman lanjutan untuk penentuan pemberian dosis immunostimulan alkaloid ubur-ubur melalui pakan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forskal) mulai dari stadia larva sampai dengan juvenil.

### 1.5. Hipotesis

H0 : Diduga bahwa pemberian bahan aktif alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dengan dosis yang berbeda dalam pakan tidak memberikan pengaruh terhadap perubahan hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*.

H1 : Diduga bahwa pemberian bahan aktif alkaloid dari ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) dengan dosis yang berbeda dalam pakan memberikan pengaruh terhadap perubahan hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan yang diinfeksi bakteri *V. harveyi*.

### 1.6. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Balai Budidaya Air Payau Situbondo, Situbondo pada bulan Desember 2006 - Maret 2007.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Klasifikasi dan Biologi Ikan Kerapu Macan

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Kerapu Macan

Sistematika kerapu macan atau kerapu *tiger* menurut Randall (1987) adalah sebagai berikut :

Fillum	: Chordata.
Sub Fillum	: Vertebrata.
Klas	: Osteichtyes
Sub Klas	: Actinopterigi
Ordo	: Percomorphi
Sub Ordo	: Perciodea
Famili	: Serranidae
Genus	: <i>Epinephelus</i>
Species	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i>

#### 2.1.2 Biologi

##### a. Morfologi

Ikan kerapu tergolong dalam famili *Serranidae*, tubuhnya tertutup oleh sisik-sisik kecil. Kebanyakan hidup di perairan terumbu karang dan sekitarnya, ada pula yang hidup disekitar muara sungai namun kerapu tidak senang pada laut dengan salinitas rendah. Menurut Gufron dan Kordi (2001), Kerapu macan termasuk dalam genus *Epinephelus*. Bentuk tubuhnya mirip dengan kerapu lumpur, tetapi dengan badan agak lebar. Kerapu yang dimasyarakat internasional dikenal dengan sebutan flower atau

carpet cod ini berbintik-bintik gelap dan rapat, dengan sirip yang berwarna coklat hingga coklat kemerahan.

Menurut Weber dan Beaufort (1931), mendeskripsikan ikan kerapu macan yaitu mempunyai bentuk badan yang memanjang gepeng (*compressed*) atau agak membulat, mulut lebar serong keatas dengan bibir bawah menonjol keatas. Rahang bawah dan atas dilengkapi gigi-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 12-17 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 ekornya. Badan ditutupi oleh sirip kecil, mengkilat dan memiliki ciri-ciri loreng. Kerapu macan memiliki sifat hermaphrodit protogyni (*protogynous hermaphrodite*) yang berarti setelah mencapai ukuran tertentu akan berganti kelamin (*change sex*) dari betina dewasa menjadi jantan (Ghufron dan Kordi, 2001). Gambar ikan kerapu macan ditunjukkan pada Gambar 1 (Anonymous, 2006).



Gambar 1. Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fucoguttatus*)



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

Daerah penyebaran kerapu macan dimulai dari Afrika Timur, Kepulauan Ryukyu (Jepang Selatan), Australia, Taiwan, Mikronesia dan Polinesia. Menurut Weber *et al*, (1931), di Indonesia ikan kerapu banyak ditemukan di perairan Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Buru dan Ambon. Salah satu indikator adanya kerapu adalah perairan karang, Indonesia memiliki perairan karang yang cukup luas sehingga potensi sumberdaya ikan kerapunya sangat besar (Tampubolon dan Mulyadi, 1989).

Menurut Kordi (2001) Ikan kerapu biasanya hidup pada daerah berkarang, daerah berlumpur, daerah berpasir, ataupun daerah yang dasar perairannya merupakan campuran antara patahan karang dan pasir. Menurut Tampubolon dan Mulyadi (1989), dalam siklus hidupnya ikan kerapu macan muda hidup diperairan karang pantai dengan kedalaman 0,5- 3 m, selanjutnya menginjak masa dewasa beruaya ke perairan yang lebih dalam antara 7-40 m, biasanya perpindahan ini berlangsung pada siang dan senja hari. Telur dan larva bersifat pelagis sedangkan kerapu muda hingga dewasa bersifat demersal. Habitat favorit larva dan kerapu macan muda adalah perairan pantai dekat muara sungai dasar pasir berkarang yang banyak ditumbuhi padang lamun. Parameter-parameter ekologis yang cocok untuk pertumbuhan ikan kerapu macan yaitu temperatur antara 24-31<sup>0</sup>C, salinitas antara 30-33 ppt, kandungan oksigen terlarut lebih besar dari 3,5 ppm dan pH antara 7,8- 8,0, perairan dengan kondisi tersebut diatas pada umumnya berada di perairan terumbu karang.

### **c. Kebiasaan Makan**

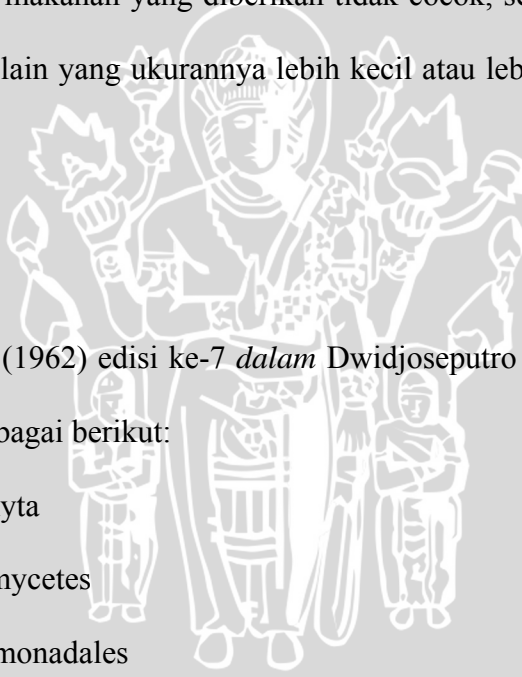
Ikan kerapu macan termasuk ikan karnivora atau pemakan daging. Menurut Nybakken (1988) sebagai ikan karnivora, kerapu cenderung menangkap mangsa yang

aktif bergerak di dalam air. Kerapu mempunyai kebiasaan makan pada siang dan malam hari dan lebih aktif pada waktu fajar dan senja hari (Tampubolon *et al*, 1989). Kerapu biasa mencari makan dengan menyergap mangsa dari tempat persembunyiannya. Ikan kerapu lumpur dan kerapu macan mempunyai kemampuan menangkap mangsa lebih cepat daripada kerapu sunu. Berdasarkan perilaku makannya, ikan kerapu menempati struktur tropik teratas dalam piramida rantai makanan. Ikan kerapu sebagai ikan karnivora mempunyai sifat buruk yaitu kanibalisme. Sifat kanibalisme muncul pada larva berumur 30 hari, penyebab munculnya kanibalisme adalah pasokan makanan kurang cukup atau jenis makanan yang diberikan tidak cocok, sehingga memaksa larva kerapu memangsa larva lain yang ukurannya lebih kecil atau lebih lemah (Anonymous, 2004).

## 2.2 *Vibrio harveyi*

### 2.2.1 Klasifikasi

Menurut Bergey (1962) edisi ke-7 dalam Dwidjoseputro (1998), klasifikasi dari *Vibrio 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. Menurut Kordi (2004), bakteri *Vibrio sp.* tergolong dalam famili Vibrionaceae, yang mempunyai tubuh berbentuk batang dan mempunyai kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel.

Bakteri *Vibrio* 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  $\mu$ m dan panjang 1,4-2,6  $\mu$ m mempunyai flagel dengan jumlah satu atau banyak pada salah satu sisi dinding membran sel (Bergey's, 2000). Gambar bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Lampiran 1.

### b). Metabolisme dan Pertumbuhan

*Vibrio sp.* bersifat anaerobik fakultatif, dimana metabolisme dapat dilakukan dengan oksigen ataupun tanpa oksigen (fermentasi), selain itu bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada media mineral yang mengandung ammonium, karbon sederhana dengan glutamat (Holt, 1979). Bakteri ini memiliki enzim katalase, motilitas positif dan mampu menghasilkan enzim oksidase yang bersifat fermentatif (Rukyani, Taufik, dan Taukhid, 1992).

Faktor yang sangat mempengaruhi aktifitas dan pertumbuhan bakteri tersebut adalah faktor abiotik. Faktor ini meliputi faktor fisik seperti: *temperatur*, osmose, cahaya



dan radiasi, juga faktor kimia yang mencakup pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia (Holt, 1979).

Pada umumnya bakteri *Vibrio* spp. tumbuh secara optimal pada suhu 30 °C, salinitas optimum antara 20-30 ppt dan pH optimum berkisar antara 7,5-8,5. Bakteri *Vibrio* sp. termasuk bakteri kemoorganotropis dapat tumbuh dalam medium mineral yang mengandung D-glukosa dan NH<sub>4</sub>Cl (Bauman, Furnis dan Lee, 1984). Dikatakan Dwidjoseputro (1998), bahwa *Vibrio* sp. termasuk kemoorganotropik, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen organik sebagai sumber karbon dan energi. Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri. Bakteri *Vibrio* sp. adalah jenis bakteri halofil yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi (Panjaitan, 1991). Selanjutnya dikatakan bahwa jenis bakteri *V. harveyi* menghasilkan suatu produk biologi yang mempunyai berat molekul relatif tinggi, produk tersebut stabil (sulit terurai) dan bersifat racun.

### **c). Habitat dan daerah penyebarannya**

*Vibrio* sp. ditemukan di habitat akuatik 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, 1998).

#### d). Tingkat Patogenitas

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. Kamiso (1996), menemukan bahwa 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 kembang berisi cairan kuning muda, pendarahan (*hemorhagik*) pada insang, mulut, tubuh, usus, dan organ dalam. Kamiso (1996) 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 (ulser). 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 : Bougainvillia

Species : *Bougainvillia sp*

### 2.3.2 Biologi

#### a. Morfologi

Bentuk ubur-ubur hampir seperti lonceng atau payung dimana bagian atas disebut *ex-umbrella* dan bagian bawah disebut *sub-umbrella*, 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.

Menurut 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* terjadi dari suatu cel interstisiil, pada ujung yang terdapat pada permukaan tubuh, *cnidoblast* mempunyai lanjutan dari protoplasma ialah *cnidocil*. Di dalam *cnidoblast* terdapat suatu *nematocyst*. Nematocyst ialah suatu gelembung dengan dinding yang kuat dan mengandung zat cair yang dapat menyebabkan iritasi. Ada empat macam nematocyst 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.

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

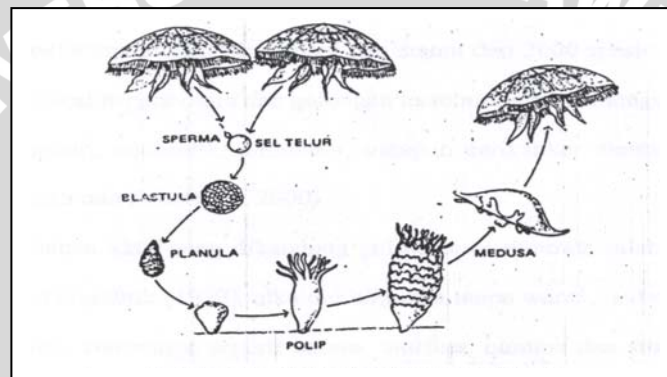
Ubur-ubur merupakan coelenterata yang hidup di laut. Hidup soliter atau berkelompok, berenang bebas dengan bantuan kontraksi payungnya yang bekerja seperti pompa, beraturan dan berirama. Beberapa jenis juga bergantung pada ombak, bila keadaan ombak cukup besar mereka cenderung bergerak ke pantai. Sebagian besar hidup di perairan laut dekat pantai atau teluk yang kaya akan bahan organik dan organisme invertebrata kecil lainnya sebagai makanan, hidup pada kecerahan antara 50-30 cm (Manuputty, 1988 dalam Ratnawati, 2003). Secara garis besar ubur-ubur tersebar luas di semua perairan laut. Di Jawa Timur ubur-ubur tersebar di perairan pantai Probolinggo, Nambangan, Surabaya, Sidorukun Gresik dan daerah-daerah berpantai lainnya

Makanan hydrozoa adalah invertebrata kecil dan partikel-partikel yang terdapat di dalam air laut yang kaya bahan organik. Sebelum dimakan, mangsa dilumpuhkan terlebih dahulu dengan *nematocyst*-nya (Wijarni dan Afriati, 1984).

### **c. Reproduksi**

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. Secara jelas daur hidup ubur-ubur dapat dilihat pada Gambar 2 (Barnes, 1974).



Gambar 2. Daur Hidup Ubur-Ubur

#### 2.4. Bahan Aktif Alkaloid dari Ubur-Ubur *Bougainvillia sp.*

Salah satu ciri yang menonjol dari ubur-ubur adalah *nematocyst* yang menghasilkan racun dan terdapat di tangan tentakelnya. Apabila seseorang bersentuhan dengan ubur-ubur (jelly fish) maka akan terasa sengatan yang pedih pada kulit. Racun ini dapat mengakibatkan iritasi pada kulit luka. Fungsi *nematocyst* adalah untuk melumpuhkan musuh atau mangsa sebelum dimasukkan ke dalam mulut.

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 coelenterata salah satunya adalah alkaloid. Menurut Robinson (1995), alkaloid biasanya tanpa warna, berbentuk kristal, zat organik yang pahit 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 (1997), seperti dibawah :

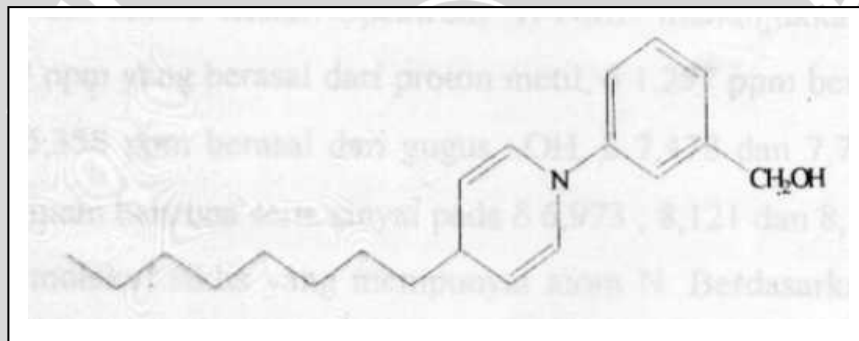


Beberapa pendapat mengenai kemungkinan peran alkaloid ialah sebagai berikut (Robinson, 1995).

- Salah satu pendapat yang dikemukakan pertama kali, sekarang tidak dianut lagi, ialah bahwa alkaloid berfungsi sebagai hasil buangan nitrogen seperti urea dan asam urat dalam hewan.
- Beberapa alkaloid mungkin bertindak sebagai tandon penyimpanan nitrogen meskipun banyak alkaloid ditimbun dan tidak mengalami metabolisme lebih lanjut meskipun sangat kekurangan nitrogen.

- Pada beberapa kasus, alkaloid dapat melindungi tumbuhan dari serangan parasit atau pemangsa tumbuhan.
- Alkaloid dapat berlaku sebagai pengatur tumbuh karena, dari segi struktur, beberapa alkaloid menyerupai pengatur tumbuh.
- Alkaloid sebagian besar bersifat basa, dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Afriandhini (2004), kemungkinan struktur senyawa alkaloid dalam ekstrak kloroform ubur-ubur *Bougainvillia* sp. ditunjukkan pada Gambar 3 sebagai berikut.



***1-benzilalkohol, 4-oktil piperidin***

Gambar 3. Struktur alkaloid pada ubur-ubur *Bougainvillia* sp.

## 2.5 Immunostimulan

Jawetz, Melnick dan Adelberg (1982), menyatakan bahwa immunostimulan merupakan senyawa biologis, sintesis atau bahan lainnya yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh non spesifik. Keistimewaan immunostimulan dibandingkan vaksinasi adalah sifatnya yang tidak spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan dan udang terhadap berbagai penyakit.

Beberapa polisakarida mempunyai kemampuan untuk mengaktifkan sistem pertahanan tubuh non-spesifik. Selain polisakarida, juga terdapat berbagai

immunostimulan pada ikan yaitu glukon, laktoferin, levamisol, kitin (Sakai, 1998), dinding sel bakteri (LPS), vitamin C dosis tinggi, HUFA'S, karetenoid, fukoli dan peptidoglikan. Secara umum dijelaskan oleh Almendras (2001) *dalam* Yoshida (2005), ada 10 kelompok immunostimulan yaitu:

- ◆ Produk bakteri
- ◆ Jamur
- ◆ Yeast
- ◆ Ikatan partikel terlarut dengan  $\beta$ -glukan, glikan-polisakarida
- ◆ Kitin dan kitosan
- ◆ Peptida
- ◆ Ekstrak tumbuhan dan hewan
- ◆ Bahan sintesis
- ◆ Sitokinin

Sistem kekebalan tubuh terdiri atas kekebalan non spesifik dan kekebalan spesifik. Sistem kekebalan non spesifik merupakan sistem pertahanan tubuh garis depan. Sistem ini disebut juga innate immunity meliputi barrier-barrier seperti kulit, mukosa, asam lambung, dan enzim, yang lain adalah protein, komplemen, sel-sel fagositik seperti neutrofil, monosit, makrofag jaringan dan sel *natural killer* (NK). Sistem kekebalan non spesifik tidak mempunyai memori. Sistem kekebalan spesifik (adaptive Immunity) terdiri atas sel-sel limfosit B dan limfosit T (Adiyono, 2005). Sel-sel sistem imun tersebar di seluruh tubuh dan ditemukan di dalam sumsum tulang, timus, darah, kelenjar getah bening, limpa, saluran nafas, saluran cerna, saluran urin dan jaringan.



