

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:
**IMMARIA FRANSIRA
NIM. 125080501111044**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI 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:
IMMARIA FRANSIRA
NIM. 125080501111044**



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

SKRIPSI
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BAWANG DAYAK
(Eleutherine palmifolia (L.) Merr) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :
IMMARIA FRANSIRA
NIM. 125080501111044

telah dipertahankan didepan penguji
 pada tanggal 23 Juni 2016
 dan dinyatakan memenuhi syarat
 tanggal :

Dosen Penguji I



Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001
 Tanggal: **18 JUL 2016**

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



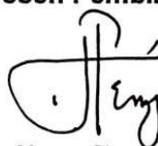
Dr. Ir. Maftuch, M.Si
NIP. 19660825 199203 1 001
 Tanggal: **18 JUL 2016**

Dosen Penguji II



Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
 Tanggal: **18 JUL 2016**

Dosen Pembimbing II



Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
 Tanggal: **18 JUL 2016**

Mengetahui,
 Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



Dr. Ir. Arning Widiyeng E, MS
NIP. 19620805/198603 2 001
 Tanggal: **18 JUL 2016**



PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang, Juni 2016

Mahasiswa

Immaria Fransira

UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan karunia-Nya.
2. Ayah Immanuel M. Tanasale, Ibunda Maria Rosalina, dan Adik Verolita serta keluarga besar yang telah memberikan doa, motivasi, dan dukungannya.
3. Bapak Dr. Ir Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing 1 dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu memberikan saran serta bimbingan.
4. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen penguji 1 dan Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen penguji 2.
5. Dimas, Ika, Riska, Dwi, Ida dan Diva (TIM BADAY) yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini dengan melewati berbagai masalah.
6. Ucapan terima kasih secara khusus yang saya sampaikan kepada sahabat saya Icha (abun), Ida, Deeda, Wulan, Sherly, Tyas, Tya, Wahyu dan Ezzat yang telah memberikan support dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Ka Gede dan Ka Oink BP 2011, yang sudah banyak membantu dan memberikan saran dalam penyelesaian skripsi ini.
8. Teman - teman Budidaya Perairan 2012 *Aquasean* dan seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian dan penyelesaian skripsi ini.

Malang, Juni 2016

Penulis

RINGKASAN

Immaria Fransira. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. (Dibawah **Bimbingan Dr. Ir Maftuch, M.Si dan Ir. Heny Suprastyani, MS**)

Ikan mas (*C. carpio*) merupakan ikan air tawar yang memiliki keunggulan yaitu dapat dibudidayakan dengan pertumbuhan yang relatif cepat dan harganya relatif murah. Dari tahun ke tahun semakin banyak masyarakat yang mengonsumsi ikan mas. Para pembudidaya ikan mas banyak menerapkan sistem budidaya intensif dengan padat tebar tinggi untuk meningkatkan hasil produksi. Hal ini mengakibatkan terjadinya sistem budidaya yang tidak terkendali. Sistem budidaya yang tidak terkendali ini pun menyebabkan kondisi lingkungan yang tidak stabil sehingga menimbulkan penyakit yang mengakibatkan kematian masal pada ikan mas. Penyakit yang menyerang ikan mas biasanya disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Untuk mengobatinya, banyak pembudidaya yang menggunakan obat – obatan kimia dan antibiotik yang sebenarnya tidak baik untuk digunakan, karena mengakibatkan adanya residu bahan kimia pada tubuh ikan dan tidak baik juga bagi lingkungan sekitar. Alternatif lain untuk mengobati ikan yang terserang bakteri ini adalah dengan menggunakan bahan – bahan alami yang mengandung zat antimikroba dan lebih aman bagi ikan, serta lebih ramah lingkungan. Bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) merupakan salah satu tanaman yang telah diketahui khasiatnya sebagai tanaman obat.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap histopatologi hati ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*, serta mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 4 Januari – 8 Maret 2016.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Metode eksperimen adalah metode yang dilakukan untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara dua variabel atau lebih yang sudah diatur dengan melakukan beberapa perlakuan yang berbeda pada objek penelitian tersebut, dengan menggunakan 4 perlakuan yang berbeda yaitu A (50 ppm), B (60 ppm), C (70 ppm) dan D (80 ppm) dengan 3 kali ulangan.

Hasil yang diperoleh adalah pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang dibuktikan melalui kerusakan degenerasi vakuola, kongesti, melanomakrofag dan nekrosis. Parameter kualitas air menunjukkan kondisi normal yaitu suhu 24 - 27° C, pH berkisar 7,11 – 8,09 dan DO berkisar 4,01 – 5,2 ppm serta hasil kelulushidupan terbaik adalah 77,67 pada perlakuan D.

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dosis terbaik untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan hati yang diakibatkan karena infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah 80 ppm pada perlakuan D. Jadi dapat disimpulkan semakin tinggi dosis yang diberikan, maka akan semakin memberikan hasil yang lebih baik.

KATA PENGANTAR

Penulis panjatkan puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Terhadap Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” untuk melengkapi tugas – tugas dan memenuhi syarat – syarat guna memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan, baik dilihat dari segi isi maupun pembahasan. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bermanfaat dari pembaca untuk kesempurnaan penulisan di masa yang akan datang. Mudah – mudahan semua bantuan, masukan dan dorongan yang diberikan dengan penuh keikhlasan akan mendapatkan balasan yang setimpal dari Tuhan Yang Maha Esa. Akhir kata penulis berharap dengan karunia Tuhan Yang Maha Esa skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun pembaca.

Malang, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup.....	6
2.1.3 Penyakit pada Ikan Mas	7
2.2 Bawang Dayak (<i>E. palmifolia</i> (L.) Merr).....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	7
2.2.2 Bahan Aktif yang Terkandung pada Bawang Dayak	8
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.3.2 Infeksi dan Tanda Penyerangan <i>A. hydrophila</i>	9
2.3.3 Gejala Klinis <i>A. hydrophila</i>	10
2.4 Histopatologi	10
2.4.1 Pengertian dan Manfaat Histopatologi	10
2.4.2 Pengamatan Histopatologi pada Jaringan	11

2.4.3 Jaringan Hati sebagai Parameter Uji Histopatologi	13
2.5 Kualitas Air	14
2.5.1 Suhu	14
2.5.2 pH	14
2.5.3 Oksigen Terlarut	15
2.6 Kelulushidupan (<i>Survival Rate</i>)	15
3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Media Penelitian	18
3.3 Metode Penelitian	18
3.4 Pengambilan Data	19
3.5 Rancangan Penelitian	19
3.6 Prosedur Penelitian	22
3.6.1 Persiapan Penelitian	22
a. Pembuatan Ekstrak Kasar Bawang Dayak	22
b. Persiapan Alat	22
c. Persiapan Hewan Uji	22
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian	23
a. Penginfeksian Bakteri <i>A. hydrophila</i> pada Ikan Mas	23
b. Perendaman Ikan Uji dengan Ekstrak Bawang Dayak	23
c. Uji Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	24
d. Pengambilan Jaringan Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	24
e. Pembuatan Histopatologi Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	25
3.7 Parameter Uji	26
3.7.1 Parameter Utama	26
3.7.2 Parameter Penunjang	27
3.8 Analisa Data	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Histopatologi Hati	29
4.1.1 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Normal dan Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29
4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) yang Di Beri Perlakuan Ekstrak Kasar Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr)	31

a. Degenerasi Vakuola	31
b. Kongesti	35
c. Melanomakrofag	39
c. Nekrosis	43
4.2 Gejala Klinis Pada Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	47
4.3 Parameter Kualitas Air	48
4.3.1 Suhu	49
4.3.2 pH	49
4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)	49
4.4 Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	50
4.5 Uji Skrining Fitokimia Bawang Dayak (<i>E. palmifolia</i> (L.) Merr)	53
5. PENUTUP	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61



DAFTAR GAMBAR

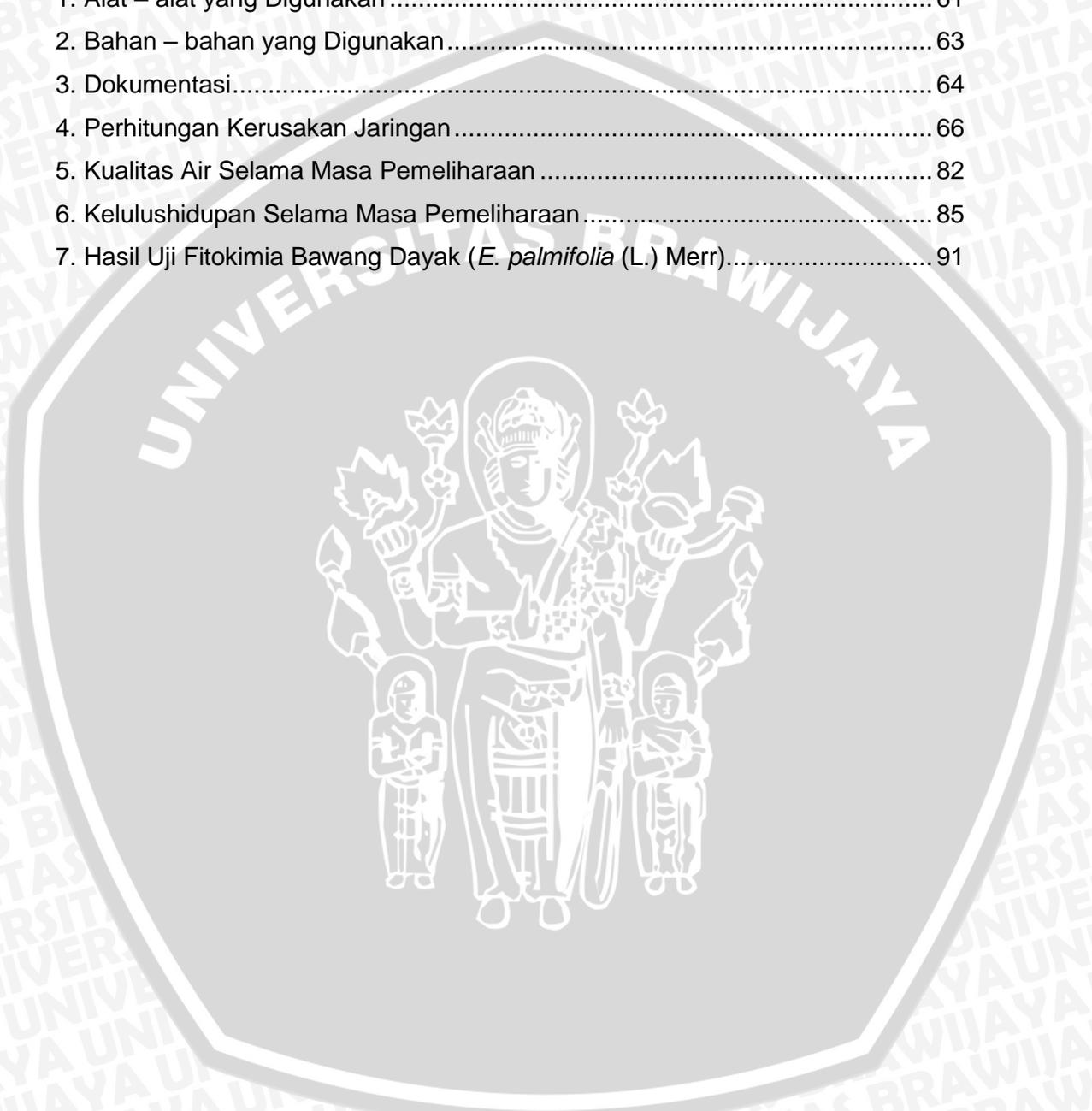
Gambar	Halaman
1. Ikan Mas	6
2. Bawang Dayak.....	8
3. Denah Penelitian	21
4. Alur <i>Scoring</i> (Gerak Zig Zag)	27
5. (A) Jaringan Hati Normal Tanpa Perlakuan; (B) Jaringan Hati Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> ; (D) Degenerasi Vakuola; (K) Kongesti; (M) Melanomakrofaq; (N) Nekrosis. Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE.....	30
6. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Mengalami (D) Degenerasi Vakuola; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan Menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE	32
7. Grafik Regresi Degenerasi Vakuola Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	35
8. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Mengalami (K) Kongesti; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan Menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE.....	36
9. Grafik Regresi Kongesti Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	38
10. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Mengalami (M) Melanomakrofaq; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan Menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE	40
11. Grafik Regresi Melanomakrofaq Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	42
12. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Mengalami (N) Nekrosis; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan Menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE.....	44
13. Grafik Regresi Nekrosis Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	47
14. Bagian Tubuh Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Akibat Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	48
15. Grafik Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengamatan Uji MIC	20
2. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Degenerasi Vakuola	33
3. Sidik Ragam Skoring Degenerasi Vakuola Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	33
4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Degenerasi Vakuola	33
5. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Kongesti	37
6. Sidik Ragam Skoring Kongesti Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	37
7. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kongesti	37
8. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Melanomakrofag.....	40
9. Sidik Ragam Skoring Melanomakrofag Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	41
10. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Melanomakrofag.....	41
11. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Nekrosis	45
12. Sidik Ragam Skoring Nekrosis Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	45
13. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Nekrosis	45
14. Data Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan	49
15. Data Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	50
16. Rerata Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	51
17. Sidik Ragam Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	51
18. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat – alat yang Digunakan	61
2. Bahan – bahan yang Digunakan	63
3. Dokumentasi	64
4. Perhitungan Kerusakan Jaringan	66
5. Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan	82
6. Kelulushidupan Selama Masa Pemeliharaan	85
7. Hasil Uji Fitokimia Bawang Dayak (<i>E. palmifolia</i> (L.) Merr)	91



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu spesies ikan yang hidup di air tawar. Ikan mas memiliki keunggulan yaitu dapat dibudidayakan dengan pertumbuhan yang relatif cepat dan harganya relatif murah. Selain itu ikan Mas juga memenuhi kebutuhan protein hewani bagi masyarakat, bahkan dari tahun ke tahun semakin banyak yang mengonsumsi ikan mas (Yosnita *et al.*, 2014). Pada awal abad ke - 20 budidaya ikan mas mengalami perkembangan yang pesat. Hal ini diakibatkan perkembangan teknologi budidaya yang cukup pesat. Pada tahun 1997 produksi ikan mas sebesar 146.672 ton dan memberikan kontribusi sebesar 54,18% dari total produksi secara nasional. Di tingkat internasional pun, Indonesia berada pada peringkat kedua setelah China yaitu sebesar 87.000 ton pada tahun 1988 dan 136.000 ton pada tahun 1995 untuk produksi ikan mas (Saputra, 2011).

Menurut Salikin *et al.*, (2013), ikan mas (*C. carpio*) menjadi salah satu komoditas perikanan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis yang tinggi baik di Indonesia dan luar negeri. Hal ini dikarenakan ikan mas memiliki kandungan protein yang cukup tinggi dan harga yang murah, sehingga sangat digemari oleh masyarakat. Menurut Anggraini (2008), kandungan protein yang dimiliki ikan air tawar antara lain Omega-3, Omega-6, DHA dan memiliki kandungan kolesterol yang rendah. Sedangkan harga ikan mas untuk ukuran 4 – 5 cm per ekornya adalah Rp 250,- dan untuk harga ikan mas dengan ukuran 5 – 8 cm per ekornya adalah Rp 350,- (Basharahil *et al.*, 2014). Hal ini memberikan peluang usaha di bidang budidaya ikan mas secara intensif.

Menurut Nurjannah *et al.*, (2013), seiring dengan meningkatkannya budidaya ikan mas mengakibatkan terjadinya sistem budidaya yang tidak

terkendali. Sistem budidaya yang tidak terkendali ini pun menyebabkan kondisi lingkungan yang tidak stabil sehingga menimbulkan penyakit. Salah satu kendala yang sering dihadapi dalam budidaya ikan mas adalah serangan penyakit yang mengakibatkan kematian masal pada ikan mas. Penyakit yang biasa menyerang ikan mas adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal pada ikan. Infeksi *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres, perubahan suhu air yang terkontaminasi dan ketika *host* (inang) tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). *A. hydrophila* biasanya menular dengan cepat melalui perantara air, kontak bagian tubuh ikan ataupun peralatan budidaya yang terkontaminasi oleh bakteri (Haryani *et al.*, 2012).

Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011), menyatakan bahwa untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophila* dapat dilakukan dengan pemberian bahan - bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintesis seperti *tetracycline*. Pemberian bahan kimia ini memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat, akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan beberapa efek samping baik bagi patogen sehingga menjadi resisten dan ikan yang dipelihara tidak aman untuk dikonsumsi akibat residu antibiotik yang tercemar di lingkungan ikan mas.

Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka terdapat alternatif lain untuk pencegahan penyakit bakterial yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah yaitu dengan melalui pemanfaatan tanaman herbal. Salah

satunya adalah bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) yang diketahui mengandung zat antimikroba. Menurut Hidayah *et al.*, (2015), bawang dayak merupakan tanaman yang berasal dari Kalimantan Tengah. Bawang dayak memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon yang dikenal sebagai antimikroba. Selain itu dalam umbi bawang dayak terkandung senyawa fitokimia yaitu flavonoid yang merupakan senyawa antimikroba, kemudian senyawa glikosida, fenolik, steroid dan tannin. Bawang dayak ini tidak asing bagi masyarakat lokal untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti kanker payudara, penurunan tekanan darah tinggi, penyakit kencing manis, menurunkan kolesterol, obat bisul, kanker usus, mencegah stroke dan mengurangi sakit perut setelah melahirkan.

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian bagaimana efektivitas antimikroba bawang dayak terhadap ikan Mas (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang dilihat dari perubahan histopatologi hati.

