

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.)  
DC.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:  
**MUHAMMAD AFIFFUDIN EL MOSLEM  
NIM. 125080500111037**



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

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.)  
DC.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) 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:  
**MUHAMMAD AFIFFUDIN EL MOSLEM**  
NIM. 125080500111037



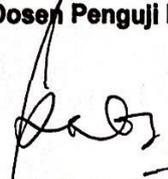
**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh:  
**MUHAMMAD AFFIFUDIN EL MOSLEM**  
NIM. 125080500111037

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

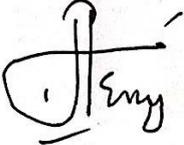
Menyetujui,  
Dosen Penguji I

  
**(Dr. Ir Maftuch, M.Si)**  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal: 28 JUN 2016

Dosen Pembimbing I

  
**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)**  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal : 28 JUN 2016

Dosen Penguji II

  
**(Ir. Heny Suprastyani, MS)**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal: 28 JUN 2016

Dosen Pembimbing II

  
**(Dr. Ir. Muhammad Fadiar, M.Sc)**  
NIP. 19621014 198701 1 001  
Tanggal : 28 JUN 2016

  
Mengetahui,  
Ketua Jurusan  
  
**(Dr. Ir. Arning W. Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
28 JUN 2016



## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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



Malang,

Mahasiswa

MUHAMMAD AFIFFUDIN EL M.  
NIM. 125080500111037

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT, atas limpahan rahmat, hidayah, dan nikmat-Nya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Kedua orang tua saya, Bapak Muhamad Rozi dan Ibu Dia Ningsih serta adek dan juga seluruh kerabat yang senantiasa memberikan do'a, dukungan, semangat serta nasehat.
3. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku dosen pembimbing I atas bimbingan dan arahnya.
4. Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku dosen pembimbing II atas bimbingan dan arahnya.
5. Dr. Ir. Maftuch, MS selaku Dosen Penguji I.
6. Ir. Heny Suprastyani, MS selaku Dosen Penguji II.
7. Tim Sembung (Muhammad Charis F, Rahman Bangun S, Kiki Nur F) yang telah membantu dalam memperlancar penelitian dan penulisan ini.
8. Pandawa Candi (Udin, Arfan, Charis dan Fajar) yang telah memberikan motivasi
9. Teman-teman Aquasean yang juga telah memberikan semangat dan motivasi
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan usulan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Malang, April 2016

Penulis

## RINGKASAN

**MUHAMMAD AFIFFUDIN EL MOSLEM.** Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan **Dr. Ir M. Fadjar, M.Sc.**

---

Salah satu penyebab utama gagalnya budidaya ikan adalah faktor penyakit. Munculnya gangguan penyakit pada budidaya ikan merupakan resiko yang harus selalu diantisipasi. Sering kali penyakit yang menyerang dapat menyebabkan kematian massal ikan budidaya. Pengobatan yang dilakukan selama ini untuk mengatasi serangan penyakit selalu mengandung resiko. Pemberian antibiotik secara cermat, terbukti mampu mengobati ikan yang terserang penyakit, terutama serangan patogen. Namun, pemberian antibiotik yang dilakukan terus-menerus dapat pula menyebabkan pencemaran lingkungan. Selain itu, terjadi resistensi terhadap bakteri apabila dosis yang digunakan tidak tepat. Dampak lebih jauh adalah ikan tidak laku untuk diekspor. Alternatif lain untuk pengobatan ikan yang terserang penyakit ini adalah dengan memanfaatkan bahan-bahan alami yang mengandung zat antimikroba dan lebih ramah lingkungan serta tidak memberikan efek samping pada organisme budidaya. Salah satunya adalah daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) yang diketahui mempunyai zat anti bakteri. Adapun kandungan yang terdapat dalam daun sembung tersebut adalah minyak atsiri 0,5% berupa sineol, borneol, linderol, juga mengandung senyawa lain seperti tanin dan flavonoid yang dimana zat aktif ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap hematologi pada ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. Hydrophila* meliputi total eritrosit, total leukosit dan total diferensial leukosit dan untuk mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) pada nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Tempat dan waktu penelitian dilaksanakan pada 9 Februari - 20 Maret 2016 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan yaitu dengan menggunakan dosis A (500 ppm), B (600 ppm) dan C (700 ppm) dengan kontrol positif (K+) serta kontrol negative sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Parameter utama yang diamati adalah total eritrosit, total leukosit dan total diferensial leukosit yang meliputi limfosit, monosit dan neutrofil ikan uji sedangkan parameter penunjang yaitu pengamatan gejala klinis ikan uji dan kualitas air.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) memberikan pengaruh bagi hematologi ikan yang meliputi peningkatan nilai rata-rata eritrosit, penurunan rata-rata leukosit. Diketahui pada perlakuan C (700 ppm) didapatkan nilai rata-rata total eritrosit tertinggi sebesar  $10,27 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup> dan persamaan regresi linier  $y = -3,80 + 0,021x$  Kisaran nilai rata-rata total leukosit ikan uji terendah sebesar  $34,23 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> dan didapatkan persamaan regresi linier  $y = 95 - 0,088x$ . Pada perhitungan diferensial leukosit adalah sebagai berikut: limfosit pada perlakuan C (700 ppm) memiliki jumlah rata-rata limfosit tertinggi yaitu 73,71% dan persamaan regresi linier  $y = -20,433 + 0,133x$  sedangkan monosit dengan nilai rata-rata terendah 19,31% dan persamaan regresi linier  $y = 74,696 - 0,077x$  serta neutrofil dengan nilai rata-rata terendah yaitu 6,98% dengan persamaan linier  $y = 45,737 - 0,056x$ .

Hasil yang diperoleh pada parameter penunjang dari penelitian ini adalah sebagai berikut: gejala klinis yang terlihat pada perlakuan A (500 ppm) terjadi mata pucat dan sisik terlepas serta terjadi kematian, pada perlakuan B sisik terlepas dan mata pucat dan pada perlakuan C ikan sudah mulai aktif bergerak dan respon pakan sudah membaik. Kualitas air yang diperoleh pada penelitian ini adalah suhu sebesar 26,1-29,6°C, pH 7-8,6 dan oksigen terlarut (DO) sebesar 5,6-8,7. Kisaran kualitas air masih normal untuk kelangsungan hidup ikan nila.



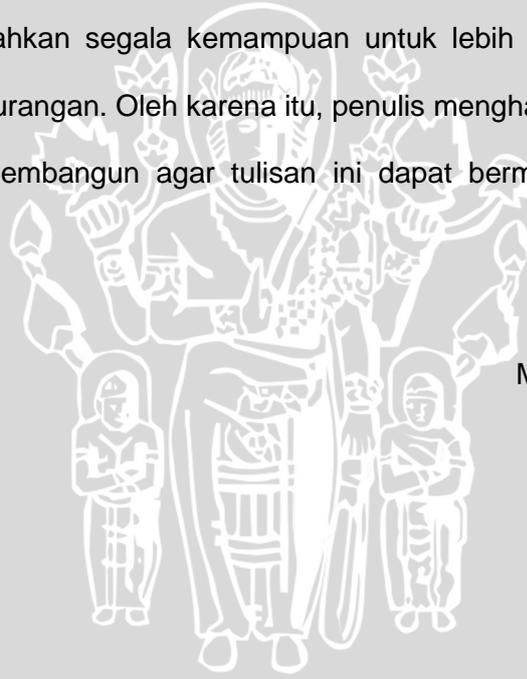
## KATA PENGANTAR

Rasa syukur yang terucap dengan memanjatkan puji kehadiran Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN SEMBUNG (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*”**. Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, April 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
<b>SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN ORISINALITAS</b> .....	iv
<b>UCAPAN TERIMA KASIH</b> .....	v
<b>RINGKASAN</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	3
1.5 Kegunaan Penelitian .....	3
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian .....	3
<b>2. TINJAUAN PESTAKA</b> .....	4
2.1 Biologi Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	4
2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila .....	4
2.1.2 Morfologi Ikan Nila .....	4
2.1.3 Kebiasaan Makan .....	5
2.1.4 Habitat dan Penyebaran .....	5
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	6
2.2.1 Klasifikasi Bakteri .....	6
2.2.2 Morfologi Bakteri .....	7
2.2.3 Habitat dan Penyebaran .....	7
2.2.4 Metabolisme dan Perkembangbiakan .....	8
2.2.5 Infeksi Bakteri <i>A. Hydrophilla</i> .....	8
2.3 Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) .....	9
2.3.1 Klasifikasi Daun Sembung .....	9
2.3.2 Morfologi Daun Sembung .....	10
2.3.3 Habitat dan Penyebaran .....	11
2.3.4 Manfaat Daun Sembung .....	11
2.3.5 Senyawa Biokimia Aktif Daun Sembung .....	12
2.4 Hematologi .....	12
2.4.1 Sel Darah Merah (eritrosit) .....	13
2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit) .....	14
2.4.3 Limfosit .....	14

2.4.4 Monosit .....	15
2.4.5 Neutrofil.....	16
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>17</b>
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.....	18
3.5 Rancangan Penelitian .....	19
3.6 Prosedur Penelitian.....	21
3.6.1 Persiapan Penelitian .....	21
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian.....	24
3.7 Parameter Uji .....	28
3.7.1 Parameter Utama.....	28
3.7.2 Parameter Penunjang .....	28
3.8 Analisa Data.....	28
<b>4. PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1 Analisis Hematologi.....	30
4.1.1 Jumlah Eritrosit.....	30
4.1.2 Jumlah Leukosit.....	34
4.1.3 Jumlah Diferensial Leukosit.....	37
a. Limfosit .....	37
b. Monosit .....	41
c. Neutrofil .....	44
4.2 Gejala Klinis Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian .....	47
4.3 Kualitas Air Selama Penelitian .....	48
4.3.1 Suhu.....	48
4.3.2 pH .....	48
4.3.3 DO.....	49
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan .....	50
5.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila.....	4
2. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> Perbesaran 1000x .....	6
3. Daun Sembung.....	10
4. Eritrosit pada Pada Pembesaran 1000x.....	13
5. Sel Limfosit Pada Pembesaran 1000x .....	15
6. Sel Monosit Pada Pembesaran 1000x .....	15
7. Sel Neutrofil Pada Pembesaran 1000x .....	16
8. Denah Penelitian .....	20
9. Total Rata-rata Eritrosit ( $10^5$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian.....	30
10. Hubungan Total Rata-rata Harian Eritrosit ( $10^5$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian .....	31
11. Hubungan Total Eritrosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.).....	33
12. Total Rata-rata Leukosit ( $10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian.....	34
13. Hubungan Total Rata-rata Harian Leukosit ( $10^3$ sel/mm <sup>3</sup> ) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian .....	35
14. Hubungan Total Leukosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.).....	36
15. Total Rata-rata Limfosit (%) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian .....	38
16. Hubungan Total Rata-rata Harian Limfosit (%) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian.....	38
17. Hubungan Total Limfosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.).....	40
18. Total Rata-rata Monosit (%) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) Selama Penelitian .....	41
19. Hubungan Total Rata-rata Harian Monosit (%) Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> )	

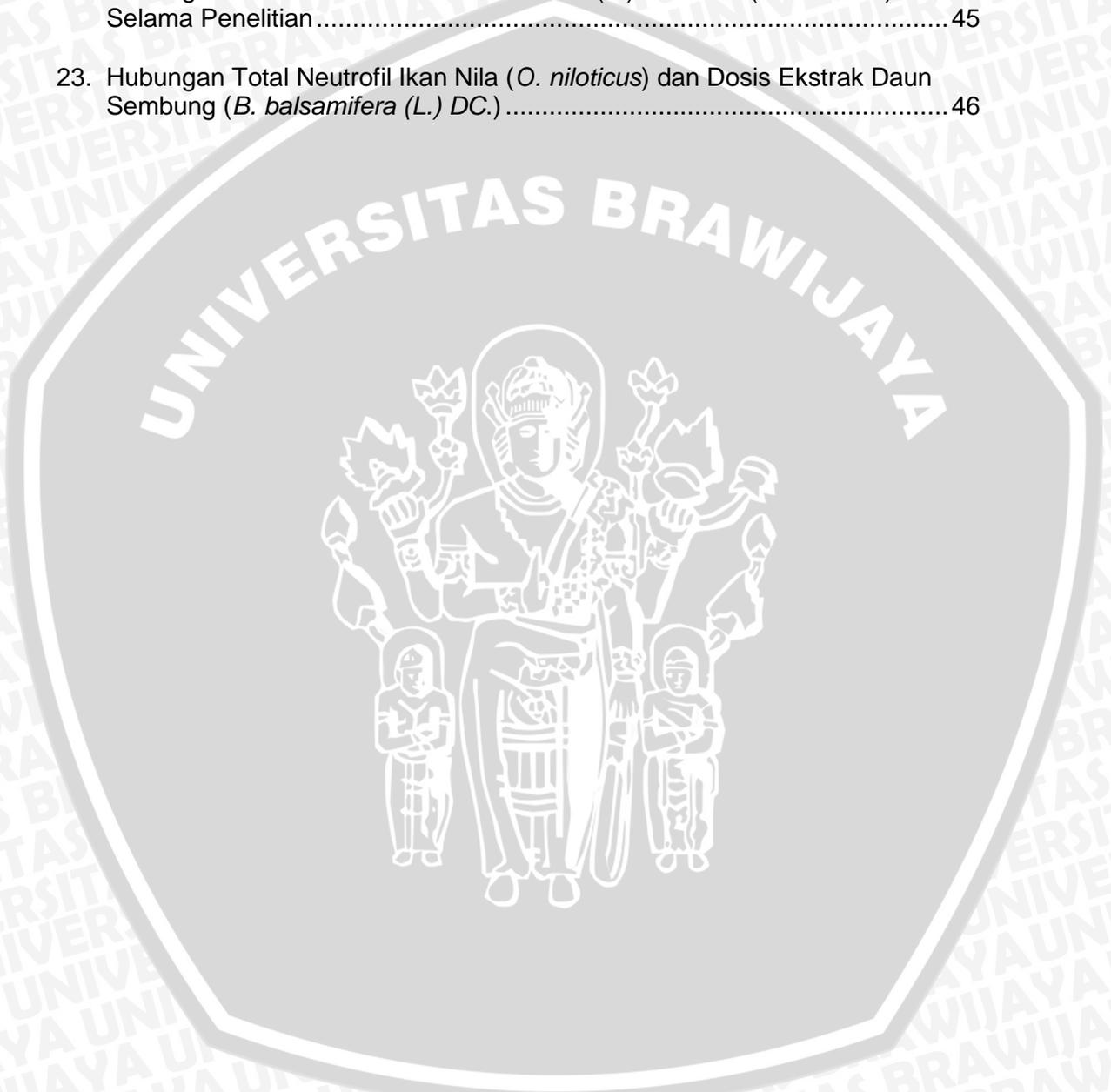
Selama Penelitian ..... 42

20. Hubungan Total Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) ..... 43

21. Total Rata-rata Neutrofil (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian ..... 44

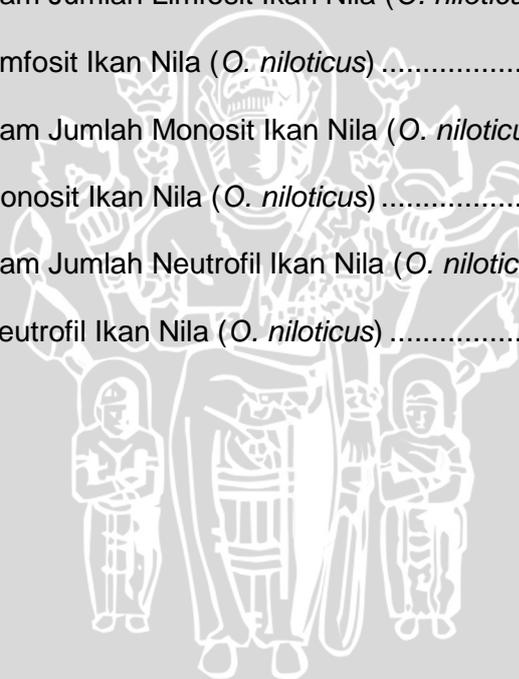
22. Hubungan Total Rata-rata Harian Neutrofil (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian ..... 45

