

**EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BIJI  
(*Psidium guajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI OTOT IKAN PATIN  
(*Pangasius sp.*) YANG DIUJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:

**A.KHUSNUL YAQIN  
NIM.125080501111020**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BIJI  
(*Psidium guajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI OTOT IKAN PATIN  
(*Pangasius sp.*) YANG DIUJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

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

Oleh:

**A.KHUSNUL YAQIN  
NIM.125080501111020**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

SKRIPSI  
EFEKTIVITAS IMUNOSTIMULAN EKSTRAK KASAR DAUN JAMBU BJI  
(*Pseudum guajava*) TERHADAP HISTOPATOLOGI OTOT IKAN PATIN  
(*Pangasius sp.*) YANG DIUJI TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh:  
A.KHUSNUL YAGIN  
NIM. 125080501111020

telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 5 Agustus 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
Tanggal : \_\_\_\_\_

Mengetahui,  
Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Muhammad Fadjar, M.Sc)  
NIP. 19621014 198701 1 001  
Tanggal : 15 AUG 2016

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal : 15 AUG 2016

Dosen Penguji II

(Ir. Heny Suprasfyani, MS)  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal : 15 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)  
NIP. 19630924 199803 2002  
Tanggal : 15 AUG 2016

Mengetahui  
Ketua Jurusan



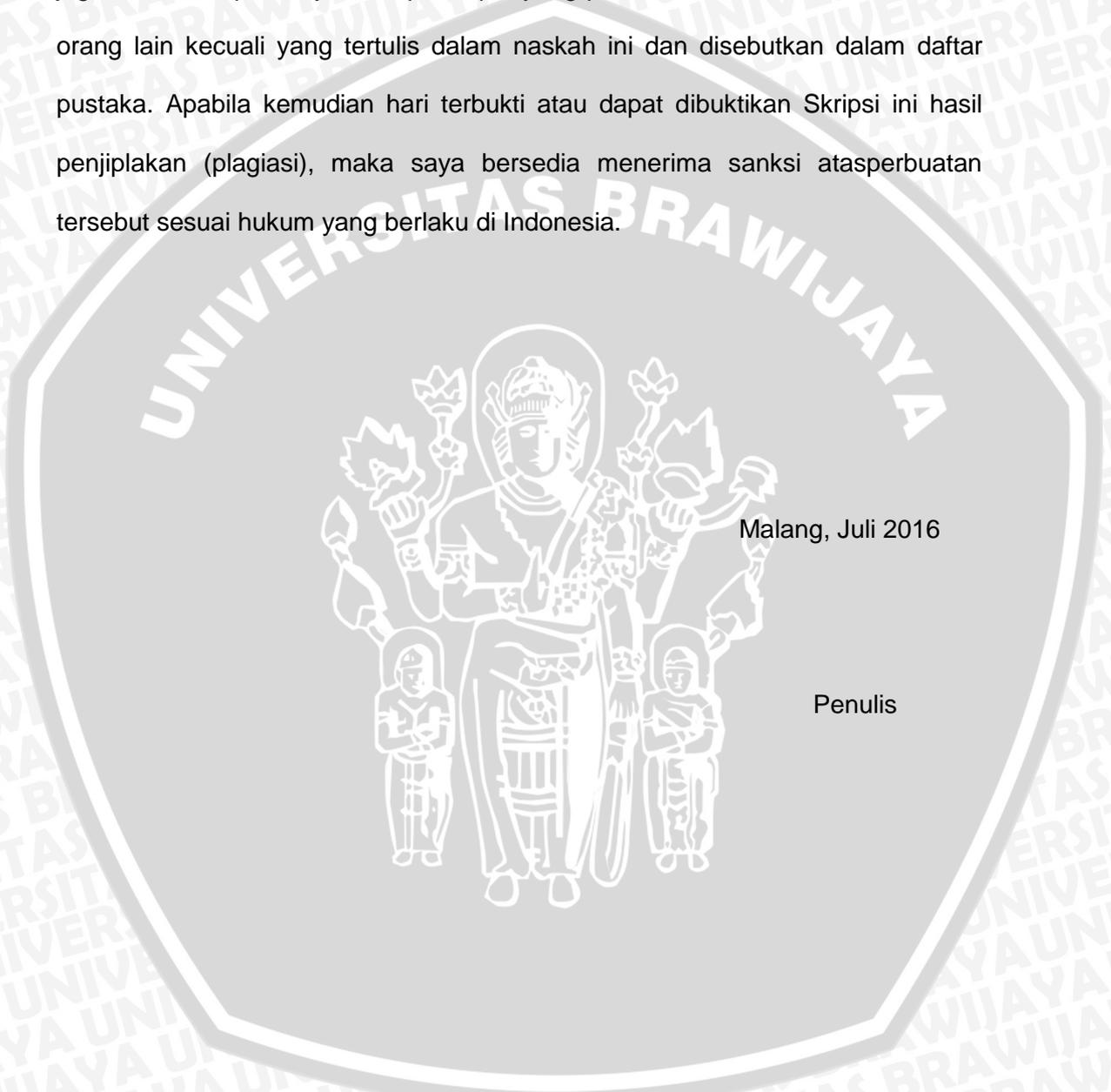
(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)  
NIP. 19620805/198603 2 001

## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Malang, Juli 2016

Penulis



## RINGKASAN

**A.Khusnul Yaqin.** Efektivitas Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava*) terhadap Histopatologi Otot Ikan Patin (*Pangasius Sp.*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M, Si dan Ir.Ellana Sanoesi, MP**).

---

---

Ikan Patin (*Pangasius sp.*) merupakan ikan istimewa, karena selain sebagai ikan konsumsi yang tergolong mewah, ikan Patin juga digunakan sebagai ikan hias. Sebagai ikan konsumsi, ikan Patin mempunyai nilai ekonomis yang termasuk tinggi diantara ikan air tawar lainnya. Dagingnya pun rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam, mudah dicerna oleh usus serta mengandung banyak kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan tubuh. Kegiatan budidaya ikan Patin ini juga tidak dapat lepas dari berbagai kendala salah satunya dari gangguan penyakit, salah satu penyakit yang sering menginfeksi ikan Patin adalah penyakit bakterial, Penyakit bakterial yang umum menyerang adalah *Aeromonas hydrophila*. Melihat dampak yang diakibatkan oleh infeksi bakteri ini maka perlu dilakukan upaya penanggulangan serta pengobatan dengan cara peningkatan imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) salah satunya yaitu dengan menggunakan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histotapologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* serta untuk mengetahui dosis terbaik pemberian ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan, Ilmu Kelautan dan Rumah Sakit Syaiful Anwar (RSSA) Malang.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini terdiri dari tiga perlakuan dengan dua control yaitu kontrol positif dan kontrol negatif dengan tiga kali ulangan. Sebagai perlakuan pemberian ekstrak daun jambu biji yaitu A = dosis 2%, B = dosis 4%, C = dosis 6% sedangkan K(+) = dosis 0% dan K(-) = tanpa diinfeksi dan tanpa pemberian ekstrak daun jambu biji. Parameter utama pada penelitian ini adalah analisis statistik pemberian skoring jaringan otot ikan Patin (*Pangasius sp.*), sebagai parameter penunjang adalah pH, suhu dan oksigen terlarut.

Pengamatan histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*), setiap perlakuan mengalami degenerasi hialin, nekrosis, dan edema. Pada perlakuan A (2%) jaringan mengalami kerusakan yang berat, perlakuan B (4%) jaringan mengalami kerusakan yang sedang, perlakuan B (6%) jaringan mengalami kerusakan yang berat, perlakuan K+ (0%) jaringan mengalami kerusakan yang sangat berat, Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah kualitas air dan hasilnya air pada akuarium masih dikatakan optimal untuk media hidup ikan Patin.

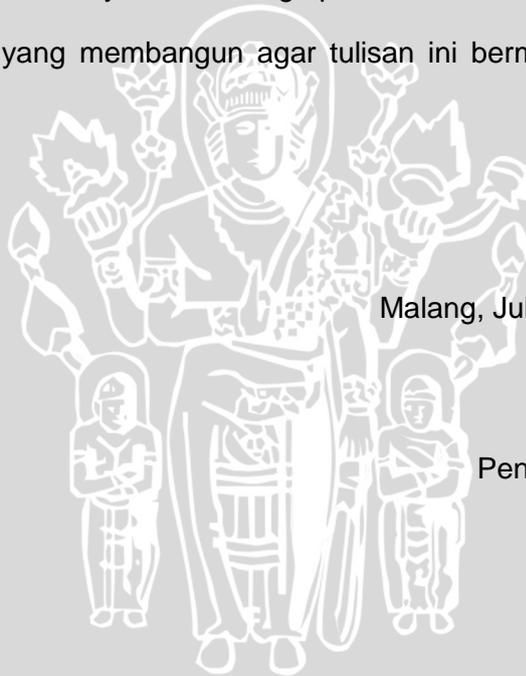
## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Efektifitas Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) terhadap Histopatologi Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangtepatan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juli 2016

Penulis



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenalkan penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Bapak Dr.Ir Maftuch, MS selaku dosen pembimbing 1 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis.
- Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing 2 yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan dan nasehat bagi penulis.
- Bapak Dr. Ir. Muhammad Fadjar, M. Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan
- Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan
- Muhson dan Munikmah selaku orang tua yang telah memberikan do'a, dukungan, dan nasehat bagi penulis.
- Teman-teman Aquasean BP 2012, yang telah mengukir sejarah bersama dalam kehidupan penulis selama menimba ilmu di kampus Universitas Brawijaya.
- Semua pihak yang telah banyak membantu penulis selama pembuatan

Malang, Juli 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	i
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	ii
<b>RINGKASAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iv
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	ix
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> ) .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> ) .....	5
2.1.2 Zat Antimikroba Daun Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> ).....	6
2.2 Biologi Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ).....	6
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ).....	6
2.2.2 Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) .....	8
2.2.3 Habitat dan Penyebaran .....	8
2.2.4 Pakan dan Kebiasaan Makan .....	9
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	9
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan .....	10
2.3.3 Uji Tantang Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	11
2.4 Immunostimulan.....	11
2.4.1 Metode Pemberian Immunostimulan.....	11
2.4.2 Mekanisme Kerja Immunostimulan.....	12
2.5 Histopatologi .....	12
2.5.1 Pengertian Histopatologi.....	12

2.5.2 Pengamatan Histopatologi -----	13
2.6 Parameter Kualitas Air-----	15
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN</b>	
3.1 Materi Penelitian -----	17
3.1.1 Alat Penelitian -----	17
3.1.2 Bahan Penelitian -----	18
3.2 Metode Penelitian-----	20
3.3 Rancangan Penelitian-----	20
3.3.1 Penelitian Pendahuluan-----	21
3.3.2 Penelitian Utama -----	22
3.4 Prosedur Penelitian-----	24
3.4.1 Persiapan Penelitian -----	24
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian -----	28
3.5 Parameter Uji -----	31
3.5.1 Parameter Utama -----	31
3.5.2 Parameter Penunjang-----	31
3.6 Analisis Data -----	31
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Gambaran Histopatologi Otot -----	32
4.1.1 Gambaran Histopatologi Otot Ikan Normal dan Ikan yang Diuji Tantang Bakteri <i>A. hydrophila</i> -----	32
4.1.2 Gambaran Histopatologi Otot pada Masing-Masing Perlakuan -----	33
4.2 Analisa Data Kerusakan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> )-----	36
4.2.1 Degenerasi hialin-----	36
4.2.2 Nekrosis -----	39
4.2.1 Edema -----	42
4.3 Pengamatan Kualitas Air-----	46
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan-----	48
5.2 Saran -----	48
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> -----	<b>49</b>
<b>LAMPIRAN</b> -----	<b>53</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jambu Biji ( <i>Psidium guajava</i> )-----	5
2. Ikan Patin ( <i>Pangasius</i> sp)-----	7
3. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> -----	10
4. Denah Penelitian Pendahuluan-----	22
5. Denah Penelitian Utama -----	23
6. (A). Histopatologi Otot Ikan Sehat dan (B). Histopatologi Otot Ikan Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> -----	32
7. Histopatologi Otot Ikan pada Tiap Perlakuan, -----	34
8. Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Daun Jambu Biji ( <i>psidium guajava</i> ) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot-----	38
9. Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Daun Jambu Biji ( <i>psidium guajava</i> ) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Nekrosis pada Jaringan Otot-----	42
10. Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Daun Jambu Biji ( <i>psidium guajava</i> ) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Edema pada Jaringan Otot-----	45

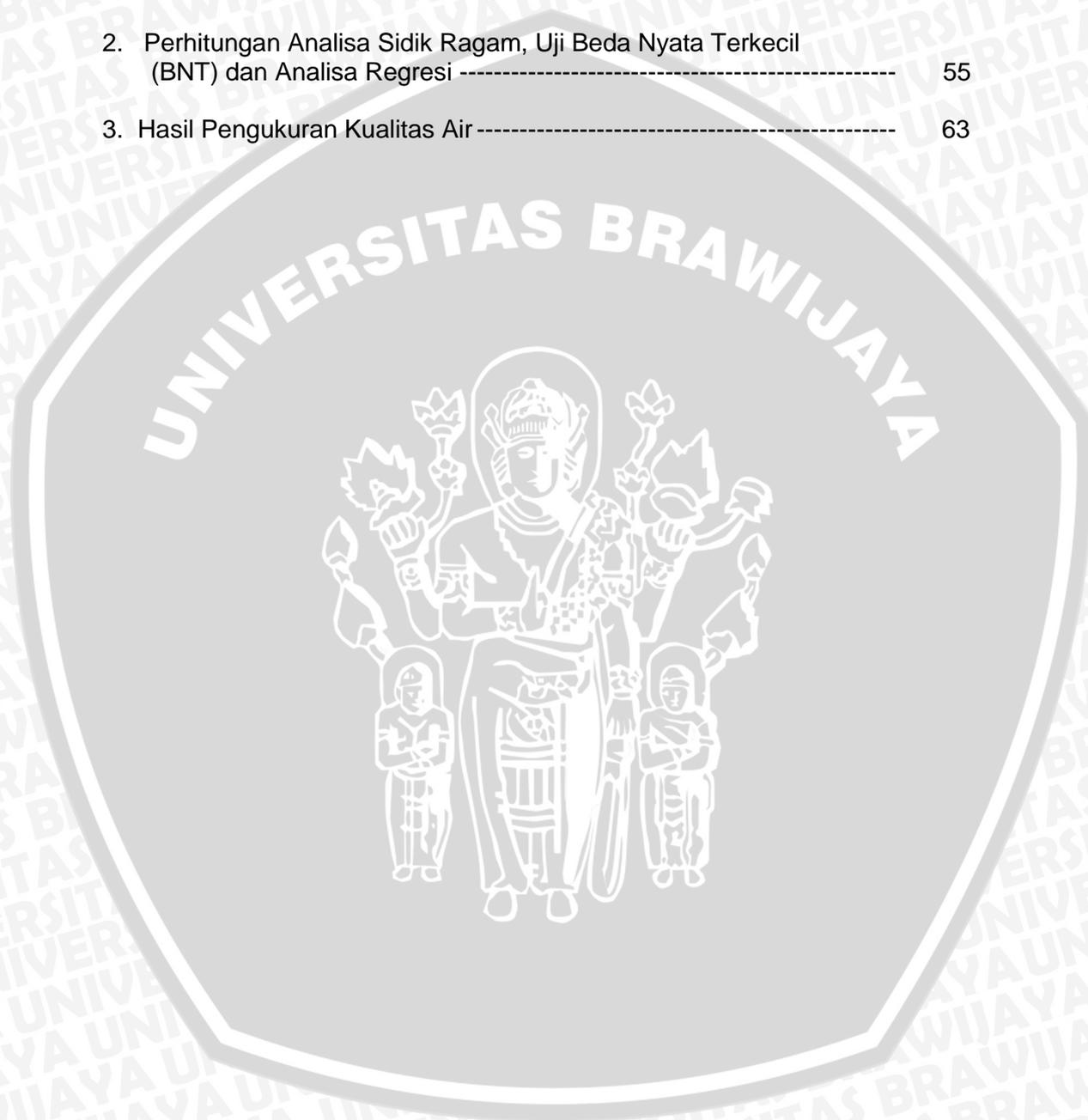


## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rerata Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> )-----	36
2. Sidik Ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot	37
3. Uji BNT Kerusakan degenerasi hialin pada jaringan Otot ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> )-----	37
4. Rerata Skoring Kerusakan nekrosis pada Jaringan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> )-----	39
5. Sidik Ragam Skoring Nekrosis pada Jaringan Otot -----	40
6. Uji BNT Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) -----	41
7. Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) -----	43
8. Sidik Ragam Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Otot -----	44
9. Uji BNT Kerusakan Edema pada Jaringan Otot Ikan Patin ( <i>Pangasius sp.</i> ) -----	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Otot Ikan Patin -----	53
2. Perhitungan Analisa Sidik Ragam, Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dan Analisa Regresi -----	55
3. Hasil Pengukuran Kualitas Air -----	63



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Soeharmanto, *et al.* (2010), kebutuhan pangan nasional akan meningkat seiring meningkatnya jumlah penduduk di Indonesia. Kebutuhan pangan dapat dipenuhi dari beberapa komoditas seperti komoditas pertanian, peternakan dan perikanan. Komoditas perikanan dalam memenuhi kebutuhan pangan nasional dapat dilakukan melalui penyediaan bahan pangan berupa ikan dengan cara penangkapan dan pembudidayaan.