1.2 Perumusan Masalah

Permintaan pasar akan ikan mas (*C. carpio*) mengalami peningkatan yang cukup pesat, maka dilakukan sistem budidaya intensif untuk memenuhi permintaan tersebut. Adanya serangan penyakit menjadi hambatan dalam sistem budidaya. Selama ini upaya pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri dilakukan dengan cara menggunakan antibiotik yaitu obat – obatan yang memiliki bahan kimia. Penggunaan obat – obatan kimia menyebabkan efek samping bagi lingkungan dan juga bagi ikan mas. Oleh karena itu diperlukan pencegahan maupun pengobatan dengan menggunakan bahan alami yang lebih aman yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Berdasarkan latar belakang diatas, masalah yang dihadapi yaitu belum diketahuinya pengaruh penggunaan

ekstrak Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap ikan Mas yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila* dan berapa dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap histopatologi hati ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila* dan mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis

H_0 : Diduga pemberian ekstrak Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) tidak berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Diduga pemberian ekstrak Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorim Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 4 Januari – 8 Maret 2016.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan mas seperti pada Gambar 1, menurut Saputra (2011) adalah sebagai berikut:

Class : Osteichthyes

Sub Class : Actinopterygii

Ordo : Ostariophysi

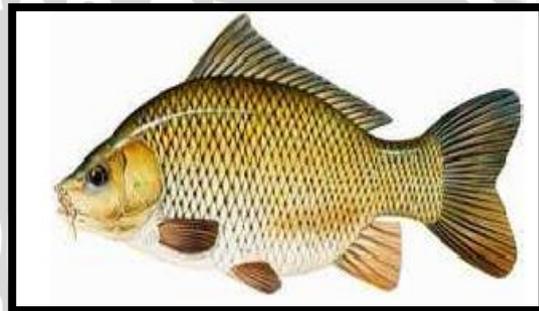
Sub Ordo : Cyprinoidea

Family : Cyprinidae

Sub Family : Cyprininae

Genus : *Cyprinus*

Species : *Cyprinus carpio*



Gambar 1. Ikan Mas (Adliah, 2012)

Ikan mas memiliki tubuh yang agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*) dan ditutupi oleh sisik yang berukuran besar. Mulut terletak di ujung tengah (terminal), dapat disembulkan (protaktil) dan pada anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Selain itu, tubuh ikan mas juga dilengkapi dengan sirip yaitu sirip punggung (dorsal) berukuran relatif panjang dengan bagian belakang berjari - jari keras dan sirip terakhir, yaitu sirip ketiga dan keempat, bergerigi. Letak permukaan sirip punggung berseberangan dengan permukaan sirip perut (ventral). Kemudian sirip dubur (anal) yang terakhir bergerigi (Adliah, 2012).

2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup

Di alam ikan mas merupakan salah satu ikan yang hidup di perairan tawar yang tidak terlalu dalam dan aliran air tidak terlalu deras. Ikan mas mampu hidup pada daerah dengan ketinggian 150 - 600 meter di atas permukaan air laut dan

pada suhu 25 - 30° C. Meskipun tergolong ikan air tawar, terkadang ikan mas dapat ditemukan di perairan payau atau muara sungai yang bersalinitas 25 - 30 ppt (Kardi, 2013).

Ikan mas merupakan spesies yang akan tumbuh dengan baik pada tempat dengan ketinggian antara 150 – 1000 meter dpl dengan suhu antara 20 - 25° C. kemudian kondisi pH yang cocok untuk ikan mas adalah 7 – 8. Untuk kebiasaan makan, ikan mas merupakan ikan pemakan segala (omnivora). Selain itu, ikan mas dijuluki sebagai *bottom feeder* karena kebiasaannya yang menyukai mencari makanan yang berada di dasar kolam atau di atas lapisan lumpur di tepi kolam (Anggraini, 2008).

2.1.3 Penyakit pada Ikan Mas

Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011), penyakit yang biasanya menyerang ikan mas adalah penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS). Penyakit ini mengakibatkan pertumbuhan ikan mas mengalami gangguan dan bahkan menyebabkan kematian pada ikan mas. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas.

Menurut Tambunan (2011), *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) merupakan penyakit pada ikan mas pada berbagai stadia yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Ikan yang terserang penyakit ini memiliki bercak merah pada insang, kulit dan organ bagian dalam. Penyakit ini umumnya tidak diobati kemudian menyebabkan penyebaran yang sangat luas dan kondisi yang sangat parah yaitu mengakibatkan kematian masal pada ikan mas.

2.2 Biologi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Becker *et al.*, (1962) dalam Sudarmawan (2009), bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) seperti pada Gambar 2 memiliki jalur klasifikasi yaitu:

Phylum : Tracheophyta
Subphylum : Spermatophytiva
Kelas : Liliopsida – monocotyledons.
Subkelas : Lilidae
Ordo : Liliales
Famili : Iridaceae
Genus : Eleutherine
Spesies : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.



Gambar 2. Bawang Dayak (Yusni, 2008)

Bawang dayak merupakan semak, berumpun, tumbuhan semusim yang memiliki tinggi sekitar 50 cm. Bawang dayak mempunyai batang yang tegak atau merunduk, daun tunggal berbentuk lonjong berwarna hijau dan berujung runcing dengan pangkalnya yang tumpul. Kemudian umbi bawang dayak berbentuk lonjong, bulat telur, dan berwarna merah seperti bawang merah namun tidak berbau. Serta mempunyai bunga berwarna putih, berkelopak 6 dan mekar pada sore hari selama beberapa jam (Yusni, 2008).

2.2.2 Bahan Aktif yang Terkandung pada Bawang Dayak

Menurut Kuntorini (2013), tumbuhan genus *Eleutherine* ini dari beberapa penelitian diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder seperti golongan naftokuinon (*elecanacin, eleutherin, elutherol, eleutherinon*). Beberapa senyawa turunan naftokuinon diketahui memiliki fungsi sebagai antioksidan. Berdasarkan hasil skrining penelitian fitokimia, bawang dayak mengandung triterpenoid dan kuinon.

Menurut Firdaus (2014), umbi bawang dayak mengandung senyawa alkaloid yang berfungsi sebagai antimikroba. Selain itu juga terdapat senyawa fitokimia lainnya yaitu glikosid, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin yang diduga memiliki efek antimikroba. Menurut Haryani *et al.*, (2012), flavonoid merupakan senyawa antimikroba yang merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol.

Senyawa ini berfungsi sebagai antimikroba dikarenakan mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel mikroba, dimana flavonoid ini akan merusak membran mikroba.

2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *A. hydrophila*

Menurut Holt *et al.*, (1998) dalam Efianda (2015), klasifikasi *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Menurut Haryani *et al.*, (2012), *A. hydrophila* termasuk bakteri *heterotrofik uniseluler* yang mempunyai karakteristik tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini mempunyai ukuran 0,7 – 1,8 x 1,0 – 1,5 μm dan mempunyai flagel tunggal disalah satu ujungnya. Kemudian bakteri ini berbentuk batang hingga kokus dengan ujung yang membulat.

2.3.2 Infeksi dan Tanda Penyebaran

Menurut Prajitno (2007), bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk ke dalam tubuh ikan apabila ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kerusakan fisik atau karena serangan virus lain dan mikroorganisme lainnya. Bila ikan dalam keadaan stres maka daya tahan tubuh ikan melemah sehingga mudah terkena infeksi dari bakteri. Bakteri *A. hydrophila* penyebab umum dari *bacterial haemorrhagic* (penyakit bercak merah).

Menurut Dianti *et al.*, (2013), ciri – ciri ikan yang terserang *A. hydrophila* adalah radang (inflamasi) dengan adanya pembengkakan pada bekas suntikan. Selain itu adanya haemoragi (pendarahan) dengan keluarnya darah pada kulit. Serta nekrosis yang merupakan gejala yang ditandai dengan terlihatnya daging yang rusak dan busuk.

2.3.3 Gejala Klinis

Menurut Haryani *et al.*, (2012), gejala klinis diamati pada waktu 4 – 6 jam setelah ikan diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* yaitu dengan mengamati luka dan tingkah laku ikan mas. Ikan mas pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat stres, berenang menggerombol di sekitar aerasi dan ikan berenang dengan posisi tubuh miring karena keseimbangan tubuh berkurang. Gejala klinis lainnya yang biasanya teramati adalah peradangan (inflamasi) yang dicirikan dengan pembengkakan dan warna merah pada bekas suntikan.

Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2011), gejala klinis yang pertama kali timbul setelah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* adalah kemerahan kulit atau hiperemi. Hiperemi ini terjadi dikarenakan mobilitas eritrosit ke jaringan tempat berkembangnya patogen, leukosit yang merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen. Beberapa hari setelah infeksi pergerakan ikan menjadi lamban bahkan tidak bergerak dan akan mengalami kematian.

2.4 Histopatologi

2.4.1 Pengertian dan Manfaat Histopatologi

Histologi merupakan ilmu yang mempelajari jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan dan sel dipelajari dengan metode analitik mikroskopik dan kimia. Dengan penggunaan mikroskop cahaya atau penghamburan elektron oleh presipitat yang dapat diamati menggunakan mikroskop elektron, dapat diamati

zat - zat kimia di dalam jaringan dan sel yang dapat dikenali dengan reaksi kimia yang menghasilkan senyawa berwarna tak dapat larut. Disamping reaksi kimia yang terjadi dalam jaringan, metode lain misalnya metode fisis sering digunakan yaitu mikroskop interferensi yang memungkinkan penentuan masa sel atau jaringan (Harjana, 2011).

Pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan manfaat yaitu gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan dalam penentuan penyakit ikan. Pada proses diagnosa ini, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu gejala klinis pada ikan yang meliputi tingkah laku, ciri - ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi. Untuk mengetahui perubahan patologi pada ikan yang terserang penyakit, perlu dilakukan pemeriksaan histologi untuk mendeteksi adanya komponen - komponen patogen yang bersifat infeksiif melalui pengamatan secara mikro anatomi terhadap perubahan abnormal tingkat jaringan (Asniatih *et al.*, 2013).

2.4.2 Pengamatan Histopatologi pada Jaringan

Untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ - organ yang menjadi sasaran utama dari penyakit infeksius dan pengobatan dengan antibiotik seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya, dapat digunakan analisa histopatologi. Selain itu, penggunaan histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring perubahan pada jaringan organ. Dengan adanya pengamatan, organ - organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme (Sukarni *et al.*, 2012).

Menurut Setyowati *et al.*, (2010), prosedur dalam pembuatan preparat histologis adalah sebagai berikut:

- Ikan dibedah dan diambil bagian organ yang diinginkan.

- Diawetkan dengan formalin 4 % selama 24 jam.
- Fiksasi, memindahkan hati ke dalam larutan FAA selama 24 jam.
- Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, serta alkohol masing - masing 1 jam.
- *Clearing*, dilakukan selama 1 jam yaitu dimasukkan ke dalam larutan alkoholxilol, lalu memasukkannya ke dalam xilol murni I, II, III masing - masing selama 20 menit.
- Infiltrasi, menggunakan paraffin. Organ dimasukkan kedalam xylol : parafin (1 : 1) cair selama 20 menit, kemudian memasukkan parafin cair I, II, III masing - masing selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.
- *Embedding*, tahapan menanam jaringan atau sampel yang digunakan. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh kemudian membenamkan potongan organ ke dalam parafin tersebut. Jaringan diletakkan pada posisi dasar tengah dengan posisi melintang.
- *Sectioning*, sampel dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan 6 - 10 mikron.
- *Affixing*, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1 : 1, disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari. Deparafinisasi, untuk menghilangkan parafin, sediaan dimasukkan ke dalam xylol selama 10 menit.
- *Staining* atau pewarnaan, proses pewarnaan dengan menggunakan hematoxylin dan eosin dengan langkah sebagai berikut :
 - a. Sediaan histologis dihisap xylolnya dengan menggunakan kertas saring. Kemudian berturut - turut dimasukkan ke alkohol 96 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 40 % dan 30 % masing - masing selama 5 menit lalu ke aquades selama 5 menit. Dicuci dengan air mengalir kurang lebih 2 menit.
 - b. Dimasukkan ke dalam haemotoxylin selama 4 menit.

- c. Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit.
 - d. Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 96 % masing - masing beberapa celupan.
 - e. Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit.
 - f. Dimasukkan ke dalam alkohol 70 %, 80 %, 90 %, 95 %.
 - g. Preparat dikering - anginkan dan dimasukkan ke xylol selama 15 menit.
 - h. Sediaan histologi ditetesi dengan canada balsam lalu ditutup dengan cover glass.
- *Mounting* (Penutupan) dan *Labelling* (Pemberian Label) yaitu penutupan preparat dengan menggunakan kaca penutup dan memberi identitas pada preparat.

2.4.3 Jaringan Hati sebagai Parameter Uji Histopatologi

Hati merupakan organ yang mempunyai fungsi dalam mengatur kadar glukosa dalam darah. Pada usus, makanan berupa glukosa akan diabsorpsi dan diteruskan ke hati melalui vena portal. Sebagian dari glikogen yang disimpan, akan dipecah dalam hati menjadi glukosa. Dalam keadaan normal kadar glikogen dalam hati cukup untuk mempertahankan kadar glukosa darah (Julio *et al.*, 2013). Pada ikan mas terdapat organ kelenjar pencernaan yaitu hati dan pankreas. Hati berfungsi sebagai organ yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini berwarna merah kecoklatan dan terletak pada rongga bawah tubuh, di belakang jantung dan di sekitar usus depan (Uthamy, 2012). Hati adalah organ vital yang mempunyai fungsi sebagai detoksifikasi dan mensekresikan bahan kimia yang digunakan untuk proses pencernaan (Setyowati *et al.*, 2010).

Kerusakan organ hati yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yaitu kerusakan pada struktur yang berupa nekrosis, kongesti, degenarasi vakuola dan melanomakrofag (Salikin *et al.*, 2013). Melanomakrofag merupakan tahapan reaksi peradangan. Nekrosis merupakan kematian lokal jaringan dalam tubuh

individu yang masih hidup. Sedangkan pembengkakan sel (degenerasi vakuola) disebabkan oleh adanya peningkatan permeabilitas sel sehingga terjadi perpindahan cairan ekstra sel ke dalam sel. Hal ini diakibatkan dari sel tidak mampu mempertahankan homeostatis ion dan cairan. Pembengkakan sel hati ini ditandai dengan adanya ruang - ruang kosong akibat hepatosit membengkak yang menyebabkan sinusoid menyempit, sitoplasma tampak keruh (Fitrian, 2013).

2.5 Kualitas Air

2.5.1 Suhu

Suhu merupakan derajat panas dinginnya suatu zat. Suhu merupakan salah satu kualitas air yang sangat berpengaruh terhadap metabolisme ikan. Kisaran suhu yang optimum untuk ikan budidaya adalah 26 – 31° C, dimana pada kisaran ini metabolisme ikan dapat berlangsung dengan baik sehingga pertumbuhan dari ikan itu sendiri akan berlangsung dengan baik (Reksono *et al.*, 2012).

Kisaran suhu air yang ideal untuk tempat hidup ikan mas (*C. carpio*) adalah 25 – 30° C. Apabila suhu rendah di bawah 13° C maka pertumbuhan ikan akan menurun. Pada suhu di bawah 5° C akan mengakibatkan pertumbuhan ikan mas akan menurun dengan cepat dan kemudian ikan akan berhenti makan (Narantaka, 2012).

2.5.2 pH

pH (*power of hydrogen*) merupakan derajat asam basanya suatu zat. Kisaran pH yang ideal bagi kehidupan biota air tawar adalah antara 6,8 - 8,5. pH yang sangat rendah, menyebabkan kelarutan logam - logam dalam air makin besar dan akan bersifat toksik bagi organisme air. Sebaliknya pH yang tinggi dapat meningkatkan konsentrasi amoniak dalam air yang juga mempunyai sifat toksik bagi organisme air tawar (Tatangindatu *et al.*, 2013).

Kisaran pH yang optimum untuk ikan mas (*C. carpio* L.) adalah 6 – 8. Nilai pH yang terlalu tinggi akan sangat mempengaruhi konsentrasi amonia di dalam perairan. Apabila konsentrasi amonia terlalu tinggi dapat mengakibatkan kematian pada ikan karena mengganggu pengikatan oksigen oleh darah (Silaban *et al.*, 2012).

2.5.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan salah satu unsur kimia yang dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernafasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi pertumbuhan dan pembiakan. Ikan membutuhkan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas, seperti berenang, pertumbuhan dan sebaliknya. Oleh karena itu, ketersediaan oksigen sangat diperlukan bagi ikan untuk menentukan lingkaran aktivitasnya, konversi pakan (Saputra, 2011).

DO (*Dissolved oxygen*) merupakan oksigen yang terlarut didalam perairan. Kisaran oksigen yang optimum untuk ikan air tawar adalah lebih dari 5 mg/l. Jika oksigen terlarut tidak seimbang dalam perairan maka akan menyebabkan stres karena otak tidak mendapat suplai oksigen yang cukup, serta kematian akibat kekurangan oksigen (anoxia) yang disebabkan jaringan tubuh ikan tidak dapat mengikat oksigen yang terlarut dalam darah (Tatangindatu *et al.*, 2013).

2.6 Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Kelulushidupan atau *survival rate* adalah jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian dibandingkan dengan jumlah ikan diawal penelitian. Perhitungan kelulushidupan ikan ini dihitung pada akhir penelitian. Adapun rumus kelulushidupan (*Survival Rate*) menurut Wahjuningrum *et al.*, (2013), adalah sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan hidup hewan uji (%)

Nt = Jumlah ikan uji akhir penelitian (ekor)

No = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor)

Menurut Widiastuti (2009), kelangsungan hidup (*survival rate*) ikan mas dipengaruhi oleh padat penebaran yang tinggi, persaingan sangat besar, baik dalam hal makanan, ruang gerak maupun oksigen, sehingga ada beberapa ekor ikan yang mati karena tidak bisa beradaptasi. Selain itu juga diakibatkan kelemahan tubuh ikan terhadap penyakit.



