

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KAYU SIWAK  
(*Salvadora persica* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA  
(*Oreochromis niloticus* L.) YANG TERINFEKSI BAKTERI  
*Aeromonas hydrophila***

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

Oleh :

**ERLIN FITRIYANTI  
NIM. 0910850080**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KAYU SIWAK  
(*Salvadora persica* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA  
(*Oreochromis niloticus* L.) YANG TERINFEKSI BAKTERI  
*Aeromonas hydrophila***

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

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

Oleh :

**ERLIN FITRIYANTI  
NIM. 0910850080**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2014**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KAYU SIWAK  
(*Salvadora persica* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA  
(*Oreochromis niloticus* L.) YANG TERINFEKSI BAKTERI  
*Aeromonas hydrophila*

Oleh :

ERLIN FITRIYANTI  
NIM. 0910850080

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 11 Agustus 2014  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Maftuch, MS)  
NIP. 19660825 199203 1 001

Tanggal :

Dosen Penguji II

(Fani Fariedah, S.Pi, MP)  
NIK. 820308 08 12 0397

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Prof.Dr. Ir.Sri Andayani, MS)  
NIP. 19611106 198602 2 001

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)  
NIP.19630924 199803 2 002

Tanggal :

Mengetahui  
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wiludjeng, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal :



## RINGKASAN

**ERLIN FITRIYANTI.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* (dibawah bimbingan Prof.Dr.Ir.Sri Andayani, MS dan Ir. Ellana Sanoesi, MP).

Ikan nila (*O. niloticus* L.) atau populer dengan sebutan “Tilapia” merupakan salah satu jenis ikan penting dalam sistem budidaya perairan atau akuakultur. Budidaya ikan nila saat ini dihadapkan pada kendala penyakit seperti MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Penanganan yang kurang baik dapat menyebabkan ikan mengalami stres, sehingga daya tahan tubuhnya menurun dan mudah terserang penyakit. Pencegahan dan pengobatan ikan selama ini menggunakan bahan kimia dan antibiotik. Penggunaan bahan kimia dan antibiotik untuk penanggulangan penyakit bakterial secara terus-menerus menimbulkan efek samping pada lingkungan maupun manusia. Penggunaan bahan alami untuk mengatasi permasalahan tersebut merupakan langkah yang tepat karena bahan alami selain berfungsi sebagai antimikroba juga dapat meningkatkan kekebalan dan kesehatan ikan. Salah satunya yaitu kayu siwak. Siwak atau kayu siwak efektif sebagai antimikroba dalam mengobati kerusakan gigi dan mulut. Kayu siwak memiliki kandungan senyawa bioaktif antibakteri seperti minyak atsiri, flavanoid, salvadorine, saponin, salvadorin, saponin, alkaloid, tanin, vitamin C dan garam yang diketahui sebagai antimikroba.

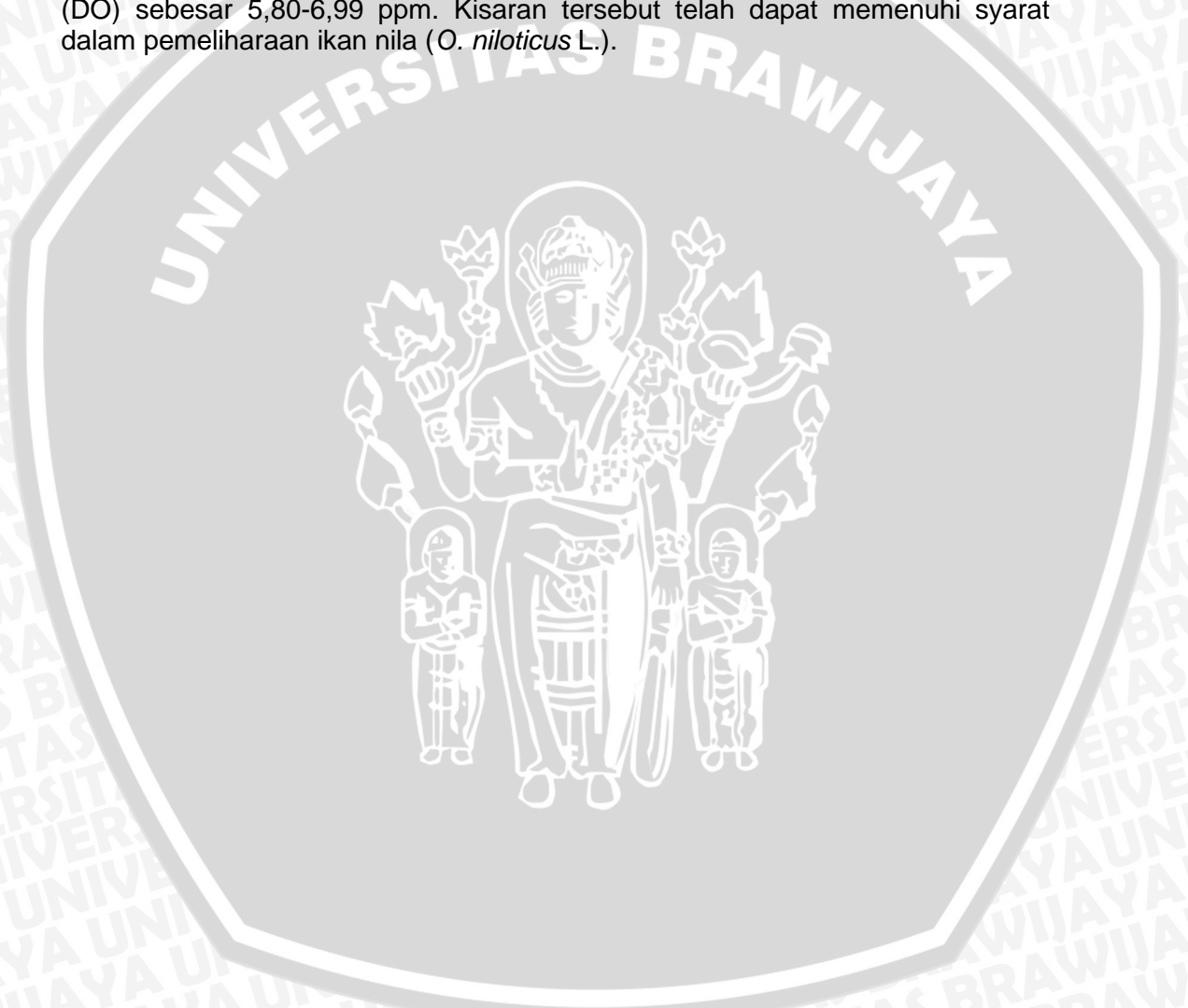
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) terhadap hematologi ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* meliputi total eritrosit, total leukosit, total hemoglobin dan total hematokrit dan untuk mengetahui dosis optimal ekstrak kasar kayu siwak untuk pengobatan ikan nila (*O. niloticus* L.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Tempat dan waktu penelitian dilaksanakan pada 25 Februari-30 Maret 2014 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan yaitu A (3 ppt), B (5 ppt), C (7 ppt) dan D (9 ppt) ditambah kontrol normal (KN) dan kontrol positif (KP) sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali. Parameter utama yang diamati adalah total eritrosit, total leukosit, total hemoglobin dan total hematokrit hewan uji sedangkan parameter penunjang yaitu pengamatan gejala klinis hewan uji dan kualitas air.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) memberikan pengaruh nyata bagi hematologi ikan yang meliputi peningkatan nilai rata-rata total eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit dan penurunan nilai rata-rata total leukosit. Diketahui pada perlakuan D (9 ppt) didapatkan nilai rata-rata total eritrosit tertinggi sebesar  $2,10 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup> dan persamaan regresi linier  $y = 0,748 + 0,152x$ . Kisaran nilai rata-rata total leukosit ikan uji terendah sebesar  $26,99 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> dan didapatkan persamaan regresi linier  $y = -7,860 + 93,43x$ . Kisaran rata-rata total hemoglobin tertinggi sebesar 7,93 g/dL dan didapatkan persamaan regresi linier sebesar  $y = 3,862 + 0,437x$ . Kisaran rata-rata total hematokrit tertinggi sebesar 31% dan didapat persamaan regresi linier sebesar  $y = 11,417 + 2,25x$ . Sedangkan kontrol positif (KP) pada total eritrosit, kadar hemoglobin dan kadar hematokrit bernilai sangat rendah jauh

dibawah kisaran normal, dan nilai kontrol positif (KP) pada rata-rata total leukosit bernilai sangat tinggi melebihi kisaran normal. Untuk kontrol normal (KN) nilainya berada dalam kisaran normal. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dapat menekan aktivitas bakteri *A. hydrophila* penyebab penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*).

Data penunjang mengenai gejala klinis hewan uji menunjukkan bahwa pada pengamatan 24 jam, warna tubuh ikan nila menjadi gelap, pada pengamatan 48 jam terjadi busung perut (*dropsy*) pada tubuh ikan, pada bekas suntikan terjadi luka (*ulcer*), sirip geripis, sisik yang lepas hingga mengering dan pada pengamatan 72 jam sirip terlihat rusak, terdapat titik pendarahan (*hemoragi*). Sementara nilai dari kualitas air pada media pemeliharaan hewan uji berada dalam kisaran normal dimana kisaran rata-rata suhu sebesar 24,1-26,9 °C, kisaran rata-rata pH sebesar 6,29-8,44, kisaran rata-rata oksigen terlarut (DO) sebesar 5,80-6,99 ppm. Kisaran tersebut telah dapat memenuhi syarat dalam pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus* L.).





## PERNYATAAN ORISINALITAS

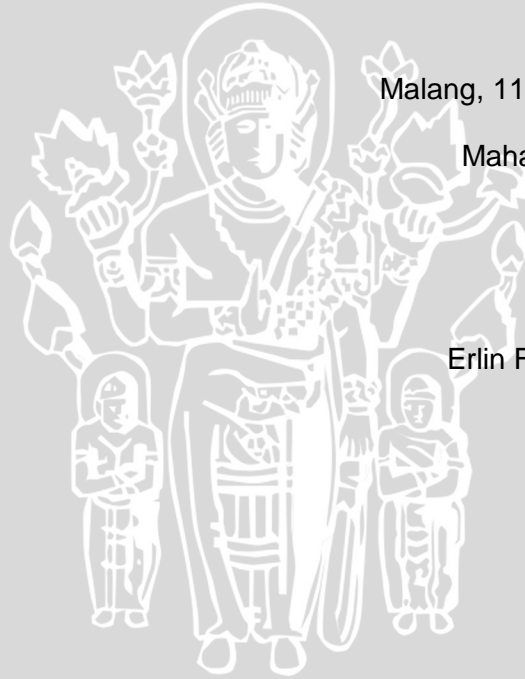
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 11 Agustus 2014

Mahasiswa,

Erlin Fitriyanti



## UCAPAN TERIMA KASIH

Atas selesainya laporan skripsi ini, penulis menyampaikan ucapan terima kasih dengan setulus hati kepada :

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing I, dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing II yang senantiasa mencurahkan segalanya dalam memberikan arahan dalam penelitian hingga penyusunan laporan skripsi.
2. Bapak Dr.Ir. Maftuch. M.S Selaku dosen penguji I dan Ibu Fani Fariedah S.Pi, MP selaku dosen penguji II yang banyak memberikan masukan dan saran dalam penyempurnaan laporan skripsi ini.
3. Ummi Sulistyaningsih, Abi Suwandi S.Pd dan adikku tercinta Arif Prabowo yang tiada pernah putus mendoakan dan menyemangati agar segera lulus.
4. Keluarga Besar Budidaya Perairan (BP) angkatan 2009 dan 2010 yang telah banyak membantu dan memberi semangat. Terutama untuk *my soulmate*, Ngudi Rahayu.
5. Keluarga Besar FOKSI FPIK UB lintas angkatan dari 2009 hingga 2013. Terima kasih atas persahabatan ini, *Loving u all, till Jannah Inshaa Allah Aamiin.*
6. Laboran (Pak Udin, Pak Yit dan mbak Titin) yang memberikan fasilitas penelitian dan mengajarkan untuk berani untuk masa depannya.
7. Laboratorium Fakultas Sains Universitas Islam Negri (UIN) Malang, Bapak Abi yang telah memberikan fasilitas pembuatan ekstrak kayu siwak.

Malang, 11 Agustus 2014

Penulis

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan kasih sayang dan kemudahan dari-Nya maka penyusunan laporan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Laporan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Laporan ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sejak 25 Februari hingga 30 Maret 2014.

Tidak lupa penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, M.Si selaku pembimbing I yang senantiasa tanpa lelah memberikan bimbingan dan nasehat sehingga laporan skripsi dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku pembimbing II yang senantiasa tanpa lelah memberikan bimbingan dan nasehat sehingga laporan skripsi dapat terselesaikan dengan baik.

Amat disadari bahwa laporan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi perbaikan laporan ini. Besar harapan penulis bahwa semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan dapat dijadikan bahan informasi di bidang perikanan.

Malang, 11 Agustus 2014

Penulis



## DAFTAR ISI

Halaman

<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>iii</b>
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis .....	4
1.5 Kegunaan Penelitian .....	5
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>6</b>
2.1 Biologi Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> L.) .....	6
2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila.....	6
2.1.2 Morfologi Ikan Nila.....	7
2.1.3 Habitat dan Penyebaran .....	7
2.1.4 Penyakit pada Ikan Nila .....	7
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	9
2.2.1 Klasifikasi Bakteri .....	9
2.2.2 Morfologi Bakteri.....	9
2.2.3 Habitat dan Penyebaran .....	10
2.2.4 Metabolisme dan Perkembangbiakan.....	10
2.2.5 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	11
2.3 Biologi Kayu Siwak ( <i>Salvadora persica</i> L.) .....	11
2.3.1 Klasifikasi Kayu Siwak .....	11
2.3.2 Morfologi Kayu Siwak .....	11
2.3.3 Habitat dan Penyebaran Siwak.....	13
2.3.4 Manfaat Kayu Siwak.....	14
2.3.5 Senyawa Bioaktif Kimia Kayu Siwak .....	14
2.3.6 Proses Ekstraksi Kasar Kayu Siwak .....	15
2.4 Hematologi.....	16
2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit) .....	17
2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit) .....	18
2.4.3 Hemoglobin (Hb) .....	19
2.4.4 Hematokrit (PCV) .....	19
2.5 Kualitas Air Media .....	20
2.5.1 Suhu .....	20
2.5.2 Derajat Keasaman (pH) .....	20
2.5.3 Oksigen Terlarut (DO).....	21

<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
3.1 Kerangka Penelitian .....	22
3.1.1 Kerangka Teoritis Penelitian .....	22
3.1.2 Kerangka Konsep Penelitian .....	22
3.1.3 Kerangka Operasional Penelitian .....	23
3.2 Materi Penelitian .....	24
3.2.1 Alat-alat Penelitian .....	24
3.2.2 Bahan-bahan Penelitian .....	24
3.3 Rancangan Penelitian .....	24
3.4 Persiapan Penelitian .....	25
3.4.1 Persiapan Wadah .....	25
3.4.2 Persiapan Ikan Uji .....	26
3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan .....	26
3.4.4 Pembuatan Media Bakteri .....	27
3.4.5 Pemiakan Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	27
3.4.6 Pembuatan Ekstrak Kasar Kayu Siwak ( <i>S. persica</i> L.) .....	28
3.4.7 Penentuan Dosis Ekstrak Kasar Kayu Siwak ( <i>S.persica</i> L.) .....	29
3.5 Pelaksanaan Penelitian .....	29
3.5.1 Penginfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	29
3.5.2 Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak ( <i>S.persica</i> L.) .....	30
3.5.3 Pengambilan Sampel Darah .....	30
3.5.4 Pengamatan Hematologi Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) .....	31
3.6 Parameter Uji .....	33
3.6.1 Parameter Utama .....	33
3.6.2 Parameter Penunjang .....	34
3.7 Analisa Data .....	34
<b>4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1 Analisa Hematologi Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) .....	35
4.1.1 Total Sel Darah Merah (Eritrosit) .....	35
4.1.2 Total Sel Darah Putih (Leukosit) .....	38
4.1.3 Total Hemoglobin (Hb) .....	42
4.1.4 Total Hematokrit (PCV) .....	45
4.2 Gejala Klinis Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) .....	49
4.3 Pengamatan Kualitas Air .....	52
<b>5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>53</b>
5.1 Kesimpulan .....	53
5.2 Saran .....	53
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>54</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>62</b>

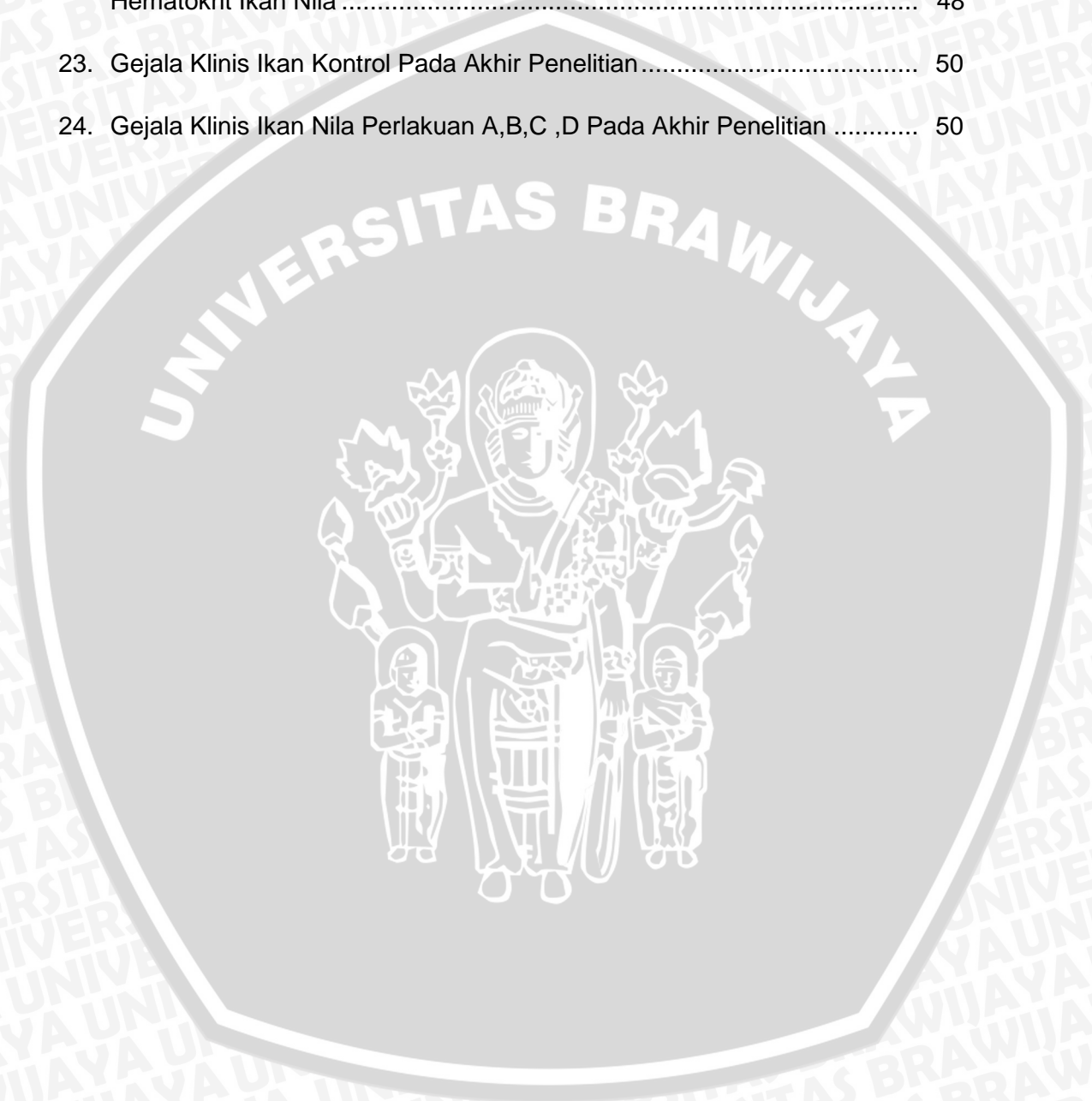


## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.).....	7
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i> Perbesaran 400x.....	9
3. Pohon Siwak ( <i>S. persica</i> L) . . . . .	12
4. Batang, Daun dan Bunga <i>S. persica</i> L.....	12
5. Sel Darah Merah (Eritrosit).....	17
6. Sel Darah Putih; Agranulosit: Limfosit (a) dan Monosit (b).....	18
7. Sel Darah Putih ; Granulosit, Neutrofil (a) Eosinofil (b) dan Basofil (c).....	18
8. Kerangka Teoritis Penelitian.....	23
9. Kerangka Operasional Penelitian.....	23
10. Denah Penelitian In Vivo.....	25
11. Total Rata-Rata Eritrosit ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	35
12. Total Rata-Rata Eritrosit ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> ) Harian Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	36
13. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Eritrosit Ikan Nila.....	37
14. Total Rata-Rata Leukosit ( $\times 10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	38
15. Total Rata-Rata Leukosit ( $\times 10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) Harian Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	39
16. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Leukosit Ikan Nila.....	41
17. Total Rata-Rata Hemoglobin (Hb) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	42
18. Total Rata-Rata Hemoglobin (Hb) Harian Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	43
19. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Hemoglobin Ikan Nila.....	44



20. Total Rata-Rata Hematokrit (%) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	45
21. Total Rata-Rata Hematokrit (%) Harian Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian.....	46
22. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Hematokrit Ikan Nila .....	48
23. Gejala Klinis Ikan Kontrol Pada Akhir Penelitian.....	50
24. Gejala Klinis Ikan Nila Perlakuan A,B,C ,D Pada Akhir Penelitian .....	50



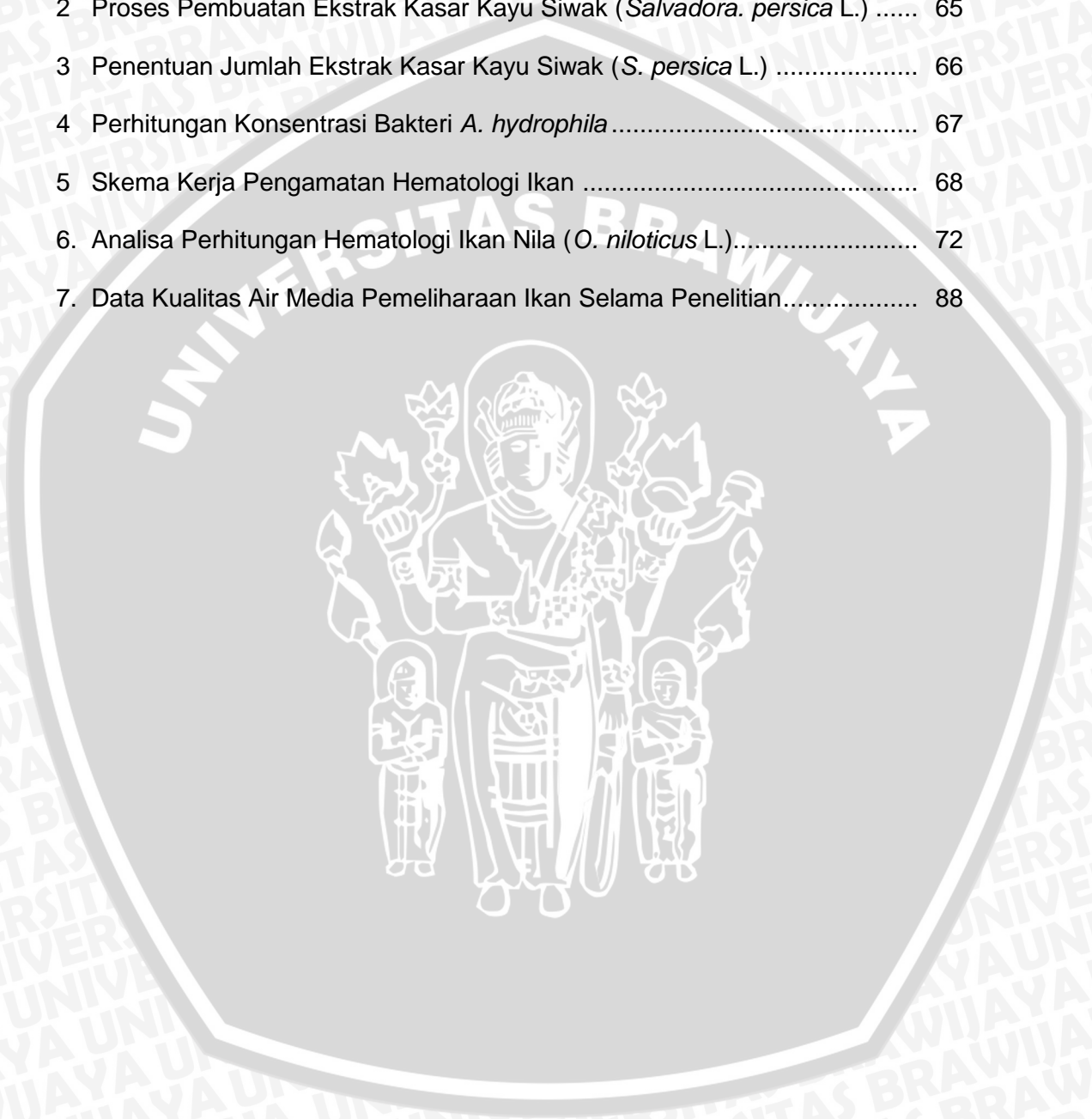
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Gejala Klinis Penyakit dan Parasit yang Menyerang Ikan Nila .....	8
2. Aktivitas Komponen Senyawa Kimia Kayu Siwak ( <i>S.persica</i> L.) .....	15
3. Uji Sidik Ragam Total Eritrosit ( $\times 10^6$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila .....	37
4. Uji Sidik Ragam Total Total Leukosit ( $\times 10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila .....	40
5. Uji Sidik Ragam Total Hemoglobin (Hb) Ikan Nila.....	44
6. Uji Sidik Ragam Total Hematokrit (%) Ikan Nila.....	47
7. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Nila Setelah Diinfeksi Bakteri <i>A.hydrophilla</i> Selama Penelitian .....	49
8. Hasil Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian.....	52



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian.....	61
2. Proses Pembuatan Ekstrak Kasar Kayu Siwak ( <i>Salvadora. persica</i> L.) .....	65
3. Penentuan Jumlah Ekstrak Kasar Kayu Siwak ( <i>S. persica</i> L.) .....	66
4. Perhitungan Konsentrasi Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	67
5. Skema Kerja Pengamatan Hematologi Ikan .....	68
6. Analisa Perhitungan Hematologi Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> L.).....	72
7. Data Kualitas Air Media Pemeliharaan Ikan Selama Penelitian.....	88





## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.) atau populer dengan sebutan “Tilapia” merupakan salah satu jenis ikan penting dalam sistem budidaya perairan atau akuakultur. Departemen Perikanan dan Akuakultur FAO (*Food and Agriculture Organization*) menempatkan ikan nila pada urutan ketiga setelah udang dan salmon sebagai contoh sukses perikanan budidaya dunia. Presiden *World Aquaculture Society*, Kevin Fitzsimmons menyebut nila sebagai “*food fish of the 21st century*”. Ikan nila disebut sebagai “ikan abad ke-21” pada pertemuan para pengusaha perikanan tahun 1999 di Bangkok, Thailand. Di Inggris, sudah sejak lama nila dijadikan sebagai makanan ringan *fish's chips*, sedangkan di Amerika Serikat (AS), ikan nila menjadi lauk favorit peringkat ke-5 (Kordi dan Ghufron, 2010).

