

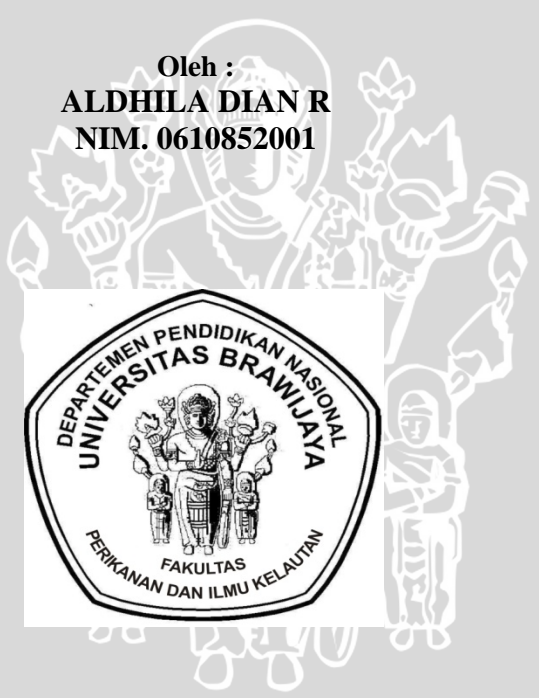
**PENGARUH PENGINFEKSIAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila*,  
PEMUASAAN, DAN PERLUKAAN TERHADAP GAMBARAN  
HEMATOLOGI IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*)**

**SKRIPSI**

**MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
BUDIDAYA PERAIRAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

Oleh :  
**ALDHILA DIAN R**  
**NIM. 0610852001**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2009**



**PENGARUH PENGINFEKSIAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila*,  
PEMUASAAN, DAN PERLUKAAN TERHADAP GAMBARAN  
HEMATOLOGI IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*)**

**SKRIPSI**

**MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
BUDIDAYA PERAIRAN**

Sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan  
Universitas Brawijaya

Oleh :  
**ALDHILA DIAN R  
NIM. 0610852001**

**Dosen Penguji I**

**Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.**  
Tanggal.

**Doen Penguji II**

**Ir. Ellana Sanoesi MS.**  
Tanggal.

**Meyetujui,  
Dosen pembimbing I**

**Dr. Ir. Maftuch, MSi.**  
Tanggal.

**Dosen pembimbing II**

**Ir. Purwohadijanto**  
Tanggal.

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan BP**

**Ir. Maheno Sri Widodo, MS.**  
Tanggal.

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul "Pengaruh Penginfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*, Pemuaasan dan Perlukaan Terhadap Gambaran Hematologi Ikan Gurami (*Osfhronemus gouramy*)". Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan dan Ilmu Kelautan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Dengan selesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih penghargaan yang setulusnya kepada :

1. Kedua orang tua dan saudaraku yang telah memberikan dukungan baik material maupun spiritual.
2. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si. selaku dosen pembimbing I dan Bapak. Ir. Purwo Hadijanto selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran dan bimbingan hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.
3. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan dan bantuan sehingga dapat tersusunnya laporan skripsi ini

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan laporan ini sehingga kritik dan saran untuk penyempurnaan laporan ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi semua pihak yang membutuhkannya.

Malang, Februari 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN .....</b>	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	3
1.4. Kegunaan Penelitian .....	3
1.5. Hipotesis .....	4
1.6. Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Biologi Ikan Gurami ( <i>Osphronemus gouramy</i> ) .....	5
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi .....	5
2.1.2. Habitat Dan Tingkah Laku.....	6
2.1.3. Kebiasaan Makan .....	7
2.1.4. Perkembangbiakan dan Pertumbuhan .....	8
2.2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	8
2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi .....	8
2.2.2. Habitat dan Penyebaran.....	9
2.2.3. Sumber Infeksi .....	10
2.2.4. Sifat Patogenik .....	10
2.2.5. Metabolisme dan Perkembangan .....	11
2.3. Kualitas Air .....	12
2.3.1. Suhu .....	12
2.3.2. Oksigen Terlarut (DO).....	12
2.3.3. Derajat Keasaman (pH).....	13
2.4. Hematologi .....	13
2.4.1. Hematokrit / Packed Cell Volume (PCV) .....	15
2.4.2. Hemoglobin .....	16
2.4.3. Sel Darah Merah ( <i>eritrosit</i> ) .....	16
2.4.4. Sel Darah Putih ( <i>leukosit</i> ) .....	17
2.4.5. Diferensial Leukosit .....	18

<b>III. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1 Materi Penelitian .....	20
3.1.1 Alat-alat Penelitian .....	20
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian .....	20
3.2 Metode Penelitian .....	21
3.2.1. Metode Dan Rancangan Penelitian .....	21
3.2.2. Rancangan Penelitian .....	21
3.3 Prosedur Penelitian .....	23
3.3.1 Persiapan Ikan Uji .....	23
3.3.2 Pembuatan Suspensi Bakteri .....	24
3.4. Penentuan LD <sub>50</sub> Dan Lama Waktu Perendaman .....	26
3.5. Pelaksanaan Penelitian .....	27
3.5.1. Pengambilan Sampel Darah .....	27
3.5.2. Penetapan Nilai Hematokrit / PCV (Packed Cell Volume) .....	29
3.5.3. Penetapan Kadar Hemoglobin .....	29
3.5.4. Perhitungan Jumlah Sel Darah Merah ( <i>Eritrosit</i> ) .....	30
3.5.5. Perhitungan Jumlah Sel Darah Putih ( <i>Laukosit</i> ) .....	31
3.5.6. Perhitungan Diferensial Leukosit .....	32
3.6. Parameter Uji .....	33
3.6.1. Parameter Utama .....	33
3.6.2. Parameter Penunjang .....	34
3.7. Analisa Data .....	34
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>35</b>
4.1. Penetapan LD <sub>50</sub> Dan Lama Waktu Perlakuan .....	35
4.2. Gambaran Hematologi .....	35
4.2.1. Hematokrit/ PCV (Packed Cell Volume).....	36
4.2.2. Hemoglobin (Hb) .....	38
4.2.3. Sel Darah Merah ( <i>Eritrosit</i> ) .....	41
4.2.4. Sel Darah Putih ( <i>Leukosit</i> ) .....	45
4.2.5. Diferensial Leukosit.....	47
4.3. Pengamatan Kualitas Air .....	56
4.4. Tingkat Kelulushidupan (SR) .....	56
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>59</b>
5.1 Kesimpulan .....	59
5.2 Saran .....	60
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>61</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>64</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Nilai Hematokrit Setelah Transformasi.....	36
2. Sidik Ragam Nilai Hematokrit.....	37
3. Rata-rata Nilai Hemoglobin (gr/dl) Ikan Gurami .....	39
4. Sidik Ragam Nilai Hemoglobin (gr/dl).....	40
5. Rata-rata Jumlah Eritrosit .....	42
6. Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Gurami .....	43
7. Beda Nyata Terkecil Jumlah Eritrosit.....	43
8. Rata-rata Jumlah Leukosit Setelah Transformasi .....	45
9. Sidik Ragam Jumlah Leukosit .....	46
10. Beda Nyata Terkecil Jumlah Leukosit .....	46
11. Rata-rata Jumlah Limfosit Setelah Transformasi.....	48
12. Sidik Ragam Jumlah Limfosit.....	49
13. Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah Limfosit.....	49
14. Rata-rata Jumlah Neutrofil Setelah Transformasi .....	50
15. Sidik Ragam Jumlah Neutrofil .....	51
16. Rata-rata Jumlah Monosit Setelah Transformasi .....	52
17. Sidik Ragam Jumlah Monosit .....	53
18. Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah Monosit.....	54
19. Sidik Ragam Tingkat Kelulushidupan Ikan Gurami .....	57
20 Uji Beda Nyata Terkecil Tingkat Kelulushidupan Ikan Gurami.....	58



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar	Halaman
1. Ikan Girami .....	6
2. Pembentukan Sel Darah .....	14
3. Sel Darah Di Dalam Salura Darah .....	15
4. Denah Percobaan .....	22
5. Teknik Pengambilan Darah .....	27
6. Pewarnaan Sel-Sel Darah .....	33
7. Grafik Nilai Rata-rata Hematokrit .....	36
8. Grafik Nilai Rata-rata Hemoglobin .....	39
9. Grafik Rata-rata Total Eritrosit .....	42
10. Grafik Rata-rata Total Leukosit .....	45
11. Grafik Rata-rata Persentase Limfosit .....	48
12. Grafik Rata-rata Persentase Neutrofil .....	51
13. Grafik Rata-rata Persentase Monosit .....	53
14. Grafik Tingkat Kelulushidupan (SR) .....	57
15. Gambaran Darah (Diferensial Leukosit) .....	83
16. Gambar Alat Dan Bahan Penelitian .....	84



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Sel Darah Ikan .....	64
2. Ukuran Panjang Dan berat Ikan Gurami .....	68
3. Data Pengamatan Kualitas Air .....	69
4. Perhitungan Analisa Data Nilai Hematokrit.....	70
5. Perhitungan Analisa Data Kadar Haemoglobin.....	71
6. Perhitungan Analisa Data Total Eritrosit.....	72
7. Perhitungan Analisa Data Total Leukosit.....	74
8. Perhitungan Analisa Jumlah Limfosit .....	76
9. Perhitungan Analisa Jumlah Neutrofil .....	78
10. Perhitungan Analisa Jumlah Monosit .....	79
11. Perhitungan Tingkat Kelulushidupan.....	81
12. Gambaran Darah (Diferensial Leukosit).....	83
13. Alat dan Bahan Penelitian.....	84



## RINGKASAN

**ALDHILA DIAN R. Pengaruh Penginfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*, Pemuaasaan, dan Perlukaan Terhadap Gambaran Hematologi Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*). (di Bawah Bimbingan Dr. Ir. MAFTUCH Msi. Dan Ir. PURWOHADIJANTO)**

---

Salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan Gurami adalah *A. hydrophila*. Bakteri ini mengakibatkan kematian benih sampai 90 %. Ikan gurami ini sudah banyak dibudidayakan oleh masyarakat, tetapi masih belum banyak laporan mengenai gambaran hematologinya. Gambaran darah suatu organisme dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan yang sedang dialami oleh organisme tersebut. Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan komponen-komponen darah juga mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dan kimia darah, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dapat menentukan kondisi kesehatannya. Gambaran hematologi ini dapat digunakan dalam mendiagnosa kondisi kesehatan ikan. Sehingga perlu dilakukan adanya penelitian tentang gambaran hematologi pada ikan gurami, agar dapat diketahui gambaran hematologi antara ikan yang sakit dan ikan yang sehat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran hematologi ikan gurami (*Ospronemus gouramy*) yang sehat, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dilukai pada periode tertentu dan dipuaskan. Serta sebagai salah satu data yang dapat digunakan untuk menentukan interval acuan hematologi dalam diagnostik kesehatan ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). Penelitian ini dilakukan di laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Oktober – Nopember 2008.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan pengambilan data dilakukan secara observasi langsung. Data yang diperoleh dianalisa menggunakan uji keragaman model Rancangan Acak Lengkap (RAL). Dengan perlakuan penginfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*, pelukaan, dan pemuaasaan terhadap ikan gurami (*Osphronemous gouramy*). Perlakuan ini dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Dari hasil penelitian ini didapatkan hasil persentase rata-rata hematokrit tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan, dimana ikan yang terinfeksi bekteri persentase hematokritnya paling rendah dan untuk kontrol paling tinggi. Dimana nilai tiap perlakuannya adalah sebagai berikut: K = 18,85%, B= 18,85%, L= 19,97%, P = 22,50%.

Nilai kadar hemoglobin juga menunjukkan hasil yang sama dimana tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, tetapi dilihat dari hasil rata-ata nilai dari yang terendah adalah nilai pada ikan yang terkena infeksi bakteri dan nilai yang tertinggi adalah pada ikan kontrol dimana hasilnya adalah K= 5,09 gr/dl, B = 3,51 gr/dl, L = 3,71 gr/dl, dan P = 4,97 gr/dl.

Untuk total eritrosit menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Dimana hasil rata-ratanta adalah sebagai brikut K =  $1,34 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, B =  $8,44 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>, L =  $1,04 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, dan P =  $1,27 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>.

Total leukosit juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Hasil total leukosit adalah sebagai berikut K =  $4,67 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, B =  $4,70 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, L =  $4,68 \times 10^4$

sel/mm<sup>3</sup>, dan  $P = 4,66 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>. Leukosit ini meningkat karena adanya infeksi atau adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Nilai persentase limfosit, menunjukkan hasil yang berbeda nyata pula. Hasil persentase limfosit adalah sebagai berikut K = 76,46%, B = 66%, L = 68,58%, dan P = 71,56 %. Limfosit tidak bersifat fagositik tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibody dan menyebabkan peningkatan pertahanan tubuh ikan terhadap serangan penyakit.

Persentase neutrofil, menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Tetapi dilihat dari grafik bahwa neutrofil dari perlakuan yang diinfeksi oleh bakteri lebih besar dari pada perlakuan lainnya, dan perlakuan paling rendah adalah pada kontrol. Dimana hasil persentasenya adalah K = 10,25%, B = 13,94%, L = 13,56%, dan pada P = 11,25%.

Persentase monosit menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata. Hasil persentase dari masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut K = 12,58%, B = 13,94%, L = 16,14% dan P = 11,33%. Monosit bersifat fagositosis yang lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dan dapat memfagosit partikel yang lebih besar.

Gambaran darah pada ikan yang sehat dapat ditunjukkan dengan tingginya nilai persentase hematokrit, kadar hemoglobin, dan total eritrosit. Serta menurunnya nilai total leukosit, persentase limfosit, neutrofil, dan monosit. Sebelum melakukan perlakuan ini ikan diusahakan harus benar-benar dalam kondisi yang sehat dan bebas dari penyakit, agar gambaran hematologinya benar-benar dapat diketahui perbedaannya antara yang sakit dan yang sehat.



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Perkembangan kegiatan budidaya perikanan yang pesat dengan penerapan sistem intensif telah memunculkan permasalahan berupa penurunan daya dukung kolam atau tambak bagi kehidupan ikan yang dibudidayakan. Dampak yang ditimbulkan adalah terjadinya serangkaian serangan penyakit yang menimbulkan kerugian besar (Khasani, 2008).

Kerugian yang diderita karena serangan penyakit sebenarnya dapat dihindari apabila petani ikan tersebut mempunyai pengetahuan yang memadai mengenai cara menjaga keserasian antara ketiga komponen utama penyebab penyakit ikan. Disamping itu, ketelitian dan kecermatan petani juga sangat menentukan keberhasilan tersebut. Adanya informasi yang memadai mengenai mencegah dan mengobati penyakit (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Dijelaskan pula bahwa, serangan penyakit, cenderung terjadi dalam kolam yang di tebari ikan dengan kepadatan tinggi, sebab intensitas terjadinya gesekan tubuh antara sesama ikan menjadi lebih sering. Selain dapat menimbulkan luka, gesekan tubuh ini dapat menjadi media penyebaran organisme penyakit. Daya tahan tubuh ikan yang mengalami luka akan segera menurun, sehingga mudah di serang penyakit. Kepadatan yang tinggi ini juga dapat menyebabkan produk metabolisme besar, sehingga mempercepat penurunan kualitas air, yang dapat mengakibatkan sitem kekebalan tubuh menurun.

Secara umum kendala teknis mulai dapat diatasi dengan semakin dikuasainya teknologi budidaya serta sistem pengelolaan lingkungan yang mengarah kepada

pengelolaan berkesinambungan, namun demikian pengalaman menunjukkan bahwa usaha budidaya baik ikan air tawar, payau maupun laut sering mengalami kegagalan oleh adanya kendala biologis yang berupa serangan wabah hama dan penyakit ikan yang hingga saat ini sebagian belum dapat diatasi (Handajani dan Samsundari, 2005).

Dalam Anonymous, 2008<sup>a</sup>, dijelaskan bahwa budidaya ikan gurame, mempunyai nilai ekonomis yang sangat tinggi. Sehingga untuk mengantisipasi kebutuhan ikan gurami, perlu diupayakan peningkatan kualitas ikan. Salah satu upaya tersebut adalah dengan melakukan seleksi ikan gurami yang resisten terhadap serangan bakteri yang umum menyerang ikan gurami, yaitu *Aeromonas hydrophila*. Menurut Marlyana (2008), Salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan Gurami adalah *A. hydrophila*. Bakteri ini mengakibatkan kematian benih sampai 90 %.