Kegiatan yang perlu di kembangkan saat ini adalah kegiatan perikanan budidaya, baik diperairan air tawar, payau, maupun laut. Selain perikanan tangkap perikanan budidaya dapat digunakan sebagai mata pencaharian yang memiliki prospek yang menguntungkan dalam upaya memenuhi kebutuhan ekonomi masyarakat Indonesia saat ini.

Untuk perairan tawar sendiri, saat ini masih memiliki potensi yang cukup besar sebagai tempat untuk membudidayakan ikan, komoditas – komoditas ikan air tawar juga dapat terus dikembangkan demi tercapainya perikanan budidaya yang kompeten, namun apabila dibandingkan dengan luas perairan yang ada, hasil budidaya ikan air tawar juga belum maksimal, oleh sebab itu perlu perlakuan yang serius dari pemerintah terkait hal ini. Jenis-jenis ikan konsumsi yang saat ini dapat dibudidayakan sangatlah banyak salah satunya adalah budidaya ikan Patin (*Pangasius sp.*) (Lisna,2011).

Ikan Patin (*Pangasius sp.*) merupakan ikan istimewa, karena selain sebagai ikan konsumsi yang tergolong mewah, ikan Patin juga digunakan sebagai ikan hias. Saat masih berukuran kecil (5 - 12 cm), ikan Patin banyak dipelihara sebagai ikan hias. Sebagai ikan konsumsi, ikan Patin mempunyai nilai ekonomis yang termasuk tinggi diantara ikan air tawar lainnya. Dagingnya pun

rendah sodium sehingga sangat cocok bagi orang yang diet garam, mudah dicerna oleh usus serta mengandung banyak kalsium, zat besi dan mineral yang sangat baik untuk kesehatan tubuh (Hernowo, 2001 dalam Komariyah *et al*, 2009).

Kegiatan budidaya ikan Patin ini juga tidak dapat lepas dari berbagai kendala salah satunya dari gangguan penyakit, salah satu penyakit yang sering menginfeksi ikan Patin adalah penyakit bakterial, Penyakit bakterial yang umum menyerang adalah *Aeromonas hydrophila*. *A. hydrophila* adalah bakteri gram negatif yang tersebar dilingkungan perairan, dapat menginfeksi pada ikan, amphibia dan reptilia (Vivas *et al.*, 2004 dalam Ariyanto *et al*, 2010) dan dapat mengakibatkan penyakit borok pada ikan Patin yang dibudidayakan berupa bercak merah yang sering disebut dengan penyakit MAS ( *Motile Aeromonas Septicemia*) (Majumdar, 2006 dalam Ariyanto *et al*, 2010).

Melihat dampak yang diakibatkan oleh infeksi penyakit MAS, maka perlu dilakukan upaya penanggulangan serta pengobatan dengan cara peningkatan imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*). Salah satu upaya untuk mengatasi dampak negatif dari penggunaan bahan kimia dan antibiotik adalah menggunakan bahan obat alternatif yang lebih aman, ramah lingkungan, mudah didapat dan diaplikasikan serta mudah terurai secara alami di perairan. Bahan obat alternatif yang dapat digunakan untuk menanggulangi penyakit MAS adalah bagian daun dari tumbuhan jambu biji (Rosidah dan Afizia, 2012).

Hasil skrining fitokimia, daun jambu biji mengandung metabolit sekunder, terdiri dari tanin, polifenolat, flavonoid, monoterpenoid, siskulterpen, alkaloid, kuinon dan saponin (Kurniawati, 2006 dalam Rosidah dan Afizia, 2012). Senyawa flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain, sehingga flavonoid mempunyai aktivitas sebagai

antimikroba dan antioksidan, dan terbukti dapat menghambat aktivitas dari bakteri (Departemen Pertanian, 2008 *dalam* Amelia dan Prayitno, 2012).

## 1.2 Rumusan Masalah

Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan produksi ikan budidaya. Diantaranya penyebaran penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah melalui luka ikan, luka pada ikan jika terus dibiarkan akan menyebabkan kematian dan penularan pada ikan yang dibudidayakan dalam satu tempat budidaya, sedangkan penggunaan bahan obat-obatan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan.

Berdasarkan uraian diatas, senyawa yang terdapat pada ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) diduga dapat digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) serta sebagai antibakteri yang dapat menurunkan jumlah *A. hydrophila* dalam darah ikan, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dapat digunakan sebagai imunostimulan dan berpengaruh terhadap histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* ?
- Berapakah dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian tentang efektifitas imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki tujuan yaitu:

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Untuk mengetahui dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang digunakan sebagai imunostimulan pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

#### 1.4 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) tidak dapat mencegah kerusakan histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

$H_1$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dapat mencegah kerusakan histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*.

#### 1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tanggal 28 april sampai tanggal 6 juni 2016

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Menurut Syamsuhidayat dan Hutapea (1991) dalam Utama (2002), jambu biji dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Myrtales

Famili : Myrtaceae

Genus : *Psidium*

Spesies : *Psidium guajava*

Jambu biji (*Psidium guajava*) (Gambar 1) termasuk jenis tanaman perdu atau pohon kecil dengan tinggi sekitar 2-10 m, tumbuhan ini berasal dari Amerika bagian tropis. Tumbuhan ini memiliki batang yang keras, permukaan batangnya halus berwarna coklat dan mudah terkelupas, daun muda memiliki permukaan yang halus, daun yang tua permukaannya licin. Daunnya memiliki bentuk bulat telur agak meruncing dengan panjang 6-14 cm, lebar 3-6 cm, bertangkai pendek sekitar 3-7 mm. (Wijayakusuma *et al.*, 1994 dalam Utama, 2002).



**Gambar 1.** Jambu Biji (*Psidium guajava*) (Utama, 2002)

### 2.1.2 Zat Anti Mikroba Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Jambu biji termasuk salah satu jenis tanaman obat yang mudah ditemukan di Indonesia. Daun jambu biji (*Psidium guajava*) bermanfaat sebagai obat herbal dan dapat dimanfaatkan untuk pengobatan ikan yang terinfeksi penyakit. Daun jambu biji mengandung tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, minyak atsiri dan quersetin (Yuliani et al., 2003).

Daun jambu biji mengandung ekstrak quersetin yang terdiri dari senyawa tanin dan flavonoid. Senyawa flavonoid merupakan senyawa bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain, sehingga flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antimikroba dan antioksidan, flavonoid berperan dalam penghambatan siklus sel mikroba. Quersetin dalam ekstrak kasar daun jambu biji menghambat aktivitas enzim reverse transkriptase, yaitu enzim yang diperlukan virus untuk mereplikasi diri (Departemen Pertanian, 2008 dalam Amelia, 2012).

## 2.2 Biologi Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

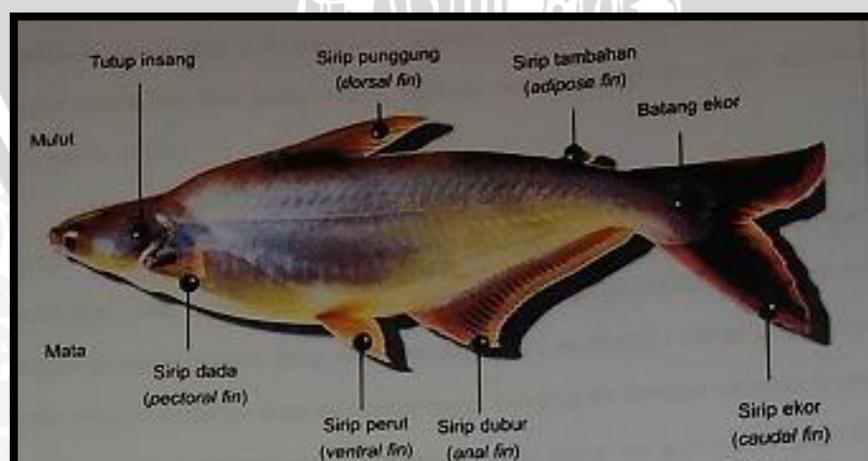
### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Menurut Prihatman (2000), ikan Patin dapat diklasifikasikan menjadi.

Kingdom	: Animalia
Sub-kingdom	: Metazoa
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Ordo	: Ostarioplaysi
Subordo	: Siluriodea
Famili	: Pangsidae
Genus	: <i>Pangasius</i>
Spesies	: <i>Pangasius sp.</i>

Menurut Susanto dan Amri (1999) dalam Martha (2006), ikan Patin (Gambar 2) memiliki badan memanjang berwarna putih seperti perak dengan punggung berwarna kebiru-biruan. Panjang tubuhnya bisa mencapai 120 cm. Kepala ikan Patin relatif kecil dengan bukaan di ujung kepala di sebelah bawah. Pada sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis yang berfungsi sebagai peraba. Ikan Patin memiliki keunggulan tersendiri, yaitu memiliki fekunditas yang tinggi, bersifat omnivora, memiliki laju pertumbuhan yang cepat sehingga dapat diproduksi secara masal, tidak bersisik, durinya relatif sedikit dan dagingnya putih kemerahan serta mudah dikuliti sehingga relatif mudah dibuat fillet yang baik, hal ini sangat penting dalam proses pengolahan dan memudahkan dalam pengambilan sampel penelitian.

Ikan Patin merupakan salah satu jenis ikan yang memiliki banyak kelebihan sehingga mendapat perlakuan dan diminati oleh petani ikan untuk budidaya, selain dagingnya yang lembut ikan Patin memiliki ukuran tubuh yang relatif besar dan sesuai sebagai ikan konsumsi, ikan Patin memiliki tubuh yang licin dan juga tidak memiliki sisik yang biasanya menyulitkan dalam proses pengolahan (Sumino *et al*, 2013).



**Gambar 2.** Ikan Patin (*Pangasius* sp.) (Mahjuddin, 2010)

### 2.2.2 Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Otot ikan Patin terdiri atas unit-unit panjang yang disebut serabut atau berkas otot. Otot lurik yang merupakan penyusun daging ikan Patin memiliki bentuk, komposisi dan perkembangan yang berbeda-beda tergantung pada tulang tempat perlekatannya sedangkan nukleus pada otot berbentuk oval dan mempunyai variasi bentuk yang banyak (Takashima and Hibiya, 1995)

Jaringan otot pada ikan Patin yang terikat pada tulang berfungsi untuk membentuk daging dari anggota badan dan dinding tubuh. Dalam keadaan segar otot ikan Patin berwarna merah muda sebagian disebabkan pigmen di dalam serat-serat ototnya dan sebagian lagi disebabkan kayanya jaringan itu akan pembuluh-pembuluh darah (Lesson *et al*, 1997).

### 2.2.3 Habitat dan Penyebaran

Ikan Patin merupakan salah satu jenis ikan yang hidup di perairan tawar ikan ini banyak ditemukan di perairan umum seperti sungai, waduk, dan rawa. Ikan Patin cenderung bersifat nokturnal (Beraktifitas pada malam hari), lingkungan hidup yang dibutuhkan ikan Patin tidaklah rumit karena ikan Patin termasuk golongan *catfish* yang mampu bertahan hidup pada lingkungan perairan yang jelek misalnya keadaan perairan yang kekurangan oksigen. Kadar oksigen yang optimal bagi ikan Patin adalah  $> 5$  ppm sedangkan suhu yang optimal bagi ikan Patin adalah  $24-30^{\circ}\text{C}$  (Adria dan Jenny, 2006).

Ikan Patin pada awal kedatangannya dikenal dengan nama Lele Bangkok sebagian kalangan lain menyebut ikan ini dengan nama Jambal siam atau Patin siam, ikan Patin yang dalam beberapa tahun terakhir berkembang di Indonesia adalah ikan Patin yang diintroduksi dari Thailand pada tahun 1972 dan mulai berkembang pesat mulai tahun 1981, selain di Indonesia ikan ini juga banyak ditemukan di Vietnam, China, dan Thailand, ketika pertama kali dikenalkan

di Indonesia ikan ini langsung mendapat perlakuan petani karena kemampuan bertahan hidupnya (Hardjamulia *et al*, 1987 dalam Ariyanto *et al*, 2007).

#### 2.2.4 Pakan dan Kebiasaan Makan

Menurut Jusadi *et al.* (2004), pakan yang diberikan pada ikan Patin yang dibudidayakan adalah 5-15% dari total berat badan ikan dengan frekuensi pemberian pakan 2 kali sehari (pagi dan sore). Pembudidaya ikan Patin biasanya menggunakan pakan buatan yang dijual secara komersial. Upaya peningkatan laju pertumbuhan ikan Patin masih terus ditingkatkan agar penggunaan pakan buatan lebih efisien dan akan menurunkan biaya produksi.

Menurut Adria dan Jenny (2006), Ikan Patin (*Pangasius sp.*) termasuk dalam golongan *catfish*, pada umumnya ikan jenis ini beraktifitas pada malam hari (nokturnal) termasuk dalam hal mencari makanan, sedangkan pada siang harinya ikan Patin (*Pangasius sp.*) menghindari permukaan air dan bersembunyi di dasar perairan, ditinjau dari jenis makanannya ikan Patin termasuk jenis ikan karnivor. Ikan ini dapat bertahan hidup dan mencari makan pada lingkungan hidup yang perairan yang jelek.