23. Hubungan Total Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) ..... 46



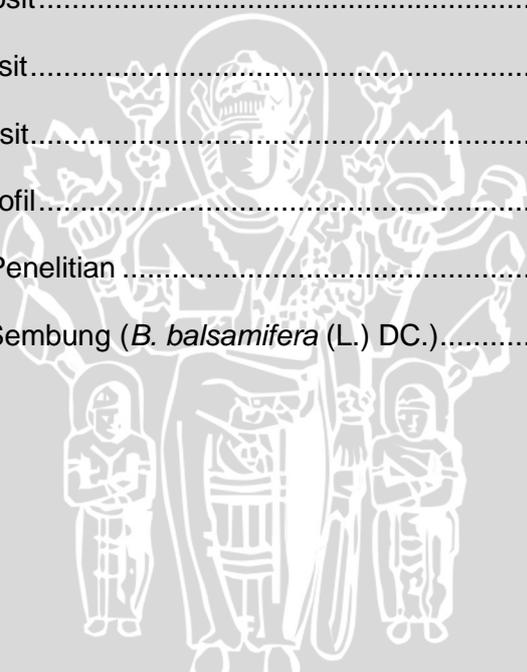
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan .....	20
2. Larutan Standart Mc Farland .....	23
3. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	32
4. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	32
5. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	36
6. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	36
7. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	39
8. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	40
9. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	43
10. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	43
11. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	46
12. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila ( <i>O. niloticus</i> ) .....	46



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat dan Penelitian .....	54
2. Bahan Penelitian .....	56
3. Proses Ekstraksi Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.) .....	58
4. Hasil Uji Biokimia <i>A. Hydrophila</i> .....	59
5. Pengenceran Bakteri <i>A. Hydrophila</i> .....	60
6. Perhitungan Eritrosit .....	61
7. Perhitungan Leukosit.....	64
8. Perhitungan Limfosit.....	67
9. Perhitungan Monosit.....	70
10. Perhitungan Neutrofil.....	73
11. Data Kualitas Air Penelitian .....	76
12. Identifikasi Daun Sembung ( <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.).....	78



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Dengan adanya peningkatan kebutuhan akan ikan maka dilakukan kegiatan budidaya ikan nila secara intensif. Kegiatan budidaya intensif merupakan kegiatan bercirikan kepadatan tinggi dengan tambahan suplai pakan tinggi pula kedalam perairan. Oleh karena itu dampak dari kegiatan budidaya intensif ini sangat beresiko terhadap serangan penyakit infeksi yang disebabkan oleh patogen. Salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan kerugian besar bagi pembudidaya ikan adalah bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Dampak serangan penyakit inidengan gejala klinis pecahnya pembuluh darah (hemoragi dan luka radang (septisemia) (Maftuch *et al.*, 2013).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan komoditas perairan darat yang banyak digemari oleh masyarakat, baik lokal maupun mancanegara. Untuk meningkatkan produksi ikan nila (*O. niloticus*), budidaya secara intensif perlu dilakukan dengan pemberian makanan yang berkualitas dan kualitas air yang terjaga (Putra, 2011). Selain itu Cahyono (2000) menyatakan dalam budidaya tidak terlepas dari gangguan hama dan penyakit. Agar usaha budidaya ikan dapat berhasil dengan baik maka usaha pengendalian hama dan penyakit harus diperhatikan dengan sungguh-sungguh.

Salah satu penyebab utama gagalnya budidaya ikan adalah faktor penyakit. Munculnya gangguan penyakit pada budidaya ikan merupakan resiko yang harus selalu diantisipasi. Sering kali penyakit yang menyerang dapat menyebabkan kematian masal ikan budidaya. Pengobatan yang dilakukan selama ini untuk mengatasi serangan penyakit selalu mengandung resiko. Pemberian antibiotik secara cermat, terbukti mampu mengobati ikan yang terserang penyakit, terutama serangan patogen. Namun, pemberian antibiotik yang dilakukan terus-menerus

dapat pula menyebabkan pencemaran lingkungan. Selain itu, terjadi resistensi terhadap bakteri apabila dosis yang digunakan tidak tepat. Dampak lebih jauh adalah ikan tidak laku untuk diekspor (Afrianto *et al.*, 2015).

Alternatif lain untuk pengobatan ikan yang terserang penyakit ini adalah dengan memanfaatkan bahan-bahan alami yang mengandung zat antimikroba dan lebih ramah lingkungan serta tidak memberikan efek samping pada organisme budidaya. Salah satunya adalah daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang diketahui mempunyai zat anti bakteri dan merupakan tanaman obat tradisional Indonesia yang berkhasiat antara lain untuk imunostimulan (Nugroho, 2012). Adapun kandungan yang terdapat dalam daun sembung tersebut adalah minyak atsiri 0,5% berupa sineol, borneol, landerol, Menurut Abi *et al* (2013), minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran dan dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Juga mengandung senyawa lain seperti saponin, tanin, serta flavonoid yang dimana zat aktif ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Ruhimat, 2015).

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian bagaimana efektivitas antibakteri daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) terhadap ikan nila (*O. niloticus*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* yang dilihat dari perubahan parameter hematologinya.

## 1.2 Rumusan Masalah

- Berapakah dosis yang mendapatkan hasil terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) pada hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophilla*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

- Mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) pada hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*.

### 1.4 Hipotesis

H<sub>0</sub> : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis tertentu tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

H<sub>1</sub> : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis tertentu berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) sebagai antibakteri alami untuk membunuh bakteri *A. hydrophila* yang diinfeksi pada ikan nila (*O. niloticus*) untuk keperluan proses pencegahan pada kegiatan budidaya dengan skala yang lebih besar.

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2016 sampai dengan bulan Maret 2016 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

#### 2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila

Menurut Kordi (2010), secara taksonomi ikan nila (*O. nilotica*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Klas	: Pisces
Ordo	: Perciformes
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis
Spesies	: <i>O. nilotica</i>



**Gambar 1.** Ikan Nila (Khairuman dan Amri, 2011).

#### 2.1.2 Morfologi Ikan Nila

Secara umum, ciri-ciri ikan nila adalah sebagai berikut: badannya pipih berbentuk lonjong, pada badan, sirip ekor, sirip punggung dan sirip perut terdapat garis-garis tegak lurus dengan sirip-siripnya, matanya menonjol dan bagian tepinya berwarna putih, dagingnya cukup tebal dan tidak terdapat duri-duri halus di dalamnya, kepalanya besar, mulutnya lebar, bibirnya tebal, sisik besar-besar dan kasar, sirip punggungnya dan sirip dubur memiliki beberapa jari-jari yang tajam seperti duri (Cahyono, 2000).

Pada umumnya jenis-jenis ikan dari keluarga Cichlidae mempunyai bentuk tubuh lonjong dan tinggi. Kepalanya besar, mulutnya lebar, dan bibirnya tebal. Sisiknya besar-besar dan kasar. Garis rusuknya terputus di tengah-tengah badan. Sirip punggung dan sirip dubur mempunyai beberapa jari-jari keras dan tajam seperti duri. Bentuk dan rupa ikan nila sangat mirip dengan ikan mujair. Pada ikan nila, sirip ekornya bergaris-garis hitam tegak lurus dan pada sirip punggungnya garis-garis hitam tersebut melintang atau tegak lurus pada sirip. Sedangkan pada ikan mujair tidak terdapat garis-garis pada sirip ekor dan sirip punggungnya (Mudjiman, 1986).

### 2.1.3 Kebiasaan Makan

Seperti halnya ikan mujair, ikan nila juga termasuk pemakan segala (*omnivora*), tetapi makanannya terutama jasad renik yang kecil-kecil. Oleh karena itu ikan nila dinamakan juga ikan *mikrofagus* (pemakan jasad-jasad kecil). Secara alami, yang digemari antara lain adalah Diatome, Coelastrum, Scenedesmus, Detritus, sisa-sisa ganggang benang Copepoda, Diffugia, Oligochaeta, dan jentik-jentik Chironomidae (Mudjiman, 1986).

Di perairan alami ikan nila memakan plankton, perifiton, atau tumbuhan air yang lunak, bahkan cacingpun dimakan. Dari pemeriksaan secara laboratoris, pada perut ikan nila ditemukan berbagai macam jasad seperti Soelastrum, Scenedesmus, Detritus, alga benang, Rotatoria, Anabaena, Arcella, Copepoda, Diffungia, Oligochaeta, larva Chironomus dan sebagainya. Dari penelitian ternyata ikan yang berasal dari afrika ini kebiasaan makannya berbeda sesuai dengan tingkat usianya (Rustidja, 1996).

### 2.1.4 Habitat dan Penyebaran

Ikan nila masuk ke Indonesia pada bulan juni 1969 dan berasal dari Taiwan. Nama latinnya adalah *Tilapia nilotica* dan nama Indonesiannya ikan nila. Kata *nilotica* sendiri berasal dari kata Nile atau Nil, yaitu nama sungai besar di Afrika,

yang bermuara di pantai utara Mesir. Memang negeri asal ikan nila yang asli sebenarnya adalah benua afrika, terutama bagian barat, bagian tengah, dan sungai Nil. Dari sana ikan nila tersebar ke beberapa negara di dunia. Banyak sekali danau-danau dan perairan umum lainnya yang dimanfaatkan orang untuk membudidayakan ikan nila. Kedatangan ikan nila di Indonesia dimaksudkan untuk memperkaya jenis-jenis ikan pemakan plankton (hewan dan tumbuhan renik yang hidup melayang-layang di air) (Mudjiman, 1986).

## 2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophilla*

### 2.2.1 Klasifikasi Bakteri

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

Filum	: Protophyta
Klas	: Schizomyecetes
Ordo	: Pseudomonodale
Sub Ordo	: Pseumodineae
Family	: Vibriionceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophilla</i>



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophilla* Perbesaran 1000x

### 2.2.2 Morfologi Bakteri

Bakteri ini berbentuk batang dan memiliki diameter sel berkisar 0,3-1  $\mu\text{m}$  dan panjang 1-3,5  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini memiliki alat gerak berupa flagel dan memiliki suhu optimum pertumbuhan 28° C, tetapi mampu bertahan hidup pada suhu (4° C dan 37° C). Bakteri *Aeromonas* menyukai lingkungan kolam yang tercemar bahan organik terutama di musim kemarau atau menjelang musim hujan. Kualitas air kolam yang kurang baik atau perbedaan suhu siang dan malam hari juga berperan munculnya penyakit (Afrianto *et al.*, 2015).

*A. hydrophila* merupakan bakteri *heterotrofik uniseluler*, tergolong protist prokariot yang dicirikan dengan tidak adanya membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bakteri ini biasanya berukuran 0,7-1,8 x 1,0-1,5  $\mu\text{m}$  dan bergerak menggunakan sebuah polar flagel. *A. hydrophila* bersifat motil dengan flagella tunggal di salah satu ujungnya. Bakteri ini berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20-30° C (Kabata, 1985 dalam Haryani *et al.*, 2012).

### 2.2.3 Habitat dan Penyebaran

*Aeromonas* adalah bakteri yang memiliki sifat oksidatif dan aerobik fakultatif, sehingga dapat hidup di lingkungan perairan dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini tidak memiliki kemampuan untuk membentuk spora. *Aeromonas* sp. dapat dijumpai di lingkungan air payau, air tawar, atau lautan dan termasuk bakteri yang memiliki kemampuan untuk bergerak (motil) (Afrianto *et al.*, 2015). Sedangkan untuk spesies bakteri *A. hydrophila* mempunyai habitat didaerah estuaria dan air tawar, keberadaannya berhubungan dengan kandungan bahan organik atau sedimen dasar perairan. Bakteri *A. hydrophila* banyak terdapat didaerah tropis dan subtropis dibandingkan di daerah dingin (Bullock *et al.*, 1971).

*A. Hydrophila* merupakan bakteri yang biasanya ditemukan dalam air tawar. Infeksi *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress,

perubahan temperatur air yang terkontaminasi dan ketika *host* (inang) tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder), oleh karena itu bakteri ini disebut dengan bakteri yang bersifat patogen *oportunistik* (Haryani *et al.*, 2012).

#### 2.2.4 Metabolisme dan Perkembangbiakan

Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam air atau sedimen selama beberapa hari hingga beberapa minggu, tetapi tidak dapat berkembang biak dan bersifat obligat. Penyebaran serangan *Aeromonas* sp. dapat berlangsung secara vertikal antara induk dengan anaknya dan secara horizontal antara ikan berbagai jenis. *Aeromonas* sp. dapat tumbuh dan berkembang biak pada usus ikan. Sel hepatik dan epitel dari tubulus ginjal menunjukkan adanya degenerasi organ tersebut. Metabolit beracun yang dikeluarkan oleh *Aeromonas* sp. akan terserap melalui usus sehingga ikan mengalami keracunan (Afrianto *et al.*, 2015).