Gambaran darah suatu organisme dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan yang sedang dialami oleh organisme tersebut. Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan komponen-komponen darah juga mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dan kimia darah, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dapat menentukan kondisi kesehatannya (Anonymous, 2008<sup>b</sup>).

Menurut Jhonny, *et. al.* (2003), Gambaran hematologi ini dapat digunakan dalam mendiagnosa kondisi kesehatan ikan. Sehingga perlu dilakukan penelitian tentang gambaran hematologi pada ikan gurami, agar dapat diketahui gambaran hematologi antara ikan yang sakit dan ikan yang sehat.

## 1.2. Perumusan Masalah

Kesehatan ikan sangat dipengaruhi oleh lingkungan, pathogen dan inang (ikan) itu sendiri. Ikan yang berada dalam keadaan normal (sehat), stress karena lingkungan, serangan bakteri, karena luka dan kekurangan makanan akan menunjukkan kondisi kesehatan yang berbeda-beda. Kondisi ini dapat dilihat dari perbedaan gambaran hematologi yang ditunjukkan melalui nilai hematokrit, hemoglobin (Hb), jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan diferensial leukosit oleh tiap ikan pada tiap kondisi.

Adanya permasalahan tersebut, maka standarisasi gambaran hematologi ikan, khususnya ikan gurami sangat diperlukan untuk mempermudah mendapatkan gambaran diagnostik kesehatan ikan.

## 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui :

1. Bagaimana gambaran hematologi ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang sehat.
2. Bagaimana gambaran hematologi ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang terinfeksi bakteri.
3. Bagaimana gambaran hematologi ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang terluka.
4. Bagaimana gambaran hematologi ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) yang dipuaskan.

## 1.4. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi tentang gambaran hematologi ikan gurami (*Ospronemun gouramy*) yang sehat, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dilukai pada periode tertentu dan dipuaskan, serta sebagai

salah satu data yang dapat digunakan untuk menentukan interval acuan hematologi dalam diagnostik kesehatan ikan gurami (*Osphronemus gouramy*).

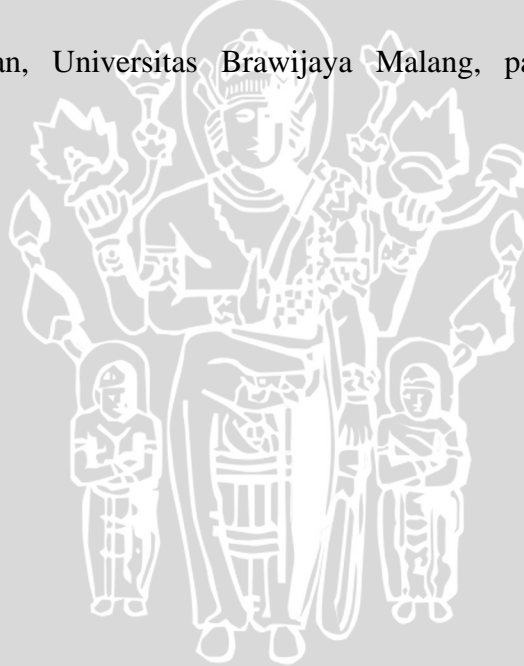
### 1.5. Hipotesis

H<sub>0</sub> : Di duga tidak ada perbedaan hematologi antara ikan gurami sehat dan yang diberi perlakuan diinfeksi bakteri, dilukai, dan dipuasakan.

H<sub>1</sub> : Di duga ada perbedaan hematologi antara ikan gurami sehat dan yang di beri perlakuan diinfeksi bakteri, dilukai, dan dipuasakan.

### 1.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Brawijaya Malang, pada bulan Oktober – Nopember 2008.



## 2. TUNJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Biologi Ikan Gurami

#### 2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

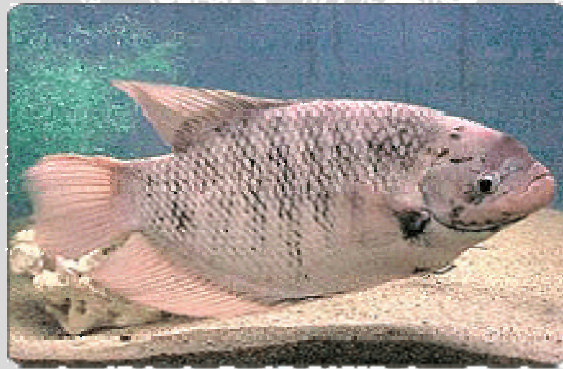
Menurut Respati dan Santoso (1993), dalam kerajaan hewan (*animal kingdom*), ikan gurami diklasifikasikan sebagaiberikut:

Kelas	: Pesces
Sub kelas	: Teleostei
Ordo	: Labyrinthici
Sub ordo	: Anabantoidae
Famili	: Anabantidae
Genis	: Osphronemus
Speses	: <i>Osphronemus gourami</i> (Lacapede)

Menurut Rukmana (2005), nama lain ikan gurami adalah gurame, gurameh, kalau, kala, dan kalui. Ciri-ciri morfologinya adalah sebagai berikut :

1. Bentuk Badan (tubuh) agak panjang, tinggi dan pipih ke samping (*compresed*) sampai hampir oval hingga punggung yang tinggi. Badan berwarna kecokelat-cokelatan dengan bintik hitam pada sirip dada.
2. Mulut kecil, miring, dan dapat disembulkan. Rahang atas dan bawah tidak rata. Ikan yang sudah tua memiliki dagu yang menonjol. Pada bagian rahang memiliki gigi-gigi kecil berbentuk kerucut. Deretan gigi sebelah luar lebih menonjol daripada gigi sebelah dalam.
3. Sisik pada umumnya relatif besar dan bagian kepala mempunyai sisik tepian yang agak kasar.

4. Pada jari-jari pertama pada sirip perut terdapat alat peraba berupa benang-benang yang panjang.
5. ikan gurami dilengkapi dengan alat pernapasan tambahan (*labirinth*). Fungsi *labirinth* adalah untuk menghirup oksigen langsung dari udara. Alat ini berupa selaput yang berkelok-kelok dan menonjol dari tepi atas insang yang pertama. *Labirinth* mempunyai pembuluh kapiler sehingga memungkinkan ikan gurami mengambil zat asam dari udara yang berada diruangan *labirinth*.
6. Pada ikan gurami stadium muda terdapat delapan buah garis tegak. Di atas sirip dubur terdapat bintik gelap dengan pinggiran berwarna kuning atau keperakan, sedangkan pada dasar sirip dada terdapat bintik hitam. Ikan gurami stadium tua mempunyai duri sirip punggung dan dubur yang ukurannya semakin besar ( dapat dilihat pada Gambar 1).



Gambar 1. Ikan Gurami

Sumber : [www.akvarielagret.se/eng/arter/gurami2](http://www.akvarielagret.se/eng/arter/gurami2).

### 2.1.2. Habitat dan Tingkah Laku

Habitat ikan gurami adalah perairan yang tenang dan dalam, misalnya rawa, waduk, dan danau di dataran rendah sampai ketinggian 800 m dari permukaan laut (DPL). Kondisi habitat yang ideal untuk ikan gurami adalah perairan tawar yang mempunyai suhu udara antara 24-28° C. Suhu udara di bawah 15° C berpengaruh



terhadap pertumbuhan dan pembiakannya. Ikan gurami menyukai perairan yang jernih dan tenang serta tidak mengandung lumpur. Selain itu, ikan gurami juga dapat hidup diperairan payau yang kadar garamnya rendah.

Ikan gurami hanya bisa hidup di kolam yang tidak padat ditumbuhi tumbuhan air. Kolam yang rapat atau ditumbuhi oleh tanaman air yang mengapung, ikan gurami sering mati. di kolam biasanya ikan gurami sering terlihat bergerak naik turun dari pada bergerak horizontal (Rukmana, 2005).

Ikan gurami mampu menyesuaikan diri dan tumbuh dengan normal pada kondisi air yang kondisi oksigennya rendah (kurang dari 3 ppm). ikan gurami memiliki alat pernapasan yang lazim disebut labyrinth. Dengan kelengkapan alat ini, ikan gurami mampu menghirup oksigen dari udara bebas melalui mulutnya yang disembulkan ke permukaan air (Respati dan Santoso, 1993).

### 2.1.3. Kebiasaan Makan

Menurut Rukmana (2005), di alam (kolam alami), ikan gurami mempunyai kebiasaan makan yang spesifik sebagai berikut :

1. Ikan gurami stadium kecil (larva) terutama memakan jasad renik berupa *rotifera* dan *infusoria*.
2. Ikan stadium benih biasanya memakan larva *insekta*, *Crustacea*, dan zooplankton.
3. Ikan gurami stadium besarm(dewasa) biasanya memakan tumbuhan air yang lunak, seperti daun talas, daun pepaya, daun singkong, kangkung, dan daun lamtoro.

Berdasarkan tingkah laku tersebut, maka pada waktu masih muda ikan gurami bersifat pemakan daging (karnivora) dan pada stadium dewasa berubah menjadi pemakan campuran (omnivora) yang cenderung memakan tumbuhan (herbivora). Bergesernya komponen pakan dari hewani ke nabati, khususnya dari insekta ke tumbuhan air,

disebabkan pengambilan insekta air oleh ikan berukuran besar tidak efisien dan kebutuhan pakan secara kuantitatif meningkat dengan meningkatnya ukuran ikan. Ikan gurami akan mengkonsumsi pakan yang tersedia dan mudah diperoleh, yaitu tumbuhan air.

#### **2.1.4. Perkembangbiakan dan Pertumbuhan**

Ikan gurami berkembang biak sepanjang tahun atau tidak tergantung musim. Kematangan kelamin ikan gurami biasanya terjadi pada umur 2-3 tahun. Ikan gurami yang memasuki periode perkawinan memiliki kebiasaan membuat sarang untuk tempat bertelur, setiap kali mau berbiak. Sarang dibuat dari ijuk atau tumbuhan kering (rumput), berdiameter 30-38 cm, dan ditempatkan tersembunyi di antara rumput-rumput atau tumbuhan air, pada saat perkawinan, induk betina akan meletakkan atau memasukkan telur-telur dalam sarang dan di jaga oleh induk jantan. Seusai berpijah, penjagaan keturunan menjadi tanggung jawab induk betina (Rukmana, 2005).

Dijelaskan pula, bahwa dibandingkan dengan ikan-ikan air tawar lainnya, pertumbuhan ikan gurami relatif lambat. Pada tahun pertama panjang tubuh hanya mencapai 15 cm, tahun kedua 25 cm, dan tahun ketiga  $\pm$  30 cm.

## **2.2. Bakteri *Aeromonas hydrophilla***

### **2.2.1. klasifikasi dan Morfologi Bakteri *Aeromonas***

Menurut Holt (1979) dalam Prajitno (2007), klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophilla* adalah sebagai berikut :

- Divisio : Protophyta
- Class : Schyzomycetes
- Ordo : Pseudomonadales

Sub Ordo : Pseudomonadineae  
Famili : vibrionaceae  
Genus : *Aeromonas*  
Species : *Aeromonas hydrophila*

Afrianto dan Liviawaty (1992), menjelaskan bahwa ciri utama bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah bentuknya seperti batang, ukurannya  $1 - 4,4 \times 0,4 - \times 1 \mu$ , bersifat gram negative, fakultatif (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak berspora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel (monotrichous flagella) yang keluar dari salah satu kutubnya.

### 2.2.2. Habitat

Genus *Aeromonas* mempunyai habitat dan lingkungan perairan tawar. Keberadaan *Aeromonas* di suatu perairan erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik diperairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin (Holmes *et al.*, 1996 dalam Batoran 2008).

*Aeromonas hydrophila* dikatakan sebagai patogen oportunistis yaitu dapat menyebabkan penyakit bila kondisi memenuhi syarat. Pada situasi alami, kehadiran bakteri ini dianggap normal, tetapi pada kondisi akuakultur yang intensif keberadaan bakteri ini patut diperhitungkan. Penyakit akibat bakteri ini biasanya muncul akibat dari kondisi stress pada ikan. Ahli akuakultur sepakat bahwa ikan dapat mengalami stress apabila terkondisikan pada penanganan yang kurang baik, kepadatan yang terlalu tinggi, transportasi dalam kondisi yang buruk. Beberapa faktor kualitas air yang menyebabkan ikan rentan terserang *Aeromonas hydrophila* antara lain tingginya nitrit, rendahnya kandungan oksigen terlarut dalam air atau tingginya karbon dioksida terlarut (Capriano and Rocco L., 2001 dalam Batoran, 2008).

### 2.2.3. Sumber Infeksi

Ikan mempunyai kondisi yang lemah (ikan stress) akibat dari kondisi lingkungan yang tidak baik seperti rendahnya kandungan O<sub>2</sub> terlarut, kekurangan gizi, padat penebaran yang tinggi, penanganan (*handling*) yang kurang baik dan kualitas air yang jelek akibat dari serangan virus atau parasit, akan mempermudah terinfeksi atau terserang oleh bakteri. Bila ikan stress maka daya tahan yang dimiliki oleh ikan akan melemah sehingga mudah terkena infeksi bakteri. Infeksi bakteri lamanya bervariasi, dari beberapa hari sampai beberapa minggu. Jadi dalam periode ini suatu penyakit bisa memberikan informasi tentang penyebabnya. Infeksi oleh bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, makanan atau masuk melalui insang, kemudian akan masuk ke pembuluh darah dan menyebar pada *septicaemia* (keracunan darah karena darah keluar dari pembuluh darah) (Prajitno, 2007)

Dijelaskan pula bahwa penularan ini dapat melalui kontak langsung dengan ikan yang sakit, melalui alat, penanganan, bagian pada tubuh ikan, hewan atau tumbuhan air, serta aliran air bekas ikan yang terserang penyakit.

### 2.2.4. Sifat Patogenik

*Aeromonas hydrophila* umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian benih sampai 90%. Infeksi bakteri *Aeromonas* spp. bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk dalam tubuh ikan jika ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kerusakan fisik atau karena serangan virus atau mikroorganisme lainnya *A. hydrophila*. merupakan penyerang sekunder yang memperparah keadaan organisme (Prajitno, 2007).

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), ikan yang terserang bakteri *Aeromonas* biasanya akan memperlihatkan gejala-gejala berupa :

- Warna tubuh berubah menjadi agak gelap.
- Kulitnya menjadi kesat dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan mejadi borok (hemorrhage).
- Kemampuan berenanganya menurun dan sering berenang di permukaan air karena insangnya rusak sehingga sulit bernafas.
- Sering terjadi perdarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal, maupun limfa. Sering pula terlihat perutnya agak kembung (dropsi).
- Seluruh siripnya rusak dan insangnya berwarna keputih-putihan.
- Mata rusak dan agak menonjol (exophthalmia).

#### 2.2.5. Metabolisme Dan Perkembangan

Bakteri *Aeromonas* merupakan bakteri anaerob, yaitu yang dapat berkemang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultaf anaerob akan tersebar diseluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon (Prajitno, 2007).

Dijelaskan pula bahwa, pertumbuhan maksimal bakteri pada kisaran suhu 28°C – 41°C sedang pertumbuhan minimum bakteri pada suhu 0°C – 5°C. Bakteri akan tumbuh dengan baik pada pH 5,5 – 9,0. Pemiakan bakteri ini secara aseksual, yaitu membiak dengan memanjangkan sel yang diikuti dengan pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel kurang lebih 10 menit.

Menurut Pipiy dan Hare (1969) dalam Batoran (2008), bakteri ini dapat berkembang dengan baik bila pergolakan air jelek, karena bakteri ini dapat berkembang dengan baik bila pengelolaan air jelek, karena bakteri ini menginfeksi air dalam jumlah banyak dapat mengeluarkan zat racun yang bercampur dalam air dan meracuni ikan.

### **2.3. Kualitas Air**

Dalam budidaya ikan, kualitas air memegang peranan penting untuk keberhasilan budidaya dan produksi yang akan dicapai. Kualitas air ini meliputi suhu, pH, oksigen terlarut (DO) dan senyawa-senyawa lainnya (Effendi, 2003).