Ikan nila cocok dipelihara di dataran rendah sampai dataran tinggi 500 m dari permukaan laut (Cahyono, 2001). Ikan nila merupakan salah satu ikan budidaya air tawar yang mempunyai prospek yang baik, karena ikan nila memiliki sifat yang menguntungkan, antara lain mudah berkembang biak, pertumbuhannya relatif cepat dan toleran terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik (Rustikawati, 2012).

Sistem budidaya perikanan air tawar yang mencapai tahap intensifikasi tidak terlepas dari resiko biologis, yaitu munculnya penyakit (Khairuman dan Amri, 2010). Banyak faktor yang menyebabkan timbulnya penyakit diantaranya lingkungan buruk, virus dan bakteri. Penularan disebabkan bakteri dapat menyebabkan kerugian yang cukup besar bahkan kadang dapat menyebabkan proses budidaya yang terhenti (Feliatra, 1999 *dalam* Suciati, *et al.*, 2012).

Salah satu bakteri yang umum dijumpai di dalam ekosistem perairan adalah *A. hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* dapat menginfeksi banyak jenis ikan air tawar seperti *Catfish*, *Cyprinidae*, *Cichlidae*, *Rainbow*, *Trout*, *Salmonidae*, katak, siput dan udang air (Mangunwardoyo, 2010). *A. hydrophila* dikenal sebagai bakteri oportunistis karena biasanya menimbulkan masalah pada saat ikan sedang mengalami stres (Irianto, 2005). Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian benih sampai 90% (Yin, *et al.*, 2008).

Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophila* adalah dengan pemberian bahan-bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintesis seperti *tetracycline*. Pemberian bahan kimia memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan beberapa efek negatif. Residu antibiotik dapat mencemari lingkungan dan juga dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk dikonsumsi oleh manusia (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011).

Oleh karena itu, perlu dicarikan alternatif lain untuk mengganti antibiotik dan bahan-bahan kimia dengan bahan alami yang ramah lingkungan dan mudah terurai (Mulia dan Husin, 2012). Saat ini masyarakat dunia dan juga Indonesia mulai mengutamakan penggunaan obat secara alami (*back to nature*). Pemanfaatan *herbal medicine* ramai dibicarakan termasuk manfaatnya (Juliantina, *et al.*, 2009).

Tanaman merupakan sumber alami antibakteri. Famili *Salvadoraceae* adalah semak berbentuk cemara, berukuran 4-6 m dengan batang pendek, kulit berwarna putih dan daun berwarna hijau. Penggunaan tumbuhan kayu siwak (*S. persica*) telah dikenal sebagai alat kebersihan mulut sebagai sikat gigi. Berbagai



macam kandungan dari *S. persica* L. dilaporkan memiliki manfaat secara biologi meliputi antibakteri dan antifungi. Selain itu, kandungan ekstrak kayu siwak dilaporkan efektif dalam melawan bakteri mulut dan beberapa bakteri yang penting dalam pembentukan plak di mulut (Sofrata, *et al.*, 2007 dalam Mohammed, 2013). Kayu siwak diketahui mengandung beberapa senyawa bioaktif sebagai antimikroba, diantaranya adalah minyak atsiri, flavanoid, alkaloid, steroid, terpenoid, saponin dan karbohidrat (Kamil, *et al.*, 1999 dalam Sher *et al.*, 2011).

Berdasarkan informasi mengenai kandungan dan manfaat kayu siwak (*S. persica* L.) sebagai antibakteri, maka ekstrak kayu siwak dapat dimanfaatkan sebagai pengendali penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada ikan nila. Pengobatan biasanya diberikan melalui pakan, perendaman atau penyuntikan (Mariyono, 2002). Sedangkan untuk membantu diagnosis suatu penyakit, mengetahui jalannya suatu penyakit, mengetahui efek suatu pengobatan dan untuk mengetahui status kesehatan ikan perlu dilakukan pemeriksaan hematologi (darah) (Salasia, *et al.*, 2001).

## 1.2 Rumusan Masalah

Penanganan dalam budidaya yang kurang baik dapat menyebabkan ikan mengalami mudah terserang penyakit. Pencegahan dan pengobatan penyakit ikan selama ini menggunakan bahan kimia dan antibiotik yang dapat menimbulkan efek samping terhadap lingkungan maupun manusia. Penggunaan bahan alami merupakan suatu langkah yang tepat pada saat ini karena bahan alami selain berfungsi sebagai antimikroba juga dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan dan aman terhadap perubahan lingkungan (Syawal, *et al.*, 2008).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah kayu siwak karena terbukti mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri dan antifungi



(Pratama, 2005). Kayu siwak diketahui mengandung senyawa bioaktif sebagai antimikroba, diantaranya adalah minyak atsiri, flavanoid, alkaloid, steroid, terpenoid, saponin dan karbohidrat (Kamil, *et al.*, 1999 dalam Sher *et al.*, 2011).

Kayu siwak diharapkan dapat membunuh pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* yang menyerang ikan nila sehingga kondisi kesehatan ikan kembali pulih. Maka berdasarkan masalah diatas, dirumuskan masalah sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan cara perendaman berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus* L.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?
- b. Berapakah dosis optimal pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) terhadap ikan nila (*O. niloticus* L.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan cara perendaman ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S.persica* L.) terhadap hematologi ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
2. Untuk mengetahui dosis optimal pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S.persica* L.) terhadap ikan nila (*O.niloticus* L.) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

### 1.4 Hipotesis

H0 : Pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda diduga tidak mempengaruhi hematologi ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H1 : Pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda diduga dapat mempengaruhi hematologi ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang manfaat ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dalam mengobati penyakit MAS (*Motil Aeromonas Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* melalui gambaran hematologi ikan nila. Selain itu, diharapkan dari hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang penyakit dan pengobatan ikan.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan 25 Februari 2014-30 Maret 2014 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya Malang dan Laboratorium Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.)

#### 2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila

Menurut Dr.Trewavas (1980) dalam Suyanto (2010), klasifikasi ikan nila adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Sub-filum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub-kelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Sub-ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i> L.

#### 2.1.2 Morfologi Ikan Nila

Secara morfologis, ikan nila (Gambar 1) mempunyai bentuk badan memanjang sedangkan warna tubuh ikan nila umumnya putih kehitaman sehingga dikenal sebagai “nila hitam”. Tubuh nila hitam berwarna kehitaman, makin ke perut makin terang. Ikan nila mempunyai garis vertikal 9-11 buah berwarna hijau kebiruan. Pada sirip ekor terdapat 6-12 garis melintang yang ujungnya berwarna kemerah-merahan, sedangkan punggungnya terdapat garis miring-miring (Kordy dan Ghufuran, 2010).

Kelompok ikan *Oreochromis* memang berbeda dengan kelompok Tilapia. Secara umum, bentuk tubuh ikan nila panjang dan ramping, sisik berukuran besar, matanya besar, menonjol dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*Linea Lateralis*) terputus di bagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi



letaknya lebih ke bawah daripada letak garis yang memanjang diatas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Sirip punggung, sirip perut dan sirip dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggungnya berwarna hitam dan sirip dadanya juga tampak hitam. Bagian pinggir sirip punggung berwarna abu-abu atau hitam (Khairuman dan Amri, 2010).



Gambar 1. Ikan Nila (*O. niloticus* L.) (Koleksi Pribadi)

### 2.1.3 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila merupakan spesies ikan air tawar dan estuari. Ikan nila lebih suka hidup di perairan dangkal, tepian danau dan sungai yang dalam dengan vegetasi cukup. Ikan nila dapat hidup dan berkembang biak pada perairan payau dengan salinitas yang disukai antara 0-35 ppm (Kordi, 2000).

Pada mulanya, ikan nila berasal dari perairan tawar di Afrika, selanjutnya ikan nila meluas dan dibudidayakan di berbagai negara, antara lain Taiwan, Thailand, Vietnam, Bangladesh, dan Indonesia. Sementara di kawasan Asia, daerah penyebaran ikan nila pada mulanya terpusat di beberapa negara, seperti Philipina dan Cina (Rukmana, 1997).

### 2.1.4 Penyakit pada Ikan Nila

Menurut Racoky (2005), kepadatan ikan yang tinggi pada budidaya ikan dapat menyebabkan munculnya parasit dan penyakit. Beberapa penyakit dan

parasit beserta gejala klinis yang umumnya menyerang ikan nila yang terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Gejala Klinis Penyakit dan Parasit yang Menyerang Ikan Nila

Penyakit	Penyebab	Jenis	Gejala Umum
Motile Aeromonas Septicaemia (MAS)	<i>Aeromonas hydrophila</i> dan spesies yang berkaitan	Bakteri	Kehilangan keseimbangan, berenang lesu, megap-megap di permukaan, sirip dan kulit kulit, mata melotot, kornea buram, perut bengkak berisi cairan keruh atau berdarah, kronis, kematian harian.
Vibriosis	<i>Vibrio anguillarum</i> dan spesies lainnya	Bakteri	Sama seperti MAS, disebabkan karena stres dan kualitas air yang memburuk
Columnaris	<i>Flavobacterium columnare</i>	Bakteri	Sirip geripis dan atau tidak teratur, bercak putih abu-abu pada kulit dan sirip, pucat, nekrosis pada insang.
Edwardsiellosis	<i>Edwardsiella tarda</i>	Bakteri	Gejala eksternal: cairan darah di rongga tubuh, pucat, hati bercak, bengkak, ginjal, lesu, berenang tidak menentu.
Streptococcosis	<i>Streptococcus iniae</i> , <i>Enterococcus</i> sp.	Bakteri	Warna kulit gelap, perdarahan di mata, abdomen dan operkulum, sekitar mulut, anus dan dasar sirip; pembesaran limfa yang hampir hitam, kematian yang tinggi.
Saprolegniasis	<i>Saprolegnia parasitica</i>	Jamur	Berenang dengan lesu, koloni putih atau coklat menyerupai kapas, lesi terbuka.
Ciliata	<i>Ichthyophthirius multifiliis</i> , <i>Trichodina</i> sp. dan lainnya	Parasit (protozoa)	Luka pada insang atau kulit
Trematoda monogenetik	<i>Dactylogyrus</i> spp., <i>Gyrodactylus</i> spp.	Parasit (protozoa)	Luka pada permukaan tubuh, sirip dan insang

Salah satu jenis penyakit bakterial yang menyerang ikan-ikan air tawar adalah *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) atau *Haemorrhagic Septicemia*. Penyakit ini memperlihatkan gejala seperti kehilangan nafsu makan, luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membesar berisi cairan, sisik

lepas, sirip ekor lepas, jika dilakukan pembedahan akan terlihat pembengkakan (Austin dan Austin, 1993 dalam Tantu, *et al.*, 2013).

## 2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

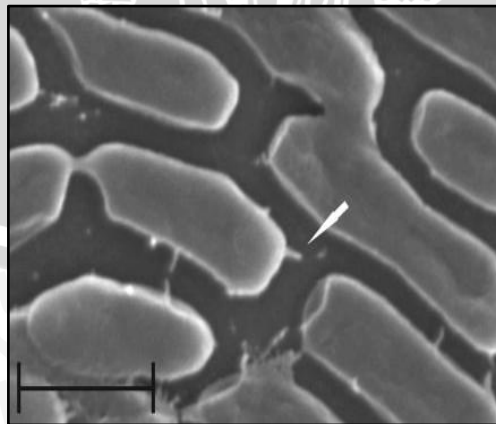
### 2.2.1 Klasifikasi Bakteri

Menurut Lakshamanaperumalsamy, *et al.*,(2004) bakteri *A. hydrophila* diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonodale
Sub-ordo	: Pseumodineae
Family	: Vibrionceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

### 2.2.2 Morfologi Bakteri

Berdasarkan pemeriksaan mikroskopis, bakteri *A. hydrophila* berbentuk batang pendek ( $0,5 \times 1,0 \mu\text{m}$ ) yang merupakan bakteri gram negatif, basil, motil aeromonas adalah sitokrom oksidatif positif, melakukan fermentasi glukosa, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dengan atau tanpa produksi gas dan tidak sensitif terhadap agen vibriostatik (Cipriano, 2001).



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* perbesaran 400x (Krzymińska, *et al.*, 2012).



### 2.2.3 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *A. hydrophila* pada umumnya hidup pada media air tawar yang mengandung bahan organik tinggi. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin. Di daerah tropik dan sub tropik *Haemorrhagic septicaemia* yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada umumnya muncul pada musim panas (kemarau) dimana pada saat itu kandungan bahan organiknya tinggi (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Bakteri *A. hydrophila* banyak ditemukan pada insang, kulit, hati dan ginjal. Ada juga yang berpendapat bakteri ini dapat bertahan hidup pada saluran pencernaan (Kabata, 1985). *A. hydrophila* merupakan bakteri yang secara normal ditemukan di air tawar. Bakteri ini seringkali mewabah di Asia Tenggara sampai sekarang dan menyerang semua umur dan hampir semua komoditas ikan dan menjadi wabah yang mematikan pada ikan air tawar dan menyebabkan kerugian sangat besar (Kamiso dan Riyanto, 1993 dalam Haryani, *et al.*, 2012).

### 2.2.4 Metabolisme dan Perkembangbiakan

Bakteri *A. hydrophila* tidak dapat hidup lama tanpa inangya, suhu optimal bagi pertumbuhannya 22-28° C, pada suhu 35° C pertumbuhannya terhambat. Genus *Aeromonas* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar, keberadaan *Aeromonas* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen bagi hewan berdarah dingin (Holmes, *et al.*, 1996).

Bakteri *A. hydrophila* termasuk bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen (Kabata, 1985). Bakteri ini akan tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38- 41 °C. Pembiasaan bakteri ini secara aseksual yaitu membiak dengan memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan inti atau pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel ±10 menit (Volk dan Wheeler, 1993).

### 2.2.5 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

*A. hydrophila* sebelum melakukan infeksi, terlebih dahulu melakukan penempelan menggunakan *flagel* ke dalam *host cell*. Faktor virulen dalam mikroba beradaptasi dalam sel inang dan memantapkan keberadaannya. Umumnya *A. hydrophila* menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh ikan disertai dengan pendarahan pada organ dalam (Shome dan Shome, 1999).

Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan gejala-gejala di antaranya, kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Mulia dan Husin, 2012).

## 2.3 Biologi Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.)

### 2.3.1 Klasifikasi Kayu Siwak

Menurut Tjitrosoepomo (1998), klasifikasi tanaman siwak sebagai berikut :

Divisio	: Embryophyta
Class	: Dicotyledons
Ordo	: Brassicales
Family	: Salvadoreceae
Genus	: <i>Salvadora</i>
Spesies	: <i>S. persica</i> L.

### 2.3.2 Morfologi Kayu Siwak

Pohon Siwak atau Arak (Gambar 3) adalah pohon kecil atau semak-semak dengan morfologi berbentuk belukar dan memiliki batang yang bercabang-cabang dan berdiameter lebih dari 1 kaki. Jika kulit batang dikelupas berwarna agak keputihan dan memiliki banyak juntaian serat. Sedangkan akarnya berwarna coklat dan bagian dalamnya berwarna putih. Aroma kayu siwak seperti seledri dan rasanya agak pedas (Al-Khateeb, *et al.*, 1991). Cabang



batang muda berwarna hijau dengan permukaan sedikit kasar. Batang berwarna coklat keabu-abuan. Sedangkan daun berbentuk lonjong dan hampir bulat berukuran 3-7 cm, berwarna hijau gelap (Mirkamandar, *et al.*, 2012).



Gambar 3. Pohon Siwak (*S. persica* L.) (Anonymous, 2014)

Menurut Sher, *et al.*, (2011) bahwa daun siwak (*S. persica* L.) berbentuk *oblongelliptik* (seperti telur) sampai bulat dengan ukuran 3x7 cm, berwarna hijau gelap, agak tebal, bagian *apeks* meruncing sampai membulat, mengecil tajam, bagian umumnya menyempit, terdapat batas daun yang jelas, buah siwak berbentuk bola, berdaging, memiliki diameter 5-10 mm, berwarna merah muda sampai ungu dan semi transparan ketika sudah matang. Adapun Gambar 4 menunjukkan bentuk batang, daun, bunga dan buah *S. persica* L.



Gambar 4. Batang, Daun dan Bunga *S.persica* L. (Akhtar, *et al.*, 2011).



### 2.3.3 Habitat dan Penyebaran Siwak

Menurut Sher, *et al.*, (2011) bahwa *S. persica* L. adalah tumbuhan halofit yang berdaun hijau yang bisa hidup di lingkungan yang ekstrim, mulai dari lingkungan yang sangat kering sampai dengan lingkungan yang berkadar garam tanah yang sangat tinggi. Persebaran terdapat di gurun, lapangan luas, tepi sungai dan padang rumput. *S. persica* L. bisa bertahan pada lingkungan yang sangat kering dan sangat tahan terhadap garam dan bisa ditemukan di daerah pantai. Rentang ketinggian daerah pertumbuhan beragam mulai dari 0-1800 m di atas permukaan laut (dpl). *S. persica* L. juga bisa tumbuh di tanah liat, tanah hitam dan pasir.

Pohon siwak terdistribusi luas di Timur Tengah dan sebagian besar negara-negara Afrika. Di Sudan, pohon siwak didistribusikan di daerah kering dataran banjir sepanjang lembah dan aliran air musiman yang dikenal berbagai daerah di bagian Utara dan Sudan Timur (Al-Khateeb, *et al.*, 1991). Siwak juga telah digunakan di seluruh Yunani dan kerajaan Romawi serta telah digunakan oleh Israel, Mesir dan di kerajaan-kerajaan Islam lainnya. Siwak telah dipercaya sebagai perintis sikat gigi modern yang telah digunakan di Eropa sejak 300 tahun yang lalu. Sekarang, Miswak digunakan di Afrika, Amerika Utara, Asia dan Timur tengah seperti Saudi Arabia dan seluruh kerajaan-kerajaan Islam (Al-Sadhan and Almas, 1999).

Kayu siwak tumbuh di daerah yang cuacanya panas seperti di daerah Arab Saudi. Di Indonesia mungkin tidak bisa ditanam dengan mudah, tapi kayu ini dijual dengan harga 1000,-/kg. Kayu siwak dijual secara legal di berbagai daerah bahkan di dunia maya atau internet banyak sekali yang menjual kayu siwak ini. Bila dilihat dari efek menggunakan kayu siwak sebagai penyikat gigi harga ini tidaklah begitu mahal dan mudah sekali untuk didapatkan (Wibawa, 2011).

### 2.3.4 Manfaat Kayu Siwak

Organisasi kesehatan dunia (WHO) telah menyarankan penggunaan kayu siwak. Baru-baru ini, batang kayu siwak memiliki manfaat secara menyeluruh ditinjau dari pemeriksaan kebersihan mulut. Di Arab, kayu siwak digunakan untuk membersihkan gigi, lidah dan gusi. Siwak digunakan sebagai alat bantu membersihkan mulut (Abdelrahman, *et al.*, 2002).

Manfaat lain dari tanaman kayu siwak juga didapat dari buahnya yang memiliki cita rasa manis bisa dimakan, dimasak dan untuk minuman. Daun digunakan untuk bahan pembuat saus dan dimakan sebagai salad. Selain itu digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti skabies, leukoderma, dan sebagainya. Bijinya digunakan sebagai diuretik dan bisa dioleskan pada permukaan kulit pada daerah reumatik (Khatak, *et al.*, 2011 dalam Kusumasari, 2012).

### 2.3.5 Senyawa Bioaktif Kimia Kayu Siwak

Senyawa bioaktif kimia merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas biologik terhadap organisme lain atau pada organisme yang menghasilkan senyawa tersebut. Senyawa bioaktif hampir selalu bersifat antioksidan, antivirus, antibakteri, dan anticendawan (Walker, 2006). Sumber antibakteri diperoleh dari senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu tumbuhan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan pelarut yang melibatkan perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut. (Siregar, *et al.*, 2012).

Tanaman siwak mengandung zat-zat antibakteri yang dipengaruhi oleh keragaman kandungan kimiawi yang dapat ditemukan pada ekstraknya (El-Mostehy, *et al.*, 1998). Hasil analisa kimia dan fitokimia diketahui *S. persica* mengandung beberapa komponen bahan aktif (Almas, 2001). Sedangkan menurut Ahmad dan Rajagopal (2013), adapun senyawa bioaktif *S. persica* L. yang telah diteliti oleh peneliti dari berbagai dunia seperti pada Tabel 2 berikut:



Tabel 2. Aktivitas Komponen Senyawa Kimia Kayu Siwak (*S. persica* L.)

Komponen	Aktivitas Biologi
Silika	Sebagai bahan abrasif untuk menghilangkan noda untuk membersihkan
Tanin (Asam Tanin)	Mengurangi plak dan gingivis
Resin	Membentuk lapisan atas enamel dan melindungi dari karies
Alkaoid (Salvadorine)	Memiliki efek bakteriosidal dan tindakan simulasi terhadap gingiva
Minyak esensial (atsiri)	Bertindak sebagai antiseptik, rasa pahit merangsang air liur yang mengandung antiseptik
Sulfur	Rasa pedas dan aromanya memiliki efek bakterisida
Vitamin C	Membantu menyembuhkan dan perbaikan jaringan
Sodium bikarbonat (baking soda) $\text{NaHCO}_3$	Bertindak sebagai antikuman
Khlorida	Konsentrasi tinggi dapat menghambat pembentukan kalkulus dan membantu menghilangkan noda
Kalsium	Dengan saliva dapat menghambat pembentukan plak dan mengurangi noda
Benzil nitrat dan benzylisothiocyanate (BIT)	Bertindak sebagai agen kemopreventif, agen antivirus, antibakteri dan antijamur
Butanediamide - N4-bis (phenylmetil)-2(S)-hydroxy-butanediamide	Agen antibakteri yang melawan bakteri gram positif dan gram negatif
N-benzyl-2-phenylacetamide	Efek penghambatan pada agresasi platelet pada kolagen manusia dan antibakteri pada <i>E. coli</i>
Trimethylamin	Penurunan aktivitas plak dan antibakteri
Flouride	Anti pembusukan

### 2.3.6 Proses Ekstraksi Kasar Kayu Siwak

Ekstraksi adalah teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain (Harborne, 1996 dalam Suhermanto, *et al.*, 2011).

Proses pemisahan senyawa dalam simplisia, menggunakan pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan. Pemisahan pelarut berdasarkan kaidah '*like dissolved like*' artinya suatu senyawa polar akan larut dalam pelarut polar. Ekstraksi dapat dilakukan dengan bermacam-macam metode, tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan



senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi, yaitu perendaman bahan alam yang dikeringkan (simplisia) dalam suatu pelarut yang menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak, serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Rusdi dalam Pratiwi, 2009).

Menurut Abdelrahmen *et al.*, (2002), proses ekstraksi kayu siwak dimulai dari bahan tanaman dikeringkan dan dipotong-potong hingga berukuran kecil kemudian ditumbuk halus dengan menggunakan penggiling kemudian serbuk disimpan pada botol bertutup yang steril dan kering dan berada pada suhu kamar hingga proses ekstraksi. Pelarut menggunakan akuades steril, etanol 95%, etil asetat dan asam asetat 2%. Proses ekstraksi dimulai dengan mencampurkan pelarut dengan serbuk siwak halus sebanyak 50 gram dan 250 ml pelarut kemudian di rotari 400 ppm. Dalam waktu 24 jam terjadi pemisahan dan kembali disimpan pada suhu 40-60°C. Pengeringan dilakukan selama 2-4 hari pada suhu kamar. Ekstrak kering selanjutnya disimpan pada suhu 40°C hingga digunakan dalam pengujian antimikroba.

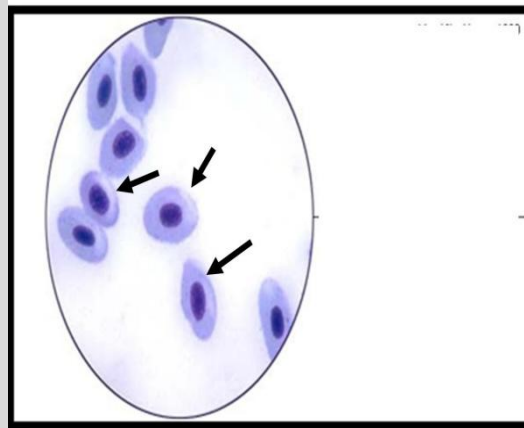
#### 2.4 Hematologi

Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari komponen sel darah baik struktur, sifat dan aliran darah. Hematologi sangat erat kaitannya dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran ikan tersebut dalam kondisi sehat atau sakit. Beberapa parameter yang dapat memperlihatkan perubahan patologi pada darah meliputi jumlah leukosit (sel darah putih), eritrosit (sel darah merah), hematokrit (persentase volume seluruh sel darah merah dalam darah yang diambil dalam volume tertentu), hemoglobin (konsentrasi senyawa pengikat oksigen dalam darah) dan trombosit (keping darah/faktor koagulan) (Bijanti, 2005).

Menurut Salasia, *et al.*, (2001) bahwa untuk diagnosis penyakit ikan secara laboratorik diperlukan adanya standar normal gambaran darah. Manfaat dari pemeriksaan darah antara lain untuk membantu diagnosis penyakit pada ikan, mengetahui jalannya suatu penyakit, menentukan prognosa, mengetahui efek suatu pengobatan, meneliti sistem imun dan untuk mengetahui status kesehatan ikan.

#### 2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Eritrosit berwarna merah kekuningan, berbentuk lonjong, kecil dan berukuran 7-36 mikron (Lagler *et al.*, 1977). Eritrosit (Gambar 5) yang matang berbentuk oval sampai bundar, inti yang kecil dengan sitoplasma dalam jumlah yang besar. Sel darah merah ikan mempunyai inti, umumnya berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa (Chinabut, *et al.*, 1991 dalam Maswan, 2009).



Gambar 5. Sel Darah Merah (Eritrosit) (Mones, 2008)

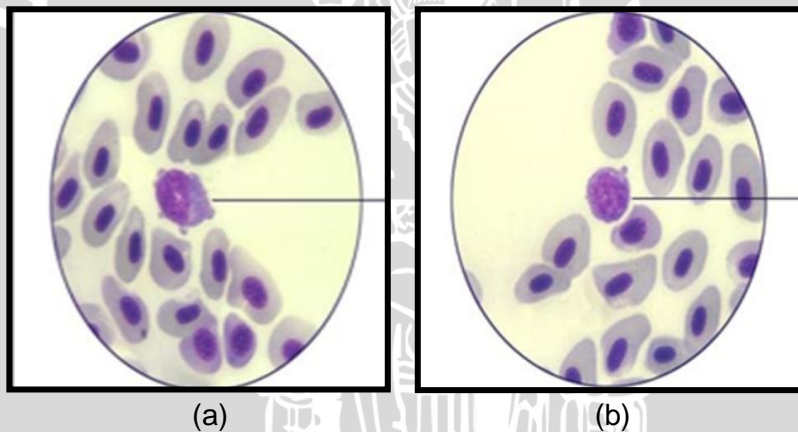
Menurut Fujaya (2004), Jumlah sel darah merah pada masing-masing spesies juga berbeda, tergantung dari aktivitas ikan tersebut. Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mengangkut hemoglobin yang berperan membawa oksigen dari insang atau paru-paru ke jaringan. Menurut Irianto (2005), jumlah eritrosit pada ikan teleostei antara  $1,05-3,0 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>.