Dalam perkembangannya kekebalan spesifik terbagi dua yaitu kekebalan humoral dan kekebalan seluler. Kekebalan humoral adalah kekebalan yang didapat karena tubuh membentuk antibodi yang mampu menyerang penginvansi, sedangkan kekebalan seluler adalah kekebalan yang dicapai melalui pembentukan limfosit dalam jumlah besar yang secara khusus peka terhadap penyerbu (Fujaya, 2004). Menurut Guyton dan Hall (1997), kekebalan humoral ditandai dengan terbentuknya antibodi yang merupakan molekul globulin. Antibodi mempunyai dua fungsi, pertama untuk mengikatkan diri pada sel-sel musuh, yaitu antigen. Fungsi kedua adalah untuk membusukkan stuktur biologi antigen dan menghancurkannya.

Menurut Arifin (1995) dalam Kordi (2001) jenis antibodi protektif yang dimiliki ikan mengandung immunoglobulin tipe M (IgM) dan antibodi ini dijumpai dengan baik dalam serum darah induk ikan maupun telurnya, serta juga mengandung immunoglobulin tipe G (IgG) yang terdapat pada serum darah dan merupakan kekebalan bawaan (material immunity) yang didapat melalui kuning telur dan embrio ikan.

Pertahanan ikan pertama kali melawan patogen dihambat dengan respon nonspesifik (mucus, epidermis, dan dermis) dan inflamasi. Pada pertahanan nonspesifik dan inflamasi peran fagosit sudah dijalankan oleh sel-sel fagosit, hal ini dapat dibuktikan bahwa dimukosa insang banyak ditemukan makrofag. Apabila patogen berkolonisasi dan invasi kedalam jaringan maka respon ikan dilanjutkan kerespon pertahanan spesifik dengan memproduksi antibodi (Anderson, 1974 ; Roit, 1994 dalam Maftuch, 2005).

## 2.6. Hematologi

Hematologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari komponen sel darah serta kelainan fungsional dari sel tersebut. Selain itu juga mempelajari volume darah,

sifat aliran darah, dan hubungan fisik antara sel-sel darah dan plasma (Johnny, Zafran, Des Roza dan Ketut Mahardika, 2003).

Darah terdiri dari dua kelompok besar yaitu sel dan plasma. Darah dianggap sebagai jaringan khusus yang menjalani sirkulasi, terdiri atas berbagai macam sel yang terkandung dalam cairan yang disebut plasma. Sel terdiri atas sel-sel diskret yang memiliki bentuk khusus dan fungsi yang berbeda, sedangkan komponen dari plasma selain fibrinogen, juga terdapat ion-ion inorganik dan aneka komponen organik untuk fungsi metabolik (Fujaya, 2004).

Berdasarkan warnanya sel darah dibagi menjadi sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit). Darah mengandung sel-sel yang dirancang untuk mencegah infeksi, menghentikan pendarahan, dan mengangkut hormon. Darah juga memungkinkan tubuh untuk menyembuhkan dirinya serta melakukan komunikasi antara bagian-bagian tubuh (Corwin, 2001). Sel darah mempunyai peranan sangat penting dalam sistem kekebalan, terutama leukosit atau sel darah putih. Jenis-jenis leukosit mempunyai beberapa fungsi dalam melawan benda asing yang berhasil masuk ke dalam tubuh. Fungsi darah dalam sirkulasi adalah sebagai media transportasi bahan dan sisa metabolisme, pengatur suhu dan pemelihara keseimbangan cairan, asam dan basa (Anderson, 1974). Secara rinci fungsi darah menurut Johnny *et al*, (2003) adalah :

- Membawa zat makanan yang telah disiapkan oleh saluran pencernaan menuju ke jaringan tubuh.
- Membawa oksigen ke jaringan.
- Membawa karbondioksida dari jaringan.
- Membawa produk buangan dari berbagai jaringan untuk diekresikan.

- Membawa hormon dari kelenjar endokrin ke organ lain.
- Mengendalikan suhu dalam tubuh.
- Mempertahankan keseimbangan air.
- Berperan dalam *sistem buffer* yaitu untuk membantu mempertahankan pH.
- Penggumpalan atau pembekuan darah sehingga dapat mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan pada waktu luka.
- Mengandung berbagai faktor penting untuk mempertahankan tubuh dari serangan penyakit.

Pemeriksaan darah utamanya pada patologis tertentu sangat diperlukan. Hasilnya bisa digunakan sebagai pelengkap diagnosis. Pemeriksaan sel-sel darah biasanya dilakukan melalui preparat ulas dan secara diagnostik perhitungan sel darah sangat berarti (Nabib dan Pasaribu, 1989).

#### **a. Hematokrit**

Hematokrit adalah presentase bagian volume sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya (Bijanti, 2005). Hematokrit juga disebut sebagai Packed Cell Volume. Nilai hematokrit ini adalah volume sel-sel darah yang didapat setelah sentrifugasi dan dikeluarkannya plasma darah. Dengan kata lain, nilai PCV adalah volume semua eritrosit dalam 100 ml darah dan dinyatakan dalam % dari darah itu. Parameter hematokrit berpengaruh terhadap pengukuran eritrosit dan merupakan perbandingan antara plasma darah dengan volume eritrosit (Schalm *et al*, 1975 dalam Johnny, Tridjoko dan Des Roza, 2003). Hasil pemeriksaan ini bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologis dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang diambil sampel darahnya. Apabila ikan terkena infeksi penyakit atau nafsu makan menurun, nilai



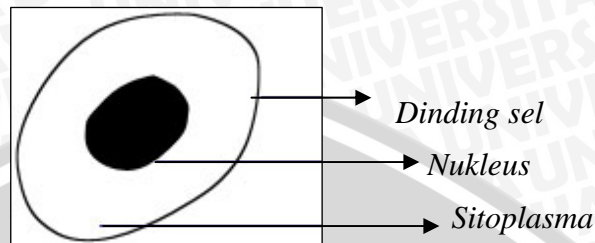
hematokrit menjadi rendah. Pada ikan yang memiliki aktivitas tinggi seperti ikan predator blue marlin (*Makaira nigricans*) mempunyai nilai hematokrit 43% dan mackerel sebesar 52,5%, sedangkan pada ikan *Pagothenia bermacchii* hanya 21% dan salmon (*Salmo salar*) adalah 47% (Bijanti, 2005).

#### **b. Eritrosit**

Ikan, sebagaimana vertebrata lain, memiliki sel darah merah (eritrosit) berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Beberapa spesies memiliki sel darah merah berbentuk lonjong dengan diameter 11-14  $\mu\text{m}$ , memiliki inti dengan ratio volume sel dan inti adalah 3,5-4,0 (Fujaya, 2004). Jumlah sel darah merah pada masing-masing spesies juga berbeda, tergantung aktivitas ikan tersebut. Eritrosit ikan mempunyai inti yang berbentuk elips, terletak di tengah sel dan dengan pewarnaan giemsa berwarna ungu kebiruan. Eritrosit merupakan jenis sel darah yang paling umum, sekitar 60% volume eritrosit terdiri atas air dan sisanya 40% terdiri atas konjugasi protein yang berbentuk globin dan hem. Dalam (Anonymous, 2004) menyebutkan, eritrosit mengandung inti sel darah yang didalamnya terdapat pigmentasi penyebab warna merah yaitu protein hemaglobin, sehingga eritrosit berwarna merah.

Menurut Guyton dan Hall (1997) menyatakan bahwa fungsi utama dari sel-sel darah merah, yang juga dikenal sebagai eritrosit adalah mengangkut hemoglobin dan seterusnya mengangkut oksigen dari paru-paru atau insang ke jaringan. Selain mentranspor hemoglobin, sel darah merah juga mengandung asam karbonat dalam jumlah besar yang berfungsi mengkatalisis reaksi antara karbondioksida dan air. Dengan demikian darah dapat bereaksi dengan karbondioksida dan mentranspornya dari jaringan ke insang. Sitoplasma eritrosit tampak beraspek translusen, kadang-kadang berwarna kekuningan dan terlihat mengandung butir-butir halus berwarna merah, terutama pada

ikan yang lebih tua. Gambar sel eritrosit dapat dilihat pada Gambar 4 (Anonymous, 2004) dibawah ini.



Gambar 4. Sel Eritrosit

Jumlah eritrosit dari peripheral darah dari ikan tersusun kebanyakan dari eritrosit yang matang tetapi jumlah sel yang tidak matang juga ada. Menurut Hibiya dan Medicine (1982) membagi eritrosit yang tidak matang dalam 5 kategori berdasarkan struktur, distribusi dan jumlah basofilik dalam sel. Jumlah retikulosit (eritrosit yang tidak matang) bervariasi menurut spesies baik umur individu, musim dan kondisi lingkungan. Sel yang matang ialah sel yang telah berdiferensiasi ke stadium dimana sel tersebut mempunyai kemampuan terbesar untuk difusi oksigen. Berdasarkan Junquera dan Carneiro (1982), selama pematangan sel-sel eritrosit, terjadi perubahan morfologi dan histologi yaitu :

- Volume sel berkurang.
- Anak inti ukurannya berkurang sampai mereka tidak terlihat dibawah mikroskop cahaya.
- Kromatin inti bertambah padat sampai inti tampak piknotik dan akhirnya dikeluarkan dari sel.
- Terdapat pengurangan jumlah poliribosom (basofilia) dan peningkatan jumlah hemoglobin (asodifilia) dan sitoplasma.

### c. Leukosit

Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang bertanggung jawab dalam sistem pertahanan tubuh. Sebagian besar leukosit ditransfer ke daerah-daerah infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat dan poten terhadap setiap gen infeksi (Johnny *et al*, 2003). Ikan memiliki sel-sel darah putih yang lebih banyak dibanding manusia. Menurut Satchell (1991) dalam Fujaya (2004) mengemukakan bahwa dalam darah ikan terdapat  $137.000/\text{mm}^3$  -  $798.000/\text{mm}^3$ . Leukosit terbagi menjadi leukosit granular dan leukosit agranular berdasarkan ada tidaknya granula. Selanjutnya leukosit granular terdiri atas eosinofil, basofil dan neutrofil, sedangkan leukosit agranular terdiri atas monosit, limfosit dan trombosit. Dalam beberapa laporan leukosit yang lazim ditemukan pada ikan adalah neutrofil, monosit, limfosit dan trombosit. Leukosit sangat berbeda dari eritrosit karena memiliki kemampuan bergerak bebas, dan mampu keluar dari pembuluh darah menuju jaringan dalam melakukan fungsinya. Jumlah leukosit akan meningkat secara pesat dalam waktu yang singkat apabila terjadi suatu infeksi (Anderson, 1974; Tizard, 1982).

Fungsi utama granulosit adalah respon perlindungan tubuh yang non spesifik melalui proses fagositosis maupun respon sitotoksik. Granulosit bersifat responsive terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh, tetapi tidak memiliki kemampuan untuk mengelak antigen yang spesifik (Bijanti, 2005).

#### 1. Neutrofil

Neutrofil merupakan salah satu bagian dari leukosit yang terlibat langsung dengan proses pengrusakan bacteria. Menurut Johnny *et al*, (2003), neutrofil mempunyai bentuk agak lonjong atau bulat, protoplasma berwarna sedikit biru dan inti bersegmen, kadang-kadang berlobus. Fungsi utama dari neutrofil adalah penghancuran



bahan asing melalui proses fagositik dan merupakan garis pertahanan pertama yang bergerak cepat ke arah bahan asing dan menghancurkannya, tetapi tidak mampu bertahan lama. Umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi kasus infeksi bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi.

## **2. Monosit**

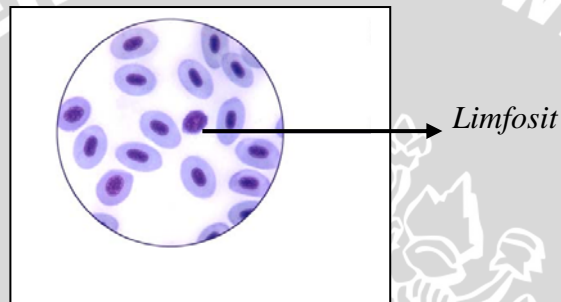
Monosit merupakan sel yang besar, memiliki bentuk bervariasi, sering dijumpai adanya bentuk pseudopodia dan ditemukan mikrofil pada membran sitoplasma. Terkadang monosit sulit dibedakan dari limfosit yang lebih besar dan neutrofil yang belum matang. Monosit berfungsi sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk dalam tubuh. Tizard (1982) menyatakan bahwa makrofag dapat disebut sebagai monosit. Fagositosis oleh monosit merupakan proses yang sama seperti pada neutrofil akan tetapi monosit ini mampu memiliki aktivitas fagositik yang tahan lama. Proporsi monosit sangat rendah dalam populasi leukosit, akan tetapi dapat meningkat lebih 30% dalam waktu singkat apabila terjadi infeksi (Anderson, 1974).

## **3. Limfosit**

Limfosit tidak bersifat fagosit tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi. Limfosit pada ikan dibagi menjadi dua kelompok yang mempunyai fungsi mirip dengan limfosit B dan limfosit T pada mamalia. Fungsi limfosit sendiri adalah sebagai mediator respon imun humoral dan seluler. Penurunan jumlah limfosit dapat menurunkan konsentrasi antibodi dan menyebabkan penurunan pertahanan tubuh terhadap penyakit (Baratawidjaja, 2004).

Limfosit adalah leukosit berinti satu dalam darah perifer. Secara morfologis limfosit mempunyai inti besar, kasar, sferis, berwarna lebih gelap dan secara relatif

sedikit sitoplasma sekeliling, berwarna biru yang mengandung sedikit granula. Limfosit merupakan sel-sel yang sangat dinamis dan heterogen. Beberapa limfosit mampu untuk mengeluarkan sekresi zat-zat yang dapat larut yang disebut *limfokin*, yang jika dirangsang secukupnya limfosit akan mengubah struktur menjadi penghasil antibodi sehingga disebut *sel plasma*. Jika limfosit menjadi sel plasma mengandung banyak retikulum endoplasma kasar yang merupakan tempat sintesis antibodi (Price dan Wilson, 1984). Gambar limfosit ditunjukkan pada Gambar 5 (Anonymous, 2006) dibawah ini.



Gambar 5. Limfosit

Limfosit berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh, ditemukan dalam jumlah besar meskipun pada saat infeksi terjadi penurunan (Secombes, 1996). Limfosit termasuk leukosit yang mampu keluar dari pembuluh darah menuju tempat terjadi infeksi (Nabib& Pasaribu, 1989).

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1. Ikan Uji

Ikan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah benih ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) ukuran 7-8 cm yang diambil dari KBU (kelola benih unggul) Situbondo. Gambar ikan kerapu macan uji dapat dilihat pada Lampiran 2.

##### 3.1.2. Media Penelitian

Media penelitian yang digunakan adalah air laut yang diperoleh dari perairan sekitar BBAP Situbondo. Ikan dipelihara dalam bak fiber bervolume 60 liter sebanyak 10 buah. Gambar bak pemeliharaan ikan uji dapat dilihat pada Lampiran 3.

##### 3.1.3. Pakan

Pakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pakan pellet yang dibuat sendiri sesuai dengan formula Sanoesi, Andayani dan Fadjar (2002). Hasil uji proksimat Komposisi kimia dari ransum pelet tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Proksimat Komposisi Kimia dalam Ransum Pelet

Kandungan zat makanan	Persentase (%)
Air	7,02
Protein	47,21
Lemak	5,70
Serat kasar	6,05
Abu	8,01
BETN	27,01
Jumlah	100
Energi (kkal/gr)	4,65

Ket: Hasil analisa Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya (Irawan, 2005)



### 3.1.4. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Benih ikan kerapu macan ukuran 7,5 cm
- Biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*
- Bahan alkaloid dari ekstrak *Bougainvillia* sp
- TCBSA (*Thiosulfate Citrate Billesait Sukrose Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)
- NA (*Nutrient Agar*)
- NaCl
- KCl
- MgSO<sub>4</sub>
- Alumunium foil
- Kapas
- Tissue
- Aquadest
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Na Sitrat 3,8 %
- Reagen Giemsa

### 3.1.4 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- Akuarium
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Petridish
- Rak tabung reaksi
- Pipet ukur
- Apendof
- Autoclave
- Inkubator
- Lemari pendingin
- Jarum ose
- Spatula
- Kompor

- Coloni counter
- Sput
- Hemosentrifuge
- Mikroskop
- Tabung mikrohematokrit
- Obyek glass
- Cover glass
- Haemositometer
- Karet penghisap
- Timbangan sartorius
- Pembakar bunsen

### 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

#### 3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yaitu mengadakan serangkaian kegiatan percobaan untuk melihat suatu hasil (Surachmad, 1989). Hasil yang diperoleh menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel yang diselidiki dan diketahui seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kelompok eksperimen serta menyediakan kontrol sebagai pembanding (Gomez, 1995). Teknik pengambilan data dilakukan dengan cara observasi langsung dan studi literatur.

Data diperoleh dengan cara menghitung nilai hematokrit, total eritrosit dan leukosit benih ikan kerapu macan yang telah terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi* setelah diberikan pakan yang mengandung imunostimulan.

#### 3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah rancangan acak lengkap (RAL). Rancangan ini digunakan dalam satuan percobaan homogen, artinya keragaman dalam satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang dipengaruhi hasil penelitian hanyalah perlakuan dan faktor kebetulan saja.

Yitnosumarno (1993), menambahkan rancangan acak lengkap (RAL) dipergunakan untuk penelitian atau percobaan di laboratorium, rumah kaca dan percobaan terkendali lainnya.