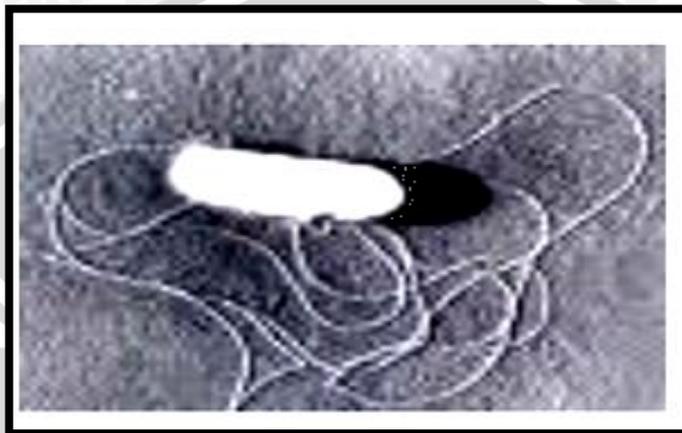
### 2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

#### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Menurut Janda dan Sharon dalam Sari (2013), bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

- Filum : Protobacteria
- Kelas : Gammaprotobacteria
- Ordo : Aeromonadales
- Family : Aeromonadaceae
- Genus : Aeromonas
- Spesies : *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Gambar 3) merupakan salah satu jenis bakteri yang hidup di perairan tawar. Ciri utama dari bakteri jenis ini adalah bentuknya seperti batang, memiliki ukuran 1-4,4 x 0,4-1 mikron, bersifat gram negatif, tidak memiliki spora, bersifat motil (bergerak aktif), hidup di perairan dengan suhu 15-30°C dan pH 5,5-9 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).



**Gambar 3.** *Aeromonas hydrophila* (Aberoum dan Jooyandeh, 2010)

### 2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Bakteri gram negatif *Aeromonas hydrophila* mampu tumbuh secara maksimal pada kisaran suhu 38°C -41°C dan bakteri ini mengalami pertumbuhan minimal pada suhu 0°C-5°C sedangkan suhu yang paling optimal untuk pertumbuhannya adalah 22-28°C bakteri ini termasuk jenis bakteri anaerob sehingga dapat hidup meski tanpa oksigen (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* berkembangbiak secara aseksual dengan cara pemanjangan sel yang diikuti dengan pembelahan inti yang disebut pembelahan biner, waktu yang diperlukan bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk melakukan pembelahan dari satu sel menjadi dua sel kurang lebih 10 menit, bakteri ini hidup di perairan tawar khususnya di estuaria didaerah tropis dan subtropis (Volk dan Wehler dalam Samsundari, 2006).

### 2.3.3 Ujiantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang terdapat dalam tubuh inang dapat menyebar sangat cepat hal ini dapat menyebabkan peradangan dan kematian ikan 12-24 jam setelah injeksi bakteri ini, selain itu bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menyebabkan penyakit menular pada ikan yang dibudidayakan termasuk ikan Patin, penularannya sangat cepat dapat berlangsung melalui perantara air, kontak badan, kontak dengan peralatan tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dari satu tempat ke tempat lainnya (Gufran dan Kordi, 2004 dalam Simatupang dan Anggraini, 2013)

Ikan yang telah terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* akan mengalami pendarahan pada organ yang terinfeksi dan apabila dibiarkan akan menyebabkan ikan yang terinfeksi mengalami luka/borok, ikan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* akan mengalami kerusakan sel namun gejala awalnya sisik ikan mengelupas dan pergerakan ikan melambat. Organ luar dan organ dalam ikan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* akan mengalami gejala abnormal dan dalam waktu 12-24 jam ikan akan mati (Hardi *et al*, 2014).

## 2.4 Immunostimulan

### 2.4.1 Metode Pemberian Immunostimulan

Imunostimulan adalah suatu bahan yang dapat digunakan untuk meningkatkan resistensi organisme terhadap infeksi patogen. Immunostimulan digunakan pada ikan budidaya karena kemoterapi yang diberikan pada ikan menyebabkan resistensi pada bakteri. Selain itu immunostimulan dapat meningkatkan daya tahan terhadap infeksi penyakit (Trevesbrown, 2000).

Imunostimulan dapat diberikan pada ikan melalui injeksi, bersama pakan (*oral*) dan perndaman. Immunostimulan dapat diberikan pada larva ikan selama 1 minggu secara terus menerus selama masa pendederan. Pada tahap awal

immunostimulan diberikan melalui perendaman, dan selanjutnya dapat diberikan bersama dengan pakan. Pemilihan cara aplikasi immunostimulan didasarkan atas kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya (Alifuddin,2002).

#### 2.4.2 Mekanisme Kerja Immunostimulan

Ikan yang telah diberikan immunostimulan akan menunjukkan peningkatan aktivitas sel fagositik. Peningkatan ini didasarkan pada kemampuan immunostimulan menginduksi berlangsung transformasi limfoblastik. Aktivitas fagositik ini merupakan manifestasi peningkatan respon seluler dan kemudian akan meningkatkan respon humoral (Alifuddin, 2002)

Pemberian immunostimulan direspon ikan dengan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral, secara *in vitro* peningkatan respon seluler ditunjukkan oleh aktivitas fagositik yang diukur melalui uji *Nitro Blue Tetrazolium* (NBT). Dengan pemberian immunostimulan limfosit dalam tubuh ikan juga diaktifkan yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap infeksi penyakit (Anderson dan Siwicki, 1993).

### 2.5 Histopatologi

#### 2.5.1 Pengertian Histopatologi

Perubahan yang terjadi pada histopatologi telah banyak digunakan sebagai biomarker untuk mengevaluasi kondisi kesehatan ikan yang terinfeksi bakteri maupun mikroba lainnya. Organ – organ yang terinfeksi oleh bakteri akan nampak abnormal dari segi histopatologinya. Selain itu analisa histopatologi dapat digunakan untuk memonitoring lingkungan perairan yang mengalami pencemaran (Martinez dan Camargo, 2007 *dalam* Alifia, 2013).

Pengamatan histopatologi pada ikan yang telah terinfeksi bakteri bermanfaat untuk mengetahui tingkat perubahan dan kerusakan jaringan ikan, langkah awal yang perlu dilakukan adalah diagnosa penyakit, dalam proses

diagnosa penyakit terdapat beberapa hal yang perlu diperlukan antara lain, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi (Asniatih, 2013).

### 2.5.2 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan dilakukan dengan cara pembuatan sediaan sampel histopatologi melalui beberapa tahap antara lain fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan spesimen, refiksasi, dan dekaflaso. Selanjutnya dilakukan pengolahan jaringan meliputi dehidrasi, penjernihan, pemberian parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dibuat irisan tipis dengan mikrotom sehingga menjadi preparat dan diwarnai dengan beberapa pewarna, misalnya giemsa, eosin dan lain-lain (Priosoetyanto, 2010).

Menurut Humason (1967) dalam Ersu (2008), sampel otot yang telah diambil dari ikan Patin yang telah diuji tangkap bakteri *A. hydrophila* dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dengan ketebalan 2-3 mm dan diberi perlakuan sebagai berikut.

- a. Organ yang telah dipotong diawetkan dengan larutan formalin 4% selama 24 jam.
- b. Fiksasi, memindahkan otot ke dalam larutan FAA selama 24 jam.
- c. Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, selama 2 jam.
- d. Tahap selanjutnya adalah *clearing*, yaitu proses perendaman organ hasil dehidrasi pada larutan xylol selama 20 menit.
- e. Infiltrasi, yaitu proses pengisian parafin kedalam pori-pori jaringan organ.

Organ dimasukkan kedalam xylol : parafin (1:1) cair selama 20 menit, kemudian memasukkan parafin cair I, II, III masing-masing selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.

- f. Embedding, tahapan menanam jaringan atau sampel yang digunakan dan dicetak menjadi blok-blok. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh kemudian membenamkan potongan organ ke dalam parafin tersebut. Jaringan diletakkan pada posisi dasar dengan posisi melintang.
- g. Sectioning, sampel dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan 6-10 mikron.
- h. Affixing, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1, disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari. Deparafinisasi, untuk menghilangkan parafin, sediaan dimasukkan ke dalam xylol selama 10 menit.
- i. Staining atau pewarnaan, yaitu proses pewarnaan dengan menggunakan hematoxylin dan eosin dengan langkah sebagai berikut :
- ✓ Sediaan histologi otot dihisap xylolnya dengan menggunakan kertas saring. Kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40 % dan 30 % masing-masing selama 5 menit lalu ke aquades selama 5 menit. Dicuci dengan air mengalir kurang lebih 2 menit
  - ✓ Dimasukkan ke dalam haemotoxylin selama 4 menit
  - ✓ Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit.
  - ✓ Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% masing-masing beberapa celupan.
  - ✓ Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit.
  - ✓ Dimasukkan ke dalam alkohol 70 %, 80%, 90%, 95%.
  - ✓ Preparat dikering-anginkan dan dimasukkan ke xylol selama 15 menit
  - ✓ Sediaan histologi ditetesi dengan canada balsam lalu ditutup dengan cover glass.
- j. Setelah tahap pewarnaan selesai, maka dilakukan perekatan (*mounting*) menggunakan zat perekat permount dengan entelan, kemudian ditutup

dengan cover glass. Selanjutnya sediaan preparat yang telah tersedia siap untuk diamati.

## 2.6 Parameter Kualitas Air

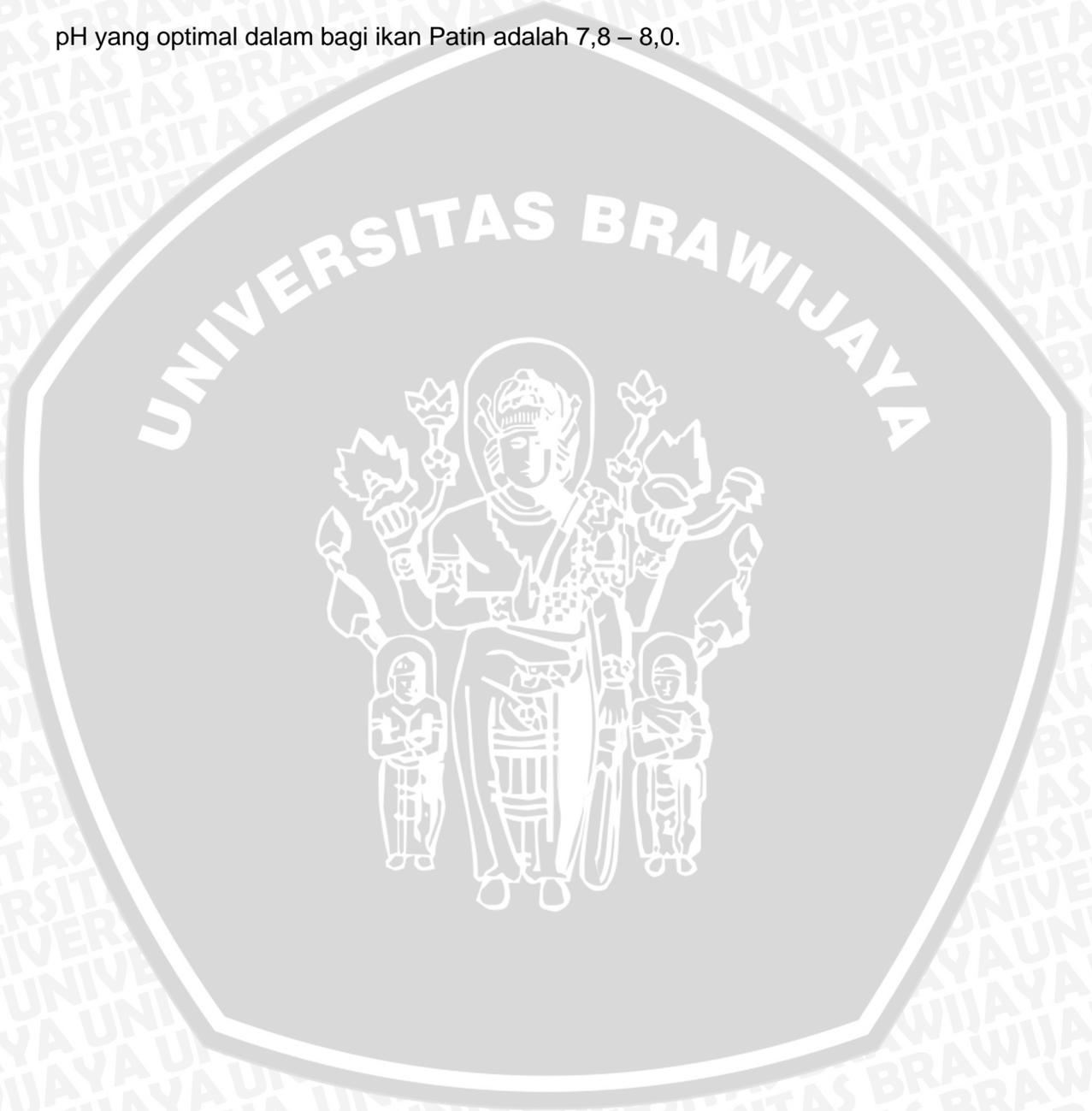
Kualitas air pada media perlu dijaga dan dikontrol setiap harinya karena sangat berpengaruh pada hasil penelitian. Setiap hari biasanya air media tercemar kotoran dan sisa pakan. Kotoran dapat meracuni ikan sehingga perlu dibuang. Oleh karena kotoran yang sudah bercampur dengan air maka air perlu secara rutin diganti. Selain itu juga perlu dilakukan pengamatan parameter kualitas air antara lain adalah suhu, oksigen, pH (Akbar dan Sudaryanto, 2002).

Menurut Breet (1987) dalam Hernawati dan Suantika (2007), suhu merupakan salah satu faktor yang penting dan berpengaruh terhadap konsumsi oksigen pada organisme akuatik di dalam perairan. Suhu secara langsung akan mempengaruhi laju proses biologi dan kadar oksigen terlarut di dalam perairan. Menurut Chua dan Theng dalam Langkosono (2007), suhu yang optimal bagi pertumbuhan ikan Patin adalah berkisar antara 24 – 30 °C. Kebutuhan akan oksigen dan laju konsumsi oksigen bervariasi tergantung pada faktor biotik dan abiotik termasuk aktivitas, temperatur lingkungan, berat badan dan pakan.

Menurut Izzati (2009), konsentrasi oksigen ditentukan oleh keseimbangan antara produksi dan konsumsi oksigen dalam ekosistem. Oksigen diproduksi oleh komunitas autotrof melalui proses fotosintesis dan dikonsumsi oleh semua organisme perairan melalui proses pernafasan. Disamping itu, oksigen juga diperlukan untuk perombakan bahan organik dalam ekosistem perairan itu sendiri. Menurut Suprakto dan Fahlivi (2007) dalam Langkosono (2007), kadar oksigen terlarut yang optimal bagi ikan Patin adalah > 5 ppm.