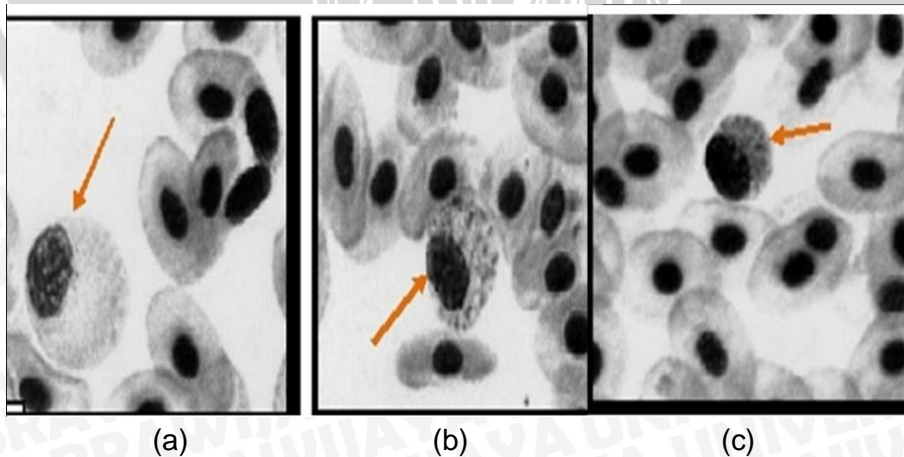
### 2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih merupakan respon dari proteksi diri terhadap adanya sel asing yang masuk kedalam tubuh ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan adanya inflamasi (Suhermanto, *et al*, 2011). Jumlah leukosit dalam darah normal secara umum berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup> (Lagler, *et al.*, 1977).

Leukosit dikelompokkan menjadi dua kelompok (Gambar 7), yaitu agranulosit (Gambar 6) dan granulosit berdasarkan ada tidaknya granul pada sitoplasma. Agranulosit terdiri atas limfosit dan monosit. Granulosit terdiri atas neutrofil, eosinofil dan basofil (Chinabut, *et al.*, 1991 *dalam* Maswan, 2009) .



Gambar 6. Leukosit (agranulosit); (a) Limfosit dan (b) Monosit (Mones, 2008).



Gambar 7. Sel Darah Putih (granulosit); (a) Neutrofil (b) Eosinofil (c) Basofil (Homatowska, *et al.*, 2002).



### 2.4.3 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin (Hb) adalah protein pembawa oksigen menuju sel-sel darah merah. Hemoglobin adalah yang mengandung besi, metalloprotein oksigen transportasi dalam sel-sel darah merah dari semua vertebrata (pengecualian dari keluarga ikan, *Channichthyidae* serta dalam jaringan beberapa invertebrata, hemoglobin dalam darah membawa oksigen dari organ pernapasan ke seluruh tubuh (Chakravarthy, *et al.*, 2012).

Besar kecilnya jumlah hemoglobin (Hb) yang terkandung dalam eritrosit menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah. Perbedaan kadar Hb tersebut terkait dengan kondisi kualitas air media pemeliharaan ikan. Ikan yang dipelihara pada air media dengan kondisi kualitas yang lebih rendah memiliki kadar hemoglobin darah yang rendah. Hal ini diduga karena ikan mengalami stres (Hastuti dan Subandiyono, 2011). Penelitian Salasia, *et al.*, (2001), pemeriksaan terhadap nila yang telah dipastikan sehat mendapatkan kadar hemoglobin sebesar 5,05-8,33 g/dL.

### 2.4.3 Hematokrit (PCV)

Hematokrit merupakan perbandingan antara plasma dengan padatan darah. Perbandingan antara keduanya dibaca dengan pembaca mikrohematokrit dalam satuan g%. Hematokrit biasa disebut "*packed cell volume*" dan ditentukan melalui mikrohematokrit. Nilai hematokrit ikan teleostei berkisar antara 20-30% (Moyle dan Cech, 2004). Menurut Hardi (2011), hematokrit pada nila berkisar antara 27,3-37,8%.

Hematokrit merupakan gambaran presentase sel darah merah dalam darah (Hastuti dan Subandiyono, 2011). Apabila ikan terkena penyakit atau nafsu makannya menurun, maka nilai hematokrit darahnya menjadi tidak normal, jika nilai hematokrit rendah maka jumlah eritrosit pun rendah (Alamanda, *et al.*, 2007).

## 2.5 Kualitas Air Media

### 2.5.1 Suhu

Suhu berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan ikan. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu dan dapat menekan kehidupan ikan bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (drastis) karena terjadi perubahan daya angkut darah. Bila suhu rendah ikan kehilangan nafsu makan, sehingga pertumbuhannya terhambat, sebaliknya bila suhu terlalu tinggi ikan akan stres bahkan mati kekurangan oksigen (Zonneveld, 1991 dalam Laili, 2007).

Menurut Mantau dan Sudarty (2011), suhu yang baik untuk pemeliharaan dan pertumbuhan ikan berkisar 20-30 °C. Suhu optimal dalam pemeliharaan ikan nila gift secara intensif adalah 14-38 °C, suhu diluar batas akan mengurangi selera makan.

### 2.5.2 Derajat Keasaman (pH)

pH air menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam larutan yang dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (dalam mol/liter) pada suhu tertentu atau dapat ditulis  $\text{pH} = -\log (\text{H}^+)$  air murni mempunyai pH netral 7 karena berasosiasi sempurna dan memiliki ion  $\text{H}^+$  dan ion  $\text{OH}^-$  dalam konsentrasi yang sama. Semakin tinggi konsentrasi ion  $\text{H}^+$ , maka semakin rendah konsentrasi ion  $\text{OH}^-$  dan  $\text{pH} < 7$ , perairan semacam ini bersifat asam dan sebaliknya jika konsentrasi ion  $\text{OH}^-$  yang tinggi maka  $\text{pH} > 7$  dan bersifat basa (Sumeru dan Anna, 1992).

pH air mempengaruhi kesuburan perairan karena mempengaruhi kehidupan jasad renik. Perairan asam kurang produktif dan dapat membunuh ikan. Usaha budidaya ikan akan berhasil baik dalam air dengan pH 6,5-9,0 sedangkan selera makan tertinggi pada pH 7,5-8,5 (Kordi, 2010).

### 2.5.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen ( $O_2$ ) adalah satu jenis gas terlarut dalam air dengan jumlah yang sangat banyak, yaitu menempati urutan kedua setelah nitrogen. Namun jika dilihat dari segi kepentingan untuk budidaya perairan oksigen menempati urutan teratas (Kordi dan Ghufran, 2010).

Ikan membutuhkan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas, seperti berenang, pertumbuhan, reproduksi. Kandungan oksigen terlarut minimum yang dapat diterima sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm dan lebih baik 7 ppm. Pada perairan dengan konsentrasi oksigen di bawah 4 ppm ikan masih mampu bertahan hidup tetapi nafsu makan menurun (Afrianto dan Liviawaty, 1992).





### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Penelitian

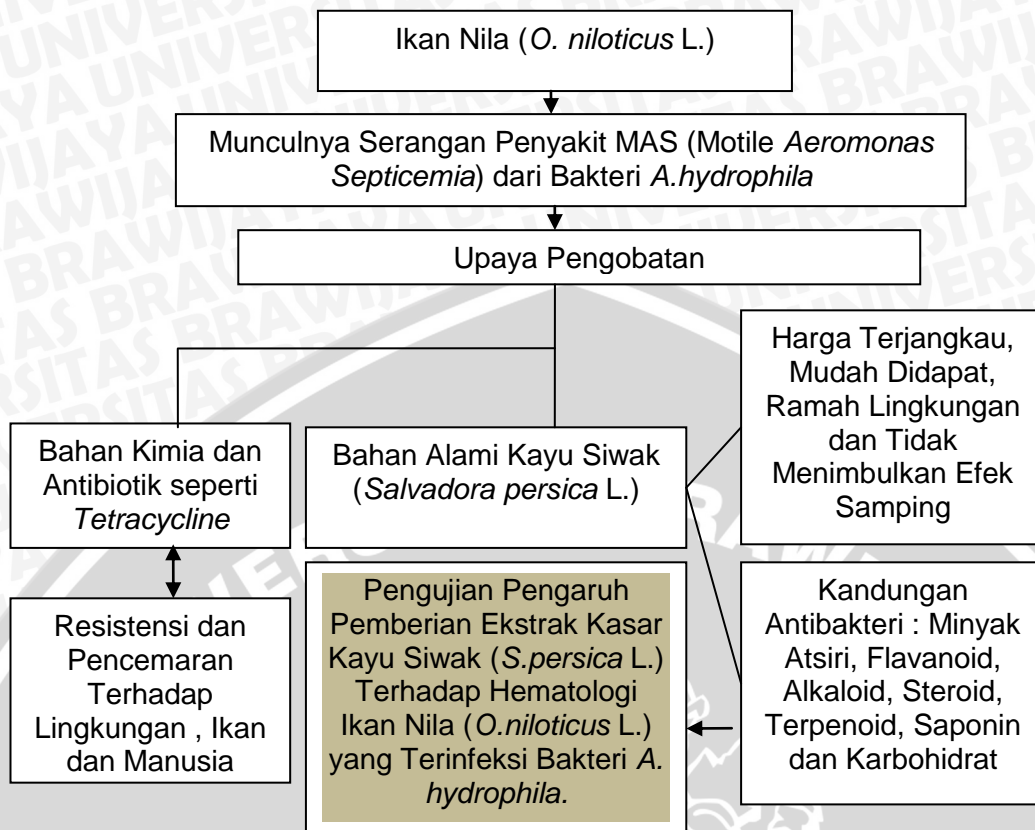
##### 3.1.1 Kerangka Teoritis Penelitian

Ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.) atau populer dengan sebutan “Tilapia” merupakan salah satu jenis ikan penting dalam sistem budidaya perairan atau akuakultur (Kordi dan Ghufron, 2010). Sistem budidaya perikanan air tawar kini telah mencapai tahap intensifikasi tidak terlepas dari resiko biologis, yaitu munculnya penyakit (Khairuman dan Amri, 2010). *A. hydrophila* dikenal sebagai bakteri oportunistis karena biasanya menimbulkan masalah pada saat ikan sedang mengalami stres (Irianto, 2005). Bakteri *A. hydrophila* dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian benih sampai 90% (Yin, *et al.*, 2008).

Pemberian bahan kimia dan antibiotik dapat mencemari lingkungan dan dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk dikonsumsi oleh manusia (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011). Sehingga, perlu dicarikan alternatif lain dengan bahan alami yang ramah lingkungan dan mudah terurai (Mulia dan Husin, 2012). Penggunaan tumbuhan kayu siwak (*S. persica*) telah dikenal sebagai alat kebersihan mulut sebagai sikat gigi. Berbagai macam kandungan *S. persica* L. dilaporkan memiliki manfaat antibakteri dan antifungi. Kayu siwak diketahui mengandung beberapa senyawa bioaktif sebagai antimikroba, diantaranya adalah minyak atsiri, flavanoid, alkaloid, steroid, terpenoid, saponin dan karbohidrat (Kamil, *et al.*, 1999 dalam Sher *et al.*, 2011).

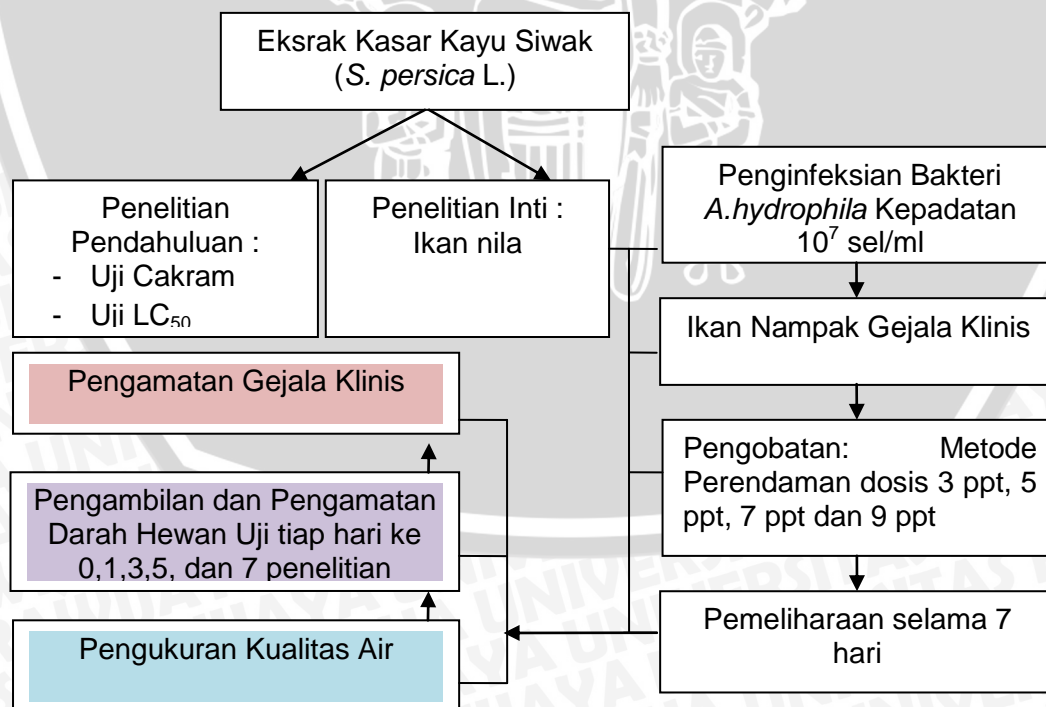
##### 3.1.2 Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konseptual penelitian adalah suatu hubungan atau kaitan antara konsep satu terhadap konsep yang lainnya dari masalah yang ingin diteliti. Kerangka konsep penelitian dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Kerangka Teoritis Penelitian

### 3.1.3 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 9. Kerangka Operasional Penelitian

### 3.2 Materi Penelitian

#### 3.2.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat (Lampiran 1) yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: akuarium berukuran 30x30x30 cm, timbangan digital, autoklaf, mikroskop cahaya, *cover glass*, *objek glass*, *hot plate*, *haemofuge*, aerator, *handtally counter*, tube, haemometer, pipet thoma dan haemositometer, DO meter, tabel mikrohematokrit, termometer, baskom, nampan, serok, pipet tetes, selang aerator, pipa kapiler, kamar hitung *Improved Neubeur*.

#### 3.2.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan (Lampiran 1) yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan nila (*O. niloticus* L.) berukuran 7-12 cm sebanyak 180 ekor yang didapat dari petani di daerah Dau, Malang. Bahan lainnya adalah ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.), biakan murni *A. hydrophila* kepadatan  $2,7 \times 10^9$  sel/ml yang didapat dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang. Alkohol 70%, larutan turk, larutan hayem, larutan HCL 0,1 N, akuades, Na-sitrat 3,8%, pelarut metanol, media TSA dan NB, kertas label, pakan pelet dan spuit 1 ml dan sampel darah.

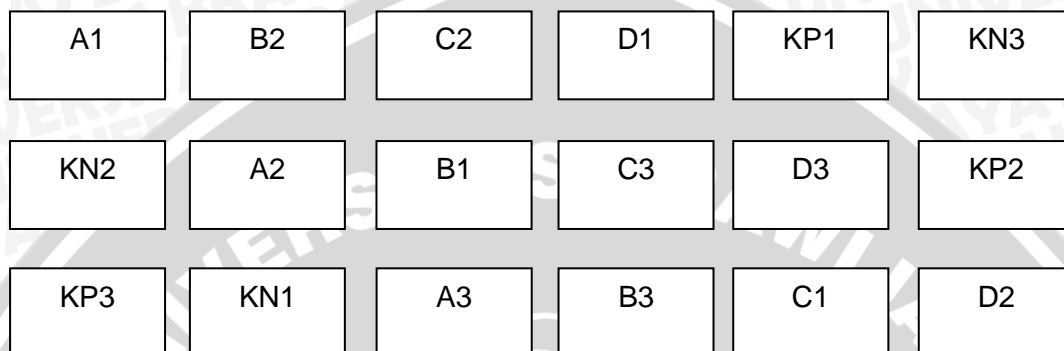
### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium (Sastrosupadji, 2000).

Perlakuan berupa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* kepadatan  $10^7$  sel/ml dan pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) melalui metode perendaman dengan 4 dosis yaitu 3 ppt, 5 ppt, 7 ppt dan 9 ppt yang didasarkan pada penelitian pendahuluan. Perlakuan ditambah kontrol normal (KN) dan kontrol positif (KP). Untuk mengurangi kekeliruan dilakukan 3 kali perlakuan.



Perendaman dilakukan 1 kali, lamanya perendaman 15 menit. Setelah perendaman, ikan uji dipelihara selama 7 hari dan dilakukan pengambilan darah dan pengamatan darah pada hari ke 0, 1, 3, 5 dan 7 penelitian serta dilakukan pengukuran kualitas air . Adapun denah dari penelitian ini disajikan pada Gambar 10 sebagai berikut.



Gambar 10. Denah Penelitian In Vivo

Keterangan:

KN : Kontrol normal, tanpa infeksi bakteri dan tanpa ekstrak kasar kayu siwak

KP : Kontrol positif, diinfeksi bakteri tanpa ekstrak siwak

A : Diinfeksi bakteri, pemberian ekstrak kasar kayu siwak dosis 3 ppt

B : Diinfeksi bakteri, pemberian ekstrak kasar kayu siwak dosis 5 ppt

C : Diinfeksi bakteri, pemberian ekstrak kasar kayu siwak dosis 7 ppt

D : Diinfeksi bakteri, pemberian ekstrak kasar kayu siwak dosis 9 ppt

1, 2, 3 : Ulangan

### 3.4 Persiapan Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan berupa akuarium kaca berukuran 30x30x30 cm sebanyak 18 buah diletakkan secara berhadapan. Sebelum digunakan akuarium dicuci menggunakan sabun kemudian disinfektan dengan merendam larutan kaporit 100 ppm selama 30 menit untuk membunuh bakteri dan jamur yang menempel pada dinding akuarium (Rahmaningsih, 2012). Selanjutnya akuarium dibilas menggunakan air sampai bersih. Kemudian akuarium dikeringkan dan

diisi air sebanyak 12 liter dan diberi aerasi untuk menjaga ketersediaan oksigen terlarut.

### 3.4.2 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah ikan nila (*O. niloticus* L.) sehat berukuran 7-12 cm sebanyak 180 ekor. Masing-masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama seminggu dan diberi pakan pelet pada pagi dan sore hari. Aklimatisasi bertujuan untuk mengadaptasikan ikan terhadap lingkungan barunya dan meminimalisir resiko stres yang dapat dialami oleh ikan uji. Dilakukan pula penyiponan dan penggantian air setiap hari untuk menjaga kualitas air (Maharani, 2009).

### 3.4.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Tujuan sterilisasi adalah untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada alat-alat yang digunakan dalam penelitian. Sehingga ketika digunakan alat dalam keadaan higienis. Adapun langkah-langkah yang dilakukan untuk sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat dan bahan yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus koran serta diikat menggunakan benang.
- Akuades dituangkan secukupnya ke dalam *autoclave* kemudian alat dan bahan yang telah dibungkus tadi dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup *autoclave* dengan posisi simetris.
- Pemanas dinyalakan sampai suhu 121<sup>0</sup>C dengan tekanan 1 atm, kemudian ditunggu sampai 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Kompur dimatikan. Ditunggu sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol), setelah itu kran uap dibuka kemudian penutup *autoclave* dengan cara simetris pula.

- Alat dan bahan diangkat dan didinginkan sebentar, selanjutnya alat dan bahan tersebut disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

#### **3.4.4 Pembuatan Media Bakteri**

##### **a. Pembuatan Media Padat *Tryptone Soya Agar* (TSA)**

1. 3,2 gram TSA dilarutkan dengan 80 ml aquadest steril dalam Erlenmeyer.
2. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan alumunium foil kemudian dipanaskan diatas diatas hotplate hingga mendidih. Media TSA disterilisasi ke dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Media TSA diangkat dan didiamkan untuk menurunkan suhu, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10-20 ml yang telah disterilisasi sebelumnya. Penuangan dilakukan di dekat api bunsen.
4. Ditunggu sampai mengeras (menjadi agar) dan cawan petri dibalik. Kemudian cawan petri dimasukkan ke dalam plastik dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

##### **b. Pembuatan Media Cair *Nutrient Broth* (NB)**

1. 13 gram NB dilarutkan ke dalam 1 liter akuades steril yang ditempatkan pada erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dididihkan di atas *hotplate* hingga larut sempurna dan berwarna kuning jernih.
2. Media cair NB dalam erlenmeyer di sterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media cair NB yang akan di pakai dibiarkan dingin terlebih dahulu agar bakteri yang diinokulasikan tidak mati.

#### **3.4.5 Pembiakan Murni Bakteri *A. hydrophila***

Stok murni bakteri diperoleh dari Laboratorium Parasit dan Penyakit Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Sebelum digunakan bakteri dibiakkan terlebih dahulu dengan cara berikut:



#### a. Pemiakan dalam Media Padat TSA

1. Pada media TSA, bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya sudah dipijarkan pada bunsen. Bakteri dari biakan murni tersebut dimasukkan ke dalam akuades steril 10 ml dan dihomogenkan.
2. Akuades yang sudah tercampur bakteri, bakteri diambil dengan menggunakan *cotton swab* steril lalu digoreskan pada media padat dalam cawan petri secara *zig-zag*
3. Media yang sudah diinokulasi bakteri disimpan dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 30°C hingga bakteri tumbuh.

#### b. Pemiakan pada Media Cair NB

1. Bakteri dari media TSA diambil dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya sudah dipijarkan pada bunsen.
2. Kemudian ditanamkan sebanyak 2-3 jarum ose ke dalam media NB dan dihomogenkan untuk mendapat kepadatan yang diinginkan. Media cair NB lalu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C untuk menunggu tumbuhnya bakteri.

#### 3.4.6 Pembuatan Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*S. persica* L.)

Proses pembuatan ekstrak kasar kayu siwak (Lampiran 2) mengacu pada penelitian abdelrahman, *et al.*, (2002) bahwa dalam pembuatan ekstrak kayu siwak, akar dan ranting *S. persica* L. dikeringkan dan masing-masing dipotong kecil-kecil dan dihaluskan hingga menjadi serbuk, serbuk kemudian disimpan dalam kondisi kering dan steril. Tahap ekstraksi menggunakan pelarut metanol untuk ekstrak kasar. Ekstraksi dilakukan dengan mencampurkan pelarut metanol 96% dan serbuk siwak dengan perbandingan 1:3 kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu 27°C. Selanjutnya serbuk kayu siwak disaring menggunakan *vacuum pump* yang dilengkapi kertas saring dan saringan *Buchner*. Selanjutnya

ekstrak kayu siwak yang didapat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 30-40°C hingga tidak ada pelarut yang tersisa. Adapun prosedur lengkap dari pembuatan ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dapat dilihat pada Lampiran 2.

#### 3.4.7 Penentuan Dosis Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*S. persica* L.)

Penentuan dosis dan jumlah ekstrak kasar kayu siwak (Lampiran 3) didasarkan pada penelitian pendahuluan berupa uji cakram untuk mengetahui dosis yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* pada hewan uji. Didapatkan dosis menggunakan satuan ppt (*Part Per Thousand*) berupa 3 ppt, 5 ppt, 7 ppt dan 9 ppt dan direndam pada baskom berisi 3 liter air. Untuk menentukan dosis ekstrak kayu siwak yang dibutuhkan, maka dosis tersebut dikonversikan pada rumus: gram/L. Untuk mengetahui perhitungan lengkap dosis ekstrak kasar kayu siwak yang digunakan dapat dilihat seperti pada Lampiran 3.

### 3.5 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.5.1 Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila*

Biakan bakteri *A. hydrophila* yang digunakan untuk menginfeksi hewan uji menggunakan kepadatan  $10^7$  sel/ml yang dilakukan di bak berukuran 20 liter air sehingga untuk mendapatkan kepadatan bakteri yang diinginkan tersebut harus dilakukan perhitungan konsentrasi bakteri (Lampiran 4) dengan rumus menurut Cappucino dan Sherman (1988), sebagai berikut :

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

Dimana :

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

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

$V_1$  : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

$V_2$  : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan



Penginfeksian ikan nila dengan bakteri *A. hydrophila* dilakukan menggunakan metode perendaman selama 24 jam. Waktu penginfeksian tersebut diambil berdasarkan hasil uji LC<sub>50</sub> bahwa setelah 48 jam penginfeksian, ikan uji mati sebanyak 50% sehingga waktu 24 jam dianggap sebagai waktu pertama kali muncul gejala klinis ikan uji. Setelah penginfeksian, ikan uji kemudian dipindahkan ke bak untuk melihat gejala klinis pada ikan nila. Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah 24 jam pasca infeksi hingga selama penelitian yaitu 7 (tujuh) hari.

### **3.5.2 Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*S. persica* L.)**

Pemberian ekstrak kasar kayu siwak dilakukan setelah ikan nila yang diinfeksi bakteri menunjukkan gejala klinis. Pemberian dilakukan dengan cara perendaman. Pengobatan menggunakan bak berisi air sebanyak 3 liter. Tiap bak diisi ikan uji sebanyak 10 ekor. Sebelum dilakukan perendaman, dihitung terlebih dahulu jumlah ekstrak kasar kayu siwak yang digunakan untuk mendapatkan ketepatan dosis. Perendaman dilakukan satu kali dengan lama perendaman selama 15 menit, setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali perlakuan (Syawal, *et al.*, 2008). Selanjutnya ikan dipelihara di akuarium pemeliharaan.

### **3.5.3 Pengambilan Sampel Darah**

Pengambilan darah hewan uji dilakukan pada hari ke 0 (24 jam pasca penginfeksian) dan pada hari ke-1, 3, 5 dan 7 setelah diberi ekstrak kasar kayu siwak selama penelitian. Pengambilan sampel darah (Lampiran 5) dilakukan melalui *vena caudalis* dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi dengan *Na-sitrat* 3,8% sebagai antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah. Darah diambil pada bagian *vena caudalis* yaitu pembuluh darah yang terletak tepat dibagian ventral tulang *vertebrae* (tulang punggung). Lalu jarum ditarik sedikit kemudian darah dihisap/ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Pastikan tidak ada gelembung udara yang masuk ke dalam spuit tersebut.



Setelah itu spuit dicabut, kemudian darah yang telah diambil kemudian ditampung dalam tube (Bijanti, 2005). Selanjutnya dari sampel darah tersebut dapat dilakukan pengamatan dan perhitungan total sel darah merah (eritrosit), total sel darah putih (leukosit), kadar hemoglobin (Hb) dan kadar hematokrit (PCV) (Lampiran 6).

