

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENGGUDU (*Morinda
citrifolia* L.) TERHADAP HISTOLOGI INSANG IKAN KOI (*Cyprinus Carpio* L.)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:
**GABRI DIGDAYANING I
NIM. 115080500111007**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP HISTOLOGI INSANG IKAN KOI (*Cyprinus Carpio* 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:
GABRI DIGDAYANING I
NIM. 115080500111007



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2015**

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN MENKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP HISTOLOGI INSANG IKAN KOI (*Cyprinus Carpio* L.) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :
GABRI DIGDAYANING I
NIM. 115080500111007

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 13 Juli 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal :

DOSEN PENGUJI II

Dr. Ir. M. Fadjjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
Tanggal :

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 19550213 198403 1 001
Tanggal :

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
Tanggal :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal :

PERNYATAAN ORISINALITAS

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



Malang, Juli 2015

Mahasiswa

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu, selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi.
2. Ibu Ir. Ellana Sanoesi., MP selaku pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan.
3. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku Dosen Penguji I yang telah meluangkan waktu.
4. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, Msc selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu.
5. Bapak dan Ibu tersayang atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya, serta adik yang selalu menjadi penghibur .
6. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini.
7. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
8. Seluruh sahabat, saudara serumah dan kru Sipirili yang telah mendukung, memotivasi dan menjadi penghibur.
9. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Hipotesis	5
1.5 Kegunaan	5
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio L.</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	7
2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan	8
2.1.4 Penyakit Ikan Koi	9
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan <i>A. hydrophila</i>	10
2.2.3 Infeksi <i>A. hydrophila</i>	11
2.3 Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	11
2.3.2 Habitat dan Penyebaran Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	13
2.3.3 Manfaat dan Kegunaan Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	13
2.4 Pengertian Histopatologi	14
2.4.1 Pengertian Histopatologi	14
2.4.2 Pengamatan Histopatologi	14
2.5 Insang	16
2.5.1 Pengertian Insang	16
2.5.2 Fungsi Insang	16
2.6 Kualitas Air	17
2.6.1 Suhu	17
2.6.2 Ph	18
2.6.3 Oksigen Terlarut	18

3. METODOLOGI PENELITIAN	19
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.1.1 Alat Penelitian	19
3.1.2 Bahan Penelitian	19
3.2 Metode Penelitian	19
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	22
3.4.1 Persiapan Penelitian	22
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	24
3.5 Parameter Uji	27
3.5.1 Parameter Utama	27
3.5.2 Parameter Penunjang	28
3.6 Analisis Data	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Gambaran Histologi Insang	30
4.1.1 Gambaran Histopatologi Insang Ikan Koi Normal yang terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophilla</i>	31
4.2.2 Gambaran Histopatologi Insang Ikan Koi yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	32
4.2 Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian	44
4.2.1 Suhu	44
4.2.2 pH	44
4.2.3 DO	45
4.3 Gejala Klinis	45
5. KESIMPULAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	52

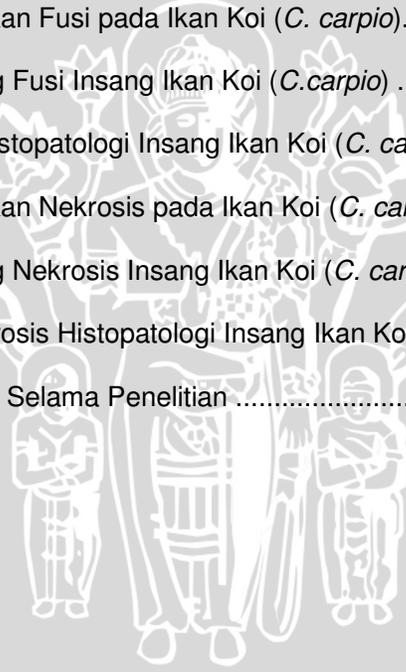
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	7
2. <i>Aeromonas Hydrophila</i>	10
3. Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>)	12
4. Denah Penelitian	22
5. Gambar Insang Normal dan Insang Rusak pada Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	30
6. Gambar Jaringan Histopatologi Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>) yang telah Diberi Perlakuan.....	32
7. Grafik Regresi Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	36
8. Grafik Regresi Fusi pada Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	39
9. Grafik Regresi Nekrosis pada Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	42
10. Gejala Klinis Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase Nilai Skoring Pada Jaringan Insang	29
2. Rerata Skoring Kerusakan Hiperplasia pada Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	34
3. Uji Sidik Ragam Skoring Hiperplasia Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	35
4. Uji BNT Kerusakan Hiperplasia Histopatologi Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	36
5. Rerata Skoring Kerusakan Fusi pada Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	37
6. Uji Sidik Ragam Skoring Fusi Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	38
7. Uji BNT Skoring Fusi Histopatologi Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	38
8. Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis pada Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	40
9. Uji Sidik Ragam Skoring Nekrosis Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	41
10. . Uji BNT Skoring Nekrosis Histopatologi Insang Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	41
11. Parameter Kualitas Air Selama Penelitian	43



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Bahan Penelitian	52
2. Proses Ekstraksi Daun Mengkudu (<i>M. citrifolia L.</i>).....	55
3. Komposisi Larutan Davidson	56
4. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan pada Histopatologi Insang Ikan... Koi (<i>C. carpio</i>).....	57
5. Analisis Data Selama Penelitian	59
6. Data Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan.....	74



RINGKASAN

GABRI DIGDAYANING I. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Terhadap Histologi Insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. Ellana Sanoesi., MP**

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang merupakan jenis ikan hias air tawar yang bernilai ekonomis semakin marak dan banyak diminati, membuat pengembangan budidaya ikan koi makin banyak dilakukan. Namun berkembangnya budidaya ikan koi ini diikuti pula dengan perkembangan penyakit yang menyerang ikan koi itu sendiri. Salah satu penyakit yang biasanya menyerang ikan koi adalah *Aeromonas hydrophila*, bakteri ini menjadi bakteri yang banyak menyebabkan kematian pada ikan koi. Bakteri *A. hydrophila* dapat menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi 80-100% dalam waktu 1-2 minggu. Oleh sebab itu, dibutuhkan adanya antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri, salah satunya adalah dengan penggunaan daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap histologi insang ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada 17 April - 10 Mei 2015.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan deskriptif sedangkan rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Sebagai perlakuan dosis ekstrak kasar daun mengkudu dengan menggunakan dosis A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm) dan K(+) = konsentrasi 0 ppm dan K(-) = kontrol normal. Parameter utama dalam penelitian ini adalah untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (suhu, pH, dan DO).

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah perhitungan kerusakan hiperplasia pada perlakuan D (800ppm) memiliki rata-rata kerusakan hiperplasia paling rendah yaitu 1,9% . Hubungan antara dosis yang berbeda dengan kerusakan hiperplasia memiliki hubungan nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,866 dengan persamaan $y = -0,0016x + 2,7$.

Kerusakan jaringan insang berupa fusi pada perlakuan D (800ppm) memiliki rata-rata kadar kerusakan terendah yaitu 1,6%, hubungan dosis yang berbeda dengan kerusakan fusi memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9406 dengan persamaan $y = -0,0027x + 3,5667$.

Pada perhitungan jaringan insang berupa nekrosis pada perlakuan D(800ppm) memiliki rata-rata kadar kerusakan terendah yaitu 1,2% , hubungan dosis yang berbeda dengan kerusakan nekrosis memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar dengan 0,974 dengan persamaan $y = -0,634x + 3,8$.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan Daun Mengkudu (*M. citrifolia*) dengan dosis 800ppm dapat mengurangi kerusakan pada insang ikan Koi (*C. carpio*) berupa penurunan terhadap hiperplasia, fusi dan nekrosis yang hampir mendekati kontrol negatif.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Histopatologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

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

Malang, Juli 2015

Penulis

Daftar Istilah

- Anthelmintik** : Obat yang digunakan untuk memberantas atau mengurangi cacing dalam lumen usus atau jaringan tubuh
- Farmakologi** : Ilmu yang mempelajari pengetahuan obat dengan seluruh aspeknya, baik sifat kimiawi maupun fisiknya, kegiatan fisiologi, resopsi dan nasibnya dalam organisme hidup
- Farmakologis** : Mempelajari pengetahuan dan pengenalan obat yang bersal dari tanaman dan zat aktifnya yang berasal dari mineral dan hewan
- Fusi** : Peleburan pada insang akan mengakibatkan proses respirasi ikan terganggu. Hal ini dikarenakan peleburan lamella sekunder insang membuat gas sulit berdifusi
- Histopatologi** : Ilmu yang mempelajari jaringan yang berkaitan dengan penyakit.
- Hemoragik** : kondisi medis yang ditandai dengan pecahnya satu atau lebih pembuluh darah di dalam otak
- Hiperplasia** : Kelainan progresif berupa bertambahnya isi atau volume suatu jaringan atau alat tubuh akibat pembentukan atau tumbuhnya sel baru sehingga terjadi pertambahan jumlah sel yang menyebabkan jaringan atau alat tubuh membesar
- Hipotensif** : Zat yang bersifat menurunkan tekanan darah
- Histopatologi** : Cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit
- Nekrosis** : Kematian sel ireversibel yang terjadi ketika sel cedera berat dalam waktu lama dimana sel tidak mampu beradaptasi lagi atau memperbaiki dirinya sendiri (hemostasis)
- Opportunistik** : Infeksi yang disebabkan oleh organisme yang biasanya tidak menyebabkan penyakit pada orang dengan sistem kekebalan tubuh yang normal, tetapi dapat menyerang orang dengan sistem kekebalan tubuh yang buruk
- Ploriferasi** : Fase sel saat mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor kelautan dan perikanan merupakan salah satu sumber andalan dalam pembangunan perikanan di Indonesia. Produksi dari perikanan budidaya sendiri secara keseluruhan diproyeksikan meningkat dengan rata-rata 4,9 % per tahun. Target tersebut didasarkan atas potensi pengembangan daerah perikanan budidaya di beberapa wilayah Indonesia. Melihat besarnya potensi serta pengembangan perikanan, maka dibutuhkan sumbangan produksi perikanan budidaya semakin besar terhadap produksi nasional. Oleh karena itu, untuk memenuhi target produksi sesuai dengan yang diharapkan dibutuhkan penanganan produksi ikan hasil budidaya terutama dari serangan penyakit berupa bakteri atau jamur yang biasa menyerang ikan dalam kegiatan budidaya (Mulyani, Bachtiar, Kurnia, 2013).

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang merupakan jenis ikan hias air tawar yang bernilai ekonomis semakin marak dan banyak diminati, membuat pengembangan budidaya ikan koi makin banyak dilakukan. Namun berkembangnya budidaya ikan koi ini diikuti pula dengan perkembangan penyakit yang menyerang ikan koi itu sendiri. Beberapa penyakit yang biasanya menyerang ikan koi adalah KHV (*Koi Herpes Virus*), selain itu ada pula jenis bakteri yang menyerang ikan koi yaitu *Aeromonas hydrophila*, *flexybacter*, *pseudomonas* dan *streptococcus*. Bakteri *Aeromonas hydrophila* menjadi bakteri yang banyak menyebabkan kematian pada ikan koi (Saselah, Tumbol, Manoppo, 2012).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah salah satu kendala penyakit yang sering menyerang berbagai jenis ikan air tawar seperti lele dumbo, ikan mas, ikan gurami, ikan koi dan udang galah. Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi 80-100% dalam

waktu 1-2 minggu. Pengobatan MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) sampai sekarang masih menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik untuk budidaya ikan konsumsi sangat berbahaya karena akan membentuk residu di dalam tubuh ikan maupun manusia yang mengkonsumsinya, sehingga akan menimbulkan resistensi bakteri patogen pada manusia serta dapat mencemari lingkungan, sehingga perlu dicari alternatif lain yang ramah lingkungan, alami, murah, mudah didapat, aman, serta efektif untuk menanggulangi penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*). Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengganti antibiotik adalah pemanfaatan bahan alami (Wardani, Tjajaningsih, Rahardja, 2012).

A. hydrophila termasuk bakteri gram negatif, bakteri ini mempunyai bentuk batang pendek, bersifat aerob dan fakultatif anaerob, tidak berspora, hidup pada kisaran suhu 25-30° C. Bakteri ini sangat berpengaruh dalam budidaya ikan air tawar dan sering menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi (80 – 100 %) dalam waktu yang singkat (1 – 2 minggu) (Lukistyowati, Kurniasih, 2012).

Infeksi merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang di daerah tropis seperti Indonesia karena keadaan udara yang banyak berdebu. Temperatur atau suhu yang hangat dan lembab dapat menyebabkan mikroba dapat tumbuh subur. Keadaan tersebut dapat terjadi dikarenakan pengepakan pada saat transportasi yang buruk dan keadaan sanitasi yang kurang terjaga sehingga memudahkan penyakit infeksi semakin berkembang, untuk mengatasi penyakit infeksi telah dilakukan terapi terutama dengan penggunaan berbagai macam antibiotik, namun hal ini dapat membahayakan bagi organisme yang diterapi karena penggunaan antibiotik yang berlebihan juga bisa membahayakan organisme tersebut (Gibson, 1996 dalam Ningrum, Adelia, Anggraini, Trisno, Lahay, 2010).

Beberapa tahun terakhir, semakin marak penggunaan tanaman obat sebagai salah satu pengobatan alternatif pada manusia karena selain berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit, tanaman obat ini hampir tidak mempunyai efek samping sehingga aman dikonsumsi. Disamping itu, harganya juga jauh lebih murah dan mudah diperoleh. Salah satu terapi herbal yang memiliki nilai terapi dalam pengobatan adalah menggunakan daun mengkudu (*M. citrifolia*). Tanaman mengkudu (*M. citrifolia*) belakangan ini menjadi sangat populer. Tanaman ini banyak terdapat di Indonesia sebagai tanaman liar atau tanaman pekarangan yang dimanfaatkan sebagai sayuran atau tanaman obat. Khasiatnya yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit pada manusia mendorong banyak peneliti untuk melakukan penelitian tentang kandungan tanaman mengkudu serta khasiatnya. Zat yang dikandung dalam tanaman mengkudu yang berperan sebagai antibakteri seperti antrakuinon. Zat ini terbukti dapat menekan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgani*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, dan *E.coli* (Kameswari, Besung, Mahatmi, 2013).

Buah mengkudu (*M. citrifolia* L.) yang diduga memiliki kandungan skopoletin, antrakuinon, acubin, dan alizarin yang merupakan zat fitokimia dan antibakteria. Ekstraksi buah mengkudu dengan pelarut etanol mampu menghambat (bakteriostatik) dan membunuh (bakteriosidal) bakteri *A. hydrophila*. Untuk menghasilkan produk perikanan non-toksik, perlu dilakukan penggunaan bahan-bahan alami seperti ekstrak buah mengkudu yang diharapkan dapat menekan penyakit pada ikan (Sarida, Tarsim, Faizal, 2010).