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian diantaranya adalah sebagai berikut:

- Hot plate
- Timbangan digital
- Baskom
- Gunting
- Beaker glass
- Corong
- Nampan
- Spatula
- Vortex
- Rotary evaporator
- Akuarium 40 x 40 x 40 cm³
- Sesar
- Aerator set
- Thermometer
- pH meter
- DO meter
- Sectio set
- Mikroskop
- *Appendorf*
- *Tissue processor*
- *Wadah embedding*
- Oven
- Mikrotom
- Pinset
- Inkubator
- *Object Glass*
- *Cover Glass*
- *Auto Staning*
- *Waterbath*

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian diantaranya adalah sebagai berikut:

- Etanol 96 %
- Ikan mas (*C. carpio*) yang diperoleh dari Pare
- Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr)
- Kertas label

- Bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Kertas saring
- Aquades
- Pakan ikan
- Tissue
- Formalin 10 %
- Tissue
- Aceton
- Xylol
- Paraffin cair
- Paraffin blok
- Alkohol 96 %
- Eosin
- Lem
- Koran
- Alumunium foil

3.2 Media Penelitian

Media penelitian yang digunakan adalah air tawar yang didapatkan dari air sumur, kemudian dialirkan melalui pipa menuju akuarium yang berukuran 40 x 40 x 40 cm³ sebanyak 18 buah dan diberi aerasi sebagai suplai oksigen.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dimana metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Sukmadinata (2012), metode eksperimen merupakan suatu metode penelitian yang dapat dilakukan baik pada skala laboratorium maupun skala luar laboratorium. Metode eksperimen terdiri dari satu atau dua lebih variabel terhadap variabel lain. Kemudian karena penelitian ini bersifat percobaan maka semua variabel yang dicoba harus diukur dengan menggunakan instrument yang sudah distandardisasikan. Dalam penelitian ini terdapat kontrol dan perlakuan dimana kontrol digunakan untuk perbandingan hasil.

3.4 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data yang dilakukan 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, 1975).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang seragam atau homogen. Sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2002).

Model untuk RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

Y = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = Nilai rata - rata

T = Pengaruh perlakuan ke-i

ε = Pengaruh kesalahan (galat) percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) dengan dosis 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm.

Untuk mempermudah dalam menganalisis diperlukan kontrol sebagai pembanding. Digunakan dua kontrol pada penelitian ini yaitu kontrol positif dan negatif. Kontrol positif perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri A.

hydrophila dan tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak, sedangkan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Sebelum melakukan penelitian *in vivo* menggunakan hewan uji ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dilakukan pengujian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) menggunakan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Fungsi pengujian MIC untuk mengetahui resistensi suatu mikroba terhadap antimikroba yang diberikan. Hasil uji MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yang telah dilakukan sebelumnya dari percobaan *in vitro* ekstrak kasar bawang dayak terhadap bakteri *A. hydrophila*, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji MIC

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1	1000	0,222	Keruh
2	100	0,159	Keruh
3	10	0,142	Bening
4	1	0,164	Keruh
5	0,1	0,175	Keruh
6	0,01	0,180	Keruh
7	0	0,168	Keruh
8	Kontrol (+)	0,145	Bening
9	Kontrol (-)	1,281	Keruh

Keterangan:

Tabung nomor 3 = Konsentrasi 10 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*

Kontrol (-) = Perlakuan tidak diberikan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr)

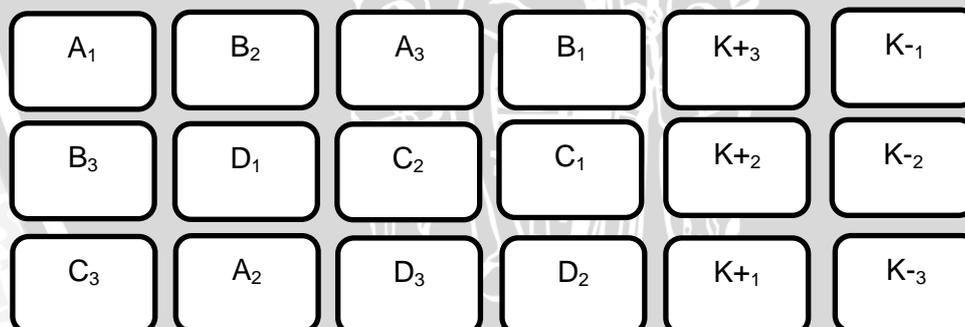
Kontrol (+) = Perlakuan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) dengan dosis tertinggi 1000 ppm

Berdasarkan hasil uji MIC, didapatkan pengaruh ekstrak bawang dayak yang efektif untuk menghambat bakteri pada kisaran 10 ppm yang dapat dilihat dari hasil larutan berwarna bening yang mengindikasikan bahwa pertumbuhan bakteri terhambat. Dapat dilihat juga dari nilai absorbansinya yaitu 0,142 yang

hampir mendekati nilai kontrol positif (K+) yaitu 0,145. Terdapat total 18 sampel yang diamati dengan keterangan sebagai berikut:

- K(-) = Perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak kasar bawang dayak.
- K(+) = Perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak bawang dayak.
- A = Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) 50 ppm
- B = Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) 60 ppm
- C = Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) 70 ppm
- D = Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) 80 ppm

Untuk denah penelitian *in vivo* disajikan pada Gambar 3 berikut ini:



Gambar 3. Denah Penelitian

Keterangan:

A,B,C,D = Perlakuan

K(-) = Kontrol negatif

K(+) = Kontrol positif

1,2,3 = Ulangan

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Kasar Bawang Dayak

Untuk pembuatan ekstrak bawang dayak yang dilakukan pertama yaitu bawang dayak dicuci hingga bersih. Kemudian bawang dayak dikeringkan dan dipotong. Setelah itu dilakukan pengovenan pada suhu 50° C selama 48 jam. Setelah pengovenan selesai didapatkan bawang dayak kering, kemudian bawang dayak yang sudah kering dihaluskan untuk mendapatkan bawang dayak dalam bentuk serbuk.

Serbuk bawang dayak yang sudah jadi kemudian direndam (maserasi) di dalam etanol 96 % selama 1 x 24 jam dalam suhu kamar dengan perbandingan 1 : 4. Setiap 1 gr serbuk dayak, direndam dalam 4 ml etanol. Kemudian serbuk bawang dayak sebanyak 100 gram direndam etanol sebanyak 400 ml. Larutan yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kasar bawang dayak dalam bentuk pasta.

b. Persiapan Alat

Akuarium yang digunakan untuk penelitian ini berukuran 40 x 40 x 40 cm³ sebanyak 18 buah. Akuarium yang akan digunakan sebelumnya dibersihkan dahulu dengan menggunakan detergen lalu dibilas dan kemudian direndam dengan menggunakan khlorin selama 30 menit, kemudian diberikan Na-Thiosulfat untuk menetralkan. Kemudian akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari, lalu diisi dengan air. Akuarium kemudian diisi air sebanyak 16 liter dan dilengkapi dengan aerator untuk mensuplai oksigen.

c. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu ikan mas (*C. carpio*) yang didapatkan dari Pare sebanyak 270 ekor dengan panjang 7 - 12 cm. Masing - masing akuarium

diisi oleh 15 ekor ikan mas. Setelah itu dilakukan proses aklimatisasi selama 3 hari. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk mengkondisikan ikan agar ikan benar - benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Ikan diberi pakan pellet sebanyak 2 kali sehari pada pagi dan sore hari. Selain pemberian pakan, kebersihan akuarium harus selalu dijaga dengan melakukan penyiponan yaitu pembersihan sisa pakan dan kotoran.

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Mas

Penginfeksian bakteri *A. hydrophila* pada ikan uji dilakukan dengan cara perendaman dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Proses perendaman dilakukan sampai pertama kali ikan mengalami kolaps. Perendaman ikan mas dengan bakteri *A. hydrophila* menggunakan satu akuarium berukuran $80 \times 40 \times 50 \text{ cm}^3$ dengan kapasitas air 30 liter (30.000 ml), sehingga didapatkan volume suspensi bakteri dari perhitungan berikut:

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

$$V_1 \times (6 \times 10^8) = 30.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{30.000 \times 10^7}{6 \times 10^8}$$

$$V_1 = 500 \text{ ml}$$

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 500 ml dan air tawar yang digunakan sebanyak 29.500 ml. Ikan direndam selama 24 jam, lalu ikan dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi ekstrak bawang dayak sesuai dosis.

b. Perendaman Ikan Uji Dengan Ekstrak Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr)

Pemberian ekstrak kasar bawang dayak yang pertama dilakukan yaitu akuarium ukuran $40 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$ diisi air sebanyak 16 liter. Lalu tambahkan ekstrak kasar bawang dayak sesuai dosis (50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm).

Akuarium diberi aerasi untuk mensuplai oksigen. Pada tiap akuarium berisikan 15 ekor ikan mas.

Ikan sampel yang akan diamati jaringannya yaitu ikan normal (tidak sakit), ikan yang diinfeksi bakteri dan ikan yang diberi ekstrak bawang dayak serta telah diinfeksi bakteri. Ikan direndam dengan ekstrak selama 11 jam, setelah menunjukkan tanda gelisah pertama kali dengan ciri - ciri ikan bergerak tidak beraturan, ikan diambil dari masing - masing akuarium kemudian dipindahkan ke akuarium pemeliharaan.

c. Uji Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Setelah selesai dilakukan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan pemberian ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) maka ikan mas dipindahkan ke akuarium berukuran 40 x 40 x 40 cm³ yang berisi air 16 liter, sebelumnya akuarium sudah diberi aerator selama 24 jam. Kemudian akuarium tersebut diberi tanda setiap perlakuan seperti A (1, 2, 3), B (1, 2, 3), C (1, 2, 3), K (-) (1, 2, 3) dan K (+) (1, 2, 3). Pengamatan dilakukan selama 7 hari masa pemeliharaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi gejala klinis dari ikan dan jumlah ikan yang mati selama masa pemeliharaan. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari secara adlibitum, dilakukan penyiponan sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

d. Pengambilan Jaringan Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Pengambilan hati dilakukan pada akhir penelitian. Ikan diambil hatinya untuk diamati histopatologi hati ikan. Sampel hati yang sudah diambil dimasukkan ke dalam *appendorf* dan diberi bahan pengawet berupa larutan formalin 10 %, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

e. Pembuatan Histopatologi Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Setelah masa adaptasi selesai, hati ikan diambil sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Sampel hati dimasukkan ke dalam *appendorf* dan diberi bahan pengawet yaitu larutan formalin 10 %, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan - tahapannya yaitu:

- Tahap Fiksasi

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

- Tahap Dehidrasi

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

- Tahap Clearing

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan 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 40⁰ C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan *object glass* (untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*), sebelumnya *object glass* harus diolesi dengan perekat polylisin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50 - 60⁰ C kurang lebih selama 30 menit.

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

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

- **Tahap *Mounting***

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

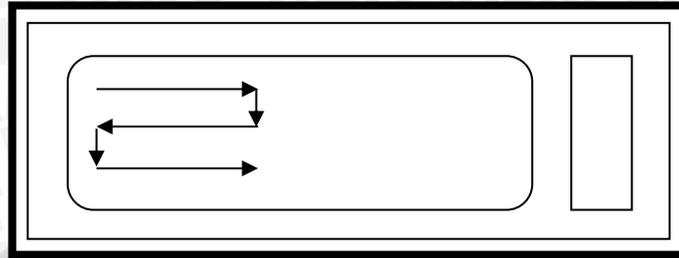
3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan mas yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan mas setelah diobati yaitu dengan melihat histopatologi jaringan hati ikan mas.

Hasil uji histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan hati ikan mas

yang sudah diberi ekstrak bawang dayak maka dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan metode semi kuantitatif. Pada metode ini dilakukan pembacaan pada preparat dengan gerak zig zag seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Alur Skoring (Gerak Zig Zag) (Siswandari, 2005)

Pada 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 jaringannya dengan kriteria melanomakrofag, kongesti, nekrosis dan degenerasi vakuola. Persentase kerusakan setiap luas bidang lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan menurut KIM (2006) dalam Raza'i (2008), dengan rumus sebagai berikut:

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

Kemudian persentase yang telah didapatkan diberi *scoring* dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0 – 5 %, angka 2 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan 6 – 25 %, angka 3 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan 26 – 50 % dan angka 4 dengan tingkat persentase kerusakan jaringan > 50 %.

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air dan kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR). Pada pengukuran kualitas air, parameter yang diukur meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut, dimana:

- Suhu yang diukur menggunakan termometer

- pH air yang diukur menggunakan pH meter
- Oksien terlarut yang diukur menggunakan DO meter

Sedangkan kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) diamati selama 7 hari pemeliharaan di dalam akuarium. Rumus SR menurut Wahjuningrum *et al.*, (2013), adalah sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan hidup hewan uji (%)

N_t = Jumlah ikan uji akhir penelitian (ekor)

N_o = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor)

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan 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. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan jumlah kerusakan jaringan pada histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Hati

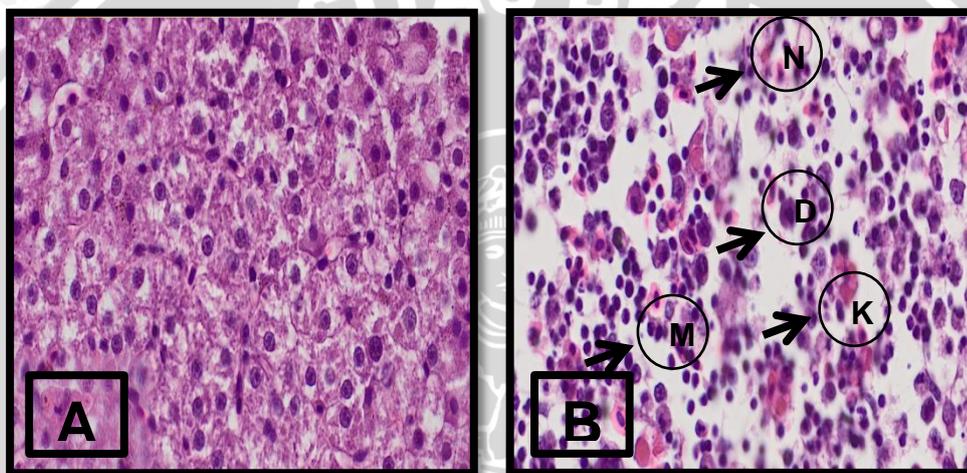
Menurut Setyowati *et al.*, (2010), analisa histopatologi pada ikan dapat digunakan untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan yang dilihat berdasarkan perubahan struktur pada organ - organ dalam tubuh ikan. Penggunaan histopatologi juga dapat berfungsi untuk memonitoring lingkungan sekitar dengan mengamati organ – organ ikan yang memiliki fungsi dalam sistem metabolisme tubuh. Oleh karena itu diagnosa gangguan kesehatan ikan dapat dilihat dari analisa histopatologi organ ikan tersebut.

Hati mempunyai peranan utama antara lain menetralsisir zat – zat beracun dalam tubuh (detoksifikasi), kemudian sebagai pertahanan tubuh untuk melawan infeksi dengan membersihkan darah. Menurut Rana *et al.*, (2015), organ hati pada ikan memiliki fungsi dalam metabolisme, ekskresi, pencernaan, detoksifikasi dan juga dalam hal penyimpanan berbagai zat termasuk zat yang beracun bagi ikan. Oleh karena itu organ hati sering digunakan dalam uji histopatologi untuk mengetahui ikan sehat ataupun terserang penyakit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Salim dan Majeed (2014), pengamatan histopatologi pada ikan mas (*C. carpio*) dapat digunakan untuk mengevaluasi kesehatan ikan mas. Salah satunya adalah organ hati ikan mas yang dievaluasi melalui pengujian terhadap kerusakan akibat nekrosis, kongesti, melanomakrofag dan degenerasi vakuola.

4.1.1 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (*C. carpio*) Normal dan Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Jaringan hati yang normal dapat dilihat pada Gambar 5 (A) yang memperlihatkan jaringan yang masih utuh serta sel – sel tertata rapi. Jaringan hati yang terinfeksi dapat dilihat pada Gambar 5 (B) yang merupakan kontrol

positif dengan hanya penginfeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat bahwa sudah mulai berantakan dan ditemukan kerusakan – kerusakan seperti degenerasi vakuola yang merupakan pembengkakan sel dimana hepatosit membengkak, lalu kongesti yang merupakan penggumpalan darah yang terjadi di kelenjar sinusoid dan pembuluh darah kecil pada hati, kemudian melanomakrofag yang merupakan penumpukan pigmen melanin pada sel hati akibat kerusakan sel hati, serta nekrosis yang merupakan kematian sel atau pendarahan yang diakibatkan oleh infeksi bakteri.



Gambar 5. (A) Jaringan Hati Normal Tanpa Perlakuan; (B) Jaringan Hati Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*; (D) Degenerasi Vakuola; (K) Kongesti; (M) Melanomakrofag; (N) Nekrosis. Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE

Kerusakan – kerusakan jaringan hati seperti pernyataan di atas disebabkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila* yang sudah terjangkit pada kontrol positif atau kontrol infeksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sholikhah (2009), *A. hydrophila* menyebabkan tingkah laku ikan yang tidak normal, berenang lambat dan megap – megap di permukaan. Terjadi mata menonjol (exophthalmus), perut menggebung berisi cairan kemerahan menyebabkan perubahan jaringan atau kerusakan pada jaringan organ ikan seperti hati ataupun insang.