Menurut Wetzel (1983) dalam Izzati (2009), perubahan pH ditentukan oleh aktivitas fotosintesis dan respirasi dalam ekosistem. Fotosintesis memerlukan karbondioksida, yang oleh komponen autotrof akan dirubah menjadi

monosakarida. Penurunan karbondioksida dalam ekosistem akan meningkatkan pH perairan. Sebaliknya, proses respirasi oleh semua komponen ekosistem akan meningkatkan jumlah karbondioksida, sehingga akan menyebabkan pH perairan menurun. Menurut Chua dan Theng *dalam* Langkosono (2007), kadar pH yang optimal dalam bagi ikan Patin adalah 7,8 – 8,0.



### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian beserta fungsinya adalah sebagai berikut.

- Nampan : Sebagai tempat alat dan bahan.
- Gunting : Sebagai alat pemotong bahan.
- Pisau : Sebagai alat pemotong bahan.
- Timbangan digital : Sebagai alat penimbang bahan dengan ketelitian  $10^{-2}$ .
- Hot plate : Sebagai alat pemanas.
- Beaker glass : Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi.
- Gelas ukur : Sebagai alat pengukur jumlah larutan tertentu.
- Rotari evaporator : Sebagai untuk mendapatkan ekstrak vacum
- Toples : Sebagai wadah air media.
- Aerator set : Sebagai alat bantu aerasi.
- Scoop net : Sebagai alat untuk memindahkan ikan uji.
- Termometer : Sebagai alat untuk mengukur suhu.
- pH-meter : Sebagai alat untuk mengukur pH air media.
- Do-meter : Sebagai alat pengukur kandungan oksigen terlarut
- Spektofotometer : Sebagai alat pengukur panjang gelombang bahan.
- Section set : Sebagai alat untuk membedah ikan.
- Tissue processor : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan.
- *Embedding machine* : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan
- Mikrotom : Sebagai alat untuk pemotongan jaringan.

- Fotomikroskop : Sebagai alat untuk pengamatan jaringan.
- Botol : Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi.
- Labu Erlenmayer : Sebagai tempat pembiakan bakteri.
- Botol Akuades : Sebagai alat akuades
- Cawan Petri : Sebagai tempat agar dan bakteri.
- Corong : Sebagai alat pembantu penuangan larutan.
- Autoklave : Sebagai alat sterilisasi.
- Loyang : Sebagai alat bahan dalam proses *waterbath*
- Bunsen : Sebagai alat sterilisasi
- Magnetik Stirer : Untuk menghomogenkan larutan
- Tabung Reaksi : Sebagai tempat kultur bakteri
- Rak Tabung Reaksi : Sebagai tempat tabung reaksi
- Jarum Ose : Sebagai alat penggoresan bakteri
- Spatula : Untuk menghomogenkan larutan
- Lemari Pendingin : Untuk menyimpan bakteri pada suhu rendah
- Voertex Mixer : Untuk menghomogenkan larutan
- Pipet Volume : Untuk mengambil larutan dalam jumlah banyak
- Mikropipet : Untuk mengambil larutan dalam jumlah sedikit
- Bola Hisap : Sebagai alat bantu untuk mengambil larutan
- Triangle : Sebagai alat penyangga pada Bunsen
- Mistar : Untuk mengukur zona hambat bakteri

### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Ekstrak kasar daun Jambu biji: Sebagai bahan immunostimulan  
(*Psidium guajava*)
- Spiritus : Sebagai bahan pembakaran pada Bunsen

- Biakan murni bakteri : Sebagai bahan penginfeksian  
*A. hydrophila*
- Alkohol : Sebagai bahan sterilisasi
- Etanol 96% : Sebagai bahan pelarut dalam ekstraksi.
- Aseton : Sebagai bahan pengawet jaringan otot  
(proses dehidrasi)
- Xylol : Sebagai bahan pengawet jaringan otot  
(proses *cleaning*)
- Formalin : Sebagai bahan pengawet jaringan otot
- Es batu : Sebagai pendingin dalam proses rotary
- Kertas label : Sebagai penanda
- Kertas saring : untuk menyaring bahan ekstrak
- Tissue : Sebagai bahan pembersih
- Kapas : untuk menutup labu erlenmayer
- Hematoksilin eosin : Sebagai bahan pewarna jaringan otot
- Benang : Sebagai pengikat
- Paraffin cair : Sebagai bahan pengawet jaringan otot  
(proses *impregnasi*)
- Parafin blok : Sebagai bahan pengawet jaringan otot  
(proses *embedding*)
- Masker : Sebagai penutup mulut
- Sarung tangan : Sebagai bahan penutup tangan
- NB (*Nutrien Broth*) : Sebagai media kultur bakteri (cair)
- TSA (*Tripton Soya Agar*) : Sebagai bahan media tumbuh bakteri
- Litium karbonat : Sebagai bahan untuk memekatkan warna pigmen
- NA (*Nutrien Agar*) : Sebagai bahan peremajaan bakteri

- Entellan : Sebagai bahan perekat sampel pada cover glass
- Ikan Patin ( *Pangasius sp.* ) : Sebagai hewan uji
- Air tawar : Sebagai media hidup hewan uji
- Pelet : Sebagai pakan ikan uji
- Chlorin : Sebagai bahan desinfektan pada akuarium
- Na-Thiosulfat : Untuk menghilangkan toksik pada akuarium

### 3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variable dan meneliti akibatnya. Penelitian jenis ini ditujukan untuk mengetahui hubungan sebab dan akibat dengan memanipulasikan satu variable atau lebih pada satu kelompok eksperimen atau lebih dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi (Atmodjo, 2011).

Untuk menganalisa histopatologi otot ikan Patin dalam penelitian ini menggunakan metode deskriptif. Metode deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasikan objek sesuai dengan apa adanya. Selain itu penelitian deskriptif juga dapat digunakan untuk melihat pertanyaan penelitian atau hipotesis yang berkaitan dengan keadaan dan kejadian sekarang (Hartoto, 2009).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana daripada rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat *local kontrol*, sehingga

sumber keragaman yang dapat diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun Rancangan Acak Lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i ke ulangan ke-j

$\mu$  = nilai rerata umum (mean)

$T_i$  = pengaruh faktor perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = pengaruh galat

### 3.3.1 Penelitian Pendahuluan

#### a. Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui dosis terbaik pada pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) yang ditinjau dari kenaikan sel darah putih ikan patin. Sel darah putih diketahui berhubungan langsung dengan sistem imun dari ikan patin itu sendiri, selain itu sel darah putih berperan dalam mencegah masuk dan berkembangnya antigen dalam tubuh, hal tersebut dijelaskan oleh Dontriska, *et al.* (2014) bahwa leukosit bertanggung jawab terhadap sistem imun tubuh dan bertugas untuk memusnahkan benda-benda yang dianggap asing dan berbahaya oleh tubuh, misal bakteri atau virus.

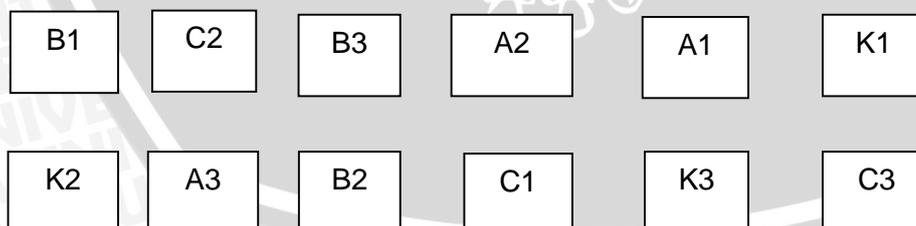
Penelitian pendahuluan dilakukan melalui pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji sebesar 2%, 6%, dan 10% dari pakan ikan Patin (*Pangasius sp.*) dengan 2 kali ulangan. Dosis tersebut mengacu pada penelitian Utama (2002) yang menggunakan 2 gram ekstrak kasar daun jambu biji per 100



yang di campurkan kedalam pakan pellet (100 gr) dengan dosis 2% , 4%, 6% . Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vivo ekstrak kasar daun jambu biji terhadap bakteri *A. hydrophila*. Pada penelitian ini digunakan 3 perlakuan dengan 2 kali ulangan serta 2 kontrol sebagai pembanding kontrol normal dan kontrol infeksi. Kontrol normal sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa pemberian ekstrak kasar daun jambu biji. Sedangkan kontrol infeksi sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri tanpa pemberian ekstrak kasar daun jambu biji. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 8 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- A : Perlakuan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 2% kedalam 100 gr pakan.
- B : Perlakuan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 4% kedalam 100 gr pakan.
- C : Perlakuan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar daun jambu biji 6% kedalam 100 gr pakan.
- K : Perlakuan sampel dengan ujiantang dengan bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa pemberian ekstrak kasar daun jambu biji.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 5 berikut ini



**Gambar 5.** Denah penelitian Utama

Keterangan:

A-B-C : Perlakuan penelitian

1, 2, 3 : Ulangan

K : Kontrol

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

##### a. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*)

Pembuatan ekstrak kasar daun jambu biji dilakukan dengan pelarut etanol 95% dengan perbandingan 1 : 6. Daun jambu biji pohon seberat 1 kg dibersihkan dan dikeringkan dengan cara di oven kemudian dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Serbuk daun jambu biji sebanyak 424,2 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 95% sebanyak 2400 ml dengan perbandingan 1 : 6 (100 gr serbuk : 600 ml etanol 95% selama 2 x 24 jam ditempat gelap) kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Proses maserasi ini dibiarkan selama 2 hari pada tempat yang gelap. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun jambu biji. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental sebanyak 38,7 gram. Ekstrak murni yang didapatkan dicampurkan dengan pakan pellet dengan pemberian perekat putih telur sesuai perlakuan.

##### b. Persiapan Ikan

Ikan uji yang digunakan adalah ikan Patin (*Pangasius sp*) yang diperoleh dari petani ikan di daerah kota Mojokerto. Dipilih ikan Patin yang sehat sebanyak 200 ekor ukuran 7-12 cm dan diaklimatisasi selama 3 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui ikan yang digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara ad libitum 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa

pakan dan feses. Apabila ikan sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka ikan siap untuk digunakan. Setelah proses aklimatisasi ikan Patin dipindahkan kedalam wadah toples kapasitas 10 liter sebanyak 8 buah masing-masing toples diisi 10 ekor ikan Patin dan di pelihara selama 10 hari.

### c. Sterilisasi Alat Dan Bahan

- Alat yang dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan koran dan diikat
- Akuades dimasukkan ke dalam ruang sterilisasi autoklaf sampai menutup sistem pemanas untuk mencegah penimbunan kapur pada elemen pemanas
- Keranjang yang berisi bahan atau alat yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian tutup autoklaf
- Pada saat menutup, selang dimasukkan ke posisi yang tepat. Tanda panah pada penutup sejajar dengan garis. Tuas ditutup secara diagonal agar seimbang kekuatan pada saat menutup autoklaf
- Klep keluaranya uap diposisikan berdiri atau tegak
- Tombol ditekan ke arah ON
- Thermostat diputar pada posisi maximal di angka 10
- Tunggu hingga keluar uap air dari klep lalu tutup atau arahkan ke samping
- Tunggu sampai jarum menunjukkan suhu sterilisasi, temperatur diturunkan sampai lampu pada sterilisasi berwarna kuning
- Atur time pada posisi 15 menit
- Alarm berbunyi tanda sterilisasi berakhir, turunkan temperatur pada posisi minimal, matikan autoklaf pada posisi kebawah (OFF)

### d. Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

1. Media Padat NA (*Nutrien Agar*)
  - NA merk OXOID dengan dosis 40gram/L
  - NA sebangak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada erlemenyer
  - Media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen

- Erlemenyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen/aluminium foil lalu ditali dengan benang
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas
- Media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label pada setiap cawan petri yang digunakan.

## 2. Media Cair NB (*Nutrien Broth*)

- NB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemenyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning
- Erlemenyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas

## 3. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila*

- Larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlemenyer sebanyak 220 ml
- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuh ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 osse
- Larutan NB dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 C
- Disiapkan cawan petri yang berisi media NA
- Setelah NB menjadi keruh, jarum osse dicelupkan ke NB dan digoreakan ke permukaan NA

- Digoreskan ke dalam media NA secara zig zag dengan metode goresan sinambung, T, atau kuadran
- Media NA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

#### e. Pengenceran Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan  $6 \times 10^9$  sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml. Untuk mendapatkan kepadatan  $10^7$  sel/ml dilakukan pengenceran. Perhitungan suspensi bakteri dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

$N_1$  : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

$N_2$  : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

$V_1$  : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

$V_2$  : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Peremajaan bakteri  $10^9$  sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media NA (*Nutrien Agar*) dan diinkubasi selama 2 hari pada inkubator. Bakteri  $10^9$  sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media ujiantang bakteri dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus di atas. Berdasarkan rumus di atas didapatkan bahwa untuk mendapatkan bakteri kepadatan  $10^7$  sel/ml sebanyak 8 liter (8.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan  $10^9$  sel/ml sebanyak 80 ml ke dalam air sebanyak 8.000 ml. Kepadatan bakteri dan dosisnya berpengaruh terhadap gejala-gejala klinis yang akan terjadi pada ikan Patin yang di.

### 3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a. Pemberian Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji dilakukan dengan cara penambahan melalui pakan pellet sesuai dengan dosis 2,4 gram/120 gram pakan, 3,6 gram/120 gram pakan dan 4,8 gram/120 gram pakan. Ikan Patin ditempatkan kedalam toples kapasitas 10 liter yang telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 10 hari dengan pemberian pakan pellet yang telah dicampur ekstrak kasar daun jambu biji. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

#### b. uji tantangan Bakteri Pada Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

uji tantangan dilakukan dengan lama waktu maksimal 24 jam. Uji tantang dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman. Pada perendaman ikan dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml menggunakan toples kapasitas 10 liter yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 8 liter, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 10^9 &= 8.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{8.000 \times 10^7}{10^9} \\ &= 80 \text{ ml} \end{aligned}$$

Hasil tersebut dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 80 ml. Selanjutnya diambil sampel otot ikan Patin, sebelum perendaman dan diamati otot ikan tersebut dari warna, struktur, dan bentuknya. Ikan Patin direndam masing-masing 10 ekor/toples, kemudian dilakukan perendaman

dengan bakteri. Ditunggu ikan hingga gelisah pertama kalinya dengan ciri-ciri ikan bergerak tidak beraturan. Ikan Patin diamati gejala klinisnya selama 3 hari, kemudian diambil sampel otot ikan Patin setelah perendaman.

### c. Pembuatan Histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp*)

Ikan diambil ototnya untuk diamati histopatologi otot ikan. Sampel otot yang sudah diambil dimasukkan ke dalam toples kaca kecil dan diberi bahan pengawet berupa larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan-tahapannya yaitu:

#### - Tahap Fiksasi

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

#### - Tahap Dehidrasi

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

#### - Tahap Clearing

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

#### - Tahap Impregnasi

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

dengan mencelupkan kembali kedalam parafin cair dengan suhu 56-60 °C selama 2 jam

- **Tahap *Embedding* (Pengeblokan)**

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

- **Teknik Pewarnaan Jaringan Dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)**

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

- **Tahap *Mounting***

Tahapan ini merupakan prosedur akhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh *Haematoxylin* yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh *eosin* yang bersifat asam perbedaan warna ini akan memudahkan dalam melakukan pengamatan serta sangat berguna dalam proses histopatologi itu sendiri.