Beberapa keuntungan dari penggunaan RAL menurut Gasperz (1991), adalah sebagai berikut :

1. Denah perancangan percobaan lebih mudah.
2. Analisis statistika terhadap subyek percobaan sangat sederhana.
3. Fleksibel dalam penggunaan jumlah perlakuan dan jumlah ulangan.
4. Kemungkinan kehilangan informasi data hilang lebih kecil.

Rumus dari model RAL menurut Sastrosupadi (2000), adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  : Hasil pengamatan pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

$\mu$  : Nilai rata-rata

$\alpha_i$  : Pengaruh perlakuan ke-I

$\epsilon_{ij}$  : Pengaruh galat (sisa) dari perlakuan ke-I dan ulangan ke-j

Perlakuan yang diberikan adalah perbedaan dosis immunostimulan bahan aktif alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp., dimana perbedaan dosis tersebut adalah sebagai berikut :

K = pakan dasar (kontrol)

A = pakan pellet + 0,50 g alkaloid/kg pakan

B = pakan pellet + 0,75 g alkaloid/kg pakan

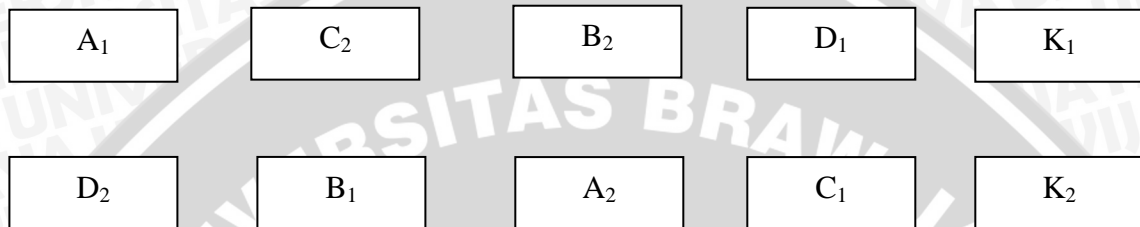
C = pakan pellet + 1,00 g alkaloid/kg pakan

D = pakan pellet + 1,25 g alkaloid/kg pakan



Perlakuan yang digunakan terdiri dari 4 (empat) perlakuan dengan 2 (dua) kali ulangan serta kontrol, dan penempatan dilakukan secara acak (random). Tabel komposisi pakan uji dapat dilihat pada Lampiran 4.

Adapun denah perlakuan dirancang seperti pada Gambar 7.



Gambar 7. Denah percobaan

Keterangan :

A,B,C,D = Perlakuan  
 K = Kontrol  
 1,2 = Ulangan

### 3.3. Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Tempat

- Bak fiber dicuci dengan menggunakan deterjen kemudian dibilas dengan kaporit hingga bersih, dan setelah itu dilakukan pengeringan bak.
- Bak fiber diisi dengan air laut dengan volume 30 liter salinitas 33 ppt dengan kepadatan 10 ekor.
- Bak fiber diberi aerasi dan aliran air di flow trow.

#### 3.3.2 Persiapan Ikan Uji

- Ikan uji diambil dari KBU (kelola benih unggul) Situbondo dengan ukuran 7-8 cm.

- Benih ikan kerapu macan diseleksi antara ikan yang sehat dan sakit.
- Ikan kerapu dimasukkan kedalam bak akuarium sebanyak 10ekor/ 30 liter.

### 3.3.3 Penyesuaian Pakan

Penyesuaian pakan adalah cara untuk membiasakan benih ikan kerapu macan agar dapat makan pellet. Alasan adanya perlakuan penyesuaian pakan, karena benih tersebut sebelumnya tidak/belum pernah diberi pakan pellet. Adapun cara penyesuaian pakan dilakukan dengan cara berikut ini :

- Hari ke 1-3 pakan pellet dicampur dengan ikan rucah dengan perbandingan awal penyesuaian pellet : Rucah =  $\frac{1}{4}$  :  $\frac{3}{4}$  dan diberikan secara ad libitum 3 kali sehari.
- Hari ke 4-6, perbandingannya ditingkatkan menjadi  $\frac{1}{2}$  :  $\frac{1}{2}$  dan diberikan secara ad libitum 3 kali sehari.
- Hari ke 7-10, perbandingannya ditingkatkan lagi menjadi  $\frac{3}{4}$  :  $\frac{1}{4}$  dan diberikan secara ad libitum 3 kali sehari.
- Hari ke 11-14, ikan hanya diberi pakan pellet 3 kali sehari dengan dosis 5 % dari berat biomassa ikan.

Perlakuan penyesuaian/adaptasi pakan dilakukan selama 2 minggu. Gambar pakan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 5.

### 3.3.4 Perlakuan Pemeliharaan

- Ikan kerapu macan selama pemeliharaan dilakukan penimbangan berat badan dan panjang total dari tubuh ikan kerapu macan setiap minggu, dan setiap pagi dilakukan penyiponan.
- Pengukuran kualitas air (pH, suhu, dan DO) dilakukan untuk setiap harinya.
- Dilakukan flow trow setiap harinya.

### 3.3.5 Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam autoclave, kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan dalam autoclave dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang.
- Saklar listrik dinyalakan, kemudian tombol sirine yang berwarna merah diputar sampai batas lampu yang berwarna merah.
- Ditunggu selama 15 menit, setelah mencapai suhu 121° C sirine akan berbunyi lalu matikan.
- Tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol).
- Matikan saklar listrik dan buka penutup autoclave.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.3.6 Pembuatan Media TCBSA (*Thiosulfaten Citrate Bilesalt Sukrose Agar*), NB (*Nutrient Brouth*), dan NA (*Nutrient Agar*).

- Media TCBSA diambil dan ditimbang, untuk setiap pembuatan media TCBSA sebanyak 1000 ml maka dibutuhkan TCBSA sebanyak 88 gram.
- Pupuk KCl; MgSO<sub>4</sub>; dan NaCl masing-masing ditimbang 0,75gr; 6,94gr; 13,4 gr untuk setiap pembuatan TCBSA 1000 ml.



- Media diatas semuanya dimasukkan dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquadest steril sesuai dengan kebutuhan bahan yang ditimbang sebelumnya.
- Bahan diatas dipanaskan dihot plate dan beri pengaduk magnetik stirer supaya TCBSA tidak menggumpal.
- Media TCBSA dituangkan kedalam masing-masing petridish dengan perlakuan steril diatas bunsen, tunggu hingga agar memadat setelah balik media agar tersebut supaya 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 dan NA pembuatannya sama saja dengan perlakuan diatas tapi hanya saja untuk NA membutuhkan 28 gram dan NB 13 gram untuk setiap 1000 ml aquadest. Gambar media biakkan murni bakteri *V.harveyi* dapat dilihat pada lampiran 6.

### 3.3.7 Pembuatan Biakan Bakteri *V. Harveyi* untuk Penginfeksi.

- Biakan bakteri murni *V. harveyi* disiapkan, dan diperbanyak dengan cara remajakan kembali pada tabung-tabung reaksi yang berisi NA.
- NB dibuat dan diletakkan dalam tabung erlenmeyer sesuai dengan keperluan.
- Biakan bakteri *V. harveyi* dimasukkan dalam tabung elenmeyer kurang lebih untuk 4 ml NB diambil biakan bakteri sebanyak 5 ose.
- Bakteri dimasukkan dalam inkubator selama 18-24 jam dan atur pada suhu 37<sup>0</sup>C.
- Larutan standart MC Farland I; II; dan III dibuat untuk mengetahui kepadatan bakteri *V. harveyi* yang dihasilkan nantinya. Dalam larutan tersebut campuran dari H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% dengan BaCl<sub>2</sub> 1%.

- Kepadatan larutan MC Farland tersebut nantinya akan menghasilkan kepadatan bakteri *V. harveyi* untuk I; II; dan III adalah  $3 \times 10^8$ ;  $6 \times 10^8$ ; dan  $9 \times 10^8$  sel/ml.
- Bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan kerapu macan nantinya menggunakan kepadatan  $10^5$  sel/ml. Sehingga untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus:  $N1 \cdot V1 = N2 \cdot V2$

Dimana :

N1 : kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

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

V1 : volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan (ml)

V2 : volume media air dalam wadah penelitian (ml)

Perhitungannya adalah sebagai berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$15 \times 10^8 \cdot V1 = 2,4 \times 10^5 \cdot 30.000 \text{ ml}$$

$$= \frac{2,4 \times 10^5 \cdot 3 \times 10^4}{15 \times 10^8}$$

$$= \frac{7,2 \cdot 10^9}{15 \times 10^8}$$

$$= 4,8 \text{ ml}$$

### 3.3.8 Sanitasi Air dan Alat-alat Pelaksana Penelitian

- Semua alat-alat pelaksana penelitian direndam dan dicuci dengan menggunakan chlorin 5 ppm dan dibilas dengan menggunakan air tawar sampai bersih dan dikeringkan.

- Air laut ditampung dalam bak berkapasitas 0,5 ton dan kemudian diberi larutan chlorin sebanyak 5 ppm. Setelah itu diberi aerasi secara keras dan didiamkan selama 3 hari untuk menghilangkan chlorin.

### 3.3.9 Proses Penginfeksian

- Akuarium yang bersih diisi dengan air laut yang telah dichlorin selama 3 hari sebanyak 30 liter dan beri aerasi.
- Ikan kerapu macan dimasukkan kembali dalam bak akuarium masing-masing perlakuan sebanyak 10 ekor/ bak.
- Bakteri yang sudah siap pada media NB dalam tabung erlenmeyer tadi bisa diinfeksi langsung kedalam media hidup ikan kerapu macan, sesuai dengan kepadatan yang diinginkan.
- Proses penginfeksian berlangsung selama 5 hari, setelah itu dilakukan reisolasi.
- Pada saat reisolasi ikan diberi makan pellet kontrol dan aliran air di *flow trow*.
- Proses reisolasi dilakukan sampai hari ke-7.

### 3.3.10. Teknik Pengambilan Contoh Darah

Mengambil sampel darah disedot dengan spuit plastic volume 1 ml yang didalamnya telah berisi antikoagulan Na - Citrat dengan perbandingan antara sampel dengan antikoagulan 1 : 4. Setelah perlakuan selama 28 hari (sebelum infeksi bakteri *V. harveyi*), ikan diambil contoh darahnya. Pengambilan contoh darah ini dilakukan juga pada hari ke-30 (1X24 jam setelah infeksi), hari ke-32 (3 hari setelah infeksi) dan hari ke-34 (5 hari setelah infeksi). Setelah dilakukan penginfeksian ikan hanya diberi pakan pellet tanpa campuran atau perlakuan apapun. Adapun parameter hematologi yang akan diambil adalah nilai hematokrit, total eritrosit dan leukosit.



### a. Koleksi Darah Ikan

- Alat dan bahan disiapkan
- Injeksi disterilkan dengan alkohol 70% dan bagian tubuh ikan yang akan diinjeksi
- Ikan uji dimasukkan ke dalam wadah fiber 20 liter berisikan 10 liter air laut steril dengan kualitas baik berisikan pembius
- Sampel darah diambil dengan disedot menggunakan spuit plastik steril volume 1cc yang di dalamnya telah berisikan antikoagulan Na Citrat 3,8% melalui bagian bawah linea lateralis antara anus dan sirip anal sebanyak 0,2 – 0,3cc
- Spet injeksi ditarik secara perlahan-lahan sehingga akan didapatkan darah

### b. Pemeriksaan Hematokrit

Hematokrit adalah presentase bagian volume sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Hasil pemeriksaan ini bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologis dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang diambil sampel darahnya. Prosedur pelaksanaan pemeriksaan hematokrit menurut Bijanti (2005), adalah sebagai berikut.

- Ambil darah dengan menggunakan tabung mikrohematokrit yang telah dilapisi Na Citrat. Isi tabung mikrohematokrit dengan darah sampai  $\frac{3}{4}$  tabung (sebanyak 60  $\mu$ l darah).
- Tutup bagian ujung bawah mikrohematokrit dengan parafin
- Masukkan tabung mikrohematokrit yang telah berisi darah ke dalam sentrifuge khusus yang mempunyai kecepatan tinggi, yaitu dengan kecepatan lebih dari 16.000 rpm (sentrifuge hematokrit)

- Tabung hematokrit diletakkan pada parit yang tersedia pada sentrifuge dengan ujung yang tertutup ke arah luar dan ujung yang terbuka ke arah pusat sentrifuge
- Putarlah selama 5 menit
- Bacalah hasilnya dengan menggunakan mikrohematokrit reader atau alat pembaca khusus.

### c. Perhitungan Eritrosit (Anonymous, 2000)

- Sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan (dengan perbandingan 1:3) diambil sebanyak 20  $\mu$ l dan dimasukkan kedalam apendof.
- Pewarna giemsa diencerkan dengan aquades dengan perbandingan 1:9. Kemudian diambil sebanyak 0,4 ml dan dicampur dengan darah yang ada dalam apendof.
- Apendof ditutup dan dikocok perlahan-lahan agar darah dan giemsa bisa bercampur.
- Kemudian dilakukan penghitungan jumlah eritrosit yaitu dengan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Bagian atas kamar hitung *Improved Neubauer* ini ditutup dengan *cover glass*. Lalu darah yang sudah dicampur tadi dimasukkan kedalam kamar hitung.
- Dengan objektif 400x menghitung eritrosit yang terdapat pada 5 bujursangkar besar yang masing-masing tersusun atas 16 bujursangkar kecil dengan menggunakan mikroskop.
- Perhitungan

$$\text{Total eritrosit} = \frac{N}{5} \times \frac{1}{V} \times ffp \quad \text{atau} \quad n \times 2.10^5 \text{ sel/ml}$$

Dimana :

N = Jumlah sel yang ditemukan

V = Volume hemositometer

fp = Faktor pengencer

#### d. Perhitungan Leukosit (Anonymous, 2000)

- Sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan (dengan perbandingan 1:3) diambil sebanyak 20  $\mu$ l dan dimasukkan kedalam apendof.
- Pewarna giemsa diencerkan dengan aquades dengan perbandingan 1:9. Kemudian diambil sebanyak 0,4 ml dan dicampur dengan darah yang ada dalam apendof.
- Apendof ditutup dan dikocok perlahan-lahan agar darah dan giemsa bisa bercampur.
- Kemudian dilakukan penghitungan jumlah leukosit yaitu dengan menggunakan kamar hitung *Improved Neubauer*. Bagian atas kamar hitung *Improved Neubauer* ini ditutup dengan *cover glass*. Lalu darah yang sudah dicampur tadi dimasukkan kedalam kamar hitung.
- Dengan objektif 400x menghitung leukosit yang terdapat pada 5 bujursangkar besar yang masing-masing tersusun atas 16 bujursangkar kecil dengan menggunakan mikroskop.
- Perhitungan

$$\text{Total leukosit} = \frac{N}{0,1} \times 20 \text{ atau } n \times 2.10^5 \text{ sel/ml}$$



#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

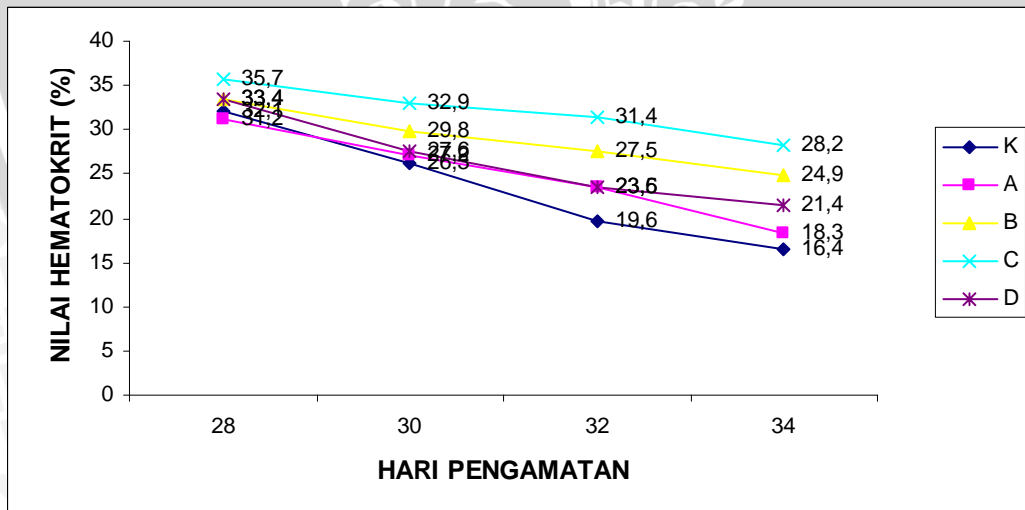
##### 4.1. Nilai Hematokrit

Data hasil pengamatan nilai hematokrit ikan uji selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Nilai Hematokrit (dalam %) Ikan Uji

Perlakuan	Hari Pengamatan			
	28	30	32	34
<b>K</b>	32,1	26,3	19,6	16,4
<b>A</b>	31,2	27,2	23,5	18,3
<b>B</b>	33,4	29,8	27,5	24,9
<b>C</b>	35,7	32,9	31,4	28,2
<b>D</b>	33,4	27,6	23,6	21,4

Grafik hubungan antara hari pengamatan dengan nilai hematokrit ikan kerapu macan selama 34 hari dapat dilihat pada Gambar 7 dibawah ini.