1.2 Perumusan Masalah

Penyakit pada ikan merupakan salah satu kendala dalam kegiatan budidaya. Penggunaan antibiotik yang banyak mengandung bahan kimia dapat mengganggu ekosistem perairan. Mengatasi permasalahan tersebut diperlukan bahan alami salah satunya adalah ekstrak daun mengkudu (*M. citrifolia* L.) dengan kandungan senyawa fitokimia yaitu mengandung senyawa golongan flavonoid, saponin dan alkaloid.

Pengobatan terhadap ikan yang sudah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* telah dilakukan sejak lama oleh petani ikan. Tindakan yang sering dilakukan adalah mengobati ikan dengan menggunakan obat-obatan dan antibiotik seperti oxytetracyclin, chloramphenicol, erythromycin, kanamycin, dan rifampicin. Pemakaian antibiotik yang selama ini dilakukan oleh petani dikhawatirkan akan menimbulkan resistensi pada bakteri patogen. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain untuk mengganti antibiotik dengan bahan alami yang ramah lingkungan dan mudah terurai. Sebagai alternatif pengobatan, dapat digunakan obat tradisional. Kelebihan obat tradisional dibandingkan obat modern adalah mudah didapat, murah, aman, dan bahan baku obat mudah dibudidayakan.

Berdasarkan rumusan yang telah di paparkan, maka didapat permasalahan sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian ekstrak kasar daun Mengkudu dapat mengobati penyakit ikan Koi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*?
- b. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar daun Mengkudu terhadap jaringan histologi insang ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*?

1.3 Tujuan

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) terhadap histologi insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- Untuk mengetahui dosis terbaik terhadap histologi insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) terhadap bakteri *A. hydrophila* sehingga bermanfaat untuk pembudidaya ikan mencari alternatif bahan alami sebagai pengobatan terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dengan tidak merusak lingkungan perairan budidaya serta pencemaran lingkungan sekitar budidaya tersebut.

1.5 Hipotesis

- H_0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap histologi insang Ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- H_1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histologi insang Ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 17 April – 10 Mei 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Koi (*C. carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Koi

Berikut adalah klasifikasi Ikan Koi (*C. Carpio L.*) menurut Udin dan Sitanggang (2010), yaitu :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Superclass	: Osteichthyes
Kelas	: Actinopterygii
Subkelas	: Neopterygii
Infraclass	: Teleostei
Superorder	: Ostariophysi
Ordo	: Cypriniformes
Keluarga	: Cyprinidae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: <i>Cyprinus carpio L.</i>

Ikan koi memiliki warna tubuh yang cukup beragam, bentuk tubuh menyerupai torpedo dan gerakannya sangat dinamis (Gambar 1). Dalam populasinya, ikan koi menunjukkan kehidupan secara normal dan dapat berdampingan dengan ikan jenis lain bila berada dalam suatu tempat. Ikan koi merupakan salah satu ikan yang bersifat omnivor (pemakan segala) dan mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan (Firmansyah,2012).

Secara morfologi, ikan koi seperti ikan karper atau mas mempunyai bentuk tubuh agak memanjang dan memipih tegak. Mulut terletak diujung tengah dan dapat disembulkan. Dibagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut

berukuran pendek. Sisik ikan koi berukuran relatif besar dan digolongkan dalam tipe sisik sikloid berwarna hijau, biru, merah, kuning keemasan, atau kombinasi dari warna-warna tersebut sesuai dengan jenis ikannya. Ikan koi memiliki keunggulan pada warna yang terdapat pada tubuhnya (Esther dan Sipayung, 2010).



Gambar 1. Ikan Koi (*C. carpio*)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Semua jenis ikan termasuk ikan koi adalah hewan berdarah dingin. Artinya, temperatur tubuhnya sangat tergantung pada suhu air sebagai lingkungan hidupnya. Koi dapat hidup pada kisaran suhu 00 C-350 C, tetapi pada suhu yang ekstrem misalnya 00C ikan ini dapat berhenti makan dan sistem kekebalan tubuhnya hilang sehingga sangat mudah diinggapi penyakit. Suhu ideal untuk ikan koi adalah 150C - 250C. Pada kisaran suhu tersebut, fungsi tubuh koi sangat efektif dan tahan terhadap berbagai ancaman serangan penyakit. Kisaran pH yang dibutuhkan koi agar tumbuh sehat adalah 6,5-8,5 (Agus, Yusufi, Bisrul, 2002).

Ikan koi secara alami hidup di air deras sehingga membutuhkan air jernih dan berkadar oksigen tinggi. Pemeliharaan ikan koi yang terbaik adalah di kolam sehingga mudah mendapatkan makanan alami dan sinar matahari untuk merangsang pewarnaan tubuh. Koi berukuran kecil dapat ditempatkan di

akuarium, walaupun ini tidak dapat menjadi habitat permanen. Bila dipelihara dalam kelompok, koi akan belajar untuk tidak mengganggu ikan yang berukuran sama, tetapi memakan ikan yang lebih kecil. Koi suka menggali dasar kolam sehingga menyebabkan akar tanaman rusak (Supatra, Lili, Mulyani, Riyantini, 2010).

Penyebaran ikan koi diawali dengan budidaya ikan hias yang sedang berkembang di Indonesia, karena ikan koi sendiri merupakan ikan hias yang memiliki nilai tambah dan menarik. Ikan koi sebagai ikan hias yang mempunyai warna menarik, merupakan salah satu budaya Jepang yang sangat digemari. Ikan koi bukan merupakan komoditas baru di Indonesia, hanya saja kurang dikenal jika dibandingkan dengan ikan mas koki (Prasetya, 2013).

2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

Di alam bebas, saat ikan koi masih kecil senang makan udang-udangan renik seperti daphnia. Sejalan dengan pertumbuhan badannya, koi mulai makan jenis serangga air seperti jentik nyamuk atau lumut yang menempel pada tanaman. Sebagai hewan omnivora, koi akan memburu sepotong makanan atau mengaduk-aduk lumpur untuk mendapatkan makanan yang dibutuhkan. Ikan koi tidak memiliki gigi di bagian rahangnya, sehingga koi menyantap makanannya dengan gigi-gigi faring yang ada di rongga mulut (Udin dan Sitanggang, 2010).

Koi adalah *bottom feeder* (pemakan di dasar) dan omnivora (pemakan segala). Pakan buatan untuk pembesaran koi dapat diberikan dalam bentuk butiran (pellet). Sumber protein utama adalah formulasi kombinasi antara bahan nabati (misalnya tepung kedelai, tepung jagung, tepung gandum, tepung daun, dll) dan bahan hewani seperti tepung ikan dan tepung kepala udang serta multivitamin dan mineral seperti Ca, Mg, Zn, Fe, Co sebagai pelengkap pakan (Supatra, Lily, Mulyani, Riyantini.,2010).

2.1.4 Penyakit Ikan Koi (*C. carpio*)

Beberapa kasus serangan wabah penyakit ikan yang terjadi pada tahun-tahun sebelumnya menimbulkan kerugian yang tidak kecil. Pada tahun 1980 terjadi serangan bakteri *A. hydrophila* pada budidaya ikan mas dan koi, yang mengakibatkan kematian massal di sentra - sentra budidaya ikan mas dan ikan koi (Mulyani, Bachtiar, Kurnia., 2013).

Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan hias di kolam adalah penyakit parasit, yaitu penyakit yang disebabkan organisme parasit *Protozoa*, *Helminth* dan *Arthropoda*. Parasit merupakan hewan renik yang hidup pada organisme lain yang berbeda spesiesnya, selain mendapatkan perlindungan juga memperoleh makanan untuk kelangsungan hidupnya. Parasit yang sering menyerang pada ikan air tawar adalah *Trichodina* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Oodonium* sp., *Chilodonella* sp., *Cestoda* dan *Trematoda* (Prasetya, Subekti, Kismiyati, 2013).

2.2 Bakteri *Aeromonas Hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Holt (1979) dalam Prajitno (2007), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut :

Filum	: Protophyta
Klas	: Schizomyecetes
Ordo	: Pseudomonodal
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

A. hydrophila (Gambar. 2) merupakan bakteri yang secara normal (sering) ditemukan dalam air tawar. Infeksi *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika *host* tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya. Bakteri ini biasanya berukuran $0,7-1,8 \times 1,0-1,5 \mu\text{m}$ dan bergerak menggunakan sebuah flagel (Rahman, 2008).



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila*

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Istilah pertumbuhan umumnya digunakan untuk bakteri dan mikroorganisme lain, biasanya pada pertambahan jumlah atau massa sel dan bukan perubahan individu organisme. Bakteri yang dikembangbiakkan ke dalam suatu medium yang sesuai dan pada keadaan yang optimum bagi pertumbuhannya, maka terjadi kenaikan jumlah yang amat tinggi dalam waktu yang relatif pendek (Pelezar dan Chan, 1986 dalam Hidayati, 2009).

Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara aseksual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988). Bakteri *A. hydrophila* termasuk kelompok bakteri gram negatif. Bakteri *A. hydrophila* ini dapat tumbuh maksimal pada

kisaran suhu 38^o C – 41^o C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0^o C - 5^o C dengan kisaran pH 5,5 - 9 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap chlorine serta suhu yang dingin (faktanya *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah ± 4 °C), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan. Disamping itu, bakteri *A. hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11,0 (Rahman,2008).

2.2.3 Infeksi Bakteri *A. hydrophila* dan Gejalanya

Bakteri *A. hydrophila* secara normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik. 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, 2003).

A. hydrophila yang patogen, diduga memproduksi faktor-faktor eksotoksin dan endotoksin, yang sangat berpengaruh pada patogenitas bakteri ini. Eksotoksin merupakan komponen protein terlarut, yang disekresikan oleh bakteri hidup pada fase pertumbuhan eksponensial. Produksi toksin ini biasanya spesifik pada beberapa spesies bakteri tertentu baik gram positif maupun gram negatif, yang menyebabkan terjadinya penyakit terkait dengan toksin tersebut (Rahman,2008).

2.3 Daun Mengkudu (*M. citrifolia* L.)

2.3.1 Klasifikasi dan morfologi Daun Mengkudu (*M. citrifolia* L.)

Menurut Rahmawati (2009), menjelaskan klasifikasi dari Mengkudu (*M. citrifolia* L.) dapat dilihat sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheophyta</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Rubiales</i>
Famili	: <i>Rubiaceae</i>
Genus	: <i>Morinda</i>
Spesies	: <i>Morinda Citrifolia</i> L

Ciri dari tumbuhan mengkudu salah satunya memiliki daun yang letaknya berhadap-hadapan. Ukuran daun yang besar, tebal dan tunggal. Daun mengkudu memiliki ukuran sekitar 15-50 x 5-17 cm, tepi daun rata, mempunyai ujung yang lancip, pangkal daun berbentuk pasak (Gambar. 3). Daun mengkudu berwarna hijau mengilap dan selain dapat digunakan sebagai bahan sayuran daunnya juga dapat digunakan sebagai obat (Rahmawati,2009).



Gambar 3. Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Daun mengkudu memiliki ciri daun tanaman termasuk daun tunggal, terdiri atas satu helai daun pada setiap satu tangkai daun (*petioles*). Daun berbentuk oval sampai elips berukuran panjang 10-40 cm dan lebar 5-17 cm dengan ujung daun runcing. Permukaan atas daun licin, tebal, mengkilap, dan berwarna hijau tua. Daun penumpu lebar dan memanjang berbentuk bulan sabit terletak diantara tangkai daun (Rukmana, 2002). Daun Mengkudu memiliki khasiat untuk obat sakit perut yang biasanya digunakan oleh masyarakat untuk mengobati karna memiliki kandungan antrakuinon dan scoleptin yang aktif sebagai anti mikroba (Purba 2007).

2.3.2 Habitat dan Penyebaran Mengkudu (*M. citrifolia* L.)

Tanaman mengkudu berbuah sepanjang tahun. Mudah tumbuh pada berbagai tipe lahan, dengan daerah penyebaran dari dataran rendah hingga ketinggian 1500 mdpl. Ukuran dan bentuk buahnya bervariasi, pada umumnya mengandung banyak biji, dalam satu buah terdapat ≥ 300 biji, namun ada juga tipe buah mengkudu yang memiliki sedikit biji. Bijinya dibungkus oleh suatu lapisan atau kantong biji (Djauhariya 2006 dalam Dewi, 2010).

Tanaman mengkudu merupakan salah satu tanaman tropika yang cukup banyak ditemukan diberbagai tempat. Secara keseluruhan daun mengkudu mengandung zat nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh. Seperti protein, vitamin dan mineral (Sarida, Tarsim, Faizal, 2010).

2.3.3 Manfaat dan Kegunaan Mengkudu (*M. citrifolia* L.)

. Daun mengkudu memiliki kandungan antrakuinon, asam amino, glikosida, senyawa fenolik, dan asam ursulat. Kandungan alkaloid, fenol, glikosida, dan antrakuinon ini merupakan suatu zat aktif yang bersifat antimikrobia, antibakteri dan antiinflamasi. Kandungan senyawa aktif dalam

ekstrak daun mengkudu sebagai *feed additive* herbal alternatif pengganti antibiotik (Wardini,2012).

Buah mengkudu (*M. citrifolia* L.) yang diduga memiliki kandungan skopoletin, antrakuinon, acubin, dan alizarin yang merupakan zat fitokimia dan antibakteria. Ekstraksi buah mengkudu dengan pelarut etanol mampu menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophila*. Mengkudu mengandung alkaloid penting yaitu proxeronin (jenis asam koloid yang tidak mengandung gula, asam amino atau asam nukleat) (Sarida *et al.*, 2010).Tanaman mengkudu mengandung senyawa bersifat antibakteri yaitu antrakuinon, alkaloid,flavonoid, acubin dan alizarin yang mampu melawan mikroorganismepatogen (Baroro, Aini, Abadi, 2014).

2.4 Histopatologi

2.4.1 Pengertian Histopatologi

Histopatologi adalah ilmu yang mempelajari tentang struktur jaringan yang berhubungan dengan penyakit secara menyeluruh dengan menggunakan mikroskop pada sediaan jaringan yang dipotong tipis. Histopatologi bermula dari histologi yaitu ilmu mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel dipelajari dengan metode analitik mikroskopik dan kimia. Zat-zat kimia di dalam jaringan dan sel dapat dikenali dengan reaksi kimia yang menghasilkan senyawa berwarna tak dapat larut, diamati dengan mikroskop cahaya atau penghamburan elektron oleh presipitat yang dapat diamati menggunakan mikroskop elektron (Harjana, 2011).