### 3.5.4 Pengamatan Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

#### a. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet Thoma eritrosit sampai skala 0,5. Lalu tambahkan larutan hayem (berfungsi untuk mematikan sel darah putih) sampai skala 101 (200 kali pengenceran), dikocok selama 3-5 menit sehingga darah tercampur rata. Setelah itu empat tetesan pertama larutan darah dalam pipet dibuang, selanjutnya teteskan pada *haemocytometer* kemudian ditutup dengan gelas penutup. Jumlah sel darah merah dapat diamati dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pengamatan sel darah merah difokuskan pada 5 kamar hitung (kotak kecil) pada *haemocytometer* tersebut dan dihitung dengan *handtally counter*. Adapun perhitungan total eritrosit dapat dilihat pada Lampiran 6.

$$\text{Jumlah Eritrosit} = N \times \frac{1}{5 \text{ Area} \times \frac{1}{250} (\text{Volume Pipet})} \times 200 (\text{Faktor Pengencer})$$

#### b. Sel Darah Putih (leukosit)

Darah yang sudah bercampur antikoagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma leukosit sebanyak 0,5 kemudian dincerkan dengan larutan turks hingga skala 11 (diencerkan 20 kali), kemudian pipet thoma leukosit digoyang-goyangkan sampai darah dan larutan turks tercampur rata. Setelah itu, empat tetesan pertama larutan darah dalam pipet dibuang, dan tetesan selanjutnya baru diteteskan pada *haemocytometer*. Hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan kelima, darah dan larutan turks telah tercampur sehingga

memudahkan pada saat perhitungan sel darah putih pada mikroskop. *Haemocytometer* kemudian ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*). Jumlah sel darah putih diamati dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

Pengamatan dan perhitungan sel darah putih (Lampiran 5) dihitung pada 4 kotak besar dan dihitung dengan menggunakan *hand tally counter* (Bijanti, 2005). Adapun perhitungan lengkap total leukosit dapat dilihat pada Lampiran 6. Selanjutnya jumlah leukosit dihitung dengan menggunakan rumus menurut Trewavas (1983):

### c. Hemoglobin (Hb)

Konsentrasi hemoglobin darah diukur dengan menggunakan metode Sahli. Metode ini didasarkan atas terbentuknya asam hematin (hemoglobin darah dirombak menjadi asam hematin oleh asam klorida 0,1 N) dengan satuan pengukuran dalam % (Alifuddin, 1999). Tabung Sahli diisi dengan larutan HCl 0,1 N sampai skala 2% yang terdapat pada tabung haemometer. Darah dihisap dengan pipet Sahli sampai skala 20 mm. Darah kemudian dipindahkan ke dalam tabung sahli yang telah diisi dengan larutan HCl 0,1 N. Kedua bahan dihomogenkan dan didiamkan sebentar agar terbentuk asam hematin (berwarna kuning kecokelatan). Kemudian ditambahkan akuades sehingga warna sampel sama dengan warna standar pada tabung Sahli. Pembacaan dilakukan dengan melihat cairan dan warna dicocokkan dengan warna pada skala tabung Sahli yang dilihat pada lajur g% yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah (Alifuddin, 1999). Adapun prosedur pengamatan hemoglobin dapat dilihat pada Lampiran 5.

### d. Hematokrit (PCV)

Hematokrit merupakan perbandingan antara plasma dengan padatan darah, perbandingan diantara keduanya dibaca dengan pembaca mikrohematokrit dalam satuan % (Alifuddin, 1999). Nilai hematokrit diperoleh



dengan cara mengambil darah sampai  $\frac{3}{4}$  pipa kapiler yang telah dilapisi dengan antikoagulan, setelah itu ditutup bagian ujung pipa kapiler dengan menggunakan parafin. Tabung yang berisi darah tersebut kemudian disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, setelah itu hasil dapat dibaca dengan menggunakan mikrohematokrit (Bijanti, 2005). Adapun prosedur pengamatan hematokrit dapat dilihat pada Lampiran 5.

### **3.6 Parameter Uji**

#### **3.6.1 Parameter Utama**

Parameter utama yang diteliti adalah pengamatan dan perhitungan terhadap darah hewan uji sebelum dan setelah diberi perlakuan (Lampiran 6), meliputi: sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), hemoglobin (Hb) dan hematokrit (PCV).

#### **3.6.2 Parameter Penunjang**

Parameter penunjang yang diteliti dalam penelitian ini adalah gejala klinis hewan uji dan pengamatan kualitas air (Lampiran 7) meliputi suhu, pH dan DO (oksigen terlarut).

### **3.7 Analisa Data**

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistic menggunakan analisis keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan, yaitu RAL. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus* L.) meliputi total eritrosit, total leukosit, kadar hemoglobin (Hb) dan kadar hematokrit (PCV) yang diberi perlakuan berupa penginfeksi bakteri dan pengobatan dengan cara perendaman, maka digunakan uji sidik ragam. Apabila hasil yang diperoleh menunjukkan perbedaan yang nyata dimana F hitung berada di antara F tabel atau perbedaan yang sangat nyata dimana F hitung lebih besar dari F tabel



maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Tujuan dari uji BNT adalah untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Kemudian untuk mengetahui pola hubungan (regresi) antara dosis perlakuan dengan parameter yang diuji, maka perlu dilanjutkan perhitungan analisa regresi yang tujuannya untuk mencari bentuk hubungan antara dosis ekstrak kasar kayu siwak (X) dengan hematologi ikan nila (Y). Sedangkan parameter penunjang berupa gejala klinis dan pengamatan kualitas air dianalisa secara deskriptif.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

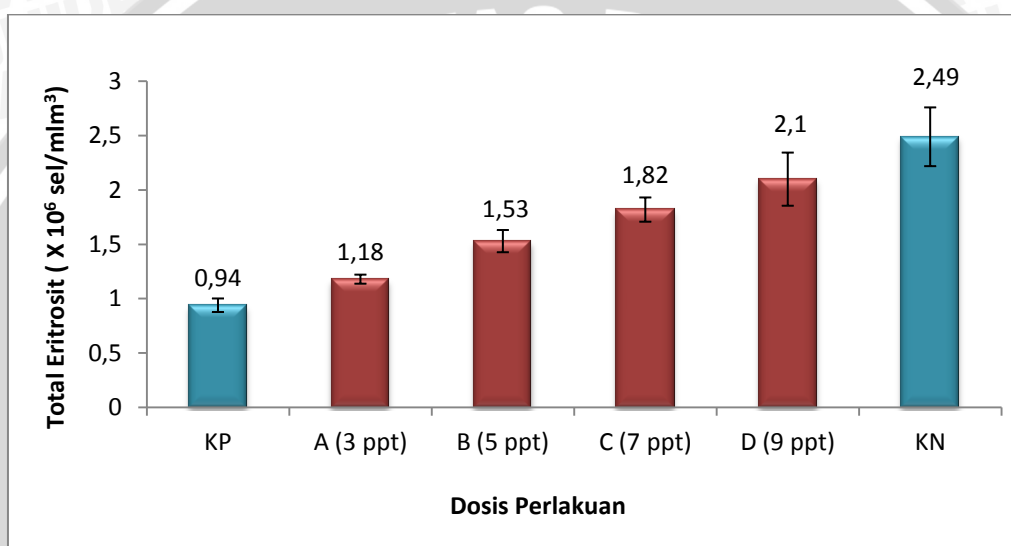


## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Analisa Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

#### 4.1.1 Total Sel Darah Merah (Eritrosit)

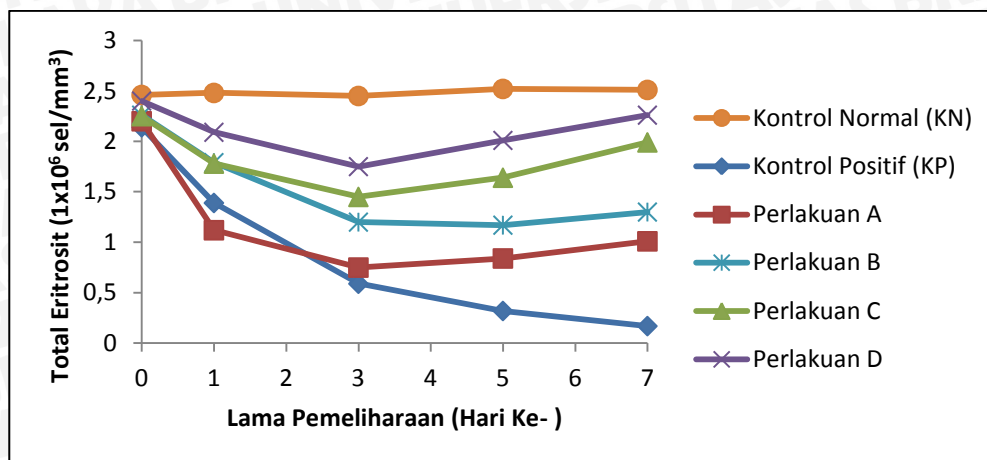
Penentuan parameter darah khususnya total sel darah merah (eritrosit) digunakan untuk menilai suatu kesehatan ikan (Nikolov dan Doichinova, 2010). Berdasarkan pengamatan selama penelitian, didapatkan total rata-rata sel darah merah (eritrosit) seperti yang tersaji pada Gambar 11.



Gambar 11. Total Rata-Rata Eritrosit ( $\times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ) Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Selama Penelitian

Berdasarkan Gambar 11 diketahui bahwa kisaran total rata-rata eritrosit pada perlakuan A ( $1,18 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ), perlakuan B ( $1,53 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ), Perlakuan C ( $1,82 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ), dan perlakuan D mendapatkan total eritrosit tertinggi ( $2,10 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ). Kisaran tersebut berada dalam kisaran normal. Menurut Irianto (2005), jumlah eritrosit pada ikan teleostei normal berkisar antara  $1,05 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ . Bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, diketahui bahwa kontrol positif (KP) menghasilkan kisaran total rata-rata eritrosit paling rendah ( $0,94 \times 10^6$  sel/ $\text{mm}^3$ ) sedangkan pada kontrol normal (KN) menghasilkan kisaran

normal ( $2,49 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>). Sedangkan untuk mengetahui total rata-rata eritrosit harian dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Total Rata-Rata Eritrosit ( $\times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>) Harian Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian

Gambar 12 menunjukkan total rata-rata eritrosit ikan nila harian mengalami fluktuasi naik dan turun. Perlakuan A, B, C dan D, kisaran total eritrosit pada 24 jam pasca penginfeksi bakteri *A. hydrophila* pada (H-0) relatif stabil. Pada hari pertama (H-1) dan hari ketiga (H-3) setelah pengobatan menggunakan ekstrak kasar kayu siwak, kisaran total eritrosit mengalami penurunan dan kembali meningkat pada hari kelima (H-5) dan ketujuh (H-7) meskipun kisaran eritrosit yang dihasilkan lebih rendah. Sedangkan pada kontrol positif (KP), kisaran total eritrosit terus mengalami penurunan hingga H-7 penelitian sedangkan kontrol normal (KN) total rata-rata eritrosit berada dalam kisaran normal.

Terjadinya penurunan total eritrosit pada hari pertama dan ketiga diduga akibat adanya serangan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Kamaludin (2011) menyebutkan adanya kecenderungan penurunan sel darah merah dikarenakan enzim hemolisin yang merupakan salah satu eksotoksin dari bakteri *A. hydrophila* memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah (eritrosit), sehingga jumlah sel darah merah pada pembuluh darah berkurang. Hal ini yang menyebabkan sel darah merah (eritrosit) mengalami penurunan jumlah. Untuk mengetahui



pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S.persica* L.) terhadap total eritrosit ikan nila (*O. niloticus* L.), maka dilakukan uji sidik ragam seperti pada Tabel 3 berikut.

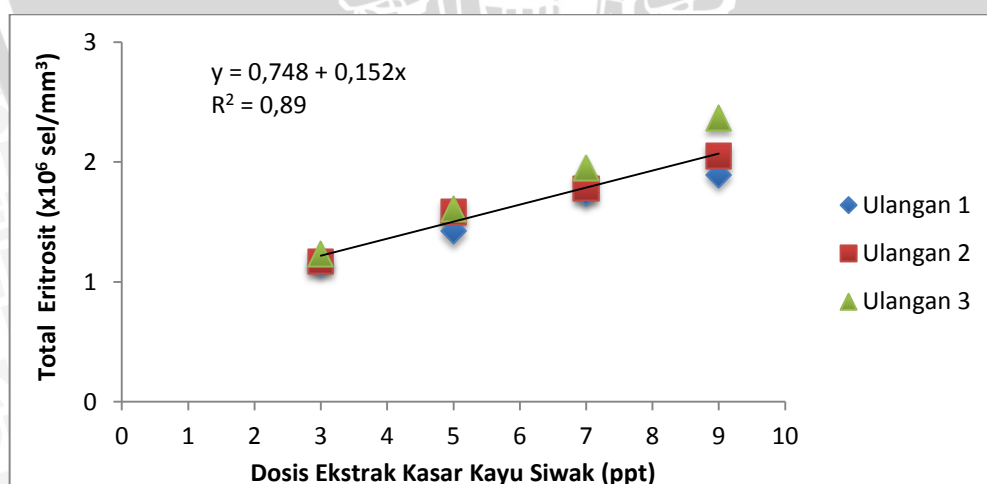
Tabel 3. Uji Sidik Ragam Total Eritrosit Ikan Nila

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	1,397	0,465	22,17**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,169	0,021			
3. Total	11	1,566				

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 3 diatas diketahui bahwa F hitung lebih besar dibandingkan F5% dan F1% ( $F_{hit} : 22,17 > F_{5\%} : 4,07 > F_{1\%} : 7,59$ ) sehingga pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) berpengaruh terhadap total rata-rata eritrosit ikan nila. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang terdapat pada Lampiran 6.

Untuk mengetahui pola hubungan (regresi) antara dosis perlakuan (x) dengan total eritrosit ikan uji (y), maka perlu dilanjutkan uji *polinomial orthogonal* (Lampiran 6) yang hasilnya regresi linier berbeda sangat nyata, sehingga regresi yang sesuai untuk kurva respons adalah regresi linier seperti pada Gambar 13 berikut.



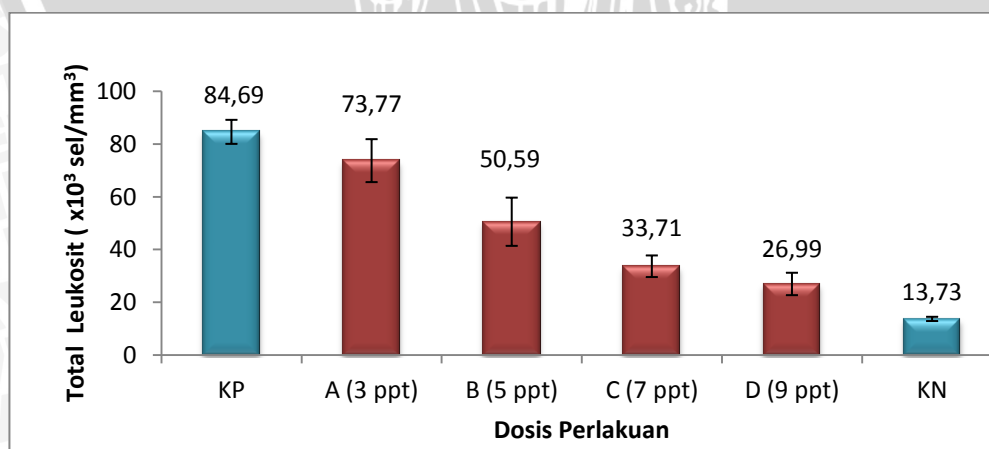
Gambar 13. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Eritrosit Ikan Nila

Hubungan antara pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap total eritrosit ikan nila (*O. niloticus* L.) menunjukkan persamaan linier  $y = 0,748 + 0,152x$  dan koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,89 (Lampiran 6). Diketahui bahwa total eritrosit terendah pada perlakuan A (3 ppt) sedangkan total eritrosit tertinggi pada perlakuan D (9 ppt). Sehingga diketahui bahwa pemberian dosis ekstrak kasar kayu siwak dengan dosis yang berbeda mempunyai hubungan terhadap total eritrosit ikan uji, sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 9 ppt.

Adanya peningkatan total eritrosit ikan uji tiap dosis perlakuan hingga mendekati kisaran normal diduga berkaitan dengan adanya pemberian ekstrak kasar kayu siwak. Kayu siwak dilaporkan mengandung antibakteri terbesar minyak atsiri dilihat dari diameter zona hambat terhadap bakteri *S.aureus*, *S.mutans*, *L.acidophilus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa* (Alali dan Al-Lafi, 2003).

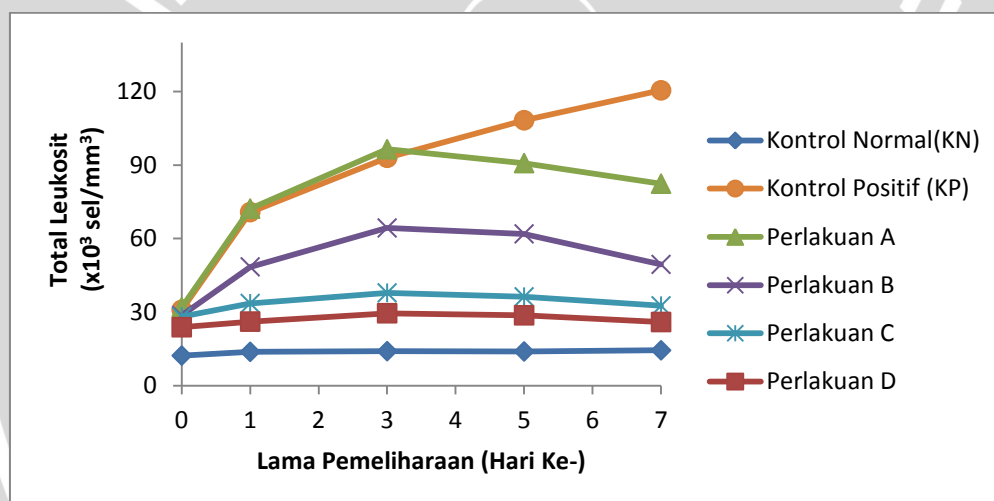
#### 4.1.2 Total Sel Darah Putih (Leukosit)

Pemeriksaan total leukosit dapat digunakan sebagai penanda adanya infeksi dalam tubuh (Syawal *et al.*, 2008). Berdasarkan pengamatan selama penelitian, didapatkan total rata-rata leukosit ikan nila seperti pada Gambar 14.



Gambar 14. Total Rata-Rata Leukosit ( $\times 10^3$  sel/ $\text{mm}^3$ ) Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Selama Penelitian

Gambar 14 diketahui bahwa kisaran total rata-rata sel darah putih (leukosit) pada perlakuan A ( $73,77 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), perlakuan B ( $50,59 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), perlakuan C ( $33,71 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) dan perlakuan D menghasilkan rata-rata total leukosit tertinggi ( $26,99 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>). Kisaran tersebut berada dalam kisaran normal. Menurut Lagler, *et al.*, (1977) jumlah leukosit dalam darah normal secara umum berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup>. Bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, diketahui bahwa kontrol positif (KP) menghasilkan kisaran total leukosit tertinggi ( $84,69 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) sedangkan kontrol normal (KN) berada dalam kisaran normal ( $23,93 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>). Sedangkan untuk mengetahui total rata-rata leukosit harian, dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Total Rata-Rata Leukosit ( $\times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) Harian Ikan Nila Tiap Perlakuan Selama Penelitian

Gambar 15 menunjukkan total rata-rata leukosit ikan nila harian mengalami fluktuasi naik dan turun. Perlakuan A, B, C dan D, kisaran leukosit pada 24 jam pasca penginfeksi bakteri *A. hydrophila* pada (H-0) relatif stabil. Pada hari pertama (H-1) dan ketiga (H-3) setelah pengobatan menggunakan ekstrak kasar kayu siwak, terjadi peningkatan leukosit. Kisaran leukosit mulai mengalami penurunan pada hari kelima (H-5) dan ketujuh (H-7). Sedangkan pada kontrol



positif (KP), kisaran leukosit terus mengalami peningkatan hingga hari ketujuh penelitian.

Terjadinya peningkatan jumlah leukosit ikan nila pada hari pertama dan ketiga diduga akibat adanya penginfeksi bakteri. Tingginya total leukosit pada menunjukkan ikan dalam keadaan sakit dan stres akibat terinfeksi bakteri. Menurut Suhermanto, *et al.*,(2011), peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi (peradangan). Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) terhadap total leukosit ikan nila, maka dilakukan uji sidik ragam seperti pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Uji Sidik Ragam Total Leukosit Ikan Nila

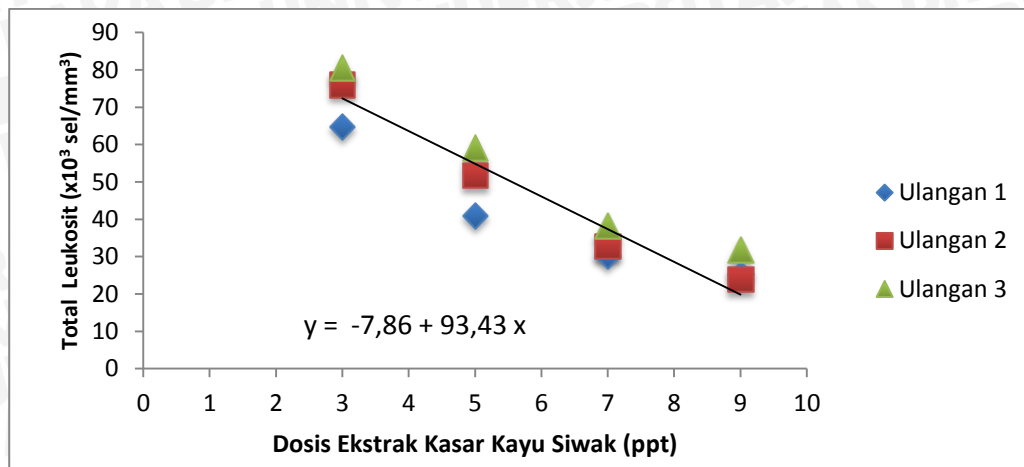
Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	3912,932	1304,311	28,226**	4,07	7,59
2. Acak	8	369,674	46,209			
3. Total	11	4282,606				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 4 diatas, menyatakan bahwa F hitung lebih besar dibandingkan F5% dan F1% ( $F_{hit} : 28,226 > F_{5\%} : 4,07 > F_{1\%} : 7,59$ ) sehingga pemberian ekstrak kasar kayu siwak berpengaruh terhadap total leukosit ikan nila. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil. Hasil uji BNT disajikan lengkap pada Lampiran 6.

Hasil perhitungan Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan notasi yang berbeda tiap perlakuan yang artinya ada perbedaan pada tiap perlakuan. Selanjutnya untuk mengetahui pola hubungan (regresi) antara dosis perlakuan (x) dengan total leukosit ikan uji (y), maka perlu dilanjutkan uji *polinomial orthogonal* (Lampiran 6) yang hasilnya regresi linier berbeda sangat nyata

sehingga regresi yang sesuai untuk kurva respons adalah regresi linier seperti pada Gambar 16.



Gambar 16. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Leukosit Ikan Nila

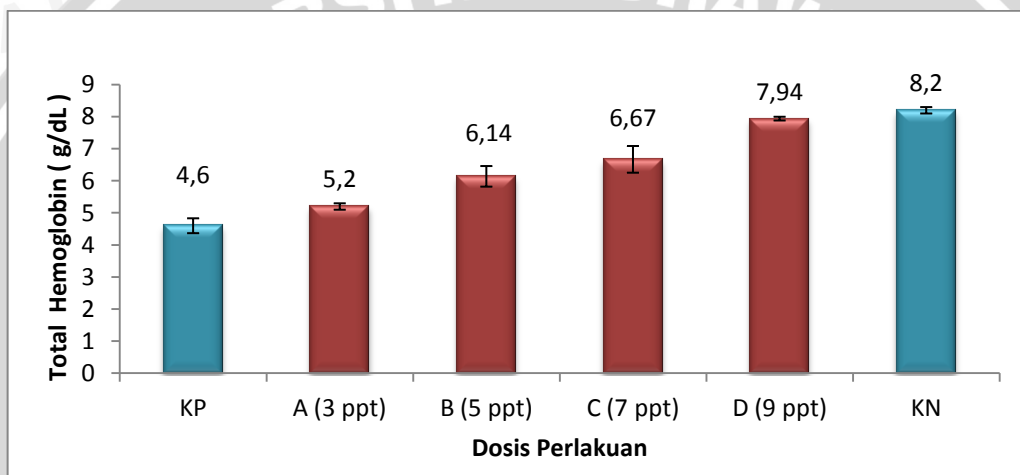
Hubungan antara pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap total leukosit ikan nila menunjukkan persamaan linier  $y = -7,860 + 93,43x$  dan koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,90 (Lampiran 6). Diketahui bahwa total leukosit terendah ditunjukkan perlakuan D (9 ppt) dan total leukosit tertinggi terdapat pada perlakuan A (3 ppt) sehingga diketahui bahwa pemberian ekstrak kasar kayu siwak dengan dosis yang berbeda mempunyai hubungan terhadap total leukosit ikan uji. Dapat disimpulkan bahwa dosis maksimal yang dapat meningkatkan status kesehatan ikan uji dalam penelitian ini adalah dosis 9 ppt.

Adanya penurunan total leukosit ikan uji pada tiap dosis perlakuan yang mendekati kisaran normal diduga berkaitan karena pemberian ekstrak kayu kasar siwak. Menurut Syawal, *et al.*, (2008) bahwa ekstrak kayu siwak mempunyai hubungan yang erat terhadap perubahan rata-rata leukosit. El-Mostehy *et al.*, (1998) menambahkan bahwa tanaman siwak mengandung zat-zat antibakteri yang dipengaruhi oleh keragaman kandungan kimiawi yang dapat ditemukan

pada ekstraknya seperti flavanoid. Wahyuningrum, *et al.*,(2008) mengatakan bahwa flavanoid memiliki aktivitas antiradang dan antibakteri sehingga dapat menghambat darah yang keluar dari pembuluh darah dan menghambat aktivitas bakteri dalam memproduksi toksin.

#### 4.1.3 Total Hemoglobin (Hb)

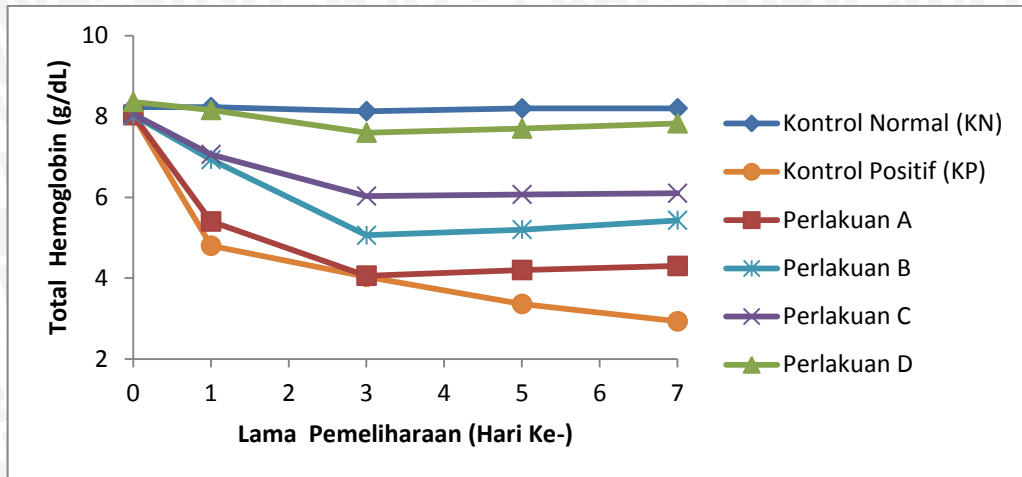
Hemoglobin (Hb) darah berkaitan erat dengan eritrosit (Matofani *et al.*, 2013). Berdasarkan pengamatan selama penelitian, didapatkan total rata-rata hemoglobin (Hb) ikan nila (*O. niloticus* L.) seperti pada Gambar 17.