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan histopatologi otot ikan Patin. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan Patin yang sehat, ikan Patin yang teruji tantang bakteri *A. hydrophila* dan ikan Patin setelah diberikan bakteri *A. hydrophila* yaitu dengan melihat histopatologi jaringan otot ikan.

#### 3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah pengamatan parameter kualitas air yang meliputi suhu yang diukur menggunakan thermometer, pH air yang diukur dengan menggunakan pH meter dan Oksigen terlarut dalam perairan yang diukur dengan menggunakan DO meter.

### 3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variable bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan kemudian untuk menentukan bentuk hubungan/regresi dilakukan dengan perhitungan polinomial orthogonal.

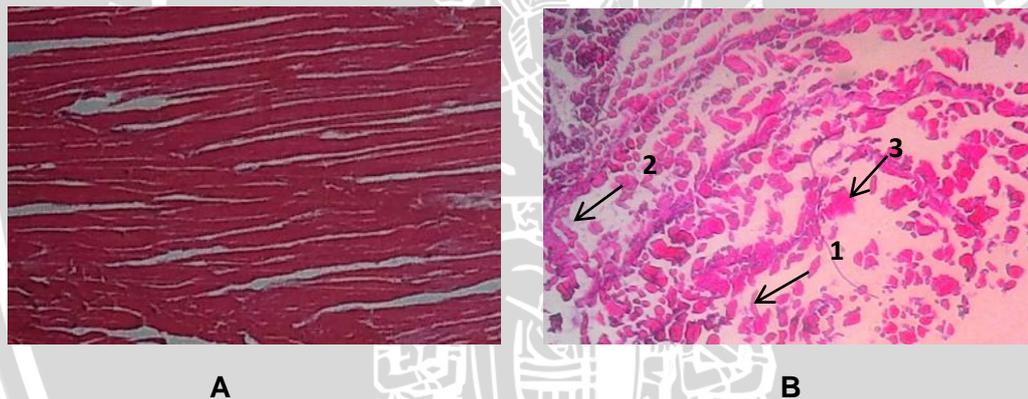
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Gambaran Histopatologi Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

#### 4.1.1 Gambaran Histologi Otot Ikan Normal dan Otot Ikan yang diuji tantang Bakteri *A. hydrophila*.

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan otot ikan patin yang diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu Biji dan otot ikan Patin normal tanpa pemberian imunostimulan serta tanpa pemberian bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada

Gambar 6



**Gambar 6.** Histopatologi Otot Ikan Sehat (A), Histopatologi Otot Ikan yang diuji tantang dengan Bakteri *A. hydrophila* (B), Tanda Panah No. 1 Degenerasi Hialin, 2. Nekrosis, 3. Edema. Perbesaran 100 kali

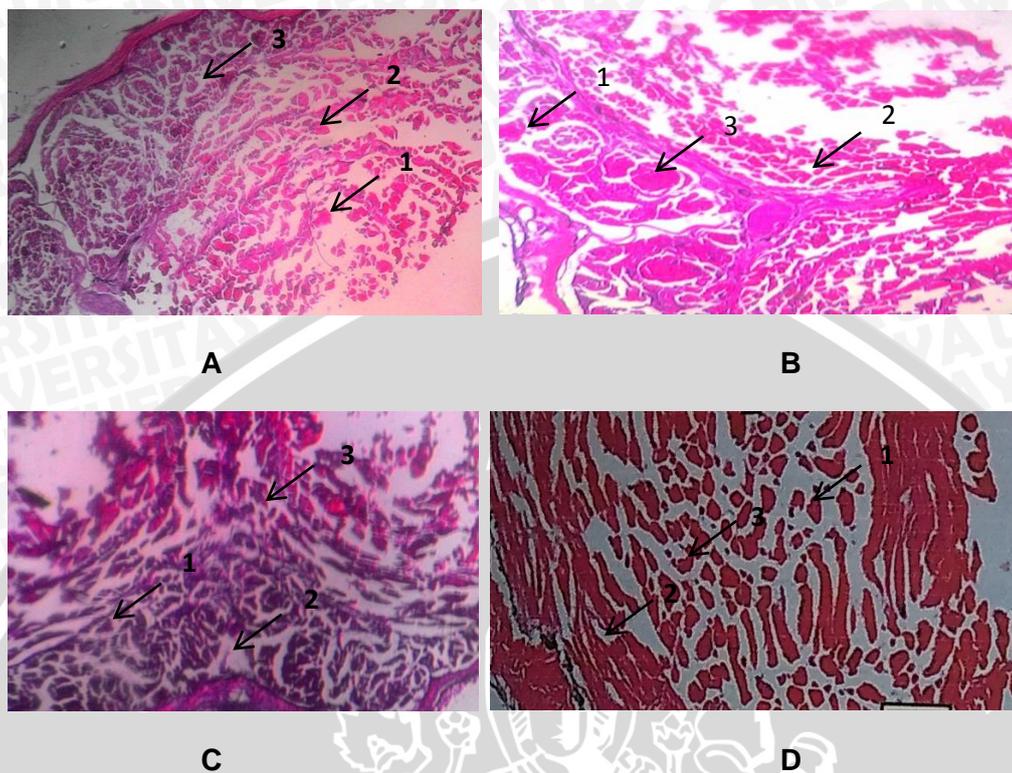
Gambar 6A menunjukkan jaringan otot ikan Patin normal yang tidak terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, otot ikan Patin yang sehat memiliki susunan yang teratur, tidak terdapat kerusakan susunan dan bentuk, jaringan otot memiliki warna merah yang cerah, memiliki susunan otot lurik yang sempurna. Gambar 6B menunjukkan jaringan otot ikan Patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* sehingga terdapat beberapa kerusakan pada jaringan otot meliputi degenerasi hialin, nekrosis dan edema, gambar 6B (nomor 1) menunjukkan jaringan otot ikan

Patin yang mengalami degenerasi hialin, hal ini menyebabkan jaringan otot tidak teratur, degenerasi hialin merupakan perubahan yang terjadi pada jaringan yang menyebabkan lurik pada serabut otot menghilang. Serabut otot terhialinasi menjadi lebih rapuh dibandingkan serabut-serabut yang tetap utuh. Serabut otot yang terhialinasi sering memperlihatkan pemisahan yang berbentuk longitudinal (Price dan Wilson, 2006).

Gambar 6B (nomor 2) menunjukkan jaringan otot yang mengalami nekrosis jaringan otot terlihat pecah – pecah dan tidak teratur. Jaringan yang mengalami nekrosis akan mengalami perubahan bentuk sel dan terjadi penurunan aktivitas jaringan yang di tandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian (Takashima dan Hybya, 1995). Gambar 6B (nomor 3) menunjukkan jaringan otot yang mengalami edema, jaringan otot menunjukkan adanya pembengkakan, edema menyebabkan pembesaran cairan plasma darah, edema terjadi pada bagian ikat longgar dan rongga-rongga badan yang dapat mengakibatkan sel-sel epitel mengalami nekrosis dan kematian (Ersa, 2008).

#### 4.1.2 Gambaran Histopatologi Otot pada Masing-Masing Perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan otot ikan Patin yang diberikan perlakuan pemberian imunostimulan dengan konsentrasi 0%, 2%, 4% dan 6% dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* mengalami kerusakan jaringan antara lain degenerasi hialin, nekrosis dan edema (Gambar 7). Otot pada ikan memiliki peranan yang sangat signifikan, jaringan otot yang sehat menentukan tingkat pergerakan ikan dan menjaga system keseimbangan tubuh ikan apabila otot ikan mengalami gangguan ataupun kelainan akan menimbulkan ketidaksimbangan tubuh dan pergerakan ikan dalam air sebab otot ikan berhubungan langsung dengan system rangka pada tubuh, otot juga menentukan kualitas daging ikan.



**Gambar 7.** Histopatologi Otot pada Tiap Perlakuan : (A) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 2%, (B) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 4%, (C) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 6%, (D) Perlakuan Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) 0%. Tanda Panah No. 1 Degenerasi Hialin, 2. Nekrosis, 3. Edema. Mikroskop Cahaya Perbesaran 100 kali

Histopatologi otot pada perlakuan A dengan pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji 2%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan sedang dengan presentase kerusakan antara 26 – 50% (disajikan pada lampiran 1), kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin, nekrosis dan edema nilai rerata per kerusakan berturut-turut adalah 2,13, 2,06 dan 2,2 (disajikan pada lampiran 1). Kerusakan jaringan otot yang masih tinggi terjadi akibat pemberian dosis ekstrak kasar daun jambu biji yang terlalu kecil sehingga tidak dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara maksimal, kemampuan imunostimulan dalam meningkatkan respon imun dan mengembangkan proteksi terhadap infeksi patogen dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan.

Pemberian imunostimulan pada konsentrasi dibawah nilai minimal untuk terjadinya respon imun tidak dapat memberikan pengaruh yang signifikan untuk mencegah terjadinya infeksi pathogen (Sakai, 1999).

Histopatologi otot pada perlakuan B dengan pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji 4%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang kecil dibandingkan dengan perlakuan A dengan presentase kerusakan antara 6 – 25%, kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin, nekrosis dan edema nilai rerata per kerusakan berturut-turut adalah 1,4, 1,66 dan 1,66. Kerusakan jaringan otot yang relatif kecil terjadi akibat pemberian dosis ekstrak kasar daun jambu biji yang optimal sehingga dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara maksimal Dengan pemberian imunostimulan secara optimal limfosit dalam tubuh ikan juga diaktifkan yang dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap infeksi penyakit (Anderson dan Siwicki, 1993).

Histopatologi otot pada perlakuan C dengan pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji 6%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang berat dibandingkan dengan perlakuan B dengan presentase kerusakan >50%, kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin, nekrosis dan edema nilai rerata per kerusakan berturut-turut adalah 2,53, 2,2 dan 2,26. Kerusakan jaringan otot yang sangat berat terjadi akibat pemberian dosis ekstrak kasar daun jambu biji yang terlalu tinggi sehingga tidak dapat meningkatkan sistem imun dalam tubuh ikan secara optimal, dosis imunostimulan yang terlalu tinggi yang diberikan tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor (Ridho dan Pramesti, 2009). Histopatologi otot pada perlakuan D dengan pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji 0%, menunjukkan tingkat kerusakan jaringan yang sangat berat dibandingkan dengan semua perlakuan dengan presentase kerusakan >50%, kerusakan yang terjadi antara lain degenerasi hialin, nekrosis dan edema nilai rerata per kerusakan berturut-turut adalah 2,53, 2,2 dan 2,26

## 4.2 Analisa Data Kerusakan Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

### 4.2.1 Degenerasi hialin

Berdasarkan perhitungan rerata skoring kerusakan pada jaringan otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* serta pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terdapat kerusakan berupa degenerasi hialin pada beberapa jaringan otot yang disajikan pada Tabel 1

**Tabel 1.** Rerata Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
2% (A)	1.8	2.2	2.4	6.4	2.13
4% (B)	1.4	1.2	1.6	4.2	1.40
6% (C)	2.4	2.4	2.8	7.6	2.53
Kontrol Positif (K+)	3.2	2.8	2.6	8.6	2.87

Berdasarkan Tabel 1 diatas dapat diketahui bahwa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji dengan konsentrasi 2% (Perlakuan A) menunjukkan nilai kerusakan jaringan berupa degenerasi hialin yang sedang dengan nilai rerata skoring sebesar 2.13. Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 4% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang paling kecil yaitu sebesar 1.40. Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 6% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang berat dengan nilai rerata skoring sebesar 2.53. Sedangkan pada perlakuan K+ pemberian bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji menunjukkan nilai rerata yang paling tinggi sebesar 2.87. Pemberian imunostimulan yang baik bagi ikan harus memperhatikan dosis dan frekuensi pemberian yang optimal (Febriani *et al.*,2013).

Berdasarkan Tabel 1 dilakukan uji sidik ragam. Uji sidik ragam dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa degenerasi hialin. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan degenerasi hialin pada jaringan otot disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Sidik Ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3.59	1.20	17.08**	4.07	7.59
Acak	8	0.56	0.07			
Total	11					

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan jaringan otot berupa degenerasi hialin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari nilai F hitung yang lebih tinggi dari F 5% dan F 1%. Imunostimulan dapat memperkuat ketahanan tubuh ikan secara alami dalam hal melawan berbagai infeksi virus dan bakteri atau untuk membantu dalam pengobatan penyakit yang berhubungan dengan penekanan sistem imun (Peturnov *et al.*, 2007). Untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan digunakan uji BNT (Tabel 3).

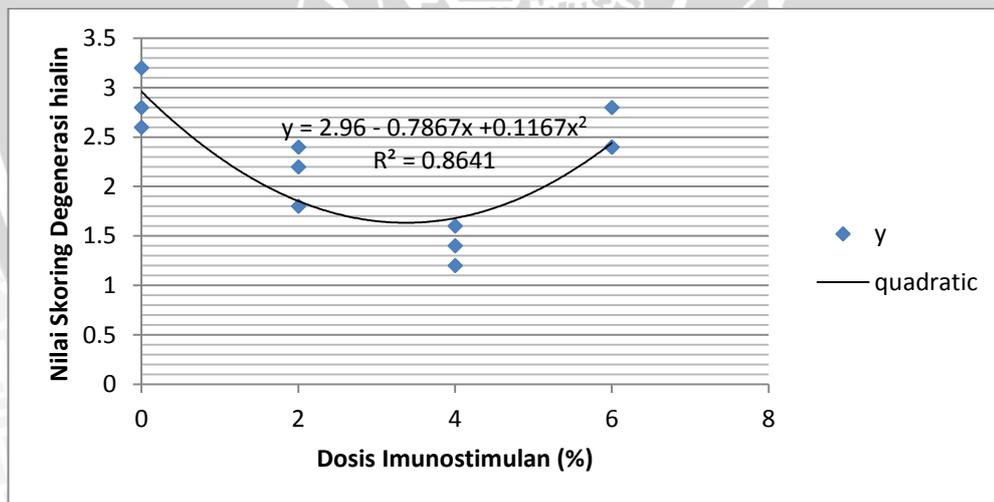
**Tabel 3.** Uji BNT Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.40	2.13	2.53	2.90	
B	1.40	-	-	-	-	a
A	2.13	0.73**	-	-	-	b
C	2.53	1.13**	0.40 <sup>ns</sup>	-	-	bc
K	2.90	1.50**	0.77**	0.37 <sup>ns</sup>	-	cd

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata  
 \* = Berbeda nyata  
 ns = Tidak berpengaruh (non signifikan)

Tabel 3 diatas menunjukkan notasi dari kerusakan jaringan otot ikan berupa degenerasi hialin dengan notasi a, b, bc dan cd. Perlakuan B (4%) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (2%) dan perlakuan C (6%) yang ditunjukkan dengan notasi ab dan bc serta perlakuan K+ (0%) yang ditunjukkan dengan notasi cd. Degenerasi hialin adalah keadaan serabut otot yang akan mudah mengalami kerusakan daripada serabut otot normal. Serabut otot menunjukkan penampilan homogen dan menyerap pewarnaan eosin secara dominan. Nukleus otot pada serabut otot normal berada disekitar otot yang mengalami hialinasi (Hibya, 1995).