Gambar 7 . Grafik Nilai Hematokrit Ikan Uji

Pada grafik diatas terlihat adanya penurunan nilai hematokrit setelah adanya infeksi bakteri *Vibrio harveyi*. Nilai hematokrit pada hari ke-28 (1 hari sebelum infeksi)

yang ditunjukkan pada perlakuan A (dosis 0,5 gr alkaloid/kg pakan) adalah sebesar 31,2% dan terus mengalami penurunan setelah terjadinya infeksi sehingga pada hari ke-34 nilai hematokritnya sebesar 18,3%. Pada perlakuan lainnya (dengan dosis yang berbeda) juga didapat nilai hematokrit yang semakin menurun setelah dilakukan infeksi. Penurunan nilai hematokrit terjadi karena adanya infeksi bakteri *V. harveyi* yang menyebabkan jumlah eritrosit menurun. Penurunan jumlah eritrosit ini karena bakteri menggunakan sel darah merah (eritrosit) untuk pertumbuhannya. Menurut Pelczar dan Chan (1986), banyak bakteri dalam pertumbuhannya memerlukan zat-zat tambahan diantaranya adalah sel darah merah.

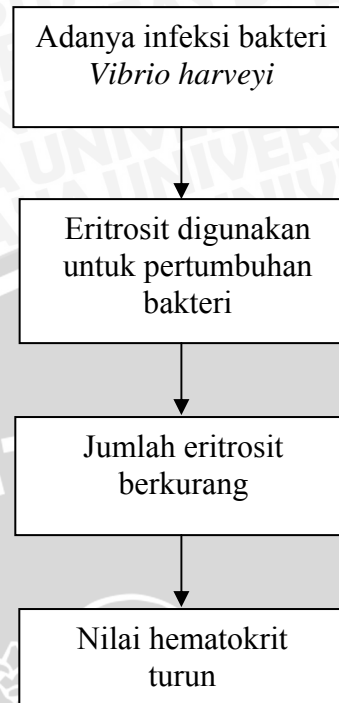
Jumlah eritrosit sangat mempengaruhi nilai hematokrit karena eritrosit merupakan volume padat yang mengisi hematokrit. Sesuai dengan pernyataan Johnny *et al*, (2003) yang menyebutkan bahwa nilai hematokrit adalah volume yang diisi oleh eritrosit dinyatakan sebagai persen terhadap volume total contoh darah. Dengan kata lain, hematokrit adalah volume semua eritrosit dalam 100 ml darah dan dinyatakan dalam persen dari darah itu. Apabila pada hewan terjadi perubahan pada karakteristik darahnya, dapat diduga hewan tersebut mengalami infeksi yang membuat kondisi ikan menjadi stres. Apabila ikan terkena infeksi penyakit atau nafsu makan menurun nilai hematokrit menjadi rendah (Bastiawan *et al*, 2001 dalam Johnny *et al*, 2003).

Hasil analisis sidik ragam terhadap nilai hematokrit pada hari ke-34 (pada Lampiran 8) menunjukkan bahwa pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang diberikan melalui pakan berpengaruh nyata terhadap nilai hematokrit ikan kerapu macan. Ini terlihat dari diperolehnya nilai signifikansi kurang dari  $\alpha$  0,05%, maka  $H_0$  ditolak. Apabila  $H_0$  ditolak, selanjutnya dilakukan uji BNT. Uji

BNT digunakan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Dari hasil uji BNT memperlihatkan bahwa masing-masing perlakuan pemberian senyawa alkaloid memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai hematokrit ikan kerapu macan. Untuk mengetahui hubungan antara pengaruh pemberian senyawa alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. dengan dosis yang berbeda terhadap nilai hematokrit ikan kerapu macan yang terserang bakteri *V. harveyi*, dilakukan analisa *curve estimation* dengan menggunakan SPSS 11.0 *for windows*. Hasil perhitungan penentuan model regresi dapat dilihat pada Lampiran 8.

Berdasarkan hasil penelitian dapat terlihat adanya perbedaan nilai hematokrit antara perlakuan yang menggunakan alkaloid dengan yang tidak menggunakan alkaloid. Pada perlakuan yang diberi alkaloid, setelah terjadi infeksi bakteri nilai hematokritnya mengalami penurunan tetapi masih berada dalam kisaran normal sedangkan pada perlakuan tanpa alkaloid (perlakuan kontrol), adanya infeksi bakteri menyebabkan penurunan nilai hematokrit yang cukup jauh. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Johnny, Zafran, Roza dan Mahardika (2003), nilai hematokrit pada ikan kerapu macan adalah 31,5% dengan berat badan ikan 95-125 gr dan panjang total 16-19 cm. Gambar 8 menunjukkan adanya penurunan nilai hematokrit akibat infeksi bakteri *V. harveyi*.





Gambar 8. Penurunan nilai hematokrit akibat adanya infeksi bakteri *Vibrio harveyi*

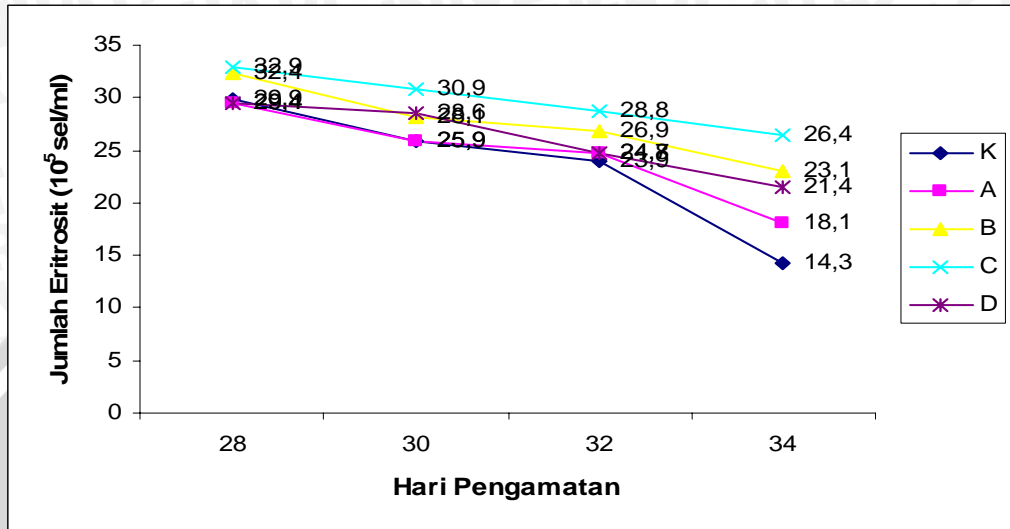
#### 4.2. Jumlah Total Eritrosit

Hasil perhitungan jumlah sel darah merah ikan kerapu macan selama penelitian yaitu hari ke 28, hari ke 30, hari ke 32, dan hari ke 34 dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Jumlah Total Sel Darah Merah (dalam  $10^5$  sel/ml) ikan Uji

Perlakuan	Hari Pengamatan			
	28	30	32	34
<b>K</b>	29,9	25,9	23,9	14,3
<b>A</b>	29,4	25,9	24,8	18,1
<b>B</b>	32,4	28,1	26,9	23,1
<b>C</b>	32,9	30,9	28,8	26,4
<b>D</b>	29,4	28,6	24,7	21,4

Penurunan jumlah eritrosit pada perlakuan sampai pada hari ke 34 dapat dilihat pada Gambar 9 sebagai berikut.



Gambar 9. Grafik Sel Darah Merah (Eritrosit) ikan uji

Melihat hasil perhitungan eritrosit ikan kerapu macan selama penelitian, terjadi penurunan jumlah eritrosit setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*. Misalnya pada perlakuan A pada hari ke-28 nilai eritrositnya adalah 2.940.000 sel/ml sedangkan pada hari ke-34 adalah 1.810.000 sel/ml. Hal ini disebabkan karena adanya infeksi bakteri kemungkinan menyebabkan kerusakan organ hematopoitik sehingga produksi darah berkurang. Terganggunya kerja dari organ ini dapat menghambat proses eritropoeisis (proses pembentukan sel darah merah) sehingga konsentrasi sel darah merah didalam tubuh sedikit. Organ hematopoitik adalah organ yang berfungsi sebagai tempat pembentukan darah. Organ hematopoitik yang merupakan tempat pembentukan eritrosit yaitu ginjal dan limpa (Bijanti, 2005).

Penurunan jumlah eritrosit setelah terjadi infeksi, selain karena kerusakan organ hematopoitik, juga disebabkan karena pengikatan besi yang terdapat pada eritrosit oleh bakteri. Seperti yang disebutkan oleh Fujaya (2004), fungsi utama dari sel darah merah

adalah untuk mengangkut hemoglobin yang berperan membawa oksigen dari insang ke jaringan. Hemoglobin merupakan kombinasi dari haem/hem yang merupakan porphyrin, besi, globin. Atom besi dari hem berfungsi mengikat oksigen. Gambar darah ikan uji dapat dilihat pada Lampiran 7.

Seperti sel lainnya, bakteri juga membutuhkan  $0,4 \mu\text{mol/L}$  besi untuk pertumbuhannya. Besi berfungsi mengangkut oksigen yang akan digunakan sebagai salah satu sumber energi bagi bakteri (Pelczar dan Chan, 1986). Besi sangat diperlukan untuk proses infeksi oleh bakteri. Jika besi pada bakteri bisa dihambat jalur nutrisinya, merupakan salah satu cara untuk mencegah patogenitas bakteri (Yanuhar, 2005).

Gambar 10 menjelaskan pengaruh adanya infeksi bakteri terhadap jumlah eritrosit ikan uji .



Gambar 10. Pengaruh Adanya Infeksi Bakteri Terhadap jumlah Eritrosit Ikan Uji

Penggunaan alkaloid sebagai immunostimulan mampu menghambat jalur nutrisi bakteri untuk memperoleh besi dengan cara meningkatkan kondisi kesehatan ikan melalui sistem pertahanan tubuh ikan dengan mempertahankan jumlah eritrosit ikan tetap dalam kisaran normal (Yoshida, 2005). Oleh karena itu, ikan yang diberi alkaloid pada perlakuan infeksi bakteri jumlah eritrositnya tidak mengalami penurunan yang cukup jauh dibandingkan ikan yang tidak diberi alkaloid.

Untuk melihat adanya pengaruh penggunaan alkaloid terhadap jumlah eritrosit ikan uji yang terinfeksi bakteri *V. harveyi* pada hari ke-34, maka digunakan analisis sidik



ragam (Lampiran 8). Dari hasil analisis sidik ragam ini didapatkan bahwa pemberian alkaloid ini berpengaruh nyata terhadap jumlah sel darah merah ikan kerapu macan yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*. Kemudian dilakukan uji BNT, dan hasilnya memperlihatkan bahwa masing-masing perlakuan pemberian senyawa alkaloid memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah eritrosit ikan kerapu macan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, jumlah eritrosit pada perlakuan A dan D mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan perlakuan yang lain (B dan C). Pada perlakuan A yang menggunakan dosis alkaloid 0,5 gr/Kg pakan, penurunan jumlah eritrosit mungkin dikarenakan dosis alkaloid yang terlalu rendah. Menurut Nitimulyo dan Triyanto (1990) dalam Yoshida (2005), mengatakan bahwa pemberian immunostimulan dosis tinggi dan rendah hanya menghasilkan sedikit kompleks kebal, sehingga mengakibatkan sistem pertahanan yang dibentuk juga rendah dan menjadi mudah terserang organisme patogen. Sedangkan jumlah eritrosit perlakuan D pada hari ke-28 adalah 2.940.000 sel/ml dan pada hari ke-34 menurun menjadi 2.140.000 sel/ml. Hal ini diduga karena perlakuan D menggunakan dosis tinggi yaitu 1,25 gr alkaloid/kg pakan. Dosis yang tinggi ini memiliki efek toksik karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi pula kecepatan metabolisme dalam individu itu sendiri sehingga dapat mengakibatkan kerusakan bagian tubuh lain (Setiawati, 1995). Baratawidjaja (2004) menjelaskan bahwa suatu immunostimulan dapat memperbaiki sistem imun yang lain dan juga dapat menekan komponen yang lain.

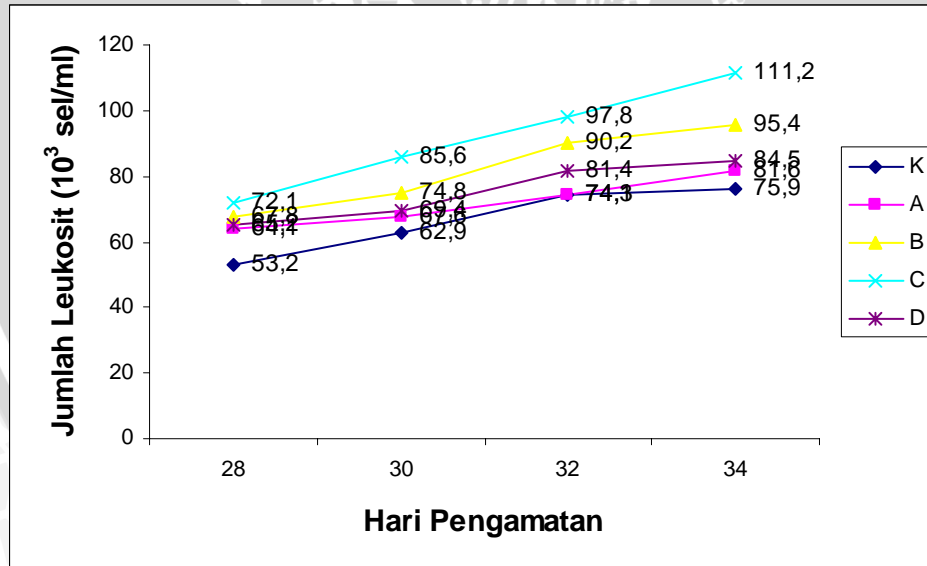
### 4.3. Jumlah Total Leukosit

Hasil perhitungan jumlah sel darah putih selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Jumlah Total Leukosit (dalam  $10^3$  sel/ml)

Perlakuan	Hari Pengamatan			
	28	30	32	34
<b>K</b>	53,2	62,9	74,1	75,9
<b>A</b>	64,1	67,6	74,3	81,6
<b>B</b>	67,8	74,8	90,2	95,4
<b>C</b>	72,1	85,6	97,8	111,2
<b>D</b>	65,2	69,4	81,4	84,5

Fluktuasi kenaikan jumlah sel darah putih pada ikan uji selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 11 sebagai berikut.



Gambar 11. Jumlah Total Sel Darah Putih (Leukosit) Ikan Uji

Gambar diatas menunjukkan adanya peningkatan jumlah leukosit pada ikan kerapu macan setelah diinfeksi bakteri *V. harveyi*. Dapat dilihat pada perlakuan K (kontrol) yang tidak diberi perlakuan apa-apa, jumlah leukosit meningkat dari 53.200

sel/ml (hari ke-28) menjadi 75.900 sel/ml pada hari ke-34. Pada ikan-ikan laut di Lautan Mediterania yang diketahui terinfeksi *V. vulnificus* jumlah leukositnya mencapai  $\pm 146.000$  sel/ml (Tal *et al*, 2004 dalam Yoshida, 2005). Peningkatan jumlah leukosit ini terus berlanjut seiring bertambahnya hari penginfeksi sebagai indikasi adanya peningkatan kerja sistem imun. Sel darah putih atau leukosit adalah sel yang bertanggung jawab dalam sistem pertahanan tubuh. Jumlah leukosit dapat meningkat secara pesat apabila terjadi suatu penyakit infeksi. Sebagian besar leukosit ditransfer ke daerah-daerah infeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat dan poten terhadap setiap gen infeksi (Anderson, 1974). Sedangkan menurut Guyton dan Hall (1997), manfaat sesungguhnya dari sel darah putih ialah bahwa kebanyakan ditransfer secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, jadi menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada. Leukosit sangat berbeda dengan eritrosit karena memiliki kemampuan bergerak bebas dan mampu keluar dari pembuluh darah untuk melakukan fungsinya. Jumlah seluruh leukosit jauh dibawah eritrosit dan bervariasi tergantung jenis hewannya.

Ketika bakteri masuk ke dalam tubuh, bakteri harus menempel atau melekat pada sel inang, biasanya setelah bakteri menetap pada tempat infeksi awal, bakteri berkembang biak dan menyebar langsung melalui jaringan menuju aliran darah. Dengan bertambahnya jumlah bakteri, maka tubuh juga menghasilkan sel-sel leukosit untuk membentuk sistem pertahanan. Menurut Guyton dan Hall (1997), kerja leukosit untuk melindungi tubuh dari agen penyakit adalah melalui dua cara yaitu : 1). dengan merusak bahan yang menyerbu melalui proses fagositosis dan 2). dengan membentuk antibodi dan limfosit yang peka, salah satu atau kedua-duanya dapat menghancurkan atau membuat penyerbu menjadi tidak aktif. Sel darah putih (leukosit) yang berperan pada



proses fagositosis adalah eosinofil, neutrofil dan monosit. Berbeda dengan eosinofil yang merupakan fagosit lemah, neutrofil dan monosit merupakan fagosit kuat. Fagositosis oleh neutrofil dilakukan dengan mendekati partikel yang akan difagositasi dengan cara mengeluarkan pseudopodia ke segala arah sekitar partikel, selanjutnya pseudopodia satu sama lain saling bersatu pada tempat yang berlawanan. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang sudah di fagositosis. Kemudian ruangan ini berinvasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari bagian luar membran sel untuk membentuk gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (disebut fagosom). Sebuah sel neutrofil dapat memfagositosis 5 sampai 20 bakteri sebelum sel neutrofil itu sendiri menjadi tidak aktif dan mati (Fujaya, 2004). Johnny *et al*, (2003) mengungkapkan bahwa neutrofil merupakan garis pertahanan pertama yang bergerak cepat ke arah benda asing dan menghancurkannya, tetapi tidak mampu bertahan lama.

Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam memfagositasi bakteri, bahkan dapat memfagositasi partikel yang lebih besar. Di dalam darah, monosit ini hanya berada dalam waktu singkat (kira-kira satu atau dua hari), untuk kemudian sel ini bermigrasi ke tempat kerja utama mereka di jaringan-jaringan dan mereka berdiferensiasi lebih lanjut menjadi makrofag (Bellanti, 1993). Karena itu, monosit matang disebut makrofag mampu memfagosit 100 bakteri. Fagositosis oleh monosit merupakan proses yang sama seperti pada neutrofil akan tetapi monosit memiliki fagositik yang tahan lama. Neutrofil dan monosit (makrofag) bergerak ke arah tempat terjadinya infeksi dipengaruhi oleh bahan-bahan antara lain : beberapa racun yang dikeluarkan bakteri, produk degeneratif dari jaringan yang meradang, produk reaksi “kompleks komplemen” yang diaktifkan jaringan yang meradang dan beberapa produk

reaksi yang disebabkan oleh pembekuan plasma dalam area yang meradang (Guyton dan Hall, 1997).

Setelah terjadi suatu infeksi, tubuh memiliki kemampuan untuk mengaktifkan sistem sel limfoid. Sel limfoid ini dapat berdiferensiasi membentuk dua populasi yang berbeda, yakni limfosit T dan limfosit B. Limfosit T mampu memunculkan sel-sel efektor kekebalan yang diperantarai sel. Sel-sel ini berpartisipasi di dalam penyingkiran atau pembunuhan bahan asing atau mikroorganisme penyerbu. Di samping itu, sel T dapat memperoleh bantuan makrofag di dalam menghancurkan patogen atau merangsang sel B untuk meningkatkan produksi antibodi. Limfosit B berdiferensiasi menjadi plasma yang membuat dan mengeluarkan antibodi spesifik untuk menstimulasi antigen. Di samping membentuk sel-sel plasma, limfosit B juga dapat membentuk sel-sel ingatan (memori). Antibodi dapat bekerja melalui tiga macam cara yaitu : dengan langsung menyerang penyerbu, dengan pengaktifan sistem komplemen yang kemudian menghancurkan penyerbu dan dengan pengaktifan sistem yang mengubah lingkungan antigen penyerbu (Fujaya, 2004).

Hasil analisis sidik ragam jumlah leukosit pada hari ke-34 (Lampiran 8), menunjukkan bahwa pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.) yang diberikan melalui pakan berpengaruh nyata terhadap jumlah leukosit ikan kerapu macan ( $F$  hitung  $>$   $F$  tabel 5%). Berdasarkan data hasil penelitian  $F$  hitung didapat yaitu sebesar 55,565. Untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji BNT, dan memperlihatkan bahwa masing-masing perlakuan pemberian senyawa alkaloid memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap peningkatan jumlah leukosit. Dari perhitungan tersebut, dilanjutkan dengan perhitungan regresi dan

didapat persamaan kuadrat  $Y = -149,6X^2 + 271,92X - 19,205$ , sehingga dari persamaan tersebut diperoleh dosis yang terbaik (optimum) adalah 1gr/Kg pakan (dosis C). Pada perlakuan C (dosis 1 gr/Kg pakan) didapatkan peningkatan jumlah leukosit paling besar yaitu dari 72.100 sel/ml menjadi 111.200 sel/ml. Alkaloid telah terbukti berhasil meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan dengan bertambahnya jumlah leukosit ikan. Sedangkan pada perlakuan D yang menggunakan dosis 1,25 gr alkaloid/kg pakan (dosis paling tinggi), mengalami peningkatan tidak terlalu banyak, dari 65.200 sel/ml menjadi 84.500 sel/ml. Hal ini disebabkan karena penambahan alkaloid dengan dosis tinggi yaitu dosis 1,25 gr alkaloid/Kg pakan bersifat immunosupresif, yaitu dapat menekan kerja sistem imun. Hal ini sejalan dengan penelitian Wagner *dalam* Hargono (1996) yang menyatakan bahwa senyawa yang bersifat sitotoksik seperti alkaloid dapat mempunyai efek immunosupresif pada dosis tinggi. Imunosupresif dapat menghambat proliferasi sel imun, sitotoksitas dan menghambat produksi limfokin sel T. Selain itu, menurut Bellanti (1993), bahan yang bersifat immunosupresif dapat mempengaruhi sistem fagosit melalui penekanan sistem myelopoiesis, menurunkan pembentukan oksidan atau mengikat oksidan. Penekanan sistem myelopoiesis akan menyebabkan penurunan jumlah neutrofil (neutropenia). Penekanan sistem myelopoiesis dapat disebabkan oleh efek toksik dari senyawa immunosupresif.



#### 4.4. Reaksi Immunostimulant (alkaloid dari ubur-ubur *Bougainvillia* sp.) terhadap Hematokrit, Eritrosit dan Leukosit ikan kerapu Macan

Penambahan immunostimulan dapat meningkatkan ketahanan tubuh terhadap penyakit dengan cara menjaga kenormalan jumlah sel darah merah (eritrosit). Adanya infeksi bakteri dapat menyebabkan terjadinya kerusakan organ tubuh, salah satunya adalah organ hematopoetik. Pemberian bahan aktif alkaloid dapat mengurangi kerusakan tersebut. Alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. mempunyai sifat antimikroba sehingga dengan adanya penambahan bahan alkaloid dapat mengurangi terjadinya kerusakan organ karena alkaloid mampu mengurangi jumlah bakteri yang menginfeksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Heramawati (2004), yang menyatakan bahwa alkaloid efektif membunuh bakteri sampai dengan 99,9%.

Menurut Anderson (1974), kemampuan leukosit dapat ditingkatkan dengan menggunakan immunostimulan, vitamin, dan hormon. Mekanisme kerja immunostimulan pada sel darah putih adalah dengan cara meningkatkan aktivitas oksidatif neutrofil, memperbesar kegiatan sel-sel fagosit seperti makrofag dan limfosit T atau daya kerja sel sitotoksik lainnya, serta menginduksi protein-protein sitokin seperti interleukin, interferon, faktor nekrosis tumor, protein C-aktif komplemen dan lisozim (Bellanti, 1993).

Neutrofil dan makrofag (monosit fagositik yang bersirkulasi ke jaringan) adalah bagian dari leukosit yang paling utama menyerang dan menghancurkan bakteri, virus dan bahan-bahan merugikan lain yang menyerbu masuk ke dalam tubuh. Neutrofil dan makrofag mempunyai sejumlah besar lisosom yang berisi enzim proteolitik yang khusus dipakai untuk mencerna bakteri dan bahan protein asing lainnya. Lisosom dari makrofag banyak mengandung lipase yang mencerna membran lipid tebal yang terdapat pada

bakteri tertentu. Neutrofil dan makrofag juga mengandung bahan bakterisidal yang membunuh sebagian besar bakteri. Sebagian besar efek pembunuhan adalah hasil dari beberapa bahan pengoksidasi kuat yang dibentuk oleh enzim dalam membran fagosom. Bahan pengoksidasi ini antara lain sejumlah besar superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan ion-ion hidroksil ( $OH^-$ ), semuanya bersifat mematikan bagi sebagian besar bakteri. Juga, salah satu enzim lisosom yaitu meiloperoksidase mengkatalis reaksi antara  $H_2O_2$  dan ion klorida untuk membentuk hipoklorit, yang secara luas bersifat bakterisidal (Guyton dan Hall, 1997).

#### 4.5. Perubahan Patologis Ikan Uji

Adapun gejala klinis dan patologis ikan yang terserang bakteri *Vibrio harveyi* antara lain dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Gejala patologis ikan kerapu macan yang terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*

Hari ke-n	Gejala-gejala Patologi Klinis	
	Ikan yang Diberi Pakan Tanpa Bahan Aktif Alkaloid	Ikan yang Diberi Pakan dengan Bahan Aktif Alkaloid
1-2	Tidak aktif berenang, lemas, respon kurang, nafsu makan rendah, lendir berlebih, mulut kemerah-merahan	Tidak aktif berenang, lemas, nafsu makan menurun, lendir berlebih, mulut kemerah-merahan, warna insang pucat.
3-5	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 berenang kepermukaan dan bergerak berputar-putar ( <i>whirling</i> ), permukaan tubuh kehitam-hitaman ( <i>melanisasi</i> ), nafsu makan kurang, dan mulut kemerah-merahan.

6-7	Ikan nampak semakin lemah, nafsu makan tidak ada, warna insang pucat, mulut kemerah-merahan, pangkal sirip kemerah-merahan, dan terdapat luka pada pangkal ekor.	Ikan mulai berenang kedasar bak dan cenderung bergerombol, respon bagus, nafsu makan mulai meningkat, dan lendir normal
-----	--	---

Tabel diatas memperlihatkan bahwa bakteri *V. harveyi* merupakan salah satu patogenitas pada ikan kerapu macan dan ikan kerapu pada umumnya. Vibriosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari famili *Vibrionaceae*, bakteri penyebab Vibriosis ini berbentuk batang, bersifat gram negatif dan sebagian besar hidup pada air payau atau air laut. Tanda-tanda klinis dari dari penyakit ini adalah hemorragik pada kulit, insang dan ekor, borok pada kulit, hemorragik pada jaringan otot dan permukaan serosal. Limpa ikan yang terinfeksi akan mengalami pembengkakan dan mungkin berwarna merah cerah. Secara histologis, hati, ginjal, limpa dan mungkin pula mukosa usus mengalami nekrosis (Irianto, 2005).

Hasil pengamatan selama penelitian terlihat adanya perbedaan gejala klinis pada tubuh ikan yang diberi pakan dengan campuran bahan alkaloid dengan ikan yang tidak diberi pakan bahan alkaloid. Ikan yang diberi alkaloid, setelah terjadi infeksi bakteri tubuhnya berangsur-angsur membaik sedangkan ikan yang tidak diberi alkaloid setelah terjadi infeksi kondisi jaringan tubuhnya semakin memburuk. Adapun gambar beberapa jenis kerusakan organ ikan uji dapat dilihat pada Lampiran 9.

#### 4.6. Kualitas Air

Selama penelitian dilakukan pengukuran kualitas air media uji yang meliputi : suhu, oksigen terlarut, derajat keasaman (pH), dan amoniak. Dari hasil pengukuran



menjelaskan bahwa kualitas air media uji masih berada dalam kisaran toleransi yang diinginkan oleh ikan kerapu macan.

#### **4.6.1. Suhu**

Suhu air pada media pemeliharaan selama penelitian rata-rata berkisar antara 25,4 – 29,3 °C. Suhu ini masih berada dalam batas toleransi untuk kehidupan ikan kerapu macan. Menurut Cholik, Jagatraya, Poernomo dan Jauzi (2005) mengatakan bahwa ikan kerapu macan dapat hidup dan tumbuh pada kisaran suhu air 26-31 °C. Suhu air berpengaruh terhadap laju metabolisme ikan kerapu macan dan juga dapat mempengaruhi kelarutan gas-gas termasuk oksigen dalam perairan (Irianto, 2005).

#### **4.6.2. Oksigen Terlarut (DO)**

Kandungan oksigen terlarut dalam media pemeliharaan berkisar 4-6,9 ppm. Kandungan ini masih berada dalam kisaran normal karena menurut Wardoyo (1981), ikan kerapu yang dibudidayakan dapat hidup layak pada kandungan oksigen terlarut lebih dari 4 ppm.

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

pH air yang diperlukan untuk pertumbuhan kerapu macan adalah berkisar 7–9 (Suriawan, 2004). Sedangkan pH media pemeliharaan adalah 7-8,1. Nilai pH ini masih berada dalam batas toleran untuk kehidupan ikan kerapu macan. Untuk air laut nilai pH tidak akan menimbulkan masalah yang berarti karena dalam air laut terdapat penyangga yang tinggi.

#### 4.6.4. Amoniak

Kadar amoniak dalam media pemeliharaan berkisar antara 0,08-0,1925 ppm. Kadar amoniak dalam perairan sebaiknya kurang dari 1,5 ppm karena amoniak yang tinggi dalam perairan akan menghambat daya serap terhadap oksigen akibatnya ikan menjadi lemas dan mati (Antoro *et al*, 1998 ).



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

- Pemberian bahan aktif alkaloid ubur-ubur berpengaruh sangat nyata terhadap nilai hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan kerapu macan yang terinfeksi bakteri *V. harveyi*.
- Pemberian bahan aktif alkaloid dengan dosis berbeda, dapat meningkatkan jumlah leukosit. Peningkatan jumlah leukosit yang tertinggi (perlakuan terbaik) dicapai pada pemberian alkaloid dengan dosis 1 gr/Kg pakan.
- Penurunan nilai hematokrit, jumlah eritrosit dan leukosit terjadi pada dosis alkaloid yang tertinggi yaitu 1,25 gr/Kg pakan.
- Nilai kisaran kualitas air media pemeliharaan masih berada dalam kisaran normal untuk kehidupan ikan kerapu macan yaitu : suhu 25,4-29,3; DO 4-6,9 ppm; pH 7-8,1 dan amoniak 0,08-0,1925 ppm.

### 5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan bahwa :

1. Penggunaan immunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. pada dosis 1gr/Kg pakan merupakan dosis optimal untuk meningkatkan jumlah leukosit ikan kerapu macan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh immunostimulan alkaloid ubur-ubur *Bougainvillia* sp. Terhadap virus yang menyerang ikan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adiyono, M. 2005. **Peran kekebalan Tubuh dalam Kehamilan**. <http://www.suara merdeka.com/harian /0410/07/nas.16 htm>. Diakses 8 Mei 2005
- Afriandhini. 2004. **Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ubur-Ubur *Bougainvillia* sp.** Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Brawijaya Malang. 33 hal.
- Anderson, Douglas P. 1974. **Fish Immunology. Dieases Of Fishes**. T.F.H. Publications, Inc, Ltd
- 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.
- \_\_\_\_\_. 2003. **Warta Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 9 No. 3. Edisi Akuakultur**. Penerbit : Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Bagian Proyek Riset Perikanan Budidaya.
- \_\_\_\_\_. 2004. **Pembenihan Ikan Kerapu**. Departemen Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Balai Budidaya Laut Lampung.
- Anonymous. 2006. [http://www.hk-fish.net/eng/market\\_price/common\\_e\\_2006\\_jan.htm](http://www.hk-fish.net/eng/market_price/common_e_2006_jan.htm). Diakses pada tanggal 5 oktober 2006
- Antoro,S., Widiastuti, E., Hartono, P. 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, Karnen Garna. 2004. **Imunologi Dasar. Edisi Ke 6.** Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta
- Barnes, R.D. 1974. **Invertebrata Zoology.** W.B Saunders Company. Toppam Company, Ltd. Philadephia. London. Toronto. 870 pp.
- Bauman, P.A.L., Furniss and I.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. 518-538pp
- Bellanti, J., A., 1993. **Imunologi III.** Alih bahasa ; A.S. Wahab. Gadjah Mada Press. Yogyakarta. 647 hal.
- Bergey' s. 2000. **Manual of Determinative Bacteriology. 9<sup>th</sup> Edition.** Williams and Wilkins A wolters Klower Company. Philadelphia. 787pp.
- Bijanti, R. 2005. **Hematologi Ikan (Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan).** Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Air Langga . Surabaraya
- Bonang dan Koeswardono. 1982. **Mikrobiologi Kedokteran : Untuk Laboratorium dan Klinik.** Gramedia. Jakarta. 199 hal.
- Corwin, E. 2001. **Patofisiologi.** Alih Bahasa: Brahm U. Penerbit EGC Kedokteran. Jakarta. 696 hal.
- Dwidjoseputro, D. 1998. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Fadjar, M., Andayani, S., Arfiati, D., Dan Prajitno, A. 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.** Jilid I. Edisi ketiga. Alih bahasa : A.H. Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta. 590 hal
- Fujaya, Yushinta M,Si. 2004. **Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan.** Rineka Cipta. Jakarta. 92-102 hal
- Gasperz, V. 1991. **Metode Perencanaan Percobaan.** CV Armico. Bandung. 472 hal.
- Gomez, K. A dan Gomez, A.A. 1995. **Peosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian.** Edisi Kedua. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Gufron, M.H, dan Kordi. 2001. **Usaha Pembesaran Ikan Kerapu Di Tambak.** Penerbit Kanisius. Yogyakarta.



- \_\_\_\_\_. 2001. **Pembesaran Kerapu Bebek di Karamba Jaring Apung**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Guyton dan Hall, 1997. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**. Edisi 7. Bag 1. Alih bahasa ; K.A. Tengadi dan kawan-kawan. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.442 hal
- 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. dan Medicine,V., 1982. **An Atlas of Fish Histology**. Kodansha Ltd. Tokyo.
- Hickman, C.P. 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.
- Jawetz, E., Melnick And Adelberg. 1982. **Review Of Medical Microbiology**. Diterjemahkan: Gerard Bonang K. C. V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 846 hal.
- Juncquiera, L.,C., dan Carneiro J., 1982. **Histologi Dasar**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Johnny, F. Zafran, Des Roza, 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.
- Johnny, F., Zafran, Des Roza dan Ketut Mahardika. 2003. **Hematologis Beberapa Species Ikan Laut Budidaya**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 9, No. 4, Tahun 2003. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan dan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Kabata, Z. 1985. **Parasiter and Disease of Fish Cultured in Tropics**. Taylor and Franchis Ltd. London. Dalam Rochani. 2000. Pemanfaatan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestika*) Bagi Alternatif Pengendalian Penyakit *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Tesis Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kamiso, H.N., 1996. **Vibriosis Pada Ikan Dan Alternatif Cara Penanggulangannya**. Jurnal Perikanan UGM (UGM J. Fish Sci.), 1 (1): 1-8
- Kordi K., M.G.H. 2001. **Usaha Pembesaran Ikan Kerapu di Tambak**. Kanisius. Yogyakarta.