Menurut Pazra (2008), histopatologi merupakan pengamatan terhadap penyakit secara mikroskopik dimana dalam pengamatan histopatologi data atau informasi yang didapatkan dalam bentuk organ/jaringan. Hal ini dapat membantu mengetahui ada atau tidaknya infeksi penyakit serta mengetahui proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit. Infeksi suatu penyakit dapat

didiagnosa dengan beberapa cara, salah satunya dengan diagnosa secara histopatologi yang bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang penyakit.

2.4.2 Pengamatan Histopatologi

Persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan spesimen, refiksasi, dan dekaflaso. Selanjutnya, pengolahan jaringan dilakukan dengan tahap dehidrasi, penjernihan, pemberian parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dalam bentuk blok yang akan dibuat irisan tipis jaringan dengan mikrotom sehingga menjadi preparat yang diwarnai dengan beberapa jenis pewarna jaringan, misalnya giemsa, eosin dan lain-lain (Panigoro, Astuti, Bahnan, Prayudha, Salfira, Walita, 2007).

Untuk pewarnaan rutin histopatologi insang, sediaan jaringan insang ikan mas (*C. carpio*) yang telah difiksasi di dalam formalin 10% selama 24 jam, selanjutnya diproses dengan *automatic histotechnicon*, yaitu di-dehidrasi dengan larutan ethanol konsentrasi bertingkat (80% 2 jam, 95% 2 jam, 95% 1 jam, absolut tiga kali, masing-masing 1 jam), dicuci dengan xilen tiga kali masing-masing 1 jam dan direndam parafin cair tiga kali masing-masing 2 jam. Selanjutnya, setelah dehidrasi, sediaan jaringan insang dicetak dengan parafin cair dan selanjutnya dipotong mikrotom dengan ketebalan 3-5 μm . Untuk pewarnaan rutin hematoxilin-eosin, selanjutnya, sediaan 3-5 μm jaringan insang di-deparafinisasi dengan xilen tiga kali, masing-masing 5 menit, ethanol konsentrasi menurun (absolut dan 95% masing-masing 5 menit), dicuci aquades masing-masing 1 menit, dicelupkan ke dalam Harris-Hematoxyline 20 menit, dicuci aquades, dicelup *acid alcohol* 2-3 celupan, dicuci aquades 1 menit dan 15 menit, dicelupkan ke dalam larutan eosin 2 menit, dimasukkan ke dalam ethanol 96% dua kali masing-masing 3 menit, ethanol absolut dua kali masing-masing 3 menit, dicuci xilen dua kali, masing-masing 5 menit. Selanjutnya, sediaan

jaringan insang diberi medium perekat gliserol dan ditutup dengan gelas penutup untuk diamati di bawah mikroskop (Wasito, Wuryastuti, Sutrisno 2013).

2.5 Insang

2.5.1 Pengertian Insang

Struktur jaringan insang terdiri dari lengkungan insang, sisir insang dan filamen insang yang di sokong oleh kartilago, sistem vaskuler dan lapisan lapisan epithelium. Tulang rawan ini tersusun pula dari lamella primer dan sekunder yang dibungkus oleh lapisan epithelium. Lamella primer berjejer sejumlah lamella sekunder, dimana lamella sekunder ini disokong pula oleh lamella sekunder yang berkontraksi serta mengatur lacuna yang terdapat pada insang (Natalia, 2007).

Menurut Asniatih (2013), pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Dalam penentuan penyakit pada ikan, diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan. Proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi yang terjadi pada jaringan organ pada ikan.

2.5.2 Fungsi Insang

Oksigen sebagai bahan pernapasan dibutuhkan oleh sel untuk berbagai reaksi metabolisme. Kelangsungan hidup ikan sangat ditentukan oleh kemampuannya memperoleh oksigen yang cukup dari lingkungannya. Berkurangnya oksigen terlarut dalam perairan, tentu saja akan mempengaruhi fisiologi respirasi ikan dan hanya ikan yang memiliki sistem respirasi yang sesuai dapat bertahan hidup. Insang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras, dengan beberapa filamen insang didalamnya. Tiap-tiap filamen insang terdiri atas banyak filamen, yang merupakan tempat pertukaran gas (Fujaya, 2008).

Ikan secara terus menerus memompa air melalui mulut dan di atas lengkung insang, dengan menggunakan pergerakan terkoordinasi dari rahang dan operculum (penutup insang) untuk ventilasi. Masing-masing lengkung insang mempunyai dua baris filamen insang, yang terbuat dari lempengan pipih yang disebut lamela. Darah yang mengalir melalui kapiler di dalam lamela akan mengambil oksigen dari air (Campbell, 2004).

2.6 Kualitas Air

2.6.1 Suhu

Kualitas air khususnya suhu, merupakan faktor yang sangat mempengaruhi pertumbuhan ikan. Suhu merupakan faktor yang mengendalikan aktifitas molekuler dalam metabolisme. Peningkatan suhu akan diikuti dengan perubahan laju penyerapan kuning telur, laju perkembangan dan laju metabolisme. Suhu air dapat mempengaruhi struktur dan fungsi protein dalam tubuh ikan (Devlin, 2002 *dalam* Muslim, 2010).

Dalam kualitas air, suhu memiliki peranan penting dalam terjadinya metabolisme dalam tubuh suatu organisme. Suhu lingkungan yang semakin tinggi menyebabkan kadar oksigen terlarut juga semakin menurun sedangkan pada saat suhu rendah, kecepatan metabolisme akan menurun. Sehingga sistem kekebalan tubuh juga akan mempengaruhi hidup organisme yang ada dalam perairan (Ahdiyah, 2011).

2.6.2 pH

Keasaman air untuk reproduksi atau perkembangbiakan biasanya akan baik pada pH 6,4 – 7,0 sesuai jenis ikan oleh karena itu dalam pemeliharaan ikan sebaiknya kondisi air dijaga agar berada pada kisaran nilai tersebut (Lesmana. 2001). Derajat keasaman lebih dikenal dengan istilah pH (singkatan dari *pulsance negative de H*), yaitu logaritma dari kepekatan ion-ion H (hidrogen) yang terlepas dalam satu cairan. Derajat keasaman atau pH air menunjukkan

aktifitas ion hydrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hydrogen (KordidanTanjung, 2007).

Derajat Keasaman (pH) merupakan banyaknya ion hidrogen yang terkandung di dalam air. Setiap organisme yang hidup di perairan memiliki kadar pH optimum untuk kehidupannya, termasuk ikan dan organisme lainnya. Nilai pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang berhubungan dengan susunan spesies dari ikan dan kisaran pH yang optimum bagi ikan adalah 6,5-8,5 (Aqil,2010).

2.6.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut dapat berasal dari proses fotosintesis tumbuhan air dan dari proses fotosintesis tumbuhan air dan dari udara yang masuk ke dalam air. Konsentrasi DO dalam air tergantung pada suhu dan tekanan udara. Pada suhu 20⁰C tekanan udara satu atmosfer konsentrasi DO dalam keadaan jenuh 9 mg/l dan pada suhu 50⁰ C (tekanan udara sama) konsentrasi DO adalah 5,6 ppm (Manik, 2003).

Menurut Swingle (1968) dalam Praseno, Krettiawan. Asih dan Sudrajat (2010), kandungan oksigen (DO) minimum 2 mg/l dalam keadaan normal tidak tercemar oleh senyawa beracun (toksik). Kandungan oksigen terlarut minimum ini sudah cukup mendukung kehidupan organisme yang hidup dia air.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah baskom, nampan, sectio set, timbangan digital, mikroskop, kamera digital, *beaker glass*, gelas ukur, *rotary evaporator vacuum*, akuarium, aerator, batu aerasi, selang aerator, blower, seser, termometer, pH meter, DO meter, spektrofotometer, *tissue processor*, *Embedding machine*, Mikrotom, Fotomikroskop, Labu erlemayer, botol akuades, corong, autoklav.

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Hewan uji yang digunakan selama penelitian ini adalah ikan koi (*C. carpio L.*) yang berasal dari petani ikan di daerah Batu. Ikan yang digunakan berukuran 7 - 12 cm. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml yang telah diencerkan dengan kepadatan awal 10^{10} sel/ml. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) kertas saring, etanol 90%, *Xylo*, Formalin 10%, kertas label, alkohol 70%, tisu, aquades, NB (*Nutrient Both*), sarung tangan, masker, parafin cair, hematoksilin eosin, benang, aseton, TSA (*Trypticase Soy Agar*), TSB (*Trypticase Soy Broth*), pakan ikan (pellet), air tawar.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil. Hasil yang akan didapat menegaskan bagaimana hubungan antara variabel-variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan

perlakuan-perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Sugiyono, 2010).

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu peneliti mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subyek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau dengan perantara sebuah alat, baik alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini 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 laboratorium, rumah kaca dan peternakan dan karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000). Perhitungan RAL dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rata-rata (mean)

T = pengaruh faktor perlakuan

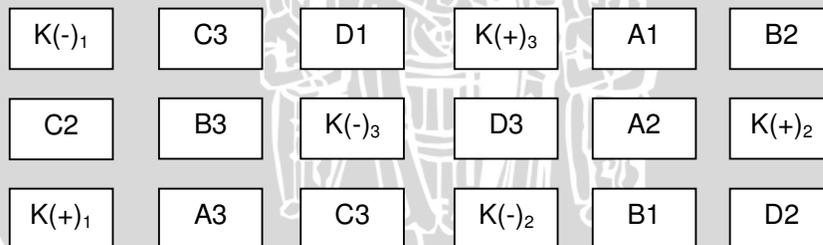
ε = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak daun mengkudu terhadap bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini digunakan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu, sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian

ekstrak. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 18 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak daun mengkudu 200 ppm
- B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak daun mengkudu 400 ppm
- C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman Ekstrak daun mengkudu 600 ppm
- D : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak daun mengkudu 800 ppm
- K(-) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa perendaman ekstrak daun mengkudu
- K(+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak daun mengkudu

Untuk denah penelitian disajikan pada Gambar 4 berikut :



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- A-B-C-D : perlakuan
- K(-) : kontrol negatif
- K(+)
- 1,2,3 : ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a) Persiapan Ikan

Ikan uji yang digunakan adalah ikan koi (*C. carpio*) yang diperoleh dari petani ikan di daerah kota Batu. Dipilih ikan koi yang sehat sebanyak 180 ekor ukuran 7-11 dan diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui ikan yang akan digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara ad libitum 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feses. Apabila ikan sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka ikan siap untuk digunakan.

b) Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 40 x 40 x 40 cm³ sebanyak 18 buah. Akuarium dicuci dengan detergen kemudian direndam dengan khlorin selama 30 menit dan kemudian dinetralkan dengan Na-Thiosulfat. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 2 hari untuk kemudian siap diisi dengan air pemeliharaan. Menurut Syamashithoh (2014), air pemeliharaan ikan diisi sebanyak 15 liter untuk kepadatan 10 ekor ikan ukuran 7-11 cm. Akuarium dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk ketersediaan oksigen. .

c) Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*M. citrifolia* L.)

Pembuatan ekstrak kasar daun mengkudu dilakukan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5. Daun mengkudu seberat 5 kg dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, setelah dikeringkan terjadi penyusutan berat sebesar 2 kg. Selanjutnya daun yang sudah kering di oven

kemudian dihaluskan dengan blender sampai berbentuk serbuk. Dari 5 kg bahan basah dapat menghasilkan serbuk kering sebanyak 754 gram.

Serbuk daun mengkudu 200 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 sebanyak 1000 ml kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Toples ditutup dengan aluminium foil agar etanol tidak menguap. Proses maserasi ini didiamkan selama 2 hari pada tempat yang gelap. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian di uapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari daun mengkudu. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu 45° C dengan kecepatan 80 rpm (Aryadi, 2014). Setelah diupakan selama 1 jam maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental berwarna hijau kehitaman sebanyak 18 gr. Proses ekstraksi daun mengkudu dapat dilihat pada Lampiran 2.

d) Pengenceran Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara, Jawa Tengah. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^9 sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran. Menurut Puspitasari *et al.* (2013) perhitungan suspensi bakteri dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Peremajaan bakteri 10^9 sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media TSB (*Trypticase Soy Broth*) dan diinkubasi selama 1 hari pada inkubator. Bakteri 10^9 sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media infeksi dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus kepadatan populasi. Bakteri yang digunakan sebanyak 1ml sehingga dibutuhkan aquadest larutan pengencer sebanyak 99 ml.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Sterilisasi Akuarium Penelitian

- Akuarium ukuran 40x40x40 cm yang akan dipergunakan dipersiapkan terlebih dahulu
- Akuarium dicuci dengan kaporit, didiamkan selama sehari kemudian dibilas dengan air bersih sampai bersih
- Akuarium dikeringkan dan disusun berdasarkan denah percobaan
- Masing-masing akuarium diisi air

b) Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Penginfeksian dilakukan dengan lama waktu maksimal 24 jam. Penginfeksian dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman. Pada perendaman ikan dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml menggunakan satu akuarium berukuran berukuran 80x40x50 cm³ yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 30 liter, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran:

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 10^9 &= 30.000 \times 10^7 \\
 V_1 &= \frac{30.000 \times 10^7}{10^9} \\
 &= 300 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Hasil tersebut dapat diketahui bahwa kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 300 ml dan air tawar 29700 ml. Setelah itu ikan koi dengan ukuran 5-7 cm sebanyak 150 ekor dimasukkan kedalam akuarium direndam selama 21 jam dikarenakan penelitian pendahuluan LD₅₀ (*lethal dosis*) ikan yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10⁸ sel/ml sudah mati 100% selama 10 jam, sehingga bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah 10⁷ sel/ml dengan perendaman 21 jam, selanjutnya ikan dipindahkan ke dalam air tawar. Selama waktu penginfeksian diamati gejala klinis yang ada pada ikan (warna tubuh pucat, sisik mengelupas, dan sering berenang ke permukaan). Setelah itu ikan dipindahkan ke dalam akuarium berisi air tawar. Selama penginfeksian ikan tidak diberi pakan.

c) Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*M. citrifolia L.*) pada Ikan Koi (*C. carpio L.*)

Berdasarkan penelitian pendahuluan pemberian ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 800 ppm menunjukkan kematian 100% pada jam ke 84, sehingga pemberian dosis ekstrak sebesar (200 ppm, 400 ppm, 600 ppm dan 800 ppm) dengan lama waktu 24 jam. Setelah ikan diobati dengan ekstrak mengkudu, ikan dimasukkan ke dalam akuarium dengan ukuran 40 x 40 x 40 cm masing-masing 10 ekor. Akuarium yang digunakan telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 2 minggu dan setiap dosis dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari secara adlibitum, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

d) Pembuatan Histopatologi Insang Ikan koi (*C. carpio L.*)

Setelah masa adaptasi selesai, insang ikan diambil sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Sampel insang dimasukkan ke dalam botol film dan

diberi bahan pengawet yaitu larutan davidson's, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan - tahapannya yaitu:

- **Tahap Fiksasi**

Sampel insang ikan yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan davidson's selama 24 jam.