Gambar 17. Total Rata-Rata Hemoglobin (Hb) Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Selama Penelitian

Gambar 17 menunjukkan bahwa kisaran rata-rata total hemoglobin pada perlakuan A (5,20 g/dL), perlakuan B (6,13 g/dL), Perlakuan C (g/dL), dan perlakuan D mendapatkan rata-rata total hemoglobin tertinggi (7,93 g/dL). Kisaran tersebut berada dalam kisaran normal. Penelitian Salasia *et al.*,(2001) bahwa pemeriksaan terhadap nila yang telah dipastikan sehat mendapatkan kadar hemoglobin sebesar 5,05-8,33 g/dL. Bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, diketahui bahwa kontrol positif (KP) menghasilkan kisaran rata-rata total hemoglobin paling rendah (4,60 g/dL) sedangkan kontrol normal (KN) menghasilkan kisaran yang berada dalam kisaran normal (8,20 g/dL). Untuk mengetahui total rata-rata hemoglobin harian, dapat dilihat pada Gambar 18.





Gambar 18. Total Rata-Rata Hemoglobin (Hb) Harian Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian

Gambar 18 menunjukkan total rata-rata hemoglobin ikan nila harian mengalami fluktuasi naik dan turun. Perlakuan A, B, C dan D, kisaran hemoglobin pada 24 jam pasca penginfeksi bakteri *A. hydrophila* (H-0) relatif stabil. Pada hari pertama (H-1) dan ketiga (H-3) setelah pengobatan menggunakan ekstrak kasar kayu siwak, kisaran hemoglobin mengalami penurunan dan kembali meningkat pada hari kelima (H-5) dan ketujuh (H-7) meskipun kisaran yang dihasilkan lebih rendah. Pada kontrol positif (KP), kisaran hemoglobin terus mengalami penurunan hingga hari ketujuh penelitian.

Terjadinya penurunan kadar hemoglobin (Hb) berkaitan erat dengan turunnya nilai eritrosit ikan nila (Matofani, *et al.*, 2013). Hal ini disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila*. Haditomo (2011) menyatakan bahwa hal ini disebabkan terjadinya kerusakan organ tubuh dan organ penghasil darah menyebabkan terjadinya penurunan eritrosit akibat serangan bakteri *A. hydrophila*.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak terhadap total hemoglobin (Hb) ikan nila maka dilakukan uji sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 5 berikut.

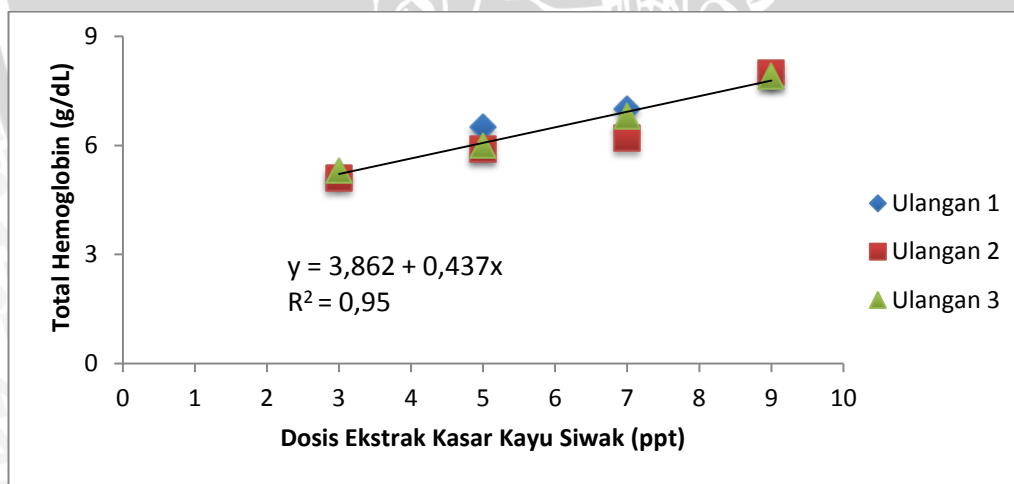
Tabel 5. Uji Sidik Ragam Total Hemoglobin Ikan Nila

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	11,717	3,906	53,870**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,580	0,072			
3. Total	11	12,297				

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 5) diatas, menyatakan bahwa F hitung lebih besar dibandingkan F5% dan F1% ( $F_{hit} : 53,870 > F_{5\%} : 4,07 > F_{1\%} : 7,59$ ) sehingga pemberian ekstrak kasar kayu siwak berpengaruh terhadap total hemoglobin (Hb) ikan uji. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan sehingga dilanjutkan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Adapun perhitungan Uji Beda Nyata (BNT) dapat dilihat pada Lampiran 6.

Untuk mengetahui pola hubungan (regresi) antara dosis perlakuan (x) dengan total hemoglobin (Hb) ikan uji, maka perlu dilanjutkan uji *polinomial orthogonal* (Lampiran 6). Berdasarkan hasil uji sidik ragam regresi, didapatkan regresi linier berbeda sangat nyata, sehingga regresi yang sesuai untuk kurva respons adalah regresi linier seperti pada Gambar 19.



Gambar 19. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Hemoglobin Ikan Nila

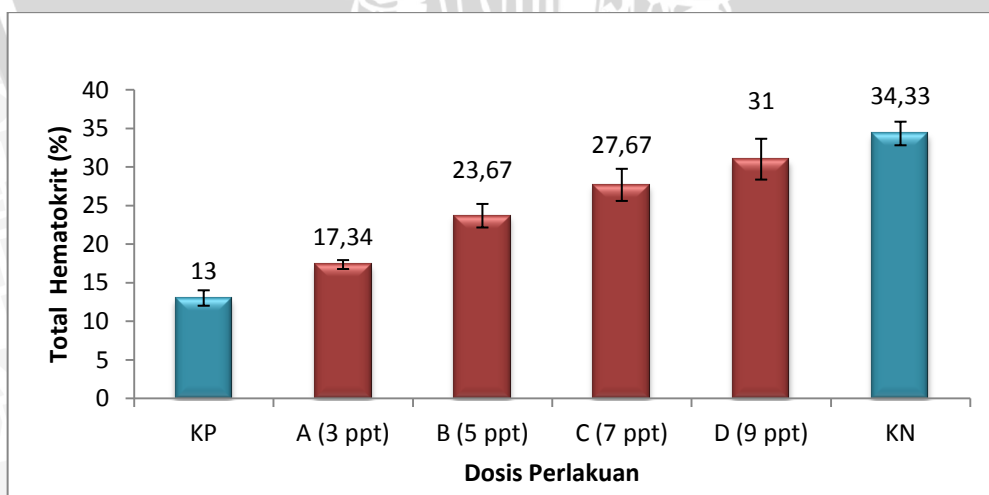
Hubungan antara pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap total hemoglobin ikan nila menunjukkan persamaan linier  $y = 3,862 + 0,437x$  dan koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,95

(Lampiran 6). Diketahui bahwa total hemoglobin (Hb) terendah pada perlakuan A (3 ppt) dan total hemoglobin tertinggi pada perlakuan D (9 ppt), sehingga diketahui bahwa pemberian ekstrak kasar kayu siwak dengan dosis yang berbeda mempunyai hubungan erat terhadap total hemoglobin ikan nila. Dapat disimpulkan bahwa dosis maksimal yang dapat meningkatkan total hemoglobin ikan uji pada penelitian ini adalah 9 ppt.

Terjadinya peningkatan total hemoglobin (Hb) hingga mendekati kisaran normal diduga akibat pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak sebagai pengobatan. Penelitian Malik, *et al.*, (1987) bahwa studi farmokologi mengindikasikan bahwa *S. persica* mengandung antibakteri salah satunya adalah alkaloid. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1991).

#### 4.1.4 Total Hematokrit (PCV)

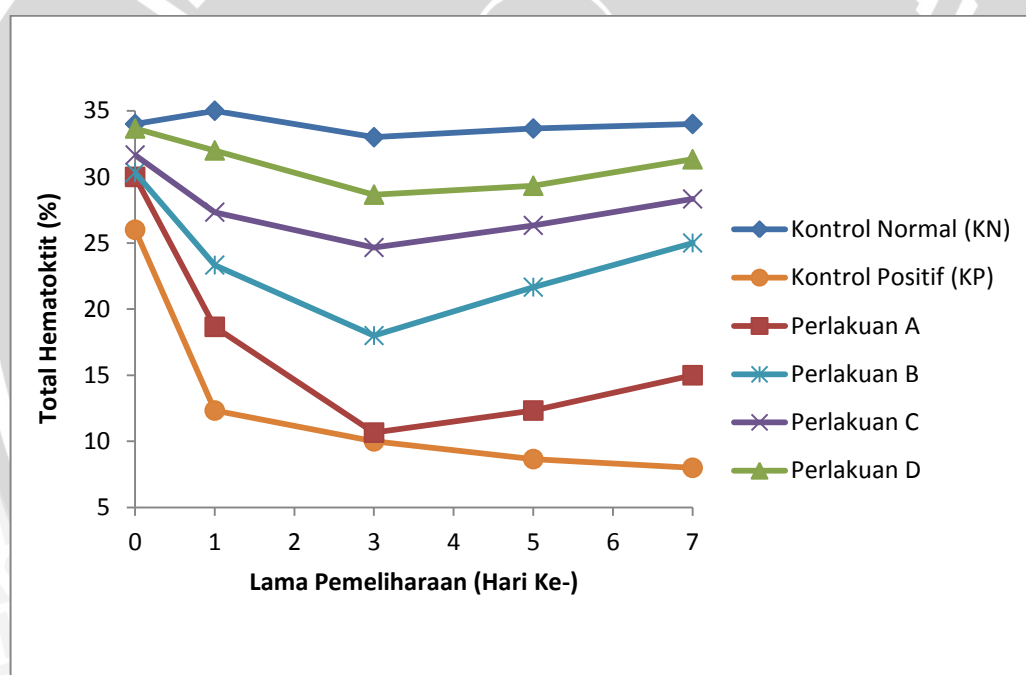
Berdasarkan pengamatan selama penelitian, didapatkan total rata-rata hematokrit ikan nila seperti Gambar 20.



Gambar 20. Total Rata-Rata Hematokrit (%) Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Selama Penelitian



Berdasarkan Gambar 20, diketahui bahwa kisaran total rata-rata hematokrit pada perlakuan A (17,34%), perlakuan B (23,67%), Perlakuan C (27,67%) dan perlakuan D mendapatkan total rata-rata hematokrit tertinggi (31,00%). Kisaran tersebut berada dalam kisaran normal. Hastuti dan Subandiono (2010) menyatakan bahwa hematokrit pada ikan nila sehat berkisar antara 27,3-37,8%. Bila dibandingkan dengan perlakuan kontrol, diketahui bahwa kontrol positif (KP) menghasilkan kisaran rata-rata total hematokrit paling rendah (13,00%) sedangkan kontrol normal (KN) menghasilkan kisaran yang berada dalam kisaran normal (34,34%). Untuk mengetahui total hematokrit harian ikan nila dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Total Rata-Rata Hematokrit (%) Harian Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Tiap Perlakuan Selama Penelitian

Gambar 21 menunjukkan total rata-rata hematokrit ikan nila harian mengalami fluktuasi naik dan turun. Perlakuan A, B, C dan D, kisaran hematokrit pada 24 jam pasca penginfeksi bakteri *A. hydrophila* (H-0) relatif stabil. Pada hari pertama (H-1) dan hari ketiga (H-3) setelah pengobatan menggunakan ekstrak kasar kayu siwak, kisaran hematokrit mengalami meningkat pada hari

kelima (H-5) dan ketujuh (H-7) meskipun kisaran yang dihasilkan lebih rendah. Sedangkan pada kontrol positif (KP), kisaran eritrosit terus mengalami penurunan hingga hari ketujuh penelitian.

Terjadinya penurunan total hematokrit terjadi akibat penurunan jumlah eritrosit (Duncan, *et al.*, 1994 dalam Salasia, *et al.*, 2001). Wedemeyer dan Yasutake (1997) dalam Kamaludin (2011) menyatakan bahwa menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai ikan yang mendapatkan infeksi.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak terhadap total hematokrit ikan nila maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam

Tabel 6.

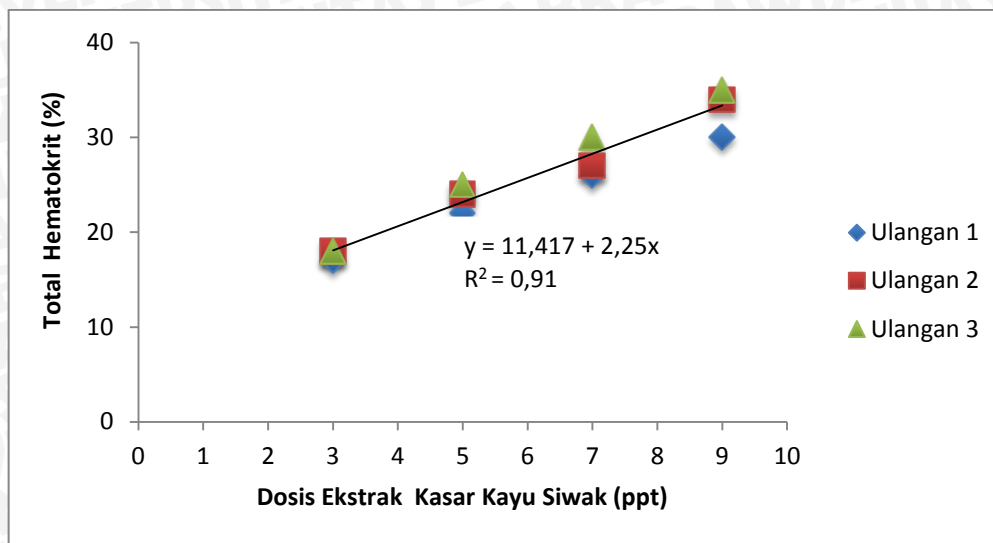
Tabel 6. Uji Sidik Ragam Total Hematokrit (%) Ikan Nila

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	310,917	103,639	29,611**	4,07	7,59
2. Acak	8	28,00	3,500			
3. Total	11	338,917				

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil uji sidik ragam (Tabel 6) diatas, diketahui bahwa  $F_{hit}$  lebih besar dibandingkan  $F_{5\%}$  dan  $F_{1\%}$  ( $F_{hit} : 29,611 > F_{5\%} : 4,07 > F_{1\%} : 7,59$ ) sehingga pemberian ekstrak kasar kayu siwak berpengaruh terhadap total hematokrit ikan nila. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan sehingga dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Lampiran 6.

Untuk mengetahui pola hubungan (regresi) antara dosis perlakuan (x) dengan total hematokrit ikan uji (y) maka perlu dilanjutkan uji *polinomial orthogonal*. Berdasarkan hasil uji sidik ragam regresi, diketahui bahwa regresi linier berpengaruh sangat nyata sehingga regresi yang sesuai untuk kurva respons yang sesuai adalah regresi linier seperti pada Gambar 22.



Gambar 22. Hubungan Pemberian Ekstrak Kasar Kayu Siwak Terhadap Total Hematokrit Ikan Nila

Hubungan antara pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap kadar hematokrit ikan nila menunjukkan persamaan linier  $y = 11,417 + 2,25x$  dan koefisien korelasi ( $R^2$ ) sebesar 0,91 (Lampiran 6). Diketahui bahwa total hematokrit terendah terdapat pada perlakuan A (3 ppt) sedangkan kadar hematokrit tertinggi pada perlakuan D (9 ppt) sehingga dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak kasar kayu siwak dengan dosis berbeda mempunyai hubungan erat terhadap perubahan nilai hematokrit ikan uji. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka tinggi pula kadar hematokrit yang dihasilkan. Dapat disimpulkan bahwa dosis maksimal yang dapat meningkatkan kadar hematokrit ikan uji yaitu dosis 9 ppt.

Adanya peningkatan total hematokrit ikan uji pada tiap perlakuan hingga mendekati kisaran normal diduga berkaitan dengan adanya pengobatan menggunakan ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L.). Menurut Abdillahi *et al.*, (2010) bahwa ekstrak kayu siwak mengandung antimikroba yang efektif dalam membunuh beberapa pertumbuhan bakteri salah satunya adalah tanin. Tanin bekerja mengikat protein yang kaya prolin dan mengganggu sintesis protein bakteri (Shimada, 2006).



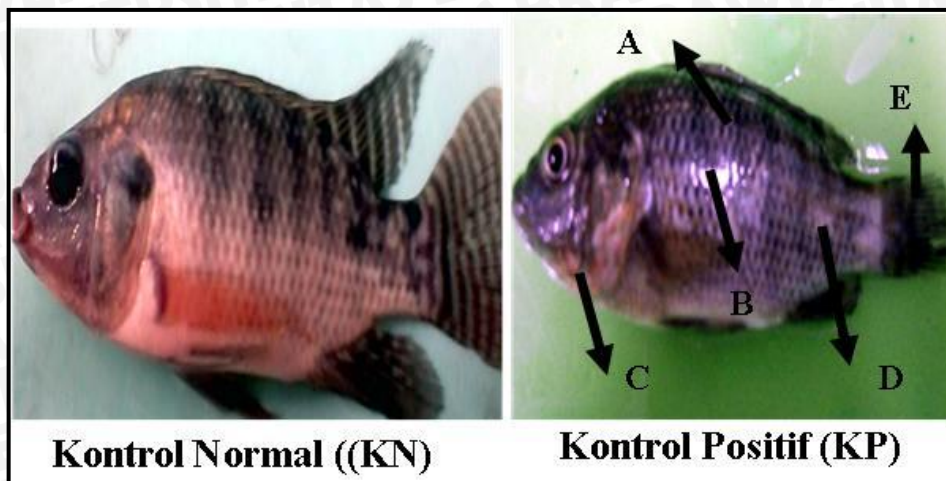
#### 4.2 Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

Pengamatan gejala klinis ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* meliputi kerusakan tubuh ikan dan tingkah laku ikan nila. Pengamatan dimulai sejak 24 jam setelah ikan uji diinfeksi bakteri hingga pada akhir penelitian selama 7 hari. Adapun gejala klinis ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 7 berikut.

Tabel 7. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Nila Setelah Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* Selama Penelitian

Pengamatan (Jam)	Gejala Klinis
24	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tingkah laku abnormal seperti pergerakan ikan cenderung lambat dan menyendiri dibawah, respon makan menurun</li> <li>• Warna tubuh ikan gelap</li> </ul>
48	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Terjadi busung perut yang ditandai dengan membengkaknya perut oleh cairan (<i>dropsy</i>)</li> <li>• Pada daerah bekas suntikan terjadi luka (<i>ulcer</i>)</li> <li>• Sisik mengering, kasar dan melepuh</li> <li>• Sirip geripis</li> </ul>
72	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sirip rusak</li> <li>• pendarahan pada beberapa titik (<i>hemoragi</i>)</li> </ul>

Tabel 7 menunjukkan gejala klinis pada ikan nila (*O. niloticus* L.) muncul pada 24 jam pertama, yang ditandai dengan perubahan tingkah laku ikan menjadi abnormal dan warna tubuh ikan menjadi gelap. Pada 48 jam berikutnya, hewan uji memperlihatkan perubahan berupa terjadi busung perut yang ditandai dengan membengkaknya perut oleh cairan (*dropsy*), pada daerah bekas suntikan terjadi luka (*ulcer*), sisik mengering, kasar dan melepuh serta sirip geripis. Pengamatan pada 72 jam berikutnya, terlihat keseluruhan sirip rusak, pendarahan pada beberapa titik (*hemoragi*), luka (*ulcer*) terus melebar. Untuk dapat melihat secara jelas gejala klinis ikan nila pada perlakuan kontrol normal (KN) dan kontrol positif (KP) dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Gejala Klinis Ikan Kontrol Pada Akhir Penelitian ; Ikan Kontrol Normal (KN), tidak ditemukan gejala klinis, Ikan Kontrol Positif (KP); (A) Tubuh Gelap, (B) Tubuh Menggelembung (Dropsy), (C) Pendarahan di Sekitar Insang (D), Sisik Melepuh, (E) Sirip Rusak

Sedangkan gejala klinis pada ikan nila dengan perlakuan A, B, C, dan D dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Gejala Klinis Ikan Nila Perlakuan A,B,C,D Di Akhir Penelitian; (A) mata menonjol (B) Sirip Geripis, (C/F) Luka Akibat Suntikan, (D) Perut Menggelembung (*dropsy*) (E) Haemoragi (Luka)

Gambar 23 dan Gambar 24 memperlihatkan ikan uji pada perlakuan A (3 ppt) mengalami gejala klinis yang hampir sama seperti perlakuan kontrol positif (KP). hal ini diduga bahwa dosis pada perlakuan A belum berpengaruh dalam mengobati ikan uji yang terinfeksi bakteri, sedangkan perlakuan B (5 ppt), C (7



ppt) dan D (9 ppt), gejala klinis ikan uji jarang dan hampir tidak ada. Ikan uji pada perlakuan B, C dan D mengalami sedikit sekali kelainan gejala klinis. Diduga hal ini disebabkan adanya pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak (*S. persica* L) yang mampu menekan aktivitas bakteri *A. hydrophila* sehingga daya penginfeksiannya menurun sehingga kondisi ini dapat mempercepat proses pemulihan pada bagian tubuh yang mengalami kelainan klinis sehingga terjadi penyembuhan luka.

Menurut Sanogo, *et al.*, (1999) menegaskan bahwa *S.persica* L. memiliki aktivitas anti inflamasi (peradangan) dan anti *ulcer* (luka). Aktivitas ini bekerja pada permukaan sel epitel dengan memproduksi kolagen. Selain itu menurut Ahmad dan Rajagopal (2013), banyak sekali kandungan bioaktif pada siwak, salah satunya kandungan vitamin C yang membantu dalam penyembuhan dan perbaikan jaringan yang rusak.

Terjadinya kerusakan pada permukaan tubuh ikan nila menurut Kamaludin (2011) diduga karena enzim-enzim ekotoksin dari *A. hydrophila* seperti protease dan elastase diduga menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh yang terinfeksi, karena pada jaringan otot dan saluran pembuluh darah terdapat banyak kandungan protein. Ketika terjadi kerusakan pada pembuluh darah akibat eksotoksin, maka darah akan keluar dari pembuluh darah dan terjadilah *hemoragi* pada permukaan tubuh. Efek eksotoksin yang berkelanjutan akan menyebabkan semakin banyak sel-sel pada jaringan otot mati, sehingga akan nampak gejala klinis berupa nekrosis pada permukaan tubuh.



### 4.3 Pengamatan Kualitas Air

Pengukuran parameter air meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO) setiap pagi dan petang. Adapun kisaran nilai kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 8. Sedangkan data lengkapnya, dapat dilihat pada Lampiran 7.

Tabel 8. Hasil Pengukuran Kualitas Air Ikan Nila Selama Penelitian

Parameter yang Diamati	Kisaran Rata-Rata	Kisaran Optimal (Kordi dan Tancung, 2007)
Suhu (°C)	24,1-27	28-32
pH	6,29-8,44	6,5-9,00
Oksigen Terlarut (ppm)	5,80-6,99	5-7

Tabel 8 diatas menunjukkan bahwa kisaran suhu selama penelitian berkisar antara 24,1-26,9° C, kisaran nilai derajat keasaman (pH) berkisar antara 6,29-8,44 dan kisaran nilai oksigen terlarut (DO) berkisar antara 5,80-6,99 ppm. Kisaran nilai yang didapat masih berada dalam batas toleransi. Hal ini sesuai pendapat Kordi dan Tancung (2007) bahwa kisaran suhu yang optimal bagi kehidupan ikan adalah 28-32° C, pada pH 5 masih dapat ditolerir oleh ikan tapi pertumbuhan ikan akan terhambat namun ikan dapat mengalami pertumbuhan yang optimal pada pH 6,5-9,0 serta kandungan oksigen terlarut (DO) yang optimal yaitu antara 5-7 ppm.

Menurut Effendi (2003), Ikan dapat mengalami stres jika suhu diluar kisaran yang dapat ditoleransi oleh tubuh ikan. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan gangguan kesehatan jangka panjang, misalnya stres dan tubuh yang lemah dan tingkah laku abnormal (Tauhid *et al.*, 2010). Zonneveld *et al.*, (1991) menambahkan bahwa kebutuhan oksigen pada ikan digunakan untuk memenuhi kebutuhan lingkungan dan kebutuhan konsumtif ikan. Sedangkan pertumbuhan ikan akan optimal dengan pH berkisar antara 6,5-9,0.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak kasar kayu siwak terhadap hematologi ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak kasar kayu siwak melalui metode perendaman, berpengaruh nyata dapat menaikkan nilai total eritrosit, total hemoglobin dan total hematokrit dan menurunkan nilai total leukosit ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
2. Dosis ekstrak kasar kayu siwak yang optimal dalam mengobati ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* belum didapatkan karena hasilnya berupa regresi linier dengan dosis maksimal sebesar 9 ppt.

### 5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar kayu siwak terhadap ikan nila yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* untuk mendapatkan dosis optimal (terbaik).



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous<sup>a</sup>. 2013. Plant of *Salvadora persica* Linn. [www.Westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page\\_id=14&id=2446.html](http://www.Westafricanplants.senckenberg.de/root/index.php?page_id=14&id=2446.html). Diakses pada 23 Agustus 2014.
- Abdelrahman, H.F., M. Phil., N.Skaug., G.W. Francis and I.Fil. 2002. In Vitro Antimicrobial Effects of Crude Miswak Extracts on Oral Pathogens. *Saudi Dental Journal*. **14**(1): 26 - 32.
- Abdillahi, H.S., G.I.Stafford,. J.F. Finnie and J.V.Staden. 2010. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Podocarpus sensus latissimo* (S.I) South Afr. *Botanical Journal*. **76**(1): 1 - 24.
- Abdullah Y. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Infeksi Penyakit Mas (Motile Aeromonad Septicaemia) Ditinjau Dari Patologi makro Dan Hematologi Ikan Lele Dumbo (*Clarias* Sp.). Skripsi Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. IPB:Bogor.
- Afrianto, E. dan Liviawaty, 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta: 20 hlm.
- Ahmad, H and K. Rajagopal. 2013. Biological Activities of *Salvadora persica* L. (Meswak). *Med Aromat Plants*. **2** (4):129 – 134.
- Akhtar.J., K.M. Siddique and B.S.Mujeeb. 2011. A Review on Phytochemical and Pharmacological Investigations of Miswak (*Salvadora persica* Linn). *Journal Pharm Bioall Sci*. **3** (1): 113 – 117.
- Alali. F and T. Al-Lafi. 2003. GC-MS analysis and bioactivity testing of the volatile oil from the leaves of the toothbrush tree *Salvadora persica* L. *Nat Prod Res* **17**: 189 - 194.
- Alamanda, I.E., N.S. Handajani dan A. Budiharjo. 2007. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. **8** (1):34 - 38.
- Alifuddin, M.1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* dan Levamisol) pada Gambaran Respon Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Tesis. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Al-Lali, T. and H. Al-Lafi. 1995. The Effect of The Extract of The Miswak (*Chewing Sticks*) Used in Jordan and The Middle East on Oral Bacteria. *International Dentistry Journal*. **45**: 218-222.
- Almas, K. 2001. The Antimicrobial Effects Of Seven Different Types of Asian Chewing Sticks. *Odonto-Stomatologie Tropicale*. **13** : 221-224.