Berdasarkan data pada Tabel 3 maka dapat dilakukan uji polinomial orthogonal dan dapat digambarkan grafik hubungan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*psidium guajava*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata skoring hasil pengamatan kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa degenerasi hialin yang disajikan pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*psidium guajava*) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot

Gambar 8 diatas menunjukkan adanya hasil hubungan antara pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa degenerasi

hialin adalah kuadratik hal ini menunjukkan bahwa terdapat titik optimal pemberian dosis imunostimulan yaitu 3.37% sedangkan dosis diatas 3.37% akan menyebabkan kerusakan berupa degenerasi hialin yang lebih tinggi, dengan persamaan  $y = 2.96 - 0.7867x + 0.1167x^2$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0.8641$ , dapat diartikan bahwa 86.41% tingkat kerusakan degenerasi hialin dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun jambu biji memiliki kemampuan sebagai anti bakteri namun dosis yang terlalu tinggi yang diberikan tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor (Yuliati, 2002).

#### 4.2.2 Nekrosis

Berdasarkan perhitungan rerata skoring kerusakan pada jaringan otot ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang diuji tantang bakteri *A. hydrophila* serta pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*psidium guajava*) terdapat kerusakan berupa nekrosis pada beberapa jaringan otot ikan patin yang diamati disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
2% (A)	2	2.2	2	6.2	2.07
4% (B)	1.8	1.4	1.8	5	1.67
6% (C)	2.4	2.4	1.8	6.6	2.20
Kontrol Positif (K+)	2.6	2.8	2.6	8	2.67

Berdasarkan Tabel 4 diatas dapat diketahui bahwa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji dengan konsentrasi 2% (Perlakuan A) menunjukkan nilai kerusakan jaringan berupa nekrosis yang sedang dengan nilai rerata skoring sebesar 2.07. Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 4% menunjukkan nilai skoring

kerusakan jaringan yang paling kecil yaitu sebesar 1.67. Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 6% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang berat dengan nilai rerata skoring sebesar 2.20. Sedangkan pada perlakuan K+ uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji menunjukkan adanya kerusakan jaringan yang paling tinggi dengan nilai rerata skoring sebesar 2.67. Tanin yang terkandung dalam daun jambu biji bersifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui reaksi dengan membrane sel secara langsung (Ajizah, 2004)

Berdasarkan Tabel 4 dilakukan uji sidik ragam (Tabel 5). Uji sidik ragam dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa nekrosis. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan nekrosis pada jaringan otot disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.53	0.51	10.2**	4.07	7.59
Acak	8	0.40	0.05			
Total	11					

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Tabel 5 diatas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan jaringan otot berupa nekrosis yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari nilai F hitung yang lebih tinggi dari F 5% dan F 1%. Pencegahan beberapa penyakit ikan termasuk nekrosis pada otot dapat dicegah melalui pemberian imunostimulan salah satu imunostimulan yang dapat diberikan adalah ekstrak kasar daun jambu biji yang mengandung senyawa tanin, flavonoid, saponin dan fenol (Yulianni *et al.*,2013).

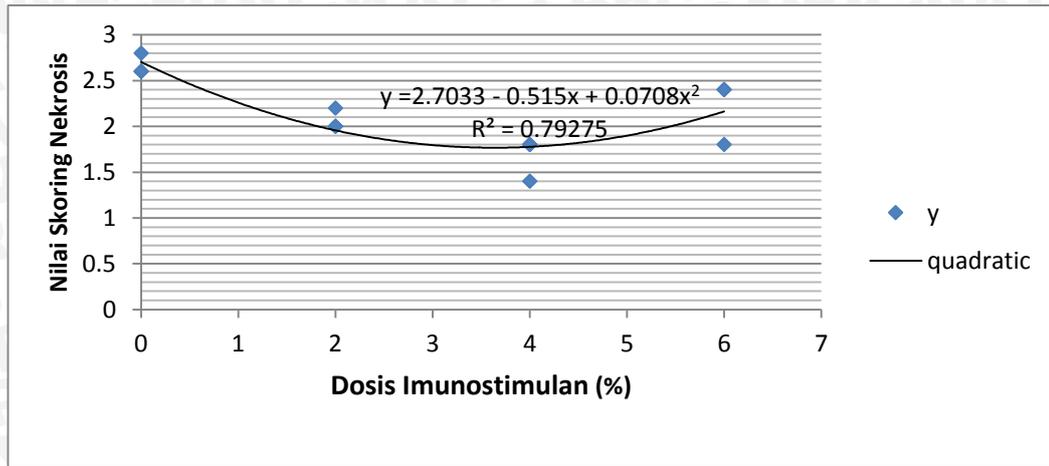
Adapun untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT menunjukkan hasil notasi dari kerusakan jaringan yang mengalami nekrosis. Hasil perhitungan uji BNT skoring kerusakan nekrosis pada jaringan otot ikan Patin (*Pangasius* sp.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Uji BNT Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.67	2.07	2.20	2.67	
B	1.67	-	-	-	-	a
A	2.07	0.4*	-	-	-	b
C	2.20	0.53*	0.13 <sup>ns</sup>	-	-	bc
K	2.67	1**	0.6*	0.47*	-	d

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata  
 \* = Berbeda nyata  
 ns = Tidak berpengaruh (non signifikan)

Tabel 6 diatas menunjukkan notasi dari kerusakan jaringan otot ikan berupa nekrosis dengan notasi a, b, bc dan d. Perlakuan B (4%) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A ( 2%) dan perlakuan C (6%) yang ditunjukkan dengan notasi ab dan cd serta perlakuan K+ (0%) yang ditunjukkan dengan notasi bc. Nekrosis merupakan kematian sel, diduga terjadi sebagai akibat gangguan sirkulasi dan bakteri pathogen yang akhirnya dapat merubah bentuk dan susunan otot. Berdasarkan data pada Tabel 6 maka dilakukan uji polinomial orthogonal dan dapat digambarkan grafik hubungan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*psidium guajava*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata skoring hasil pengamatan kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa nekrosis yang disajikan pada Gambar



**Gambar 9.** Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*psidium guajava*) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Nekrosis pada Jaringan Otot

Gambar 9 diatas menunjukkan adanya hasil hubungan antara pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa nekrosis adalah kuadratik hal ini menunjukkan bahwa terdapat titik optimal pemberian dosis imunostimulan yaitu 3.89% sedangkan dosis diatas 3.89% akan menyebabkan kerusakan berupa nekrosis yang lebih tinggi, dengan persamaan  $y = 2.7033 - 0.515x + 0.0708x^2$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0.79275$ , dapat diartikan bahwa 79.27% tingkat kerusakan nekrosis dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Dengan dosis yang optimal tanin yang terkandung dalam ekstrak kasar daun jambu biji memiliki aktifitas antibakteri yang dapat menyebabkan nekrosis pada otot ikan, tanin mampu mengaktifkan sistem imun pada tubuh ikan, tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna (Cowan, 1999)

#### 4.2.1 Edema

Berdasarkan perhitungan rerata skoring kerusakan pada jaringan otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* serta

pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*psidium guajava*) terdapat kerusakan berupa edema pada beberapa jaringan otot yang diamati disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius* sp.)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
2% (A)	2	2.2	2.4	6.6	2.20
4% (B)	1.4	1.6	2	5	1.67
6% (C)	2.2	2.2	2.4	6.8	2.27
Kontrol Positif (K+)	3.2	2.8	2.6	8.6	2.87

Berdasarkan Tabel 7 diatas dapat diketahui bahwa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji dengan konsentrasi 2% (Perlakuan A) menunjukkan nilai kerusakan jaringan berupa edema yang sedang dengan nilai rerata skoring sebesar 2.20. Pada perlakuan B dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 4% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang paling kecil yaitu sebesar 1.67. Pada perlakuan C dengan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji 6% menunjukkan nilai skoring kerusakan jaringan yang berat dengan nilai rerata skoring sebesar 2.27. Sedangkan pada perlakuan K+ uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji menunjukkan adanya kerusakan jaringan yang paling tinggi dengan nilai rerata skoring sebesar 2.87.

Berdasarkan Tabel 7 diatas dilakukan uji sidik ragam. Uji sidik ragam dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin

berupa edema. Hasil uji sidik ragam skoring kerusakan edema pada jaringan otot disajikan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Sidik Ragam Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Otot.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2.17	0.72	12.06**	4.07	7.59
Acak	8	0.48	0.06			
Total	11					

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Tabel 8 diatas menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun Jambu biji berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan jaringan otot berupa edema yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini diketahui dari nilai F hitung yang lebih tinggi dari F 5% dan F 1%. imunostimulan merupakan zat pencegah terhadap infeksi bakteri yang dapat meningkatkan system kekebalan tubuh ikan (Mudjiutami *et al.*, 2007)

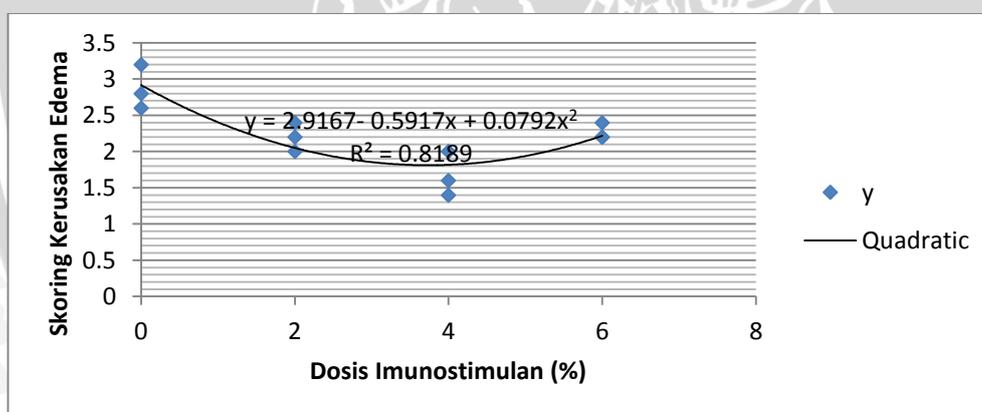
Adapun untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan digunakan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Uji BNT menunjukkan hasil notasi dari kerusakan jaringan yang mengalami edema. Hasil perhitungan uji BNT skoring kerusakan edema pada jaringan otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Uji BNT Kerusakan Edema pada Jaringan Otot Ikan Patin (*Pangasius sp.*)

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.67	2.20	2.27	2.87	
B	1.67	-				a
A	2.20	0.53*	-			b
C	2.27	0.6*	0.07ns	-		bc
K	2.87	1.2**	0.67*	0.6*	-	d

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata  
 \* = Berbeda nyata  
 ns = Tidak berpengaruh (non signifikan)

Tabel 9 diatas menunjukkan notasi dari kerusakan jaringan otot ikan berupa edema dengan notasi a, b, bc dan d. Perlakuan B (4%) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (2%) dan perlakuan C (6%) yang ditunjukkan dengan notasi bc dan cd serta perlakuan K+ (0%) yang ditunjukkan dengan notasi bc. Edema merupakan suatu akumulasi cairan yang abnormal didalam rongga tubuh dan organ yang dapat mengakibatkan pembengkakan pada sel, kerusakan mekanis ini dapat mempengaruhi ikan terhadap infeksi lebih lanjut (prisoeryanto *et al.*,2010). Berdasarkan data pada Tabel 9 maka dilakukan uji polinomial orthogonal untuk mengetahui hubungan pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*psidium guajava*) dengan konsentrasi yang berbeda dengan nilai rerata skoring hasil pengamatan kerusakan jaringan otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) berupa edema yang disajikan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Grafik Hubungan antara Pemberian Imunostimulan Ekstrak Kasar Daun Jambu Biji (*psidium guajava*) dengan Konsentrasi Berbeda dengan Nilai Rerata Skoring Edema pada Jaringan Otot

Gambar 10 diatas menunjukkan adanya hasil hubungan antara pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun Jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang berbeda terhadap kerusakan jaringan otot ikan Patin berupa edema adalah kuadratik dengan titik optimal 3.77%, persamaan  $y = 2.9167 - 0.5917x + 0.0792x^2$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 0.8189$ , dapat diartikan

bahwa 81.89% tingkat kerusakan edema dipengaruhi oleh dosis pemberian imunostimulan yang diberikan. Dosis pemberian imunostimulan yang optimal akan mencegah terjadinya pembengkakan sel yang terinfeksi bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi lebih lanjut pada ikan (Ersa, 2008).

#### 4.3 Pengamatan Kualitas Air

Parameter kualitas air juga harus diperhatikan selama masa pemeliharaan ikan patin saat proses penelitian berlangsung karena akan mempengaruhi kelulushidupan ikan. Parameter kualitas air yang diukur antara lain suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Adapun hasil pengukuran kualitas air selama penelitian sebagai berikut :

##### a. Suhu

Pengukuran suhu pada saat penelitian dilakukan 2 kali sehari, pagi pukul 08.00 dan sore hari pukul 16.00. Suhu air selama proses penelitian berkisar antara 27 - 29°C (disajikan pada lampiran 3). Suhu masih dikatakan bisa ditolelir oleh ikan Patin (*Pangasius sp.*), menurut Subachri, *et al.* (2011), dalam pemeliharaan ikan harus diperhatikan beberapa faktor salah satunya suhu, kisaran suhu yang baik untuk ikan patin yaitu 25°C - 30°C.