- Maftuch. 2005. **Imonodeteksi Antigen Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) Yang Terinfeksi *Vibrio harveyi***. Makalah Seminar Dalam Rangka Dies Natalis Universitas Brawijaya Bekerjasama Dengan Pemerintah Kabupaten Sitobondo. 10 hal.
- Mogle, P., B., Carl B. Schreck, 1990. **Methods for Fish Biology**. American fisheries Society. Betresca. Maryland. USA.
- Murdjani, Muhammad. 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. I PB. 158 hal.
- Nuchsin, R., Ariani H. 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. 47 – 51 hal.
- Nur'aini, Yani Lestari. 2004. **Status Perkembangan Penyakit Ikan Dan Udang Di Indonesia Dan Strategi Pengendaliaannya**. Makalah Pelatihan Pembenihan 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.
- 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., Lorcaine M.W., 1984. **Patofisiologi Konsep Klinik Proses-proses Penyakit ; Alih bahasa : A. Dharma**. Edisi 2, Bag I. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 60 –70.
- Purbomartono, C. 2004. **Peningkatan Ketahanan Tubuh Udang Melalui Pemberian Immunostimulan Levamisol**. Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Purwokerto.
- Radiopoetro. 1991. **Zoology**. Erlangga. Jakarta. 619 hal.
- Ratnawati, A. 2003. **Penggunaan Ekstrak Kasar *Aeginura sp.* untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi***. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 68 hal.

- Romimohtarto, Kasijan dan Sri Juwana. 2005. **Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut**. Cetakan Ke-2. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Randall, J.E. 1987. **A Preliminary Synopsis of The Grouper (Perciformes; Serranidae; Ephinephelinae) of Pacific Region**. J.J Polovina and S. Ralston (editors), Boulders and London: Tropical snapper and Groupers: Biology and Fisheries management. Wesview Press inc.
- Robinson, T., 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi**. Penerbit ITB. Bandung
- 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.
- Rukyani, A., 1993. **Penanggulangan Penyakit Udang Windu (Penaeus monodon) dalam Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Budidaya Pantai**, Maros 16 –19 Juli 1993
- Saeed, O., 1995. **Association of *Vibrio harveyi* with Mortalities in Cultured Marine Fish in Quait Aquaculture**.
- Sakai, M. 1998. **Current Research Status of Fish Immunostimulants**. Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki 889-21-Japan. Aquaculture 172 : 63-92 pp.
- Sanoesi, E; S. Andayani dan M. Fajar. 2002. **Introduksi Pemanfaatan Silase Ikan Rucah sebagai Pakan terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dalam Jurnal Ilmu-ilmu Hayati**. Vol. 14 No.1. Hal 84 – 93.
- Sachlagel, H. G dan K. Schmidth. 1994. **Mikrobiologi Umum**. Alih Bahasa : Tedjo Baskoro. Edisi Keenam. UGM Press. Yogyakarta.
- Secombes, C.J. 1996. **The nonspecific immune system : Cellular defenses**. In Iwama & Nakanishi (Eds) **The fish immune system : Organism, Pathogen, and Environment**. Academic Press. California, USA.
- Setiawati, A., 1995, **Farmakologi dan Terapi**. Edisi 4. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Sibernagl, Steven and Agamemnon Despopoulos. 1995. **Fisiologi; Atlas Berwarna dan Teks**. Alih Bahasa : Y. Handojo. Edisi 4. Penerbit Hipokrates. Jakarta
- Sudjiharno dan Tjahjo Winanto, 1999. **Pemilihan Lokasi Pembenuhan Ikan Kerapu Macan dan Pembenuhan Kerapu Macan**. Departemen Pertanian. Direktorat Jenderal Perikanan. Balai Budidaya Lampung.
- Sunyoto, H. 1994. **Pembesaran Kerapu Dalam Keramba Jaring Apung**. Penebar Swadaya. Jakarta. 65 hal.

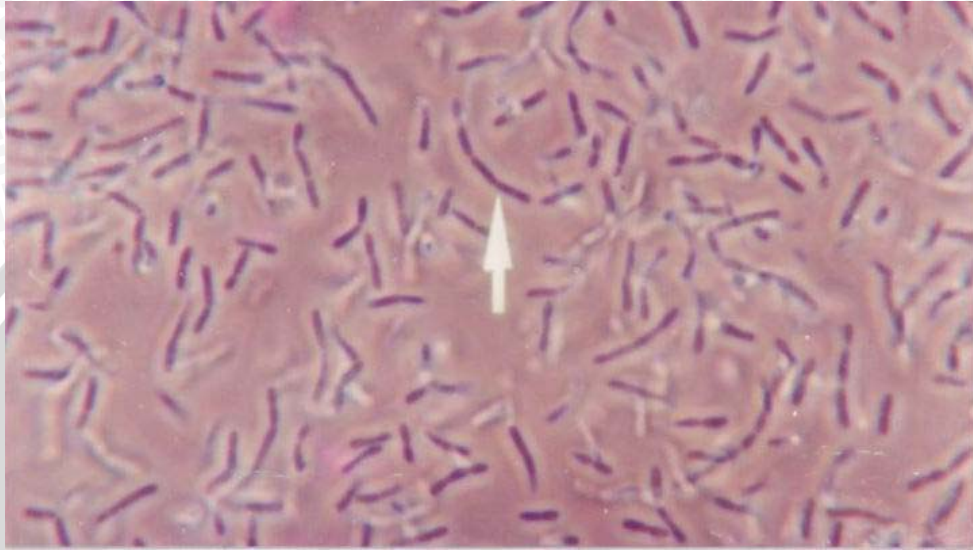


- Surakhmad, W. 1989. **Pengantar Penelitian Ilmiah. Dasar Metode Dan Teknik.** Edisi Ketujuh. Bandung. 127 hal.
- Tampubolon, G. H. dan E. Mulyadi. 1989. **Synopsis Ikan Kerapu Di Perairan Indonesia.** Balitbangkan, Semarang.
- Tizard, I., 1987. **An Introduction to Veterinary Immunology.** Penerjemah : P. Masduki dan S. Hardjosworo. **Pengantar Immunologi Veteriner.** Universitas Airlangga. Surabaya
- 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.
- Yitnosumarno, S. 1993. **Percobaan Perancangan Analisis dan Interpretasinya.** PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 294 hal
- Yanuhar, U., Maftuch, Satuman., Sukoso., Sumarno. 2004. **Karakteristik Molekul Adesi Protein Pili *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus* Pada Sel Epitel Ikan Kerapu Tikus *Cromileptes altivelis*.** Prosiding Pengendalian Penyakit Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi Dan Biosecurity. Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang IV. Purwekerto. 8 hal
- Yoshida, S. 2005. **Pengaruh Pemberian bahan Aktif Alkaloid dari Ubur-Ubur (*Bougainvillia* sp.) melalui Pakan Terhadap Perubahan Gambaran Darah Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) yang Terinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*.** Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Tidak Diterbitkan.

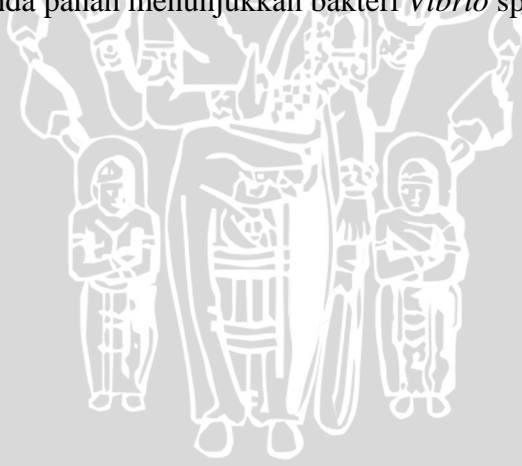


## LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Preparat Bakteri Setelah Pewarnaan Gram (1000x)



Tanda panah menunjukkan bakteri *Vibrio* spp.



Lampiran 2. Gambar Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)



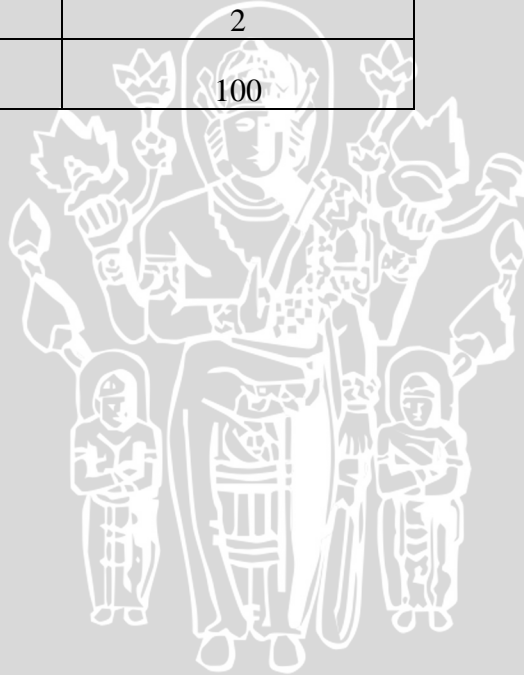
Lampiran 3. Gambar Bak Pemeliharaan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)





**Lampiran 4. Tabel Komposisi Pakan Ikan Uji (Sanoesi *et al*, 2002)**

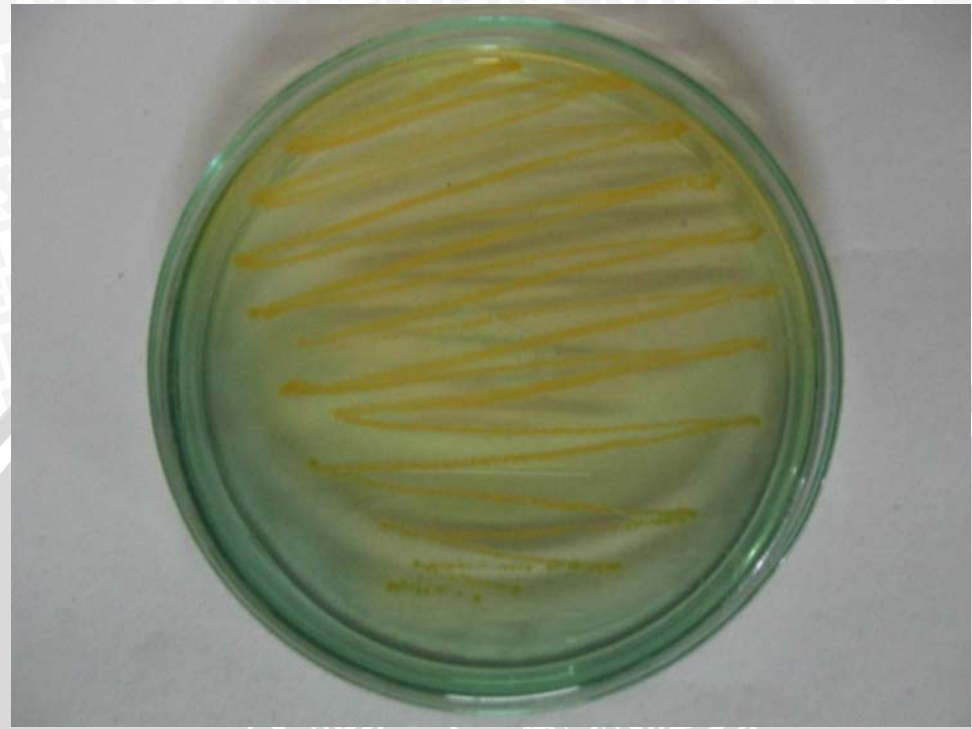
Bahan	(%)
Tepung Silase Ikan Rebus	57,5
Tepung Kepala Udang	17
Tepung Kedelai	10
Tepung Jagung	6
Minyak	5
Vitamin	2,5
Mineral	2
Jumlah	100



Lampiran 5. Pakan Yang Mengandung Alkaloid dari Ubur-ubur (*Bougainvillia* sp.)

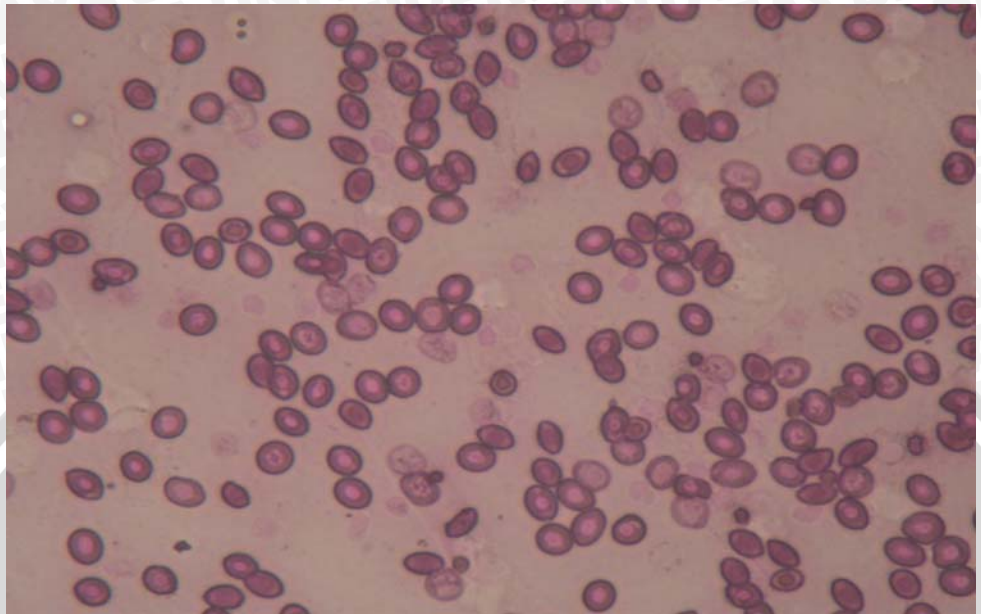


Lampiran 6. Gambar Biakan Murni Bakteri *Vibrio harveyi*

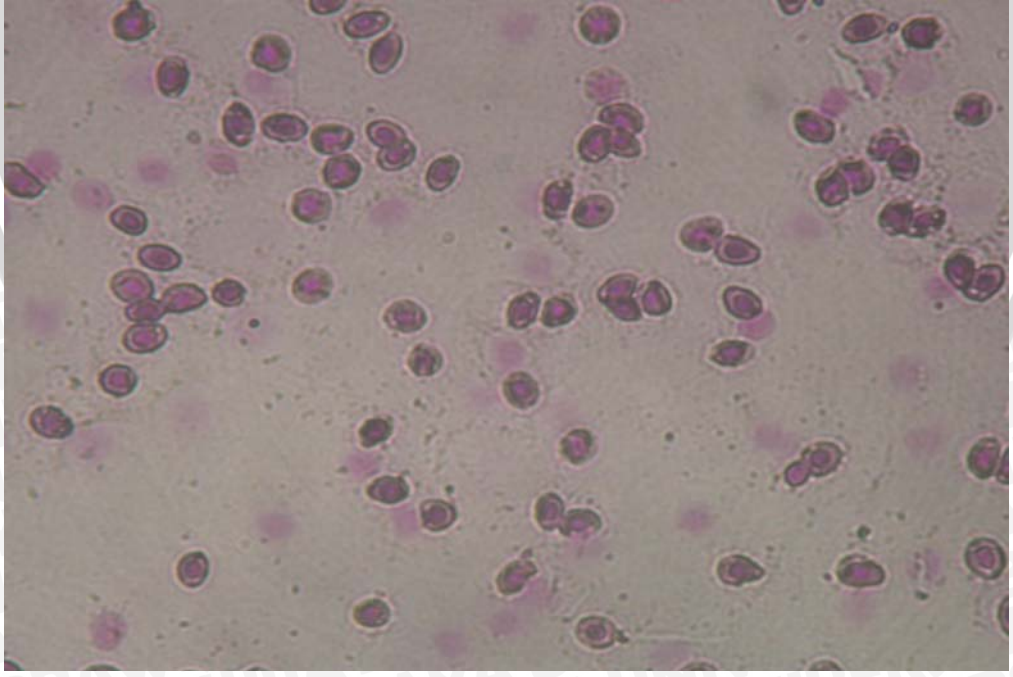




Lampiran 7. Gambar darah ikan uji (400x)



Sel darah sebelum terjadi infeksi bakteri *V.harveyi*



Sel darah setelah terjadi infeksi bakteri *V.harveyi*



**Lampiran 8. Data Perhitungan nilai hematokrit, total eritrosit dan leukosit ikan uji**

**A. Pengamatan Nilai Hematokrit pada hari ke-28**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	31,850	,9192	,6500	23,591	40,09	31,2	32,5
B	2	33,800	,5657	,4000	28,718	38,882	33,4	34,2
C	2	36,100	,5657	,4000	31,018	41,182	35,7	36,5
D	2	32,750	,9192	,6500	24,491	41,009	32,1	33,4
Total	8	33,625	1,7918	,6335	32,127	35,123	31,2	36,5

**ANOVA**

Jumlah Hematokrit

	JK	df	kuadrat tengah	F	Sig.
Perlakuan	20,145	3	6,715	11,528	,019
Acak	2,330	4	,582		
Total	22,475	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