Sebagian besar isolat *A. hydrophila* mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu 37° C dan tetap motil pada suhu tersebut. Disamping itu, bakteri *A. hydrophilla* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11,0 (Fauci, 2001 dalam Haryani *et al.*, 2012). Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* resisten terhadap chlorin serta suhu dingin (faktanya *A. hydrophila* dapat bertahan dalam temperatur rendah  $\pm 4^{\circ}$  C), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan (Haryani *et al.*, 2012).

#### 2.2.5 Infeksi Bakteri *A. hydrophilla*

Pada beberapa kejadian bakteri *A. hydrophila* dapat menyebar secara cepat pada ikan dengan padat penebaran tinggi dan bisa mengakibatkan kematian benih hingga 90%. Penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* bersifat "opportunist" yaitu mampu berkembang menjadi lebih ganas pada keadaan optimum. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar

atau dengan pemindahan ikan yang telah terserang *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain (Afrianto dan Liviawaty, 1992). Gejala dari *A. hydrophila* adalah berupa luka dibagian tubuh ikan dan bakteri ini menyerang semua umur. Infeksi bakteri dimulai dari peradangan. Radang merupakan reaksi pertama dari hewan secara vaskuler dan seluler terhadap bakteri yang masuk kedalam tubuh yang menimbulkan kerusakan pada jaringan (Haryani *et al.*, 2012).

Gejala ikan yang terserang *Aeromonas* sp. antara lain terjadi luka berdarah di tubuhnya, pendarahan pada insang dan dubur, *exophthalmia* (mata bengkak), perut membesar, lender mencair, sisik mengelupas, dan muncul borok di tubuhnya. Penyakit ini mengakibatkan kekurangan darah merah dan mengakibatkan kerusakan pada daging, limpa dan hati, dan juga menyebabkan gejala bisul-bisul yang berkembang menjadi borok. Dalam jangka waktu singkat kondisi ikan akan melemah, mengambang di permukaan dan akhirnya mati (Afrianto *et al.*, 2015).

### 2.3 Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

#### 2.3.1 Klasifikasi Daun Sembung

Klasifikasi dari daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) menurut Badan POM RI (2008) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Astereceae (Compositae)
Marga	: Blumea
Jenis	: <i>B. balsamifera</i> (L.) DC.



**Gambar 3.** Daun Sembung (Badan POM RI, 2008).

### 2.3.2 Morfologi Daun Sembung

Tanaman sembung mempunyai batang tegak bulat, warnanya hijau tua, bagian atas batang berbulu lebat dan aromatis. Daun tunggal, tersebar, berbulu, bentuknya lonjong dengan ukuran panjang 6-30 cm dan lebar 1,5-12 cm, pangkal dan ujung daun meruncing, tepinya rata, pertulangan daun menyirip. Bunga mejemuk, bertangkai, bentuknya seperti tandan, terdapat di ketiak daun dan ujung batang, warna mahkota bunga putih kekuningan. Bentuk silindris keras, berambut, warnanya putih kecoklatan. Bentuk biji pipih, berwarna putih. Akar tunggang berwarna putih susu (Badan POM RI, 2008).

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) berdaun tunggal, di bagian bawah bertangkai, bagian atas merupakan daun duduk, letak berseling, terdapat 2-3 daun tambahan pada tangkai daunnya. Helaian daun bundar sampai lonjong pangkal dan ujung runcing, tepi bergerigi atau bergigi, permukaan daun bagian atas berambut agak kasar sedang bagian berambut rapat dan halus seperti beludru. Pertulangan daun menyirip, panjang 8-40 cm, lebar 2-20 cm. Bunganya bergerombol pada ujung batang dan berwarna kuning. Buahnya sedikit melengkung dengan panjang 1 mm. Buah kotak bentuk silindris, beriga 8-10,

panjang 1 mm, berambut. Perbungaan majemuk bentuk malai, keluar di ujung tangkai, warnanya kuning (Hut, 2012).

### 2.3.3 Habitat dan Penyebaran

Daun sembung (*B. balsamifera*) ini merupakan tumbuhan asal Nepal yang hidup ditempat terbuka sampai tempat yang agak terlindung di tepi sungai, tanah pertanian, atau ditanam dipekarangan dan dapat tumbuh pada tanah berpasir atau tanah yang agak basah. Perbanyak dengan biji atau pemisahan tunas akar (Ruhimat, 2015).

Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) merupakan tanaman herbal yang memiliki kecenderungan tumbuh liar dan dapat ditemukan di berbagai habitat yang tidak penting, misalnya pinggir jalan dan tanah lapang, kemudian terdapat di dataran rendah dan wilayah pegunungan. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) umumnya senang tumbuh di daerah yang lembab walaupun diantara batu-batu, namun tanaman ini dapat ditemukan juga di daerah yang bermusim kering ringan sampai berat. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) toleran terhadap kebakaran, dan mudah berkecambah kembali dari dalam tanah. Tanaman sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) juga dapat hidup di tempat terbuka dan agak terlindung seperti tepi sungai dan lahan pertanian. Tanaman ini juga dapat tumbuh di daerah berpasir atau tanah yang agak basah pada ketinggian sampai 2.200 mdpl (Hut, 2012).

### 2.3.4 Manfaat Daun Sembung

Daun sembung berkhasiat sebagai anti radang, melancarkan pengeluaran gas dari saluran pencernaan, melancarkan peredaran darah, mematikan pertumbuhan kuman, melancarkan pengeluaran keringat, menghangatkan badan, menurunkan panas, berkhasiat mengurangi rasa sakit penderita kanker (Ruhimat, 2015).

Bagian daun merupakan bagian yang sering digunakan sebagai bahan obat. Daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dapat digunakan sebagai obat nyeri haid, flu, demam, asma, sariawan, diabetes, batuk, bronkitis, diare dan juga obat rematik, hipertensi, dan sebagai obat masuk angin (Katno *et al.*,2009).

### 2.3.5 Senyawa Biokimia Aktif Daun Sembung

Zat aktif yang terkandung dalam daun sembung adalah minyak atsiri 0,5% berupa sineol, borneol, landerol, dan juga mengandung senyawa lain seperti kamper, tanin, saponin, damar, dan ksantoksilin serta flavonoid dimana zat aktif ini mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa tanin merupakan suatu zat yang terdapat dalam berbagai tumbuhan salah satunya terdapat pada tanaman sembung. Tanin ini mempunyai sifat mudah larut dalam air, etanol, dan larutan aseton (Rumihat, 2015).

Bahan aktif dalam daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) yang paling berpengaruh sebagai antibakteri adalah flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam, flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa polifenolik yang biasa ditemukan secara luas dalam buah-buahan dan sayur-sayuran dari hampir semua tumbuhan dari bangsa alga. Senyawa ini terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, bunga, dan biji (Sastrohamidjojo, 1996).

### 2.4 Hematologi

Hematologi adalah ilmu yang mempelajari komponen sel darah serta kelainan fungsional dari sel tersebut. Analisis karakteristik sel darah dapat memberikan beberapa petunjuk mengenai keberadaan penyakit yang ditemukan dalam tubuh suatu organisme. Pemeriksaan darah sangat perlu dilakukan terutama pada organisme dalam kondisi patologis tertentu. Pemeriksaan darah

ikan meliputi jumlah eritrosit, jumlah leukosit, dan total perhitungan diferensial leukosit (Anderson dan Swicki, 1995).

Pemeriksaan darah (hematologis) dapat digunakan sebagai indikator tingkat keparahan suatu penyakit. Studi hematologis merupakan kriteria penting untuk diagnosis dan penentuan kesehatan ikan. Hal ini dikarenakan pada ikan yang terserang penyakit terjadi perubahan pada nilai hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih (Alamanda *et al.*, 2007).

#### 2.4.1 Sel Darah Merah (eritrosit)

Menurut Fujaya (2010), fungsi utama sel darah merah adalah untuk mentransportasikan hemoglobin, dimana hemoglobin ini berperan dalam membawa oksigen dari insang, paru-paru ke jaringan. Selain itu, sel darah merah mengandung asam karbonat yang berfungsi untuk mengkatalisis reaksi karbondioksida dan air. Sehingga darah dapat bereaksi dengan karbondioksida dan mengangkutnya dari jaringan ke insang.



**Gambar 4.** Eritrosit Pada Pembesaran 1000x (Chinabut *et al.*, 1991)

Eritrosit ikan yang matang secara normal berbentuk oval atau ellips dengan sitoplasma eosinofilik dan inti yang berbentuk oval atau ellips juga. Inti eritrosit ikan relatif besar ukurannya kurang lebih seperempat dari volume sel eritrosit. Butir kromatin intinya padat dan berwarna ungu gelap. Bentuk dan ukuran sel darah merah ikan bervariasi tergantung jenis spesiesnya. Contohnya eritrosit ikan kelas

Condrichthyes umumnya lebih besar daripada kelas Osteichthyes. Eritrosit matang pada beberapa ikan berbentuk bikonvek tapi pada spesies lain ada yang berbentuk datar dan bikonkaf (Bijanti *et al.*, 2010).

#### 2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi (Suhermanto *et al.*, 2011).

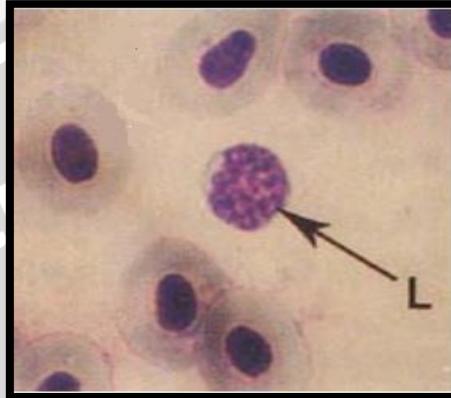
Menurut Sukenda *et al.* (2008), leukosit merupakan salah satu komponen darah yang berfungsi sebagai pertahanan non-spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminir patogen melalui proses fagositosis. Leukosit juga berfungsi sebagai pertahanan dalam tubuh, yang bereaksi dengan cepat terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh ikan.

#### 2.4.3 Limfosit

Menurut Vonti (2008), pada ikan limfosit dapat ditemukan pada bagian pembuluh limpa dan sebagian besar dapat ditemukan pada neutral duktus limfatikus. Limfosit memiliki beberapa ukuran mulai dari yang kecil, medium, hingga ukuran besar. Semakin besar ukuran limfosit, maka semakin banyak pula jumlah sitoplasma didalamnya. Limfosit memiliki sel T dan sel B yang memiliki inti berukuran sama besarnya. Jumlah limfosit yang bersirkulasi didalam darah ikan adalah  $12 \times 10^3$  limfosit/mm<sup>3</sup>. Presentase limfosit ikan berkisar antara 71,12-82,88% dari total leukosit yang bersirkulasi didalam darah.

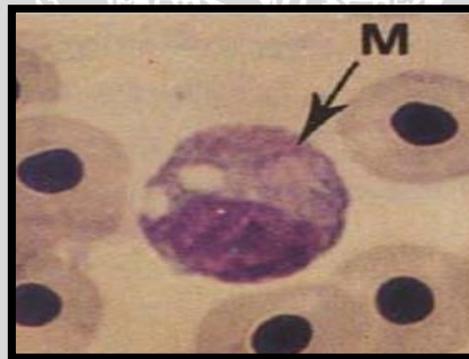
Menurut Mundriyanto *et al* (2002), mekanisme kerja limfosit dalam peranannya untuk sistem kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada

membran sel. Pada limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenal antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor spesifik. Dengan adanya sel resptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenai antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi.



**Gambar 5.** Limfosit Pada Pembesaran 1000x (Chinabut *et al.*, 1991)

#### 2.4.4 Monosit



**Gambar 6.** Sel Monosit Pada Pembesaran 1000x (Chinabut *et al.*, 1991)

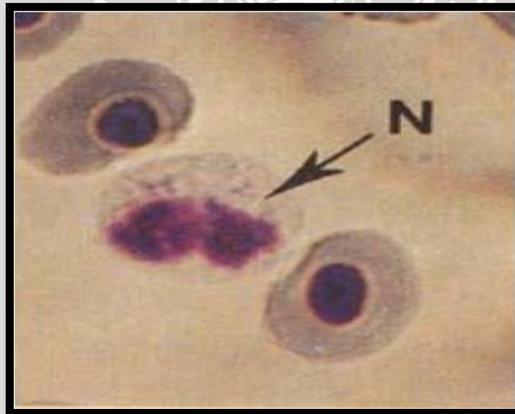
Menurut Hernawati *et al.* (2013), monosit ikan terletak mendekati tepi sel, inti berbentuk oval dan mengisi sebagian isi sel. Bentuk morfologi pada ikan hampir menyerupai bentuk monosit pada mamalia. Dalam preparat ulas neutrofil memiliki 3 lobi, sedangkan monosit tampak sebagai sel yang besar dan tidak beraturan.

Monosit berbentuk oval atau bundar, dengan diameter berkisar antara 6-15 mikron, memiliki inti berbentuk oval. Inti terletak berdekatan dengan tepi sel dan

mengisi sebagian isi sel. Presentase monosit pada ikan teleostei sekitar 0,1% dari seluruh populasi leukosit yang bersirkulasi (Dopongtonung, 2008).

#### 2.4.5 Neutrofil

Neutrofil berperan dalam penghancuran material asing yang masuk kedalam tubuh melalui proses fagositik yaitu aktivitas kemotaksis sel menuju partikel atau menempelnya partikel pada sel, penelanan serta penghancuran partikel oleh sel dengan bantuan enzim lisosom didalam fagolisosom (Suhermanto *et al.*, 2011). Terjadinya peningkatan jumlah neutrofil didalam tubuh ikan dikarenakan didalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh, sehingga saat terjadi infeksi bakteri, limpa langsung memproduksi neutrofil dan kemudian dikirim ke tempat infeksi (Sukenda *et al.*, 2008).



**Gambar 7.** Sel Neutrofil Pada Pembesaran 1000x (Chinabut *et al.*, 1991)

Neutrofil berbentuk bundar dan berukuran besar (diameter 9-13  $\mu\text{m}$ ), dengan sitoplasma yang besar dan mengandung granula. Sitoplasma berwarna biru cerah atau ungu pucat, sedangkan inti berwarna biru gelap dan memperlihatkan gumpalan Neutrofil ikan teleost dibentuk di dalam organ ginjal dan limpa, sedangkan pada jenis ikan *elasmobranch* (ikan hiu dan pari) dibentuk di organ leydig. Proporsi neutrofil dalam populasi leukosit darah sangat rendah, yaitu sekitar 6-8 % (Mones, 2008).