4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr)

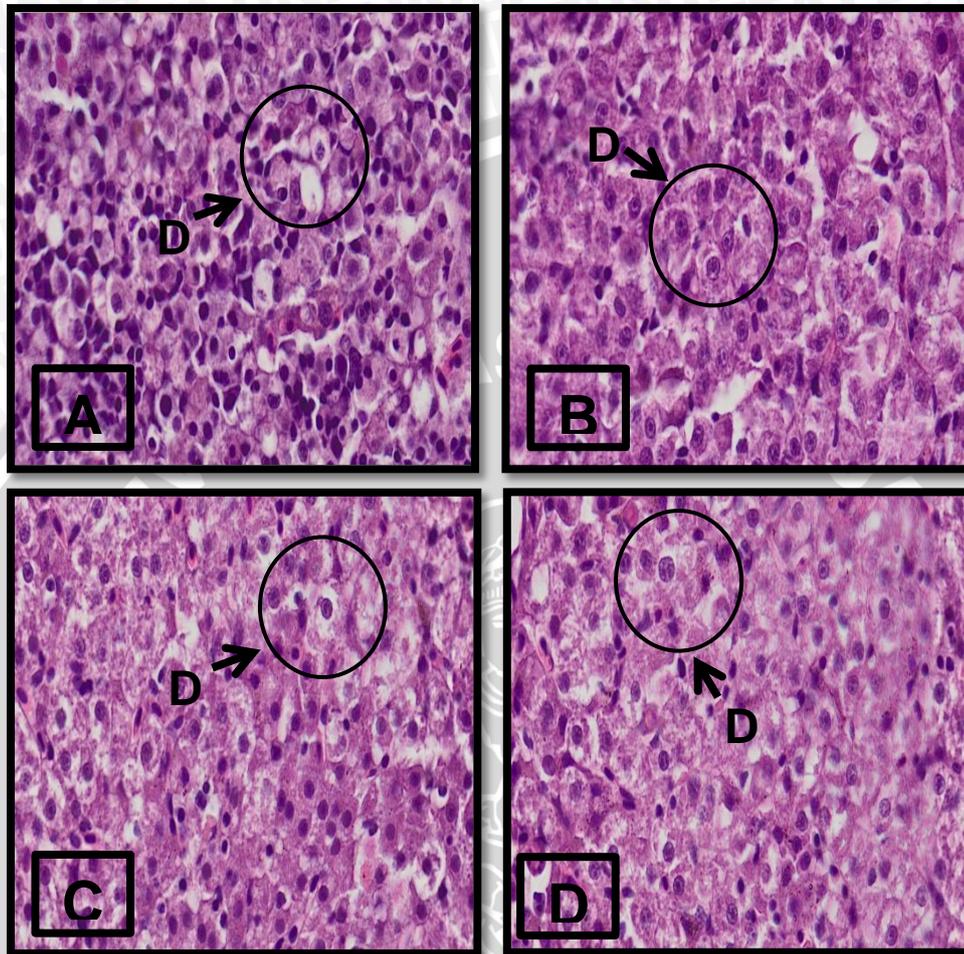
Hasil penelitian, gambaran jaringan hati ikan mas (*C. carpio*) yang diberi perlakuan yang berbeda, dimana kondisi hati ikan mas (*C. carpio*) setelah diberi perlakuan perendaman dengan dosis yang berbeda memperlihatkan hasil histopatologi yang berbeda – beda pada tiap perlakuan. Meskipun tidak terlihat secara langsung bahwa pemberian ekstrak dapat mempengaruhi pemulihan jaringan, tetapi perbedaan kerusakan yang terjadi pada jaringan hati dengan penambahan dosis ekstrak yang berbeda dapat ditunjukkan melalui nilai skoring.

Perlakuan A, B, C dan D dengan dosis ekstrak berturut – turut adalah 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm dan 80 ppm rata – rata mengalami kerusakan jaringan yang sama yaitu degenerasi vakuola, kongesti, melanomakrofag dan nekrosis. Namun hasil skoring terlihat perbedaan hasil pada masing – masing perlakuan. Analisis data kerusakan pada jaringan hati yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) sebagai berikut.

a. Degenerasi Vakuola

Degenerasi vakuola merupakan keadaan dimana sel hati tampak membesar. Pembengkakan hati ini disebabkan terjadinya peningkatan permeabilitas sel, dimana sel tidak mampu mempertahankan homeostatis ion dan cairan, sehingga terjadi perpindahan cairan ekstra sel ke dalam sel dan tidak mampu memompa ion natrium keluar. Menurut Hadi dan Alwan (2012), pembengkakan sel hati ditandai dengan adanya vakuola yang diakibatkan hepatosit membengkak. Pembengkakan ini menunjukkan ketidakseimbangan antara sintesis zat dalam sel parenkim dan sistem sirkulasi. Selain itu munculnya vakuola juga dianggap sebagai mekanisme pertahanan seluler

terhadap zat atau elemen berbahaya bagi hepatosit. Lebih jelasnya struktur sel hati yang mengalami degenerasi vakuola dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (D) Degenerasi Vakuola; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) memberikan hasil rata – rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat degenerasi vakuola yang terjadi pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring dikumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data

rerata nilai skoring degenerasi vakuola dari kerusakan hati yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Degenerasi Vakuola

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata	SD
	1	2	3			
A (50 ppm)	2,40	2,00	2,60	7,00	2,33	0,30
B (60 ppm)	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93	0,11
C (70 ppm)	2,00	1,60	1,60	5,20	1,73	0,23
D (80 ppm)	1,40	1,40	1,40	4,20	1,40	0
K+ (Kontrol Positif)	3,00	3,00	2,80	8,80	2,93	0,11
K- (Kontrol Negatif)	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kerusakan degenerasi vakuola pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Sidik Ragam Skoring Degenerasi Vakuola Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,37	0,457	11,417**	4,07	7,59
Acak	8	0,32	0,04			
Total	11	1,69	-			

Keterangan: (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan degenerasi vakuola pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 4.

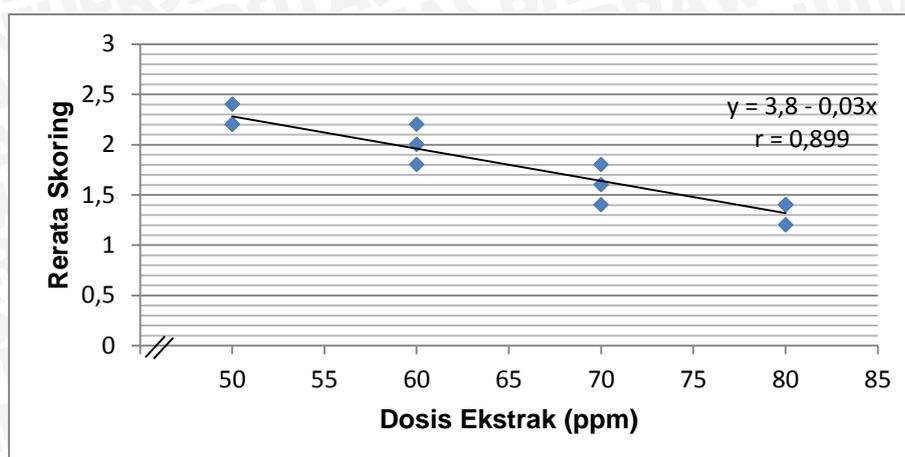
Tabel 4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Degenerasi Vakuola

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,4	1,73	1,93	2,33	
D	1,4	-				a
C	1,73	0,33*	-			b
B	1,93	0,53**	0,2 ^{ns}	-		bc
A	2,33	0,93**	0,6**	0,4*	-	d

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata
(*) = berbeda nyata
(**) = berbeda sangat nyata

Bedasarkan Tabel 4, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami degenerasi vakuola ditandai dengan notasi a, b, c dan d. Pemberian dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) yang berbeda pada perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b, perlakuan B (60 ppm) dengan notasi bc juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d, serta perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a dan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d. Hal ini dikarenakan pada bawang dayak terdapat bahan antimikroba seperti flavonoid dan zat antimikroba lainnya yang terbukti mampu menghambat perkembangan bakteri *A. hydrophila* dalam hati ikan mas (*C. carpio*). Pernyataan ini didukung oleh Hendra *et al.*, (2011), ekstrak berbagai macam tanaman obat yang mengandung flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Flavonoid diklasifikasikan dalam kelompok fenolik yang aktivitas mekanisme antimikrobanya dapat diklasifikasikan sebagai penghambatan sintesis asam nukleat, sitoplasma, fungsi membran serta metabolisme energi. Abed *et al.*, (2015), menambahkan aktivitas antimikroba flavonoid dapat dijelaskan dengan penghambatan metabolisme bakteri serta penyerapan zat yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 7, didapatkan pola hubungan linear dengan persamaan garis yaitu $y = 3,8 - 0,03x$ dan $r = 0,899$.

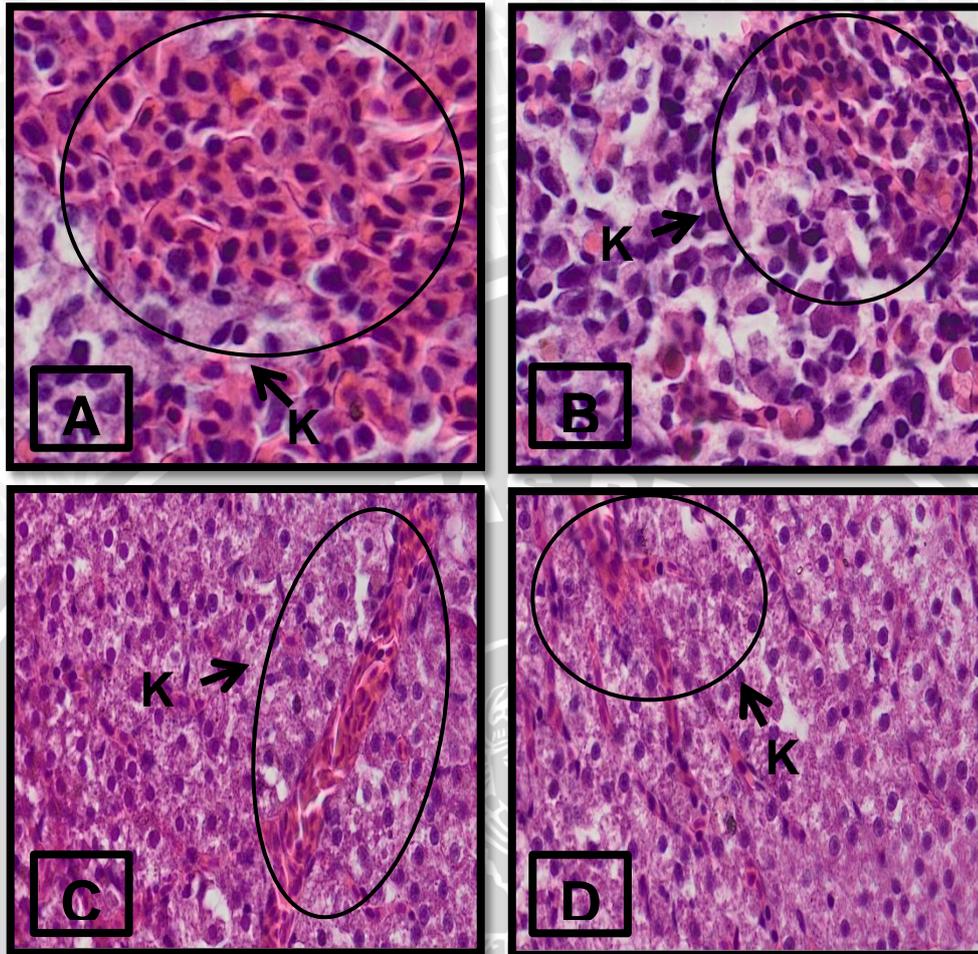


Gambar 7. Grafik Regresi Degenerasi Vakuola Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Grafik di atas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan pemberian dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun dan didapatkan persamaan yaitu $y = 3,8 - 0,03x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8083 yang berarti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan pengaruh terhadap persentase kerusakan hati akibat degenerasi vakuola sebesar 80,83 % dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain dan korelasi (r) yakni 0,899 yang memiliki arti bahwa hubungan antara sumbu X dan sumbu Y adalah sangat rekat (hampir mendekati 1).

b. Kongesti

Kongesti merupakan peningkatan jumlah darah dalam jaringan atau terjadi pembendungan darah yang disebabkan karena gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen. Menurut Naeemi *et al.*, (2013), kongesti merupakan gangguan sirkulasi darah. Gangguan tersebut diakibatkan oleh peningkatan volume darah dalam pembuluh kapiler. Peningkatan volume darah ini diakibatkan oleh pembengkakan sel hati yang menyebabkan sinusoid menyempit, sehingga aliran darah akan tersumbat atau terganggu. Lebih jelasnya struktur sel hati yang mengalami kongesti dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (K) Kongesti; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) memberikan hasil rata – rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat kongesti yang terjadi pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring dikumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring kongesti dari kerusakan hati yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata	SD
	1	2	3			
A (50 ppm)	2,20	2,40	2,20	6,80	2,27	0,11
B (60 ppm)	1,80	1,60	2,20	5,60	1,87	0,30
C (70 ppm)	1,80	1,40	1,60	4,80	1,60	0,2
D (80 ppm)	1,20	1,40	1,40	4,00	1,33	0,11
K+ (Kontrol Positif)	3,20	3,00	3,00	9,20	3,07	0,11
K- (Kontrol Negatif)	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kerusakan kongesti pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Skoring Kongesti Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,427	0,476	11,889**	4,07	7,59
Acak	8	0,32	0,04			
Total	11	1,747	-			

Keterangan: (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan kongesti pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kongesti

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,33	1,6	1,87	2,27	
D	1,33	-				a
C	1,6	0,27 ^{ns}	-			a
B	1,87	0,53**	0,27 ^{ns}	-		ab
A	2,27	0,93**	0,67**	0,4*	-	c

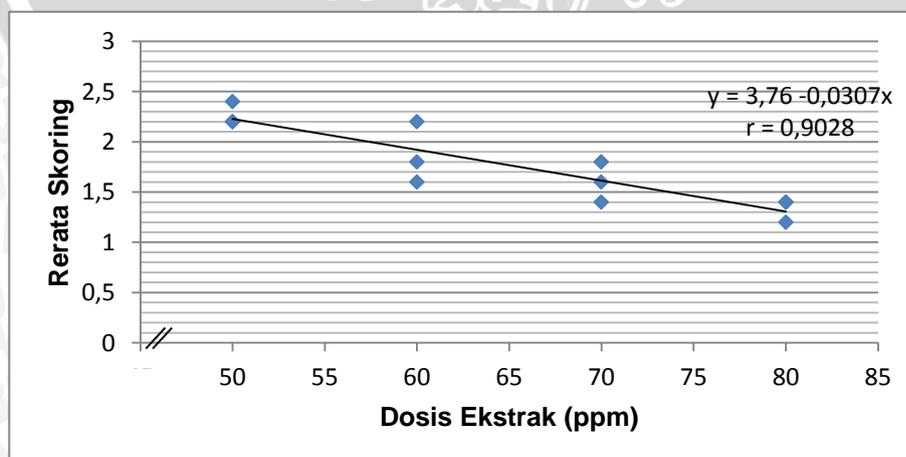
Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Bedasarkan Tabel 7, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami kongesti ditandai dengan notasi a, b dan c. Pemberian dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) yang berbeda pada perlakuan D (80 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi a, sedangkan perlakuan B (60 ppm) dengan notasi ab berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi c, serta perlakuan D (80 ppm) dan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi c. Hal ini dikarenakan pada bawang dayak juga terdapat tannin dan saponin yang juga berperan sangat penting. Hal ini sesuai dengan pendapat Alabi *et al.*, (2012), tannin bekerja menggumpalkan sel sitoplasma bakteri sehingga metabolisme dari bakteri akan terganggu. Selanjutnya bahan aktif saponin yang bekerja dalam memberikan jalan masuk untuk materi toksik ke dalam sel bakteri atau dengan kata lain membuka jalan kebocoran kandungan sitoplasma sel yang sebelumnya digumpalkan oleh tannin.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 9, didapatkan pola hubungan linear dengan persamaan garis yaitu $y = 3,76 - 0,0307x$ dan $r = 0,9028$.

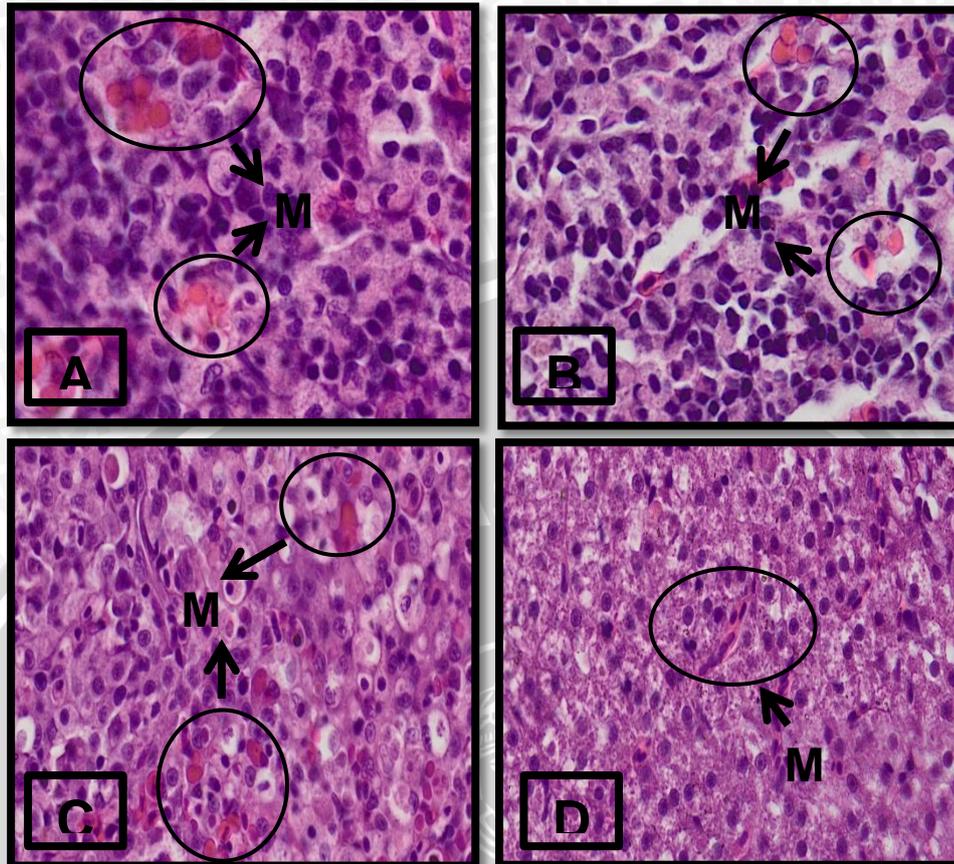


Gambar 9. Grafik Regresi Kongesti Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Grafik di atas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan pemberian dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun dan didapatkan persamaan $y = 3,76 - 0,0307x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8151 yang berarti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan pengaruh terhadap persentase kerusakan hati akibat kongesti sebesar 81,51 % dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain dan korelasi (r) yakni 0,9028 yang memiliki arti bahwa hubungan antara sumbu X dan sumbu Y adalah sangat rekat (hampir mendekati 1).

c. Melanomakrofag

Melanomakrofag merupakan makrofag yang mempunyai banyak pigmen melanin didalamnya. Makrofag ini akan meningkat apabila ikan dalam keadaan stres atau sakit. Hal ini dikarenakan fungsi pigmen melanin yang merupakan perlindungan melawan invasi parasit dan pertahanan melawan mekanisme yang menimbulkan bahaya dalam tubuh. Menurut Noga (2010), melanomakrofag merupakan kerusakan jaringan yang diamati pada organ hati ikan. Pada ikan sehat biasanya terdapat melanomakrofag berbentuk bulat padat yang memiliki jumlah pigmen bervariasi. David dan Kartheek (2015), menambahkan bahwa indikator stres pada ikan salah satunya yaitu melanomakrofag. Hal ini dikarenakan jumlahnya akan meningkat pada saat ikan mengalami stres. Peningkatan ini diakibatkan dari aktivitas pigmen melanin didalamnya. Lebih jelasnya struktur sel hati yang mengalami melanomakrofag dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (M) Melanomakrofag; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) memberikan hasil rata – rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat melanomakrofag yang terjadi pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring dikumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring melanomakrofag dari kerusakan hati yang dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Melanomakrofaq

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata – rata	SD
	1	2	3			
A (50 ppm)	2,40	2,20	2,20	6,80	2,27	0,11
B (60 ppm)	2,20	1,80	2,00	6,00	2,00	0,2
C (70 ppm)	1,80	1,40	1,60	4,80	1,60	0,2
D (80 ppm)	1,40	1,40	1,20	4,00	1,33	0,11
K+ (Kontrol Positif)	3,00	3,00	2,80	8,80	2,93	0,11
K- (Kontrol Negatif)	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kerusakan melanomakrofaq pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Sidik Ragam Skoring Melanomakrofaq Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,547	0,516	19,333**	4,07	7,59
Acak	8	0,213	0,027			
Total	11	1,76	-			

Keterangan: (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 9 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan melanomakrofaq pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 10.