- **Tahap Dehidrasi**

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

- **Tahap Clearing**

Tahap clearing untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alcohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan kedalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

- **Tahap Impregnasi**

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

- **Tahap Embedding (pengeblokan)**

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE (*Hemotocyn Eosin*)), sebelumnya obyek glass harus

diolasi dengan perekat polyisin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50 - 60°C kurang lebih selama 30 menit.

- **Teknik pewarnaan jaringan dengan menggunakan HE (*Hemotocyn Eosin*)**

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

- **Tahap *Mounting***

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

e) Pengambilan Jaringan Insang

Pengambilan insang dilakukan pada penelitian minggu kedua. Ikan diambil insangnya untuk diamati histopatologi insangnya. Sampel insang yang sudah diambil dimasukkan ke dalam toples kaca kecil dan diberi bahan pengawet berupa larutan davidson's, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi insang ikan koi (*C. carpio*).

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis ikan dan kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

Hasil uji histopatologi insang ikan koi (*Cyprinus carpio*) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan insang ikan koi yang telah diberi ekstrak, dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan metode semi kuantitatif menurut Kakkilaya (2002), yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig zag) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6.Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zig Zag)

Metode semi kuantitatif dilihat dari lima luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringan insang dengan kriteria hiperplasia, fusi, dan nekrosis. Persentase kerusakan setiap luas bidang

lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan menurut KIM (2006) dalam Raza'i (2008) dengan rumus:

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Kemudian persentase yang telah didapatkan diberi skoring dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan insang ikan koi 0-5%, angka 2 tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50% dan angka 4 tingkat persentase kerusakan jaringan >50%.

Tabel 1. Persentase Nilai Skoring Pada Jaringan Insang (Raza'i, 2008)

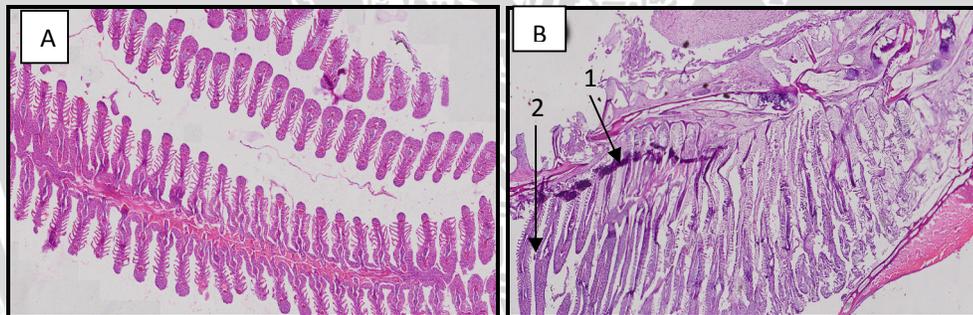
Nilai Skoring	Persentase Kerusakan (%)
1	0-5%
2	6-25%
3	26-50%
4	>50%

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Histopatologi Insang

4.1.1 Gambaran Histopatologi Insang Ikan Normal dan yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan hasil penelitian gambaran jaringan insang ikan koi normal (tanpa infeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun mengkudu *M. citrifolia* L.) dan ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar (5) dengan pembesaran 400x. Dimana kondisi insang ikan koi (*C. carpio*) normal menunjukkan bentuk histologi dengan penampakan filamen dan lamella yang sehat, sedangkan pada insang yang terinfeksi bakteri terlihat banyak terjadi kerusakan jaringan pada lamella dengan adanya pembengkakan atau sel-sel yang membesar dan perubahan struktur lamella pada insang ikan koi.



Gambar 5. A. insang normal (tanpa infeksi dan perlakuan), B insang rusak (diinfeksi bakteri *A. hydrophila*). 1. Hiperplasia, 2. Fusi. Perbesaran 400x.

Pada gambar 5 (A), pada struktur jaringan insang ikan yang normal memperlihatkan jaringan insang yang masih utuh. Strukturnya terdiri dari lengkung insang, sisir insang dan filamen insang. Pada lengkung insang dan lamella di sokong oleh kartilago (tulang rawan), sistem vaskuler dan lapisan epithelium. Menurut Fujaya (2004), insang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras dengan beberapa filamen insang di dalamnya. Tiap-tiap

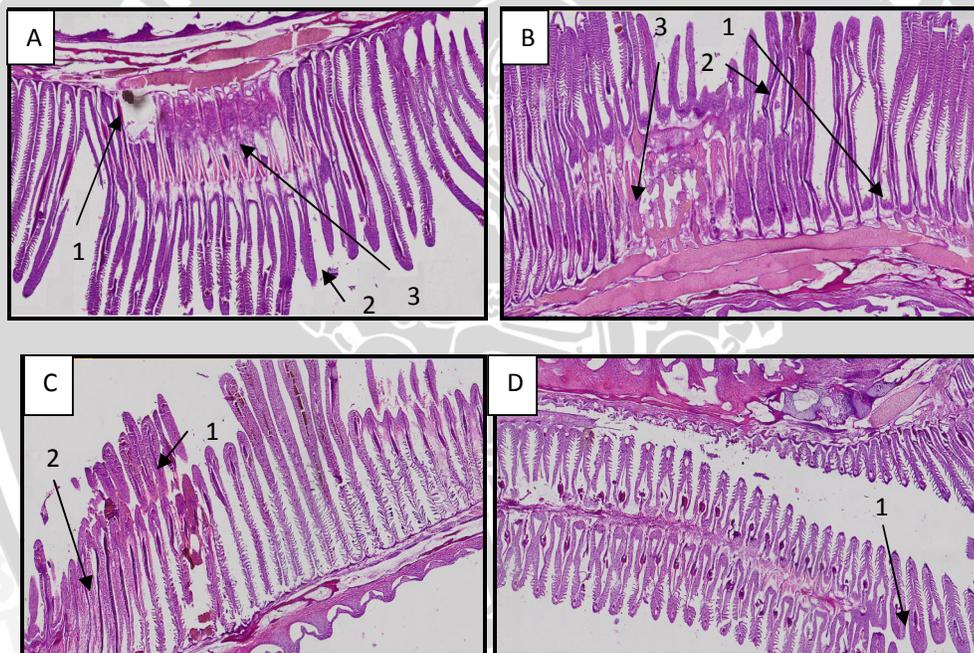
filamen terdiri atas banyak lamella, yang merupakan tempat pertukaran gas. Tugas ini ditunjang oleh struktur lamella itu yang tersusun atas sel-sel epitel yang tipis pada bagian luar, membran dasar dan sel-sel tiang sebagai penyangga pada bagian dalam. Pinggiran lamella yang tidak menempel pada lengkung insang sangat tipis, ditutupi oleh epitelium dan mengandung jaringan pembuluh darah kapiler. Jumlah dan ukuran lamella sangat besar variasinya, tergantung tingkah laku ikan.

Sedangkan pada Gambar (B), insang yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat mengalami kerusakan. Hal ini disebabkan telah terjadi penginfeksian bakteri *A. hydrophila*. *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif dan sering menimbulkan penyakit pada ikan air tawar. Gejala penyakit yang disebabkan *A. hydrophila* dapat menyebabkan gangguan pada sirip, ekor dan organ dalam lainnya seperti insang. Seperti yang dikatakan oleh Natalia (2007), bahwa adanya bahan pencemar atau bakteri dalam perairan akan menyebabkan gejala kerusakan ditandai dengan pendarahan juga pembengkakan pada percabangan lamella.

Insang ikan merupakan organ yang sangat penting dan sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup ikan karena fungsinya sebagai tempat bernafas (pertukaran udara). Peran insang yang sangat penting dan berhubungan langsung dengan air sebagai media hidupnya. Jika dalam media hidupnya yaitu air terdapat bakteri patogen yang dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan insang ikan, maka bisa menyebabkan kematian bagi ikan itu sendiri. Menurut Saputra (2013), perubahan yang terjadi dalam lingkungan perairan akan mempengaruhi struktur dan fungsi organ pada ikan.

4.1.2 Gambaran Histopatologi Insang Ikan Koi yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Daun mengkudu (*M. citrifolia* L)

Berdasarkan hasil penelitian gambaran jaringan insang ikan koi yang diberi perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada gambar 5. Dengan menggunakan perbesaran 400x kondisi insang ikan koi (*C. carpio*) setelah diberi perlakuan perendaman dengan dosis yang berbeda memperlihatkan bentuk histopatologi yang berbeda-beda pada tiap perlakuan. Meskipun tidak terlihat secara langsung bahwa pemberian obat dapat mempengaruhi pemulihan jaringan, tetapi perbedaan kerusakan yang terjadi pada jaringan insang dengan penambahan ekstrak yang berbeda dapat ditunjukkan melalui nilai skoring.



Gambar 6. Jaringan Histopatologi Insang Ikan Koi yang telah Diberi Perlakuan (A) Dosis 200 ppm, (B) Dosis 400 ppm, (C) Dosis 600 ppm dan (D) Dosis 800 ppm. (1) Hiperplasia, (2) Fusi dan (3) Nekrosis. Perbesaran 400x

Pada perlakuan A, B, C dan D dengan dosis ekstrak yang diberikan masing-masing adalah 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm dapat diketahui mengalami kerusakan jaringan yang sama yaitu hiperplasia, fusi dan nekrosis. Hasil skoring yang telah dilakukan juga memperlihatkan hasil

kerusakan yang berbeda pada tiap perlakuan. Pada hasil analisis data keragaman satu arah (*one way anova*) didapatkan hasil bahwa kerusakan yang terjadi pada jaringan insang yaitu hiperplasia, fusi dan nekrosis menunjukkan hasil yang berbeda nyata.

Pada gambar diatas dapat kita lihat gambar (B), insang yang terinfeksi bakteri terlihat mengalami kerusakan parah. Hal ini terlihat dari jaringan insang yang mengalami hiperplasia, fusi dan nekrosis sehingga mempersulit pernafasan yang akhirnya dapat menyebabkan kematian pada ikan.

Hiperplasia (nomor 1) yang terdapat pada insang mengakibatkan tidak terkontrolnya jaringan. Pembentukan jaringan secara berlebihan karena bertambahnya jumlah sel. Menurut Reinnikka (2013), hiperplasia dapat terjadi dikarenakan jaringan mengalami iritasi akibat adanya polutan dan biasanya disertai dengan peningkatan jumlah sel mukus di dasar lamella.

Fusi (nomor 2) terlihat adanya setiap lamella berdempetan antara satu sama lain. Menurut Velmugran (2009) dalam Widayati (2010), menyatakan bahwa kejadian fusi lamela merupakan level kerusakan cukup parah, karena fusi lamela merupakan kerusakan tahap lanjutan dari kerusakan hiperplasia.

Nekrosis (nomor 3) terlihat adanya pembengkakan sel-sel insang. Nekrosis pada histologi insang ditandai dengan terdegradasinya sel-sel yang ada pada insang. Hal ini dikarenakan adanya sel-sel insang yang mengalami kematian sehingga insang terlihat berlubang dan kehilangan bagian-bagian selnya biasanya ditandai dengan bagian sel yang memudar (mati). Menurut (Sukarni,2012), kerusakan jaringan nekrosis disebabkan infeksi bakteri *A. hydrophila* yang biasanya dapat dikenali dari bentuk intinya yang mengecil, membesar, kabur atau hilang. Nekrosis juga dikenali dari hilangnya sitoplasma saat pewarnaan jaringan.

Analisis data kerusakan pada histologi jaringan insang yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) adalah sebagai berikut :

a. Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi yang diinfeksi oleh bakteri bakteri *A. hydrophilla* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) memberikan hasil rata-rata yang berbeda pada histopatologi insang ikan Koi (*C. carpio*) yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Skoring Kerusakan Hiperplasia pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan Hiperplasia	Ulangan Rerata pandang			Jumlah	Rerata
200ppm(A)	2,4	2,2	2,2	6,8	2,26
400ppm(B)	2,2	2,2	2	6,4	2,13
600ppm(C)	2	1,8	2	5,8	1,93
800ppm(D)	1,2	1,2	1,4	3,8	1,26
kontrol positif (+)	2,6	2,8	2,8	8,2	2,73
kontrol negatif (-)	1	1	1	3	1

Berdasarkan Tabel 2 diatas, dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan hiperplasia pada jaringan insang ikan koi yang yang terendah diperoleh pada perlakuan D (800 ppm), hal tersebut diduga karena dosis ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan sudah memiliki kadar yang baik dalam pemberian pengobatan dan mampu memperbaiki jaringan. Menurut Trupm (1980) dalam Ratnawati *et al* (2013), insang merupakan organ respirasi yang selalu bersentuhan dengan air mengandung bakteri pada fase ekspirasi. Pada waktu air mengalir melalui insang menyebabkan lamella primer merentang sehingga lamela sekunder saling bersentuhan, hal ini menyebabkan air yang mengandung bakteri bersentuhan dengan lamella, akhirnya masuk ke dalam kapiler darah dan merusak jaringan yang dilaluinya. Penyatuan lamella sekunder disebabkan

karena hiperplasia sel basal, sel epitelium dan sel pilaster, walau tidak sebanyak seperti pada sel basal. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu terhadap kerusakan hiperplasia pada jaringan insang dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 3 dan perhitungan pada Lampiran 5.

Tabel 3. Uji Sidik Ragam Skoring Hiperplasia Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,77	0,59	59**	4,07	7,59
Acak	8	0,10	0,01			
Total	11					

Keterangan : **berbeda sangat nyata

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hiperplasia pada histopatologi insang ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Baroro *et al*, (2014), Tanaman mengkudu mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu antrakuinon yang mampu melawan mikroorganisme patogen dan dengan potensi yang dimiliki mengkudu sebagai antibakteri yang dapat menyembuhkan jaringan yang rusak karena infeksi bakteri. Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan, dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada Tabel 4.

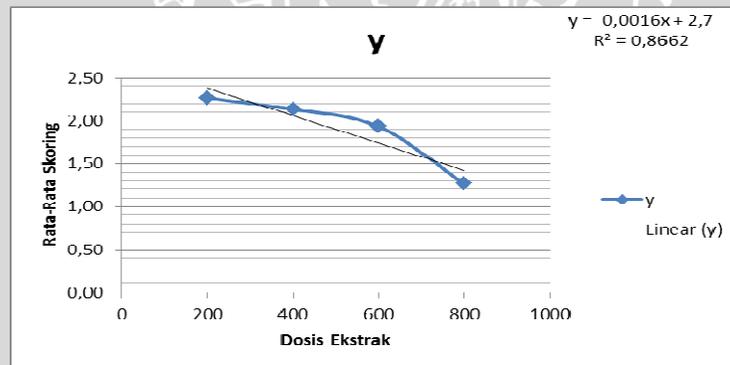
Berdasarkan Tabel 4 dibawah dapat dilihat, kerusakan jaringan yang mengalami hiperplasia ditandai dengan notasi a,b,c, dan d. Hal ini ditunjukkan pada perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm) ditandai dengan notasi a dan perlakuan b berbeda nyata dengan perlakuan B (400 ppm) dan perlakuan A (200 ppm) ditandai dengan notasi c. dan tidak berbeda nyata pada perlakuan A dan B.