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian antara lain:

- Akuarium 40x40x40 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- Pipet thoma eritrosit
- Pipet Thoma leukosit
- pH Meter
- *Handtally counter*
- Mikroskop Cahaya
- Seser (jaring) ikan
- Ember Plastik
- Erlenmeyer
- Filter
- Botol Fillm
- Toples Kaca
- Filter
- Heater Akuarium
- Thermometer
- DO meter
- *Haemocytometer*
- Objek glass
- Cover glass

Untuk lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ikan Nila (*O. niloticus*)
- Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)
- Bakteri *A. hydrophila*
- Kertas label
- Plastik Wrap
- Methanol
- Larutan Giemsa
- Larutan Turk
- Alkohol 70%

- Larutan Hayem
- Anti Koagulan (Na-sitrat 3,8 %)
- Sampel Darah ikan nila
- Alumunium Foil
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Kertas Saring
- Aquades

Untuk lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 2.

### 3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian adalah air tawar di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat pipa menuju akuarium berukuran 40x40x40 cm sebanyak 15 buah dan diberi aerasi sebagai suplai oksigen.

### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan satu (lebih) variable pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkan dengan kelompok lain.

### 3.4 Pengambilan Data

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

### 3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada praktikum ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan.

$$Y = \mu + T + \epsilon$$

Keterangan:

$\mu$  = nilai rerata harapan (mean)

T = pengaruh faktor perlakuan

$\epsilon$  = pengaruh galat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variable bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) dengan dosis yang berbeda. Pada penelitian ini digunakan dua kontrol pembanding yaitu kontrol positif (K+) dan kontrol negatif (K-). Kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun sembung, sedangkan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun sembung. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 15 sampel. Dosis yang digunakan dalam penelitian didapat dari uji LD<sub>50</sub>. Penentuan dosis dilakukan uji LD<sub>50</sub> dengan tujuan untuk mengetahui dari penambahan dosis daun sembung terhadap ikan uji atau tingkat toksisitas dari daun sembung pada kematian ikan uji yang mencapai 50% dari total ikan uji disetiap dosis dalam waktu tertentu. Pada uji LD<sub>50</sub> didapatkan dosis maksimal sebesar 800 ppm, penentuan dosis LD<sub>50</sub> tersebut didasarkan pada Uji MIC yang dilakukan pada penelitian

sebelumnya yaitu didapatkan konsentrasi 156,25 ppm dengan absorbansi 0,728.

Pada penelitian digunakan selisih dosis sebesar 100 ppm pada tiap perlakuan, sehingga didapatkan dosis 500 ppm, 600 ppm dan 700 ppm.

**Tabel 1.** Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>
B	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>
C	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
K (+)	K (+) <sub>1</sub>	K (+) <sub>2</sub>	K (+) <sub>3</sub>
K (-)	K (-) <sub>1</sub>	K (-) <sub>2</sub>	K (-) <sub>3</sub>

Keterangan:

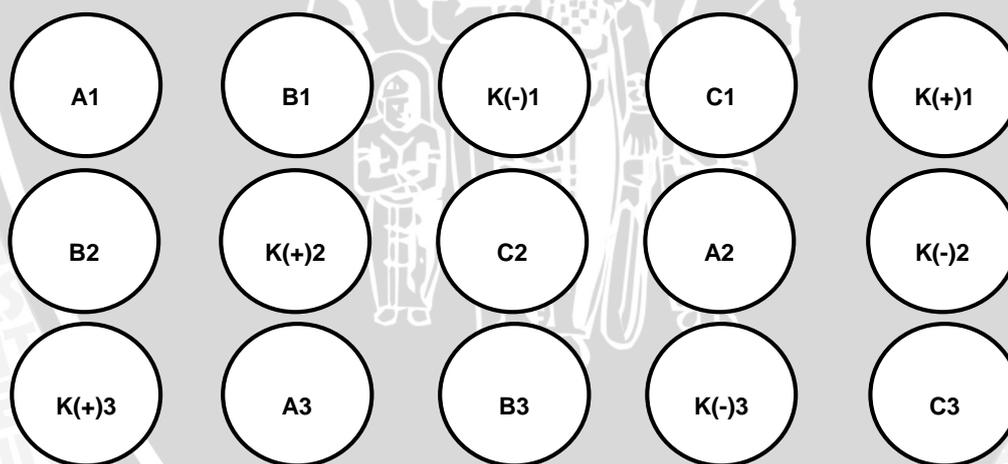
A : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 500 ppm

B : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 600 ppm

C : Pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) 700 ppm

K (+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun sembung

K (-) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun sembung



**Gambar 8.** Denah Penelitian

Keterangan :

A-B-C : Perlakuan penelitian

K(+): : Kontrol positif

K(-): : Kontrol negatif

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Persiapan Penelitian

##### a. Pembuatan Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Pembuatan ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dilakukan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:3. Daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) kering dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Ditimbang serbuk daun sembung 2000 gram dimasukkan ke dalam 3 buah toples dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 6000 ml dan direndam selama 48 jam ditempat yang gelap, kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak dari daun sembung. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu 50° C dengan kecepatan 90 rpm. Setelah diupakan dihasilkan ekstrak murni sebanyak 28 gram. Proses ekstraksi lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 3.

##### b. Persiapan Alat

Mekanisme sterilisasi alat dan bahan yang dilakukan antara lain adalah sebagai berikut:

- Alat dan yang akan digunakan dicuci bersih dengan menggunakan detergen, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas kemudian diikat.
- Mengisi *autoclave* dengan air secukupnya, selanjutnya alat dan bahan yang sudah dibungkus dimasukkan ke dalam *autoclave* kemudian ditutup dengan posisi simetris.
- *Autoclave* dinyalakan dan ditunggu sampai suhu 121°C dengan tekanan 1 atm, ditunggu 15-20 menit dengan cara membuka dan atau menutup kran uap yang berada dibagian atas tutup *autoclave*.

- *Autoclave* dimatikan, ditunggu hingga suhu menunjuk angka 0 (nol), setelah itu dibuka kran uap, lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris pula.
- Alat yang sudah disterilisasi disimpan dalam kotak penyimpanan dan bahan disimpan dalam lemari es

Sedangkan untuk wadah ikan berupa aquarium berukuran 40x40x40 cm digunakan sebanyak 15 buah. Sebelum digunakan aquarium tersebut dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan detergen lalu dibilas dan kemudian direndam dengan menggunakan klorin selama 30 menit, kemudian diberi Na-Thiosulfat untuk menetralkan. Kemudian akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari, lalu diisi dengan air tawar. Akuarium kemudian diisi air dan dipasang aerator untuk mensuplai oksigen dalam air.

### c. Persiapan Ikan Uji

Ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila (*O. niloticus*) dengan ukuran 8-12 cm sebanyak 20 ikan dalam satu akuarium dengan total ikan yang digunakan dalam penelitian sebanyak 300 ekor ikan nila. Sebelum dilakukan penelitian dilakukan persiapan sampel ikan uji dengan cara menseleksi ikan yang akan digunakan. Seleksi yang dilakukan meliputi pengamatan kondisi kesehatan ikan dari luar. Ikan tersebut kemudian diaklimatisasi dalam akuarium selama 7 hari pengamatan. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui keadaan ikan yang digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara adlibitum sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feses. Hal ini dilakukan untuk mencegah timbulnya zat racun.

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

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara Jawa Tengah dengan hasil uji biokimia yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Bakteri yang diperoleh adalah dengan kepadatan  $6 \times 10^8$  sel/ml, hasil pengkulturan pada media NB yang sudah dicocokkan dengan metode Mc Farland sedangkan bakteri yang akan digunakan yaitu dengan kepadatan  $1 \times 10^7$  sel/ml, maka harus dilakukan pengenceran. Langkah-langkah dalam penentuan kepadatan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Biakan Bakteri (seperti yang sudah dijelaskan diatas).
2. Perhitungan Jumlah Bakteri.

Perhitungan jumlah bakteri yang ada pada media Nutrien Broth (NB) dapat dilakukan menggunakan metode MC Farland dengan cara:

- Menyediakan 10 tabung reaksi yang bersih;
- Membuat larutan  $H_2SO_4$  murni dalam 1% dan membuat larutan  $BaCl_2$  dalam 1%;
- Mencampurkan kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel. Sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tutuplah tabung-tabung tersebut;
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi sel *E. coli* per ml seperti dalam Tabel 2 berikut;

**Tabel 2.** Larutan Standart Mc Farland

Nomor Tabung	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$BaCl_2$ (ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
$H_2SO_4$ (ml)	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9
Kepadatan sel <i>E. Coli</i> ( $1 \times 10^8$ )	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

Adapun langkah-langkah untuk mendapatkan kepadatan bakteri  $1 \times 10^7$  sel/ml dilakukan proses pengenceran berseri sebagai berikut:

- Dipersiapkan bakteri *A. hydrophila*;
- Dipersiapkan tabung reaksi yang masing-masing tabung diisi 9 ml akuades;
- Diambil 1 ml bakteri dari stok menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung pertama kemudian di vortex;
- Diambil 1 ml bakteri dari tabung reaksi pertama menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua kemudian di vortex;
- Didapatkan bakteri dengan kepadatan  $1 \times 10^7$  sel/ml (dapat dilihat pada Lampiran 5).

### 3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a. Penginfeksi Bakteri Pada Ikan Nila

Sampel ikan uji diaklimatisasi dalam wadah pemeliharaan yang sudah dibersihkan selama 7 hari. Kemudian sampel ikan uji diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $1 \times 10^7$  sel/ml. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 20 liter (20.000 ml), sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times (6 \times 10^8) &= 20.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{6 \times 10^8} \\ &= 333,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 333,3 ml dan dicampurkan dengan air tawar sebanyak 19666,7 ml, selanjutnya ikan nila direndam dalam media yang tercampur bakteri  $1 \times 10^7$  sel/ml selama 24 jam dan dipelihara selama satu minggu, kemudian diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## b. Perendaman Ikan Uji Dengan Ekstrak Daun Sembung

Pemberian ekstrak kasar daun sembung dilakukan pada akuarium yang sudah diisi air. Lalu ditambahkan ekstrak daun sembung sesuai dosis yang ditentukan. Selanjutnya diambil sampel darah ikan nila yang telah terinfeksi sebelum dilakukan perendaman untuk dihitung total eritrosit, leukosit dan deferensial leukosit. Selanjutnya dilakukan proses perendaman dengan dimasukkan ikan nila ke dalam akuarium yang berisi air yang sudah diberi ekstrak daun sembung, masing-masing sebanyak 20 ekor dan diamati selama 1 x 24 jam pada perlakuan dosis yang sudah ditentukan. Setelah proses perendaman ikan uji dipindahkan ke dalam akuarium baru yang berisi air tawar dan dipelihara selama 4 hari dan diamati total eritrosit, leukosit dan diferensial leukosit Serta diamati parameter penunjang seperti DO, pH dan suhu setiap hari pada pagi dan sore pada pukul (08.00 dan 16.00 WIB).

## c. Pengambilan Sampel Darah

Ikan nila diambil darahnya pada bagian *caudal peduncle* dengan menggunakan spuit yang telah berisi Na Citrat 3,8% yang berfungsi untuk mencegah pembekuan darah atau sebagai anti koagulan. Spuit disuntikkan dengan posisi jarum 45° dan ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit.

## d. Uji Hematologi

### • Penghitungan Jumlah Eritrosit

Dalam penghitungan sel darah merah, hal pertama yang harus dilakukan adalah sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan dihisap dengan pipet thoma eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 101 (pengenceran 1:200). Pipet digoyang-goyangkan agar darah dan larutan hayem bercampur rata. Setelah itu, empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke *haemocytometer*, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan kelima akan didapatkan darah

yang telah benar-benar tercampur dengan larutan hayem. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah merah dapat dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Sel darah merah dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{SDM} = (a/n) \times (1/v) \times F_p$$

Keterangan:

SDM : jumlah sel darah merah

a : jumlah sel darah merah yang terhitung

n : jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

v : volume *haemocytometer*

F<sub>p</sub> : faktor pengenceran

- **Penghitungan Jumlah Leukosit**

Dalam penghitungan sel darah putih, hal pertama yang harus dilakukan yaitu sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan dihisap dengan pipet thoma leukosit sampai skal 0,5. Kemudian larutan turk dihisap sampai skala menunjukkan angka 11 (pengencer 1:20). Pipet digoyang-goyangkan agar darah dan larutan turk bercampur rata. Setelah itu, empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya ditetaskan ke *haemocytometer*, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan kelima akan didapatkan darah yang telah benar-benar tercampur dengan larutan hayem. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel darah putih pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah merah dapat dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Sel darah merah dapat dihiyung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{SDM} = (a/n) \times (1/v) \times F_p$$

Keterangan:

SDM : jumlah sel darah putih

a : jumlah sel darah putih yang terhitung

n : jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

v : volume *haemocytometer*

F<sub>p</sub> : faktor pengenceran

- **Penghitungan Jumlah Diferensial Leukosit**

Leukosit dibagi menjadi dua jenis yaitu granulosit dan agranulosit yang dibedakan berdasarkan ada tidaknya granula pada sitoplasmanya. Granulosit dibagi menjadi 3 yaitu neutrofil, eosinofil dan basofil. Sedangkan agranulosit dibagi menjadi limfosit dan monosit. Pada pengamatan diferensial leukosit ini yang akan diamati yaitu limfosit, monosit dan neutrofil. Penghitungan jumlah diferensial leukosit ini dilakukan untuk mengetahui persentase tiap jenis leukosit yang ada di dalam darah. Pengamatan ini dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah di bawah mikroskop. Pembuatan preparat ulas ini dilakukan dengan metode *smear* yang dilakukan dengan menempatkan setetes darah di atas objek glass kemudian objek glass kedua di letakkan di atas objek glass pertama dengan posisi sudut 30-40°, lalu digeser ke belakang menyentuh darah sehingga terbentuk lapisan darah tipis yang menyebar pada objek glass. Preparat darah dikeringkan dan dianginkan, lalu difiksasi dengan cara merendam preparat di dalam methanol selama 3-5 menit dan kemudian dikeringkan. Lalu preparat diwarnai dengan larutan giemsa dengan pengenceran 1:9 selama 30 menit, dicuci dan kemudian

dikeringkan. Kemudian preparat diamati dan dihitung dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x hingga mencapai jumlah 100 sel leukosit.

Menurut Sukenda *et al.* (2008), rumus persentase diferensial leukosit sebagai berikut:

Presentase Limfosit	$= \frac{L}{100} \times 100\%$
Presentase Monosit	$= \frac{M}{100} \times 100\%$
Presentase Neutrofil	$= \frac{N}{100} \times 100\%$

### 3.7 Parameter Uji

#### 3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama yang digunakan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah ikan nila yang meliputi penghitungan jumlah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil). Hal ini dilakukan untuk mengamati perbedaan ikan yang sehat, ikan yang terinfeksi bakteri dan ikan yang telah diberi perlakuan perendaman ekstrak daun sembung.