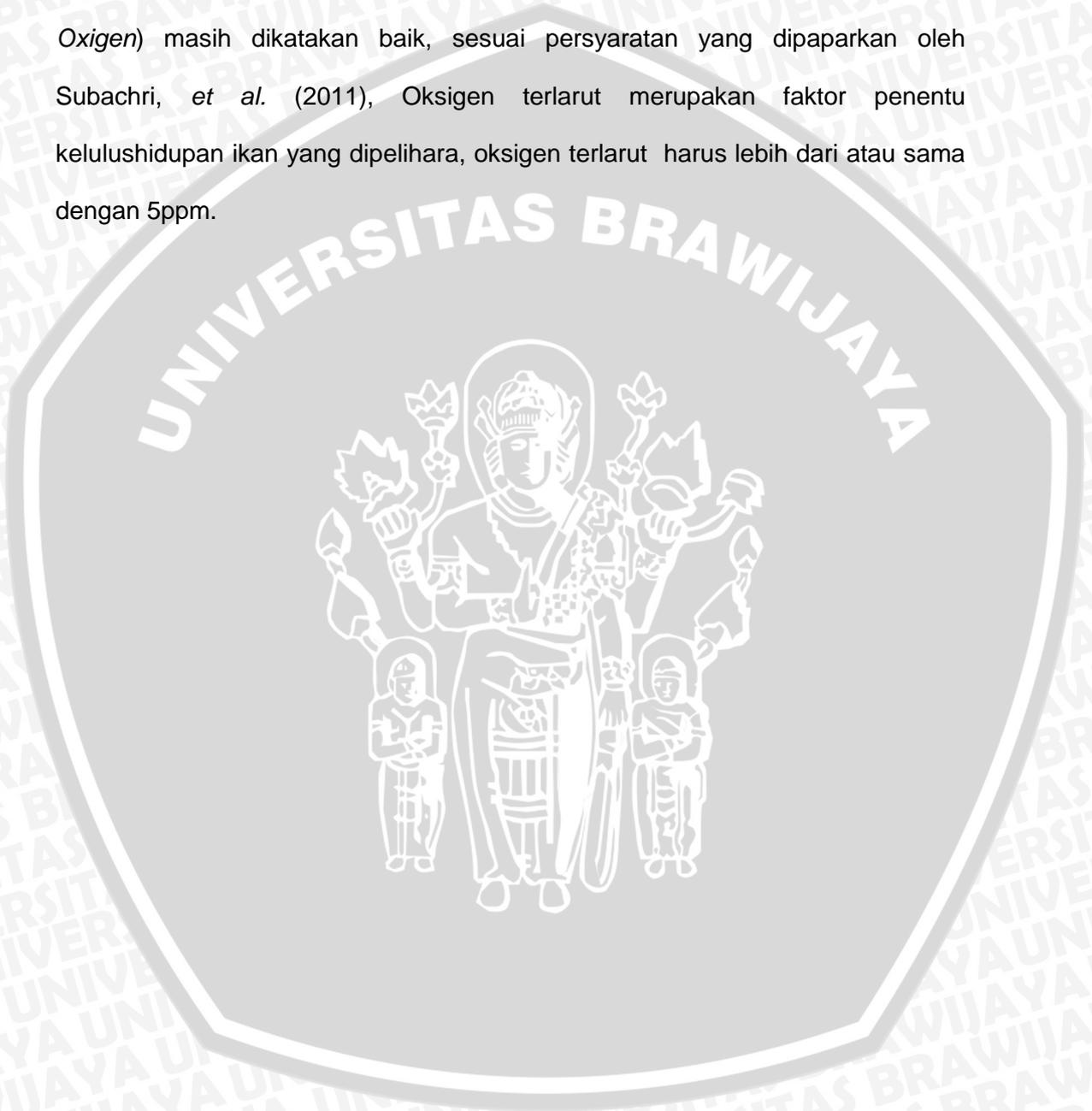
##### b. pH (*Puissance Negative de Hidrogen*)

pH (*Puissance Negative de Hidrogen*) diukur dengan menggunakan pH meter model Hanna. pH (*Puissance Negative de Hidrogen*). Pengukuran pH (*Puissance Negative de Hidrogen*) pada saat penelitian memiliki nilai berkisar 7,4 - 7,7 (disajikan pada lampiran 3). Nilai pH masih dikatakan normal dan baik untuk pemeliharaan ikan patin. Menurut Subachri, *et al.* (2011), pH merupakan tingkat keasaman, pH yang baik dalam proses pemeliharaan ikan yaitu >7.

##### c. DO (*Disolved Oxigen*)

Pengukuran DO (*Disolved Oxigen*) harus dilakukan untuk mengetahui nilai DO (*Disolved Oxigen*) yang terkandung pada air akuarium pemeliharaan

ikan. DO (*Disolved Oxigen*) pada air akan sangat mempengaruhi kualitas dan kehidupan ikan Patin. Pengukuran DO (*Disolved Oxigen*) dilakukan pada pagi hari pukul 08:00 WIB dan 16:30 WIB. Nilai DO (*Disolved Oxigen*) selama pemeliharaan berkisar antara 5,9-8ppm (disajikan pada lampiran 3), DO(*Disolved Oxigen*) masih dikatakan baik, sesuai persyaratan yang dipaparkan oleh Subachri, *et al.* (2011), Oksigen terlarut merupakan faktor penentu kelulushidupan ikan yang dipelihara, oksigen terlarut harus lebih dari atau sama dengan 5ppm.



## 5.KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

- Pemberian ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dapat digunakan sebagai imunostimulan dan berpengaruh terhadap histopatologi otot ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Dosis Pemberian imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) dengan dosis yang optimal dapat menurunkan tingkat kerusakan jaringan otot pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *A. Hydrophila* adalah sebesar 3.89%

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan untuk memberikan imunostimulan ekstrak kasar daun jambu biji (*Psidium guajava*) pada ikan Patin (*Pangasius sp.*) yang diuji tantang bakteri *Aeromonas Hydrophila* dengan menggunakan dosis 3.89%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aberoum, A., dan H. Jooyandeh. 2010. A Review on Occurrence and Characterization of the Aeromonas Species from Marine Fishes. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2(6): 519-523
- Adria, PM dan M. U. Jenny . 2006. Pengaruh Formula Pakan Terhadap Perkembangan Ikan Patin (*Pangasius Sp.*) yang Dipelihara di Waring Apung. *Risalah Seminar Ilmiah*. Vol. 1. No. 1. Hal. 217-220.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 33 hal.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella typhymurium Terhadap Ekstrak daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*). *Bioscientiae*. Volume I, No. 1
- Akbar, S dan Sudaryanto. 2002. Pembenuhan Dan Pembesaran Kerapu Bebek. PT Penebar Swadaya. Jakarta. hlm: 63-65
- Alifia, F. 2013. Histopatologi Insang Ikan Bandeng (*Chanos chanos forskall*) yang Tercemar Logam Timbal (Pb). *Jurnal Balik Diwa*. Vol. 4. No.1. Hal. 38-45.
- Alifuddin, M. 2007. Imunostimulasi Pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2): 87-92.
- Amelia, N dan B. Prayitno. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) untuk Menginaktifkan Viral Nervous Necrosis (VNN) pada Ikan Kerapu Bebek (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. Vol. 1. No. 1. Hal 264-278.
- Anderson, D. P., and A. K. Siwicki. 1993. Basic Hematology and Serology for fish Health Programs. *Second Symposium On Diseases in Asian Aquaculture Aquatic Animal Health and the Environment*. Phuket, Thailand. 25-29<sup>th</sup> October 1993.
- Ariyanto, D., B. Gunadi dan Sularto. 2007. Pengaruh Formula Pakan Terhadap Perkembangan Ikan Patin (*Pangasius Sp.*) yang Dipelihara di Waring Apung. *Jurnal Perikanan*. Vol. 9. No. 1. Hal. 49-55.
- Asniatih., M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dum (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. Vol. 3. No. 1. Hal. 13-21
- Atmodjo, J. T. 2011. Jenis Metode Penelitian. Universitas Mercubuana. Jakarta. 19 hlm.
- Cowan, M.M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 –582.
- Dontriska, K., Sarwono, S., Febri, D. Analisa Kelimpahan Leukosit Pada Berbagai Jenis Ikan di daerah Cimahi. *Jurnal Akuakultur*. 13: 45-50.

- Ersa, E. M. 2008. Gambaran Histopatologi Insang, Usus dan Otot Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Ciampea Bogor. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor.
- Febriani, D., Sukenda, S. Nuryati. 2013. Kappa karagenan sebagai imunostimulan untuk penendalian penyakit *infectious myonecrosis* (IMN) pada udang vaname *Litopenaeus Vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12(1), 77-85.
- Hanafiah, K. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT Raja Grafindo Prasada. Jakarta. 259 hlm.
- Hardi, E., C.A. Pebrianto. T. Hidayanti, dan R. Handayani. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* Melalui Jalur Yang Berbeda Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kertanegara Kalimantan Timur Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(2): 130-133.
- Hartoto. 2009. Penelitian Deskriptif dalam sebuah Rancangan penelitian. Universitas Sebelas Maret. 17 hlm.
- Hernawati dan Gede Suantika. 2007. Penggunaan system resirkulasi dalam Pendederan Benih Ikan Gurami. *Disaintek*. Vol 1. No. 1: 1-2 hlm
- Hibya, T. 1995. An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features (Second edition). Kodansa LTD, Tokyo.
- Izzati, M. 2009. Perubahan Konsentrasi Oksigen Terlarut dan pH Perairan Tambak setelah Penambahan Rumput Laut *Sargassum Plagyophyllum* dan Ekstraknya. Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP. 69 hlm.
- Jusadi, D., E. Gandara dan I. Mokoginita. 2004. Pengaruh Penambahan Probiotik *Bacillus* Sp. pada Pakan Komersil Terhadap Konversi Pakan dan Pertumbuhan Ikan Patin *Pangasius hypophthalmus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. Vol. 3. No.1. Hal. 15-18.
- Komariyah dan A. I. Setiawan. 2009. Pengaruh Penambahain Berbagai Dosis Minyak Ikan yang Berbeda pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan Benih Ikan Patin (*Pangasius pangasius*). *Pena Akuatika*. Vol. 1. No. 1. Hal. 19-29.
- Lengkosono. 2007. Budidaya Ikan Kerapu (Serranidae) dan Kualitas Perairan. *Neptunus*. 14 (1) : 61 – 67.
- Lesson, C. R and L. L. Papano. *Buku Ajar Histologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Lisna. 2011. Biologi Reproduksi Ikan Seluang (*Rasbora argyrotenia Blkr*) di Sungai Kumpeh Jambi. *Tesis*. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Universitas Andalas Padang. Padang.
- Mahjuddin, Kholis. 2010. Agribisnis Patin. Penebar Swadaya. Jakarta.

- Martha, R. 2006. Analisa Kelayakan Industri Fillet Ikan Patin Beku (*Pangasius hypophthalmus*) di Kabupaten Bogor. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mudjiutami, E, Ciptoroso, Z. Zainun, Sumarjo dan Rahmat. 2005. Pemanfaatan Immunostimulan Untuk Pengendalian Penyakit pada Ikan mas. *Jurnal Budidaya Air Tawar*. 4 (1):1:9
- Petrunov, B., Nenkov, P., and Shekerdjiisky, R. (2007). *The Role Of Immunostimulants In Immunotherapy And Immunoprophylaxis*. Bulgaria: National Center Of Infectious And Parasitic Disease, Bulbio-Ncipd, Natsim Ltd.
- Prihatman, K. 2000. Tentang Budidaya Pertanian Kedelai. Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Permasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Priosoetyanto., I. M. Ersa., R. Tiura dan S. U. Handayani. 2010. Gambaran Histopatologi insang, Usus, dan Otot Ikan Mujair (*Oerochromis mossambicus*) yang Berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. *Journal of Veterinary Science and Medicine*. 2(1): 1-8.
- Price, A. S., Wilson M. L., 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Alih Bahasa: dr. Brahm U. Penerbit. Jakarta: EGC
- Ridlo, A dan R. Pramesti. 2009. Aplikasi Ekstrak Rumput Laut Sebagai Agen Immunostimulan Sistem PertahananNon Spesifik Pada Udang (*Litopennaeus vannamei*). *Ilmu Kelautan*.Vol.14 (3): 133-137.
- Rosidah dan W. M. Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji sebagai Antibakterial untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy Lacepede*). *Jurnal Akuatika*. Vol. 3. No. 1. Hal. 19-27.
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulan. *Aquaculture*: 172 hal
- Samsundari, Sri. 2006. Pengujian Ekstrak Temulawak Dan Kunyit Terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang Menyerang Ikan M (*Cyprinus carpio*). *GAMMA*. Vol. 2. No.1. Hal 71-83.
- Sari, N. R. 2013. Pengaruh Pemberian Immunostimulan Ekstrak Kasar Fenol *Gracillaria verrucosa* terhadap Histopatologi Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi bakteri *Aeromonas hidrophyla*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Simatupang, N dan D Anggraini. 2013. Potensi Tanaman Herbal Sebagai Antimikrobia pada Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias sp.*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. Vol. 1. No. 2. Hal 216-225.
- Soeharmanto, D; B. Hanggono;S. Djunadidan A. B Muslim. 2010. Rekayasa Hybridisasi Ikan Kerapu Macan dan Kertang (Cantang) Melalui Pembuahan Buatan. *Seminar\_Indonesian Aquaculture*. 9 hlm.

Subachri, W., Zainuddin, D. Yanuarita. 2011. Budidaya Kerapu Sistem Keramba Jaring Apung dan Tancap. *Seri Panduan Perikanan Skala Kecil*. Vol 1, 5-44.

Sumino., A. Supriyadi, Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia cattapa L.*) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. Vol. 31. No. 1. Hal. 79-88.

Sutama, I. K. J. 2002. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) Sambiloto (*Andrographis paniculata Nees*) dan Daun Sirih (*Piper betle l.*) Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias sp.*). *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Takashima, F and T. Hibiya. 1995. *An Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Feature*. Second Edition. Kodansa Ltd. Tokyo.

Trevesborn, KM. 2002. Applied Fish Pharmacology, *Aquaculture Series 3*. Netherlands: Kluwer Academic Publisher.

Yuliani, S., L.Udamo & E. Hayani. 2003. Kadar Tanin dan Querestin Tiga Tipe Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*). *Buletin Tanaman Rempah*. 14(1): 17-24.

Yuliati, I. 2002. Efektifitas bubuk daun jambu biji (*Psidium guajava L*), daun sirih (*Piper betle L*) dan daun sambiloto (*Andrographis peniculata* (Burm. F.) Ness) untuk pencegahan dan pengobatan pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepenus*) yang diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Otot Ikan Patin

Kelainan	Sampel	Ulangan	area lapang pandang					Rerata LP	Rerata sampel
			1	2	3	4	5		
Degenerasi Hialin	A	1	1	2	2	2	2	1.8	2.13
		2	3	2	2	2	2	2.2	
		3	2	3	2	3	2	2.4	
	B	1	1	1	2	2	1	1.4	1.4
		2	2	1	1	1	1	1.2	
		3	2	3	1	1	1	1.6	
	C	1	3	3	2	2	2	2.4	2.53
		2	2	3	2	2	3	2.4	
		3	3	3	3	2	3	2.8	
	K+	1	3	3	4	3	3	3.2	2.91
		2	2	4	3	2	3	2.8	
		3	3	3	3	2	2	2.6	
	K-	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
Nekrosis	A	1	2	2	1	2	3	2	2.07
		2	3	3	2	2	1	2.2	
		3	2	3	2	2	1	2	
	B	1	3	2	1	1	2	1.8	1.67
		2	1	2	1	1	2	1.4	
		3	1	2	2	2	2	1.8	
	C	1	2	3	3	3	1	2.4	2.2
		2	2	2	3	3	2	2.4	
		3	1	2	2	2	2	1.8	
	K+	1	3	3	2	3	2	2.6	2.67
		2	2	2	3	3	4	2.8	
		3	2	4	3	2	2	2.6	
	K-	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	

Lampiran 1. (Lanjutan)

Kelainan	Sampel	Ulangan	area lapang pandang					Rerata LP	Rerata sampel
			1	2	3	4	5		
Edema	A	1	1	2	2	2	3	2	
		2	3	2	2	2	2	2.2	2.2
		3	2	3	2	3	2	2.4	
	B	1	1	1	2	2	1	1.4	
		2	2	1	1	3	1	1.6	1.67
		3	2	3	3	1	1	2	
	C	1	2	3	2	2	2	2.2	
		2	2	2	2	2	3	2.2	2.27
		3	3	1	3	2	3	2.4	
	K+	1	3	3	4	3	3	3.2	
		2	2	4	3	2	3	2.8	2.87
		3	3	3	3	2	2	2.6	
	K-	1	1	1	1	1	1	1	
		2	1	1	1	1	1	1	1
		3	1	1	1	1	1	1	