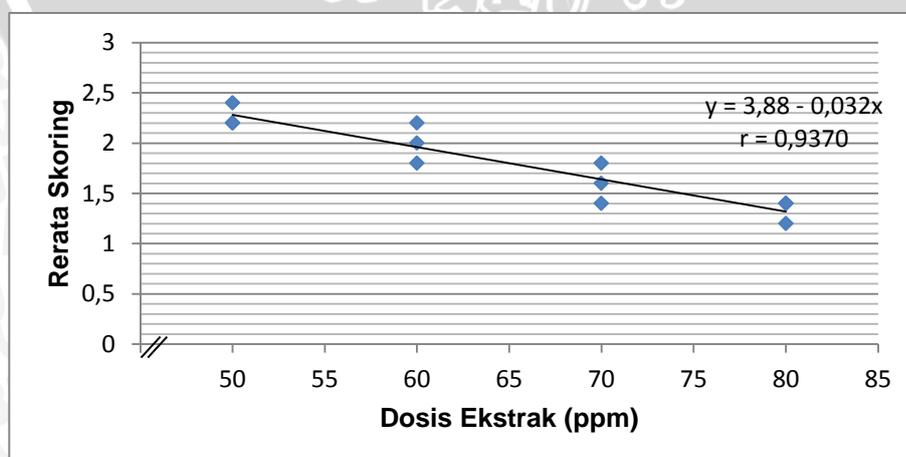
Tabel 10. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Melanomakrofaq

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,33	1,6	2	2,27	
D	1,33	-				a
C	1,6	0,27*	-			b
B	2	0,67**	0,4**	-		c
A	2,27	0,93**	0,67**	0,27*	-	d

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata
 (*) = berbeda nyata
 (**) = berbeda sangat nyata

Bedasarkan Tabel 10, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami melanomakrofaag ditandai dengan notasi a, b, c dan d. Pemberian dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) yang berbeda pada perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b, perlakuan B (60 ppm) dengan notasi c juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d, serta perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a dan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d. Hal ini dikarenakan kandungan antimikroba yang terdapat pada bawang dayak, dimana salah satunya adalah flavonoid. Menurut Vasconcelos *et al.*, (2006), mekanisme antimikroba dari flavonoid ada tiga macam, yaitu yang pertama dengan cara menghambat sintesis asam nukleat. Cara kedua yaitu dengan menghambat fungsi membran sitoplasma. Cara ketiga dengan menghambat metabolisme energi.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 11, didapatkan pola hubungan linear dengan persamaan garis yaitu $y = 3,88 - 0,032x$ dan $r = 0,9370$.

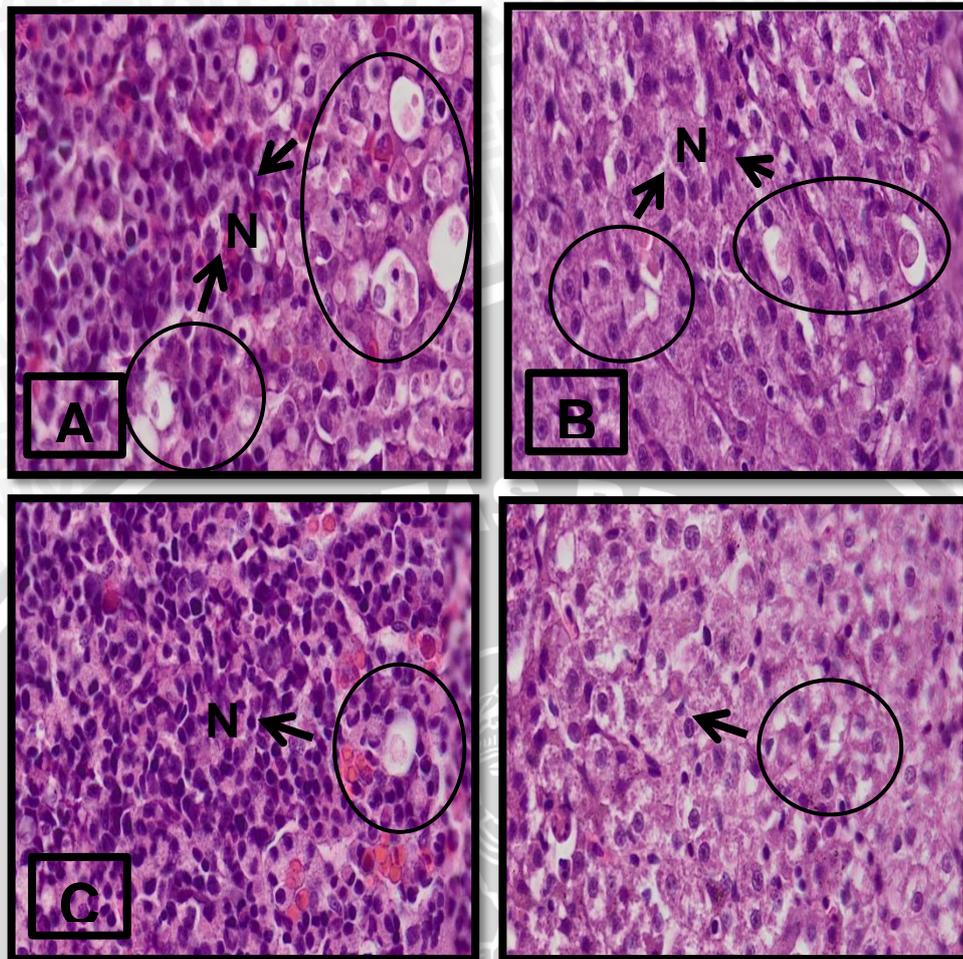


Gambar 11. Grafik Regresi Melanomakrofaag Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Grafik di atas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan pemberian dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun dan didapatkan persamaan $y = 3,88 - 0,032x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8780 yang berarti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan pengaruh terhadap persentase kerusakan hati akibat melanomakrofag sebesar 87,80 % dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain dan korelasi (r) yakni 0,9370 yang memiliki arti bahwa hubungan antara sumbu X dan sumbu Y adalah sangat rekat (hampir mendekati 1).

d. Nekrosis

Nekrosis diawali dengan bentuk inti mengecil dan kematian sel. Kerusakan ini akibat dari sel hati yang mengalami pembengkakan sehingga sinusoid akan menyempit. Penyempitan sinusoid ini akan mengakibatkan terjadinya penyumbatan aliran darah sehingga menyebabkan peningkatan volume darah. Hal ini mengakibatkan sel akan kehilangan integritas membrannya. Sel akan mengeluarkan materi sel keluar dan kemudian terjadilah kematian sel. Menurut Yancheva *et al.*, (2016), nekrosis merupakan kematian sel yang ditandai dengan perubahan inti sel dan sitoplasma. Sel kemudian akan kehilangan fungsi membrannya. Tresnati dan Djawad (2012), menjelaskan bahwa nekrosis disebabkan obstruksi sinusoid yang biasanya mengangkut darah ke hepatosit, dimana penyumbatan darah ke hepatosit dapat menurunkan pasokan nutrisi sel. Struktur sel hati yang mengalami nekrosis dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (N) Nekrosis; (A) Perlakuan A (50 ppm); (B) Perlakuan B (60 ppm); (C) Perlakuan C (70 ppm); (D) Perlakuan D (80 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler dengan Pembesaran 400x dan Perwarnaan HE

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) memberikan hasil rata – rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat nekrosis yang terjadi pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring dikumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring nekrosis dari kerusakan hati yang dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata	SD
	1	2	3			
A (50 ppm)	2,40	2,20	2,60	7,20	2,40	0,2
B (60 ppm)	2,20	2,00	2,20	6,40	2,13	0,11
C (70 ppm)	2,00	1,60	1,60	5,20	1,73	0,23
D (80 ppm)	1,60	1,40	1,40	4,40	1,47	0,11
K+ (Kontrol Positif)	3,00	2,80	3,20	9,00	3,00	0,2
K- (Kontrol Negatif)	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Sidik Ragam Skoring Nekrosis Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,547	0,516	17,185**	4,07	7,59
Acak	8	0,24	0,03			
Total	11	1,787	-			

Keterangan: (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 12 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Nekrosis

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		1,47	1,73	2,13	2,24	
D	1,47	-				a
C	1,73	0,27*	-			b
B	2,13	0,67**	0,4*	-		c
A	2,24	0,93**	0,67**	0,27*	-	d

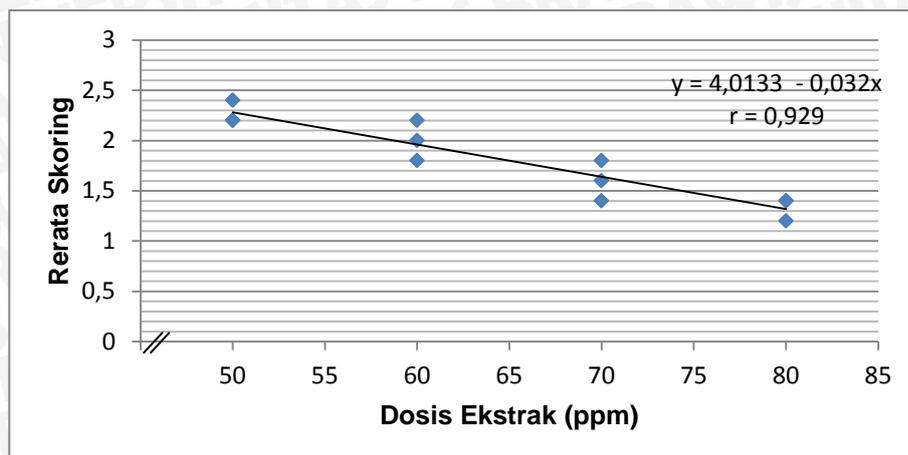
Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Bedasarkan Tabel 13, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami nekrosis ditandai dengan notasi a, b, c dan d. Pemberian dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) yang berbeda pada perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b, perlakuan B (60 ppm) dengan notasi c juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d, serta perlakuan D (80 ppm) dengan notasi a dan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi b berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (50 ppm) dengan notasi d. Hal ini dikarenakan kandungan antimikroba yang terdapat pada bawang dayak, dimana salah satunya adalah tannin. Hal sesuai dengan pendapat Doss *et al.*, (2009), tannin merupakan senyawa antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk merusak dinding sel bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri. Tannin dapat berikatan dengan asam lipoteikoit pada permukaan sel bakteri. Mailoa *et al.*, (2014), menambahkan tannin dapat menghambat bakteri dengan menghancurkan membran plasma bakteri. Kerusakan membran sel dapat mencegah bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri masuk untuk menghasilkan energi sehingga mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau bahkan mati.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 13, didapatkan pola hubungan linear dengan persamaan garis yaitu $y = 4,0133 - 0,032x$ dan $r = 0,929$.



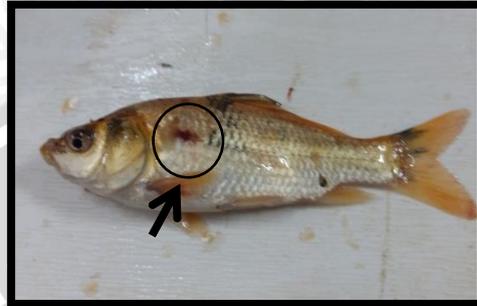
Gambar 13. Grafik Regresi Nekrosis Hati Ikan Mas (*C. carpio*)

Grafik di atas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan pemberian dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan dari nekrosis semakin menurun dan didapatkan persamaan yaitu $y = 4,0133 - 0,032x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8648 yang berarti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan pengaruh terhadap persentase kerusakan hati akibat nekrosis sebesar 86,48 % dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain dan korelasi (r) yakni 0,929 yang memiliki arti bahwa hubungan antara sumbu X dan sumbu Y adalah sangat rekat (hampir mendekati 1).

4.2 Gejala Klinis Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Pengamatan terhadap gejala klinis ikan mas (*C. carpio*) yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* meliputi kerusakan tubuh ikan dan tingkah laku ikan mas (*C. carpio*). Pengamatan ini dilakukan pada ikan kontrol positif (K+) yaitu ikan yang telah diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman dengan ekstrak. Pengamatan dimulai sejak 24 jam setelah ikan uji diinfeksi bakteri hingga akhir penelitian yaitu selama seminggu. Gejala klinis yang terjadi selama pemeliharaan diawali dengan gerakan ikan mas (*C. carpio*) yang berenang tidak normal, seperti berenang cepat tidak beraturan, terkadang ikan

berenang sangat lemah, lalu ikan berkumpul mendekati sumber udara serta ikan menggosok – gosokan badan ke dinding akuarium dan mengalami penurunan nafsu makan. Sedangkan pada bagian fisik ikan terlihat bercak merah pada kulit ikan yang dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Bagian Tubuh Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Akibat Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Gejala klinis diatas dapat dikatakan infeksi bakteri *A. hydrophila* ini sangat berbahaya karena dapat menyebabkan luka serius bahkan borok. Hal ini sesuai dengan pernyataan Yulvizar *et al.*, (2015), gejala klinis yang terjadi pada ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah kehilangan nafsu makan, perut semakin membesar berisi cairan serta pendarahan pada insang. Tran *et al.*, (2015), menambahkan ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* akan menunjukkan gejala klinis berupa gangguan pada berenang, mata bengkak, pendarahan pada kulit bekas suntikan dan ikan akan mati bila sudah kritis.

4.3 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting dalam proses pemeliharaan ikan. Ikan akan mengalami stres dan nafsu makan menurun apabila kualitas air berada di luar kisaran optimum untuk kebutuhan ikan. Oleh karena itu kondisi kualitas air selama masa pemeliharaan harus diperhatikan dan dijaga dengan baik, agar tetap berada pada kisaran normal. Parameter kualitas air selama penelitian meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Hasil pengukuran kualitas air dalam

penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 14 dan lebih lengkapnya disajikan pada Lampiran 5.

Tabel 14 . Data Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan

No.	Parameter yang Diamati	Kisaran Pemeliharaan Kualitas Air Pada	
		Perlakuan	
1	Suhu	24 - 27° C	
2	pH	7,11 – 8,09	
3	Oksigen Terlarut (DO)	4,01 – 5,2 ppm	

4.3.1 Suhu

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan selama masa pemeliharaan 7 hari, didapatkan hasil nilai terendah yaitu 24° C sedangkan hasil nilai tertinggi didapatkan sebesar 27° C. Hal ini membuktikan bahwa nilai suhu di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan mas (*C. carpio*) yang sesuai dengan pernyataan Djarijah (2001), bahwa batas optimum untuk hidup ikan mas yaitu berkisar antara 22 - 28° C.

4.3.2 pH

Pada penelitian kualitas air selama masa pemeliharaan 7 hari didapatkan hasil nilai pH terendah yaitu 7,11 dan hasil nilai pH tertinggi sebesar 8,09. Hal ini membuktikan bahwa nilai pH di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan mas (*C. carpio*). Menurut Effendi (2003), kisaran pH 6,5 – 9 merupakan kondisi yang dapat baik dan dapat ditoleransi oleh ikan dan bila pH lebih dari 11 makan ikan akan mati.

4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)

Hasil penelitian kualitas air pada oksigen terlarut (DO) yang dilakukan selama masa pemeliharaan 7 hari, didapatkan hasil nilai terendah yaitu 4,01 ppm sedangkan hasil nilai tertinggi didapatkan sebesar 5,2 ppm. Nilai oksigen terlarut (DO) di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan mas (*C. carpio*).

Hal ini sesuai dengan pendapat Cholik *et al.*, (2005), nilai DO sekitar 4 – 5 mg/l sudah sangat baik untuk pemeliharaan ikan mas.