#### 3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah pengukuran kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut dan pH yang dilakukan pada pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB setiap hari.

### 3.8 Analisa Data

Data yang didapat dari penelitian ini akan dianalisa pengaruhnya pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F hitung berbeda nyata atau sangat nyata, maka analisa akan dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang

memberikan respon terbaik dengan derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dan hasil, maka digunakan analisa regresi.



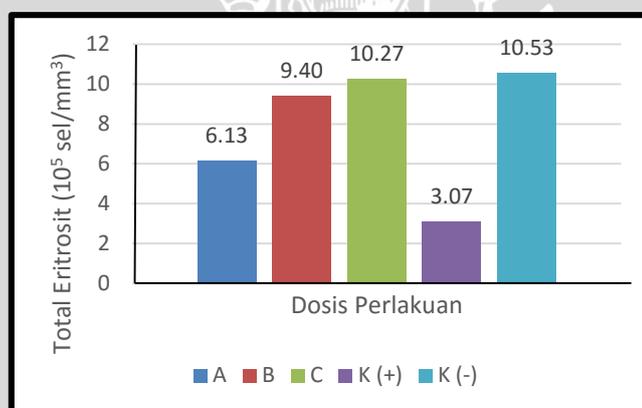
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Analisis Hematologi

Pemeriksaan darah atau hematologi dalam proses diagnosa penyakit merupakan bagian penting untuk mengetahui penyebab serangan penyakit dan pemeriksaan darah. Pada pengamatan hematologi yang diamati meliputi jumlah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan diferensial leukosit.

#### 4.1.1 Jumlah Eritrosit

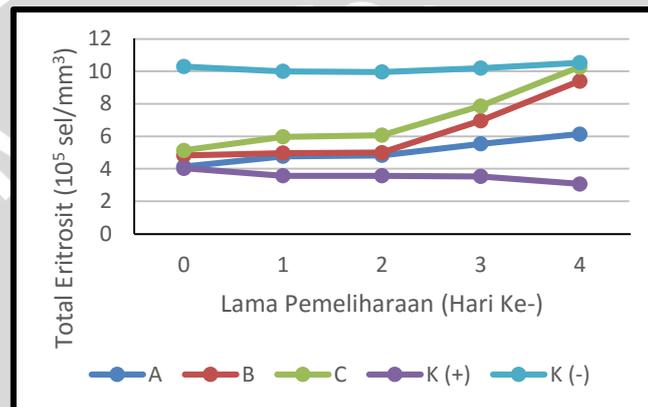
Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian (perhitungan eritrosit dapat dilihat pada Lampiran 6). Diperoleh hasil jumlah rata-rata eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Total Rata-rata Eritrosit ( $10^5$  sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Berdasarkan Gambar 9 diketahui total rata-rata eritrosit pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A ( $6,13 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>), perlakuan B ( $9,40 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>), dan perlakuan C dengan rata-rata tertinggi ( $10,27 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>). Sedangkan pada kontrol masing-masing didapatkan rata-rata K (+) ( $3,07 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>) dan K (-) ( $10,53 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>). Hasil rata-rata total eritrosit tersebut maka dapat diketahui bahwa perlakuan terbaik yaitu pada perlakuan C dengan dosis 700 ppm karena menghasilkan rata-rata tertinggi dari perlakuan yang lain. Hal tersebut dikarenakan pada pemberian ekstrak daun sembung dapat menghambat infeksi

dari bakteri *A. hydrophila* dikarenakan ekstrak tersebut memiliki kandungan senyawa aktif anti bakteri yaitu salah satunya minyak atsiri. Menurut Hasim (2003), kemampuan minyak atsiri disebabkan oleh senyawa fenol dan turunannya yang mampu mendenaturasi protein sel bakteri, sifat antibakteri minyak atsiri lebih efektif karena memiliki zona hambat lebih besar dan bersifat bakterisidal. Kemudian untuk mengetahui hubungan total rata-rata eritrosit harian dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Hubungan Total Rata-rata Harian Eritrosit ( $10^5$  sel/ $\text{mm}^3$ ) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Pada Gambar 10 menunjukkan rata-rata eritrosit harian ikan nila mengalami fluktuasi naik dan turun. Pada perlakuan A, B dan C kisaran eritrosit pasca infeksi (H-0) sampai hari ke- 2 pasca infeksi dan pengobatan menggunakan ekstrak daun sembung (H-2) relatif stabil, sedangkan kenaikan eritrosit terjadi pada hari ke 3 (H-3) dan hari ke- 4 (H-4). Pada kontrol terjadi kenaikan dan penurunan, untuk K (+) pada (H-0) sampai (H-3) penurunan tidak banyak terjadi, sedangkan pada (H-4) baru terjadi penurunan. Pada K (-) relatif stabil. Terjadinya kenaikan pada eritrosit dikarenakan keadaan ikan sudah mulai membaik sedangkan pada penurunan eritrosit diduga karena adanya serangan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Anderson (1991), bahwa bakteri *A. hydrophila* kemampuan untuk menghemolisis sel darah merah dalam sirkulasi. Terjadinya pendarahan lewat luka dari pembuluh darah

yang pecah menjadi penyebab ikan banyak kehilangan darah sehingga volume eritrosit ikut berkurang (Abdullah, 2008).

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berpengaruh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	28,51	14,25	16,60**	5,14	10,92
Acak	6	5,15	0,86			
Total	8	33,66				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

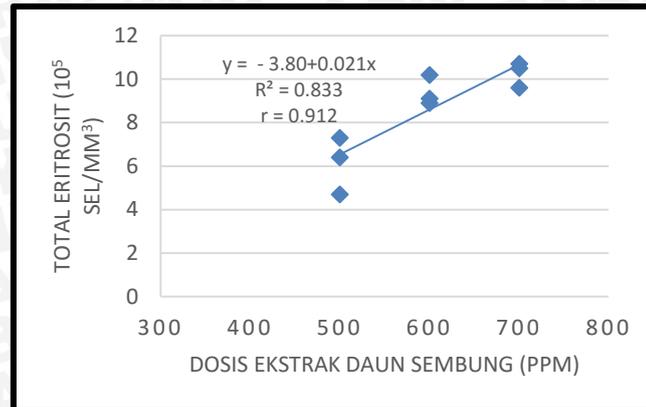
Perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung 16,60 lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini

**Tabel 4.** Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	A	B	C	Notasi
		6,13	9,40	10,27	
A	6,13	—	—	—	a
B	9,40	3,27**	—	—	b
C	10,27	4,13**	0,87 <sup>ns</sup>	—	b

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= tidak Berbeda Nyata

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polynomial orthogonal. Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak daun sembung terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik hubungan total eritrosit dengan dosis ekstrak daun sembung dapat dilihat pada Gambar 11.



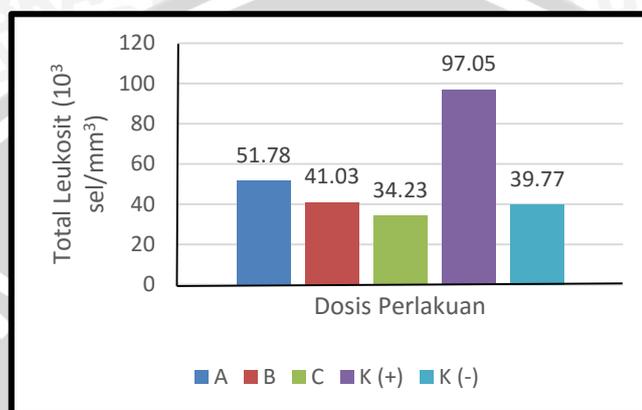
**Gambar 11.** Hubungan Total Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

Gambar 11 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut adalah linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah eritrositnya semakin meningkat. Hubungan antara pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang diberikan berbeda terhadap total eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) menunjukkan persamaan linier  $y = -3,80 + 0,021x$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,833 serta ( $r$ ) sebesar 0,912. Dilihat dari nilai koefisien determinasi yang mendekati nilai 100% disimpulkan bahwa dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total eritrosit memiliki hubungan nyata. Diketahui bahwa total eritrosit terendah pada perlakuan A (500 ppm) sedangkan total eritrosit tertinggi pada perlakuan C (700 ppm). Sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 700 ppm.

Jumlah eritrosit pada perlakuan C merupakan perlakuan yang jumlah eritrositnya paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya dan mendekati normal dengan nilai rata-rata  $10,27 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup>. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maftuch *et al* (2012), pada ikan yang normal, jumlah sel darah merah berkisar antara 1.050.000- 3.000.000 sel/mm<sup>3</sup> darah. Rendahnya jumlah sel darah merah (eritrosit) menandakan ikan dalam keadaan stress. Apabila jumlah eritrosit berkurang maka keadaan tersebut ada indikasi masuknya benda asing ke dalam tubuh.

#### 4.1.2 Jumlah Leukosit

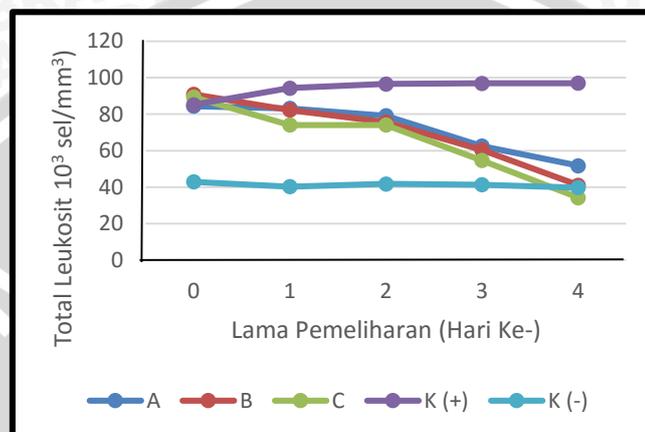
Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian (perhitungan leukosit dapat dilihat pada Lampiran 7). Diperoleh hasil jumlah rata-rata leukosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Total Rata-rata Leukosit ( $10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

Berdasarkan Gambar 12 diketahui total rata-rata leukosit pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A ( $51,78 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), perlakuan B ( $41,03 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>), dan perlakuan C dengan rata-rata terendah ( $34,23 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>). Sedangkan pada kontrol masing-masing didapatkan rata-rata K (+) ( $97,05 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>) dan K (-) ( $39,77 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup>). Pada rata-rata total leukosit terendah merupakan hasil terbaik yaitu perlakuan C dengan dosis 700 ppm. Leukosit merupakan bentuk pertahanan dari tubuh ikan hal tersebut terjadi jika terjadi infeksi. Menurut Moyle dan Cech (1988), leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh ikan yang bereaksi terhadap gangguan dari luar termasuk infeksi patogen. Peningkatan jumlah leukosit disebabkan oleh peningkatan jumlah limfosit, netrofil, monosit dan trombosit dalam darah ikan uji. Pada pemberian dosis ekstrak daun sembung terjadi penurunan jika dibandingkan dengan kontrol positif K (+) yang tidak menggunakan ekstrak, hal tersebut merupakan bukti bahwa ekstrak daun sembung memiliki zat antibakteri yang dapat menghambat dari infeksi bakteri

*A. hydrophila*. Salah satu kandungan senyawa aktif dari daun sembung adalah alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas antimikroba sehingga efektif membunuh bakteri dan virus dan bersifat detoksifikasi yang mampu menetralkan racun (Naim, 2004). Kemudian untuk mengetahui hubungan total rata-rata leukosit harian dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Hubungan Total Rata-rata Harian Leukosit ( $10^3$  sel/ $\text{mm}^3$ ) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Gambar 13 menunjukkan rata-rata leukosit harian ikan nila mengalami fluktuasi naik dan turun. Pada perlakuan A, B dan C terjadi penurunan dari (H-0) sampai (H-4). Pada kontrol terjadi kenaikan dan penurunan, untuk K (+) pada (H-1) terjadi kenaikan selanjutnya pada (H-2) sampai (H-4) kenaikan tidak banyak terjadi, sedangkan pada (H-4) baru terjadi penurunan. Pada K (-) relatif stabil. Terjadinya kenaikan pada leukosit merupakan bentuk pertahanan saat terjadinya infeksi pada ikan tersebut. Kandungan senyawa aktif pada ekstrak daun sembung seperti flavonoid yang bersifat antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan (Naim, 2004) senyawa tersebut bekerja dengan cara mengaktifkan sel pertahanan untuk berdiferensiasi (Alifuddin, 1999).

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berpengaruh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	469,81	234,90	16,47**	5,14	10,92
Acak	6	85,58	14,26			
Total	8	555,39				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

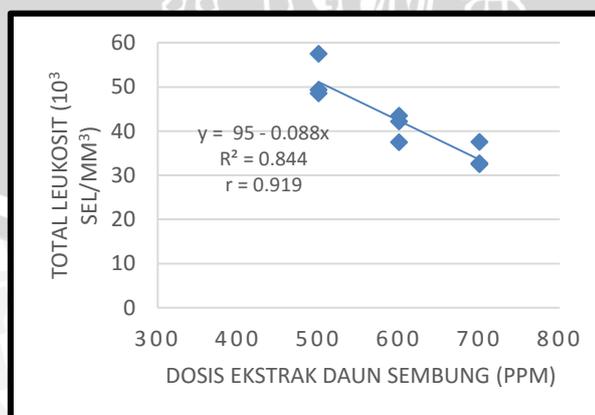
Perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung 16,47 lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah leukosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 6 berikut ini

**Tabel 6.** Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	C	B	A	Notasi
		34,23	41,03	51,78	
C	34,23	—			a
B	41,03	6,80 <sup>ns</sup>	—		a
A	51,78	17,55**	10,75*	—	b

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata, \* = Berbeda Nyata ns = tidak Berbeda Nyata

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polynomial orthogonal. Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak daun sembung terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 14.