#### **2.3.1. Suhu**

Suhu air berpengaruh terhadap proses metabolisme organisme yang hidup diperairan. Pertumbuhan ikan yang baik memerlukan suhu optimum  $25^{\circ}\text{C} - 29^{\circ}\text{C}$  dan perbedaan suhu pada siang dan malam hari tidak boleh lebih dari  $5^{\circ}\text{C}$  (Cahyono, 2001).

Sedangkan kondisi habitat yang ideal untuk ikan guami adalah perairan tawar yang mempunyai suhu udara antara  $24-28^{\circ}\text{C}$ . Suhu udara di bawah  $15^{\circ}\text{C}$  berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pembiakannya (Rukmana, 2005).

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

Oksigen adalah salah satu faktor pembatas penting dalam budidaya ikan. Meskipun beberapa ikan masih mampu bertahan hidup pada perairan dengan konsentrasi oksigen 3 ppm, namun konsentrasi minimum yang masih dapat diterima oleh sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm. Pada perairan dengan konsentrasi oksigen di bawah 4 ppm ikan masih mampu bertahan hidup, akan tetapi nafsu makannya rendah atau tidak ada sama sekali, sehingga pertumbuhannya menjadi

terhambat. Ikan akan mati atau mengalami stress bila konsentrasi oksigen mencapai nol (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

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

Sebagian besar ikan dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan perairan yang mempunyai derajat keasaman (pH) berkisar antara 5 – 9. Untuk sebagian besar spesies ikan air tawar, pH yang cocok berkisar antara 6,5 -7,5, sedangkan untuk ikan laut 8,3 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

### **2.4. Hematologi**

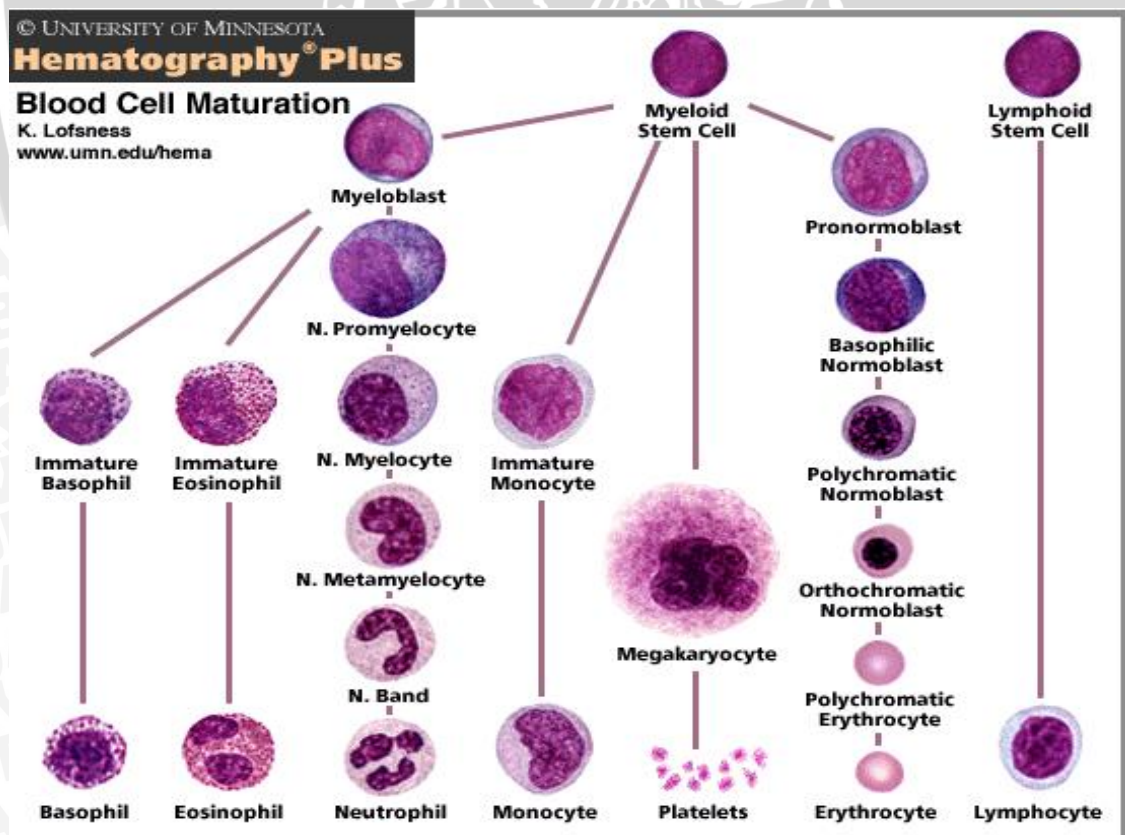
Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari tentang darah, diantaranya struktur komponen sel darah, fungsi, sifat, dan aliran darah. Hematologi sangat berhubungan dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran kondisi kesehatan ikan apakah ikan dalam keadaan sehat atau sakit (Jhonny et al, 2003).

Gambaran darah suatu organisme dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan yang sedang dialami oleh organisme tersebut. Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan komponen-komponen darah juga mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dan kimia darah, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dapat menentukan kondisi kesehatannya (Anonymous, 2008).

Darah pada ikan di bangun oleh berbagai jenis sel darah yang berada di dalam cairan yang dinamakan plasma. Plasma darah merupakan cairan yang jernih berisikan mineral terlarut, hasil pencernaan makanan yang di absorpsi, hasil buangan jaringan, enzim, antibodi, dan gas terlarut (Rachman, 2003).

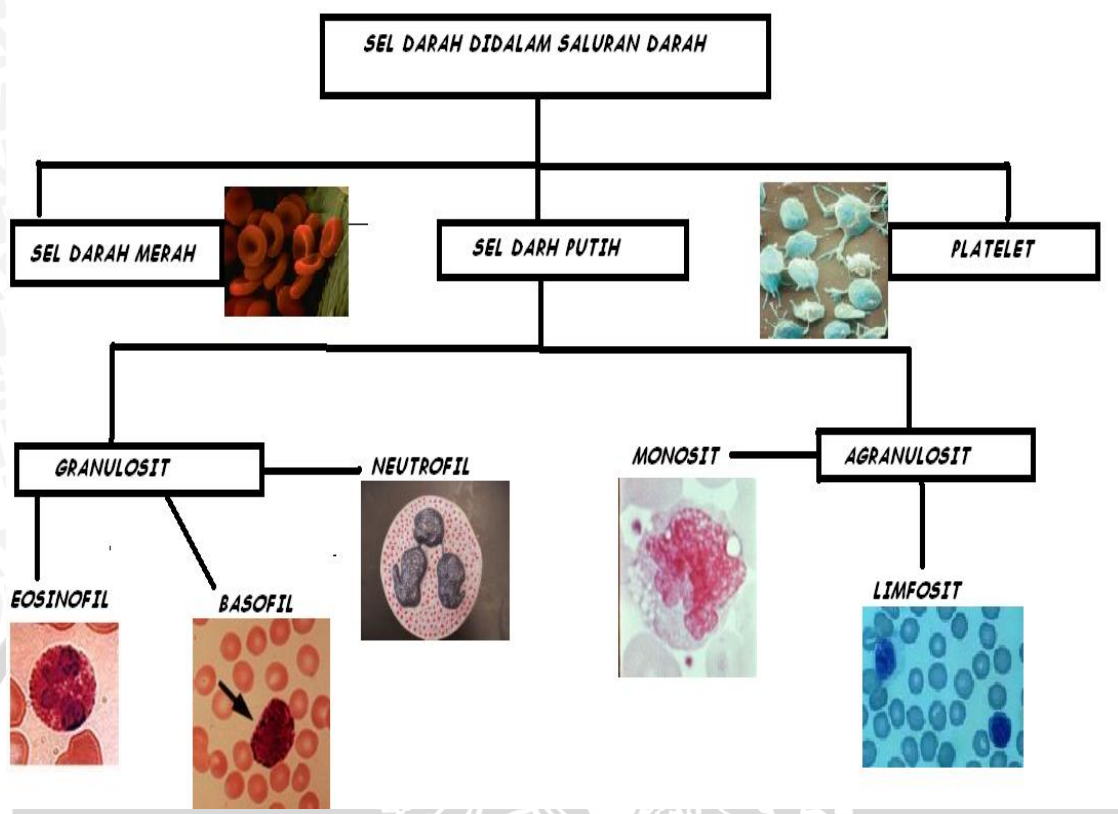
Menurut Kimball (1994), dua fungsi utama darah adalah : 1) mengangkut bahan-bahan (dan panas) ke dan dari semua jaringan-jaringan badan, dan 2) mempertahankan badan terhadap penyakit menular.

Di dalam sumsum tulang, semua sel darah berasal dari satu jenis sel yang disebut *sel stem*. Jika sebuah sel stem membelah, pertama kali terbentuk adalah sel darah merah yang belum matang (*imatur*), sel darah putih atau sel yang membentuk trombosit (*megakariosit*). Kemudian jika sel imatur membelah, akan menjadi matang dan pada akhirnya menjadi sel darah merah, sel darah putih atau trombosit. Kecepatan pembentukan sel darah sesuai dengan kebutuhan tubuh. Jika kandungan oksigen didalam jaringan tubuh atau jumlah sel darah merah berkurang, ginjal akan menghasilkan *eritropoetin* (hormon yang merangsang untuk membentuk lebih banyak sel darah merah). Berikut ini adalah gambar pembentukan sel darah :



Gambar 2. Pembentukan Sel Darah





Gambar 3. Sel Darah didalam Saluran Darah

Sumber : [www.medicine.ukm.my/wiki/index](http://www.medicine.ukm.my/wiki/index).

Susmsum tulang membentuk dan melepaskan lebih banyak sel darah putih sebagai respon terhadap infeksi dan lebih banyak trombotis sebagai respon terhadap perdarahan (Anonymous, 2006).

**2.4.1. Hematokrit/ Packed Cell Volume (PCV)**

Hematokrit adalah persentase dari volume dan sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Hasil pemeriksaan ini bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologis dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang di ambil dampil darahnya. Pada ikan yang memiliki aktivitas tinggi seperti ikan predator (*Makaira nigricans*) mempunyai nilai hematokrit 43% dan mackerel sebesar 52,5%, sedangkan pada ikan *Pagothenia bermacchii* hanya 21% dan salmon (*Salmo salar*) adalah 47% (Bijanti, 2005).

#### 2.4.2. Hemoglobin

Hemoglobin yang dilepaskan dari sel darah merah pecah, akan segera difagosit oleh sel-sel makrofag di hampir seluruh tubuh, namun terutama di hati (sel-sel Kupffer), limpa dan susum tulang. Selama beberapa jam atau beberapa hari sesudahnya, makrofag akan melepaskan besi yang di dapat dari hemoglobin, yang masuk kembali di dalam darah dan diangkut oleh transferin menuju sumsum tulang untuk membentuk sel darah merah baru, atau menuju hati dan jaringan lainnya untuk di bentuk sebagai feritin (Guyton and Hall, 1997).

Ada korelasi yang kuat antara hematokrit dan jumlah hemoglobin darah, semakin rendah jumlah sel-sel darah merah (eritrosit) maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah. Kadar hemoglobin pada ikan salmon (*salmo salar*) adalah 9,6 g/dl, sedangkan kadar hemoglobin pada ikan *Pagotenia bermacchii* 2,5 g/dl (Bijanti 2005).

#### 2.4.3. Sel Darah Merah (*Eritrosit*)

Eritrosit (sel darah merah) ikan berinti, berwarna merah kekuningan eritrosit dewasa berbentuk lonjong, kecil dan berdiameter antara 7 – 36 mikron (bergantung pada spesies ikannya). Jumlah eritrosit tiap mm<sup>3</sup> darah berkisar antara 20000 – 300000. Pengangkutan oksigen dalam darah tergantung kepada jumlah hemoglobin (pigmen pernapasan) yang terdapat di dalam eritrosit (Rachman, 2003).

Ukuran eritrosit dari beberapa jenis ikan berkisar antara 19,7 µm × 13,9 µm (Satchell, 1991 dalam Fujaya, 2002) dan beberapa jenis ikan yang lain memiliki eritrosit berbentuk lonjong dengan diameter antara 11 µm – 14 µm.

Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mentranspor hemoglobin, yang selanjutnya membawa oksigen dari paru-paru ke jaringan. Sel darah merah berasal dari

sel yang dikenal sebagai *hemositoblast*. Hemositoblast yang baru secara kontinyu di bentuk dari *sel induk primordial* sumsum tulang. Hemositoblast mula-mula membentuk *eritroblast basofil* yang mulai mensintesis hemoglobin. Eritroblast keudian menjadi *eritroblast polikromatofilik* ; dinamakan demikian karena mengandung campuran zat basofilik dan mengandung hemoglobin merah. Setelah ini inti sel menyusut sedangkan hemoglobin dibentuk di dalam jumlah yang lebih banyak, dan sel menjadi *normoblast*. Akhirnya setelah normoblast telah terisi dengan hemoglobin, inti menjadi sangat kecil dan dibuang. Pada waktu yang sama retikulum endoplasma diresorpsi. Sel pada stadium perkembangan ini dinamai *retikulosit* karena ia masih mengandung sejumlah kecil retikulum endoplasma basofilik yang menyelingi di antara hemoglobin di dalam sitoplasma. Sementara sel di dalam stadium retikulosit ini, mereka masuk ke dalam kapiler darah dengan *diapedesis* (menyelip melalui polimembran). Retikulum endoplasma tersisa di dalam retikulosit terus menghasilkan hemoglobin dalam jumlah kecil selama satu sampai dua hari, tetapi pada akhir waktu itu retikulum hilang sama sekali. Dalam darah normal, proporsi total retikulosit di antara semua sel sedikit kurang dari 1 persen. Setelah retikulum diabsorpsi semuanya, kemudian sel ini menjadi eritrosit matang (Guyton, 1987).

#### 2.4.4. Sel darah Putih (*Leukosit*)

Leucocyte (sel darah putih) yang tidak berwarna, berjumlah antara 20.000 – 150.000 dalam tiap mm darah. Leucocyte dapat dibedakan menjadi dua, yaitu granulocyte (leucocyte yang bergranula) dan agranulocyte (leucocyte yang tidak bergranula), berdasarkan penyerapan warna, granulocyte terdiri dari neutrophil, acidophil (eusiophil), dan basophil. Agranulocyte yang merupakan komponen terbesar leucocyte terdiri dari lymphocyte, monocyte, dan trombocyte ( Rachman, 2003).

Ikan mempunyai sel darah putih (leukosit) yang cukup banyak antara  $137.000/\text{mm}^3 - 798.000/\text{mm}^3$ . proses pembentukan leukosit pada mamalia terbatas pada sumsum tulang, limpa, dan limnode, sedangkan pada ikan selain pada tempat-tempat tersebut juga pada ginjal dan thymus turut berperan dalam proses pembentukan leukosit (Bijanti, 2005).

Manfaat sesungguhnya dari sel darah putih ialah kebanyakan ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, jadi, menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada (Guyton and Hall, 1996).

#### **2.4.5. Diferensial Leukosit**

Diferensial leukosit menerangkan jenis leukosit. Adapun jenis tersebut adalah granulosit (basofil, neutrofil, dan eosinofil). Dan agranulosit (limfosit, monosit, dan trombosit) yang memiliki tugas dan fungsi masing-masing. Jumlah diferensial leukosit yang dihitung dicatat dengan satuan % dari jumlah keseluruhan jenis leukosit.

Fungsi utama neutrofil adalah penghancur bahan asing melalui proses fagositik, yaitu kemotaksis dimana sel bermigrasi menuju partikel, perlekatan partikel pada sel, penelanan sel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom dalam fagolisosom. Umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi kasus infeksi bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi. Neutrofil merupakan bagian dari leukosit yang terlibat langsung dengan proses pengrusakan bakteri (Anderson, 1974 dalam Johnny, 2003).

Eosinofil merupakan fagosit lemah, yang berfungsi sebagai detoksikasi protein sebelum dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Eosinofil masuk ke dalam darah dalam jumlah yang cukup besar bila adanya infeksi benda asing (Bijanti, 2005).