4.4 Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Berdasarkan hasil penelitian, berikut adalah data kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) selama pemeliharaan 7 hari dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Data Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan	Σ Ikan awal penelitian	Σ Ikan akhir penelitian (7 hari)	SR (%)	ARCSIN
A (50 ppm)	1	10	5	50	45,00
	2	10	5	50	45,00
	3	10	3	30	33,20
B (60 ppm)	1	10	6	60	50,70
	2	10	4	40	39,20
	3	10	8	80	63,40
C (70 ppm)	1	10	8	80	64,30
	2	10	8	80	63,40
	3	10	6	60	50,70
D (80 ppm)	1	10	10	100	90,00
	2	10	9	90	71,50
	3	10	90	90	71,50
Kontrol Positif (K+)	1	10	2	20	26,56
	2	10	3	30	33,20
	3	10	1	10	18,43
Kontrol Negatif (K-)	1	10	10	100	90,00
	2	10	10	100	90,00
	3	10	10	100	90,00

Pernyataan tabel di atas, untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*), maka dilakukan uji sidik ragam. Sebelum data diolah menggunakan regresi, data nilai kelulushidupan dan setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang dapat dilihat pada Tabel 16.

Tabel 16. Rerata Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata - rata
	1	2	3		
A (50 ppm)	45,00	45,00	33,20	123,20	41,07
B (60 ppm)	50,70	39,20	63,40	180,00	51,10
C (70 ppm)	63,40	63,40	50,70	220,00	59,17
D (80 ppm)	90,00	71,50	71,50	280,00	77,67
K+ (Kontrol Positif)	25,65	33,20	18,43	77,28	25,76
K- (Kontrol Negatif)	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 17.

Tabel 17. Sidik Ragam Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2160,71	720,367	7,985107**	4,07	7,59
Acak	8	721,58	90,1975			
Total	11	2882,29				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Tabel 17 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F 5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) berpengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 18.

Tabel 18. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		41,07	51,10	59,17	77,67	
A	41,07	-				a
B	51,10	10,03 ^{ns}	-			a
C	59,17	18,10 [*]	8,07 ^{ns}	-		ab
D	77,67	36,60 ^{**}	26,57 ^{**}	18,50 [*]	-	c

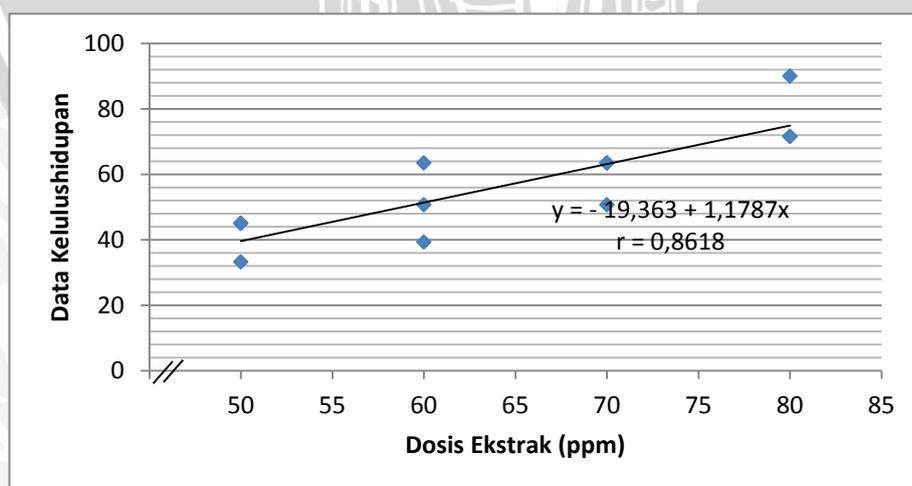
Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Bedasarkan Tabel 18, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai kelulushidupan ikan ditandai dengan notasi a, ab dan c. Pemberian dosis ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) yang berbeda pada perlakuan A (50 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan B (60 ppm) dengan notasi a, sedangkan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi ab berbeda sangat nyata dengan perlakuan D (80 ppm) dengan notasi c, serta perlakuan A (50 ppm) dan B (60 ppm) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan C (70 ppm) dengan notasi ab dan perlakuan D (80 ppm) dengan notasi c. Hal ini dikarenakan dalam ekstrak bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) mengandung senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan untuk menaikkan daya tahan tubuh ikan. Menurut Haryani *et al.*, (2012), flavonoid merupakan senyawa fenol dan merupakan antimikroba. Selain itu flavonoid juga mampu meningkatkan kerja sistem imun pada ikan karena leukosit sebagai pemakan antigen lebih cepat dihasilkan.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai kelulushidupan ikan mas maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 15, didapatkan pola hubungan linear dengan persamaan garis yaitu $y = -19,363 + 1,1787x$ dan $r = 0,8618$.



Gambar 15. Grafik Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Grafik di atas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai kelulushidupan dan pemberian dosis berbanding lurus, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kelulushidupan semakin tinggi dan didapatkan persamaan $y = -19,363 + 1,1787x$ dengan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,7427 yang berarti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan pengaruh terhadap persentase kelulushidupan ikan mas sebesar 74,27 % dan sisanya dipengaruhi oleh faktor lain dan korelasi (r) yakni 0,8618 yang memiliki arti bahwa hubungan antara sumbu X dan sumbu Y adalah sangat rekat (hampir mendekati 1).

4.5 Uji Skrining Fitokimia Bawang Dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr)

Uji fitokimia merupakan analisa kualitatif yang dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr). Uji fitokimia dilakukan di UPT Materia Medica Batu. Golongan senyawa yang diuji antara lain flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin. Hasil uji fitokimia bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) dapat dilihat pada Lampiran 7.

Pada hasil uji fitokimia yang didapatkan diketahui bahwa bawang dayak mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Sedangkan menurut Nur (2011), hasil uji fitokimia yang didapatkan adalah saponin (+), tannin (++), flavonoid (+++), triterpenoid (+++), steroid (+), glikosida (+++) dan fenolik (+++), dimana (+) merupakan positif lemah, (++) merupakan positif, (+++) merupakan positif kuat dan (++++) merupakan positif kuat sekali.

Hasil uji fitokimia yang didapatkan menyatakan bahwa terdapat kandungan senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba. Hal ini sesuai dengan pendapat Rais (2015), flavanoid mempunyai aktivitas sebagai anti

mikroba dan juga berpotensi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas yang berperan dalam timbulnya penyakit degeneratif. Penentuan dari kandungan flavonoid, saponin dan tannin yang terkandung dalam tumbuhan, dapat berguna dalam penemuan pengobatan yang berhubungan dengan patologi.



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari pembahasan penelitian, maka diperoleh kesimpulan yaitu pemberian ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) yang dibuktikan melalui kerusakan degenerasi vakuola, kongesti, melanomakrofag, nekrosis dan kelulushidupan. Dosis terbaik untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan hati yang diakibatkan karena infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah 80 ppm pada perlakuan D. Pada Degenerasi Vakuola didapatkan persamaan $y = 3,8 - 0,03x$, Kongesti didapatkan persamaan $y = 3,76 - 0,0307x$, Melanomakrofag didapatkan persamaan yaitu $y = 3,88 - 0,032x$, dan Nekrosis didapatkan persamaan $y = 4,0133 - 0,032x$. Analisa kelulushidupan sebagai parameter penunjang didapatkan nilai rata-rata terbaik sebesar 77,67 pada perlakuan D.

5.2 Saran

Saran yang didapatkan yaitu diharapkan selanjutnya dapat digunakan ekstrak kasar bawang dayak (*E. palmifolia* (L.) Merr) untuk pengujian histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* agar dapat mengetahui dosis optimum yang dapat digunakan pada penelitian selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, I. J., R. Al-Moula dan G. A. Abdulhasan. 2015. Antibacterial Effect of Flavonoids Extracted from Seeds of *Silybum marianum* Against Common Pathogenic Bacteria. *World Journal of Experimental Biosciences*. 3 (1) : 36 - 39.
- Adliah, N. 2012. Analisis Pendapatan Usaha Pengolahan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Perspektif Laporan Keuangan (Studi Kasus pada Usaha Limbung Mas Indah, Kelurahan Kalebajeng, Kecamatan Bajeng, Kabupaten Gowa). *Skripsi*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Alabi, O. A., M. T. Haruna, C. P. Anokwuru, T. Jagede, H. Abia, V. E. Okegbe dan B. E. Esan. 2012. Comperative Studies on Antimicrobacial Properties of Extracts of Fresh and Dried Leaves of *Carica papaya* L. On Clinical Bacterial and Fungi Isolates. *Advances in Applied Science Research*. 3 (5) : 3107 – 3114.
- Anggraini, S. 2008. Analisis Kelayakan Finansial Usaha Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Dengan Cara Pemberokan (Kasus: Desa Selajambe, Kecamatan Cisaat, Kabupaten Sukabumi, Propinsi Jawa Barat). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Asniatih, M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. 3 (12) : 13 - 21.
- Basharahil, F., Hendrik dan M. Ramli. 2014. Analisis Usaha Ikan Mas Pada Kolam Air Deras di Kelurahan Balai Gadang Kecamatan Koto Tangah Kota Padang Provinsi Sumatera Barat. Universitas Riau. Riau.
- Cholik, F., A. G. Jagatraya, R. P. Poernomo dan A. Jauzi. 2005. Akuakultur Tumpuan Harapan Masa Depan Bangsa. Masyarakat Perikanan Nusantara Kerjasama dengan Taman Akuarium Air Tawar : Jakarta. 415 hlm.
- David, M. dan R. M. Kartheek. 2015. Histopathological Alterations in Spleen of Freshwater Fish *Cyprinus carpio* Exposed to Sublethal Concentration of Sodium Cyanide. *Open Veterinary Journal*. 5 (1) : 1 – 5.
- Dianti, L., S. B. Prayitno dan R. W. Ariyati. 2013. Ketahanan Nonspesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Direndam Ekstrak Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) Terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (4) : 63 – 71.
- Djarjah, A. S. 2001. Pembenihan Ikan Mas. Kanisius : Yogyakarta. 88 hlm.
- Doss, A., H. M. Mubarack dan R. Dhanabalan. 2009. Antibacterial Activity of Tannins from the Leaves of *Solanum trilobatum* Linn. *Indian Journal of Sciences and Technology*. 2 (2) : 41 – 43.

- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air, Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Kanisius : Yogyakarta. 258 hlm.
- Efianda, T. R. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dalam Pakan Sebagai Alternatif Pengobatan Ikan Nilem (*Osteochilus hasselti*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Firdaus, T. 2014. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Fitrian, T. 2013. Studi Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) di Waduk Cirata Jawa Barat. Skripsi. Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Hadi, A. A. dan S. F. Alwan. 2012. Histopathological Changes in Gills, Liver and Kidney of Fresh Water Fish, *Tilapia zillii*, Exposed to Aluminium. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*. 3 (11) : 2071 – 2081.
- Harjana, T. 2011. Buku Ajar : Histologi. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta. 49 hlm.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 213 – 220.
- Hendra, R., S. Ahmad, A. Sukari, M. Y. Shukor dan E. Oskoueian. 2011. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *International Journal of Molecular Sciences*. 12 : 3422 – 3431.
- Hidayah, A. S., K. Mulkiya dan L. Purwanti. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* Merr.). *Prosiding Penelitian Sivitas Akademika Unisba (Kesehatan dan Farmasi)*. Universitas Islam Bandung. Bandung.
- Julio, E., H. Busman dan N. Nurcahyani. 2013. Struktur Histologis Hati Mencit (*Mus musculus* L.) sebagai Respon terhadap Kebisingan. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V*. Universitas Lampung. Lampung.
- Kardi, R. H. 2013. Identifikasi dan Keragaman Ektoparasit pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) dan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Berasal dari Lampung dan Luar Lampung. Skripsi. Universitas Lampung. Lampung.
- Kuntorini, E. M. 2013. Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr) Pada Umur Berbeda. *Prosiding Semirata*. Universitas Lampung. Lampung.
- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16 (1) : 144 – 160.

- Mailoa, M. N., M. Mahendradatta, A. Laga dan N. Djide. 2014. Antimicrobial Activities of Tannins Extract from Guava Leaves (*Psidium guajava* L) on Pathogens Microbial. *International Journal of Scientific and Technology Research*. 3 (1) : 236 – 241.
- Naeemi, A., S. Jamili, N. Shabanipour, A. Mashinchian dan S. S. Feizabadi. 2013. Histopathological Changes of Gill, Liver and Kidney in Caspian kutum Exposed to Linear Alkylbenzene Sulfonate. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 12 (4) : 887 – 897.
- Narantaka, A. 2012. Pembenihan Ikan Mas. Javalitera : Yogyakarta. 160 hlm.
- Nur, A. M. 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, pada Pelarut Nonpolar, Semipolar dan Polar. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurjannah, R. D. D., S. B. Prayitno, Sarjito dan A. M. Lusiastuti. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) Terhadap Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (4) : 72 – 83.
- Noga, E. J. 2010. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Iowa State University Press. A Blackwell Publishing Company. 54 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press : Malang. 113 hlm.
- Rais, I. R. 2015. Isolasi dan Penentuan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanolik Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (BURM. F.) Ness). *Pharmaciana*. 5 (1) : 101 -106.
- Rana, M. A., F. Jabeen, S. Shabbir, A. Naureen, K. Sultana, I. Ahmad dan M. Shabnam. 2015. Histopathological Study of Liver and Kidney in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Different Doses of Potassium Dichromate. *International Journal of Biosciences*. 6 (12) : 108 – 116.
- Raza'i, T. S. 2008. Analisis Histopatologi Organ Insang dan Usus Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus coloides*) yang Diberi Khamir Laut (*Marine Yeast*) sebagai Immunostimulan. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Reksono, B., H. Hamdani dan Yuniarti. 2012. Pengaruh Padat Penebaran *Gracilaria* sp. Terhadap Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) pada Budidaya Sistem Polikultur. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 41 – 49.
- Salikin, R. Q., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2013. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Mortalitas dan Histologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas caviae*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (3) : 43 – 50.
- Salim, F. dan S. K. Majeed. 2014. Survey Histopathological Changes in Different Organs of Local Fresh Water Fishes in Basra Province. *Journal*

of *International Academic Research for Multidisciplinary*. 2 (10) : 236 – 257.

Saputra, S. F. D. 2011. Aplikasi Sistem Resirkulasi Air Terkendali (SRAT) pada Budidaya Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius : Yogyakarta. 276 hlm.

Setyowati, A., D. Hidayati, Awik P. D. N. dan N. Abdulgani. 2010. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Jurnal Akuakultur*. 1 (1) : 1 - 10.

Sholikhah, E. H. 2009. Efektivitas Campuran Meniran *Phyllanthus niruri* dan Bawang Putih *Allium sativum* dalam Pakan Untuk Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Silaban, T. F., L. Santoso dan Suparmono. 2012. Dalam Peningkatan Kinerja Filter Air untuk Menurunkan Konsentrasi Amonia pada Pemeliharaan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 1 (1) : 47 - 56.

Siswandari, W. 2005. Nilai Diagnostik Pemeriksaan Imunositokimia Limfosit Sediaan Apus Darah Tepi Dibandingkan Analisis Kromosom pada Penderita dengan Dugaan Sindroma Fragile X. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.

Sudarmawan, I. Hendra. 2009. Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Dan Petroleum Eter Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L), Merr) Terhadap Ekspresi p53 Mutan Galur Sel Kanker Payudara T47d. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

Sukarni, Maftuch dan H. Nursyam. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J. Exp. Life Sci*. 2 (1) : 6 - 12.

Sukmadinata, N. S. 2012. Metode Penelitian Pendidikan. Remaja Rosdakarya : Bandung. 326 hlm.

Surachmad, W. 1975. Dasar dan Teknik Research : Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito : Bandung. 328 hlm.

Tambunan, J. E. 2011. Infestasi Ektoparasit *Lerne*a sebagai Faktor Pemicu Munculnya Bakteri *Aeromonas* pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.

Tatangindatu, F., O. Kalesaran dan R. Rompas. 2013. Studi Parameter Fisika Kimia Air pada Areal Budidaya Ikan di Danau Tondano, Desa Paleloan, Kabupaten Minahasa. *Budidaya Perairan*. 1 (2) : 8 – 19.