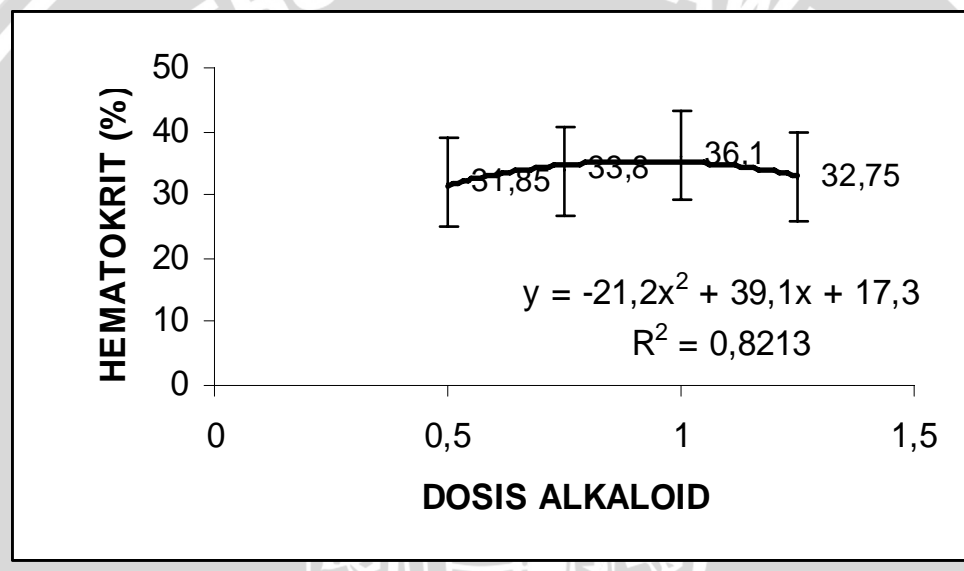
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05	
		1	2
A	2	31,850	
D	2	32,750	
B	2	33,800	
C	2		36,100
Sig.		,067	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,124	,28	2	,648	13,9875	39,1000		
Quadratik	,821	2,30	1	,423	17,3000	39,1000	-21,2	
Cubik	1,000	,000	0	.	17,3000	41,1500	-21,2	-78,141

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Nilai Hematokrit Ikan Uji**





**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**B. Pengamatan Nilai Hematokrit pada hari ke-30**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas bawah	Batas Atas		
A	2	26,650	,7778	,5500	19,662	33,638	26,1	27,2
B	2	30,000	,2828	,2000	27,459	32,541	29,8	30,2
C	2	33,850	1,3435	,9500	21,779	45,921	32,9	34,8
D	2	27,900	,4243	,3000	24,088	31,712	27,6	28,2
Total	8	29,600	2,9833	1,0548	27,106	32,094	26,1	34,8

**ANOVA**

Hematokrit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	59,630	3	19,877	29,778	,003
Acak	2,670	4	,667		
Total	62,300	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

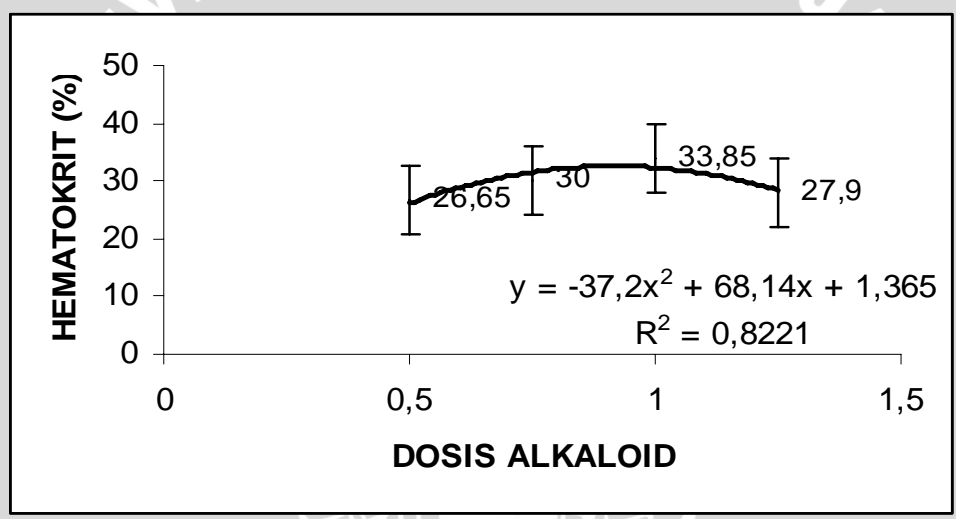
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	26,650		
D	2	27,900	27,900	
B	2		30,000	
C	2			33,850
Sig.		,201	,062	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,097	,21	2	,689	0,4475	68,140		
Quadratic	,822	2,31	1	,422	1,3650	68,140	-37,200	
Cubic	1,000	,000	0	.	1,3650	67,380	-37,200	-,4292

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Nilai Hematokrit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**C. Pengamatan Nilai Hematokrit pada hari ke-32**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas bawah	Batas Atas		
A	2	23,000	,7071	,5000	16,647	29,353	22,5	23,5
B	2	27,950	,6364	,4500	22,232	33,668	27,5	28,4
C	2	31,150	,3536	,2500	27,973	34,327	30,9	31,4
D	2	24,650	1,4849	1,0500	11,308	37,992	23,6	25,7
Total	8	26,688	3,4174	1,2082	23,831	29,544	22,5	31,4

**ANOVA**

hematokrit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	78.514	3	26,171	32,360	,003
Acak	3,235	4	,809		
Total	81,749	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	23,000		
D	2	24,650		
B	2		27,950	
C	2			31,150
Sig.		,140	1,000	1,000

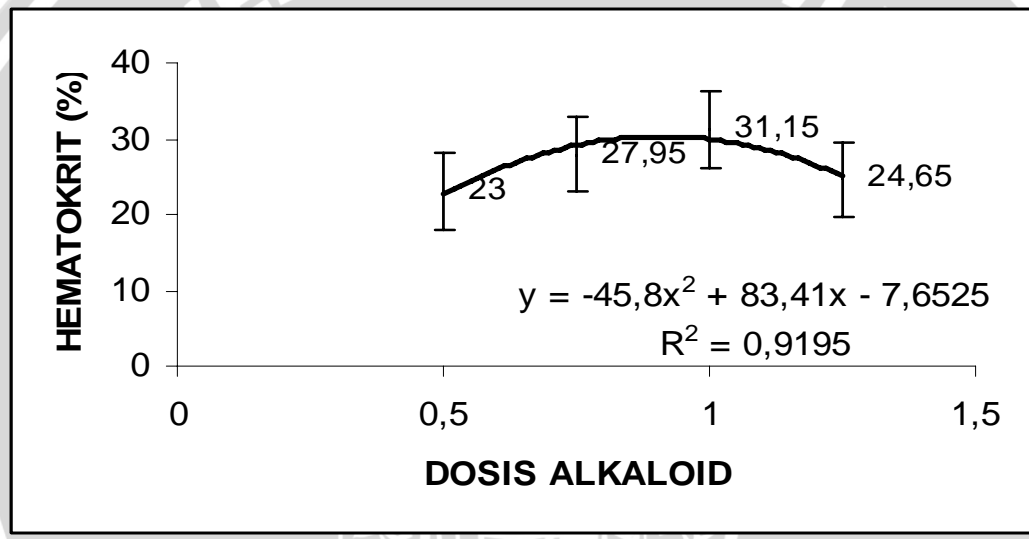
a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,085	,18	2	,709	-1,8400	83,4100		
Quadratic	,920	5,71	1	,284	-7,6525	83,4100	-45,8	
Cubic	1,000	,000	0	.	-7,6525	86,9292	-45,8	-,3312

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Nilai Hematokrit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**D. Pengamatan Nilai Hematokrit pada hari ke-34**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95%		Minimum	Maksimum
					Pada Rata-rata			
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	18,700	,5657	,4000	13,618	23,782	18,3	19,1
B	2	25,250	,4950	,3500	20,803	29,697	24,9	25,6
C	2	28,000	,2828	,2000	25,459	30,541	27,8	28,2
D	2	21,850	,6364	,4500	16,132	27,568	21,4	22,3
Total	8	23,450	3,7641	1,3308	20,303	26,597	18,3	28,2

**ANOVA**

**HEMATOKRIT**

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	98,130	3	32,710	124,610	,000
Acak	1,050	4	,263		
Total	99,180	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

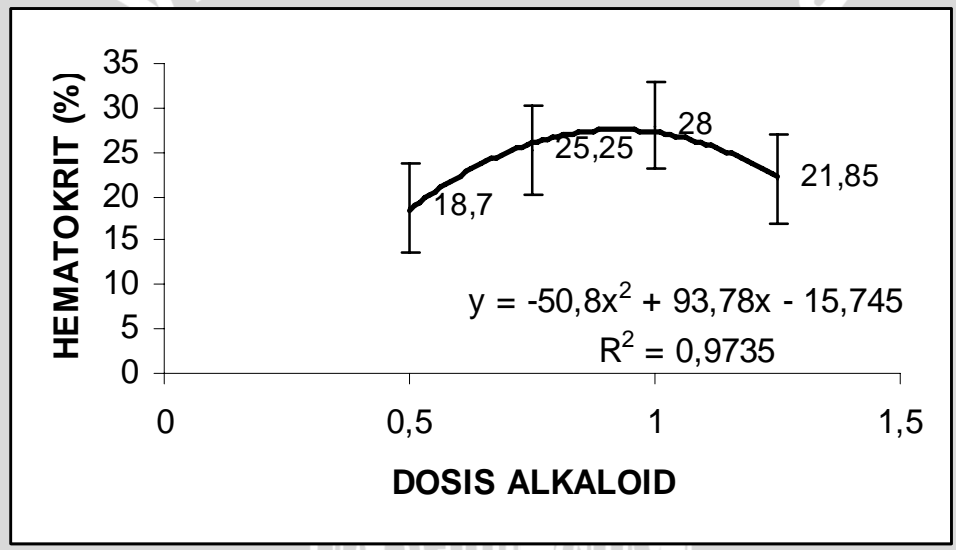
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05			
		1	2	3	4
A	2	18,700			
D	2		21,850		
B	2			25,250	
C	2				28,000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,124	,36	2	,611	47,4950	62,0300		
Quadratic	,973	18,36	1	,163	15,7450	93,7800	-50,800	
Cubic	1,000	,000	0	.	33,5900	28,3900	50,950	-1,7000

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Nilai Hematokrit Ikan Uji**





**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**E. Pengamatan Jumlah eritrosit pada hari ke-28**

**Deskriptif**

Jumlah Eritrosit pra infeksi

	N	Rata-rata	Standart Deviasi	Standart Error	Selang kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Atas	Batas Bawah		
A	2	6,46350	,006364	,004500	6,40632	6,52068	6,459	6,468
B	2	6,51000	,00141	,001000	6,49729	6,52271	6,509	6,511
C	2	6,51900	,002828	,002000	6,49359	6,54441	6,517	6,521
D	2	6,47600	,011314	,008000	6,37435	6,57765	6,468	6,484
Total	8	6,49213	,025131	,008885	6,47112	6,51313	6,459	6,521

**ANOVA**

Jumlah Eritrosit pra infeksi

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,004	3	,001	31,689	,003
Acak	,000	4	,000		
Total	,004	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

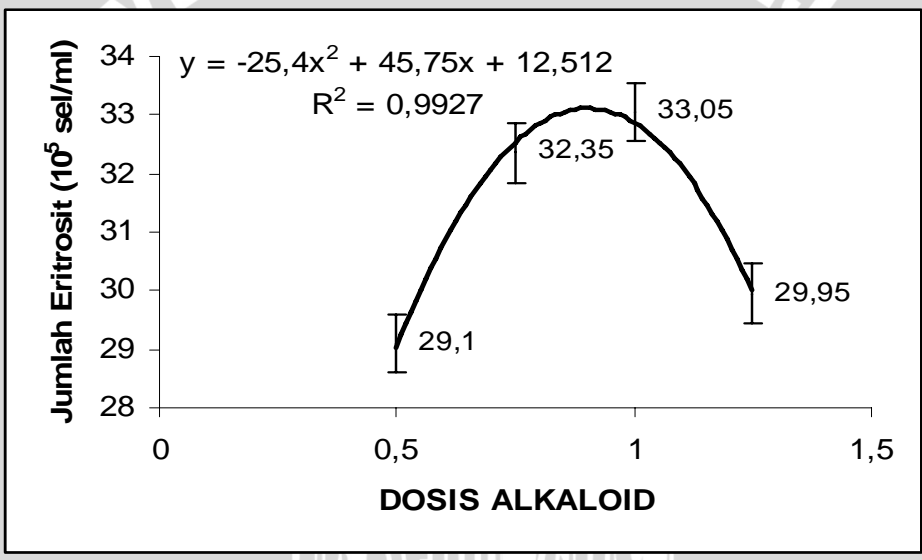
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05	
		1	2
A	2	6,46350	
D	2	6,47600	
B	2		6,51000
C	2		6,51900
Sig.		,135	,249

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,051	,11	2	,774	12,456	45,26		
Quadratic	,993	100,39	1	,070	12,512	45,75	-25,4	
Cubic	1,000	,000	0	.	12,512	47,75	-25,4	-0,0006

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Eritrosit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**F. Pengamatan Jumlah eritrosit pada hari ke-30**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Standart deviasi	Standart error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
					A	2		
B	2	6,45850	,013435	,009500	6,33779	6,57921	6,449	6,468
C	2	6,49300	,005657	,004000	6,44218	6,54382	6,489	6,497
D	2	6,44400	,016971	,012000	6,29153	6,59647	6,432	6,456
Total	8	6,45275	,031047	,010977	6,42679	6,47871	6,413	6,497

**ANOVA**

**JUMLAH ERITROSIT INFEKSI HARI 1**

	JK	df	KT	F	Sig.
Diantara grup	,006	3	,002	16,204	,011
Didalam grup	,001	4	,000		
Total	,007	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

**Duncan<sup>a</sup>**

Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	6,41550		
D	2	6,44400	6,44400	
B	2		6,45800	
C	2			6,49300
Sig.		,069	,292	1,000

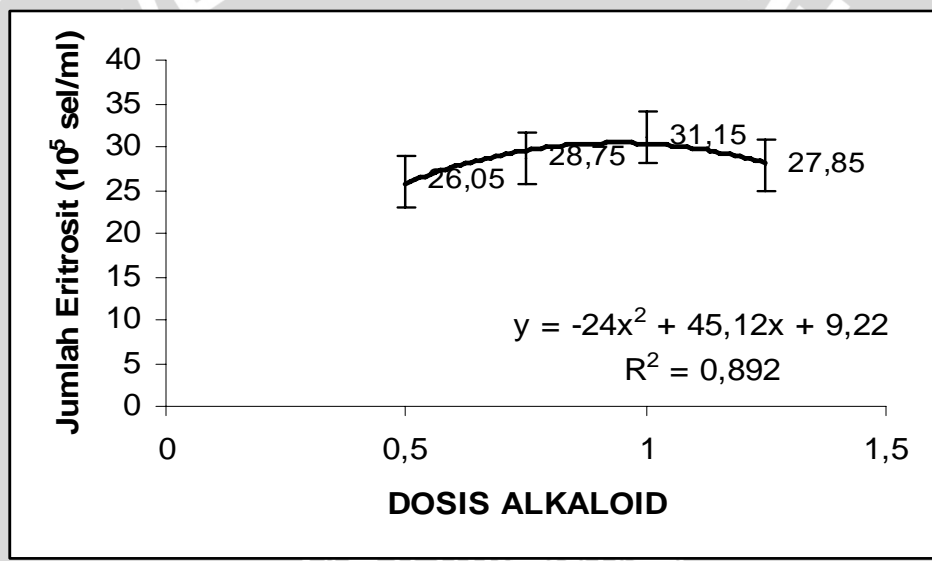
a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,231	,60	2	,519	9,163	45,12		
Quadratic	,892	5,04	1	,300	9,220	45,12	-24	
Cubic	1,000	,000	0	.	9,220	45,15	-24	-,0031

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Eritrosit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**G. Pengamatan Jumlah eritrosit pada hari ke-32**

**Deskriptif**

JUMLAH ERITROSIT INFEKSI HARI 3

	N	Rata-rata	Standart Deviasi	Standart. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	6,69900	,005657	,004000	6,33918	6,44082	6,386	6,394
B	2	6,43250	,004950	,003500	6,38803	6,47697	6,429	6,436
C	2	6,46650	,010607	,007500	6,37120	6,56180	6,459	6,474
D	2	6,39600	,004243	,003000	6,35788	6,43412	6,393	6,399
Total	8	6,42125	,033303	,011774	6,39341	6,44909	6,386	6,474

**ANOVA**

JUMLAH ERITROSIT INFEKSI HARI 3

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,008	3	,003	54,021	,001
Acak	,000	4	,000		
Total	,008	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

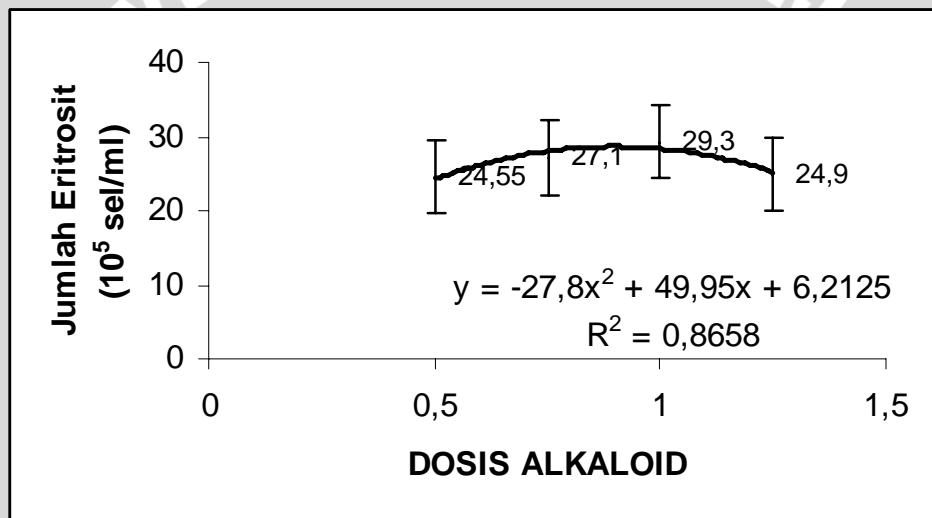
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	6,39000		
D	2	6,39600		
B	2		6,43250	
C	2			6,46650
Sig.		,430	1,000	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,036	,07	2	,881	6,142	49,95		
Quadratic	,866	3,61	1	,349	6,213	49,95	-27,8	
Cubic	1,000	,000	0	.	6,213	49,98	-27,8	-,0040