Basofil dalam sirkulasi darah sangat mirip, walaupun mungkin tidak identik dengan sel mast besar yang terletak tepat di luar banyak kapiler tubuh. Sel ini mengeluarkan *heparin* ke dalam darah, suatu zat yang dapat mencegah koagulasi darah. Mungkin bahwa basofil di dalam darah melakukan fungsi-fungsi yang sama dalam aliran darah, atau malahan mungkin bahwa darah hanya mentranspor ke jaringan tempat mereka kemudian menjadi sel mast dan berfungsi mengeluarkan heparin (Guyton, 1987)

Fungsi limfosit adalah sebagai mediator respon imun humoral dan seluler. Penurunan jumlah limfosit dapat menurunkan konsentrasi antibody. Dan menyebabkan penurunan pertahanan tubuh terhadap serangan penyakit. Jumlah limfosit pada ikan dipengaruhi oleh temperatur dan hormonal. Pada proses pematangan seksual dimana terjadi peningkatan kortisol di dalam plasma darah yang berkaitan dengan penurunan jumlah limfosit di dalam darah, demikian pula dengan temperatur rendah ( $5^{\circ}\text{C}$ ) dapat menyebabkan gangguan proliferasi limfosit sehingga dapat menurunkan jumlah limfosit dalam darah (Bijanti, 2005).

Monosit bersifat fagositosis yang lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dan dapat memfagosit partikel yang lebih besar, oleh sebab itu monosit yang matang disebut dengan makrofag. Makrofag dihasilkan oleh organ thymus, ginjal, hati dan limfa (Fujaya, 2002).

### 3. MATERI DAN METODE

#### 3.1. Materi Penelitian

##### 3.1.1. Alat-alat Penelitian

- Tabung reaksi
- Jarum ose
- Aerator
- Thermometer
- Cover glass
- Petridisk
- Syringe
- Timbangan
- Pipet thoma
- Kamera digital
- Beaker glass
- Erlenmeyer
- Sahli meter
- Autoclave
- Kulkas
- Pipet Tetes
- Handtally counter
- Mikroskop
- Haemositometer
- Objeck glass
- pH meter
- DO meter
- Tabung hematokrit
- Sentrifuge
- Hot Plate
- evendorf
- Bunsen
- Inkubator
- Gelas ukur
- Aquarium

##### 3.1.2. Bahan-bahan Penelitian

- Ikan Gurami (*Osprhonemus gouramy*) panjang total 10-13 cm ( 36 ekor)
- Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Hayem
- TSA (*Tryptic Soy Agar*)
- Metanol 95%
- Turks

- NB (*Nutrient Broth*)
- Kapas
- Tissue Lensa
- Akuades
- Pewarna Giemsa
- Alkohol
- Spirtus
- HCl 0,1N
- Minyak imersi
- Aluminium foil
- Kertas label
- Na-sitrat 3,8%
- Desinfektan
- Tissue
- Koran

### **3.2. Metode Penelitian**

#### **3.2.1. Metode dan Rancangan Penelitian**

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Penelitian eksperimen ini dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Percobaan-percobaan dilakukan untuk menguji hipotesis serta untuk menemukan hubungan-hubungan kausalyang baru. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atau dengan pengamatan secara langsung (Nazir, 2005).

#### **3.2.2. Rancangan Penelitian**

Bentuk rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang *seragam* atau *homogen*,

sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Masih menurut Sastrosupadi (2000), rumus dan model RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}; \quad i = 1, 2, \dots, t$$

$$J = 1, 2, \dots, r$$

Dimana :

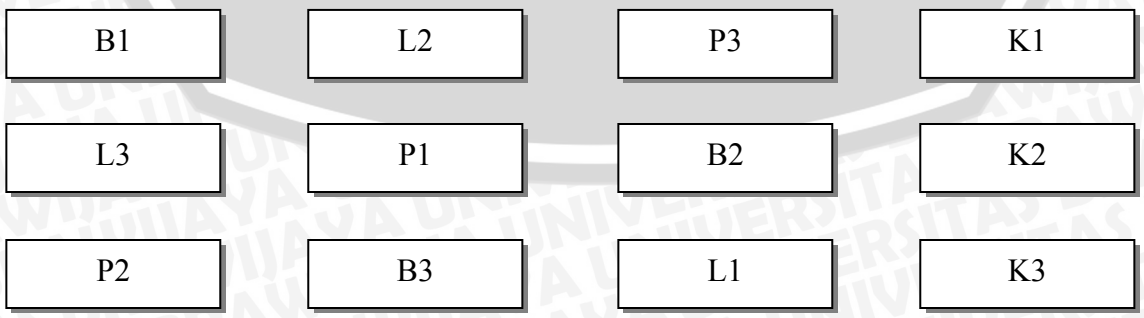
$Y_{ij}$  = respon atau nilai pengamatan atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

$\mu$  = nilai tengah umum

$T_i$  = pengaruh perlakuan ke-i

$\epsilon_{ij}$  = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu diinfeksi bakteri, dipuasakan, dan dilukai dengan 1 kontrol. Sebagai perlakuan adalah penginfeksian bakteri dengan *Aeromonas hydrophilla*, dilukai, dan dipuasakan. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian sebagai berikut (gambar 4) :



Gambar 4. Denah Percobaan



Keterangan :

B, L, P = Perlakuan (bakteri, luka, dan puasa)

K = Kontrol

1, 2, 3 = Ulangan

### 3.3. Prosedur Penelitian

Wadah ikan stock menggunakan akuarium dengan kapasitas 40 liter air sebanyak 2 buah, sebelum digunakan, wadah di cuci bersih, iberi desinfektan dan dikeringkan sselama sehari. Kemudian diisi air tawar bersih sebanyak 36 liter dan dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk menjaga ketersediaan oksigen. Kemudian untuk wadah yang digunakan sebagai tempat perlakuan berupa bak dengan kapasitas 20 liter air sebanyak 12 buah. Sebelum digunakan bak juga di cuci, diberi desinfektan dan dikeringkan selama sehari. Kemudian diisi air tawar bersih sebanyak 5 liter dan dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk menjaga ketersediaan oksigen. Di susun dirak percobaan sesuai dengan lay out rancangan penelitian.

#### 3.3.1. Persiapan Ikan Uji

Ikan yang digunakan yaitu ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) yang berasal dari petani ikan yang di ambil dari Pare-Kediri dengan panjang 10-13 cm. Sebelum di beriperlakuan ikan terlebih dahulu diadaptasikan selama 1 minggu pada akuarium stock kemudian 2 hari pada bak perlakuan. Selama masa adaptasi ikan di beri pakan berupa pellet sebanyak 2 kali sehari, yaitu pagi dan sore hari. Sedangkan untuk menjaga kualitas air dilakukan dengan panyiphonan setiap pagi hari.

### 3.3.2. Pembuatan Suspensi Bakteri

#### a. Sterilisasi Alat

Sebelum digunakan alat-alat di sterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi alat menurut Dwijiseputro (1987), adalah sebagai berikut:

- Alat yang digunakan dibungkus dengan kertas koran, lalu diikat dengan benang.
- Air di tuang secukupnya ke dalam autoclave, kemudian alat yang di bungkus dimasukkan dan autoclave ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang .
- Kompor pemanas dinyalakan kemudian beberapa saat manometer menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga manometer menunjukkan angka 1 kembali.
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang sampai 121°C dan keadaan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit.
- Kompor dimatikan dan kran di buka untuk mengurangi tekanan, tunggu beberapa saat sampai thermometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu buka penutup autoclave dengan zig-zag.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan di ambil, lalu disimpan di dalam inkubator.

#### b. Pembuatan Media

##### ➤ TSA (Tryptic Soya Agar)

- Melarutkan 20 gram TSA dalam 500 ml aquades steril dalam erlenmeyer steril, diaduk rata kemudian dididihkan diatas hot plate sambil terus diaduk sampai berwarna bening.

- Larutan yang telah mendidih, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Kemudian larutan dituang ke dalam petri disc steril setinggi 3 mm, dan saat
- Penuangan dilakukan di dekat bunsen, agar tidak terkontaminasi organisme lain. Tepi petri disc di panaskan dengan bunsen setelah dituang larutan.

- Media dibiarkan mengeras kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 30 °C, dan dapat digunakan setelah 24 jam. Media yang tidak langsung digunakan, dapat disimpan dalam kulkas/lemari pendingin, dengan posisi tutup petri disc berada di bagian bawah untuk menghindari tetesan air kondensasi pada media.
- Media yang telah disimpan, jika akan digunakan, terlebih dahulu di letakkan dalam inkubator agar suhu media sama dengan suhu lingkungan.

➤ **NB (Nutrient Broth)**

- Melarutkan 6,5 gram NB dengan aquadest steril dalam erlenmeyer, dan diaduk hingga larut sempurna dan berwarna bening.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian media disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media dibiarkan mendingin hingga bersuhu 30 °C.
- Inokulasi bakteri dilakukan dilakukan pada media yang dingin, karena bakteri akan mati jika terkena suhu yang panas.
- Media yang tidak langsung di pakai, dapat disimpan dalam kulkas/lemari pendingin agar bertahan lama.

### c. Pemiakan Bakteri *Aeromonas hydrophilla*

- Pada media TSA. Bakteri dari biakan murni diambil dengan jarum ose yang telah dipijarkan dengan bnsen sebelumnya.
- Diinokulasi pada media dengan metode goresan secara zig-zag.
- Media yang telah diinokulasikan bakteri, diinkubasi dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- Pada media NB. Media di tuang dalam tabung reaksi sebanyak 4 buah tabung. Kemudian ditanamkan bakteri dari biakan murni tadi sebanyak 5 ose.
- Media yang sudah ditanami bakteri tadi diinkubasi di dalam incubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, bakteri *Aeromonas hydrophilla* ini digunakan.

### 3.4. Penentuan LD<sub>50</sub> dan Lama Waktu Perlakuan

LC atau biasa disebut LD (Lethal Dosis) ini digunakan dalam uji toxisitas, dimana menurut Handajani dan Samsundari (2005), uji toxisitas hanya manunjukkan banyaknya suatu substansi yang dapat ditolerir oleh ikan yang diuji. Toxisitas suatu substansi sangat dipengaruhi oleh kondisi tempat. Seperti suhu, cahaya, susunan kimiawi air, bentuk bahan beracun, lama waktu pengujian, spesies ikan, ukuran dan jenis kelamin serta keadaan physiologis ikan.

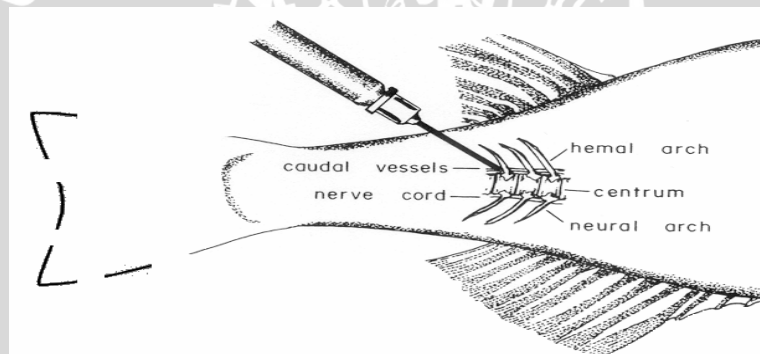
Di dalam penelitian ini menggunakan LD<sub>50</sub> untuk mengetahui konsentrasi suatu substansi yang dapat mematikan 50% dari ikan yang diuji. Sehingga dapat ditentukan konsentrasi bakteri yang dapat menyebabkan kematian sebanyak 50% selama 24 jam pada ikan uji saat perendaman. Bakteri di campur dalam media hidup ikan uji di dalam

bak dengan konsentrasi  $10^6$  sel/ml dan  $10^7$  sel/ml. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai konsentrasi untuk penginfeksi.

### 3.5. Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1. Pengambilan Sampel Darah

Ikan sehat telah dipersiapkan diambil sampel darahnya dengan cara darah diambil dari pembuluh darah bagian caudal. Ikan di suntik dengan jarum suntik yang telah terisi dengan Na sitrat 3,8 % didalamnya. Di suntik dari bagian tengah tubuh di bagian sirip anal sampai jarum menyentuh bagian belakang. Darah di hisap secara perlahan sejumlah yang dibutuhkan. Jarum syringe dilepas dan darah dipindahkan di dalam tube (Bijanti, 2005).



Gambar 5. Teknik Pengambilan Darah

[www.agriculture.purdue/fnr/faculty/sepulveda/documents/HEMATOLOGYAND](http://www.agriculture.purdue/fnr/faculty/sepulveda/documents/HEMATOLOGYAND)

BLOODCOLLECTION\_POSTED\_2008.ppt

Pengambilan darah juga dapat dilakukan sebagai berikut :

- Ikan yang sudah di bius diletakkan di bak seksio. Sisi bagian tubuh kira-kia berada di bagian bawah, sedangkan kepala menghadap kearah kiri.

- Ambil syringe yang sudah diisi dengan larutan oagulan sebanyak 1/20 dari volume darah yang akan diambil.
- Letakkan jarum suntik tepat di baeah linea lateralis antara anus dan sirip anal.
- Tusukkan jarum menuju ke arah cranial dan vertebrae, sampai terasa menyentuh vertebrata.
- Jarum disuntik sedikit kearah luar.
- Tarik alat penghisap syringe pelan-pelan sesuai dengan irama pernafasan ikan.
- Sesudah volume darah yang diinginkan diperoleh dalam tabung alat suktik, syringe ditarik keluar. Selanjutnya syringe digerak-gerakkan dengan menggunakan jari telunjuk da ibu jari. Hal ini dimaksudkan agar darah dapat bercampur dengan sempurna dengan larutan anti coagulan. Darah yang diperoleh ini dapat disimpan dalam kulkas, atau langsung diproses untuk pengamatan lebih lanjut (Dalimunthe, 2006).

Untuk pengamatan lebih lanjut dilakukan penetapan nilai hematokrit/ Packed Cell Volume (PCV), penentuan kadar hemoglobin, perhitungan jumlah sel darah merah (*eritrosit*) dan sel darah putih (*leukosit*) serta kadar diferensial leukositnya. Pada ikan uji yang dilukai diberikan perlakuan terlebih dahulu dengan melukai bagian tengah tubuh ikan secara vertical dengan menggunakan pisau kemudian didiamkan selama 6 jam baru setelah itu dilakukan pengamatan darah sama seperti ikan sehat. Ikan uji di beri perlakuan dengan diinfeksi menggunakan bakteri *Aeroonas hydrophilla*. Penginfektian dilakukan dengan perendaman dan diinfeksi selama  $\pm 24$  jam. Setelah itu ikan uji dilakukan pengujian darah seperti ikan yang sehat. Begitu pula paada ikan uji yang di beri perlakuan dipuaskan terlebih dahulu dilakukan pemeliharaan selama 5 (lima) hari

tanpa di beri pakan sama sekali, setelah hari ke 5 (lima) barulah dilakukan pengamatan hematologi terhadap gambaran darahnya sama seperti pada ikan yang sehat, di lukai dan diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*.

### **3.5.2. Penetapan Nilai Hematokrit/ Packed Cell Volume (PCV)**

Darah ikan ditampung pada tube 1,5 ml yang telah di beri Na sitrat 3,8 % sebagai antikoagulan. Nilai hematokrit diperoleh dengan cara mengambil darah sampai  $\frac{3}{4}$  tabung, dengan tabung hematokrit yang telah dilapisi parafin. Kemudian di tutup bagian bawah mikrohematokrit tersebut ke dalam sentrifuge hematokrit dan diputar selama 3 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, setelah itu hasil yang didapat di baca dengan menggunakan mikrohematokrit reader / alat pembaca khusus (Bijanti, 2005).

### **3.5.3. Penetapan Kadar Hemoglobin**

Penetapan kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan metode sahli, dinyatakan dalam gram % atau gram/ 100 ml darah. Pertama larutan HCL 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung haemoneter sampai angka 2 g%, darah yang sudah bercampur antikoagulan dihisap dengan pipet sahli sampai tanda 20 mm kelebihan darah bias dibuang dengan cara menyentuh ujung pipet dengan jari. Darah dimasukkan ke dalam tabung haemometer dengan cara meniupnya, dan harus menyentuh dasar tabung supaya tidak terjadi gelembung udara campurlah isi tabung tersebut dan tunggu hingga 10 menit hingga berbentuk asam hematin, setelah itu diencerkan sedikit demi sedikit dengan aquadest sambil di aduk dan dibandingkan dengan warna standart. Setelah warna larutan sama dengan warna standart, tariklah garis lurus pada miniskus larutan dan bacalah pada ketinggian skala berapa (Dalimunthe, 2006).