- Tran, N. T., Ze-Xia Gao, J. Milton, L. Lin, Y. Zhou dan Wei-Min Wang. 2015. Pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* to Blunt Snout Bream *Megalobrama amblycephala*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 5 (7) : 1 - 7.
- Tresnati, J. Dan I. Djawad. 2012. Effect of Lead on Gill and Liver of Blue Spotted Ray (*Dasyatis kuhlii*). *Journal of Cell and Animal Biology*. 6 (17) : 250 – 256.
- Uthamy, C. P. 2012. Pengaruh Substitusi Telur Ayam pada Pakan terhadap Laju Pertumbuhan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *Skripsi*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Vasconcelos, L. C. S., F. C. Sampaio, M. C. C. Sampaio, M. S. V. Pereira, J. S. Higino dan M. H. P. Peixoto. 2006. Minimum Inhibitory Concentration of Adherence of *Punica granatum* Linn (Pomegranate) Gel. Againsts *S. mutans*, *S. Mitis* and *C. albicans*. *Braz Dent J*. 17 (13) : 223 -227.
- Wahjuningrum, D., R. Astrini dan M. Setiawati. 2013. Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Benih Ikan Lele *Clarias* sp. yang Berumur 11 Hari Menggunakan Bawang Putih *Allium sativum* dan Meniran *Phyllanthus niruri*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 12 (1) : 94 – 104.
- Widiastuti, I. M. 2009. Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Dipelihara dalam Wadah Terkontrol dengan Padat Penebaran yang Berbeda. *Media Litbang Sulteng*. 2 (2) : 126 – 130.
- Yancheva, V., I. Velcheva, S. Stoyanova dan E. Georgieva. 2016. Histological Biomarkers in Fish As a Toll in Ecological Risk Assessment and Monitoring Programs: a Review. *Applied Ecology and Environmental Research*. 14 (1) : 47 – 75.
- Yosnita, M., Ramadhan dan R. Kasmeri. 2014. Pengaruh Ekstrak Akar Tuba (*Derris elliptica* L.) Terhadap Daya Tetas Telur Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). PGRI Sumatera Barat. Padang.
- Yulvizar, C., I. Dewiyanti, C. N. Defira, Z. A. Muchlisin dan S. Suhartono. 2015. Pathogenicity Assay of Probiotic-Potential Bacteria from the Common Carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation International Journal of the Bioflux Society*. 8 (5) : 694 - 698.
- Yusni, M. Ali. 2008. Perbedaan Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) dengan 5-Fluorouracil Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Galur Sel Karsinoma Kolon HT29 dan Ekapresi p53 Mutan. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – alat yang Digunakan



Akuarium



Aerator Set



DO meter



pH meter



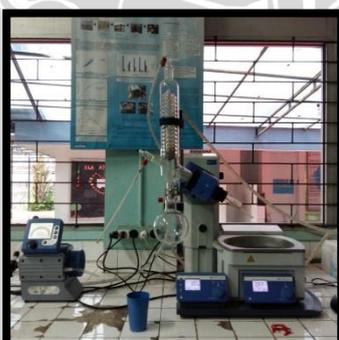
Termometer



Appendorf



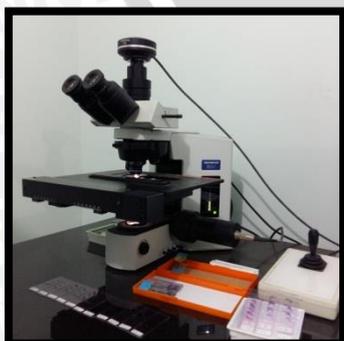
Timbangan Digital



Rotary Evaporator



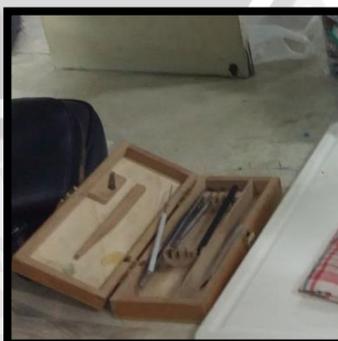
Vortex



Mikroskop



Labu Erlenmeyer



Section set

Lampiran 1. (Lanjutan)



Mikrotom



Tissue Processor



Auto Staining



Inkubator



Lampiran 2. Bahan – bahan yang Digunakan



Ikan Mas (*C. carpio*)



Ekstrak Bawang Dayak



Hati Ikan Mas



Bawang Dayak



Akuades



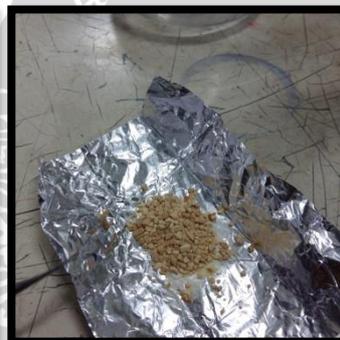
Etanol 96%



Alkohol 70%



Bakteri *A. hydrophila*



Bubuk NB



DMSO

Lampiran 3. Dokumentasi



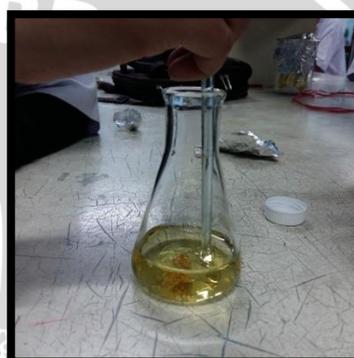
Penimbangan Simplisia Bawang Dayak



Proses Maserasi Bawang Dayak



Proses Evaporasi



Pembuatan NB



Penginfeksi Bakteri *A. hydrophila*



Perendaman dengan Ekstrak



Pengecekan Kualitas Air

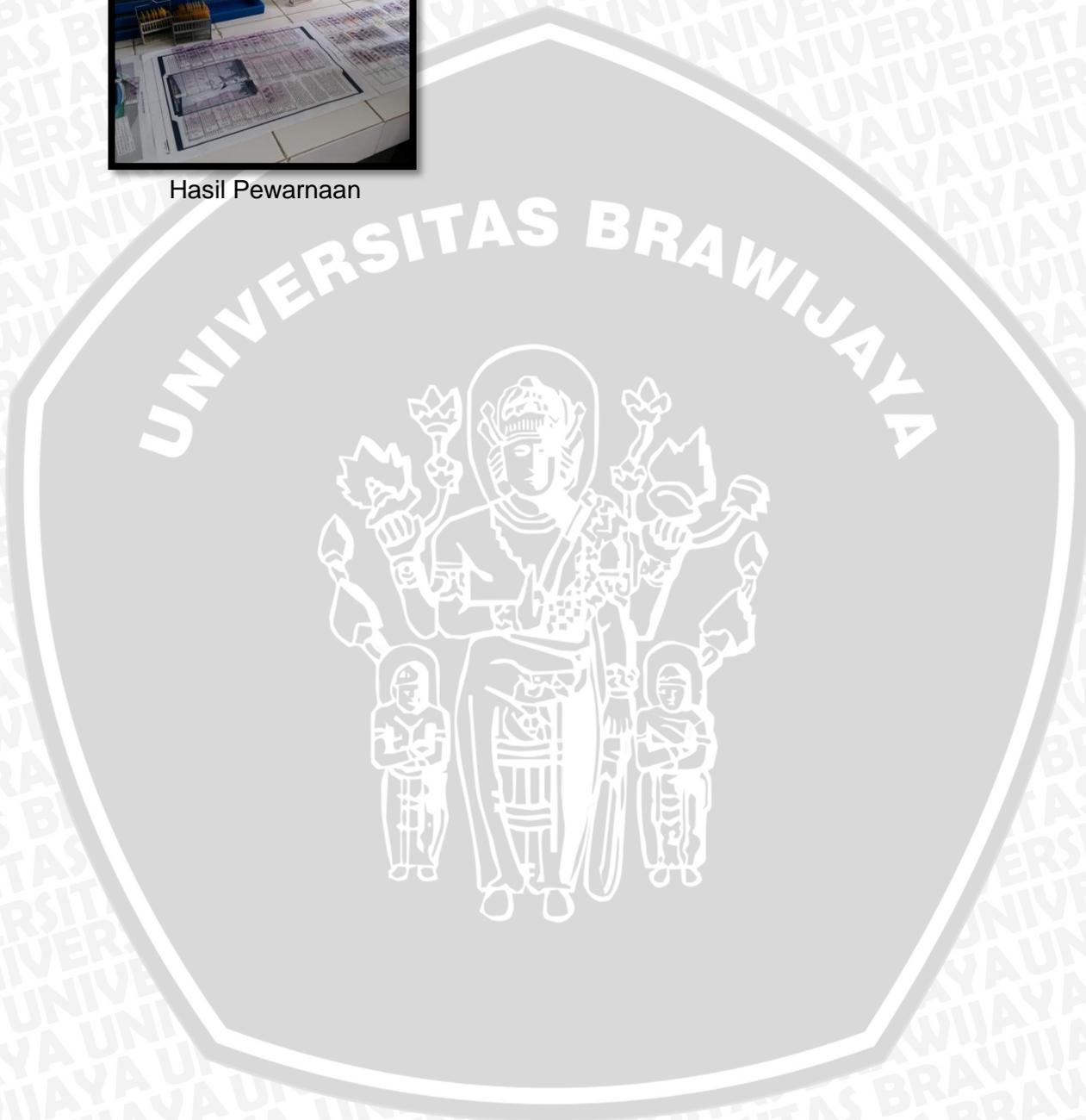


Pembedahan Ikan Mas

Lampiran 3. (Lanjutan)



Hasil Pewarnaan



Lampiran 4. Perhitungan Kerusakan Jaringan

1. Degenerasi Vakuola

– Tabel Skoring Degenerasi Vakuola

Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel
		1	2	3	4	5		
A	1	2	2	3	3	2	2,40	2,33
	2	2	3	2	2	1	2,00	
	3	3	3	2	2	3	2,60	
B	1	2	2	2	2	2	2,00	1,93
	2	2	2	2	2	1	1,80	
	3	2	2	2	2	2	2,00	
C	1	2	2	2	2	2	2,00	1,73
	2	2	2	1	2	1	1,60	
	3	1	2	1	2	2	1,60	
D	1	1	1	2	1	2	1,40	1,40
	2	1	1	1	2	2	1,40	
	3	1	1	2	1	2	1,40	
K+	1	2	3	4	3	3	3,00	2,93
	2	2	3	3	4	3	3,00	
	3	3	3	2	3	3	2,80	
K-	1	1	1	1	1	1	1,00	1,00
	2	1	1	1	1	1	1,00	
	3	1	1	1	1	1	1,00	

– Perhitungan Degenerasi Vakuola

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,40 + 2,00 + 2,60 \\ &= 7,00 \end{aligned} \qquad \begin{aligned} \text{A rata - rata} &= \frac{7,00}{3} \\ &= 2,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,00 + 1,80 + 2,00 \\ &= 5,80 \end{aligned} \qquad \begin{aligned} \text{B rata - rata} &= \frac{5,80}{3} \\ &= 1,93 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 2,00 + 1,60 + 1,60 \\ &= 5,20 \end{aligned} \qquad \begin{aligned} \text{C rata - rata} &= \frac{5,20}{3} \\ &= 1,73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 1,40 + 1,40 + 1,40 \\ &= 4,20 \end{aligned} \qquad \begin{aligned} \text{D rata - rata} &= \frac{4,20}{3} \\ &= 1,40 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Tabel Rerata Kerusakan Degenerasi Vakuola Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,40	2,00	2,60	7,00	2,33
B	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93
C	2,00	1,60	1,60	5,20	1,73
D	1,40	1,40	1,40	4,20	1,40
				22,20	

- Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{22,20^2}{12}$$

$$= 41,07$$

- Jumlah Kuadrat (JK Total) = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (2,40^2 + 2,00^2 + 2,60^2 + \dots + 1,40^2) - 41,07$$

$$= 42,76 - 41,07$$

$$= 1,69$$

- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(7,00^2 + 5,80^2 + 5,20^2 + 4,20^2)}{3} - 41,07$$

$$= 1,37$$

- JK Galat / Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1,69 - 1,37$$

$$= 0,32$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,37	0,457	11,417**	4,07	7,59
Acak	8	0,32	0,04			
Total	11	1,69	-			

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F Hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

– Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

- $$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,04}{3}}$$

$$= 0,16$$

- $$BNT \ 5\% = T \text{ tabel } 5\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 1,86 \times 0,16$$

$$= 0,30$$

- $$BNT \ 1\% = T \text{ tabel } 1\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 2,896 \times 0,16$$

$$= 0,47$$

– Tabel BNT

Rerata Perlakuan		D	C	B	A	Notasi
		1,4	1,73	1,93	2,33	
D	1,4	-				a
C	1,73	0,33*	-			B
B	1,93	0,53**	0,2 ^{ns}	-		Bc
A	2,33	0,93**	0,6**	0,4*	-	D

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata
 (*) = berbeda nyata
 (**) = berbeda sangat nyata



Lampiran 4. (Lanjutan)

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

– Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7	-3	1	-1
B	5,8	-1	-1	3
C	5,2	1	-1	-3
D	4,2	3	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		-9	0,2	-1
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		1,35	0,003333	0,016667

- JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 $= 1,35 + 0,003333 + 0,016667$
 $= 1,37$

– Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,37			4,07	7,59
Linier	1	1,35	1,35	33,75	**	
Kuadratik	1	0,003333	0,003333	0,083333	ns	
Kubik	1	0,016667	0,016667	0,416667	ns	
Acak (galat)	8	0,32	0,04			
Total	12					

Lampiran 4. (Lanjutan)

2. Kongesti

– Tabel Skoring Kongesti

Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel
		1	2	3	4	5		
A	1	2	3	2	2	2	2,20	2,27
	2	3	2	2	2	3	2,40	
	3	2	2	2	3	2	2,20	
B	1	2	1	1	2	3	1,80	1,87
	2	2	1	2	2	1	1,60	
	3	3	2	2	2	2	2,20	
C	1	2	2	2	1	2	1,80	1,60
	2	1	1	2	2	1	1,40	
	3	2	2	1	1	2	1,60	
D	1	1	1	1	2	1	1,20	1,33
	2	1	1	2	1	2	1,40	
	3	1	1	2	2	1	1,40	
K+	1	4	3	4	2	3	3,20	3,07
	2	3	3	3	3	3	3,00	
	3	3	3	2	3	4	3,00	
K-	1	1	1	1	1	1	1,00	1,00
	2	1	1	1	1	1	1,00	
	3	1	1	1	1	1	1,00	

– Perhitungan Kongesti

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,20 + 2,40 + 2,20 \\ &= 6,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A rata - rata} &= \frac{6,80}{3} \\ &= 2,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 1,80 + 1,60 + 2,20 \\ &= 5,60 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B rata - rata} &= \frac{5,60}{3} \\ &= 1,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 1,80 + 1,40 + 1,60 \\ &= 4,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C rata - rata} &= \frac{4,80}{3} \\ &= 1,60 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 1,20 + 1,40 + 1,40 \\ &= 4,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D rata - rata} &= \frac{4,00}{3} \\ &= 1,33 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Tabel Rerata Kerusakan Degenerasi Vakuola Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,20	2,40	2,20	6,80	2,27
B	1,80	1,60	2,20	5,60	1,87
C	1,80	1,40	1,60	4,80	1,60
D	1,20	1,40	1,40	4,00	1,33
				21,20	

- Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{21,20^2}{12}$$

$$= 37,45$$

- Jumlah Kuadrat (JK Total) = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (2,20^2 + 2,40^2 + 2,20^2 + \dots + 1,40^2) - 37,45$$

$$= 39,2 - 37,45$$

$$= 1,75$$

- JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(6,80^2 + 5,60^2 + 4,80^2 + 4,00^2)}{3} - 37,45$$

$$= 1,45$$

- JK Galat / Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1,75 - 1,43$$

$$= 0,32$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,427	0,476	11,889**	4,07	7,59
Acak	8	0,32	0,04			
Total	11	1,747	-			

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F Hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

– Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \bullet \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,04}{3}} \\ &= 0,16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 1,86 \times 0,16 \\ &= 0,30 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 2,896 \times 0,16 \\ &= 0,47 \end{aligned}$$

– Tabel BNT

Rerata Perlakuan		D	C	B	A	Notasi
		1,33	1,6	1,87	2,27	
D	1,33	-				a
C	1,6	0,27 ^{ns}	-			a
B	1,87	0,53 ^{**}	0,27 ^{ns}	-		ab
A	2,27	0,93 ^{**}	0,67 ^{**}	0,4 [*]	-	c

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Lampiran 4. (Lanjutan)

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

– Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6,8	-3	1	-1
B	5,6	-1	-1	3
C	4,8	1	-1	-3
D	4	3	1	1
$Q = \sum Ci \cdot Ti$		-9,2	0,4	-0,4
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum Ci^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		1,410667	0,013333	0,002667

- JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 $= 1,410668 + 0,013333 + 0,002667$
 $= 1,42667$

– Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,426667			4,07	7,59
Linier	1	1,410667	1,410667	35,26667	**	
Kuadratik	1	0,013333	0,013333	0,333333	ns	
Kubik	1	0,002667	0,002667	0,066667	ns	
Acak (galat)	8	0,32	0,04			
Total	12					

Lampiran 4. (Lanjutan)

3. Melanomakrofag

– Tabel Skoring Melanomakrofag

Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel
		1	2	3	4	5		
A	1	2	2	2	3	3	2,40	2,27
	2	3	2	2	1	3	2,20	
	3	3	2	2	2	2	2,20	
B	1	2	2	2	2	3	2,20	2,00
	2	1	2	2	2	2	1,80	
	3	2	2	2	2	2	2,00	
C	1	2	2	2	1	2	1,80	1,60
	2	2	1	1	2	1	1,40	
	3	1	2	2	1	2	1,60	
D	1	1	1	1	2	2	1,40	1,33
	2	1	2	1	2	1	1,40	
	3	1	2	1	1	1	1,20	
K+	1	3	3	2	4	3	3,00	2,93
	2	2	3	3	4	3	3,00	
	3	3	2	3	3	3	2,80	
K-	1	1	1	1	1	1	1,00	1,00
	2	1	1	1	1	1	1,00	
	3	1	1	1	1	1	1,00	

– Perhitungan Melanomakrofag

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,40 + 2,20 + 2,20 \\ &= 6,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A rata - rata} &= \frac{6,80}{3} \\ &= 2,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,20 + 1,80 + 2,00 \\ &= 6,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B rata - rata} &= \frac{6,00}{3} \\ &= 2,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 1,80 + 1,40 + 1,60 \\ &= 4,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C rata - rata} &= \frac{4,80}{3} \\ &= 1,60 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 1,40 + 1,40 + 1,20 \\ &= 4,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D rata - rata} &= \frac{4,00}{3} \\ &= 1,33 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– Tabel Rerata Kerusakan Melanomakrofag Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,40	2,20	2,20	6,80	2,27
B	2,20	1,80	2,00	6,00	2,00
C	1,80	1,40	1,60	4,80	1,60
D	1,40	1,40	1,20	4,00	1,33
				21,60	

– Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{21,60^2}{12}$$

$$= 38,88$$
- Jumlah Kuadrat (JK Total) = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (2,40^2 + 2,20^2 + 2,20^2 + \dots + 1,20^2) - 38,88$$

$$= 40,64 - 38,88$$

$$= 1,76$$
- JK Perlakuan = $\frac{\Sigma(\Sigma xi)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(6,80^2 + 6,00^2 + 4,80^2 + 4,00^2)}{3} - 38,88$$

$$= 1,55$$
- JK Galat / Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1,76 - 1,55$$

$$= 0,21$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,547	0,516	19,333**	4,07	7,59
Acak	8	0,213	0,027			
Total	11	1,76	-			

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F Hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

– **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil**

- $$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,027}{3}}$$

$$= 0,13$$

- $$BNT \ 5\% = T \text{ tabel } 5\% (db_{\text{acak}}) \times SED$$

$$= 1,86 \times 0,13$$

$$= 0,248$$

- $$BNT \ 1\% = T \text{ tabel } 1\% (db_{\text{acak}}) \times SED$$

$$= 2,896 \times 0,13$$

$$= 0,386$$

– **Tabel BNT**

Rerata Perlakuan		D	C	B	A	Notasi
		1,33	1,6	2	2,27	
D	1,33	-				a
C	1,6	0,27*	-			b
B	2	0,67**	0,4**	-		c
A	2,27	0,93**	0,67**	0,27*	-	d