- Al-Sadhan, R and K. Almas.1999. Miswak (*Chewing Stick*): A Cultural And Scientific Heritage. *The Saudi Dental Journal*. **11**(2): 80 - 88.
- Bijanti, R. 2005. Hematologi Ikan: Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan. Bagian Ilmu Kedokteran Hewan Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. 131 hlm.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan di Perairan Umum. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 40 - 41 hlm.
- Capuccino, J.G and N. Sherman. 1992. Microbiology a Laboratory Mannual. The Benjamin or Cummings Publish. USA: 458 hlm.
- Chakravarthy, V.K., D.N. Chandra., B.S.Prasanna., T.J.M. Rao and D.R.Rao. 2012. Haemoglobin Estimation By Non-cyanide Methods. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. **6**(6): 955 - 958.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* And Motile Aeromonad Septicemias Of Fish. Fish Disease Leaflet. U.S. Geological Survey, Leetown Science Center, National Fish Health Research Laboratory. p.24.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya Dan Lingkungan Perairan. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 258 hlm.
- El-Mostehy, D.R. M.Ragail., A.A.Al-Jassem., I.A.Al-Yassin., A.R.El-Gindy and E. Shoukry. 2010. Siwak - An Oral Health Device (Preliminary Chemical And Clinical Evaluation). The Brunei Times. 29 Januari 2010.
- Fujaya, Y 2004. Fisiologi Ikan Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 95-109 hlm.
- Galindo, V. J. and Hosokawa. Immunostimulant: Towards Temporary Preenition Of Diseases In Marine Fish. *Memories del VII Internacional de Nutricion Acuicola*. pp. 279-319.
- Haditomo, A.H.C. 2011. Pemberian Probiotik Pada Media Budidaya Untuk Pengendalian *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Tesis. IPB, Bogor. 72 hlm.
- Hardi, E.H. 2011. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* Untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Disertasi. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. 182 hlm.
- Haryani, A., R. Grandiosa., I.D.Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). Jurnal Perikanan dan Kelautan.**3**(3).213-220.
- Hastuti, S. dan Subandiyono. 2011. Performa Hematologis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) dan Kualitas Air Media pada Sistim Budidaya dengan Penerapan Kolam Biofiltrasi. *J.Saintek Perikanan*.**6**(2). 5 hlm.

- Holmes, P., L.M. Niccolls and D.P. Sartory. 1996. The Ecology of Mesophilic in the Aquatic Environment. New York: Wiley.127-150 hlm.
- Homatowska, A., J. Wojtaszek and A. Adamowicz. 2002. Haematological Indices and Circulating Blood Picture in The Sunbleak, *Leucaspis delineatus* (Heckel, 1834). *Zoologica Poloniae*. **3-4** (47). p 57-68.
- Irianto, 2005. Patologi Ikan Teleostei. Universitas Gajahmada. Yogyakarta.256 hlm.
- Juliantina, R.F., D.A.Citra., B. Nirwani., T. Nurmasitoh dan E.T. Bowo. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper croatum*) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. **6**(2). 23-27 hlm.
- Kabata, Z., 1985. Parasiter and Disease of Fish Cultured in The Tropic. Taylor. In Francis Inc. 242.Chery St. Phidelfia. pp. 318.
- Kamaludin, I. 2011. Efektivitas ekstrak lidah buaya *Aloe vera* dalam pakan sebagai imunostimulan untuk mencegah infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* Sp. Skripsi. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. 67 hlm.
- Khairuman dan K. Amri. 2010. Budidaya Lele Dumbo secara Intensif. AgroMedia Pustaka.Jakarta. 152 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2010. Penanggulangan hama dan penyakit ikan. PT. Rineka Cipta dan Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hal.
- Kordi, M dan M. Ghufron. 2010. Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta. 17 hlm.
- Kordi, M.G.H. dan A.B. Tancung. 2007. Pengelolaan Kualitas Air. PT Rineka Cipta, Jakarta. 208 hlm.
- Krzyminska.S., J.Mokracka., R.Koczura., A. Cwiertnia and A.Kaznowski. 2012. *Aeromonas* spp. Mediated cell-contact cytotoxicity is associated with the presence of type III secretion system. *Antonie van Leeuwenhoek*.**101**:243-251.
- Kusumasari, N. 2012. Pengaruh Larutan Kumur Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap pH Saliva. Laporan Akhir Hasil Penelitian. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. 97 hlm.
- Lagler.K.F., E.B.John., Robert R.M., and R.M.P Dora. 1977. Ichtyologi. John Willwy and Sons. United States of America. p 32-38.
- Lakshmanaperumalsamy., P. Tha., Thayumanavan and R.Subashkumar. 2004. *Aeromonas hydrophila* : A Re-emerging Pathogen. *Marine Microbiology, Facets and Opportunities*. National Institute Of Goa Oceanography. Dona – Paula, Goa India.115-120.



- Laili. U. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcumaxanthorrhiza Roxb*) Terhadap Prevalensi Dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophyla*. Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang. 84 hlm.
- Lukistyowati, A., Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) Yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Perikanan dan Kelautan. **16**(1):144-160.
- Maharani, D. 2009. Potensi Jeruk Nipis *Citrus aurantifolia* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. . Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 68 hlm.
- Malik S., S.S. Ahmad., S.I. Haidar and A.Muzaffar. 1987. Salvadoricine. A new alkaloid from the leaves of *Salvadora persica*. Tetrahedron Lett. **28**: 163-164.
- Mandau, Z. dan Sudarty. 2011. Buku Terlengkap Pembenuhan Ikan Mas yang Efektif dan Efisien. Pustaka Mina. Jakarta. 63 hlm.
- Mangunwardoyo, W. R dan E. Ismayasari. 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanes Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *J. Ris.Akuakultur*. **5**:245-255.
- Maswan, N.A. 2009. Pengujian Efektivitas Dosis Vaksin DNA dan Korelasinya Terhadap Parameter Hematologi Secara Kuantitatif. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 70 hlm.
- Matofani, A.S., Hastuti,S., Basuki, F. 2013. Profil Darah Ikan Nila Kunti (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinjeksi *Streptococcus agalactiae* Dengan Kepadatan Berbeda. *Journal Of Aquaculture Management and Technology*.**2**(2); 64-72.
- Mirkamandar, E., M.Reza., Shakibaie., S. Adeli., M.M.Hayatbakhsh and S.Esmailian. 2012. In Vitro Antimicrobial Activity Of *Salvadora persica* Extract On *Helicobacter pylori* Strains Isolated From Duodenal Ulcer Biopsies. *Microbiology Research*.**3**(9).p 38-40.
- Mohammed, G.S. 2013. Comparative Study Of In Vitro Antibacterial Activity Of Miswak Extracts And Different Toothpastes. *American Journal Of Agriculturak and Biological Sciences*. **8**(1):p 82-88.
- Mones, A.R. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* linn) Strain Majalaya yang Berasal dari daerah Ciampea Bogor. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 35 hlm.
- Moyle, P.B and JJ. Cech 2004. *Fishes. An Introduction to Ichthyology*. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc.
- Mulia, D.S dan A.Husin. 2012. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Dalam Menanggulangi Ikan Patin Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Universitas Muhamadiyah Purwokerto (UMP)*. **9**(2) : 22-33.



- Nikolov, B. Dan Doichinova D.B. 2010. Parameters Of The Red Blood Cell Count In Three Species Of Carp Fishes. *Bulgarian Journal Of Agricultural Science*. **16**(3).307-310.
- Pratama, M.R. 2005. Pengaruh Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar.Skripsi. Surabaya: FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh November. 29 hlm.
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA UNS: Surakarta.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah Dengan Konsentrasi Berbeda Untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *J. Aquasains*. **1**(1):1-8.
- Rakocy, J. E. 2005. Cultured Aquatic Species Information Programme. *Oreochromis niloticus*. FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. Diakses pada 7 September 2013.
- Robinson, T.1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. ITB. Bandung. 132-136.
- Rukmana, H.R. 1997. Ikan Nila Budidaya dan Prospek Agribisnis. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 92 hlm.
- Rustikawati, I. 2012. Efektivitas Ekstrak Sargassum sp. Terhadap Differensial Leukosit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi *Streptococcus iniae*.*Jurnal Akuatika*.**3**(2): 125-134.
- Salasia, S.I.O., D. Sulanjari dan A. Ratnawati. 2001. Studi Hematologi Ikan Air Tawar. *Biologi*. **2**(12): 710-723.
- Sanogo R, M.T Monforte., A. Daquino., A. Rossitto., D.D.Maur and E.M.Galati.1999. Antiulcer activity of *Salvadora persica* L.: structural modifications. *Phytomedicine*. **6**(5): 363-366.
- Sastrosupadi. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius: Yogyakarta. 276 hlm.
- Sher H., M.N. Al-yemeni and L.Wijaya. 2011. Ethnobotanical and Antibacterial Potential of *Salvadora persica* L. : A Well Known Medicinal Plant in Arab and Unani System of Medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*. **5**(7): 1224-1229.
- Shimada. T. 2006. Salivary proteins as a defense against dietary tannins. *J Chem Ecol* **32**:1149–1163.
- Shome, R., and B.R. Shome, 1999. A. Typical chronic from of *Aeromonas hydrophilla* infection in indian major carp, *Calta calta*, from Andaman. *Curr. Sci.*, **76**: 1188 - 1190.

- Siregar, A.F., A.Sabdono dan D.Pringgenies. 2012. Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, dan *Micrococcus luteus*. *Journal Of Marine Research*. **1**(2). 152-160.
- Suciati, A., Wardiyanto dan Sumino. 2012. Efektifitas Ekstrak Daun *Rhizophora mucronata* Dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas salmonicida* Dan *Vibrio harveyi*. e - Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan. **1** (1). 1-8 hlm.
- Suhermanto, A, S. Andayani dan Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit dan Deferenensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Bumi Lestari*. **13**(2). 225-233.
- Sumeru.S.U dan S. Anna . 1992. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Penerbit Kanisius. Jakarta. 94 hlm.
- Suryabrata, S. Metodologi Penelitian. Penerbit Rajawali. Jakarta. 126 hlm.
- Suyanto, S.R. 2010. Budidaya Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L.). Penebar Swadaya. Jakarta. 105 hlm.
- Syawal H., Syafriadiman dan S. Hidayah. 2008. Pemberian Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica* L.) Untuk Meningkatkan Kekebalan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Dipelihara dalam Karamba. *Jurnal Biodiversitas*. **9**(1). 44 - 47.
- Tantu, W., Tumbol, R.A dan Longdong.S.N.J. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas sp.* pada Ikan Nila yang dibudidayakan di Karamba Jaring Apung Danau Tondano. *Jurnal Budidaya Perairan*. **1**(3):74-80.
- Taukhid, A., Sunarto., K. Isti., S. Hambali dan Gardenia. 2004. Strategi Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) Pada kan Mas dan Koi. Makalah Workshop Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus pada Budidaya Ikan Air Tawar. Bogor 28 September 2004.
- Tjitrosoepomo, G., 1998. Taksonomi Tumbuhan I. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Trewavas, E., 1983. Tilapiine Fishes Of The Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. *British Mus. Nat. Hist.*, London, UK. p. 583.
- Volk, W. dan M. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hlm.
- Wahjuningrum, D., N. Asrhry dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon hypophtalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7**(1). 79-94.
- Walker J.C.F. 2006. Primary Wood Processing Principles and Practice. London : Springer. p. 555.



Wibawa, I.B.G.D. 2011. Pengaruh Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Malang. 10 hlm.

Yin, G.,L. Ardo.,Z. Jeney., P. Xu and G.Jeney,2008. Chinese Herbs (*Lonicera japonica* and *Ganoderma lucidum*) Enhance Non-Specific Immune Response of Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Protection Against *Aeromonas hydrophila*. *J.Diseases in Aquaculture*.**6**. 269-282.

Zonneveld, N., E.A Huisman, dan J. H. Bond. 1991. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 318 hlm.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian a) Alat yang Digunakan dalam Penelitian



*Autoclave*



*Mikroskop*



*Hot Plate*



*Haemofuge*



*Aerator*



*Handtally Counter*



*Tube*



*Haemometer*



*Pipet Thoma dan  
Haemocytometer*



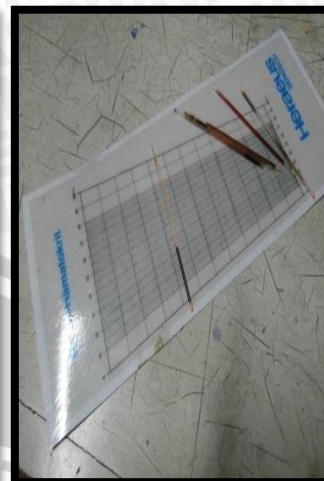
Lampiran 1 (lanjutan)



Akuarium



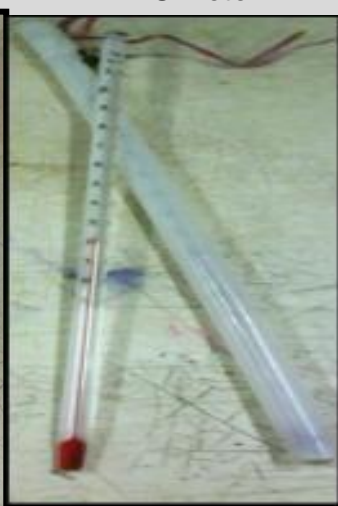
DO Meter



Tabel Mikrohematokrit



Sput



Termometer



Baskom



Pipet Tetes



Selang Aerator



Pipa Kapiler

Lampiran 1 (lanjutan)  
 b. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian



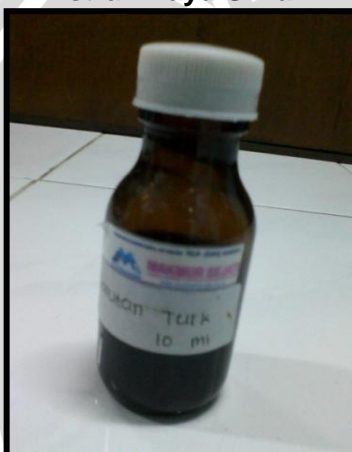
Ekstrak Kayu Siwak



Biakan A.hydrophilla



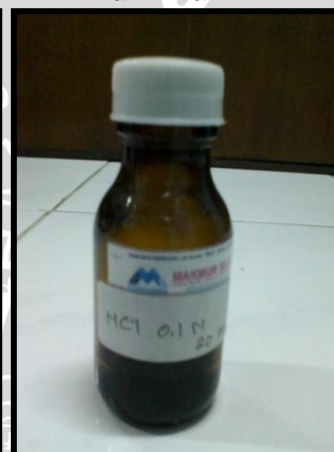
Ikan Nila



Turk



Hayem



HCL 0,1N



Kayu Siwak



Akuades



Na Sitrat, 3,8%



Lampiran 1 (lanjutan)



Media NB



Pakan Pelet



Alkohol 70%



Lampiran 2. Proses Pembuatan Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*S. persica* L.)



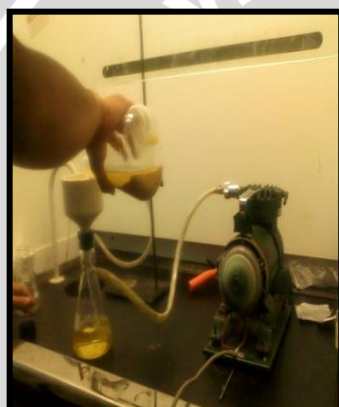
a. Disiapkan Kayu Siwak Kering



b. Dihaluskan menjadi serbuk



c. Direndam dengan pelarut metanol 96% selama 24 jam



d. Disaring menggunakan *vacuum pump*



e. Di rotary dengan suhu 50° C hingga pelarut tak bersisa



f. Ekstrak kayu siwak pekat berwarna coklat tua





### Lampiran 3. Penentuan Jumlah Ekstrak Kasar Kayu Siwak (*S. persica* L.)

Berdasarkan penelitian pendahuluan (PP), disarankan menggunakan dosis 3 ppt, 5 ppt, 7 ppt dan 9 ppt dengan metode perendaman dilakukan pada baskom berisi air dengan volume 3 liter, sehingga didapatkan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{ppt} = \text{gram/L}$$

sehingga dibutuhkan jumlah ekstrak kasar kayu siwak sebanyak :

- Ekstrak kayu siwak dengan dosis 3 ppt atau 3 gr/l, sehingga yang dibutuhkan untuk setiap perlakuan sebesar 9 gr.
- Ekstrak kayu siwak dengan dosis 5 ppt atau 5 gr/l, sehingga yang dibutuhkan untuk setiap perlakuan sebesar 15 gr.
- Ekstrak kayu siwak dengan dosis 7 ppt atau 7 gr/l, sehingga yang dibutuhkan untuk setiap perlakuan sebesar 21 gr.
- Ekstrak kayu siwak dengan dosis 9 ppt atau 9 gr/l, sehingga yang dibutuhkan untuk setiap perlakuan sebesar 27 gr.

Sehingga total ekstrak kayu siwak (*S. persica* L.) yang dibutuhkan sebanyak 72 gram.

#### Lampiran 4. Perhitungan Konsentrasi Bakteri *A. hydrophila*

Hasil uji LC<sub>50</sub> didapatkan bakteri dengan kepadatan 10<sup>7</sup> sel/ml memiliki tingkat kematian 50% dalam waktu 48 jam sehingga kepadatan tersebut digunakan sebagai acuan dalam penelitian *in vivo*. Stok bakteri yang dimiliki sebesar 2,7 x 10<sup>9</sup> sel/ml. Penginfeksi ikan nila (*O. niloticus* L.) menggunakan bak dengan volume air 20 liter, sehingga rumus perhitungan bakteri adalah sebagai berikut:

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

Dimana :

N<sub>1</sub> : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N<sub>2</sub> : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V<sub>1</sub> : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V<sub>2</sub> : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

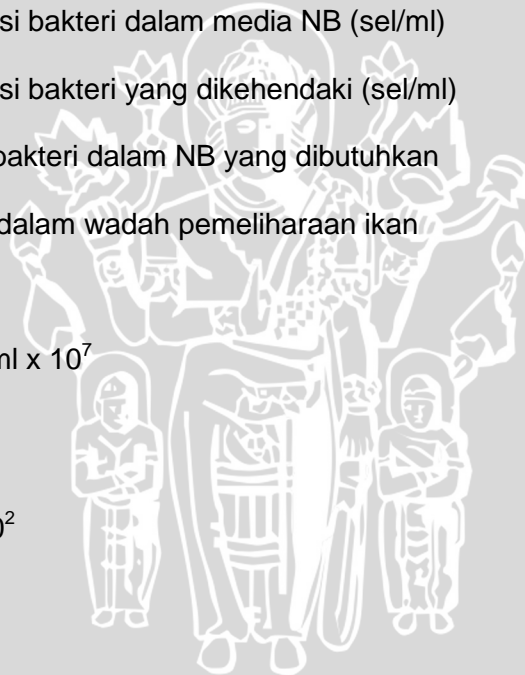
Sehingga,

$$V_1 \times 2,7 \times 10^9 = 20000 \text{ ml} \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{2 \times 10^{11}}{2,7 \times 10^9}$$