**Gambar 14.** Hubungan Total Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)

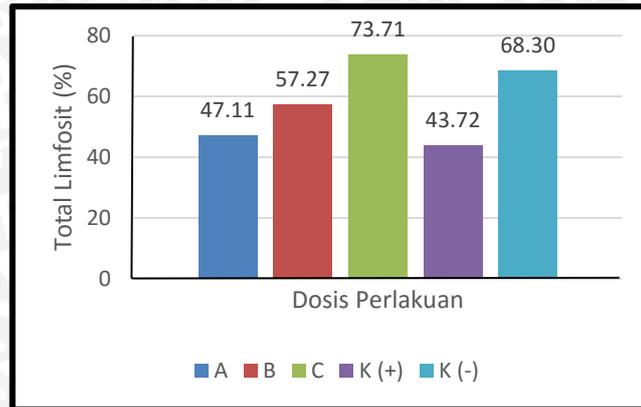
Gambar 14 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut adalah linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah leukositnya semakin menurun. Hubungan antara pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang diberikan berbeda terhadap total leukosit ikan nila (*O. niloticus*) menunjukkan persamaan linier  $y = 95 - 0,088x$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,844 serta koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,919. Dilihat dari nilai koefisien yang mendekati 100% disimpulkan bahwa dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total leukosit memiliki hubungan nyata. Diketahui bahwa total leukosit terendah pada perlakuan C (700 ppm) sedangkan total leukosit tertinggi pada perlakuan A (500 ppm). Sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 700 ppm.

Total leukosit paling tinggi yaitu pada perlakuan A dengan nilai rata-rata  $51,78 \times 10^3$  hal tersebut dikarenakan pada dosis 500 ppm daun sembung belum dapat mengobati ikan nila dari infeksi *A. hydrophila*. Sehingga pertahanan pada perlakuan A lebih kuat dan peningkatan jumlah leukosit juga bertambah banyak, sesuai dengan pernyataan Suhermanto *et al* (2013), perubahan jumlah total leukosit dapat dijadikan indikator adanya infeksi tertentu pada ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi.

#### 4.1.3 Jumlah Diferensial Leukosit

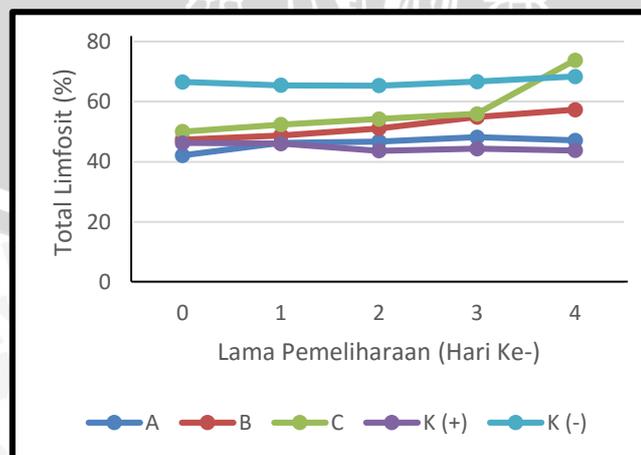
##### a. Limfosit

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian (perhitungan limfosit dapat dilihat pada Lampiran 8). Diperoleh hasil jumlah rata-rata limfosit ikan nila (*O. niloticus*) ditunjukkan pada Gambar 15.



**Gambar 15.** Total Rata-rata Limfosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Berdasarkan Gambar 15 diketahui total rata-rata limfosit pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A (47,11 %), perlakuan B (57,27 %) dan perlakuan C dengan rata-rata tertinggi (73,71 %). Semakin tinggi dosis yang diberikan menunjukkan hasil yang sangat tinggi, hal tersebut diduga infeksi sudah menurun dan juga terjadinya pembelahan sel limfosit oleh senyawa aktif. Menurut Abdullah (2008), limfosit merupakan sel yang berhubungan dengan antibodi, menurunnya konsentrasi akan menyebabkan meningkatnya penyakit dan saat terjadinya infeksi, sel limfosit tersebut disalurkan pada luka untuk menetralkan sehingga sel limfosit tersebut berkurang. Sedangkan pada kontrol masing-masing didapatkan rata-rata K (+) (43,72 %) dan K (-) (68,30 %). Kemudian untuk mengetahui hubungan total rata-rata limfosit harian dapat dilihat pada Gambar 16.



**Gambar 16.** Hubungan Total Rata-rata Harian Limfosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Gambar 16 menunjukkan rata-rata limfosit harian ikan nila mengalami fluktuasi naik dan turun. Pada perlakuan A terjadi kenaikan pada (H-1) dan pada hari selanjutnya relatif stabil, pada perlakuan B dan C terjadi kenaikan dari (H-1) sampai (H-4). Pada kontrol yaitu K (+) dan K (-) relatif stabil. Peningkatan dari limfosit diduga karena meningkatnya aktivitas pembelahan sel-sel limfosit, sel tersebut kemungkinan dirangsang oleh suatu senyawa aktif dalam ekstrak daun sembung dan juga adanya benda asing atau serangan dari bakteri patogen. Menurut Fujaya (2002), mekanisme respon seluler melalui produksi limfosit dalam jumlah besar yang secara khusus peka terhadap antigen asing sedangkan respon humoral melalui pembentukan antibodi untuk menyerang bakteri patogen dan produk toksin yang dihasilkannya.

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berpengaruh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1081,05	540,53	25,12**	5,14	10,92
Acak	6	129,10	21,52			
Total	8	1210,15				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

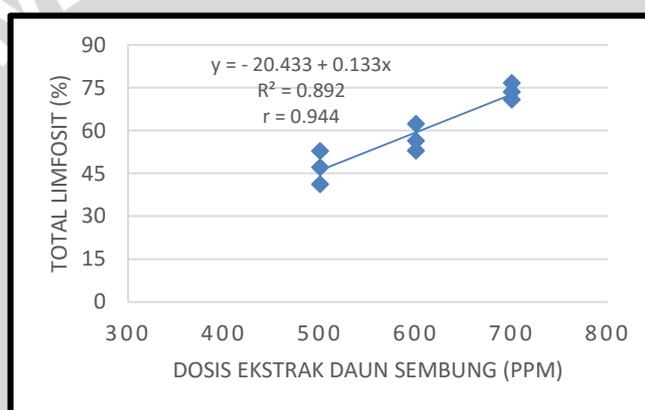
Perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung 25,12 lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah limfosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Tabel 8 berikut ini

**Tabel 8.** Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	A	B	C	Notasi
		47,11	57,27	73,71	
A	47,11	—			a
B	57,27	10,16*			b
C	73,71	26,60**	16,44**	—	c

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata, \* = Berbeda Nyata

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polynomial orthogonal. Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak daun sembung terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 17.



**Gambar 17.** Hubungan Total Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.).

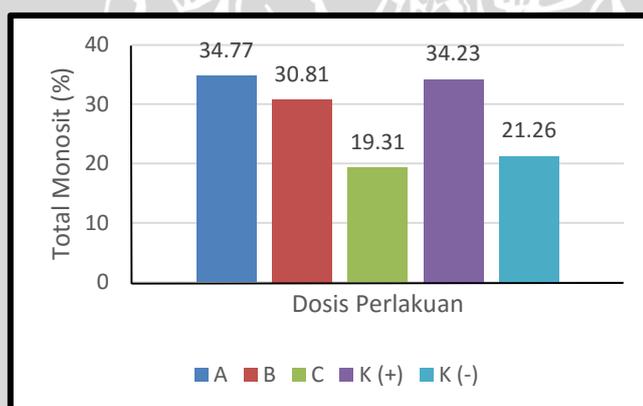
Gambar 17 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut adalah linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah limfositnya semakin meningkat. Hubungan antara pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang diberikan berbeda terhadap total limfosit ikan nila (*O. niloticus*) menunjukkan persamaan linier  $y = -20,433 + 0,133x$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,892 dan koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,944. Dilihat dari nilai koefisien yang mendekati nilai 100% disimpulkan bahwa dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total limfosit memiliki hubungan nyata. Diketahui bahwa total limfosit terendah pada perlakuan A (500 ppm) sedangkan total limfosit

tertinggi pada perlakuan C (700 ppm). Sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 700 ppm.

Total limfosit paling tinggi pada perlakuan C dengan nilai 73,71% nilai tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi perlakuan nilai limfosit juga semakin meningkat. Senyawa aktif dari daun sembung dapat meningkatkan pertahanan bagi ikan dan menjadi anti bakteri sehingga ikan dapat normal kembali. Ekstrak daun sembung mengandung flavonoid yang bersifat antimikroba, antiinflamasi dan antioksidan (Alifuddin, 1999).

#### b. Monosit

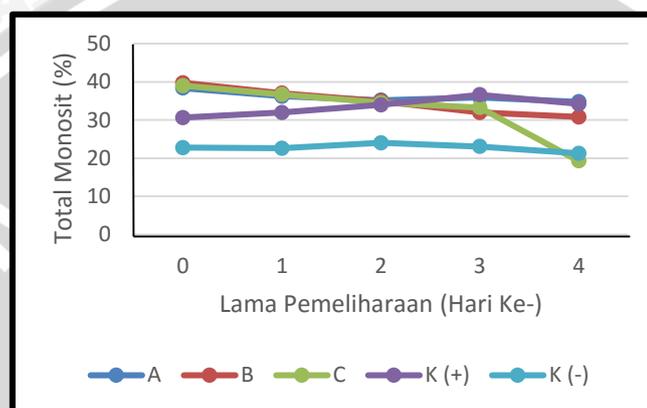
Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian (perhitungan monosit dapat dilihat pada Lampiran 9). Diperoleh hasil jumlah rata-rata monosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Gambar 18.



**Gambar 18.** Total Rata-rata Monosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Berdasarkan Gambar 18 diketahui total rata-rata monosit pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A (35,77 %), perlakuan B (30,81 %), dan perlakuan C dengan rata-rata terendah (19,31 %). Perlakuan C merupakan perlakuan terbaik pada penelitian ini karena nilai rata-rata terendah hal tersebut karena infeksi meredah dan kondisi ikan mulai membaik. Hal itu bisa terjadi karena pemberian ekstrak daun sembung yang mempunyai senyawa aktif flavonoid,

menurut Angka *et al* (2004), Flavonoid bersifat antiinflamasi sehingga dapat mengurangi peradangan serta membantu mengurangi rasa sakit bila terjadi pendarahan atau pembengkakan pada luka, bersifat antibakteri dan antioksidan. Sedangkan pada kontrol masing-masing didapatkan rata-rata K (+) (34,23 %) dan K (-) (21,26 %). Kemudian untuk mengetahui hubungan total rata-rata monosit harian dapat dilihat pada Gambar 19.



**Gambar 19.** Hubungan Total Rata-rata Harian Monosit (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Gambar 19 menunjukkan rata-rata monosit harian ikan nila mengalami fluktuasi naik dan turun. Pada perlakuan A terjadi kenaikan pada (H-3) selain itu terjadi penurunan, sedangkan perlakuan B dan C terjadi penurunan dari (H-0) sampai (H-4). Pada kontrol terjadi kenaikan dan penurunan, untuk K (+) terjadi kenaikan selanjutnya sampai pada (H-3) dan penurunan pada (H-4), sedangkan K (-) terjadi kenaikan pada (H-3) selain itu terjadi penurunan. Kenaikan yang terjadi pada monosit diduga karena adanya serangan dari luar yaitu oleh bakteri *A. hydrophila*. Penurunan monosit juga diduga karena kondisi ikan semakin membaik dengan menurunnya jumlah infeksi, menurut Moyle dan Cech (1998), monosit berfungsi sebagai fagosit terhadap benda-benda asing, termasuk agen penyakit.

Kemudian untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar daun sembung terhadap jumlah monosit, maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) dilihat pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	387,22	193,61	15,63**	5,14	10,92
Acak	6	74,34	12,39			
Total	8	461,57				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

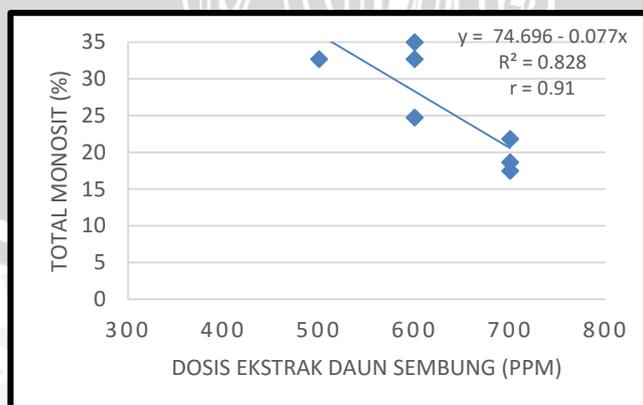
Perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung 15,63 lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah monosit ikan nila. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10 berikut ini

**Tabel 10.** Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan	C	B	A	Notasi
		19,31	30,81	34,77	
C	19,31	—			a
B	30,81	11,50**	—		b
A	34,77	15,47**	3,97 <sup>ns</sup>	—	b

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns = tidak Berbeda Nyata

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polynomial orthogonal. Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak daun sembung terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi dapat dilihat pada Gambar 20.



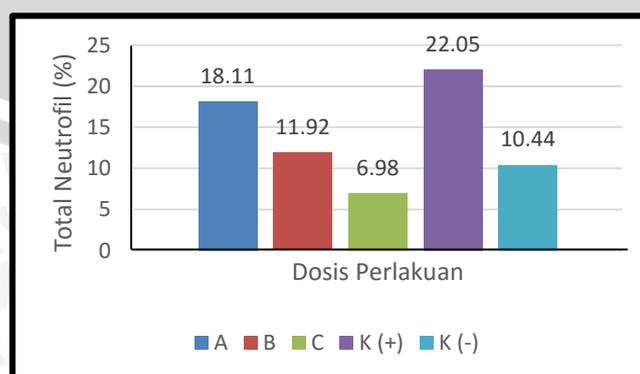
**Gambar 20.** Hubungan Total Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.).

Gambar 20 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut adalah linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah monositnya semakin menurun. Hubungan antara pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang diberikan berbeda terhadap total monosit ikan nila (*O. niloticus*) menunjukkan persamaan linier  $y=74,696-0,077x$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,828 serta koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,91. Diketahui bahwa total monosit terendah pada perlakuan C (700 ppm) sedangkan total monosit tertinggi pada perlakuan A (500 ppm). Sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 700 ppm.

Pada perlakuan A didapatkan hasil total monosit tertinggi yaitu 34,77 nilai tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis nilai monositnya semakin menurun hal ini dikarenakan dosis perlakuan A belum dapat mengobati infeksi dari *A. hydrophila* hal tersebut sesuai pernyataan Nuryati *et al* (2007), jenis sel darah putih yang bekerja untuk melawan infeksi awal adalah monosit yang akan berdiferensiasi menjadi sel fagositik.