### 3.5.4. Perhitungan Jumlah Sel Darah Merah (*Eritrosit*)

Untuk menghitung jumlah eritrosit, peralatan yang digunakan adalah: pipet eritrosit ukuran 101 $\mu$ L, cover glass, kamar hitung Improved Neubauer, mikroskop cahaya, handtally counter. Bahan yang digunakan adalah: sampel darah ikan gurami, natrium citrate 3,8% (antikoagulan), dan larutan hayem.

Prosedur kerjanya sebagai berikut: Darah ikan yang telah dicampur dengan antikoagulan diambil dengan pipet eritrosit sebanyak 0,5  $\mu$ L kemudian diencerkan dengan larutan hayem dalam pipet eritrosit sampai menunjukkan angka 101  $\mu$ L. setelah itu darah yang sudah tercampur dikocok hingga homogen dalam pipet tersebut kemudian campuran tersebut diambil sedikit (20  $\mu$ L) dan dimasukkan di dalam kamar hitung Improved Neubauer dan ditutup dengan cover glass, sebelum memasukkan ke dalam Improved Neubauer terlebih dahulu di buang 2 tetes dimaksudkan agar larutan yang diambil benar-benar yang telah homogen. Dengan menggunakan mikroskop cahaya banyaknya di hitung jumlah eritrosit pada semua kotak eritrosit.

➤ Menghitung jumlah sel eritrosit :

Mokroskop diletakkan pada meja yang datar, lensa kondensor diturunkan atau diafragma dkecilkan, focus di atur dahulu dengan mamakai lensa obyektif 10x, di atur hingga kamar hitung bujur sangkar dengan garis batasnya serta distribusi sel darah merah tampak jelas. Selanjutnya lensa obyektif di ubah 45x dengan hati-hati dan sel darah merah dihitung pada kotak bujur sangkar kecil (warna merah). Sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas haruslah dihitung, sedangkan sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau garis bawah tidak boleh dihitung (Bijanti, 2005). Jumlah eritrosit dihitung dengan menggunakan rumus :



$$\text{Jumlah eritrosit (Sel/ mm}^3\text{)} = N \times \frac{1}{5 \text{ area} \times 1/250(\text{volume})} \times 50 (\text{faktor pengenceran})$$

Dimana :

N : Jumlah eritrosit yang diamati (Bijanti, 2005 dalam Batoran, 2008)

### 3.5.5. Perhitungan Jumlah Sel Darah Putih (*leukosit*)

Untuk menghitung jumlah leukosit yang digunakan adalah : pipet thoma ukuan 11  $\mu\text{L}$ , cover glass, kamar hitung Improved Neubauer mikroskop cahaya, handtally counter. Bahan yang digunakan menggunakan : sampel darah ikan gurami, Na sitrat 3,8 % (anti koagulan), dan larutan truks.

Prosedur kerja : Darah ikan yang telah dicampur dengan antikoagulan diambil dengan pipet leukosit sebanyak 0,5  $\mu\text{L}$  kemudian diencerkan dengan larutan truks dalam pipet leukosit sampai menunjukkan angka 11 $\mu\text{L}$ . setelah itu darah yang telah tercampur dikocok hingga homogen dalam pipet tersebut kemudian campuran tersebut diambil sedikit (20 $\mu\text{L}$ ) dan dimasukkan ke dalam kamar hitung Improved Neubauer dan ditutup dengan cover glass, sebelum memasukkan ke dalam Improved Neubauer terlebih dahulu di buang 2 tetes dimaksudkan agar larutan yang diambil benar-benar yang telah homogen. Dengan menggunakan mikroskop cahaya banyaknya di hitung jumlah leukosit pada semua kotak leukosit.

#### ➤ Menghitung jumlah sel leukosit

Mikroskop diletakkan pada meja yang datar, lensa kondensor diturunkan atau diafragma dkecilkan. Kamar hitung dengan bidang bergarisnya diletakkan di bawah lensa obyektif dan focus mikroskop diarahkan pada garis tersebut. Leukosit dihitung pada ke empat “bidang besar” (kotak warna hijau). Penghitungan dimulai dari sudut kiri atas, terus ke kanan kemudian turun ke bawah dan dari kanan ke kiri. Cara seperti ini

dilakukan pada keempat “bidang besar” penghitungan dilakukan dengan catatan sel yang menyinggung garis batas sebelah kiri atau garis atas haruslah di hitung. Sedangkan sel yang menyinggung garis batas sebelah kanan atau garis bawah tidak boleh dihitng (Bijanti, 2005). Dimana rumus perhitungannya adalah :

$$\text{Jumlah leukosit (Sel/ mm}^3\text{)} = N \times \frac{1}{4 \text{ area} \times 0.1 \text{ (volume)}} \times 50 (\text{faktor pengenceran})$$

Dimana :

N : Jumlah leukosit yang diamati (Bijanti 2005, *dalam* Batoran 2008).

### 3.5.6. Perhitungan Diferensial Leukosit

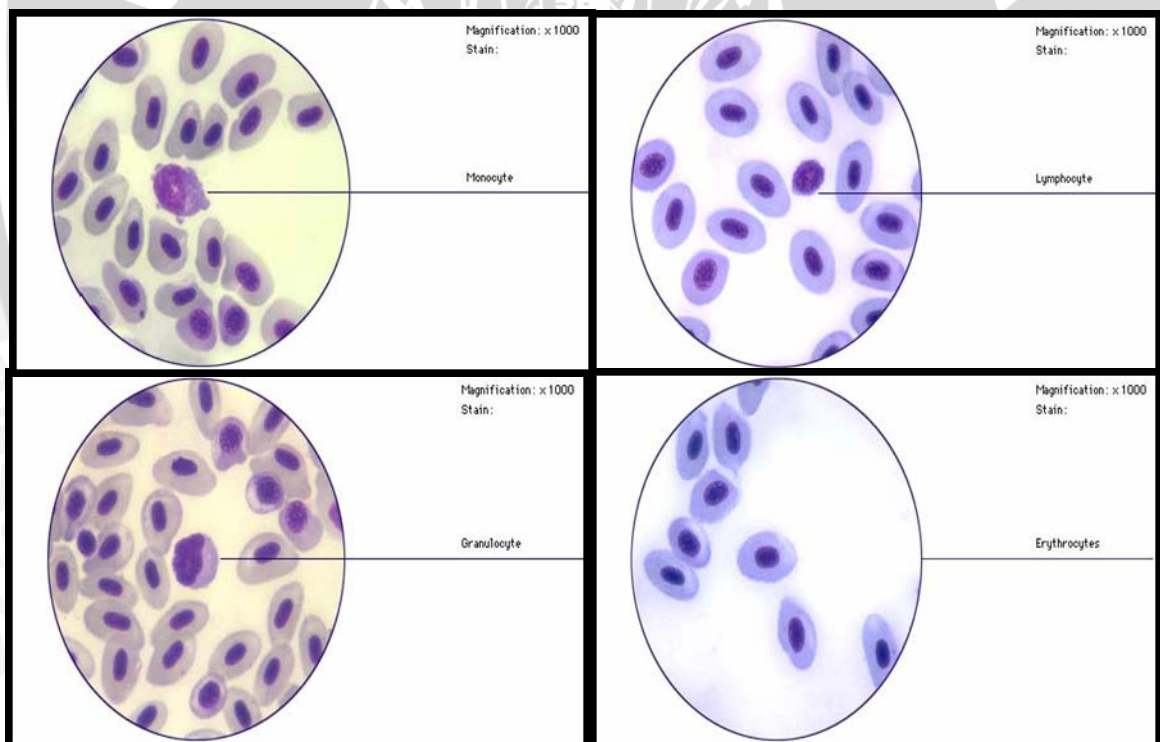
Satu tetes darah yang telah diberi antikoagulan Na sitrat 3,8 % diambil dan ditetaskan pada slide glass yang kering dan bersih. Buatlah hapusan darah yang tipis, untuk pemeriksaan darah secara langsung dengan metode oles (Smear methods) adalah suatu pembuatan sediaan dengan jalan mengoles atau membuat selaput (film) dari substansi yang berupa cairan atau buka cairan di atas gelas benda yang bersih atau bebas lemak (Suntoro, 1983).

Menurut Dalimunthe (2006), mengamati smear atau ulasan darah yang dikerjakan sebagai berikut :

- Letakkan setetes darah pada obyek glass sebelah kanan dengan menekan syringe.
- Pegang obyek glass dengan tangan kiri dan ambil cover glass dengan tangan kanan.
- Tegakkan cover glass tersebut diatas obyek glass pada bagian kiri. Kemudian dorong ke kanan sampai menyentuh tetesan darah yang ada pada obyek glass terdahulu, selanjutnya tarik dengan cepat ke arah kanan dengan membentuk sudut 30°. cara menarik usahakan jangan sampai berhenti di tengah jalan.

- Kecepatan menarik dan sudut yang dibentuk perlu disesuaikan, sehingga diperoleh usapan atau smear darah yang tipis. Jika tetesan darah yang terlalu besar, maka sudut yang akan dibentuk perlu diperbesar ( $60^\circ$ ). sebaiknya jika tetesan darah terlalu sedikit. Maka sudutnya dikurangi dan kecepatan menarik dikurangi .

Kemudian hapusan darah tersebut dikeringkan pada suhu ruang  $25^\circ\text{C}$  selama 3 menit. Lalu fiksasi hapusan darah dengan menggunakan methanol 95% selama 1 – 2 menit. Lakukan pengecatan pada hapusan darah yang telah difiksasi dengan pengecatan giemsa, ditunggu selama  $\pm 5$  menit setelah itu bilas slide dengan menggunakan air bersih yang mengalir dan keringkan. Periksa ulasan darah di bawah mikroskop, lalu hitung setiap jenis sel darah yang ditemukan (Bijanti, 2005).



Gambar 6. Pewarnaan sel-sel darah

Sumber : [http://www.aqualex.org/elearning/fish\\_haematology/english/index.html](http://www.aqualex.org/elearning/fish_haematology/english/index.html)

### **3.6. Parameter Uji**

#### **3.6.1. Parameter Utama**

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah peamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan gurami yang meliputi :

- ✓ Penetapan Nilai Hematokrit /Packed Cell Volume (PCV).
- ✓ Penetapan Konsentrasi Hemoglobin.
- ✓ Perhitungan Sel Darah Merah (Eritrosit).
- ✓ Perhitungan Sel Darah Putih (Leukosit).
- ✓ Perhitungan Diferensial leukosit.

#### **3.6.2. Parameter Penunjang**

Parameter penunjang yang dilakukan pada penelitian ini adalah data kelulushidupan (SR) ikan gurami yang dengan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH, DO (Disolved oxygen) yang di ukur pada masing-masing wadah pemeliharaan ikan gurami.

### **3.7. Analisa Data**

Dari data yang diperoleh dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur. Apabila hasil uji F ternyata berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Penentuan LD<sub>50</sub> dan Lama Waktu Perlakuan

Berdasarkan hasil penelitian LD<sub>50</sub> untuk menentukan jumlah konsentrasi bakteri yang akan digunakan dalam penginfeksi. Konsentrasi bakteri yang menyebabkan kematian pada ikan uji sebanyak 50% dalam selang waktu 24 jam secara perendaman adalah pada konsentrasi 10<sup>6</sup> sel/ml. Lama waktu di beri perlakuan dilukai selama 6 jam dan lama waktu dipuasakan selama 5 hari. Lama waktu ini diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen, parameter yang diperiksa dalam pengujian LD<sub>50</sub> *A. hydrophila* pada ikan gurami meliputi patofisiologi (gejala klinis dan tingkah laku ikan) dan pengamatan tingkat pengamatan kelangsungan hidup ikan setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila*. Dari penelitian pendahuluan yang dihasilkan mampu mematikan sebesar 50% adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10<sup>6</sup> sel/ml selama 24 jam.

#### 4.2. Gambaran Hematologi

Tanggap fisiologik ikan terhadap sakit dapat diamati melalui penyimpangan tingkah laku, anatomi, hematologis, dan respon kebal ikan. Penyimpangan tersebut merupakan indikasi terjadinya perubahan status kesehatan ikan dari kondisi fisiologik normal menjadi abnormal. Perubahan gambaran dan kimia darah baik secara kualitatif maupun secara kuantitatif dapat menentukan kondisi ikan atau kesehatannya (Thompson *et al*, 1985 dalam Saptani, 1996). Begitu juga menurut Wedemeyer *et al*.(1990) dalam

Zainun (2007) menyatakan bahwa pemeriksaan darah penting untuk memantapkan diagnostik suatu penyakit.

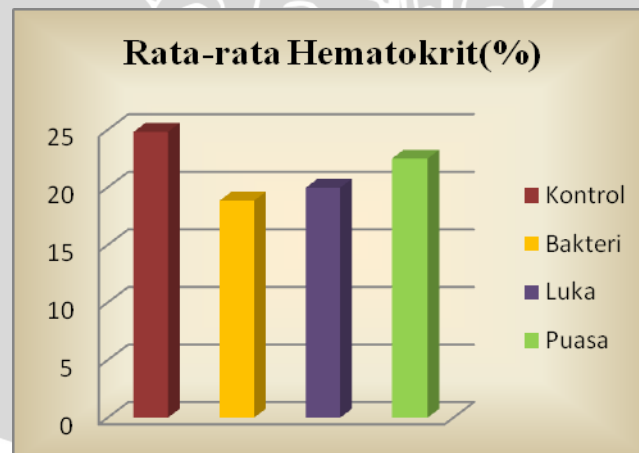
#### 4.2.1. PCV (Packed Cell Volume)/ Hematokrit

Hematokrit merupakan persentase bagian sel volume darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya biasanya nilai hematokrit dinyatakan dalam persen (Bijanti, 2005).

Rata-rata nilai hematokrit pada ikan gurami (*Osporonemus gouramy*) pada saat penelitian dari tiap perlakuan yang diberikan dapat di lihat dari Tabel 1 dan Gambar 7 :

**Tabel 1. Rata-rata Nilai Hematokrit(%) Ikan Gurami Setelah Transformasi**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	27,20	21,47	25,80	74,47	24,82
B	19,27	20,44	16,84	56,55	18,85
L	20,09	20,00	19,82	59,91	19,97
P	18,14	27,90	21,47	67,51	22,50
Total				258,44	



Gambar 7. Grafik Rata-rata Nilai Hematokrit Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada gambar 7 menunjukkan rata-rata nilai hematokrit pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 24,83, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri)

= 18,85, untuk perlakuan L (dilukai) = 19,97, dan untuk perlakuan P (dipuasakan) = 22,50. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 4.

Dari hasil perhitungan Statistik, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada Tabel 2 berikut:

**Tabel 2. Sidik Ragam Nilai Hematokrit**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	64,23	21,41	2,33 <sup>ns</sup>	4,07	7,59
Acak	8	73,86	9,23			
Total	11					

Keterangan : ns = Tidak Berbeda Nyata

Berdasarkan analisa menggunakan tabel sidik ragam, jumlah rata-rata nilai hematokrit pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 2,33 (Tabel 2). Nilai tersebut berada di bawah nilai F tabel 5% (4,07) dan F tabel 1% (7,59), sehingga uji statistik menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada tiap perlakuan. Selengkapnya tertera pada Lampiran 4.

Dari tabel sidik ragam (Tabel 2) terlihat bahwa tidak ada perbedaan kontrol dan antar perlakuan . Tetapi dari hasil rata-rata nilai hematokrit pada ikan yang sakit memiliki nilai hematokrit rendah yang terjadi pada perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri yaitu sebesar 18,85 % dan ikan yang dilukai yaitu sebesar 19,97 %.