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata



Lampiran 4. (Lanjutan)

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

– Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6,8	-3	1	-1
B	6	-1	-1	3
C	4,8	1	-1	-3
D	4	3	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		-9,6	0	0,8
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		1,536	0	0,010667

- JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 $= 1,536 + 0 + 0,010667$
 $= 1,54667$

– Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,546667			4,07	7,59
Linier	1	1,536	1,536	57,6	**	
Kuadratik	1	0	0	0	ns	
Kubik	1	0,010667	0,010667	0,4	ns	
Acak (galat)	8	0,213333	0,026667			
Total	12					

Lampiran 4. (Lanjutan)

4. Nekrosis

– Tabel Skoring Nekrosis

Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel
		1	2	3	4	5		
A	1	3	3	2	2	2	2,40	2,40
	2	2	3	2	2	2	2,20	
	3	2	2	3	3	3	2,60	
B	1	2	2	2	3	2	2,20	2,13
	2	2	2	2	2	2	2,00	
	3	3	2	2	2	2	2,20	
C	1	2	2	2	2	2	2,00	1,73
	2	2	2	1	1	2	1,60	
	3	2	2	2	1	1	1,60	
D	1	1	2	2	1	2	1,60	1,47
	2	2	2	1	1	1	1,40	
	3	1	1	1	2	2	1,40	
K+	1	3	3	3	3	3	3,00	3,00
	2	3	3	3	2	3	2,80	
	3	4	3	2	4	3	3,20	
K-	1	1	1	1	1	1	1,00	1,00
	2	1	1	1	1	1	1,00	
	3	1	1	1	1	1	1,00	

– Perhitungan Nekrosis

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,40 + 2,20 + 2,60 \\ &= 7,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A rata - rata} &= \frac{7,40}{3} \\ &= 2,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,20 + 2,00 + 2,20 \\ &= 6,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B rata - rata} &= \frac{6,40}{3} \\ &= 2,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 2,00 + 1,60 + 1,60 \\ &= 5,20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C rata - rata} &= \frac{5,20}{3} \\ &= 1,73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 1,60 + 1,40 + 1,40 \\ &= 4,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D rata - rata} &= \frac{4,40}{3} \\ &= 1,47 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– Tabel Rerata Kerusakan Nekrosis Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,40	2,20	2,60	7,20	2,40
B	2,20	2,00	2,20	6,40	2,13
C	2,00	1,60	1,60	5,20	1,73
D	1,60	1,40	1,40	4,40	1,47
				23,20	

– Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{23,20^2}{12}$$

$$= 44,85$$
- Jumlah Kuadrat (JK Total) = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (2,40^2 + 2,20^2 + 2,60^2 + \dots + 1,40^2) - 44,85$$

$$= 46,64 - 44,85$$

$$= 1,79$$
- JK Perlakuan = $\frac{\Sigma(\Sigma xi)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(7,20^2 + 6,40^2 + 5,20^2 + 4,40^2)}{3} - 44,85$$

$$= 1,55$$
- JK Galat / Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1,79 - 1,55$$

$$= 0,24$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

– Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,547	0,516	17,185**	4,07	7,59
Acak	8	0,24	0,03			
Total	11	1,787	-			

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F Hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

– Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

- $$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,03}{3}}$$

$$= 0,14$$

- $$BNT \ 5\% = T \text{ tabel } 5\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 1,86 \times 0,14$$

$$= 0,26$$

- $$BNT \ 1\% = T \text{ tabel } 1\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 2,896 \times 0,14$$

$$= 0,41$$

– Tabel BNT

Rerata Perlakuan		D	C	B	A	Notasi
		1,47	1,73	2,13	2,24	
D	1,47	-				a
C	1,73	0,27*	-			b
B	2,13	0,67**	0,4*	-		c
A	2,24	0,93**	0,67**	0,27*	-	d

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata



Lampiran 4. (Lanjutan)

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

– Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7,2	-3	1	-1
B	6,4	-1	-1	3
C	5,2	1	-1	-3
D	4,4	3	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		-9,6	0	0,8
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		1,536	0	0,010667

- JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 $= 1,536 + 0 + 0,010667$
 $= 1,547$

– Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,546667			4,07	7,59
Linier	1	1,536	1,536	51,2	**	
Kuadratik	1	0	0	0	ns	
Kubik	1	0,010667	0,010667	0,355556	ns	
Acak (galat)	8	0,24	0,03			
Total	12					

Lampiran 5. Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan

1. Tabel Pengamatan Suhu

Perlakuan	1 Maret 2016		2 Maret 2016		3 Maret 2016		4 Maret 2016		5 Maret 2016		6 Maret 2016		7 Maret 2016	
	Pagi	Sore												
A1	26	25	25	24	26	25	27	26	25	25	25	25	26	25
A2	26	25	26	25	26	25	26	25	25	25	25	24	26	25
A3	27	25	26	25	25	24	26	25	27	26	26	25	27	26
B1	26	24	26	25	26	25	26	25	25	25	25	24	27	26
B2	26	25	26	25	25	24	26	25	25	25	26	25	26	25
B3	26	25	26	25	26	25	26	25	25	25	25	25	26	25
C1	26	25	27	26	26	25	27	26	25	26	25	25	26	25
C2	27	25	26	25	26	25	26	25	25	25	26	25	27	26
C3	26	24	26	25	26	25	26	25	25	25	25	24	26	25
D1	26	25	25	24	26	25	25	24	25	26	25	25	26	25
D2	27	25	27	25	26	25	26	25	25	25	26	25	26	25
D3	27	25	26	25	25	24	27	26	25	25	25	25	26	25
K-1	26	25	26	25	26	25	26	25	25	26	25	24	27	26
K-2	26	24	26	25	26	25	26	25	25	25	26	25	26	25
K-3	26	25	25	24	26	25	26	25	25	25	25	25	26	25
K+1	27	25	26	25	25	24	27	26	25	26	27	26	27	26
K+2	26	25	26	25	26	25	26	25	25	25	26	25	26	25
K+3	27	24	27	25	26	25	26	25	25	26	25	24	26	25

Lampiran 5. (Lanjutan)

2. Tabel Pengamatan pH

Perlakuan	1 Maret 2016		2 Maret 2016		3 Maret 2016		4 Maret 2016		5 Maret 2016		6 Maret 2016		7 Maret 2016	
	Pagi	Sore												
A1	7,49	7,58	7,38	7,9	7,84	7,98	7,59	7,77	7,84	7,85	7,98	8,02	7,87	7,96
A2	7,5	7,62	7,66	8,03	7,9	8,02	7,8	7,94	7,97	8,04	7,87	8,03	8,09	7,87
A3	7,3	7,43	7,24	7,56	7,76	7,88	7,69	7,44	7,85	7,78	7,86	8,01	7,65	8,04
B1	7,51	7,63	7,52	7,85	7,36	7,76	7,67	7,87	8,03	8,04	7,15	7,65	8,09	7,92
B2	7,42	7,53	7,83	8,04	7,47	7,8	7,66	7,77	7,85	8,04	7,95	8,01	7,85	8,03
B3	7,5	7,63	7,25	7,46	7,45	7,73	7,8	7,95	8	8,04	7,52	7,64	7,89	8,03
C1	7,33	7,5	7,34	7,58	7,69	7,93	7,52	7,45	8,02	8,08	7,56	8,04	7,87	8,02
C2	7,4	7,59	7,9	8	7,66	7,84	7,73	7,96	8,05	7,9	8,04	7,8	7,9	8,06
C3	7,53	7,62	7,65	8,02	7,54	7,7	7,56	7,77	7,85	7,9	7,97	8	7,83	7,94
D1	7,52	7,63	7,87	8,03	7,25	7,56	7,73	7,8	7,94	8,01	8,09	8,04	8,09	7,98
D2	7,48	7,6	7,39	7,45	7,8	8,09	7,63	7,74	7,61	7,59	7,71	7,9	7,66	7,9
D3	7,5	7,64	7,32	7,58	7,69	7,83	7,64	7,87	7,96	8,07	7,98	8,09	7,92	8,01
K-1	7,47	7,46	7,25	7,35	7,54	7,35	7,65	7,76	7,78	7,9	8	8,03	8	8,01
K-2	7,55	7,75	7,24	7,48	7,54	7,65	7,78	7,82	7,92	8	8	8,02	8,04	7,68
K-3	7,59	7,83	7,11	7,23	7,88	8	7,6	7,83	7,96	8,05	8,01	7,9	8,04	7,77
K+1	7,49	7,56	7,3	7,61	7,69	7,79	7,65	7,36	7,45	7,42	7,61	7,98	7,7	7,89
K+2	7,53	7,63	7,45	7,77	7,22	7,43	7,63	7,7	7,84	7,88	7,97	8,02	7,94	8,04
K+3	7,4	7,5	7,87	8,02	7,86	8	7,74	7,93	8,06	8,04	7,13	7,56	7,53	7,67

Lampiran 5. (Lanjutan)

3. Tabel Pengamatan Oksigen Terlarut (*Dissolved oxygen*)

Perlakuan	1 Maret 2016		2 Maret 2016		3 Maret 2016		4 Maret 2016		5 Maret 2016		6 Maret 2016		7 Maret 2016	
	Pagi	Sore												
A1	4,45	4,78	4,76	4,9	4,9	5,12	4,45	4,88	4,2	4,11	4,22	4,78	4,5	4,32
A2	4,21	4,9	4,67	4,84	4,5	4,54	4,56	4,68	4,67	4,44	4,47	4,62	4,32	4,6
A3	4,75	4,8	4,53	4,76	4,76	4,98	4,24	5,18	4,13	4,26	4,9	5,18	4,28	4,24
B1	4,01	4,19	4,44	4,56	4,45	4,65	4,45	4,8	4,79	4,1	4,24	4,74	4,98	5,03
B2	4,83	4,98	4,9	5,02	4,44	4,7	4,9	5,12	4,1	4,26	4,24	4,52	4,81	4,6
B3	4,47	4,69	4,46	4,8	4,13	4,45	4,51	4,7	4,63	4,45	4,41	4,57	4,73	4,57
C1	4,2	4,69	4,4	4,71	4,14	4,15	4,12	4,24	4,99	5,12	4,19	4,55	4,35	4,78
C2	4,99	5,04	4,12	4,45	4,12	4,14	4,17	4,2	4,65	4,44	4,64	4,17	4,3	4,53
C3	4,41	5,1	4,83	4,9	4,72	4,82	4,24	4,44	4,7	4,12	4,04	5,09	4,87	4,32
D1	4,74	4,88	4,35	4,92	4,12	4,3	4,57	4,78	4,97	4,22	4,19	4,42	4,17	5,1
D2	4,15	4,48	4,76	4,95	4,14	4,74	4,48	4,67	4,48	5,11	4,23	4,77	4,23	4,89
D3	4,97	5,03	4,93	4,01	4,66	5,16	4,78	4,8	4,47	4,21	4,5	4,62	4,31	4,65
K-1	4,59	5,04	4,44	4,68	4,97	5,19	4,5	4,65	4,73	4,01	4,08	4,57	4,86	4,74
K-2	4,22	4,37	4,87	5,01	4,14	4,22	4,46	5	4,07	4,07	4,01	4,84	4,02	4,73
K-3	4,01	4,46	4,66	4,76	4,1	4,14	4,56	5,16	4,24	5,1	4,19	4,75	4,31	4,85
K+1	4,27	4,36	4,8	4,98	4,26	4,4	4,6	4,02	4,5	4,89	4,5	5,02	5,12	5,2
K+2	4,4	4,57	4,47	4,77	4,24	4,56	4,2	4,18	4,04	4,17	4,05	4,75	4,71	4,32
K+3	4,56	4,87	4,92	5	4,64	4,78	4,44	4,15	4,88	4,17	4,26	4,49	4,97	4,12

Lampiran 6. Kelulushidupan Selama Masa Pemeliharaan

1. Data Nilai Kelulushidupan Per-Hari

Hari	Perlakuan	Ulangan		
		1	2	3
Selasa, 1 Maret 2016	A (50 ppm)	10	10	10
	B (60 ppm)	10	10	10
	C (70 ppm)	10	10	10
	D (80 ppm)	10	10	10
	K. Positif	10	10	10
	K. Negatif	10	10	10
Rabu, 2 Maret 2016	A (50 ppm)	10	10	9
	B (60 ppm)	9	10	9
	C (70 ppm)	10	9	9
	D (80 ppm)	9	10	10
	K. Positif	10	10	10
	K. Negatif	8	9	8
Kamis, 3 Maret 2016	A (50 ppm)	9	9	8
	B (60 ppm)	9	9	8
	C (70 ppm)	8	9	9
	D (80 ppm)	10	10	10
	K. Positif	8	9	8
	K. Negatif	10	10	10
Jumat, 4 Maret 2016	A (50 ppm)	8	7	7
	B (60 ppm)	8	8	8
	C (70 ppm)	8	8	9
	D (80 ppm)	10	10	10
	K. Positif	8	8	8
	K. Negatif	10	10	10
Sabtu, 5 Maret 2016	A (50 ppm)	7	6	7
	B (60 ppm)	7	8	8
	C (70 ppm)	8	8	9
	D (80 ppm)	10	9	10
	K. Positif	7	7	6
	K. Negatif	10	10	10
Minggu, 6 Maret 2016	A (50 ppm)	6	6	6
	B (60 ppm)	7	6	8
	C (70 ppm)	8	8	8
	D (80 ppm)	10	9	10
	K. Positif	6	5	5
	K. Negatif	10	10	10
Senin, 7 Maret 2016	A (50 ppm)	6	6	5
	B (60 ppm)	7	5	8
	C (70 ppm)	8	8	7
	D (80 ppm)	10	9	10
	K. Positif	4	4	3
	K. Negatif	10	10	10

Lampiran 6. (Lanjutan)

Selasa, 8 Maret 2016	A (50 ppm)	5	5	3
	B (60 ppm)	6	4	8
	C (70 ppm)	8	8	6
	D (80 ppm)	10	9	9
	K. Positif	2	3	1
	K. Negatif	10	10	10



Lampiran 6. (Lanjutan)

2. Data Rata – rata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan	Σ Ikan awal penelitian	Σ Ikan akhir penelitian (7 hari)	SR (%)	ARCSIN
A (50 ppm)	1	10	5	50	45,00
	2	10	5	50	45,00
	3	10	3	30	33,20
B (60 ppm)	1	10	6	60	50,70
	2	10	4	40	39,20
	3	10	8	80	63,40
C (70 ppm)	1	10	8	80	64,30
	2	10	8	80	63,40
	3	10	6	60	50,70
D (80 ppm)	1	10	10	100	90,00
	2	10	9	90	71,50
	3	10	90	90	71,50
Kontrol Positif (K+)	1	10	2	20	26,56
	2	10	3	30	33,20
	3	10	1	10	18,43
Kontrol Negatif (K-)	1	10	10	100	90,00
	2	10	10	100	90,00
	3	10	10	100	90,00

Lampiran 6. (Lanjutan)

3. Uji Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)– Tabel Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	45,00	45,00	33,20	123,20	41,07
B	50,70	39,20	63,40	153,30	51,10
C	63,40	63,40	50,70	177,50	59,17
D	90,00	71,50	71,50	233,00	77,67
				687,00	

– Perhitungan Sidik Ragam

- Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$
 $= \frac{687^2}{12}$
 $= 39330,75$
- Jumlah Kuadrat = $(A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$
 $= (45,00^2 + 45,00^2 + 33,20^2 + \dots + 71,50^2) - 39330,75$
 $= 2882,29$
- JK Perlakuan = $\frac{\Sigma(\Sigma xi)^2}{r} - FK$
 $= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK$
 $= \frac{(123,20^2 + 153,30^2 + 177,50^2 + 233,00^2)}{3} - 39330,75$
 $= 2160,71$
- JK Galat / Acak = JK Total – JK Perlakuan
 $= 2882,29 - 2160,71$
 $= 721,58$

Lampiran 6. (Lanjutan)

– Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2160,71	720,367	7,985107**	4,07	7,59
Acak	8	721,58	90,1975			
Total	11	2882,29				

Keterangan : (**) = berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F Hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan F 1% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

– Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \bullet \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 90,1975}{3}} \\ &= 7,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 1,86 \times 7,75 \\ &= 14,43 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \bullet \text{ BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 2,896 \times 7,75 \\ &= 22,46 \end{aligned}$$

– Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		41,07	51,10	59,17	77,67	
A	41,07	-				a
B	51,10	10,03 ^{ns}	-			a
C	59,17	16,10 [*]	8,07 ^{ns}	-		ab
D	77,67	36,60 ^{**}	26,57 ^{**}	18,50 [*]	-	c

Keterangan : ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Lampiran 6. (Lanjutan)

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

– Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	123,2	-3	1	-1
B	153,3	-1	-1	3
C	177,5	1	-1	-3
D	233	3	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		353,6	25,4	37,2
Hasil Kuadrat		20	4	20
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kr$		2083,883	53,76333	23,064

- JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 $= 2083,883 + 53,76333 + 23,064$
 $= 2160,71$

– Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2160,71			4,07	7,59
Linier	1	2083,883	2083,883	23,10355	**	
Kuadratik	1	53,76333	53,76333	0,596062	ns	
Kubik	1	23,064	23,064	0,255706	ns	
Acak (galat)	8	721,58	90,1975			
Total	12					

Lampiran 7. Hasil Uji Fitokimia Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr)

Hasil* :

Nama Sampel	Flavonoid	Saponin	Tanin		Alkaloid	
			Tanin Galat	Tanin Katekol	P. Meyer	P. Dragendrof
Ekstrak Bawang dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.) Merr.	+	+	+	+	-	-

*HasilFotoTerlampir

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Maret 2016
Kepala UPT. Laboratorium Medika Batu

Dr. Husin M. Dr. Apt. M. Kes.
NIP. 196107021991031003