Tabel 4. Uji BNT Kerusakan Hiperplasia Histopatologi Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,27	1,93	2,13	2,27	
D	1,27	–				a
C	1,93	0,67 **	–			b
B	2,13	0,87 **	0,20 *	–		c
A	2,27	1,00 **	0,33 **	0,13 ^{ns}	–	c

Keterangan : ns :non significant (tidak berbeda) * : berbeda nyata, **: berbeda sangat nyata

. Perbedaan notasi uji BNT kerusakan hiperplasia pada insang ikan koi diduga dipengaruhi oleh penambahan dosis ekstrak kasar daun mengkudu, seperti yang dikatakan Marlina (2013), bahwa dosis yang benar harus tetap diperhatikan dan pemberian dosis yang tepat dapat menyembuhkan penyakit. Dosis yang berbeda juga ditunjukkan oleh hasil skoring, untuk mengetahui maka dilakukan uji polynomial orthogonal yang disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Regresi Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Grafik di atas dapat diketahui bahwa hubungan antara dosis ekstrak kasar daun mengkudu dengan kerusakan hiperplasia pada insang berbanding terbalik, yaitu semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun mengkudu maka nilai kerusakan semakin rendah, dan didapatkan persamaan $y = -0,0016x + 2,7$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yakni 0,8662 menunjukkan dosis ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan pengaruh terhadap presentase kerusakan insang

hiperplasia mendekati 1. Menurut Jonathansarwono (2004), keselerasan model regresi dapat diterangkan dengan menggunakan nilai r^2 semakin besar nilai tersebut maka model semakin baik. Jika nilai mendekati 1 maka model regresi semakin baik. Nilai r^2 mempunyai karakteristik diantaranya: 1) selalu positif, 2) Nilai r^2 maksimal sebesar 1. Jika Nilai r^2 sebesar 1 akan mempunyai arti kesesuaian yang sempurna. Maksudnya seluruh variasi dalam variabel Y dapat diterangkan oleh model regresi. Sebaliknya jika r^2 sama dengan 0, maka tidak ada hubungan linier antara X dan Y.

b. Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia* L.) memberikan hasil rata-rata yang berbeda pada histopatologi insang ikan Koi (*C. carpio*) yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Skoring Kerusakan Fusi pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan Fusi	Ulangan Rerata Pandang			Jumlah	Rerata
200ppm (A)	2,4	2,5	2,4	7,3	2,43
400ppm(B)	2,5	2,3	2,3	7,1	2,36
600ppm(C)	2,4	2	2	6,4	2,13
800ppm(D)	1,8	1,5	1,5	4,8	1,6
kontrol positif (+)	3,2	3	3,2	9,4	3,13
kontrol negatif (-)	1	1	1	3	1

Berdasarkan Tabel 5 diatas, dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan fusi pada jaringan insang ikan Koi (*C. carpio*) yang yang terendah diperoleh pada perlakuan D (800 ppm), hal tersebut diduga karena dosis ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan sudah memiliki berpengaruh dalam pemberian pengobatan dan mampu memperbaiki jaringan insang yang terinfeksi. Hal ini sesuai dengan yang dikatakan Sarida (2010), ekstraksi daun mengkudu dengan

larutan etanol mampu menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophilla* karena pada buah mengkudu terdapat antibakteri yang bekerja seperti senyawa fenol yang dapat mengganggu aktivitas enzim yang diproduksi oleh bakteri dan kemungkinan ekstrak kasar daun mengkudu juga dapat bersifat antibakteri. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu terhadap kerusakan fusi pada jaringan insang dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji Sidik Ragam Skoring Fusi Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,28	0,43	14,33**	4,07	7,59
Acak	8	0,20	0,03			
Total	11					

Keterangan : ** Berbeda Sangat Nyata

Tabel 6 diatas menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan fusi pada histopatologi insang ikan koi yang diinfeksi bakteri bakteri *A. hydrophilla*. Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan yang ada, dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada tabel 7.

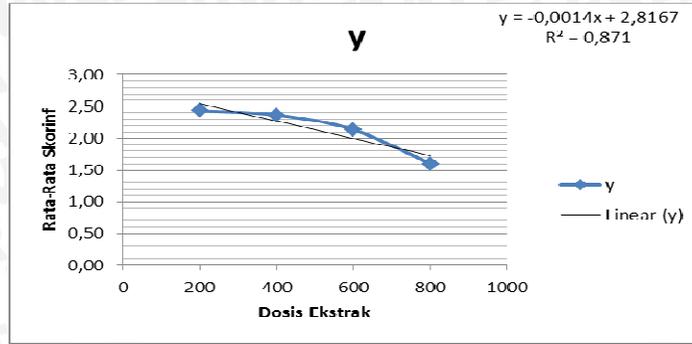
Tabel 7. Uji BNT Skoring Fusi Histopatologi Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,60	2,13	2,37	2,43	
D	1,60	–				a
C	2,13	0,53**	–			b
B	2,37	0,77**	0,23 ns	–		b
A	7,30	5,70 **	5,17 **	4,93 **	–	d

Keterangan : ns :non significant (tidak berbeda) * : berbeda nyata, **: berbeda sangat nyata

Tabel 7, terlihat kerusakan jaringan yang mengalami fusi yang ditandai dengan notasi a,b,bc dan d. pada tabel diatas menunjukkan bahwa perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C (600 ppm) ditandai dengan notasi a dan perlakuan C juga berbeda dengan perlakuan B (400 ppm) dan perlakuan A (200 ppm) ditandai dengan notasi b, hal ini menunjukkan bahwa perlakuan D memberikan pengaruh terhadap kerusakan jaringan insang ikan koi. Perbedaan notasi uji BNT kerusakan fusi pada insang ikan koi diduga karena dipengaruhi oleh penambahan ekstrak kasar daun mengkudu yang mengandung senyawa flavonoid, karena menurut Haryani *et al.*, (2012), flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonid disintesis tanaman untuk merespon infeksi mikroba. Mekanisme kerja senyawa flavonoid dalam mengganggu aktifitas bakteri. Dosis yang berbeda juga akan mempengaruhi tingkat pemulihan jaringan insang ikan koi yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* yang berbeda ditunjukkan oleh nilai skoring. Untuk mengetahui maka dilakukan uji polynominal orthogonal yang disajikan pada Gambar 8.

Pada grafik dapat diketahui bahwa hubungan antara dosis ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) dengan kerusakan fusi pada insang berbanding terbalik, yaitu semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun mengkudu maka nilai kerusakan semakin rendah, dan didapatkan persamaan $y = -0,0014x + 2,8167$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yakni 0,871 menunjukkan dosis ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan berpengaruh terhadap presentase kerusakan insang fusi insang ikan koi dengan nilai presentase mendekati 1.



Gambar 8. Grafik Regresi Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Menurut Junaidi (2008), *R Square* (R^2) sering disebut dengan koefisien determinasi, adalah mengukur kebaikan sesuai (*goodness of fit*) dari persamaan regresi; yaitu memberikan proporsi atau persentase variasi total dalam variabel terikat yang dijelaskan oleh variabel bebas. Nilai R^2 terletak antara 0 – 1, dan kecocokan model dikatakan lebih baik kalau R^2 semakin mendekati 1.

c. Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) memberikan hasil rata-rata yang berbeda pada histopatologi insang ikan koi yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Hasil rerata kerusakan jaringan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Skoring Kerusakan Nekrosis pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan Nekrosis	ulangan rerata pandang			jumlah	Rerata
200ppm (A)	2,8	3	2,8	8,6	2,87
400ppm(B)	2,6	2,8	2,6	8	2,67
600ppm(C)	2	2	2,2	6,2	2,07
800ppm(D)	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27
kontrol positif (+)	2,8	3	2,8	8,6	2,87
kontrol negatif (-)	1,2	1	1,2	3,4	1,13

Berdasarkan Tabel 8 diatas, dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan nekrosis pada jaringan insang ikan Koi (*C. carpio*) yang yang terendah diperoleh pada perlakuan D (800ppm), hal tersebut diduga karena dosis ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia L.*) yang diberikan sudah berpengaruh dalam pemberian pengobatan dan mampu memperbaiki jaringannya. Menurut (Rinawati, 2011 dalam Salikin *et al.*, 2014), mekanisme antibakteri flavonoid berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak, kestabilan dinding sel dan membran plasma terganggu kemudian pada akhirnya bakteri mengalami lisis. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mengkudu terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan insang dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 9 .

Tabel 9. Uji Sidik Ragam Skoring Nekrosis Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4,65	1,55	115**	4,07	7,59
Acak	8	0,10	0,01			
Total	11					

Keterangan : **berbeda sangat nyata

Pada Tabel 9 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun mengkudu selama masa pemeliharaan ikan koi berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis pada histopatologi insang ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Pada hasil F hitung jumlah kerusakan yang ada pada insang ikan berubah dengan adanya pemberian ekstrak daun mengkudu Sehingga untuk mengetahui perbedaan tiap perlakuan, dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang disajikan pada tabel 10.

Tabel 10. Uji BNT Skoring Nekrosis Histopatologi Insang Ikan Koi *C. carpio*)

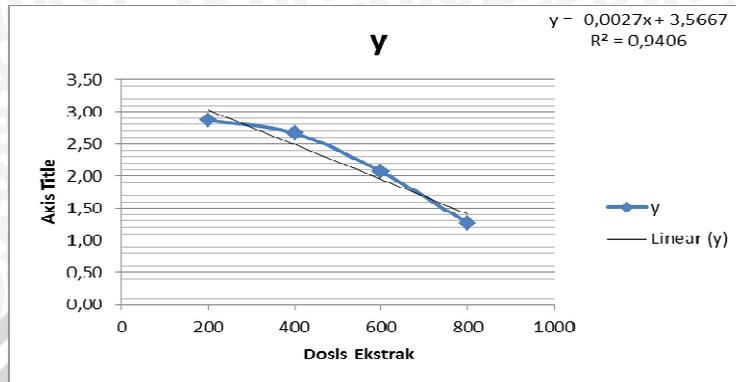
Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,27	2,07	2,67	2,87	
D	1,27	–				a
C	2,07	0,80 **	–			b
B	2,67	1,40 **	0,60 **	–		c
A	2,87	1,60 **	0,80 **	0,20 ns	–	c

Keterangan : ns :non significant (tidak berbeda) * : berbeda nyata, **: berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 10, terlihat kerusakan jaringan yang mengalami nekrosis yang ditandai dengan notasi a,b,c dan c. Hal ini berarti perlakuan D (800 ppm) berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (600 ppm) ditandai dengan notasi a dan perlakuan C juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan B (400 ppm) dan perlakuan A (200 ppm) ditandai dengan notasi b dan c dan pada perlakuan B dan A berbeda nyata dengan ditandai notasi c. Perubahan jaringan insang ikan Koi (*C. carpio*) diduga dipengaruhi oleh penambahan dosis ekstrak daun mengkudu (*M. citrifolia*). Dosis yang berbeda juga akan mempengaruhi tingkat pemulihan jaringan insang ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*, seperti menurut Aryadi (2013), daun mengkudu memiliki kandungan saponin, flavonoid, polifenol, tanin dan triterpen. Zat aktif tersebut bersifat bakterisidal dan dapat membunuh bakteri. Dengan pemberian ekstrak daun mengkudu pada ikan koi dapat mengurangi kerusakan jaringan insang. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh nilai skoring, maka dilakukan uji polynomial orthogonal yang dapat dilihat pada Gambar 9.

. Grafik dapat diketahui bahwa hubungan antara dosis ekstrak kasar daun mengkudu (*M. citrifolia*) dengan kerusakan jaringan nekrosis pada insang ikan koi berbanding terbalik, yaitu semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun mengkudu maka nilai kerusakan semakin rendah, dan didapatkan persamaan pada grafik $y = -0,0027x + 3,5667$ yang memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yakni 0,9406

menunjukkan dosis ekstrak kasar daun mengkudu yang diberikan berpengaruh terhadap presentase kerusakan insang nekrosis yang mendekati 1.



Gambar 9. Grafik Regresi Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Model regresi dapat diterangkan dengan menggunakan nilai koefisien determinasi ($KD = R \text{ Square} \times 100\%$) semakin besar nilai tersebut maka model semakin baik. Jika nilai mendekati 1 maka model regresi semakin baik.

4.2 Kualitas Air

Kualitas air memiliki peranan penting dalam pengkondisian perairan yang akan digunakan dalam pemeliharaan ikan budidaya, karena sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup ikan tersebut. Beberapa parameter yang perlu diamati dalam penentuan kualitas air selama pemeliharaan adalah suhu, derajat kesaman (pH), oksigen terlarut. Perubahan parameter kualitas air lingkungan yang cepat akan berakibat fatal bagi ikan. Seperti contohnya pada suhu, semakin tinggi suhu semakin meningkatkan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme akuatik yang selanjutnya meningkatkan konsumsi oksigen. Pengukuran kualitas air dilakukan pada setiap pagi jam 08.00 dan sore hari pada jam 16.00. Data pengukuran kisaran parameter kualitas air ditunjukkan pada Tabel 11 dan data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 6. Berikut adalah hasil pengukuran kualitas air selama penelitian.

Tabel 11. Kisaran parameter Kualitas Air Selama Penelitian.

No	Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air pada Perlakuan
1	Suhu (C°)	24-26° C
2	pH	7-8
3	Oksigen Terlarut (mg/l)	6-7 mg/l

4.2.1 Suhu

Suhu merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan. Suhu juga merupakan faktor yang mengendalikan aktivitas metabolisme dalam tubuh ikan. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu dalam perairan, dan dapat menyebabkan kematian bila peningkatan suhu melebihi batas optimum yang mampu ditolerir oleh ikan. Namun, bila kadar suhu rendah hal ini akan mempengaruhi nafsu makan ikan sehingga pertumbuhan ikan menjadi lambat.

Berdasarkan hasil pengamatan kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 25-26,5° C. nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena menurut Ulfyana (2012) kondisi suhu optimum dalam budidaya ikan koi berkisar antara 25-30°C. Jadi kondisi suhu dalam perairan selama pemeliharaan masih dapat ditolerir oleh ikan koi.

4.2.2 Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman merupakan gambaran jumlah atau aktivitas ion hidrogen dalam perairan. Secara umum, nilai pH menggambarkan seberapa besar tingkat keasaman atau kebasaaan suatu perairan. Perairan dengan nilai pH = 7 adalah netral, pH < 7 dikatakan kondisi perairan bersifat asam. Sedangkan pH > 7 dikatakan kondisi perairan bersifat basa.