Hal ini disebabkan karena perlakuan ikan B yang terinfeksi bakteri sehingga menyebabkan terjadinya perubahan karakteristik pada darah ikan akibatnya kondisi tersebut yang membuat ikan menjadi stress, yang menyebabkan berkurangnya jumlah eritrosit yang diikuti dengan rendahnya nilai hematokrit karena fungsinya digantikan oleh leukosit yang mempunyai fungsi untuk melawan pathogen virus yang ada dalam

tubuh ikan (Bijanti, 2005). Penurunan nilai hematokrit ini mengindikasikan bahwa ikan terkena infeksi bakteri, sesuai dengan pendapat Wedemeyer dan Yatsuke (1977) dalam Mudjiutami *et.al*, (2007), menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein, defisiensi vitamin atau ikan mendapat infeksi.

Perlakuan L (perlakuan ikan yang dilukai), memiliki nilai hematokrit yang rendah pula, hal ini di duga ikan sama-sama dalam keadaan tidak stabil akibat perlakuan yang diberikan sehingga tubuh memproduksi leukosit untuk menutupi luka dan untuk pertahanan tubuh karena tidak adanya asupan makanan.

Pada perlakuan P (dipuaskan ) nilainya lebih rendah dari kontrol karena tidak adanya asupan makanan proses metabolismenya tidak berjalan lancar. Sedangkan untuk ikan kontrol, di duga karena dalam keadaan normal sehingga proses metabolisme berjalan lancar akibatnya produksi eritrosit tinggi. Dengan produksi eritrosit tinggi maka nilai hemtokrit juga tinggi. Hal ini sesuai dengan Bijanti (2005) yang menyatakan bahwa hematokrit merupakan persentase dari volume darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya dan semakin banyak sel yang menendap sebagai eritrosit maka semakin besar pula nilai hematokritnya.

Nilai hematokrit ini berhubungan dengan jumlah sel darah merah (Bond, 1979 dalam Mudjiutami, 2007), nilai selalu berubah-ubah tergantung kepada factor nutrisi dan umur. Lebih lanjut dijelaskan, bahwa nilai hematokrit variasinya tinggi karena sangat dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, waktu pemeriksaan, temperature air, metode sampling, tipe dan lama anestesi.

#### **4.2.2. Hemoglobin (Hb)**

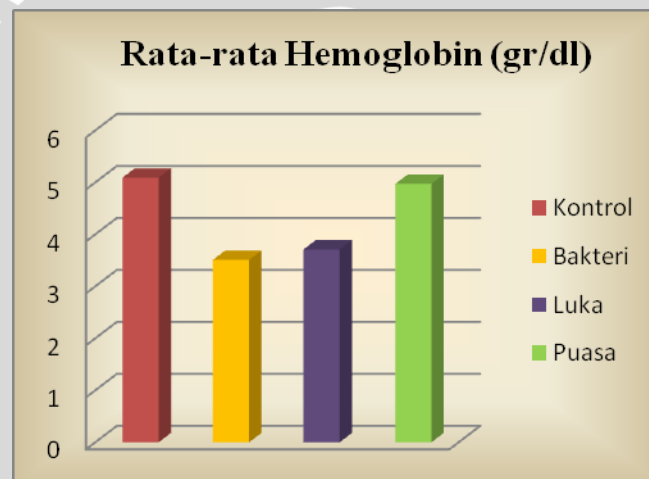
Hemoglobin terdapat pada eritrosit yang terdiri dari porifirin besi dan globin dimana hemoglobin sendiri merupakan protein (Bijanti, 2005).



Rata-rata kadar hemoglobin (gr/dl) pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) pada saat penelitian dari tiap perlakuan yang diberikan dapat di lihat dari Tabel 3 dan Gambar 8.

**Tabel 3. Rata-rata Nilai Hemoglobin (gr/dl) Ikan Gurami**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	5,70	4,20	5,37	15,27	5,09
B	3,90	4,03	2,60	10,53	3,51
L	4,06	4,16	2,90	11,12	3,71
P	4,10	6,50	4,30	14,90	4,97
Total				51,82	



Gambar 8. Grafik Rata-rata Nilai Hemoglobin Ikan Gurami Selama Penelitian

Dari gambar 8 menunjukkan rata-rata kadar hemoglobin pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 5,09 gr/dl, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 3,51 gr/dl, untuk perlakuan L (dilukai) = 3,71 gr/dl, dan untuk perlakuan P (dipuasakan) = 4,97 gr/dl. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 5.

Dari hasil perhitungan Statistik, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 4 berikut :

**Tabel 4. Sidik Ragam Kadar Hemoglobin (gr/dl)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	6,13	2,04	2,33 <sup>ns</sup>	4,07	7,59
Acak	8	7.02	0,88			
Total	11					

Keterangan : ns = Tidak Berbeda nyata

Berdasarkan analisa menggunakan tabel sidik ragam, jumlah rata-rata nilai hemoglobin pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 2,33 (Tabel 4). Nilai tersebut berada di bawah nilai F tabel 5% (4,07) dan F tabel 1% (7,59), sehingga uji statistik menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada tiap perlakuannya. Selengkapnyanya tertera pada Lampiran 5.

Hasil dari tabel sidik ragam diperoleh kadar hemoglobin keempat perlakuan tidak berbeda nyata pada tiap perlakuannya. Tetapi kadar hemoglobin yang diperoleh selama pengamatan menunjukkan ikan yang sakit memiliki kadar hemoglobin rendah yang terlihat pada ikan yang terinfeksi bakteri yaitu sebesar 3,51 gr/dl dan ikan yang dilukai sebesar 3,71 gr/dl. Menurunnya kadar hemoglobin ini dipengaruhi oleh penurunan eritrosit yang disebabkan karena pemberian perlakuan yang mengakibatkan keadaan tubuh tidak stabil. Sesuai dengan pernyataan Fujaya (2002) bahwa semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobinnya.

Rendahnya kadar Hb dapat menyebabkan laju metabolisme menurun dan energy yang dihasilkan menjadi rendah hal ini menyebabkan ikan menjadi lemah dan tiadak nafsu makan serta terlihat diam di dasar bak atau menggantung di bawah permukaan air

(Post, 1987; Nabib & Pasaribu, 1989; Brown, 1993; Stoskopf, 1993; Klontz, 1994; Lagler *et al.*, 1997, dalam Johnny *et al.*, 2003).

Pada perlakuan ikan dipuaskan memiliki nilai lebih rendah daripada ikan kontrol, hal ini di duga karena tidak adanya asupan makanan yang menyebabkan tidak adanya energi yang diperoleh untuk melakukan metabolisme sehingga mengakibatkan menurunnya kadar hemoglobin. Sedang pada ikan normal kadar Hbnya lebih tinggi karena ikan tersebut dalam keadaan normal, sehingga mempunyai kemampuan yang besar dalam mengikat oksigen yang dibutuhkan dalam proses metabolisme.

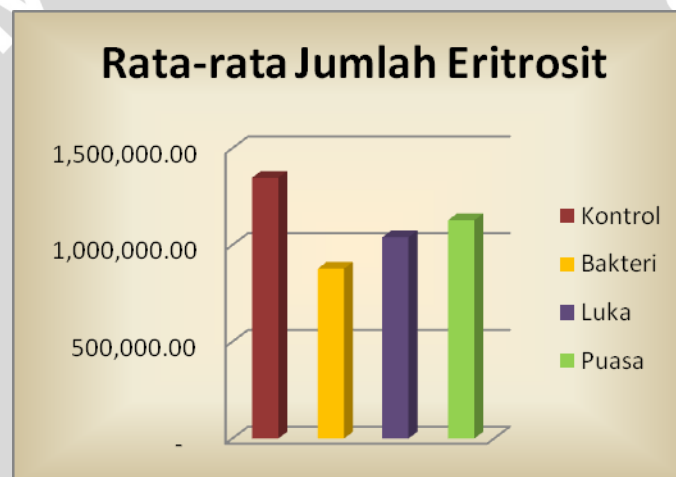
Kadar hemoglobin ini tergantung dari tingkat hidup dan aktivitas ikan, semakin aktif maka semakin banyak pula hemoglobin yang terkandung dalam darah (lagler, 1977). Hal ini berkaitan juga dengan tingkat gerak aktivitas ikan. Semakin aktif gerak ikan, maka semakin besar pula metabolisme yang terjadi sehingga semakin tinggi kadar hemoglobin untuk dapat mengangkut oksigen. Karena dalam metabolisme diperlukan banyak oksigen yang hanya dapat diikat oleh haemoglobin yang terdapat di dalam sel darah merah (Fujaya, 2002).

#### 4.2.3. Sel Darah Merah (*Eritrosit*)

Rata-rata Jumlah Eritrosit pada ikan gurami ( *Osphronemus gouramy*) pada saat penelitian dari tiap perlakuan yang diberikan dapat di lihat dari Tabel 5 dan Gambar 9 :

**Tabel 5. Rata-rata Jumlah Eritrosit Ikan Gurami (sel/mm<sup>3</sup>)**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	$1,40 \times 10^6$	$1,15 \times 10^6$	$1,48 \times 10^6$	$4,04 \times 10^6$	$1,34 \times 10^6$
B	$8,46 \times 10^5$	$1,07 \times 10^6$	$6,16 \times 10^5$	$2,53 \times 10^6$	$8,44 \times 10^5$
L	$1,04 \times 10^6$	$1,05 \times 10^6$	$1,03 \times 10^6$	$3,12 \times 10^6$	$1,04 \times 10^6$
P	$9,46 \times 10^5$	$1,19 \times 10^6$	$1,24 \times 10^6$	$3,38 \times 10^6$	$1,12 \times 10^6$
Total				$13,08 \times 10^6$	



Gambar 9. Grafik Rata-rata Nilai Eritrosit Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada gambar 9 menunjukkan rata-rata jumlah eritrosit pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) =  $1,34 \times 10^6$ , untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) =  $8,44 \times 10^5$ , untuk perlakuan L (dilukai) =  $1,04 \times 10^6$ , dan untuk perlakuan P (dipuaskan) =  $1,12 \times 10^6$ . Selengkapnya disajikan pada Lampiran 6.

Dari hasil perhitungan Statistik, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 6 berikut :

**Tabel 6. Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Gurami (sel/mm<sup>3</sup>)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	39,24×10 <sup>10</sup>	13,06×10 <sup>10</sup>	4,94*	4,07	7,59
Acak	8	39,20×10 <sup>7</sup>	26,43×10 <sup>9</sup>			
Total	11					

Keterangan : \* = Berbeda nyata

Berdasarkan analisa menggunakan tabel sidik ragam, jumlah rata-rata nilai eritrosit pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 4,94 (Tabel 6). Nilai tersebut berada di atas nilai F tabel 5% (4,07) dan berada di bawah F tabel 1% (7,59), sehingga uji statistik menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada tiap perlakuannya, selengkapnya disajikan pada Lampiran 6.

**Tabel 7. Beda Nyata Terkecil Jumlah Eritrosit (sel/mm<sup>3</sup>)**

Rata - rata Perlakuan		<b>B</b> 8,44×10 <sup>5</sup>	<b>L</b> 1,04 ×10 <sup>6</sup>	<b>P</b> 1,12 ×10 <sup>6</sup>	<b>K</b> 1,34 ×10 <sup>6</sup>	<b>Notasi</b>
<b>B</b>	= 8,44×10 <sup>5</sup>	-	-	-	-	<b>a</b>
<b>L</b>	= 1,04 ×10 <sup>6</sup>	<b>195555.330</b>	-	-	-	<b>a</b>
<b>P</b>	= 1,12 ×10 <sup>6</sup>	<b>283444.330</b>	<b>87889.000</b>	-	-	<b>a</b>
<b>K</b>	= 1,34 ×10 <sup>6</sup>	<b>503333.000</b>	<b>307777.670</b>	<b>219888.670</b>	-	<b>b</b>

Dari hasil analisa sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5% (derajat kepercayaan 95%) dan taraf 1% (derajat kepercayaan 99%) untuk . dan dari tabel BNT di atas diperoleh kesimpulan bahwa perlakuan K mempunyai pengaruh perbedaan yang nyata dengan perlakuan-perlakuan yang lainnya hal ini di duga karena pada ikan kontrol tingkat metabolismenya tinggi. Selengkapnya tertera pada Lampiran 6.

Sel darah merah (*eritrosit*) membawa hemoglobin di dalam sirkulasi (Ganong, 1983). Pengangkutan oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin

(pigmen pernafasan) yang terdapat di dalam eritrosit (Rachman, 2003). Eritrosit pada perlakuan ini menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Rendahnya total eritrosit pada perlakuan di infeksi bakteri dan pada perlakuan di lukai ini di duga karena fungsinya telah di gantikan oleh leukosit yang berfungsi sebagai pertahanan tubuh.

Seperti halnya pada hematokrit, kadar eritrosit yang rendah menunjukkan terjadinya anemia. Sedangkan kadar tinggi menandakan bahwa ikan dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake, 1977 dalam Mudjiutami *et al.*, 2007). Sel darah merah juga dapat di lisiskan oleh obat-obatan dan infeksi (Ganong, 1983). Sedangkan menurut Guyton (1997), kurangnya darah atau anemia dapat disebabkan oleh hilangnya darah yang terlalu cepat atau terlalu lambatnya produksi sel darah merah. Pendarahan menyebabkan tubuh menggantikan cairan plasma sehingga konsentrasi sel darah merah menjadi rendah.

Pada perlakuan ikan yang dipuasakan ini cenderung lebih rendah dari ikan kontrol di duga ikan yang dipuasakan mengalami kekurangan gizi karena tidak adanya asupan makanan yang diberikan sehingga menyebabkan ikan tersebut mengalami kekurangan darah (Anemia)

Makanan merupakan kebutuhan dasar bagi ikan untuk kelangsungan hidup dan proses biologis dalam tubuh dan pemberian makanan yang cukup akan membentuk ikan menjadi sehat. Serta ikan yang kekurangan gizi karena tidak adanya asupan makanan yang masuk dapat menyebabkan menurunnya pertumbuhan, rendahnya aktivitas, warna kulit menjadi pucat, dan terjadi kekurangan darah pada ikan tersebut (Hanjani dan Samsundari, 2005).

Pada ikan kontrol eritrositnya sebesar  $1,34 \times 10^6$  sel/ml hal ini disebabkan karena kondisi lingkungan sesuai dengan kehidupan ikan sehingga tidak terjadi stress pada ikan

sehingga proses metabolisme yang terjadi juga tinggi. Menurut Fujaya (2002), jumlah eritrosit setiap jenis ikan bervariasi tergantung pada spesies ikan, kondisi lingkungan, keadaan stress, dan temperatur.

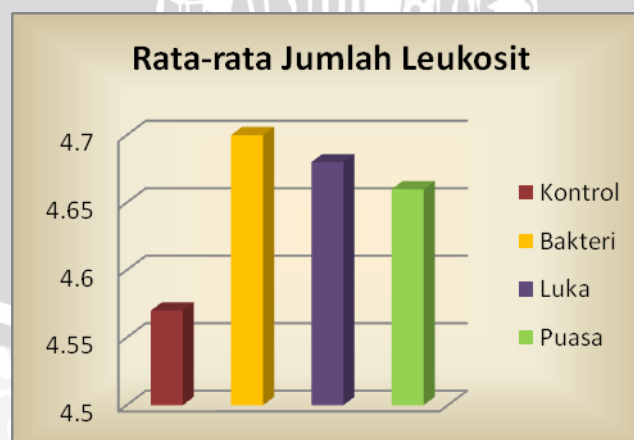
#### 4.2.4. Sel Darah Putih (*Leukosit*)

Fungsi utama dari sel leukosit adalah untuk fagosit (pemakan) bibit penyakit atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Maka sel tersebut tergantung dari bibit penyakit atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh (anonymous, 2008<sup>b</sup>).

Rata-rata Jumlah Leukosit ( $\text{sel}/\text{mm}^3$ ) pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) pada saat penelitian dari tiap perlakuan yang diberikan dapat di lihat dari Tabel 8 dan 10, serta Gambar 10 :

**Tabel 8. Rata-rata Jumlah Leukosit Ikan Gurami ( $\text{sel}/\text{mm}^3$ ) Setelah transformasi**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	4,63	4,49	4,58	13,70	4,57
B	4,65	4,77	4,69	14,11	4,70
L	4,71	4,64	4,68	14,03	4,68
P	4,65	4,68	4,65	13,98	4,66
Total				55,82	



Gambar 10. Grafik Rata-rata Jumlah Leukosit Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada Gambar 10 menunjukkan rata-rata jumlah Leukosit ( $\text{Sel}/\text{mm}^3$ ) pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 4,57, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 4,70, untuk perlakuan L (dilukai) = 4,68, dan untuk perlakuan P (dipuaskan) = 4,66. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 7.