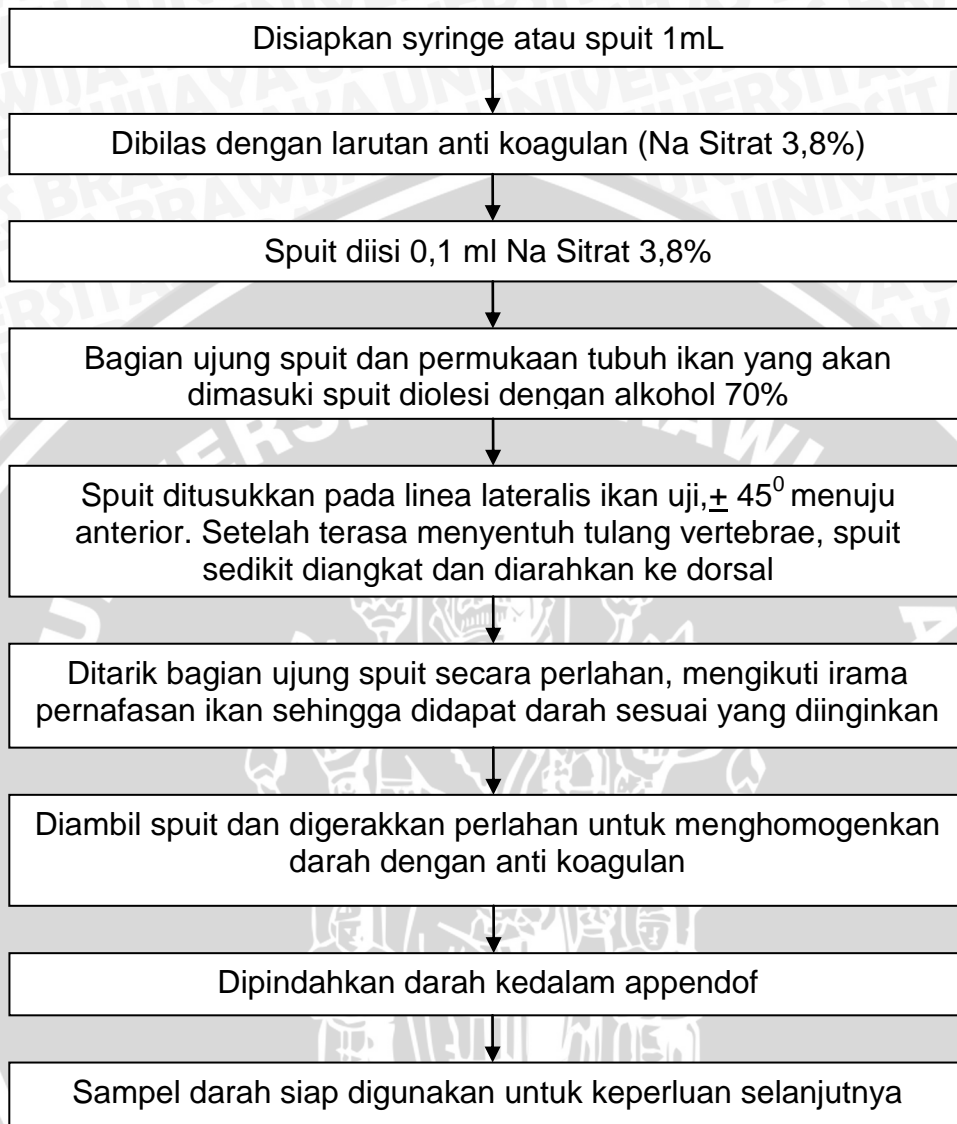
$$= 0,74 \times 10^2$$

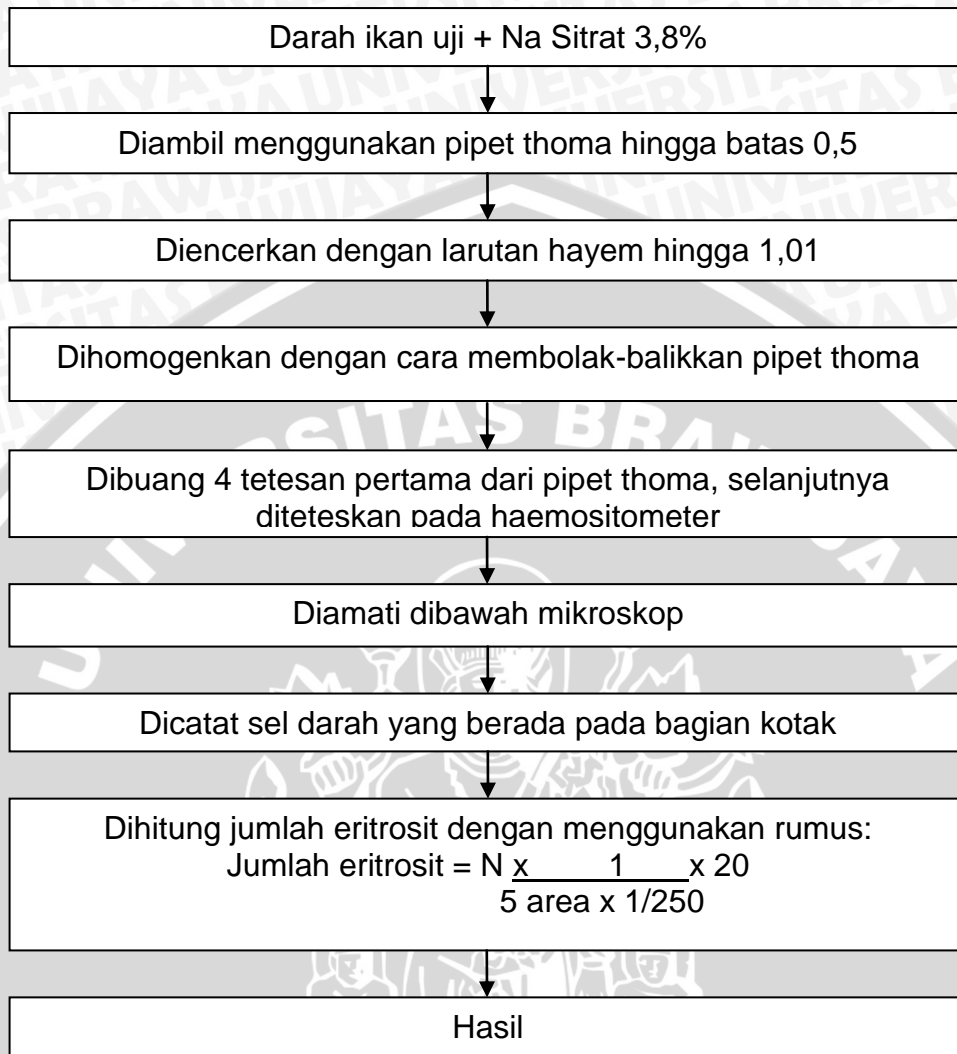
$$= 74 \text{ ml}$$



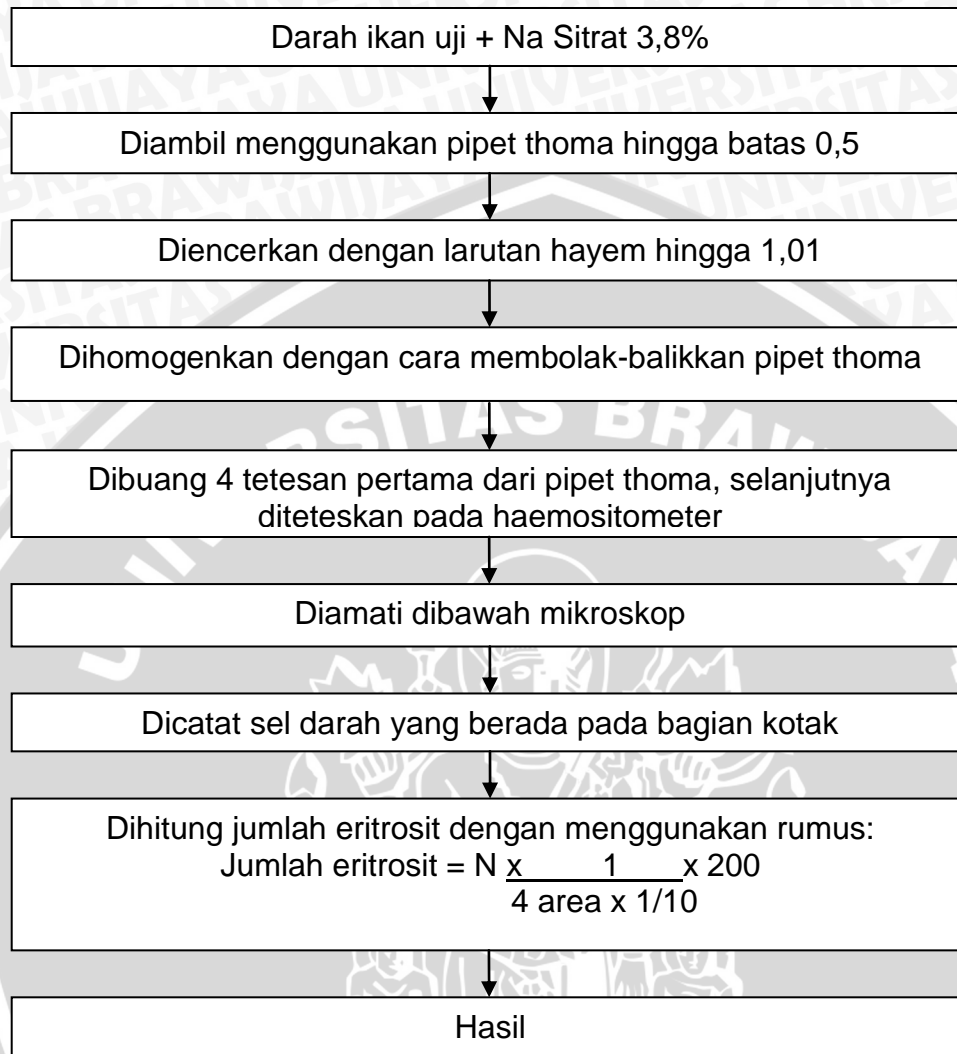


Lampiran 5. Skema Kerja Pengamatan Hematologi Ikan Nila  
a. Pengambilan Darah



**b. Eritrosit (lanjutan)**



**c. Leukosit (lanjutan)**

**d. Hemoglobin (Hb) (lanjutan)**

Diambil HCL 0,1 N dan dimasukkan ke dalam tabung sahli hingga skala 10

Diambil sampel darah ikan uji dengan menggunakan pipet sahli hingga 20

Dimasukkan kedalam tabung sahli

Dihomogenkan dan kemudian didiamkan selama 10 menit

Disamakan dengan warna larutan

Hasil

**e. Kadar Hematokrit (PCV)**

Darah ikan+Na Sitrat 3,8%

Dimasukkan ke dalam pipa kapiler

Disentrifuse dengan kecepatan 12.000 rpm selama  $\pm$  3 menit

Dicocokkan dengan tabel mikrohematokrit

Hasil

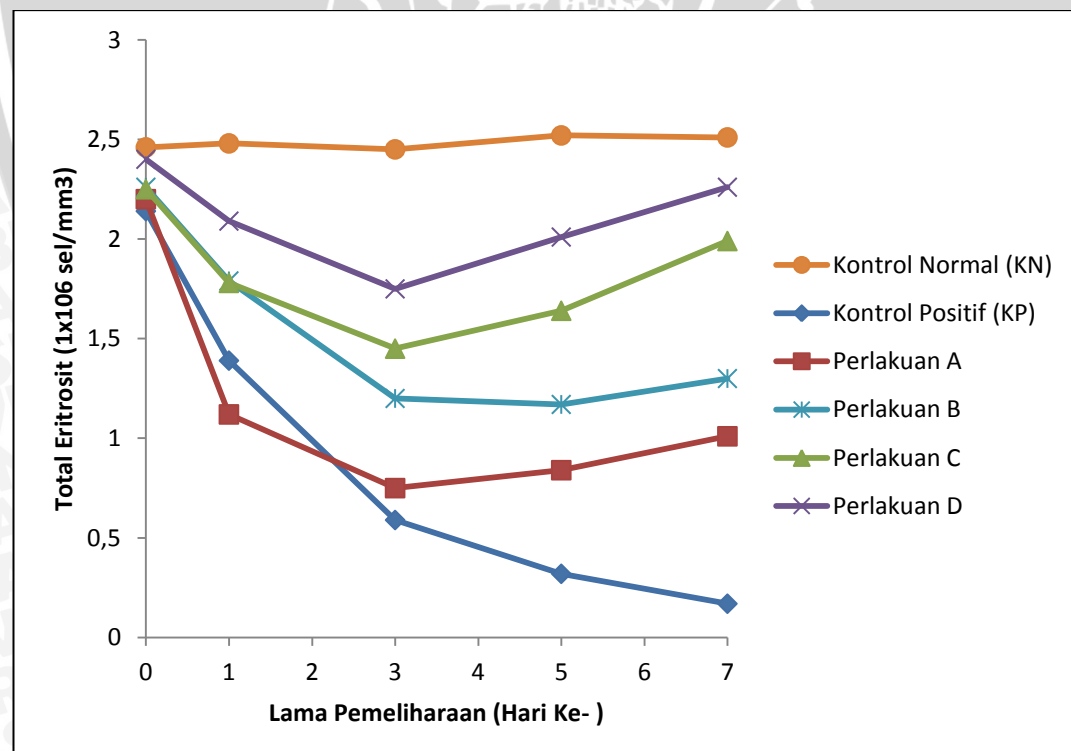


## Lampiran 6. Analisa Perhitungan Hematologi Ikan Nila

### ➤ Total Rata-Rata Eritrosit ( $1 \times 10^6$ sel/mm<sup>3</sup>)

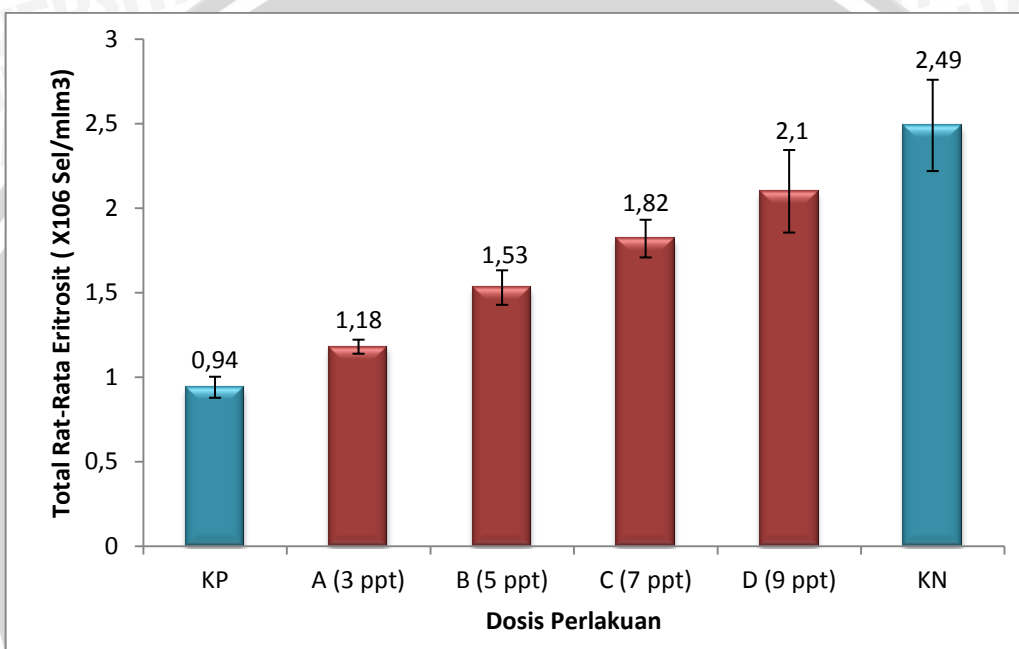
#### 1. Total Eritrosit Harian Setelah Perlakuan Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari Ke-				
		0	1	3	5	7
A	1	2,18	1,19	0,75	0,78	0,98
	2	2,16	1,14	0,68	0,74	1,04
	3	2,28	1,05	0,84	1,00	1,02
B	1	2,38	2,00	1,32	1,03	1,21
	2	2,21	1,52	1,00	1,12	1,29
	3	2,19	1,86	1,28	1,36	1,4
C	1	2,33	1,76	1,40	1,52	1,91
	2	2,39	2,00	1,62	1,69	2,05
	3	2,05	1,59	1,35	1,71	2,02
D	1	2,18	1,67	1,58	1,87	2,16
	2	2,57	2,40	2,08	2,36	2,45
	3	2,47	2,21	1,59	1,82	2,18
KN	1	2,57	2,50	2,44	2,52	2,46
	2	2,23	2,15	2,18	2,21	2,29
	3	2,58	2,81	2,73	2,84	2,80
KP	1	2,09	1,41	0,81	0,37	0,33
	2	2,11	1,34	0,55	0,28	0,14
	3	2,23	1,42	0,41	0,31	0,26



2. Total Rata-rata Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus* L.) Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	1,15	1,17	1,23	3,55	1,18
B	1,42	1,58	1,61	4,61	1,53
C	1,74	1,78	1,95	5,47	1,82
D	1,89	2,05	2,37	6,31	2,10
<b>Total</b>				<b>19,94</b>	
KN	2,49	2,21	2,75	7,45	2,49
KP	0,96	0,88	0,92	2,77	0,94



➤ Perhitungan Uji Sidik Ragam:

- $FK = G^2/n = (19,94)^2 / (3 \times 4) = 33,13$
- $JK \text{ Total} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2) - FK$   
 $= (1,17)^2 + (1,15)^2 + (1,23)^2 + (1,58)^2 + (1,42)^2 + (1,61)^2 + (1,78)^2 + (1,95)^2 +$   
 $(1,74)^2 + (1,89)^2 + (2,37)^2 + (2,05)^2 - 33,133$   
 $= 1,566$
- $JK \text{ Perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - FK$   
 $= \frac{(3,55)^2 + (4,61)^2 + (5,47)^2 + (6,31)^2}{3} - 33,133$   
 $= \frac{103,591}{3} - 33,133 = 1,397$
- $JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} = 1,566 - 1,397 = 0,169$
- $KT \text{ Perlakuan} = (JK \text{ perlakuan}) / db \text{ perlakuan} = 1,397 / 3 = 0,465$



- **KT Acak** = (JK acak) / db acak = 0,169 / 8 = 0,021
- **F hitung** = KT perlakuan / KT acak = 0,465 / 0,021 = 22,17

**Tabel Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	1,397	0,465	22,17**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,169	0,021			
3. Total	11	1,566				

Keterangan : \*\*= sangat berbeda nyata

Karena nilai F hitung > F5% > F1% artinya berbeda sangat nyata. Maka untuk mengetahui pengaruh perbedaan antar perlakuan dilakukan uji BNT

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

$$SED = \left\{ \frac{\sqrt{2 \cdot KT \text{ Acak}}}{\pi} \right\} = \left\{ \frac{\sqrt{2 \cdot 0,021}}{3} \right\} = \sqrt{\frac{0,042}{3}} = \sqrt{0,014} = 0,118$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ Tabel } 5\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 2,306 \cdot 0,118 = 0,273$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ Tabel } 1\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 3,355 \cdot 0,118 = 0,395$$

**Tabel Uji BNT Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus* L.)**

Perlakuan	Rerata	1,183	1,536	1,823	2,103	Notasi
A	1,183	-	-	-	-	a
B	1,536	0,35*	-	-	-	b
C	1,823	0,64**	0,29*	-	-	c
D	2,103	0,92**	0,57**	0,28*	-	d

Keterangan: \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata

**Tabel Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Hasil Pengamatan (Ti)	Pembanding (Ci)		
		linier	kuadratik	kubik
A (3 ppt)	3,55	-3	1	-1
B (5 ppt)	4,61	-1	-1	3
C (7 ppt)	5,47	1	-1	-3
D (9 ppt)	6,31	3	1	1
Q=∑(Ci x Ti)		9,14	-0,22	0,18
Kr=(∑Ci <sup>2</sup> ) x r		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> / Kr		1,392	0,00403	0,0005
Total JK reg		1,396		

Tabel Sidik Ragam Regresi

SK	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
<b>Perlakuan</b>	3	1,396	-	-	-	-
- Linier	1	1,392	1,392	66,28**	5,32	11,3
- Kuadratik	1	0,004	0,004	0,190 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
- Kubik	1	0,0005	0,005	0,02 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
<b>Acak</b>	8	0,169	0,021	-	-	-
<b>Total</b>	11	-	-	-	-	-

Keterangan : \*\*=berbeda sangat nyata, ns= tidak berbeda nyata

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung nilai  $R^2$  sebagai berikut:

$$- R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK regresi Linier}}{\text{JK regresi Linier} + \text{JK acak}} = \frac{1,392}{1,392 + 0,169} = 0,891$$

$$- R = \sqrt{0,891} = 0,943$$

- Selanjutnya dicari persamaan regresi linier ( $y=b_0+b_1x$ ) sebagai berikut:

Perlakuan	x	y	xy	x <sup>2</sup>
A	3	1,17	3,51	9
	3	1,15	3,45	9
	3	1,23	3,69	9
B	5	1,58	7,90	25
	5	1,42	7,10	25
	5	1,61	8,05	25
C	7	1,78	12,46	49
	7	1,95	13,65	49
	7	1,74	12,18	49
D	9	1,89	17,01	81
	9	2,37	21,33	81
	9	2,05	18,45	81
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>19,94</b>	<b>128,78</b>	<b>492</b>
<b>Rerata</b>	<b>6</b>	<b>1,67</b>		

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{128,78 - \frac{72 \cdot 19,94}{12}}{492 - \frac{(72)^2}{12}}$$

$$= 9,14/60 = 0,152$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x} = 1,67 - (152 \cdot 6) = 0,748$$

Didapatkan Persamaan  $y=b_0+b_1x$  adalah  $y=0,748 + 0,152x$

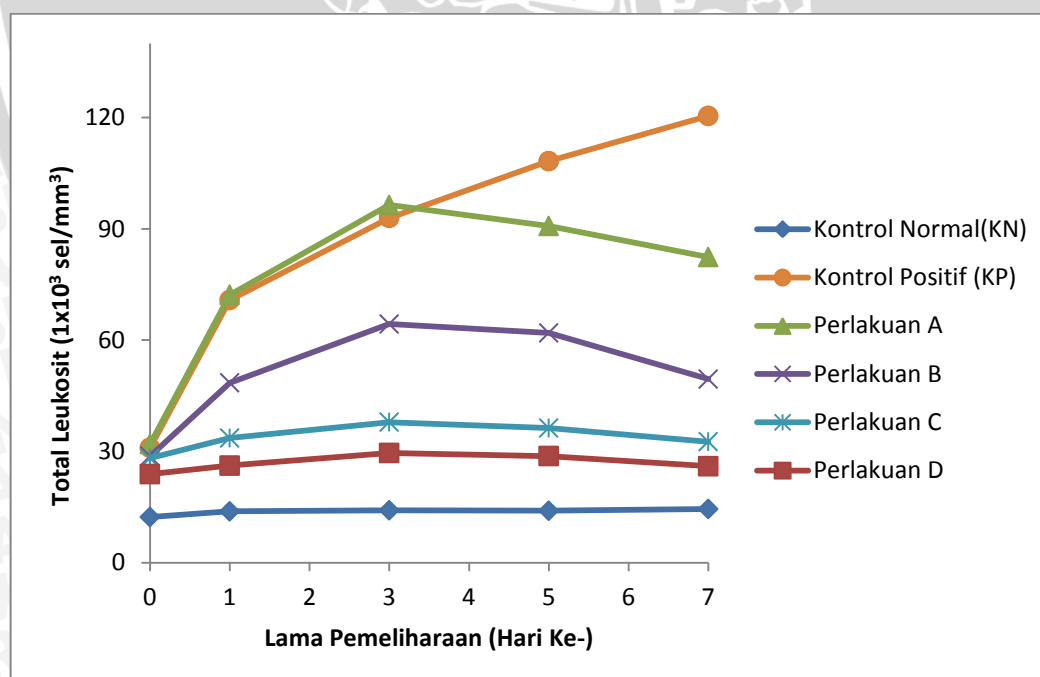


## Lampiran 6 (lanjutan)

➤ Total Leukosit ( $1 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

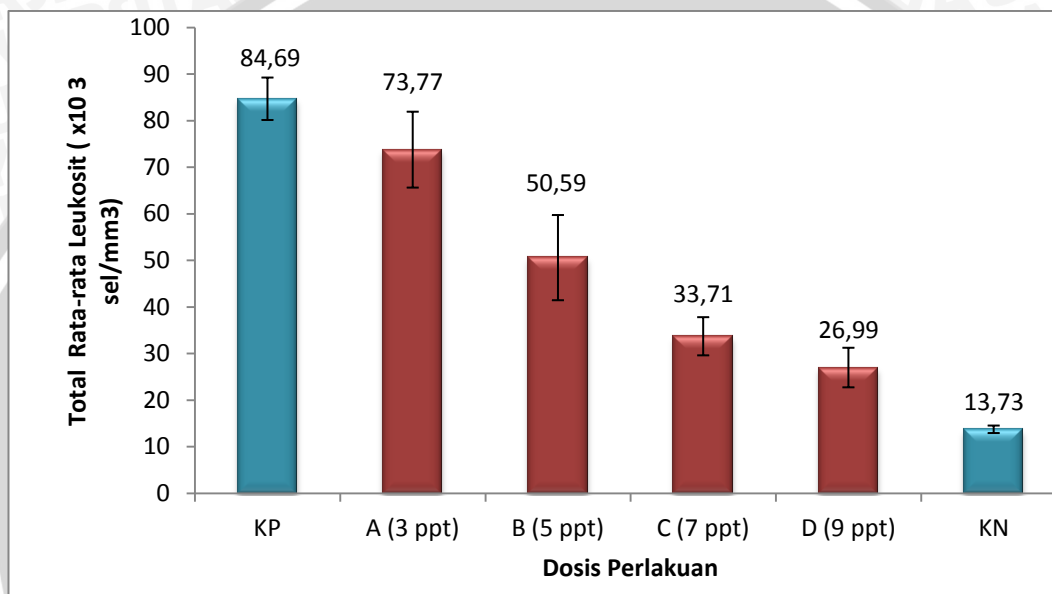
## 1. Total Rata-Rata Leukosit Harian Setelah Perlakuan Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari Ke-				
		0	1	3	5	7
A	1	<b>30,67</b>	71,25	103,23	102,37	95,28
	2	<b>30,24</b>	64,31	85,41	81,72	72,04
	3	<b>35,21</b>	80,75	94,54	88,08	81,52
B	1	<b>28,48</b>	53,41	65,16	61,57	50,13
	2	<b>29,41</b>	51,28	81,10	78,59	55,17
	3	<b>28,17</b>	40,82	46,76	45,66	43,19
C	1	<b>27,04</b>	28,11	32,05	31,90	31,77
	2	<b>28,00</b>	32,47	37,12	35,12	31,09
	3	<b>29,41</b>	40,22	44,51	41,85	35,02
D	1	<b>24,07</b>	24,31	27,13	27,05	23,71
	2	<b>22,18</b>	22,97	25,57	25,05	24,01
	3	<b>25,38</b>	32,40	36,03	34,14	31,25
KN	1	<b>12,71</b>	13,92	12,97	13,56	14,47
	2	<b>10,69</b>	14,76	15,87	15,28	16,57
	3	<b>13,52</b>	12,82	13,51	13,15	12,34
KP	1	<b>30,08</b>	70,82	89,61	119,88	127,54
	2	<b>31,12</b>	60,53	92,06	100,47	113,01
	3	<b>31,75</b>	81,08	97,21	104,42	120,81



2. Total Leukosit ( $1 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Uji Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	80,56	67,74	76,02	221,32	73,77
B	51,75	59,10	40,92	151,77	50,59
C	30,17	32,76	38,20	101,13	33,71
D	25,25	23,90	31,84	80,99	26,99
<b>Total</b>				<b>555,21</b>	
KN	13,52	14,63	13,06	41,21	13,73
KP	87,58	79,43	87,05	254,07	84,69



## ➤ Perhitungan Sidik Ragam

- **FK** =  $G^2 / n = (555,21)^2 / (3 \times 4) = 25688,179$
- **JK Total** =  $A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2 - FK$   
 $= (80,56)^2 + (67,74)^2 + (76,02)^2 + (51,75)^2 + (59,10)^2 + (40,92)^2 + (30,17)^2 +$   
 $(32,76)^2 + (38,20)^2 + (25,25)^2 + (23,90)^2 + (31,84)^2 - 25688,179$   
 $= 4282,606$
- **JK Perlakuan** =  $\frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - FK$   
 $= \frac{(221,32)^2 + (151,77)^2 + (101,13)^2 + (80,99)^2}{3} - 25679,85$   
 $= 3912,932$
- **JK Acak** = JK Total - JK Perlakuan =  $4282,606 - 3912,932 = 369,674$
- **KT Perlakuan** = (JK perlakuan) / db perlakuan =  $3912,932 / 3 = 1304,311$

- **KT Acak** = (JK acak) / db acak = 369,674 / 8 = 46,209
- **F hitung** = KT perlakuan / KT acak = 1304,311 / 46,209 = 28,226

**Tabel Sidik Ragam Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus* L.)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	3912,932	1304,311	28,226**	4,07	7,59
2. Acak	8	369,674	46,209			
3. Total	11	4282,606				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Karena nilai F hitung > F5% > F1%, artinya berbeda sangat nyata. Maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji BNT

**Perhitungan Uji BNT:**

$$SED = \sqrt{\frac{2 * KT_{Acak}}{\pi}} = \sqrt{\frac{2 * 46,209}{3}} = \sqrt{30,806} = 5,550$$

$$BNT\ 5\% = t\ \text{Tabel}\ 5\% (db\ acak) * SED = 2,306 * 5,550 = 12,799$$

$$BNT\ 1\% = t\ \text{Tabel}\ 1\% (db\ acak) * SED = 3,355 * 5,550 = 18,620$$

**Tabel BNT Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rerata	26,99	33,71	50,59	73,77	Notasi
D	26,99	-	-	-	-	a
C	33,71	6,75*	-	-	-	b
B	50,59	23,63**	16,88*	-	-	c
A	73,77	46,81**	40,06**	23,18**	-	d

Keterangan: \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata

**Tabel Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Hasil Pengamatan (Ti)	Pembanding (Ci)		
		linier	kuadratik	kubik
A (3 ppt)	221,32	-3	1	-1
B (5 ppt)	151,77	-1	-1	3
C (7 ppt)	101,13	1	-1	-3
D (9 ppt)	80,99	3	1	1
Q = $\sum(Ci \times Ti)$		-471,63	49,41	11,59
Kr = $(\sum Ci^2) \times r$		60	12	60
JK = $Q^2 / Kr$		3707,248	203,446	2,238
<b>Total JK reg</b>		<b>3912,932</b>		



Tabel Sidik Ragam Regresi

SK	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
<b>Perlakuan</b>	3	3912,932	-	-	-	-
- Linier	1	3707,248	3707,248	80,227**	5,32	11,3
- Kuadratik	1	203,446	203,446	4,404 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
- Kubik	1	2,238	2,238	0,048 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
<b>Acak</b>	8	369,674	46,209	-	-	-
<b>Total</b>	11	-	-	-	-	-

Keterangan : \*\*= Berbeda sangat nyata, ns= tidak berbeda nyata

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung nilai  $R^2$  sebagai berikut:

$$- R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK regresi Linier}}{\text{JK regresi Linier} + \text{JK acak}} = \frac{3707,24}{3707,248 + 369,6} = 0,909$$

$$- R = \sqrt{0,909} = 0,95$$

Selanjutnya dicari persamaan regresi linier ( $y=b_0+b_1x$ ) sebagai berikut:

Perlakuan	x	y	xy	x <sup>2</sup>
A	3	80,56	241,68	9
	3	64,74	194,22	9
	3	76,02	228,06	9
B	5	51,75	258,75	25
	5	59,10	295,50	25
	5	40,92	204,60	25
C	7	30,17	211,19	49
	7	32,76	229,32	49
	7	38,20	267,40	49
D	9	25,25	227,25	81
	9	23,90	215,10	81
	9	31,84	286,56	81
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>555,21</b>	<b>2859,63</b>	<b>492</b>
<b>Rerata</b>	<b>6</b>	<b>46,27</b>		

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{2859,63 - \frac{72 \cdot 555,21}{12}}{492 - \frac{(72)^2}{12}}$$

$$= 93,43$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x} = 46,27 - (0,152 \cdot 6) = -7,860$$

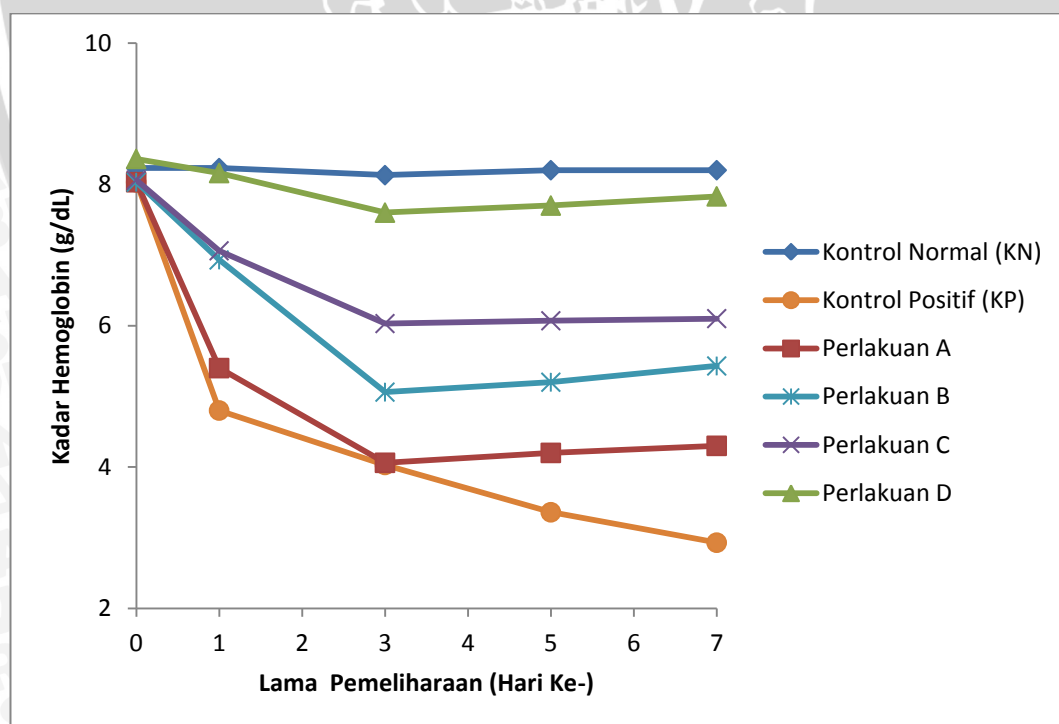
Didapatkan persamaan  $y = b_0 + b_1x$  adalah  $y = -7,860 + 93,43x$