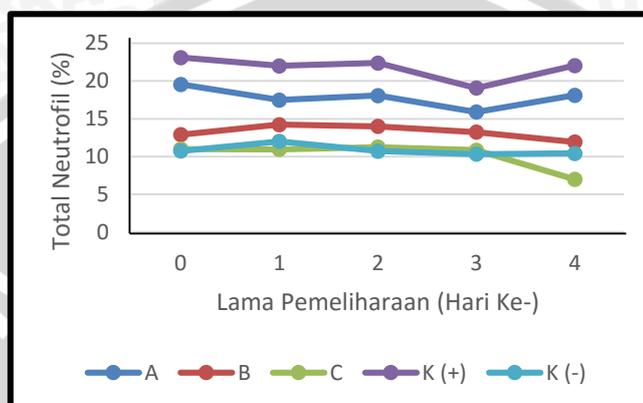
### c. Neutrofil

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh hasil jumlah rata-rata neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Gambar 21.



**Gambar 21.** Total Rata-rata Neutrofil (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Berdasarkan Gambar 21 diketahui total rata-rata neutrofil pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan A (18,11 %), perlakuan B (11,92 %), dan perlakuan C dengan rata-rata terendah (6,98 %). Sedangkan pada kontrol masing-masing didapatkan rata-rata K (+) (22,05 %) dan K (-) (10,44 %). Kemudian untuk mengetahui total rata-rata neutrofil harian dapat dilihat pada Gambar 22.



**Gambar 22.** Hubungan Total Rata-rata Harian Neutrofil (%) Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian.

Gambar 22 menunjukkan rata-rata neutrofil harian ikan nila mengalami fluktuasi naik dan turun. Pada perlakuan A terjadi penurunan pada (H-1) dan (H-2) terjadi kenaikan pada (H-2) dan (H-4), untuk perlakuan B relatif stabil sedangkan pada perlakuan C stabil sampai (H-3) dan terjadi penurunan di (H-4). Pada kontrol terjadi kenaikan dan penurunan, untuk K (+) terjadi penurunan dan kenaikan pada (H-3) dan (H-4), sedangkan K (-) terjadi kenaikan pada (H-1) dan selanjutnya (H-2) sampai (H-4) terjadi penurunan. Terjadinya penurunan karena ikan mengalami penyembuhan dan menurunnya gejala klinis infeksi sedangkan peningkatan terjadi karena adanya infeksi sebagai pertahanan dari ikan hal tersebut sesuai dengan pendapat Dellman dan Brown (1989), pada saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, hal ini disebabkan limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi.

Kemudian untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC) berpengaruh terhadap jumlah neutrofil ikan nila

(*O. niloticus*), maka perlu dilakukan analisis sidik ragam. Analisis sidik ragam jumlah neutrofil ikan nila nila (*O. niloticus*) dilihat pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	186,70	93,35	13,24**	5,14	10,92
Acak	6	42,29	7,05			
Total	8	228,99				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

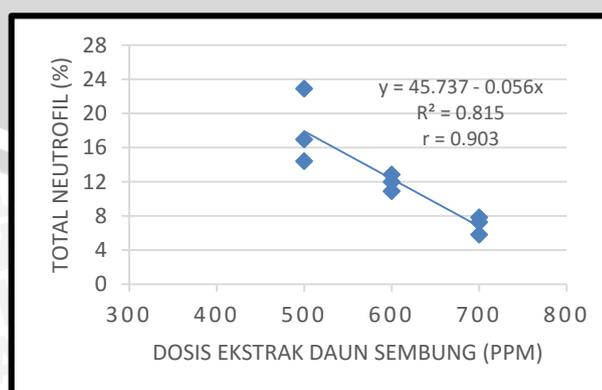
Perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung 13,24 lebih besar dari F tabel 1%. Hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah neutrofil ikan nila. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 12

**Tabel 12.** Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rataan				Notasi
		C	B	A	
		6,98	11,92	18,11	
C	6,98	—			a
B	11,92	4,94 <sup>ns</sup>	—		a
A	18,11	11,13**	6,19*	—	b

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata, \* = Berbeda Nyata, ns = tidak Berbeda Nyata

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji. Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak daun sembung terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi dapat dilihat pada Gambar 23.



**Gambar 23.** Hubungan Total Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Dosis Ekstrak Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.).

Grafik pada gambar 23 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah neutrofilnya semakin menurun. Hubungan antara pemberian ekstrak daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang diberikan berbeda terhadap total neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) menunjukkan persamaan linier  $y=45,737-0,056x$  dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,815 serta koefisien korelasi ( $r$ ) sebesar 0,903. Diketahui bahwa total neutrofil terendah pada perlakuan C (700 ppm) sedangkan total neutrofil tertinggi pada perlakuan A (500 ppm). Sehingga disimpulkan bahwa dosis terbaik yang dapat meningkatkan kesehatan ikan uji dalam penelitian ini yaitu 700 ppm.

Pada ikan uji didapatkan hasil neutrofil tertinggi yaitu pada perlakuan A dengan nilai 18,11% karena pada perlakuan A masih terjadi infeksi oleh bakteri *A. hydrophila* sehingga pada dosis perlakuan A masih belum dapat mengobati ikan uji yang di infeksi bakteri tersebut hal tersebut sesuai pendapat Nuryati *et al* (2007), jumlah neutrofil cenderung mengalami kenaikan dikarenakan adanya infeksi, meskipun yang berperan penting ketika terjadi infeksi virus adalah limfosit, akan tetapi neutrofil dianggap sebagai sistem pertahanan utama karena mampu bergerak lebih cepat ke benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan dan dapat menghancurkannya dengan segera.

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

Pada masa pemeliharaan selama 4 hari, gejala klinis terlihat dari ikan yang dipelihara diantaranya adalah ikan pada kontrol negative K (-) ikan masih terlihat sehat dan tidak menampilkan gejala klinis yang nyata, tetapi pada kontrol K (+) terdapat pendarahan, bercak merah, mata terlihat pucat serta terjadi kematian. Pada perlakuan A terlihat mata pucat dan sisik terlepas serta terjadi kematian. Pada perlakuan B sisik terlepas dan mata pucat. Sedangkan perlakuan C ikan sudah mulai aktif bergerak dan respon pakan sudah membaik.

### 4.3 Kualitas Air Selama Penelitian

Dalam penelitian ini kualitas air merupakan parameter penunjang yang perlu diamati setiap harinya dalam penelitian. Parameter kualitas air yang diukur selama penelitian meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Kualitas air merupakan salah satu faktor yang memegang peranan penting dalam kegiatan penelitian karena digunakan sebagai media hidup ikan yang diteliti. Pengukuran kualitas air dilakukan pada pagi dan sore setiap hari selama penelitian. Data pengukuran parameter kualitas air ditunjukkan pada Lampiran 11.

#### 4.3.1 Suhu

Suhu merupakan faktor fisika dalam kualitas air yang sangat penting bagi kehidupan organisme perairan karena suhu mempengaruhi baik aktivitas dan metabolismenya. Jika pada perairan tersebut suhunya optimal atau suhu yang dibutuhkan oleh spesies ikan tersebut maka pertumbuhan dan perkembangan ikan akan terjadi dengan baik. Bila suhu perairan rendah ikan akan kehilangan nafsu makan sehingga pertumbuhannya terhambat. Selama penelitian didapatkan nilai suhu pada media pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus*) yaitu berkisar antara 26,4-29,4°C.

Menurut Mandau dan Sudarty (2011), suhu air yang baik untuk pemeliharaan dan pertumbuhan ikan ini berkisar 20-30<sup>0</sup> C. Suhu optimal pemeliharaan ikan nila gift secara intensif adalah 14-38<sup>0</sup> C, suhu diluar batas akan mengurangi selera makan.

#### 4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH biasanya digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. pH dinyatakan dengan ukuran konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan keasaman atau kebasaan dari suatu zat. Ukuran nilai pH mulai dari 1 sampai 14. Nilai pH bisa dikatakan larutan asam jika kurang dari 7 dan dapat dikatakan larutan basa jika nilai pH lebih dari 7

sedangkan nilai netral yaitu pH = 7. Selama penelitian didapatkan nilai pH pada media pemeliharaan ikan nila (*O. niloticus*) yaitu berkisar antara 6,7-8,1.

Menurut Kordi (2010), pada pH yang rendah kandungan oksigen terlarut akan berkurang, sebagai akibatnya konsumsi oksigen akan menurun, aktivitas pernafasan naik dan selera makan akan berkurang. Usaha budidaya ikan akan berhasil baik jika dalam air pH 6,5-9,0 sedangkan selera makan tertinggi pada pH 7,5-8,5.

#### 4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) merupakan parameter penting di dalam kualitas air nilai DO biasanya diukur dalam bentuk konsentrasi yang menunjukkan jumlah oksigen yang ada di perairan. Semakin tinggi nilai oksigen pada perairan tersebut maka perairan tersebut kualitas airnya baik. Oksigen terlarut selama penelitian adalah 4,9-8,7 mg/L.

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), ikan membutuhkan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas, seperti berenang, pertumbuhan, reproduksi dan sebagainya. Kandungan oksigen minimum yang dapat diterima sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm dan lebih baik 7 ppm.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian tentang “Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” diperoleh kesimpulan bahwa pemberian ekstrak kasar daun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap gambaran hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Dosis yang paling baik dalam penelitian ini adalah perlakuan C (700 ppm) karena dilihat dari jumlah total rata-rata eritrosit (sel darah merah) paling tinggi dengan nilai  $10,27 \times 10^5$  sel/mm<sup>3</sup> dan jumlah total leukosit (sel darah putih) dengan nilai rata-rata terendah yaitu  $34,23 \times 10^3$  sel/mm<sup>3</sup> serta diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil) dengan masing-masing nilai yaitu limfosit dengan nilai 73,71%, monosit 19,31% dan neutrofil sebesar 6,98% dapat dikatakan hasil tersebut memiliki nilai yang mendekati ikan yang normal.

### 5.2 Saran

Saran yang diberikan berdasarkan penelitian ini adalah didapatkan hasil pada perlakuan dosis 700 ppm mendapatkan hasil yang terbaik diantara dosis 500 ppm dan 600 ppm tetapi belum didapatkan dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak. Sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasardaun sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.) untuk pengobatan ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abi, T. A., L. F. Yeni dan M. A. Nurdini. 2013. Penyusunan Perangkat Pembelajaran Peranan Bakteri Berdasarkan Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sembung Terhadap *E. coli*. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Untan.
- Abdullah, Y. 2008. Efektivitas Ekstrak Daun Paci-Paci *Leucas Lavandulaefolia* Untuk Pencegahan Dan Pengobatan Infeksi Penyakit Mas Motile Aeromonad Septicaemia Ditinjau Dari Patologi Makro Dan Hematologi Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Afrianto, E., E. Liviawaty., Z. Jamaris dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta. 220 hlm.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty.1992. Pengendalian Hama dan Penyakit ikan. Kanisius. Yogyakarta. 20 hlm.
- Alamanda, I. E, N. S. Handajani dan A. Budiharjo. 2007. Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah Untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepienus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas*. **8**(1): 34-36.
- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, Saccharomyces Cerevisiae dan Levamisol) Pada Gambaran Respon Imunitas Ikan Jambal Siam Pangasius Hypophthalmus Fowler. Tesis. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anderson, P. S. 1991. Patofisiologi, Konsep Klinik Proses – Proses Penyakit. ECG. Jakarta. 645 hlm.
- Anderson, D. P and A. K. Swicki. 1995. Basic Hematology And Serology For Fish Health Program In Diseases In Asia Aquaculture II. *J. Asian Fisheries Society*. 185-202.
- Badan POM RI. 2008. Direktorat Obat Asli Indonesia. hal 15.
- Bijanti, R., M. G. A. Yuliani., R. S. Wahjuni dan R. B. Utomo. 2010. Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner. Universitas Airlangga. Surabaya. 105 hlm.
- Cahyono, B. 2000. Budidaya Ikan Air Tawar Ikan Gurami, Ikan Nila dan Ikan Mas. Kanisius. Yogyakarta. 207 hlm.
- Chinabut, S., C. Limsuwan dan P. K. Sawat. 1991. Histology of The Walking Catfish *Clarias batrachus*. Department of Fisheries. Thailand. 96 hlm.
- Dellman, H. D. dan E. M. Brown. 1989. Buku Teks Histologi Veteriner I. UI Press, Jakarta.

- Dopongtonung, A. 2008. Gambaran Darah Ikan Lele (*Clarias spp*) yang Berasal Dari Daerah Lalaladon-Bogor. Skripsi. IPB. 56 hlm.
- Fujaya, Y. 2008. Fisiologi Ikan. Rineka Cipta: Jakarta. 179 hlm
- Hasim D. 2003. Daun Sirih sebagai Antibakteri Pasta Gigi. <http://kompas.com/kompas-cetak/0309/24>. Diakses 18 maret 2016.
- Haryani, A., R, Grandiosa., I. D. Buwono dan A, Santika. 2012. Uji Efektivitas Daun Papaya (*Carica Papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki (*Carrasius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.
- Hernawati, R. D., Triyanto dan Murwantoko. 2013. Studi Pengaruh Karboksimetil Kitosan Terhadap Sistem Pertahanan Tubuh Non-spesifik pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Sain Veteriner*. **31**(1): 66-78.
- Hut, C.F. 2012. Daun Sembung. <http://ciuniankfhe919.wordpress.com>. Diakses 15 Desember 2015.
- Katno, S., Haryanti dan A. Triyono. 2009. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba *E. Coli*, *S. aureus* dan *C. albicans*. *Jurnal Tanaman Obat Tradisional*. **2**(1): 33-36.
- Khairuman dan Amri. 2011. 2,5 Bulan Panen Ikan Nila Dengan Monosex Culture dan Jantanisasi Benih. Agromedia Pustaka. Jakarta. 202 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2010. Budidaya Ikan Nila Kolam Terpal. Lily Publisher. Yogyakarta. 112 hlm.
- \_\_\_\_\_. 2010. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. PT Rineka Cipta dan Bina Adikasa. Jakarta. 190 hlm
- Maftuch., H. Nursiyam. dan Sukarni. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Hematologi Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp. Life Sci*. **2**(2): 65-69.
- Maftuch., M. A. Adam., V. Hasan., E. Sanoesi., S. Andayani dan Marsoedi. 2013. Pengaruh Pemberian Imunostimulan Ekstrak Kasar *Gracilaria Verrucosa* Terhadap Respon Seluler Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Pasca diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Konferensi Akuakultur Indonesia. 367-372.
- Mandau, Z. dan Sudarty. 2011. Buku Terlengkap Pembenuhan Ikan Mas yang Efektif dan Efisien. Pustaka Mina. Jakarta. 63 hlm
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Moyle, P. B. and J. J. Cech. 1988. Fishes An Introduction to Ichthyology. Second Edition. New Jersey: Prentice Hall.
- Mudjiman, A. 1986. Budidaya Ikan Di Sawah Tambak. Simplek. Jakarta.