Dari hasil perhitungan Statistik sel darah putih, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 9 berikut :

**Tabel 9. Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Gurami ( $\text{sel}/\text{mm}^3$ )**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.03	0,01	4,11*	4,07	7,59
Acak	8	0.02	0,0026			
Total	11					

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Berdasarkan analisa menggunakan tabel sidik ragam, jumlah rata-rata nilai Leukosit pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 4,11 (Tabel 7). Nilai tersebut berada di atas nilai F tabel 5% (4,07) dan berada di bawah atau kurang dari F tabel 1% (7,59), sehingga uji statistik menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada tiap perlakuannya, selengkapnya disajikan pada Lampiran 7.

Dari hasil analisa sidik ragam kemudian dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), untuk selengkapnya tertera pada Lampiran 7.

**Tabel 10. Beda Nyata Terkecil Jumlah Leukosit ( $\text{sel}/\text{mm}^3$ )**

Rata - rata Perlakuan	K	P	L	B	Notasi
	4.57	4.66	4.68	4.70	
K = 4.57	-	-	-	-	a
P = 4.66	0.090	-	-	-	a
L = 4.68	0.110	0.020	-	-	a
B = 4.70	0.130	0.040	0.020	-	b



Dari tabel BNT menunjukkan bahwa perlakuan B (infeksi bakteri) mempunyai pengaruh yang nyata dengan perlakuan-perlakuan yang lain. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa leukosit yang menunjukkan system pertahanan selular meningkat selama perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Dapat dilihat bahwa dari keempat perlakuan yang menunjukkan perbedaan yang nyata adalah perlakuan yang terinfeksi oleh bakteri. Dimana, jumlah leukosit paling tinggi adalah pada ikan yang diinfeksi, karena leukosit akan merespon setiap benda asing yang masuk ke dalam tubuh dan meningkatkan jumlahnya dalam mempertahankan tubuh terhadap serangan benda asing tersebut. Hal ini sama dengan Anderson (1992), bahwa leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir pathogen melalui fagositosis.

Leukosit merupakan unit yang aktif dari system pertahanan tubuh, setelah dibentuk leukosit kebanyakan di transpor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap bahan infeksius yang mungkin ada (Guyton and Hall, 1997).

#### **4.2.5. Diferensial Leukosit**

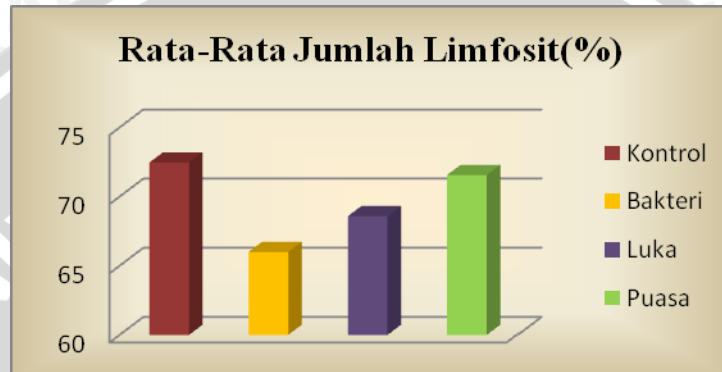
Untuk mengetahui lebih lanjut tentang pembagian tipe leukosit (diferensial leukosit), maka harus dihitung tipe leukosit pada bagian tertentu dari smear yang diamati dan angka yang diperoleh dinyatakan dalam %. Cara ini disebut dengan menghitung diferensiasi. Pada penelitian ini hasil dari diferensial leukosit yang ditemukan adalah Limfosit, neutrofil, dan monosit.

##### **a. Limfosit**

Berikut ini adalah rata-rata jumlah Limfosit (Tabel 11, dan Gambar 11), pada ikan gurami (*Osphronemus gouramy*) pada saat penelitian dari tiap perlakuan:

**Tabel 11. Rata-rata Jumlah Limfosit Ikan Gurami (%) Setelah Transformasi**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	72,50	71,30	73,57	217,37	72,46
B	65,60	64,40	68,00	198,00	66,00
L	65,80	73,25	66,70	205,75	68,58
P	72,80	71,90	69,99	214,69	71,56
Total				835,81	



Gambar 11. Grafik Rata-rata Jumlah Limfosit Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada Gambar 11 menunjukkan rata-rata jumlah Limfosit (%) pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 72,46, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 66, untuk perlakuan L (dilukai) = 68,58, dan untuk perlakuan P (dipuaskan) = 71,56. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 8.

Untuk mengetahui perbedaan persentase limfosit antar perlakuan, maka dilakukan analisa menggunakan analisa sidik ragam (Tabel 12), sebelum lebih lanjut untuk dilakukan analisa BNT.

Dari hasil perhitungan Statistik limfosit, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada Tabel 12 berikut :

**Tabel 12. Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Gurami (%)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	78	26	4,47*	4,07	7,59
Acak	8	46,49	5,81			
Total	11					

Keterangan : \* = Berbeda Nyata

Dari hasil sidik ragam menunjukkan nilai F hitung = 4,47, nilai tersebut ternyata lebih besar dari F tabel 5% (4,07) dan lebih kecil dari F tabel 1% (7,59). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda (antara penginfeksi, pelukaan, dan pemuasaan) pada ikan gurami memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase limfosit ikan gurami. Oleh karena F hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT (Tabel 13) untuk mengetahui perbedaan terhadap persentase limfosit ikan gurami.

**Tabel 13. Beda Nyata Terkecil Jumlah Limfosit (sel/mm<sup>3</sup>)**

Rata - rata Perlakuan	B	L	P	K	Notasi
B = 66	-	-	-	-	a
L = 68.58	2.580	-	-	-	a
P = 71.56	5.560	2.980	-	-	b
K = 72.46	6.460	3.880	0.900	-	c

Limfosit memiliki ciri berbentuk sel bulat, berwarna merah total, berukuran kecil (lebih kecil dari pada monosit dan neutrofil), dengan pengecatan giemsa inti akan berwarna merah tua atau violet sementara sitoplasma hanya berupa cinci berwarna biru tua atau tidak terlihat (Bijanti, 2005).

Berdasarkan penelitian keempat perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah persentase limfosit. Jumlah limfosit tertinggi adalah pada kontrol yaitu sebesar 72,46% yang terendah adalah pada ikan yang terinfeksi bakteri yaitu

sebesar 66 %. Peningkatan dan penurunan limfosit dapat dipengaruhi oleh adanya gen asing . Jumlah limfosit akan mengalami penurunan jika terjadi infeksi dan juga disebabkan karena kegiatannya dalam menyediakan zat kebal terganggu oleh masuknya infeksi juga dapat menyebabkan ikan menjadi stress sehingga menurunkan jumlah limfosit. Hal ini sama dengan pernyataan Rukayani *et al.*, (1997), bahwa Limfosit berfungsi untuk pertahanan tubuh, ditemukan dalam jumlah besar meskipun pada saat infeksi terjadi penurunan. Tingginya kadar limfosit ini disebabkan karena poporsinya dalam leukosit besar. Penurunan jumlah limfosit diduga karena kegiatannya dalam menyediakan zat kebal terganggu oleh masuknya infeksi. Dalam keadaan ini limfosit di bantu monosit dan neutrofil.

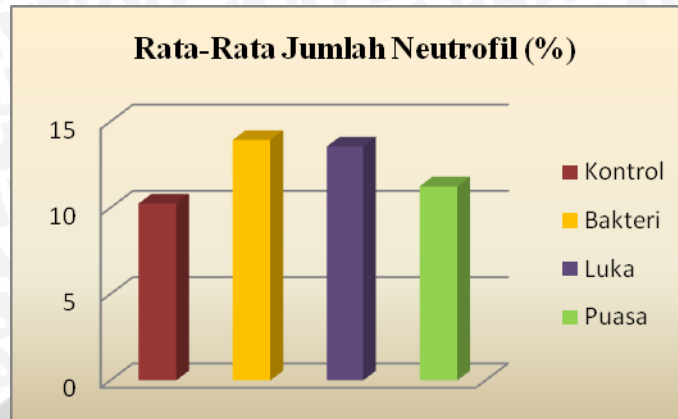
Limfosit tidak bersifat fagositik tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibody dan menyebabkan peningkatan pertahanan tubuh ikan terhadap serangan penyakit (Fujaya, 2002).

#### b. Neutrofil

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan jumlah neutrofil yang diperoleh pada ikan gurami dari tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 14 dan pada Gambar 12.

**Tabel 14. Rata-rata Jumlah Neutrofil Ikan Gurami (%) Setelah Transformasi**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	12,50	12,50	5,74	30,74	10,25
B	15,67	14,18	11,97	41,82	13,94
L	15,68	10,47	14,54	40,69	13,56
P	9,28	11,54	12,92	33,74	11,25
Total				146,99	



Gambar 12. Grafik Rata-rata Jumlah Neutrofil Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada Gambar 12 menunjukkan rata-rata jumlah Neutrofil (%) pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 10,25, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 13,94 untuk perlakuan L (dilukai) = 13,56, dan untuk perlakuan P (dipuaskan) = 11,25. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 9.

Dari hasil perhitungan Statistik persentase neutrofil, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 15 berikut :

**Tabel 15. Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Gurami (%)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	28,80	9,60	1,30 <sup>ns</sup>	4,07	7,59
Acak	8	59,15	7,39			
Total	11					

Keterangan : ns = Tidak Berbeda nyata

Berdasarkan hasil penelitian, pada perhitungan yang diperoleh dari tabel sidik ragam bahwa F hitung (1,30) lebih kecil dari F tabel 5% (4,07) dan F tabel 1% (7,59), maka persentase dari neutrofil ini tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada tiap perlakuannya. Tetapi dapat di lihat bahwa jumlah persentase neutrofil tertinggi adalah pada perlakuan ikan yang diinfeksi bakteri yaitu sebesar 13,94% dan pada jumlah

persentase terendah pada ikan control yaitu sebesar 10,25% (Perbedaan dapat di lihat pada grafik, gambar 12). Menurut Dellman dan brown (1989) dalam Rukayani (1997) Umumnya neutrofil cenderung meningkat selama pada saat terjadi kasus penyakit bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi.

Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama yang bergerak cepat kearah bahan asing dan menghancurkannya, tetapi tidak mampu bertahan lama. Biasanya neutrofil hanya menghancurkan tuntas setiap bahan asing yang di telan dan tidak mengolah antigen sebagai persiapan guna disajikan pada sel peka antigen (Tizzard, 1988 dalam Rukayani *et al.*, 1997). Lebih lanjut Lucky (1977) dalam Rukayani *et al.*, (1997) menjelaskan bahwa pada saat terjadi infeksi, jumlah neutrofil meningkat 6 – 7%.

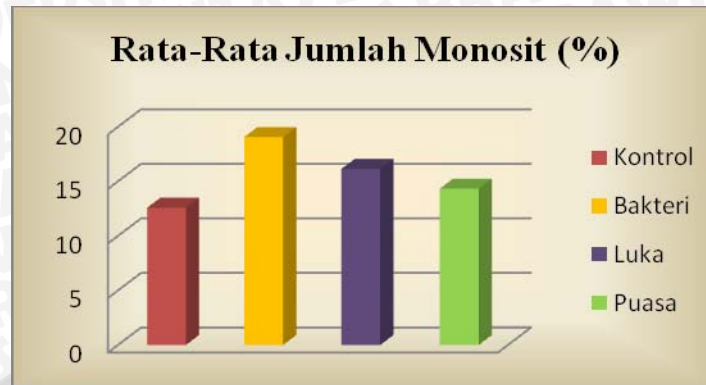
### c. Monosit

Monosit bersifat fagositosis yang lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dan dapat memfagosit partikel yang lebih besar, oleh sebab itu monosit yang matang di sebut dengan makrofag. Makrofag dihasilkan oleh organ thymus, ginjal, hati, dan limfa (Bijanti, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan jumlah monosit yang diperoleh pada ikan gurami dari tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 16 dan pada Gambar 13.

**Tabel 16. Rata-rata Jumlah Monosit Ikan Gurami (%) Setelah Transformasi**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
K	11,97	13,80	11,97	37,74	12,58
B	18,15	20,88	18,15	57,18	19,06
L	17,76	12,90	17,76	48,42	16,14
P	14,18	13,81	15,00	42,99	14,33
Total				186,33	



Gambar 13. Grafik Rata-rata Jumlah Monosit Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada gambar 13 menunjukkan rata-rata jumlah Monosit (%) pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 12,58, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 19,06, untuk perlakuan L (dilukai) = 16,14, dan untuk perlakuan P (dipuasakan) = 14,33. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 10.

Untuk mengetahui perbedaan persentase monosit antar perlakuan, maka dilakukan analisa menggunakan analisa sidik ragam (tabel 16), sebelum lebih lanjut untuk dilakukan analisa BNT.

Dari hasil perhitungan Statistik persentase monosit, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 17 berikut :

**Tabel 17. Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Gurami (%)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	92,62	22,98	7,76**	4,07	7,59
Acak	8	23,69	2,96			
Total	11					

Keterangan : \*\* = Sangat Berbeda Nyata

Hasil perhitungan dari analisa sidik ragam, jumlah rata-rata nilai Monosit pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 7,76 (Tabel 17). Nilai tersebut berada di atas nilai F tabel 5% (4,07) serta F tabel 1% (7,59), sehingga uji

statistik menunjukkan hasil yang Sangat berbeda nyata antar tiap perlakuannya. Oleh karena F hitung lebih besar dari F tabel 1%, maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap persentase monosit ikan gurami. Uji BNT disajikan pada tabel 18 lebih lengkapnya disajikan pada lampiran 10.

**Tabel 18. Beda Nyata Terkecil Jumlah Monosit (sel/mm<sup>3</sup>)**

Rata - rata Perlakuan		K 12.58	P 14.33	L 16.11	B 19.06	Notasi
K	= 12.58	-	-	-	-	a
P	= 14.33	1.750	-	-	-	a
L	= 16.11	3.530	1.780	-	-	b
B	= 19.06	6.480	4.730	2.950	-	c

Dari tabel notasi BNT diatas, diperoleh kesimpulan bahwa antara perlakuan L dan B mempunyai pengaruh yang sangat nyata dengan perlakuan yang lain. Dengan adanya perbedaan notasi pada tiap perlakuan yang diberikan dapat disimpulkan, bahwa peningkatan jumlah monosit akan terjadi pada ikan yang mengalami perubahan fisik akibat perlakuan yang diberikan yang menyebabkan ikan tersebut terinfeksi bakteri dan mengalami luka. Peningkatan monosit pada ikan yang terinfeksi dan yang terluka tersebut di duga karena monosit berfungsi untuk memfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Sasuai dengan pernyataan Robert (1978) dalam Rukayani *et al.*, (1997), Peningkatan mengatakan bahwa persentase monosit ini karena fungsinya sebagai makofag dan mamfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Fagosit oleh monosit merupakan proses yang sama seperti neutrofil, akan tetapi monosit ini mampu memiliki aktivitas fagositik yang tahan lama. Meningkatnya jumlah monosit dapat diindikasikan karena adanya bakteri atau benda asing yang masuk ke dalam tubuh yang mempunyai kemungkinan untuk mendatangkan bahaya bagi



kelangsungan individu tersebut. Menurut Rukayani *et al.*, (1997), fagositosis oleh makrofag merupakan proses yang sama seperti pada neutrofil. Makrofag tertarik secara kemotaktik tidak hanya produk mikroorganisme dan produk reaksi kebal tetapi juga pada faktor sel yang rusak, terutama neutrofil yang rusak. Jadi neutrofil tidak hanya mencapai dan menyerang bahan asing, tetapi menjelang kematian membantu meningkatkan pengumpulan makrofag di tempat infeksi. Antigen dihancurkan di dalam makrofag dengan cara sama seperti pada neutrofil.