## Lampiran 6 (Lanjutan)

➤ Total Hemoglobin (g/dL) Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

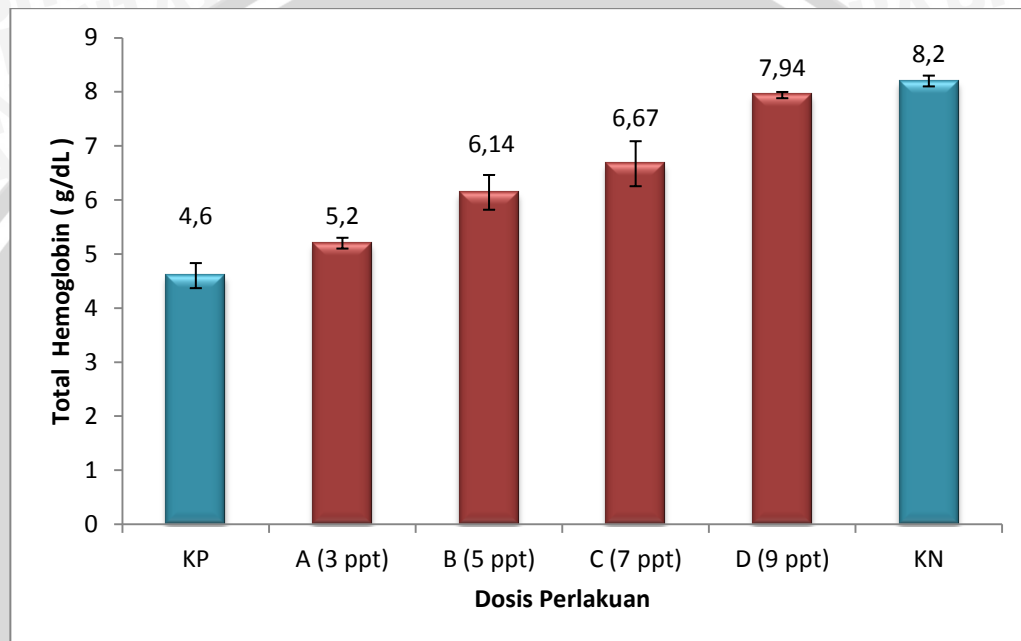
## 1. Total Rata-Rata Hemoglobin Harian Setelah Perlakuan Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari ke-				
		0	1	3	5	7
A	1	8,1	5	4,2	4,3	4,4
	2	8,0	5,0	4,0	4,2	4,3
	3	8,0	6,2	4,0	4,1	4,3
B	1	8,1	8,0	5,3	5,4	5,7
	2	8,0	6,2	4,9	5,1	5,3
	3	8,0	6,6	5,0	5,1	5,3
C	1	8,2	7,5	6,4	6,4	6,5
	2	8,0	6,4	6,3	5,1	5,2
	3	8,0	7,3	5,4	6,7	6,6
D	1	8,4	8,2	7,5	7,7	7,7
	2	8,3	8,0	7,8	7,8	8,1
	3	8,4	8,3	7,5	7,6	7,7
KN	1	8,2	8,3	8,1	8,1	8,3
	2	8,3	8,4	8,3	8,3	8,2
	3	8,2	8,0	8,0	8,2	8,1
KP	1	8	5	4,3	3	3,1
	2	8,1	6,1	5	4,8	3
	3	8,2	6	4,4	4	3,3



## 2. Total Hemoglobin Ikan Nila Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	5,2	5,1	5,3	15,60	5,20
B	6,5	5,9	6,0	18,40	6,14
C	7,0	6,2	6,8	20,00	6,67
D	7,9	8,0	7,9	23,80	7,94
<b>Total</b>				<b>77,80</b>	
KN	8,2	8,3	8,1	24,60	8,20
KP	4,4	4,5	4,9	13,90	4,80



## ➤ Perhitungan Sidik Ragam

- $FK = G^2/n = (77,80)^2 / (3 \times 4) = 504,403$
- $JK \text{ Total} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2) - FK$   
 $= (5,20)^2 + (5,10)^2 + (5,30)^2 + (6,50)^2 + (5,90)^2 + (6,00)^2 + (7,00)^2 +$   
 $(6,20)^2 + (6,80)^2 + (7,90)^2 + (8,00)^2 + (7,90)^2 - 504,403$   
 $= 12,297$
- $JK \text{ Perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - FK$   
 $= \frac{(15,60)^2 + (18,40)^2 + (20,00)^2 + (23,80)^2}{3} - 504,403$   
 $= 11,717$
- $JK \text{ Acak} = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} = 12,297 - 11,717 = 0,580$
- $KT \text{ Perlakuan} = (JK \text{ perlakuan}) / db \text{ perlakuan} = 11,717 / 3 = 3,906$
- $KT \text{ Acak} = (JK \text{ acak}) / db \text{ acak} = 0,580 / 8 = 0,072$



- **F hitung** =  $KT \text{ perlakuan} / KT \text{ acak} = 3,906 / 0,072 = 53,870$

**Tabel Sidik Ragam Hemoglobin**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	11,717	3,906	53,870**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,580	0,072			
3. Total	11	12,297				

Keterangan : \*\*= berbeda sangat nyata

Karena  $F \text{ hit} > F5\% > F1\%$  maka \*\* (berbeda sangat nyata/*highly significant*). Maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji BNT.

**Perhitungan Uji BNT:**

$$SED = \sqrt{\frac{2 \cdot KT \text{ Acak}}{\pi}} = \sqrt{\frac{2 \cdot 0,072}{3}} = \sqrt{0,048} = 0,219$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ Tabel } 5\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 2,306 \cdot 0,219 = 0,505$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ Tabel } 1\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 3,355 \cdot 0,219 = 0,734$$

**Tabel BNT Hemoglobin Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rerata	A = 5,20	B = 6,13	C = 6,67	D = 7,93	Notasi
A	5,20	-	-	-	-	a
B	6,13	0,93**	-	-	-	b
C	6,67	1,47**	0,54*	-	-	c
D	7,93	2,73**	1,8**	1,26**	-	d

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata, \* = berbeda nyata, ns = tidak berbeda nyata

**Tabel Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Hasil Pengamatan (Ti)	Pembanding (Ci)		
		linier	kuadratik	kubik
A (3 ppt)	15,60	-3	1	-1
B (5 ppt)	18,40	-1	-1	3
C (7 ppt)	20,00	1	-1	-3
D (9 ppt)	23,80	3	1	1
$Q = \sum(Ci \times Ti)$		26,20	1,00	3,40
$Kr = (\sum Ci^2) \times r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		11,441	0,084	0,192
Total JK reg		11,717		

Tabel Sidik Ragam Regresi

SK	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
<b>Perlakuan</b>	3	11,717	-	-	-	-
- Linier	1	11,441	11,441	158,902**	5,32	11,3
- Kuadratik	1	0,084	0,084	1.167 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
- Kubik	1	0,192	0,192	2,670 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
<b>Acak</b>	8	0,580	0,072	-	-	-
<b>Total</b>	11	-	-	-	-	-

Keterangan : \*\*=berbeda sangat nyata, ns= tidak berbeda nyata

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung nilai  $R^2$  sebagai berikut:

$$- R^2 \text{ Linier} = \frac{\text{JK regresi Linier}}{\text{JK regresi Linier} + \text{JK acak}} = \frac{11,441}{11,441 + 0,580}$$

$$= 0,951$$

$$- R = \sqrt{0,951} = 0,975$$

Selanjutnya dicari persamaan regresi linier ( $y=b_0+b_1x$ ) sebagai berikut:

Perlakuan	x	y	xy	$x^2$
A	3	5,20	15,60	9
	3	5,10	15,30	9
	3	5,30	15,90	9
B	5	6,50	32,50	25
	5	5,90	29,50	25
	5	6,00	30,00	25
C	7	7,00	49,00	49
	7	6,20	43,40	49
	7	6,80	47,60	49
D	9	7,90	71,10	81
	9	8,00	72,00	81
	9	7,90	71,10	81
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>77,80</b>	<b>493</b>	<b>492</b>
<b>Rerata</b>	<b>6</b>	<b>6,484</b>		

$$- b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{493 - \frac{72 \cdot 77,80}{12}}{492 - \frac{(72)^2}{12}}$$

$$= 0,437$$

$$- b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x}$$

$$= 6,484 - (0,437 \cdot 6) = 3,862$$

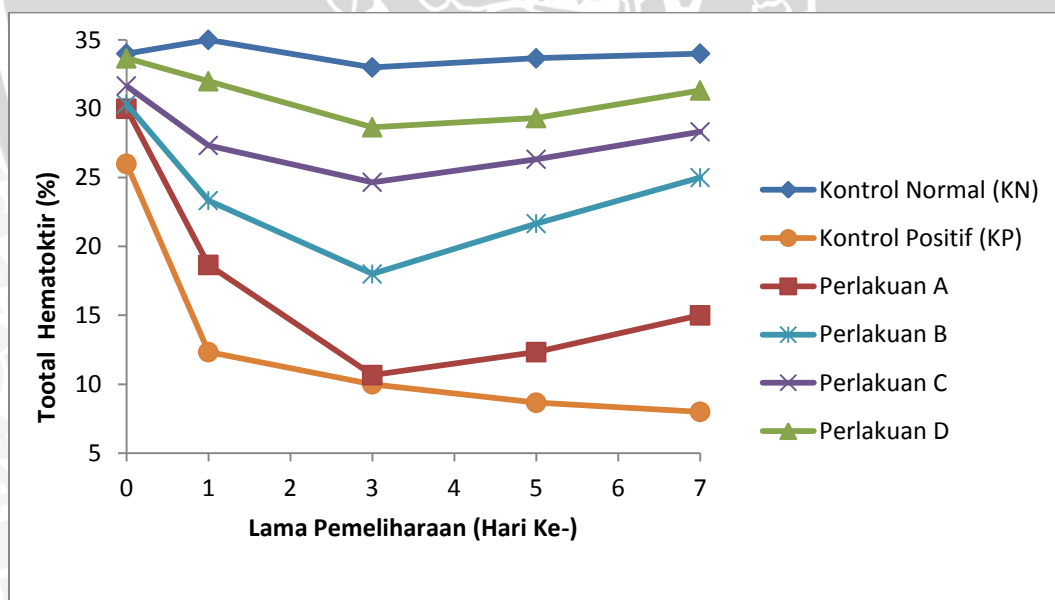
Didapatkan Persamaan  $y=b_0+b_1x$  adalah  $y=3,862+0,437x$

## Lampiran 6 (Lanjutan)

➤ Total Hematokrit (%) Ikan Nila (*O. niloticus* L.)

## 1. Total Rata-Rata Hematokrit (%) Harian Setelah Perlakuan Selama Penelitian

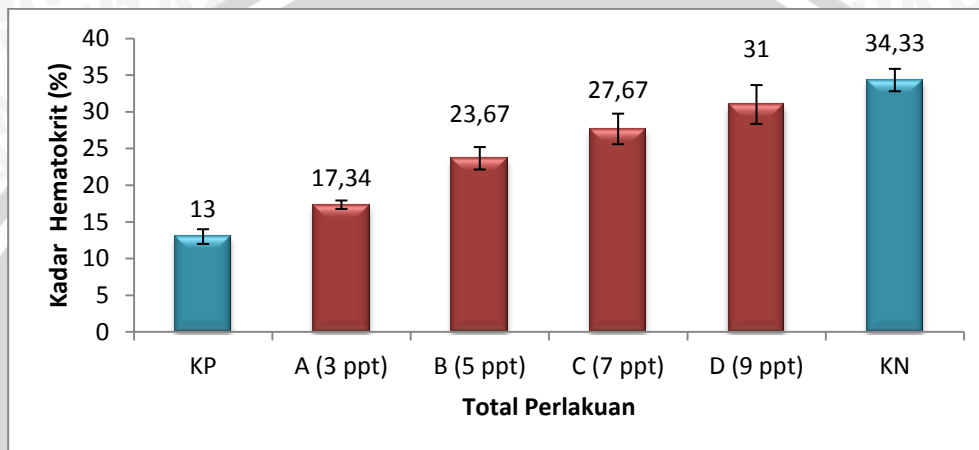
Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Hari Ke-				
		0	1	3	5	7
A	1	29	20	12	13	16
	2	30	19	10	12	14
	3	31	17	10	12	15
B	1	30	23	16	18	23
	2	31	24	16	23	26
	3	30	23	22	24	26
C	1	31	24	23	25	27
	2	33	30	27	29	31
	3	31	28	24	25	27
D	1	36	35	32	33	34
	2	32	30	26	27	30
	3	33	31	28	28	30
KN	1	33	34	32	33	33
	2	36	36	36	36	36
	3	34	35	33	34	34
KP	1	27	14	9	8	7
	2	25	11	10	8	6
	3	26	12	11	10	11





## 2. Kadar Hematokrit (%) Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A (3 ppt)	18	17	17	52,00	17,34
B (5 ppt)	22	24	25	71,00	23,67
C (7 ppt)	26	30	27	83,00	27,67
D (9 ppt)	34	29	30	93,00	31,00
<b>Total</b>				<b>299,00</b>	
KN	33	36	34	103,00	34,33
KP	13	12	14	39,00	13,00



## ➤ Perhitungan Sidik Ragam

- **FK** =  $G^2/n = (299)^2/(3 \times 4) = 7450,084$
- **JK Total** =  $(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2) - FK$   
 $= (18)^2 + (17)^2 + (17)^2 + (22)^2 + (24)^2 + (25)^2 + (26)^2 + (30)^2 + (27)^2 + (34)^2 + (29)^2 + (30)^2 - 7450,084$   
 $= 7789 - 7450,084 = 338,917$
- **JK Perlakuan** =  $\frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - FK$   
 $= \frac{(52)^2 + (71)^2 + (83)^2 + (93)^2}{3} - 7450,08$   
 $= 310,917$
- **JK Acak** =  $JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} = 338,916 - 310,916 = 28,00$
- **KT Perlakuan** =  $(JK \text{ perlakuan}) / db \text{ perlakuan} = 310,917 / 3 = 103,639$
- **KT Acak** =  $(JK \text{ acak}) / db \text{ acak} = 28,00 / 8 = 3,500$
- **F hitung** =  $KT \text{ perlakuan} / KT \text{ acak} = 103,639 / 3,500 = 29,611$

Tabel Sidik Ragam Hematokrit

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	310,917	103,639	29,611**	4,07	7,59
2. Acak	8	28,00	3,500			
3. Total	11	338,917				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Karena F hitung > F5% > F1%, artinya berbeda sangat nyata, maka untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

➤ **Perhitungan Uji BNT:**

$$SED = \sqrt{\frac{2 \cdot KT \text{ Acak}}{\pi}} = \sqrt{\frac{2 \cdot 3,5}{3}} = \sqrt{2,34} = 1,529$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ Tabel } 5\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 2,306 \cdot 1,529 = 3,527$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ Tabel } 1\% \text{ (db acak)} \cdot SED = 3,355 \cdot 1,529 = 5,129$$

Tabel BNT Hematokrit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	17,34	23,60	27,67	31,00	Notasi
A	17,34	-	-	-	-	a
B	23,60	6,26**	-	-	-	b
C	27,67	10,33**	4,07*	-	-	c
D	31,00	13,66**	7,4**	3,33 <sup>ns</sup>	-	d

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata, \* = berbeda nyata, \*\* = berbeda sangat nyata

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Hasil Pengamatan (Ti)	Pembanding (Ci)		
		linier	kuadratik	kubik
A (3 ppt)	52,00	-3	1	-1
B (5 ppt)	71,00	-1	-1	3
C (7 ppt)	83,00	1	-1	-3
D (9 ppt)	93,00	3	1	1
Q = $\sum(Ci \times Ti)$		135	-9	5
Kr = $(\sum Ci^2) \times r$		60	12	60
JK = $Q^2 / Kr$		303,750	6,750	0,417
Total JK reg		310,917		

Tabel Sidik Ragam Regresi

SK	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	310,917	-	-	-	-
- Linier	1	303,750	303,750	86,785**	5,32	11,3
- Kuadratik	1	6,750	6,750	1,928 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
- Kubik	1	0,417	0,417	0,119 <sup>ns</sup>	5,32	11,3
Acak	8	28,00	3,500	-	-	-
Total	11	-	-	-	-	-

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata, ns = tidak berbeda nyata

Dari hasil sidik ragam terlihat bahwa regresi linier berbeda sangat nyata, maka perlu dihitung nilai  $R^2$  sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 - R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK regresi Linier}}{\text{JK regresi Linier} + \text{JK acak}} = \frac{303,750}{303,750 + 28,00} = 0,915 \\
 - R &= \sqrt{0,915} = 0,95
 \end{aligned}$$

Selanjutnya dicari persamaan regresi linier ( $y=b_0+b_1x$ ) sebagai berikut:

Perlakuan	x	y	xy	x <sup>2</sup>
A	3	18	54	9
	3	17	51	9
	3	17	51	9
B	5	22	110	25
	5	24	120	25
	5	25	125	25
C	7	26	182	49
	7	30	210	49
	7	27	189	49
D	9	34	306	81
	9	29	261	81
	9	30	270	81
<b>Total</b>	<b>72</b>	<b>299</b>	<b>1929</b>	<b>492</b>
<b>Rerata</b>	<b>6</b>	<b>24,917</b>		

$$\begin{aligned}
 - b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{1929 - \frac{72 \cdot 299}{12}}{492 - \frac{(72)^2}{12}} \\
 &= \frac{135}{60} = 2,250 \\
 - b_0 &= \bar{y} - b_1 \cdot \bar{x} \\
 &= 24,917 - (2,250 \cdot 6) = 11,417
 \end{aligned}$$

Didapatkan Persamaan  $y=b_0+b_1x$  adalah  $y= 11,417 + 2,250x$



Lampiran 7. Data Kualitas Air Pada Media Pemeliharaan Ikan Uji Selama Penelitian

A. Data Kisaran Nilai Suhu ( °C)

Hari	Waktu	PERLAKUAN																		Kisaran
		A			B			C			D			Kontrol Positif			Kontrol Infeksi			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
0	Pagi	24,9	25,3	25,0	25,9	26,1	26,0	25,4	25,1	25,6	26,0	24,7	24,8	25,7	26,3	24,1	24,8	25,8	25,8	24,1-26,0
	Sore	26,0	24,8	26,0	24,8	26,2	25,9	25,3	25,3	25,8	25,1	24,9	25,7	24,8	25,9	24,6	26,0	25,6	26,2	24,6-26,2
1	Pagi	25,2	25,5	25,3	25,4	25,5	25,3	25,2	25,5	25,3	25,0	24,8	24,7	25,1	25,4	24,9	26,0	25,0	26,0	24,7-26,0
	Sore	24,9	25,4	25,3	25,2	25,7	25,3	25,1	25,5	25,2	25,2	25,3	25,3	25,2	25,3	25,6	25,7	25,3	25,0	24,9-25,7
2	Pagi	24,7	24,6	24,7	24,6	24,7	24,6	24,8	25,5	24,7	24,6	24,7	24,6	24,7	24,8	24,7	25,6	25,5	25,0	24,6-25,6
	Sore	26,2	25,6	25,1	25,9	25,4	25,1	25,7	25,5	25,6	26,1	25,2	25,7	25,8	25,2	25,0	26,0	25,5	26,1	25,0-26,2
3	Pagi	25,5	25,3	25,3	25,3	25,0	25,0	25,1	24,8	25,0	25,1	25,0	24,8	24,9	24,9	24,7	25,1	25,0	24,9	24,7-25,5
	Sore	25,4	25,2	25,1	25,6	24,9	24,9	26,8	26,8	26,9	26,4	26,4	26,9	25,4	24,9	25,0	26,1	25,8	25,1	24,7-26,9
4	Pagi	24,9	24,7	25,0	25,2	25,3	25,3	25,2	25,4	25,3	25,2	25,2	25,2	24,9	25,0	24,9	24,8	24,8	25,2	24,7-25,4
	Sore	25,4	25,0	24,9	25,4	25,2	25,2	25,7	25,3	25,1	25,5	25,2	25,1	25,1	24,6	24,7	25,2	25,4	24,6	24,6-25,7
5	Pagi	25,1	24,9	24,8	24,8	24,7	24,7	24,6	24,6	24,7	25,0	24,8	24,7	25,1	24,9	24,8	24,9	25,0	25,5	24,6-25,5
	Sore	25,6	24,3	24,7	24,8	24,9	24,9	25,4	25,0	25,0	25,3	24,7	24,9	24,6	24,6	24,3	25,3	25,3	25,2	24,3-25,6
6	Pagi	25,2	25,2	24,9	25,3	25,0	25,0	25,5	25,1	25,0	24,9	24,9	25,0	25,3	24,9	25,0	25,4	24,7	25,6	24,7-25,6
	Sore	25,2	25,1	25,0	25,1	25,2	25,2	25,3	25,1	25,5	25,1	25,0	25,2	25,5	25,5	25,7	26,0	25,4	25,3	25,0-26,0
7	Pagi	25,6	25,3	25,3	25,2	25,3	25,3	25,4	25,4	25,4	25,3	25,0	25,1	25,4	25,4	25,3	25,5	26,0	25,3	25,0-26,0
	Sore	24,3	25,3	25,3	25,5	25,3	25,3	25,4	25,4	25,6	25,3	25,2	25,6	25,1	25,4	25,3	26,7	25,7	26,0	24,4-26,7

Lampiran 7(lanjutan)

B. Data Kisaran Nilai Derajat Keasaman (pH)

Hari	Waktu	PERLAKUAN																		Kisaran
		A			B			C			D			Kontrol Positif			Kontrol Infeksi			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
0	Pagi	7,15	7,55	6,83	7,45	8,30	8,32	8,17	8,39	8,37	8,05	7,76	7,81	7,62	8,04	7,93	8,02	7,20	7,26	6,83-8,39
	Sore	7,44	8,24	7,08	7,76	7,75	7,76	7,60	7,85	7,77	7,96	8,26	8,21	8,08	7,24	7,01	8,26	8,21	8,08	7,01-8,26
1	Pagi	7,77	7,96	7,06	7,28	7,24	7,01	6,86	6,85	6,88	7,04	6,85	6,91	6,77	7,48	7,38	7,11	7,17	7,35	6,85-7,96
	Sore	7,66	7,53	7,68	7,76	7,69	7,58	7,57	6,77	7,49	7,43	7,61	7,66	7,64	7,42	7,59	8,10	8,30	7,02	7,02-8,30
2	Pagi	6,73	8,40	7,11	7,17	8,35	6,97	6,90	7,20	8,40	8,03	7,93	6,29	8,11	6,91	8,01	7,75	7,71	6,65	6,29-8,40
	Sore	8,10	7,07	8,10	8,30	7,02	8,17	7,08	8,25	8,26	8,17	8,16	8,20	7,93	7,75	8,26	8,32	8,17	7,58	7,02-8,32
3	Pagi	7,32	7,46	7,61	8,18	8,12	7,98	7,80	7,90	7,86	8,00	7,95	8,12	7,80	7,80	7,56	8,25	8,26	8,17	7,32-8,26
	Sore	8,20	8,39	8,37	8,05	8,32	8,33	7,75	8,16	8,32	8,08	8,17	8,18	8,03	8,25	8,26	7,90	7,86	8,00	7,75-8,39
4	Pagi	7,83	7,85	7,77	7,96	7,87	7,76	7,14	7,74	7,72	7,36	7,75	7,86	7,64	7,87	7,88	8,04	7,93	7,61	7,14-8,04
	Sore	7,02	8,18	8,17	7,73	8,22	8,00	6,88	7,51	8,10	8,09	8,11	8,07	7,09	8,02	8,07	7,24	7,01	6,86	6,86-8,22
5	Pagi	7,48	7,38	7,46	7,69	7,75	7,71	6,65	7,35	7,55	6,83	7,45	7,52	7,34	7,42	7,48	8,00	7,95	8,12	6,65-8,12
	Sore	7,06	7,72	8,20	8,30	8,32	8,17	7,58	7,89	8,24	7,08	7,76	7,94	7,24	7,91	7,83	8,08	8,17	8,18	7,08-8,32
6	Pagi	6,68	7,53	7,73	7,75	7,76	7,60	6,99	7,49	7,76	7,81	7,62	7,73	6,43	7,15	7,32	7,81	7,62	7,73	6,43-7,81
	Sore	7,72	7,89	8,30	8,32	8,33	8,18	8,02	8,20	8,26	8,21	8,08	8,18	7,20	7,82	7,86	8,21	8,08	8,18	7,20-8,32
7	Pagi	7,57	7,89	8,06	7,97	8,04	7,93	7,61	7,75	7,84	7,92	7,88	7,92	6,53	6,68	6,52	8,17	8,16	8,20	6,53-8,20
	Sore	8,44	8,43	7,06	7,28	7,24	7,01	6,86	6,85	6,88	7,04	6,85	6,91	6,77	7,48	8,02	8,00	7,95	8,12	6,85-8,44

Lampiran 7 (lanjutan)

C. Data Kisaran Nilai Oksigen Terlarut (DO) (ppm)

Hari	Waktu	PERLAKUAN																		Kisaran
		A			B			C			D			Kontrol Positif			Kontrol Infeksi			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
0	Pagi	6,46	6,43	6,34	6,50	6,50	6,61	6,22	6,49	6,39	6,37	6,42	6,31	6,45	6,22	6,49	6,32	6,37	6,39	6,22-6,61
	Sore	6,37	6,42	6,31	6,62	6,61	6,57	6,53	6,52	6,51	6,32	6,31	6,32	6,45	6,33	6,39	6,46	6,38	6,39	6,31-6,62
1	Pagi	6,46	6,45	6,43	6,42	6,40	6,27	6,17	6,27	6,33	6,83	6,72	6,67	6,62	6,59	7,43	6,68	6,52	6,45	6,17-7,43
	Sore	6,32	6,33	6,30	6,29	6,28	6,21	6,20	6,24	6,22	6,21	6,37	6,48	6,47	6,48	6,45	6,56	6,56	6,37	6,21-6,25
2	Pagi	6,75	6,67	6,65	6,59	6,48	6,49	6,58	6,53	6,55	6,50	6,30	6,44	6,43	5,59	6,47	6,37	6,42	6,31	5,59-6,75
	Sore	6,62	6,52	6,57	6,50	6,48	6,46	6,25	6,24	6,26	6,27	6,38	6,53	6,55	6,64	6,63	6,83	6,72	6,67	6,25-6,83
3	Pagi	6,44	6,33	6,64	6,44	6,38	6,32	6,37	6,39	6,37	6,42	6,31	6,26	6,39	6,36	6,38	6,34	6,50	6,50	6,26-6,50
	Sore	6,54	6,49	6,37	6,58	6,56	6,56	6,37	6,35	6,34	6,48	6,34	6,33	6,50	6,45	6,41	6,46	6,25	6,24	6,24-6,58
4	Pagi	6,54	6,50	6,50	6,61	6,54	6,56	6,63	6,60	6,56	6,69	6,62	6,61	6,57	6,50	5,80	6,63	6,61	6,53	5,80-6,69
	Sore	6,46	6,38	6,39	6,40	6,33	6,30	6,45	6,33	6,39	6,61	6,51	6,32	6,40	6,25	6,24	6,51	6,32	6,31	6,24-6,61
5	Pagi	6,72	6,71	6,68	6,52	6,45	6,22	6,49	6,39	6,45	6,61	6,51	6,32	6,40	6,25	6,24	6,37	6,42	6,31	6,22-6,72
	Sore	6,38	6,44	6,45	6,46	6,43	6,34	6,54	6,45	6,31	6,38	6,28	6,30	6,32	6,25	6,10	6,31	6,62	6,61	6,10-6,62
6	Pagi	6,27	6,34	6,37	6,35	6,33	6,37	6,63	6,61	6,53	6,99	6,72	6,57	6,47	6,46	6,42	6,51	6,32	6,40	6,27-6,99
	Sore	6,32	6,31	6,32	6,31	6,30	6,32	6,34	6,31	6,32	6,30	6,35	6,33	6,39	6,34	6,33	6,58	6,56	6,56	6,30-6,58
7	Pagi	6,43	6,15	6,83	6,72	6,67	6,62	6,59	6,57	6,54	6,53	6,52	6,51	6,58	6,57	6,56	6,69	6,62	6,61	6,15-6,69
	Sore	6,46	6,45	6,43	6,42	6,40	6,27	6,19	6,27	6,33	6,83	6,72	6,67	6,62	6,59	6,43	6,30	6,35	6,33	6,19-6,82