Keterangan:

- 1: Ringan (Kerusakan 0-5%)
- 2: Sedang (Kerusakan 6-25%)
- 3: Berat (Kerusakan 26-50%)
- 4: Sangat Berat (Kerusakan >50%)

Lampiran 2. Perhitungan Rata-Rata Hasil Skoring Kerusakan Jaringan Otot menggunakan MS. Excel 2010

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
2% (A)	1.8	2.2	2.4	6.4	2.13	40.96
4% (B)	1.4	1.2	1.6	4.2	1.40	17.64
6% (C)	2.4	2.4	2.8	7.6	2.53	57.76
Kontrol Positif (K+)	3.2	2.8	2.6	8.6	2.87	73.96
	Total			26.8		190.32

FK	59.85
JK TOTAL	4.15
JK PERLAKUAN	3.59
JK ACAK	0.56

#### Analisa Sidik Ragam Skoring Kerusakan Degenerasi Hialin pada Jaringan Otot.

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3.59	1.20	17.08**	4.07	7.59
Acak	8	0.56	0.07			
Total	11					

#### Uji BNT t Tabel 5% dan t Tabel 1%

<b>Uji BNT</b>	
BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED	
BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED	
<b>SED</b>	0.22
<b>BNT 5%</b>	0.50
<b>BNT 1%</b>	0.72

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.40	2.13	2.53	2.90	
B	1.40	-	-	-	-	a
A	2.13	0.73**	-	-	-	b
C	2.53	1.13**	0.40 <sup>ns</sup>	-	-	bc
K	2.90	1.50**	0.77**	0.37 <sup>ns</sup>	-	cd

Lampiran 2. (Lanjutan)

Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6.4	-3	1	-1
B	4.2	-1	-1	3
C	7.6	1	-1	-3
D	8.6	3	1	1
$Q = \sum c_i * T_i$		10	3.2	-8
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum c_i^2) * r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		0.85	1.67	1.07
JK REGRESI	3.59			

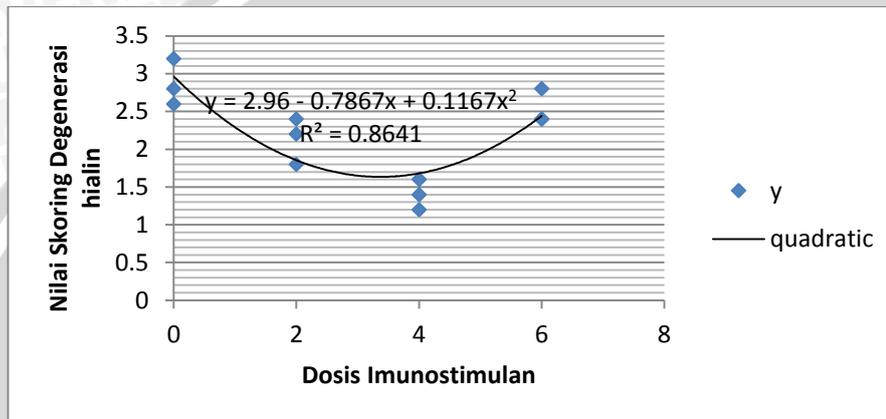
Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3.59			3.48	5.99
Linier	1	0.85	0.85	12.20 **		
Kuadratik	1	1.67	1.67	23.81 **		
Kubik	1	1.07	1.07	15.24 **		
Acak	8	0.56	0.07			
Total	11					
R <sup>2</sup> Linier	0.60					
R <sup>2</sup> Kuadratik	0.86					
R <sup>2</sup> Kubik	0.66					

x	Y		Xy
2	1.8	-11.73	3.6
2	2.20	-11.73	4.4
2	2.40	-11.73	4.8
4	1.40	-11.52	5.6
4	1.20	-11.52	4.8
4	1.6	-11.52	6.4

Lampiran 2. (Lanjutan)

6	2.4	-11.32	14.4
6	2.4	-11.32	14.4
6	2.8	-11.32	16.8
0	3.2	-11.93	0
0	2.8	-11.93	0
0	2.6	-11.93	0

Degenerasi Hialin



Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot Ikan Patin

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
2% (A)	2	2.2	2	6.2	2.07	38.44
4% (B)	1.8	1.4	1.8	5	1.67	25.00
6% (C)	2.4	2.4	1.8	6.6	2.20	43.56
Kontrol Positif (K+)	2.6	2.8	2.6	8	2.67	64.00
				25.8		171.00

FK	55.47
JK TOTAL	1.93
JK PERLAKUAN	1.53
JK ACAK	0.40

Lampiran 2. (Lanjutan)

**Analisa Sidik Ragam Skoring Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Otot.**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.53	0.51	10.2**	4.07	7.59
Acak	8	0.40	0.05			
Total	11					

**Uji BNT t Tabel 5% dan t Tabel 1%**

Uji BNT	
BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED	
BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED	
SED	0.18
BNT 5%	0.42
BNT 1%	0.61

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.67	2.07	2.20	2.67	
B	1.67	-	-	-	-	a
A	2.07	0.4*	-	-	-	b
C	2.20	0.53*	0.13ns	-	-	bc
K	2.67	1**	0.6*	0.47*	-	cd

**Uji Polinomial Orthogonal Nekrosis pada Otot**

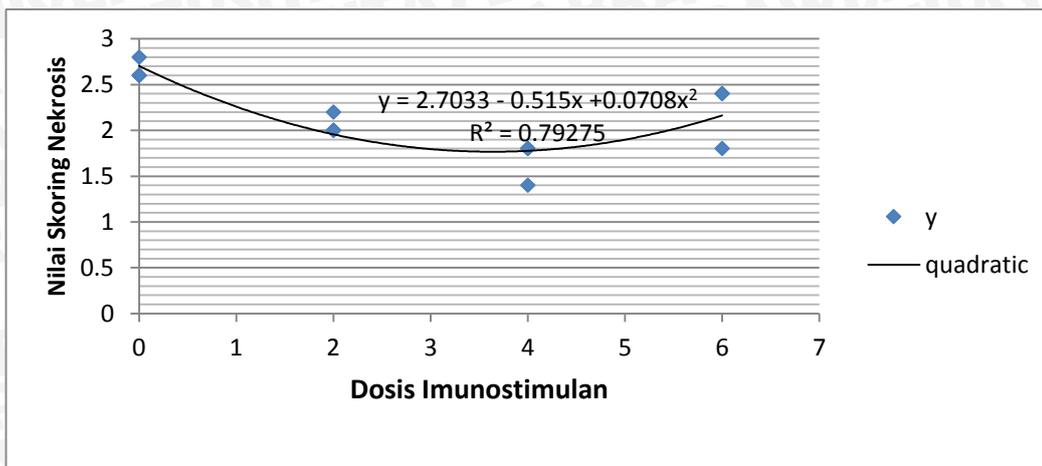
Uji Polinomial				
Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6.2	-3	1	-1
B	5	-1	-1	3
C	6.6	1	-1	-3
K	8	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		7	2.6	-3
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		0.56	0.82	0.15
Jk REGRESI	1.53			

Lampiran 2. (Lanjutan)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.53			3.48	5.99
Linier	1	0.56	0.56	11.27 **		
Kuadratik	1	0.82	0.82	16.33**		
Kubik	1	0.15	0.15	3 <sup>ns</sup>		
Acak	8	0.4000	0.05			
Total	11					
R <sup>2</sup> Linier	0.58					
R <sup>2</sup> Kuadratik	0.79					
R <sup>2</sup> Kubik	0.27					

x	Y		Xy
2	2	-11.73	4
2	2.20	-11.73	4.4
2	2.00	-11.7	4
4	1.80	-11.52	7.2
4	1.40	-11.52	5.6
4	1.8	-11.52	7.2
6	2.4	-11.32	14.4
6	2.4	-11.32	14.4
6	1.8	-11.32	10.8
0	2.6	-11.9	0
0	2.8	-11.93	0
0	2.6	-11.93	0

Lampiran 2. (Lanjutan)



**Edema**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total <sup>2</sup>
	1	2	3			
2% (A)	2	2.2	2.4	6.6	2.20	43.56
4% (B)	1.4	1.6	2	5	1.67	25.00
6% (C)	2.2	2.2	2.4	6.8	2.27	46.24
Kontrol Positif (K+)	3.2	2.8	2.6	8.6	2.87	73.96
				27		188.76

<b>FK</b>	60.75
<b>JK TOTAL</b>	2.65
<b>JK PERLAKUAN</b>	2.17
<b>JK ACAK</b>	0.48

**Analisa Sidik Ragam Skoring Kerusakan Edema pada Jaringan Otot.**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2.17	0.72	12.06**	4.07	7.59
Acak	8	0.48	0.06			
Total	11					

Lampiran 2. (Lanjutan)

Uji BNT t Tabel 5% dan t Tabel 1%

Uji BNT	
BNT 5% = t tabel 5% (db acak) x SED	
BNT 1% = t tabel 1% (db acak) x SED	
SED	0.2
BNT 5%	0.46
BNT 1%	0.67

Perlakuan	Rerata	B	A	C	K	Notasi
		1.67	2.20	2.27	2.87	
B	1.67	-	-	-	-	a
A	2.20	0.53*	-	-	-	b
C	2.27	0.6*	0.07 <sup>ns</sup>	-	-	bc
K	2.87	1.2**	0.67*	0.6*	-	cd

Uji Polinomial Orthogonal Edema pada Otot

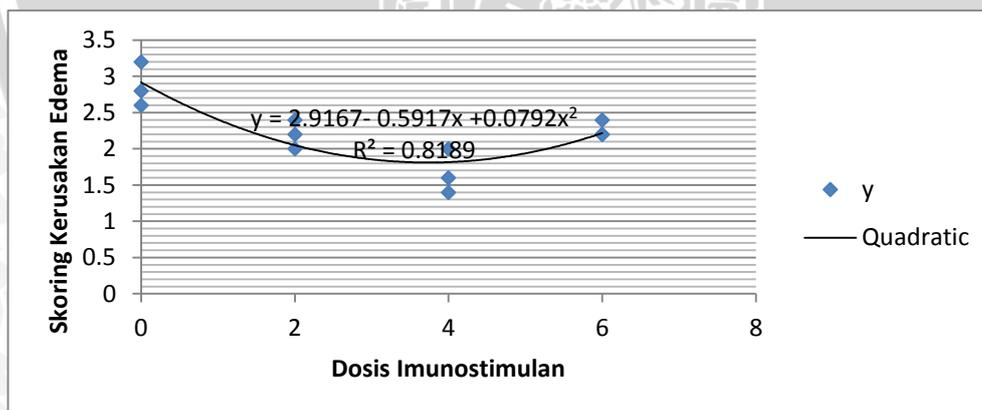
Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6.6	-3	1	-1
B	5	-1	-1	3
C	6.8	1	-1	-3
K	8.6	3	1	1
Q= $\sum Ci \cdot Ti$		7.8	3.4	-3.4
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum Ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		0.96	1.01	0.19
JK REGRESI	2.17			

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2.17			3.48	5.99
Linier	1	0.96	0.96	16.06 **		
Kuadratik	1	1.01	1.01	16.9**		
Kubik	1	0.19	0.19	3.21 <sup>ns</sup>		

Lampiran 2. (Lanjutan)

Acak	8	0.48	0.06		
Total	11				
R <sup>2</sup> Linier	0.67				
R <sup>2</sup> Kuadrat	0.82				
R <sup>2</sup> Kubik	0.29				
R <sup>2</sup> Kuartik	0				

x	Y		Xy
2	2	-11.73	4
2	2.20	-11.73	4.4
2	2.40	-11.73	4.8
4	1.40	-11.52	5.6
4	1.60	-11.52	6.4
4	2	-11.52	8
6	2.2	-11.32	13.2
6	2.2	-11.32	13.2
6	2.4	-11.32	14.4
0	3.2	-11.93	0
0	2.8	-11.93	0
0	2.6	-11.93	0



Lampiran 3 Hasil Pengukuran Kualitas Air selama Penelitian.

Tanggal	Perlakuan	Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
18 Juni 2016	A1	28	29	7,5	7,5	6,4	7,9
	A2	27	28	7,4	7,4	6,0	7,7
	A3	27	29	7,4	7,4	6,0	7,7
	B1	27	28	7,5	7,5	6,2	7,8
	B2	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	B3	27	28	7,5	7,5	6,3	7,8
	C1	28	29	7,7	7,7	6,2	7,8
	C2	28	29	7,7	7,7	6,3	7,7
	C3	27	28	7,7	7,7	6,0	7,7
	K1	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	K2	28	29	7,5	7,5	5,9	7,8
	K3	28	29	7,6	7,6	6,6	7,7
19 Juni 2016	A1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	A2	27	28	7,6	7,6	6,6	7,7
	A3	27	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B1	27	28	7,4	7,4	6,3	7,8
	B2	27	29	7,4	7,4	6,0	7,7
	B3	27	28	7,5	7,5	6,6	7,7
	C1	27	28	7,5	7,5	6,0	7,7
	C2	28	29	7,7	7,7	6,2	7,8
	C3	28	29	7,7	7,7	6,6	7,7
	K1	28	29	7,6	7,6	6,3	7,7
	K2	28	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
20 Juni 2016	A1	28	29	7,5	7,5	6,0	8,0
	A2	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	A3	28	29	7,5	7,5	6,4	7,7

Lampiran 3 (Lanjutan)

Tanggal		Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
21 Juni 2016	B1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	B2	28	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	C1	27	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	C2	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	C3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	K1	28	29	7,5	7,5	6,3	7,8
	K2	28	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,7
22 Juni 2016	A1	27	28	7,5	7,5	6,0	7,7
	A2	27	28	7,5	7,5	6,2	7,8
	A3	27	29	7,5	7,5	6,6	7,6
	B1	28	29	7,5	7,5	6,0	7,7
	B2	28	29	7,6	7,5	6,0	6,4
	B3	27	28	7,6	7,4	6,6	7,0
	C1	27	28	7,5	7,4	6,4	6,0
	C2	27	28	7,4	7,5	6,3	6,2
	C3	27	29	7,4	7,5	6,0	7,6
	K1	27	28	7,5	7,5	6,6	7,3
	K2	27	28	7,5	7,7	6,0	7,2
	K3	28	29	7,7	7,7	6,2	6,3
23 Juni 2016	A1	28	29	7,7	7,7	6,6	6,0
	A2	28	29	7,6	7,5	6,3	6,6
	A3	28	29	7,6	7,5	6,3	5,9
	B1	28	29	7,5	7,6	6,2	6,6
	B2	26	27	7,5	7,7	6,0	6,0

Lampiran 3 (Lanjutan)

Tanggal		Suhu		pH		DO	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
24 Juni 2016	B3	27	25	7,8	7,8	6,0	6,6
	C1	28	29	7,6	7,5	6,4	6,4
	B1	28	29	7,6	7,6	6,0	7,7
	B2	28	28	7,5	7,5	6,4	7,9
	B3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	C1	27	29	7,6	7,6	6,3	7,8
	C2	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	C3	28	29	7,5	7,5	6,2	7,8
	K1	28	29	7,5	7,5	6,3	7,8
	K2	28	28	7,6	7,6	6,3	7,8
	K3	27	28	7,6	7,6	6,3	7,7