#### **d. Eusinofil dan Basofil**

Eusinofil dan basofil jarang ditemukan karena persentasenya di dalam darah sangat kecil. Pada penelitian ini tidak menemukan eusinofil dan basofil, karena eusinofil biasanya meningkat pada saat terjadi alergi, dan diduga karena eusinofil ini adalah fagosit lemah. Hal ini sama dengan pernyataan Guyton (1987), bahwa dalam keadaan normal eusinofil merupakan 1 – 3 % dari semua leukosit. Eusinofil adalah fagosit lemah dan menunjukkan kemotaksis.

Dijelaskan pula bahwa eusinofil juga mempunyai kecenderungan khusus untuk berkumpul pada tempat reaksi antigen-antibodi di dalam jaringan serta mempunyai kesanggupan khusus untuk memfagositosis dan merencanakan kompleks antigen-antibodi kombinasi setelah proses kekebalan melakukan fungsinya. Juga jumlah total eusinofil sangat meningkat di dalam darah yang bersirkulasi selama reaksi alergi, setelah penyuntikan protein asing dan selama infeksi parasit. Mungkin bahwa eusinofil membantu menyingkirkan protein asing dari manapun sumbernya.

Basofil dalam sirkulasi darah sangat mirip, walaupun tidak identik dengan sel mast besar yang terletak tepat di luar banyak sel kapiler tubuh. Sel ini mengeluarkan heparin ke dalam darah, suatu zat yang dapat mencegah koagulasi darah. Mungkin

bahwa basofil dalam sirkulasi darah melakukan fungsi-fungsi yang sama dalam aliran darah, atau mungkin darah hanya mentranspor ke jaringan tempat basofil kemudian menjadi sel mast dan berfungsi mengeluarkan heparin (Guyton, 1987).

#### 4.3. Pengamatan Kualitas Air

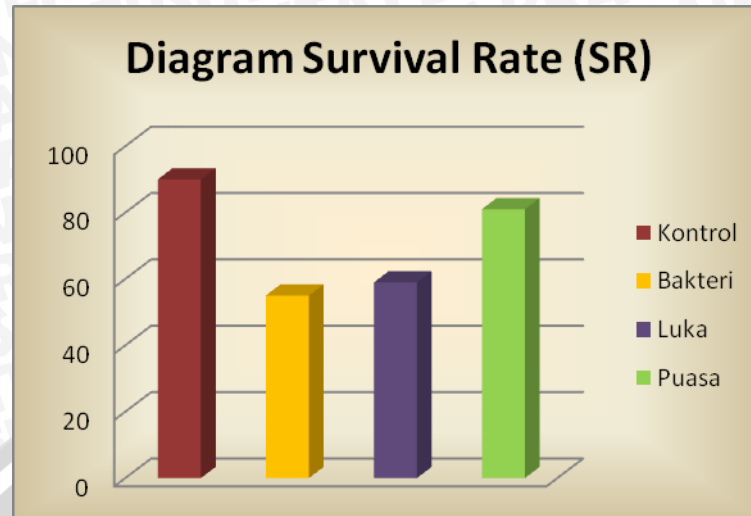
Selama pengamatan Berlangsung suhu air berkisar antara 23 – 25,5 °C, hal ini masih dikatakan normal, karena ikan gurami masih bisa hidup dan mentolerir pada suhu tersebut. Dan dapat dikatakan pada saat penelitian suhu tersebut relatif stabil. Sesuai dengan Rukmana (2005), bahwa Kodisi habitat yang ideal untuk ikan guami adalah perairan tawar yang mempunyai suhu udara antara 24-28° C. Suhu udara di bawah 15° C berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pembiakannya.

pH air selama pengamatan berkisar antara 7,9 – 8,2, pH ini masih dikatakan normal. Karena menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), bahwa Sebagian besar ikan dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan perairan yang mempunyai derajat keasaman (pH) berkisar antara 5 – 9.

DO atau oksigen terlarut pada saat penelitian berkisar antara 4,48 – 5,11 mg/l, dapat dikatakan bahwa pada saat penelitian merupakan DO yang cocok untuk hidup ikan gurami. Ikan gurami mampu menyesuaikan diri dan tumbuh dengan normal pada kondisi air yang kondisi oksigennya rendah (kurang dari 3 ppm) (Respati dan Santoso, 1993). Data kualitas air dapat di lihat pada Lampiran 2.

#### 4.4. Tingkat Kelulushidupan (SR)

Hasil dari penelitian tentang gambaran hematologi ikan Gurami (*Osprhonemus gouramy*) yang normal, terinfeksi bakteri, terluka, dan dipuasakan terhadap rata-rata tingkat kelulushidupannya dapat di lihat pada gambar berikut :



Gambar 14. Grafik Tingkat Kelulushidupan Ikan Gurami Selama Penelitian

Grafik pada gambar 14 menunjukkan Tingkat kelulushidupan (%) pada Ikan gurami tiap perlakuan adalah untuk K (Kontrol) = 90, untuk perlakuan di B (infeksi bakteri) = 55,01, untuk perlakuan L (dilukai) = 58,93, dan untuk perlakuan P (dipuaskan) = 51. Selengkapnya disajikan pada Lampiran 11.

Dari hasil perhitungan Statistik persentase monosit, maka diperoleh daftar sidik ragam seperti pada tabel 19 berikut :

**Tabel 19. Analisa Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Gurami**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	T 5%	F 1%
Perlakuan	3	2.586,19	862,06	9,97**	4,07	7,59
Acak	8	691,57	86,45			
Total	11	3.277,76				

Keterangan \*\* = Sangat Berbeda Nyata

Hasil perhitungan dari analisa sidik ragam, Kelulushidupan pada ikan gurami tiap perlakuan di peroleh nilai F hitung sebesar 9,97 (Tabel 19). Nilai tersebut berada di atas nilai F tabel 5% (4,07) serta F tabel 1% (7,59), sehingga uji statistik menunjukkan hasil yang Sangat berbeda nyata antar tiap perlakuannya. Oleh karena F hitung lebih besar dari F tabel 1%, maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk

mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap tingkat kelulushidupan ikan gurami. Uji BNT disajikan pada tabel 20 lebih lengkapnya disajikan pada Lampiran 11.

**Tabel 20. Beda Nyata Terkecil Tingkat Kelulushidupan (%)**

Rata - rata Perlakuan	K 90	P 81	L 58.93	B 55.01	Notasi
K = 90	-	-	-	-	a
P = 81	9.000	-	-	-	a
L = 58.93	31.070	22.07	-	-	b
B = 55.01	34.990	25.99	4	-	c

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang dilukai dan diinfeksi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda nyata, hal ini di duga karena ikan yang terluka ketahanan tubuhnya menurun serta dapat menimbulkan stress pada ikan yang dapat mengakibatkan kematian. Menurut Handajani dan Samsundari (2005), luka dan memar bisa terjadi akibat penangkapan atau penanganan yang kurang hati-hati. Penanganan (*handling*) ikan hidup dapat menimbulkan stress pada ikan. Stress juga dapat menyebabkan ketahanan tubuh menurun hingga mengalami kematian.

Ikan gurami yang terinfeksi bakteri ini dapat menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada tingkat kelulushidupannya, di duga karena dapat menimbulkan luka pada tubuh ikan dan juga mengakibatkan stress. Hal ini sesuai dengan Batoran (2008), bahea berkembangnya populasi bakteri patogen menimbulkan inflamasi atau peradangan di sekitar tempat infeksi dan mengakibatkan luka yang semakin meluas menjadi borok (*haemorrhage*). Pemecahan sel-sel tubuh di daerah yang meradang merusak pembuluh darah, kemudian bakteri pathogen masuk dan ikut dalam peredaran darah menyebar ke seluruh tubuh ikan. Apabila borok-borok ini menyerang organ penting seperti organ respirasi, saluran pencernaan, ginjal dan hati akan mengakibatkan ikan tersebut mati.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat di ambil kesimpulan sebagai berikut :

- Analisa mengenai gambaran hematologi ikan dapat dijadikan diagnosa awal terhadap kondisi kesehatan ikan.
- Gambaran hematologi ikan yang sehat dapat ditunjukkan dengan nilai persentase hematokrit 24,82%, kadar hemoglobin 5,09 gr/dl, total eritrosit  $1,34 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, nilai total leukosit  $4,57 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, persentase limfosit 76,46 %, persentase neutrofil 10,25 % , dan persentase monosit 12,58 %.
- Gambaran hematologi ikan yang terinfeksi bakteri dapat ditunjukkan dengan nilai persentase hematokrit 18,85 %, kadar hemoglobin 3,51 gr/dl, total eritrosit  $8,44 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>, nilai total leukosit  $4,7 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, persentase limfosit 66 %, persentase neutrofil 13,94 % , dan persentase monosit 19,06 %.
- Gambaran hematologi ikan yang dilukai dapat ditunjukkan dengan nilai persentase hematokrit 19,97 %, kadar hemoglobin 3,71 gr/dl, total eritrosit  $1,04 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, nilai total leukosit  $4,68 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, persentase limfosit 68,58%, persentase neutrofil 13,56 % , dan persentase monosit 16,14 %.
- Gambaran hematologi ikan yang dipuaskan dapat ditunjukkan dengan nilai persentase hematokrit 22,50 %, kadar hemoglobin 4,97 gr/dl, total eritrosit  $1,27 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>, nilai total leukosit  $4,66 \times 10^4$  sel/mm<sup>3</sup>, persentase limfosit 71,56%, persentase neutrofil 11,25 % , dan persentase monosit 4,33 %.

- Gambaran hematologi ikan yang sehat dapat ditunjukkan dengan tingginya nilai persentase hematokrit, kadar haemoglobin, dan total eritrosit, serta rendahnya nilai total leukosit, persentase neutrofil, dan persentase monosit.
- Sedangkan gambaran ikan yang tidak sehat (terinfeksi bakteri, luka dan puasa) dapat ditunjukkan dengan rendahnya persentase hematokrit, kadar hemoglobin dan total eritrosit, dan tingginya total leukosit, perentase neutrofil dan monosit.
- Nilai Kisaran kualitas air media perlakuan masih dalam batas kisaran toleransi ikan gurami, yaitu : suhu  $23^{\circ}\text{C} - 25,5^{\circ}\text{C}$ ; DO 4,48 – 5,11 ppm; dan pH 7,9 – 8,2.

## 5.2. Saran

Disarankan sebelum melakukan penelitian ikan yang digunakan harus benar-benar sehat dan bebas dari infeksi bakteri. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang gambaran hematologi untuk spesies lain, agar dapat diketahui perbedaan gambaran hematologi pada spesies lain serta perlu dilakukan penelitian mengenai parameter hematologi yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta. 89 hal
- Anderson, D.P. 1992. **Imunostimulant, Adjuvants, and Vaccine Carriers. In Fish Application To Aquaculture**. Annual Rev. of Fish Diseases, 2: 281 - 307
- Anonymous. 2006. **Pembentukan Sel Darah**.  
[http://www.medicastore.com/med/detail\\_pyk.php](http://www.medicastore.com/med/detail_pyk.php). (8 Oktober 2007)
- Anonymous. 2008 a. **Teknologi Tepat guna Budidaya Ikan Gurame (*Oprhonemus gourami*)**.  
<http://www.iptek.net.id/ind/warintek/?mnu=6&ttg=3&doc=3a2> (30 Nopember 2008).
- \_\_\_\_\_. 2008 b. **Darah Ikan**.  
<http://maswira.wordpress.com/category/aquaculture/kesehatan-ikan/> (28 Nopember 2008).
- \_\_\_\_\_. 2008 c. **Fish Haematology**.  
[http://www.aqualex.org/elearning/fish\\_haematology/english/index.html](http://www.aqualex.org/elearning/fish_haematology/english/index.html). (07 April 2009).
- Batoran, Y. 2008. **Gambaran Hematologi dan Histopatologi Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan Setelah Penambahan Antibakteri Phenol Dari Alga Coklat (*Sargasum Polycystum*)**. THESIS. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Tidak diterbitkan. 188 hal.
- Bijanti. 2005. **Hematologi Ikan (Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan hematologi Ikan)**. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas brawijaya. Surabaya. 31 hal
- Cahyono, B. 2001. **Budidaya Ikan Diperairan Umum**. Kaisius. Yogyakarta. 66 hal
- Dalimunthe, S. 2006. **Penuntun Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 77 hal
- Dwijoseputro, D. 1987. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Malang. 215 hal.
- Effendi, H. 2003. **Telaah Kualitas Air Bagi Pengolahan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan**. Kanisius. Yogyakarta. 258 hal.

- Fujaya, Y. 2002. **Fisiologi Ikan, Dasar Pengembangan teknik Perikanan**. FIKP – UNHAS dan DIRJEN Pendidikan Tinggi DEPDIKNAS RI. Jakarta. 202 hal.
- Ganong, William F. 1983. (penerjemah Adji Dharma). **Fisiologi Kedokteran (Review Of Medical Physiology)**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 936 hal.
- Guyton. 1987. (penerjemah Andrianto, P.). **Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 543-553.
- Guyton and Hall. 1997. (penerjemah Setiawan, I., Ken Ariata, Alex). **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran**. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 821 hal.
- Johnny, F., Zafran, D., Roza, dan K. Mahardika. 2003. **Hematologi beberapa Spesies Ikan laut Budidaya dalam Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Edisi Aquakultur**. Badan Riset Kelautan Perikanan dan Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Khasani, Ikhsan. 2008. **Aplikasi Probiotik Pada Perikanan**.  
<http://maswira.wordpress.com/category/aquaculture/kesehatan-ikan/> (28 Nopember 2008).
- Kimball, J. 1994. **Biologi (Edisi Kelima)**. Erlangga. Jakarta.
- Lagler, K.F. **Ichtiology**. John Willey and Sons Inc. New York.
- Marlyana, L. 2008. **Pengaruh Crude Serbuk Daun Sirih (*Piper betle*) Terfermentasi Terhadap Penghambatan Bakteri Patogen *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*)**.  
<http://digilib.upi.edu/union/index.php/record/view/5097> (28 Nopember 2008).
- Mudjiutami, E., Ciptoreso, Z. Zainun, Sumarjo, Rahmat. 2007. **Pemanfaatan Immunostomulan Untuk Pengendalian Penyakit Pada Ikan Mas**. Jurnal Budidaya Air Tawar. Vol. 4 No. 1. Hal 1-9.
- Nazir. 2005. **Metode Penelitian**. Ghalia Indonesia. Bogor. 622 hal
- Prajitno, Arief. 2007. **Penyakit Ikan – Udang : Bakteri**. Universitas Negeri Malang. Malang. 115 hal.
- Rachman, Abdul. 2003. Sistem Organ Pernafasan , **Peredaran Darah, Eskresi, Reroduksi, Syaraf dan Hormon Pada Ikan**. Fakultas Peikanan, Univesitas Brawijaya. Malang. Hal 21-23.
- Respati, H., dan Budi S. 1993. **Petunjuk Praktis Budidaya Ikan Gurami**. Kanisius. Yogyakarta. 78 hal.



- Rukmana, H. Rahmat. 2005. **Ikan Gurami Pembenihan dan Pembesaran**. Kanisius. Yogyakarta. 80 hal.
- Rukayani, Akhmad, Evi S., Agus S., Tauhid. 1997. **Peningkatan Respon Kebal Non-Spesifik Pada Ikan Lele Dumbo (Clariac sp.) Dengan Pemberian Immunostimulan ( $\beta$ -Glucan)**. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 3 No. 1. Bogor. Hal 1-9
- Samsundari, S., dan Handajani, H. 2005. **Parasit dan Penyakit Ikan**. UMM press. Malang. 201 hal
- Saptani, G. 1996. **Gambaran Sistem Kekebalan Non Spesifik Pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*) Akibat Pemberian Immunostimulan**. Program Pasca Sarjana IPB. Bogor. 60 pp
- Sastrosupadi, Adji. 2000. **Rancangan Percobaan praktis Bidang Pertanian**. Kanisius. Yogyakarta. 276 hal.
- Sunturo, H. 1983. **Metode Pewarnaan**. Bhratara Karya Aksara. Jakarta. Hal 1-5.
- Zainun, Zakki. 2007. **Pengamatan Parameter Hematologis Pada Ikan Mas Yang di Beri Immunostimulan**. Teknisi Litkayasa Pada Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar. Vol. 6 No. 1. Sukabumi. Hal 45-51.