Berdasarkan hasil pengamatan selama masa pemeliharaan kisaran pH antara 7-8, kisaran ini masih dalam nilai optimum seperti yang dikatakan oleh

(Lesmana, 2001), keasaman air untuk reproduksi atau perkembangbiakan biasanya akan baik pada nilai pH 6,4-7,0 sesuai jenis ikan oleh karena itu dalam pemeliharaan ikan sebaiknya kondisi air dijaga agar berada pada kisaran nilai tersebut

4.2.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut adalah salah satu unsur kimia yang sangat penting bagi kehidupan berbagai organisme. Oksigen digunakan oleh organisme perairan untuk proses respirasi dan menguraikan zat organik menjadi zat an-organik oleh mikroorganisme.

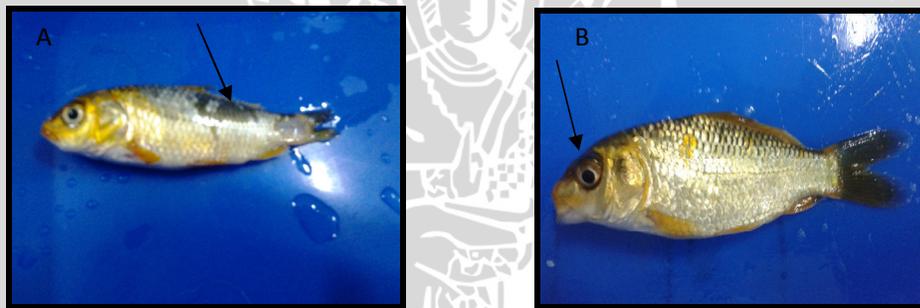
Berdasarkan hasil pengamatan selama masa pemeliharaan kisaran DO perairan antara 6-7 mg/l. Nilai parameter DO selama pemeliharaan masih dalam kondisi normal dimana menurut Swingle (1968) dalam Praseno, Krettiawan, asih dan Sudrajat (2010), kandungan oksigen (DO) minimum 2 mg/l dalam keadaan normal tidak tercemar oleh senyawa beracun (toksik). Kandungan oksigen terlarut minimum ini sudah cukup mendukung kehidupan organisme yang hidup dalam air.

4. 3 Gejala Klinis

Pada pengamatan gejala klinis dilakukan pengamatan selama masa pemeliharaan dua minggu, dimana terdapat perubahan gejala klinis yang sangat berbeda yaitu setelah dilakukan penginfeksian dan tanpa penginfeksian.

Gejala klinis yang ditunjukkan pada ikan kontrol positif K(+) adalah ikan berenang di dasar dan menggesek-gesekkan tubuhnya ke dinding akuarium. Ikan terlihat kurang aktif dan matanya pucat dan menonjol. Sisik ikan mengelupas ditandai banyak sisik yang terlepas dan berada di dasar perairan. Hal ini dikarenakan serangan bakteri *A. hydrophila* sudah mulai menyerang kekebalan tubuh ikan koi dan ikan tidak diberi perlakuan pengobatan sehingga gejala ikan sakit mulai dapat dilihat. Pada ikan K (+) tubuhnya mengeluarkan

lendir, hal ini terjadi karena ikan mulai mengeluarkan sistem pertahanan tubuhnya untuk melawan serangan bakteri. Berbeda dengan ikan kontrol negatif K (-) yang dipelihara di akuarium dengan kondisi lingkungan yang sama, ikan terlihat berenang aktif, badannya segar dan tidak terdapat cacat fisik atau gejala klinis yang lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Mulia (2003) gejala-gejala serangan bakteri *A. hydrophila* 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. Gejala klinis ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 10 di bawah ini :



Gambar 10. Gejala Klinis Ikan a. Sisik Mengelupas, b. Mata Menonjol

Perlakuan A (200 ppm) setelah dipelihara ikan masih menunjukkan gejala klinis seperti sisik mengelupas (Gambar a) mata menonjol (Gambar b) dan berenang menggesek-gesekkan ke dinding akuarium dan batu aerasi. Nafsu makan menurun dan pergerakan ikan masih lambat. Pada perlakuan B (400 ppm) tidak berbeda dengan perlakuan A (200 ppm) bahwa ikan gejala klinis ikan sakit juga masih terlihat. Sisik ikan mulai mengelupas dan badannya nampak pucat. Pada bagian mata terlihat keruh. Pada perlakuan C (600 ppm) sebagian ikan masih bergerak lamban namun ada beberapa ikan yang bergerak aktif. Ikan merespon pemberian makan dengan baik. Tidak ada sisik yang mengelupas dan

mata ikan juga tidak terlihat gejala klinis ikan sakit. Sedangkan pada perlakuan D (800 ppm) ikan terlihat sehat dan perairannya terjaga jernih karena kemungkinan ikan tidak mengeluarkan lendir yang menyebabkan perairan keruh. Tidak ada sisik ikan yang mengelupas dan nafsu makan ikan juga cukup baik.

Berdasarkan gejala klinis pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun mengkudu yang diberikan memberikan respon berbeda terhadap penyembuhan ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada dosis yang diberikan, dosis A (200 ppm) belum menunjukkan respon yang baik terhadap penyembuhannya. Begitu juga dengan dosis B (400 ppm) dan C (600 ppm) juga masih belum menunjukkan penyembuhannya. Pada dosis D (800 ppm) ikan mampu disembuhkan dengan pemberian ekstrak daun mengkudu sebesar 800 ppm. Pada dosis 800 ppm ikan sudah mampu disembuhkan oleh senyawa aktif yang berada pada ekstrak daun mengkudu. Seperti yang diketahui bahwa bahan aktif yang terdapat pada daun mengkudu bersifat sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk kelompok bakteri. Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel atau menghambat pengangkutan aktif melalui membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Mengkudu (*M. citrifolia L.*) terhadap Histopatologi Insang Ikan Koi (*C. carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” dapat disimpulkan bahwa :

- pemberian ekstrak kasar daun mengkudu dengan konsentrasi berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap histopatologi insang ikan koi yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*
- perlakuan terbaik adalah pada perlakuan D (800 ppm) didapatkan nilai skoring paling kecil pada hiperplasia 1,9%, fusi 1,6% dan nekrosis 1,2%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan untuk menggunakan ekstrak kasar daun mengkudu dengan dosis 800 ppm untuk pengobatan pada jaringan insang ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto dan Liviawati 1992. Fisiologi Hewan. Gramedia. Jakarta. 97 hlm.
- Agus, Muhamad. , Yusufi M, Tri., Dan Nafi, Bisrul. 2010. Pengaruh Perbedaan Jenis Pakan Alami Daphnia, Jentik Nyamuk Dan Cacing Sutera Terhadap Pertumbuhan Ikan Cupang Hias (*Betta Splendens*). *PENA Akuatika*. Vol. 2 No. 1: hlm 21-29
- Ahdiyah, U.L. 2011. Penggunaan Jerami Dan Serbuk Gergaji Sebagai Media Pengisi Pada Penyimpanan Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*) Tanpa Media Air. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 65 hlm.
- Aqil, D.E. 2010. Pemanfaatan Plankton Sebagai Sumber Makanan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Waduk H. Juanda, Jawa Barat. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. 70 hlm.
- Asniatih., Idris, Muhammad., Dan Sabilu, Kadir. 2013. Studi Histopatologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. Vol. 03 No.12. 13-21 hlm.
- Baroro, H.F., Luqman Q, A., Abdul L.A. 2014. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Dan Buah Mengkudu (*M. Citrifolia* L.) Terhadap *Blood Disease Bacterium*. *Jurnal HPT*. 2(2) : 1-11 hlm.
- Campbell, Neil A. 2004. Biologi. Erlangga. Jakarta. 504 hlm.
- Dewi, Fajar Kusuma. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*M. Citrifolia*, L.) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Surakarta. Surakarta. 1-38 hlm.
- Esther, Fransisca Dan Sipayung, Hendra. 2010. Panduan Praktis Memelihara Koi. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 60 hlm.
- Fujaya, Yushinta. 2008. Fisiologi Hewan Air. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 180 hlm.
- Harjani, Tri. 2011. Buku Ajar Histologi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta. 49 hlm.
- Hidayati, Nurul. 2009. Uji Efektifitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Teh (*Camellia sinensis* L, v. *assamica*) Tua Hasil Ekstraksi Menggunakan Pelarut Akuades Dan Etanol. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang. 64 hlm
- Kakkilaya, B.S. 2002. Peripheral Smear Examination For Malaria Parasite. Dr. B.S. Kakkilaya's Malaria Web Site. <http://www.malariasite.com/malaria/DiagnosisOfMalaria.htm> Diakses pada tanggal 15 Januari 2015. 602-608 hlm.
- Kameswari, M. S, H. Mahatmi, I. N. K. Besung. 2013. Perasan Daun Mengkudu (*M. citrifolia* L.) Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 2(2): 216-224 hlm.
- Kordi, K.M.G.H. Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan. Jakarta. PT. Rineka Cipta. 190 hlm.
- Lesmana, D.S. 2003. Mencegah dan Menanggulangi Penyakit Ikan Hias. Penebar Swadaya. Jakarta. 80 hlm.

- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2012. Pelacakan Gen Aerolysin Dari *A. Hydrophila* Pada Ikan Mas Yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner*. 13 (1) : 43-50 hlm.
- Mulia, D.S. 2003. Pengaruh Vaksin *Debris* Sel *A. hydrophila* Dengan Kombinasi Cara Vaksinasi dan Booster Terhadap Respons Imun dan Tingkat Perlindungan Relatif Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). Tesis. PPs. UGM. Yogyakarta. 60 hlm.
- Mulyani, Y., Eri B dan Untung K.A. 2013. Peranan Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Mangrove Terhadap Infeksi bakteri *A. hydrophila* Pada Ikan Mas (*C. carpio*). *Jurnal Akuatika*. 4(1) : 1-9 hlm.
- Muslim. 2010. Maskulinisasi Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Dengan Pemberian Tepung Testis Sapi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 55 hlm.
- Natalia, Mariani. 2007. Pengaruh Plumbum (Pb) Terhadap Struktur Insang Ikan Mas (*C. carpio*, L). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* . Vol. 12 No. 1. 42-47 hlm.
- Purba, S. 2007. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera : Plutellidae) di Laboratorium. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan. 46 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Prasetya, N ., Sri S. dan Kismiyati. 2013. Prevalensi Ektoparasit Yang Menyerang Benih Ikan Koi (*C. Carpio*) Di Bursa Ikan Hias Surabaya. *jurnal Ilmiah Peikanan dan Kelautan*. 5(1) : 113-116 hlm.
- Rahmawati, A. 2009. Kandungan Fenol Total Ekstrak Buah Mengkudu (*M. citrifolia*). Skripsi UI. Depok. 110 hlm.
- Rahman, MF. 2008. Potensi Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya Pada Ikan Gurami Yang Diinfeksi Bakteri *A. Hydrophila*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 1-62 hlm.
- Ratnawati, A., Uni P dan Kurniasih. 2013. Histopatologis Dugaan *Edwardsiella Tarda* Sebagai Penyebab Kematian Ikan Mas koki (*Crassius Auratus*): Postulat Koch. *Jurnal Sain Veteriner*. 31(1) : 55-65 hlm.
- Rennika., Aunorohim dan Nurlita A. 2013. Konsentrasi dan Lama Pemaparan Senyawa Organik dan Inorganik pada Jaringan Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) pada Kondisi *Sub Lethal*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(2) : 132-137 hlm.
- Rukmana, R. 2002. Mengkudu Budi Daya dan Agribisnis. Penerbit Kanisius (Anggota IKAPI), Yogyakarta. 9-28 hlm.
- Saselah, JT., Reiny A. dan Henry M. 2012. Determinasi Molekular Koi Herpes Virus (KHV) Yang diisolasi Dari Ikan Koi (*C. carpio koi*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis*. 8(2) : 64-68 hlm.
- Sarida, Munti., Tarsim, Iwan Faizal. Pengaruh Ekstrak Buah Mengkudu (*M. Citrifolia* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio Harveyi* Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Sains*. Vol 13 (3) : 1-5 hlm.

- Sastrosupadi, Adji. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Saputra, H.M., Netti M dan Putra S. 2013. Struktur Histologis Insang dan Kadar Hemoglobin Ikan Asang (*Osteochilus hasseltii* C.V) di Danau Singkarak dan Maninjau, Sumatera Barat. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 2(2) : 138- 144 hlm.
- Sipahutar, LW., Dwinna A., Winnarudin dan Nazaruddin. 2013. Jurnal Medika Veterinaria. 7(1) : 19-21 hlm.
- Supatra, Maman H., Lily Walim, Mulyani Yanuar, Riyantini I. Penggunaan Ovaprim pada Pemijahan Ikan Koi. PKM. 40 hlm.
- Ulfiana, R, G. M. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat Kejadian Aeromonosis pada Ikan Koi (*C. carpio*) yang Terinfeksi Myxobolus koi pada Derajat Infeksi yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2): 169-174 hlm.
- Wardani, R.H., Wahyu T Dan Boedi S.R. 2012. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Rocatum*) Terhadap Bakteri *A. Hydrophila* Secara *In Vitro*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 4 (1). 60-64 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

a) Alat yang digunakan dalam penelitian



Rotary Evaporator



Aquarium



Timbangan Analitik



Nampan dan Pipet Tetes



pH meter



DO meter



Washing bottle



Mikroskop



Timbangan digital



Sectio set



Aerator



Selang Aerasi

Lampiran 1 (Lanjutan)



Autoclaf



Inkubator



Erlemayer



Kulkas



Gelas Ukur



Bunsen



Tabung reaksi



Batu Aerasi



Botol

b) Bahan-bahan Penelitian



Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)



Ekstrak Kasar Daun Mengkudu

Lampiran 1. (Lanjutan)



Larutan Davidson's



Alkohol



Lampiran 2. Proses Ekstraksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*)



Disiapkan Daun



Daun dipotong



Daun dioven



Daun dimaserasi



Daun ditimbang



Daun dihaluskan



Dilakukan pemisahan pelarut dengan *Vaccum Rotary Evaporator*



Hasil

Bahan yang akan digunakan disiapkan kemudian dilakukan perendaman (maserasi) dimana serbuk daun mengkudu sebanyak 200 gr dimaserasi dalam etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 sebanyak 1 L selama 2 x 24 jam dan dilakukan dalam suhu kamar. Larutan yang sudah didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak daun mengkudu sebanyak 18,17 gr.