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Eritrosit Ikan Uji**





**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**H. Pengamatan Jumlah eritrosit pada hari ke-34**

**Deskriptif**

JUMLAH ERITROSIT INFEKSI HARI 5

	N	Rata-rata	Standart Deviasi	Standart. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	6,25200	,008485	,006000	6,17576	6,32824	6,246	6,258
B	2	6,35600	,011314	,008000	6,25435	6,45765	6,348	6,364
C	2	6,42600	,007071	,005000	6,36247	6,48953	6,421	6,431
D	2	6,32300	,009899	,007000	6,23406	6,41194	6,316	6,330
Total	8	6,33925	,067309	,023797	6,28298	6,39552	6,246	6,431

**ANOVA**

JUMLAH ERITROSIT INFEKSI HARI 5

	JK	df	KT	F	Sig.
Diantara Grup	,031	3	,010	120,174	,000
Didalam Grup	,000	4	,000		
Total	,032	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

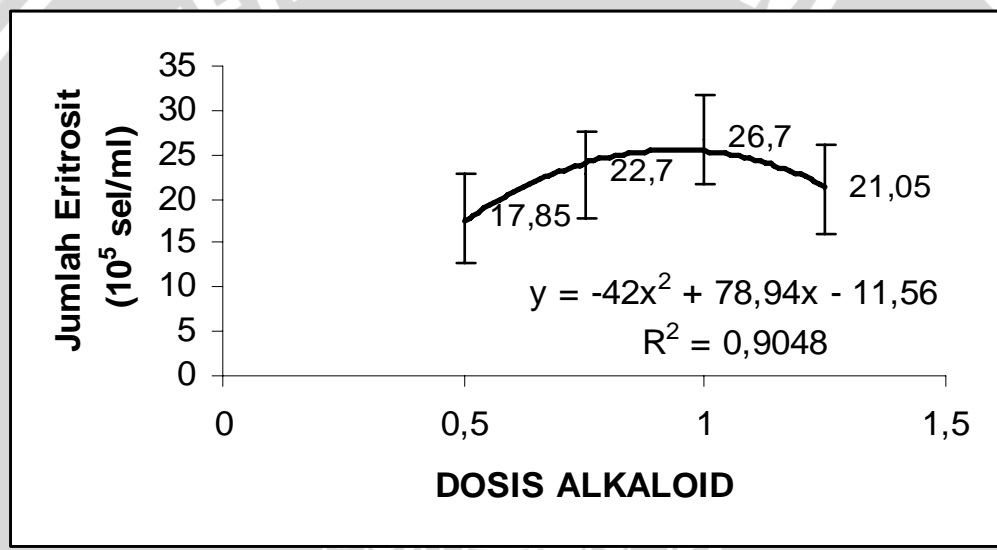
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05			
		1	2	3	4
A	2	6,25200			
D	2		6,32300		
B	2			6,35600	
C	2				6,42600
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,225	,69	2	,495	-11,43	78,94		
Quadratic	,905	7,62	1	,248	-11,56	78,94	-42	
Cubic	1,000	,000	0	.	-11,56	78,99	-42	-,0058

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Eritrosit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**I. Pengamatan Jumlah leukosit pada hari ke-28**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	4,80400	,004243	,003000	4,76588	4,84212	4,801	4,807
B	2	4,83200	,001414	,001000	4,81929	4,84471	4,831	4,833
C	2	4,85200	,008485	,006000	4,77576	4,92824	4,846	4,858
D	2	4,81700	,004243	,003000	4,77888	4,85512	4,814	4,820
Total	8	4,82625	,019506	,006897	4,80994	4,84256	4,801	4,858

**ANOVA**

Jumlah Leukosit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,003	3	,001	30,952	,003
Acak	,000	4	,000		
Total	.,003	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	4,80400		
D	2	4,81700		
B	2		4,83200	
C	2			4,85200
Sig.		,068	1,000	1,000

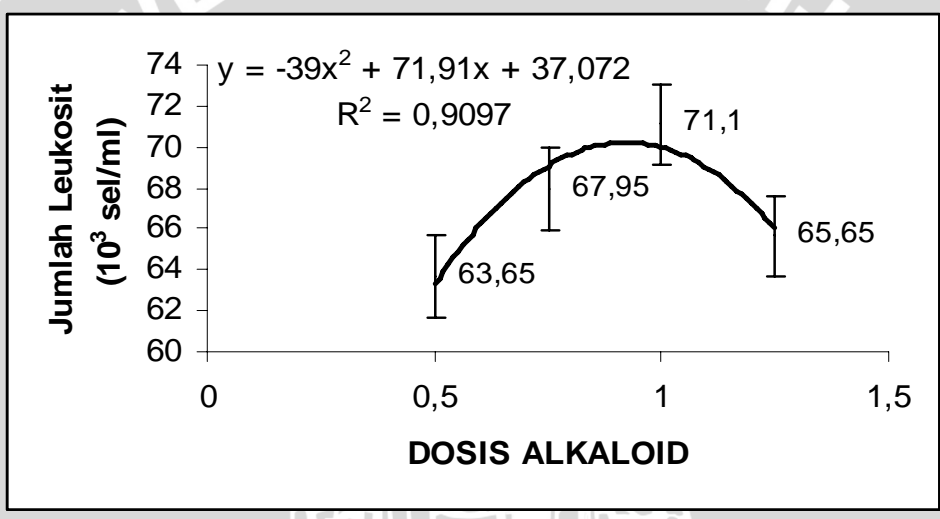
a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,136	,32	2	,631	37,033	71,91		
Quadratic	,909	5,28	1	,294	37,072	71,91	-39	
Cubic	1,000	,000	0	.	37,072	71,93	-39	-,0020

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Leukosit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**J. Pengamatan Jumlah leukosit pada hari ke-30**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	4,83100	,002828	,002000	4,80559	4,85641	4,829	4,833
B	2	4,87750	,004950	,003500	4,83303	4,92197	4,874	4,881
C	2	4,92850	,004950	,003500	4,88403	4,97297	4,925	4,932
D	2	4,84350	,003536	,002500	4,81173	4,87527	4,841	4,846
Total	8	4,87013	,040484	,014313	4,83628	4,90397	4,829	4,932

**ANOVA**

Jumlah leukosit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,011	3	,004	218,770	,000
Acak	,000	4	,000		
Total	,011	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

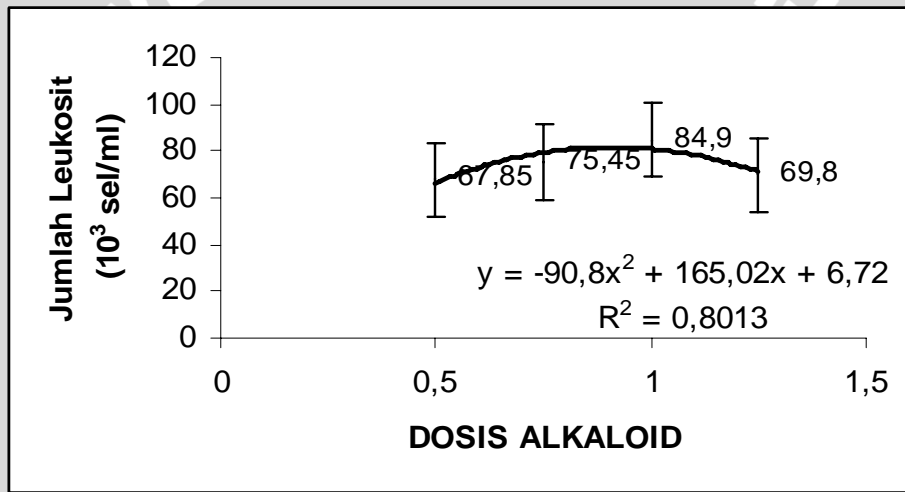
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05			
		1	2	3	4
A	2	4,83100			
D	2		4,84350		
B	2			4,87750	
C	2				4,92850
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,069	,15	2	,738	6,64	165,02		
Quadratic	,801	2,39	1	,416	6,72	165,02	-90,8	
Cubic	1,000	,000	0	.	6,72	165,068	-90,8	-,0059

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Leukosit Ikan Uji**





**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**K. Pengamatan Jumlah leukosit pada hari ke-32**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	4,87650	,007778	,005500	4,80662	4,94638	4,871	4,882
B	2	4,95200	,004243	,003000	4,91388	4,99012	4,949	4,955
C	2	4,98650	,004950	,003500	4,94203	5,03097	4,983	4,990
D	2	4,91400	,004243	,003000	4,87588	4,95212	4,911	4,917
Total	8	4,93225	,044190	,015624	4,89531	4,96919	4,871	4,990

**ANOVA**

Jumlah Leukosit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,014	3	,005	149,295	,000
Acak	,000	4	,000		
Total	,014	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

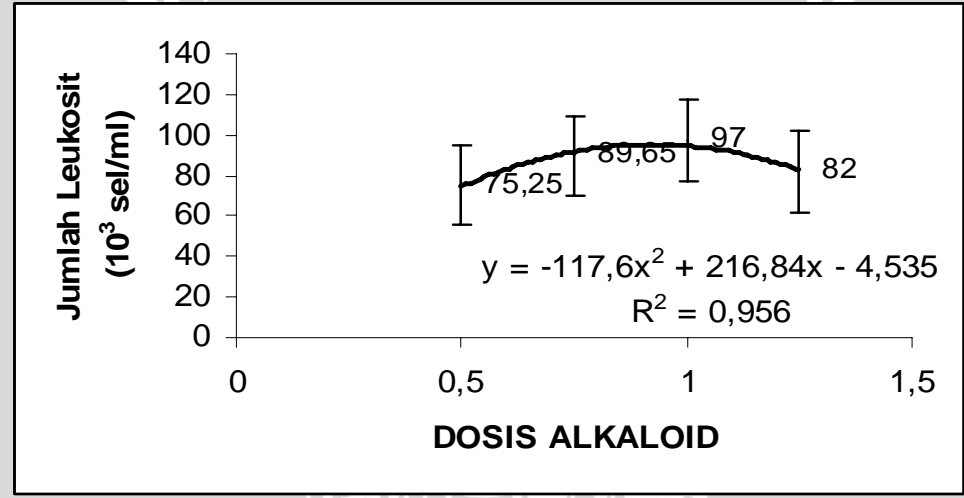
Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05			
		1	2	3	4
A	2	4,87650			
D	2		4,91400		
B	2			4,95200	
C	2				4,98650
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.

**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	,159	,38	2	,601	-3,61	216,84		
Quadratic	,956	15,05	1	,179	-4,535	216,84	-117,6	
Cubic	1,000	,000	0	.	-4,535	442,84	-117,6	-,0028

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Leukosit Ikan Uji**



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

**L. Pengamatan Jumlah leukosit pada hari ke-34**

**Deskriptif**

	N	Rata-rata	Std. Deviasi	Std. Error	Selang Kepercayaan 95% Pada Rata-rata		Minimum	Maksimum
					Batas Bawah	Batas Atas		
A	2	4,90850	,004950	,003500	4,86403	4,95297	4,905	4,912
B	2	4,98100	,002828	,002000	4,95559	5,00641	4,979	4,983
C	2	5,03250	,019092	,013500	4,86097	5,20403	5,019	5,046
D	2	4,93150	,006364	,004500	4,87432	4,98868	4,927	4,936
Total	8	4,96338	,051644	,018259	4,92020	5,00655	4,905	5,046

**ANOVA**

Jumlah Leukosit

	JK	df	KT	F	Sig.
Perlakuan	,018	3	,006	55,565	,001
Acak	,000	4	,000		
Total	,019	7			

**Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Duncan<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset untuk alpha = .05		
		1	2	3
A	2	4,90850		
D	2	4,93150		
B	2		4,98100	
C	2			5,03250
Sig.		,093	1,000	1,000

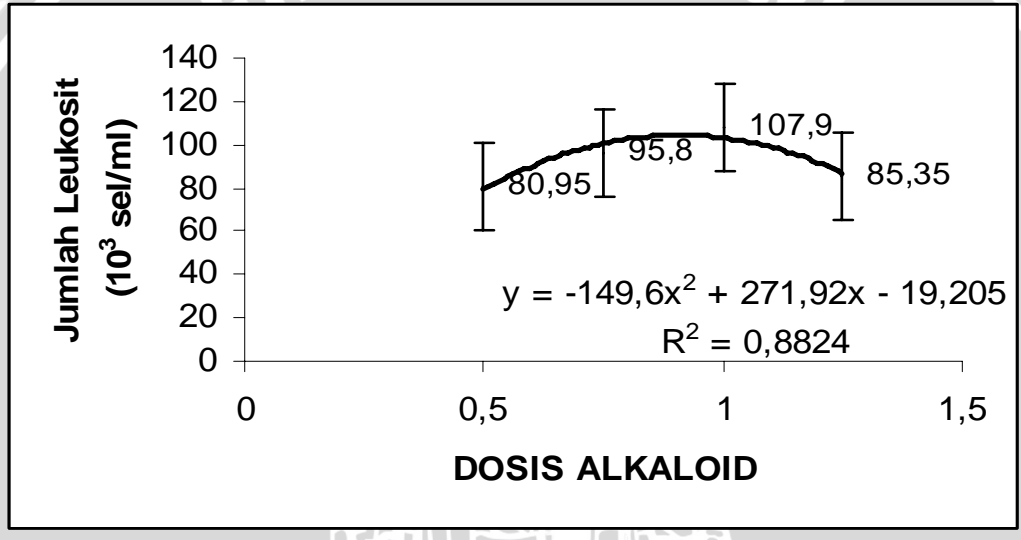
a. Penggunaan ukuran rata-rata sampel = 2,000.



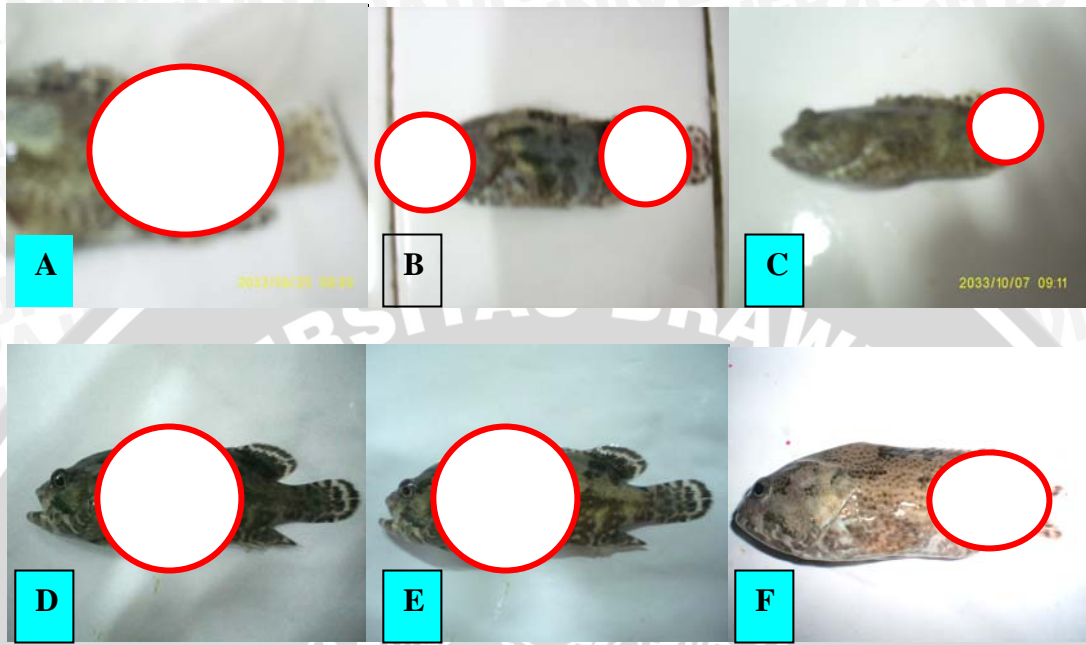
**Lampiran 8. (Lanjutan)**

	Parameter Estimasi							
	R <sup>2</sup>	F	df	Sig.	Constant	b1	b2	b3
Linear	.032	.07	2	.822	-19.0881	271.92		
Quadratic	.882	4.31	1	.322	-19.205	271.92	-149.6	
Cubic	1.000	.000	0	.	-19.205	271.969	-149.6	-.0060

**Grafik Hubungan antara Dosis Alkaloid dengan Jumlah Leukosit Ikan Uji**



**Lampiran 9. Gambar Gejala Patologi Klinis Ikan Uji yang terkena Infeksi dari Bakteri *Vibrio harveyi***



Perubahan gejala klinik ikan kerapu macan pasca ujiantang. A. luka (*ulcer*) pada jaringan kulit dan otot; B. mulut dan sirip ekor merah-merahan ; C. kerusakan sirip (*fin rot*) ; D. tubuh kehitam-hitaman (*melanisasi*) ; E. lendir berlebih ; F. bercak merah (*petikiae*)