Lampiran 3. Komposisi Larutan Davidson

Komposisi Larutan Davidson :

1. Ethanol 95% 600ml
2. Acerid acid 200ml
3. Formalin 400ml
4. Aquadest 600ml



Lampiran 4. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan pada Histopatologi Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

kelainan Patologi	sampel	ulangan	area lapang pandang					rerata LP	rerata sampel
			1	2	3	4	5		
		1	2	2	2	3	2	2,2	2,33
	A	2	2	3	2	2	3	2,4	
		3	2	2	3	2	3	2,4	
		1	2	3	2	2	4	2,6	2,33
Hiperplasia	B	2	2	2	3	2	2	2,2	
		3	2	2	2	2	3	2,2	
		1	1	2	2	2	1	1,6	1,53
	C	2	1	1	2	2	2	1,6	
		3	2	1	1	2	1	1,4	
		1	2	1	1	1	2	1,4	
	D	2	1	1	2	1	1	2,4	2,13
		3	1	1	1	1	1	2,6	
		1	3	4	3	3	4	3,4	3,53
	K+	2	3	4	4	4	3	3,6	
		3	3	4	4	4	3	3,6	
		1	1	1	1	1	1	1	1
	K-	2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	
		1	3	2	2	3	2	2,4	2,6
	A	2	3	3	3	3	3	3	
		3	3	2	2	3	2	2,4	
		1	2	3	3	2	3	2,6	2,73
Fusi	B	2	3	3	3	3	2	2,8	
		3	3	3	3	2	3	2,8	
		1	2	2	2	3	3	2,4	2,2
	C	2	3	2	2	2	2	2,2	
		3	2	3	2	1	2	2	
		1	2	2	1	1	2	1,6	2
	D	2	1	1	2	3	2	1,8	
		3	2	3	2	3	3	2,6	
		1	3	4	4	3	3	3,4	3,33
	K+	2	3	3	3	4	3	3,2	
		3	4	3	3	3	4	3,4	
		1	1	1	1	1	1	1	1
	K-	2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	

Lampiran 4 (Lanjutan)

		1	3	3	2	4	3	3	2,8
A		2	3	2	3	3	3	2,8	
		3	3	3	2	3	2	2,6	
		1	4	3	3	2	3	3	3
Nekrosis	B	2	2	3	3	4	3	3	
		3	4	3	3	3	2	3	
		1	3	2	3	2	2	2,4	2,33
C		2	3	2	2	3	2	2,4	
		3	2	2	2	2	3	2,2	
		1	2	2	2	2	2	2	2,06
D		2	2	2	1	1	3	1,8	
		3	2	3	2	3	2	2,4	
		1	4	3	3	3	3	3,2	3,2
K+		2	4	3	3	2	3	3	
		3	3	4	3	3	4	3,4	
		1	1	1	1	1	1	1	1
K-		2	1	1	1	1	1	1	
		3	1	1	1	1	1	1	



Lampiran 5 . Analisis Data Selama Penelitian

a. Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Pehitungan

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,4+2,2+2,2 & \text{A rata-rata} &= \frac{6,8}{3} \\ &= 6,8 & &= 2,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,2+2,2+2 & \text{B rata-rata} &= \frac{6,4}{3} \\ &= 6,4 & &= 2,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 2+1,8+2 & \text{C rata-rata} &= \frac{5,8}{3} \\ &= 5,8 & &= 1,93 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total} &= 1,2+1,2+1,4 & \text{D rata-rata} &= \frac{3,8}{3} \\ &= 3,8 & &= 1,27 \end{aligned}$$

Tabel Rerata Kerusakan Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,4	2,2	2,2	6,8	2,27
B	2,2	2,2	2	6,4	2,13
C	2	1,8	2	5,8	1,93
D	1,2	1,2	1,4	3,8	1,27
				22,8	

Perhitungan Sidik Ragam :

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{22,8^2}{12} \\ &= 43,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= \sum x_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - \text{FK} \\ &= (2,27^2 + 2,13^2 + 1,93^2 + \dots + 1,27^2) - 43,32 \\ &= 1,88 \end{aligned}$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{6,8^2 + 6,4^2 + 5,8^2 + 3,8^2}{3} - 43,32 \\
 &= 1,77
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1,88 - 1,77 \\
 &= 0,10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{1,7733}{3} \\
 &= 0,59
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{0,10}{8} \\
 &= 0,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F. Hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{0,59}{0,01} \\
 &= 44,33
 \end{aligned}$$



Lampiran 5 (Lanjutan)

Uji Sidik Ragam Kerusakan Hiperplasia Insang pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,77	0,59	59**	4,07	7,59
Acak	8	0,10	0,01			
Total	11					

Perhitungan Uji BNT :

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan } (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,01}{3}} = 0,09$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,17 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,27 \end{aligned}$$

Hasil uji BNT Kerusakan Hiperplasia Insang pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,27	1,93	2,13	2,27	
D	1,27	—				a
C	1,93	0,67 **	—			b
B	2,13	0,87 **	0,20 *	—		c
A	2,27	1,00 **	0,33 **	0,13 ^{ns}	—	c

Lampiran 5 (Lanjutan)

Tabel Uji Polinomial Ortogonal Kerusakan Hiperplasia Jaringan Insang pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

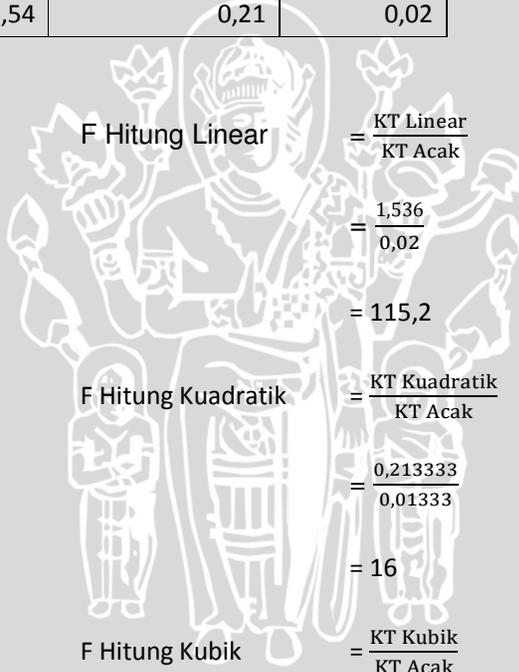
Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6,8	-3	1	-1
B	6,4	-1	-1	3
C	5,8	1	-1	-3
D	3,8	3	1	1
Q= Σci*Ti		-9,6	-1,6	-1,2
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		1,54	0,21	0,02

$$\begin{aligned}
 \text{KT Linear} &= \frac{\text{JK Linear}}{\text{db Linear}} \\
 &= \frac{1,536}{1} \\
 &= 1,536
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{db Kuadratik}} \\
 &= \frac{0,213333}{1} \\
 &= 0,083333
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{0,024}{1} \\
 &= 0,080667
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{0,10}{8} = 0,0125
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Linear} &= \frac{\text{KT Linear}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{1,536}{0,02} \\
 &= 115,2
 \end{aligned}$$

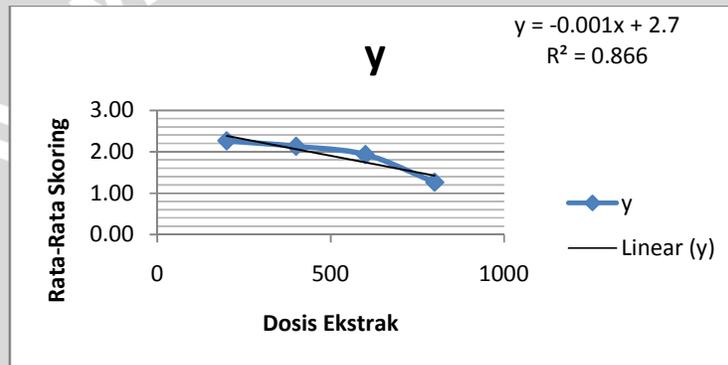
$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Kuadratik} &= \frac{\text{KT Kuadratik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,213333}{0,013333} \\
 &= 16
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Kubik} &= \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,024}{0,013} \\
 &= 1,8
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Regresi Hiperplasia pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,77			4,07	7,59
Linier	1	1,54	1,54	154**		
Kuadratik	1	0,21	0,21	16**		
Kubik	1	0,02	0,02	1,8 ^{ns}		
Acak	8	0,10	0,01			
Total	11					



Grafik Regresi Hiperplasiapada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Lampiran 5 (Lanjutan)

b. Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Pehitungan

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,4+2,5+2,4 & \text{A rata-rata} &= \frac{10,2}{3} \\ &= 7,3 & &= 3,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,5+2,3+2,3 & \text{B rata-rata} &= \frac{7,1}{3} \\ &= 7,1 & &= 2,53 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 2,4+2+2 & \text{C rata-rata} &= \frac{6,4}{3} \\ &= 6,4 & &= 2,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total} &= 1,8+1,5+1,5 & \text{D rata-rata} &= \frac{4,8}{3} \\ &= 4,8 & &= 1,60 \end{aligned}$$

Tabel Rerata Kerusakan Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,4	2,5	2,4	7,3	2,43
B	2,5	2,3	2,3	7,1	2,37
C	2,4	2	2	6,4	2,13
D	1,8	1,5	1,5	4,8	1,60
				25,6	

Perhitungan Sidik Ragam :

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{\sigma^2}{N} \\ &= \frac{25,6^2}{12} \\ &= 54,61 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= \sum x_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - \text{FK} \\ &= (2,43^2 + 2,37^2 + 2,13^2 + \dots + 1,60^2) - 54,61 \\ &= 1,48 \end{aligned}$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{7,3^{2,2} + 7,1^2 + 6,4^2 + 4,8^2}{3} - 54,61 \\
 &= 1,28
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1,48 - 1,28 \\
 &= 0,20
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

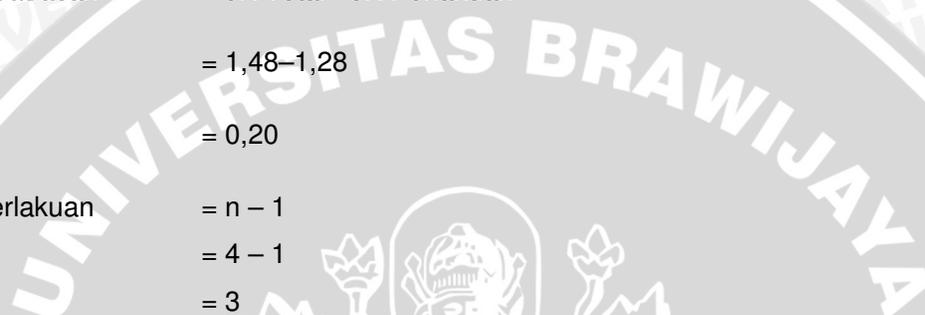
$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{1,286667}{3} \\
 &= 0,42
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{0,20}{8} \\
 &= 0,025
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{0,42}{0,02} \\
 &= 17,15
 \end{aligned}$$



Lampiran 5 (Lanjutan)

Uji Sidik Ragam Kerusakan Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,28	0,43	14,33**	4,07	7,59
Acak	8	0,20	0,03			
Total	11					

Perhitungan Uji BNT :

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan } (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,13}{3}} = 0,29$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,29 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,43 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT Kerusakan Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,60	2,13	2,37	2,43	
D	1,60	—				a
C	2,13	0,53**	—			b
B	2,37	0,77**	0,23 ns	—		b
A	7,30	5,70 **	5,17 **	4,93 **	—	d

Tabel Uji Polinomial Ortogonal Kerusakan Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7,3	-3	1	-1
B	7,1	-1	-1	3
C	6,4	1	-1	-3
D	4,8	3	1	1
Q= Σci*Ti		-8,2	-1,4	-0,4
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci ²)*r		60	12	60
JK=Q ² /Kr		1,12	0,16	0,002

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{KT Linear} &= \frac{\text{JK Linear}}{\text{db Linear}} \\ &= \frac{1,120667}{1} \\ &= 1,12 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung Linear} &= \frac{\text{KT Linear}}{\text{KT Acak}} \\ &= \frac{1,120667}{0,025} \\ &= 44,82 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{db Kuadratik}} \\ &= \frac{0,163333}{1} \\ &= 0,16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung Kuadratik} &= \frac{\text{KT Kuadratik}}{\text{KT Acak}} \\ &= \frac{0,163333}{0,025} \\ &= 6,53 \end{aligned}$$

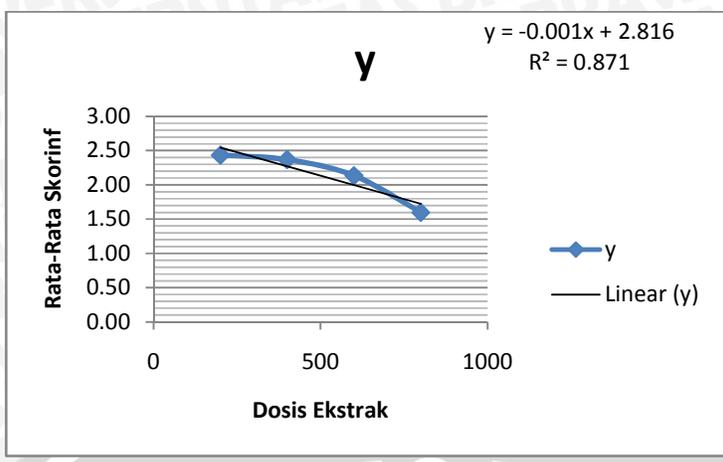
$$\begin{aligned} \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\ &= \frac{0,002667}{1} \\ &= 0,002 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung Kubik} &= \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}} \\ &= \frac{0,002667}{0,025} \\ &= 0,10 \end{aligned}$$

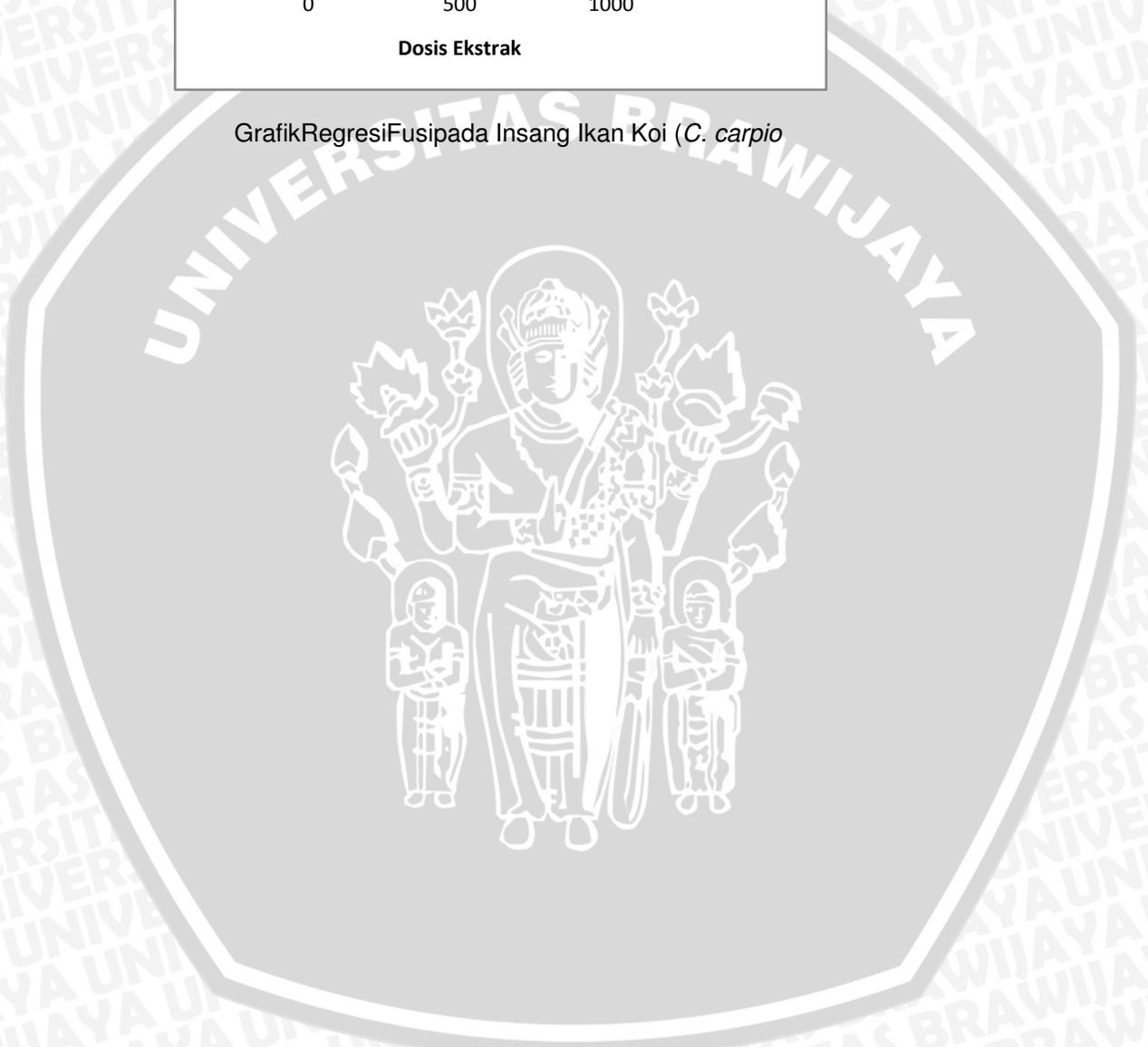
$$\begin{aligned} \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\ &= \frac{0,20}{8} \\ &= 0,025 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Kerusakan Fusi pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,28			4,07	7,59
Linier	1	1,12	1,12	44,8**		
Kuadratik	1	0,16	0,16	6,53**		
Kubik	1	0,002	0,002	0,10 ^{ns}		
Acak	8	0,20	0,025			
Total	11					



Grafik Regresi Fusipada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)



Lampiran 5 (Lanjutan)

c. Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Pehitungan

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,8+3,2+2,8 & \text{A rata-rata} &= \frac{8,6}{3} \\ &= 8,6 & &= 2,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,6+2,8+2,6 & \text{B rata-rata} &= \frac{8}{3} \\ &= 8 & &= 2,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 2+2+2,2 & \text{C rata-rata} &= \frac{6,2}{3} \\ &= 6,2 & &= 2,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total} &= 1,4+1,2+1,2 & \text{D rata-rata} &= \frac{3,8}{3} \\ &= 3,8 & &= 1,27 \end{aligned}$$

Tabel Rerata Kerusakan Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,8	3	2,8	8,6	2,87
B	2,6	2,8	2,6	8	2,67
C	2	2	2,2	6,2	2,07
D	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27
				26,6	

Perhitungan Sidik Ragam :

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{26,6^2}{12} \\ &= 58,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= \sum x_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - \text{FK} \\ &= (2,87^2 + 2,67^2 + 2,07^2 + \dots + 1,27^2) - 58,96 \\ &= 4,75 \end{aligned}$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{8,6^2 + 8^2 + 6,2^2 + 3,8^2}{3} - 58,96 \\
 &= 4,65 \\
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 4,75 - 4,65 \\
 &= 0,10 \\
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3 \\
 6. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8 \\
 7. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11 \\
 8. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{4,65}{3} \\
 &= 1,55 \\
 9. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{0,10}{8} \\
 &= 0,01 \\
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{1,55}{0,01} \\
 &= 116,25
 \end{aligned}$$



Lampiran 5 (Lanjutan)

Uji Sidik Ragam Kerusakan Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4,65	1,55	115**	4,07	7,59
Acak	8	0,10	0,01			
Total	11					

Perhitungan Uji BNT :

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,013}{3}} = 0,09$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1 \%} &= T \text{ tabel 5\% (db Acak) } \times SED \\ &= 0,32 \end{aligned}$$

Uji BNT Kerusakan Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,27	2,07	2,67	2,87	
D	1,27	—				a
C	2,07	0,80 **	—			b
B	2,67	1,40 **	0,60 **	—		c
A	2,87	1,60 **	0,80 **	0,20 ns	—	c

Lampiran 5 (Lanjutan)

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Kerusakan Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	8,6	-3	1	-1
B	8	-1	-1	3
C	6,2	1	-1	-3
D	3,8	3	1	1
Q= Σci*Ti		-16,2	-1,8	0,6
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci ²)*r		60	12	60
JK=Q ² /Kr		4,37	0,27	0,006

$$\begin{aligned}
 \text{KT Linear} &= \frac{\text{JK Linear}}{\text{db Linear}} \\
 &= \frac{4,374}{1} \\
 &= 4,374
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Linear} &= \frac{\text{KT Linear}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{4,374}{0,0133} \\
 &= 328,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{db Kuadratik}} \\
 &= \frac{0,27}{1} \\
 &= 0,27
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Kuadratik} &= \frac{\text{KT Kuadratik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,27}{0,0133} \\
 &= 20,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{0,006}{1} \\
 &= 0,15
 \end{aligned}$$

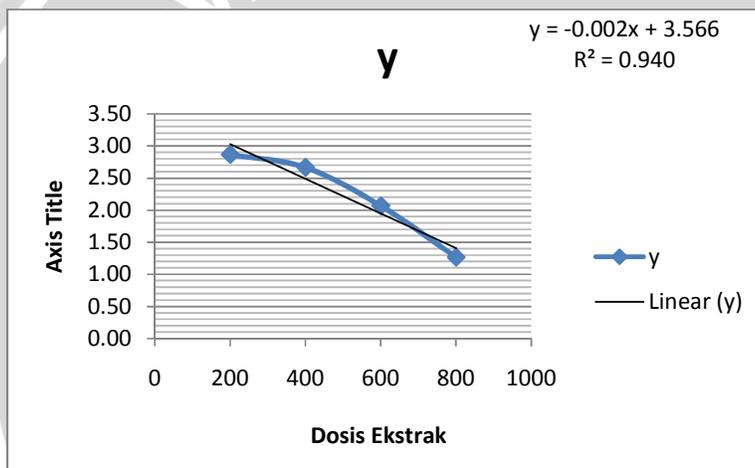
$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Kubik} &= \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}} \\
 &= \frac{0,006}{0,0133} \\
 &= 0,45
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{0,1067}{8} \\
 &= 0,0133
 \end{aligned}$$

Lampiran 5 (Lanjutan)

Tabel Sidik Ragam Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4,65			4,07	7,59
Linier	1	4,37	4,374	336,46**		
Kuadratik	1	0,27	0,27	20,25**		
Kubik	1	0,006	0,006	0,45 ^{ns}		
Acak	8	0,10	0,013			
Total	11					



Grafik Regresi Nekrosis pada Insang Ikan Koi (*C. carpio*)

Lampiran 6. Data Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan

a. Suhu

Hari/tgl	A1		A2		A3		B1		B2		B3		C1		C2		C3		D1		D2		D3		
	Pagi	Sore																							
1	23,1	25,1	23,1	25,6	23,2	25,3	22,8	23,8	23,2	25,7	23,3	25,9	23,0	25,1	23,1	24,9	24,2	25,6	24,2	25,6	24,8	24,8	24,2	25,1	
2	24,7	25,1	24,7	25,5	24,9	25,4	24,3	25,3	24,9	25,5	24,9	25,7	24,4	25,1	24,3	24,8	25,5	25,7	24,8	25,5	25,7	24,4	25,9	24,8	25,2
3	24,3	24,9	24,6	25,4	24,4	25,1	24,1	25,2	24,7	25,4	24,8	25,6	24,0	24,9	24,1	24,7	24,5	25,5	24,5	24,5	25,5	24,2	25,8	24,5	24,9
4	23,8	24,9	23,7	25,5	24,0	25,4	23,4	25,4	24,0	25,6	24,1	25,8	23,3	24,9	23,4	24,7	25,8	25,6	23,5	25,8	25,6	23,5	24,7	24,9	24,9
5	25,0	25,3	25,5	26,0	25,8	26,3	25,5	25,7	25,8	26,2	25,1	26,6	24,9	25,4	24,8	25,1	26,0	26,6	24,9	26,0	26,6	24,9	25,3	25,1	25,4
6	24,5	25,6	24,3	25,4	25,3	25,6	24,6	25,9	24,5	26,0	24,5	25,8	24,1	25,5	24,1	26,2	25,5	25,9	24,2	25,5	25,9	24,2	26,3	25,5	25,8
7	23,8	24,6	24,3	25,2	24,6	25,3	24,1	25,2	24,9	24,1	25,2	24,9	23,6	24,6	24,3	24,4	25,0	25,9	23,7	25,0	25,9	23,7	25,5	25,1	25,7
8	24,3	25,1	24,8	25,8	25,3	25,9	24,6	25,4	24,7	25,7	25,7	26,1	24,3	25,2	24,1	25,1	25,6	26,4	26,3	25,6	26,4	26,3	25,1	24,5	25,1
9	24,8	25,4	25,3	26,2	25,6	26,4	25,0	25,8	25,2	26,1	25,8	26,6	24,8	25,5	24,7	25,4	26,1	26,8	25,8	26,1	26,8	25,8	25,5	24,9	25,5
10	24,6	25,2	25,2	25,2	25,5	25,6	24,9	25,4	24,9	25,4	25,5	25,7	24,7	25,2	24,7	25,0	26,5	25,9	25,8	26,5	25,9	25,8	25,1	24,8	25,2
11	24,8	24,9	25,1	25,4	25,3	25,6	24,9	25,2	24,9	25,2	25,3	25,7	24,5	25,0	24,6	24,8	25,6	26,0	24,7	25,6	26,0	24,7	24,9	24,9	25,1
12	24,4	25,0	24,7	25,6	24,9	25,6	24,7	25,3	24,3	25,4	24,9	25,7	24,4	25,2	24,2	25,0	25,2	25,9	24,3	25,2	25,9	24,3	25,2	24,5	25,1
13	24,3	25,0	25,8	25,6	25,0	25,7	24,6	25,2	24,6	25,3	26,5	25,8	24,6	25,3	24,3	24,9	25,3	26,2	24,5	26,2	26,2	24,5	24,9	24,5	25,0
14	24,2	25,5	24,7	26,3	25,0	26,3	24,5	25,8	24,5	26,1	25,0	26,5	24,4	25,9	24,2	25,7	25,3	26,8	24,3	26,8	26,8	24,3	25,8	24,3	25,7
Rata-rata	25,5																								
	25,4																								
	25,7																								

Lampiran 6 (Lanjutan)

c. Do

Hari/ke	A1		A2		A3		B1		B2		B3		C1		C2		C3		D1		D2		D3		
	Pagi	Sore																							
1	8,65	7,51	8,60	8,06	8,76	8,39	8,91	8,38	8,66	8,01	8,96	8,08	7,73	7,01	7,66	7,29	7,57	6,33	8,88	8,22	8,48	7,45	8,50	6,73	
2	8,18	7,85	8,13	6,71	8,53	8,05	8,72	8,02	8,65	7,14	8,95	7,45	7,59	7,72	7,62	7,04	7,33	7,19	8,71	8,12	8,31	6,91	8,20	7,89	
3	7,97	7,62	7,51	6,96	8,08	7,01	8,26	7,99	7,12	8,10	8,06	7,05	7,00	7,27	7,31	7,29	7,70	7,36	7,07	7,41	7,42	7,98	7,80	7,94	
4	8,39	7,10	7,81	6,01	7,00	7,24	7,53	7,64	8,30	6,09	7,00	6,97	7,28	7,38	7,62	7,07	7,80	6,99	7,14	7,99	8,80	7,41	7,14	7,36	
5	7,11	6,95	5,58	8,13	7,04	6,49	7,15	6,87	7,04	7,24	6,16	5,55	6,28	5,68	7,72	7,11	6,53	6,14	6,97	7,05	6,92	7,04	7,00	7,17	
6	7,47	7,17	7,88	7,09	8,24	7,04	7,36	7,40	7,14	6,04	5,62	6,60	6,46	6,61	7,52	6,67	6,55	7,68	7,45	7,07	7,72	7,35	7,04	7,28	
7	6,85	7,48	6,13	5,57	6,90	7,36	6,90	6,94	7,03	6,36	6,58	6,34	6,08	7,08	7,37	7,43	5,96	5,34	6,73	6,95	6,82	6,98	6,75	7,24	
8	7,09	6,87	6,39	5,31	7,16	7,27	6,79	7,52	7,37	6,91	5,63	5,64	7,10	6,94	7,62	7,47	6,41	5,05	6,94	6,92	6,35	7,66	6,97	7,03	
9	7,01	6,23	6,17	5,20	7,43	6,74	6,91	6,16	6,86	6,43	6,83	5,74	6,78	6,33	7,41	6,73	6,17	5,05	7,17	6,65	7,17	6,40	7,17	6,38	
10	7,24	6,80	6,28	6,00	6,84	6,45	6,91	6,80	7,50	6,69	6,97	5,80	7,20	6,64	7,15	6,00	6,77	5,66	6,95	5,72	7,14	6,71	6,86	6,64	
11	7,27	6,75	6,05	5,07	6,97	6,98	6,73	6,55	6,45	7,46	5,50	5,47	6,27	6,32	6,48	6,93	7,36	6,25	6,53	6,04	6,65	6,25	6,76	6,18	
12	6,94	7,28	6,15	5,37	6,56	6,76	7,61	6,65	7,11	5,03	7,74	5,81	6,66	5,40	7,50	5,44	6,60	5,34	7,52	5,37	6,89	6,20	6,77	5,77	
13	7,07	7,61	6,29	6,73	7,42	7,39	7,69	6,57	7,38	6,97	6,62	7,17	6,94	6,57	7,12	5,27	6,80	7,16	7,14	7,66	7,63	7,62	7,28	7,65	
14	7,58	6,51	7,78	5,68	7,57	6,52	7,20	6,77	7,33	6,74	6,08	6,72	7,19	5,05	7,70	7,20	7,92	5,09	7,28	6,08	7,39	6,91	7,98	6,48	
Rata-rata				6,74						6,73					6,61										6,85