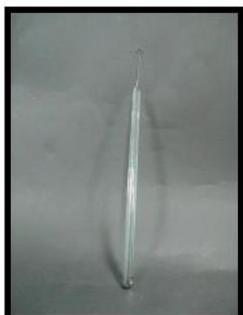
- Mundriyanto, H., P. Taufik dan Taukhid. 2002. Respon Histologis Tubuh Kodok (*Rana catesbeiana*) Terhadap Infeksi Bakteri Patogen dan Potensi *Saccheromyces cerevisiae* sebagai Immunostimulan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. **8**(3): 55-63.
- Naim R. 2004. Senyawa Antimikroba dari Tanaman. [http://kompas.com/kompas\\_cetak/0409/15.htm](http://kompas.com/kompas_cetak/0409/15.htm). Diakses 18 Maret 2016.
- Nugroho, 2012. Optimasi Formula Tablet Kunyah Ekstrak Daun Sembung (*Blumea Balsamifera* (L.) Dc) Menggunakan Bahan Campuran Manitol – Laktosa Secara Simplex Lattice Design. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Surakarta.
- Nuryati, S., D. Puspitaningtyas dan D. Wahjuningrum. 2007. Potensi Ekstrak Bawang Putih *Allium Sativum* Untuk Menginaktifasi Koi Herpesvirus (Khv) Pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **6**(2): 147–154.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Ruhimat, Undang. 2015. Daya Hambat Infusum Daun Sembung (*Blumea balsamifera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. **13**(1): 142-148.
- Rustidja. 1996. Pola Warna dan Genetik Ikan Nila. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 83 hlm.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. Sintesis Bahan Alami. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Suhermanto, A; S. Andayani dan Maftuch. 2011. Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Untuk Meningkatkan Leukosit dan Deferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. **4**(2): 49-56.
- Sukenda; L. Jamal; D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan Untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7**(2): 159-169.
- Surachmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penerbit Tarsito. Bandung. 106 hlm.
- Vonti, Ornella. 2008. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) Strain Sinyonya yang Berasal dari Daerah Ciampea-Bogor. Skripsi. IPB. Bogor.

### LAMPIRAN

#### Lampiran 1. Alat Penelitian yang Digunakan



Tabung Reaksi



Jarum Ose



Erlenmeyer 250 ml



Gelas Ukur



Oven



Autoclave



Kulkas



Spuit



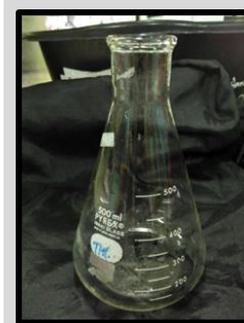
Timbangan Digital



Timbangan Analitik



Inkubator



Erlenmeyer 500 ml



Hotplate



Vortex mixer



Laminary Air Flow



Bunsen

Lampiran 1. (Lanjutan)



Mikroskop



Aerator



Heater



pH meter



DO meter



Spatula



Sprayer



Seser



Eppendorf



Haemocytometer



Rak Eppendorf



Handtally counter



Lampiran 2. Bahan Penelitian yang Digunakan



Ikan Nila



Daun Sembung



*A. hydrophila*



Plate Count Agar



Nutrient Broth



NaCl PA



Aluminium foil



Spiritus



Plastik wrap



Sarung Tangan



Masker



Kertas Label



Alkohol 70%



Aquades



Alkohol 96%



Benang kasur dan kapas

Lampiran 2. (Lanjutan)



Na-sitrat 3,8%



Giemsa



Metanol



Turk



Hayem

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 3. Proses Ekstraksi Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)



Penyaringan Daun Sembung



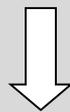
Daun Sembung di Maserasi selama 48 jam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 3



Proses evaporasi dilakukan dengan suhu 50°C dan kecepatan 90 rpm dengan *Vaccum*



Proses Evaporasi



Ekstrak Kasar Daun Sembung

Lampiran 4. Hasil Uji Biokimia *A. hydrophilla*



**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU  
LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA**

Alamat surat: PO Box 1 Jepara , Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418  
Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724  
Email : bbbapjpr@rad.net.id Website : udang-bbbap.com

**HASIL UJI BIOKIMIA**

Uji Bio Kimia	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H <sub>2</sub> S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelia



Sri Musti Astuti, SP.



### Lampiran 5. Pengenceran Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri yang diinginkan pada saat penelitian adalah  $10^7$

Maka dilakukan perhitungan bakteri dengan cara sebagai berikut:

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

Keterangan :

$N_1$  : kepadatan bakteri awal (sel/ml)

$V_1$  : volume bakteri yang tersuspensi

$N_2$  : kepadatan bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

$V_2$  : volume bakteri yang diinginkan

Contoh perhitungan:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times (6 \times 10^8) &= 20.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{6 \times 10^8} \\ &= 333,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi untuk membentuk bakteri dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml dalam 20.000

L air dibutuhkan 333,3 ml volume bakteri yang diinginkan.

### Lampiran 6. Perhitungan Eritrosit

- Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	6,40	7,30	4,70	18,40	6,13	1,32
B	9,10	8,90	10,20	28,20	9,40	0,70
C	10,70	10,50	9,60	30,80	10,27	0,59

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 6,40+7,30+4,70 \\ &= 18,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata A} &= 18,40 / 3 \\ &= 6,13 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 9,10+8,90+10,20 \\ &= 28,20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata B} &= 28,20 / 3 \\ &= 9,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 10,70+10,50+9,60 \\ &= 30,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata C} &= 30,80 / 3 \\ &= 10,27 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam dengan Uji F Tabel pada Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	28,51	14,25	16,60**	5,14	10,92
Acak	6	5,15	0,86			
Total	8	33,66				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan Sidik Ragam:

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{5990,76^2}{9} \\ &= 665,64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} &= \sum xi^2 - FK \\ &= (A1^2+ A2^2+A3^2+...+ C3^2) - FK \\ &= (6,40+7,30+4,70+...+9,60) - 665,64 \\ &= 33,66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(TA^2+TB^2+TC^2)}{r} - FK \end{aligned}$$

## Lampiran 6. (Lanjutan)

$$= \frac{(18,40^2 + 28,20^2 + 30,80^2)}{3} - 665,64$$

$$= 28,51$$

$$4. \text{ JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 33,66 - 28,51$$

$$= 5,15$$

$$5. \text{ Kt Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}}$$

$$= \frac{28,51}{2}$$

$$= 14,25$$

$$6. \text{ Kt Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}}$$

$$= \frac{5,15}{6}$$

$$= 0,86$$

$$7. \text{ F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}}$$

$$= \frac{14,25}{0,86}$$

$$= 16,60$$

– Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Rataan	A	B	C	Notasi
		6,13	9,40	10,27	
A	6,13	–			a
B	9,40	3,27**	–		b
C	10,27	4,13**	0,87 <sup>ns</sup>	–	b

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns = Tidak Berbeda nyata

- Menghitung Nilai BNT

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times 0,86}{3}} = 0,757$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,447 \times 0,757 = 1,852$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,707 \times 0,757 = 2,805$$

**Lampiran 6. (Lanjutan)**

– Tabel Uji Polinomial Orthogonal.

Polinomial Orthogonal	Data(Ti)	Perbandingan Ci	
		Linear	Kuadratik
A	18,40	-1	1
B	28,20	0	-2
C	30,80	1	1
Q		12,40	-7,20
Kr		6	18
JK		25,63	2,88

• Perhitungan Q

Linear =  $\sum Ti \times Ci$   
 =  $(18,40 \times (-1)) + (28,20 \times (0)) + (30,80 \times (1))$   
 = 12,40

Kuadratik =  $\sum Ti \times Ci$   
 =  $(18,40 \times (1)) + (28,20 \times (-2)) + (30,80 \times (1))$   
 = -7,20

• Perhitungan Kr

Linear =  $(\sum Ci)^2 \times \text{ulangan}$   
 =  $2 \times 3$   
 = 6

Kuadratik =  $(\sum Ci)^2 \times \text{ulangan}$   
 =  $6 \times 3$   
 = 18

• Perhitungan JK

Linear =  $\frac{12,40^2}{6}$   
 = 25,63

Kuadratik =  $\frac{-7,20^2}{18}$   
 = 2,88

– Tabel Sidik Ragam Regresi Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	28,51	-	-	-	-
Linier	1	25,63	25,63	29,84**	5,99	13,75
Kuadratik	1	2,88	2,88	3,35 <sup>ns</sup>	5,99	13,75
Acak	6	5,15	0,86	-	-	-
Total	8					

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata

### Lampiran 7. Perhitungan Leukosit

- Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	49,35	48,50	57,50	155,35	51,78	4,97
B	43,50	42,15	37,45	123,10	41,03	3,18
C	32,70	37,50	32,50	102,70	34,23	2,83

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 49,35+48,50+57,50 \\ &= 155,35 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata A} &= 155,35 / 3 \\ &= 51,78 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 43,50+42,15+37,45 \\ &= 123,10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata B} &= 123,10 / 3 \\ &= 41,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 32,70+37,50+32,50 \\ &= 102,70 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata C} &= 102,70 / 3 \\ &= 34,23 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam dengan Uji F Tabel pada Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	469,81	234,90	16,47**	5,14	10,92
Acak	6	85,58	14,26			
Total	8	555,39				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan Sidik Ragam:

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{145275,32^2}{9} \\ &= 16141,70 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} &= \sum x_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - \text{FK} \\ &= (49,35^2 + 48,50^2 + 57,50^2 + \dots + 32,50^2) - 16141,70 \\ &= 555,39 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum x_i)^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - \text{FK} \end{aligned}$$

Lampiran 7. (Lanjutan)

$$= \frac{(155,35^2 + 123,10^2 + 102,70^2)}{3} - 16141,70$$

$$= 469,81$$

4. JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 555,39 - 469,81$$

$$= 85,58$$

5. Kt Perlakuan =  $\frac{JK\ Perlakuan}{db\ Perlakuan}$

$$= \frac{469,81}{2}$$

$$= 234,90$$

6. Kt Acak =  $\frac{JK\ Acak}{db\ Acak}$

$$= \frac{85,58}{6}$$

$$= 14,26$$

7. F Hitung =  $\frac{KT\ Perlakuan}{KT\ Acak}$

$$= \frac{234,90}{14,26}$$

$$= 16,47$$

– Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Rataan	C	B	A	Notasi
		34,23	41,03	51,78	
C	34,23	–			a
B	41,03	6,80 <sup>ns</sup>	–		a
A	51,78	17,55 <sup>**</sup>	10,75 <sup>*</sup>	–	b

Keterangan : \* = Berbeda Nyata, \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata

- Menghitung Nilai BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 14,26}{3}} = 3,084$$

$$BNT\ 5\% = t\ tabel\ 5\% (db\ acak) \times SED = 2,447 \times 3,084 = 7,545$$

$$BNT\ 1\% = t\ tabel\ 1\% (db\ acak) \times SED = 3,707 \times 3,084 = 11,432$$

**Lampiran 7. (Lanjutan)**

– Tabel Uji Polinomial Orthogonal.

Polinomial Orthogonal	Data(Ti)	Perbandingan Ci	
		Linear	Kuadratik
A	155,35	-1	1
B	123,10	0	-2
C	102,70	1	1
Q		-52,65	11,85
Kr		6	18
JK		462,00	7,80

• Perhitungan Q

Linear =  $\sum Ti \times Ci$   
 =  $(155,35 \times (-1)) + (123,10 \times (0)) + (102,70 \times (1))$   
 = -52,65

Kuadratik =  $\sum Ti \times Ci$   
 =  $(155,35 \times (1)) + (123,10 \times (-2)) + (102,70 \times (1))$   
 = 11,85

• Perhitungan Kr

Linear =  $(\sum Ci)^2 \times \Gamma_{ulangan}$   
 =  $2 \times 3$   
 = 6

Kuadratik =  $(\sum Ci)^2 \times \Gamma_{ulangan}$   
 =  $6 \times 3$   
 = 18

• Perhitungan JK

Linear =  $\frac{-52,65^2}{6}$   
 = 462,00

Kuadratik =  $\frac{11,85^2}{18}$   
 = 7,80

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

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	469,81	-	-	-	-
Linier	1	462,00	462,00	32,39**	5,99	13,75
Kuadratik	1	7,80	7,80	0,55 <sup>ns</sup>	5,99	13,75
Acak	6	85,58	14,26	-	-	-
Total	8					

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata



**Lampiran 8.** Perhitungan Limfosit

- Perhitungan Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	47,17	41,28	52,88	141,34	47,11	5,80
B	56,44	62,38	53,00	171,81	57,27	4,74
C	73,53	70,91	76,70	221,14	73,71	2,90

Total A = 47,17+41,28+52,88  
= 141,34

Rata-rata A = 141,34 / 3  
= 47,11

Total B = 56,44+62,38+53,00  
= 171,81

Rata-rata B = 171,81 / 3  
= 57,27

Total C = 73,53+70,91+76,70  
= 221,14

Rata-rata C = 221,14 / 3  
= 73,71

- Analisa Sidik Ragam dengan Uji F Tabel pada Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1081,05	540,53	25,12**	5,14	10,92
Acak	6	129,10	21,52			
Total	8	1210,15				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan Sidik Ragam:

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{285463,93^2}{9}$$

$$= 31718,21$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} = \sum xi^2 - FK$$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK$$

$$= (47,17 + 41,28 + 52,88 + \dots + 76,70) - 31718,21$$

$$= 1210,15$$

$$3. \text{ JK Perlakuan} = \frac{\sum (\sum xi)^2}{r} - FK$$

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

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$= \frac{(141,34^2 + 171,81^2 + 221,14^2)}{3} - 16141,70$$

$$= 1081,05$$

4. JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1210,15 - 1081,05$$

$$= 129,10$$

5. Kt Perlakuan

$$= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}}$$

$$= \frac{1081,05}{2}$$

$$= 540,53$$

6. Kt Acak

$$= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}}$$

$$= \frac{129,10}{6}$$

$$= 21,52$$

7. F Hitung

$$= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}}$$

$$= \frac{540,53}{21,52}$$

$$= 25,12$$

– Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Rataan	A	B	C	Notasi
		47,11	57,27	73,71	
A	47,11	–			a
B	57,27	10,16*	–		b
C	73,71	26,60**	16,44**	–	c

Keterangan : \* = Berbeda nyata, \*\* = Berbeda Sangat Nyata

- Menghitung Nilai BNT

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times 21,52}{3}} = 3,787$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,447 \times 3,787 = 9,268$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,707 \times 3,787 = 14,042$$



**Lampiran 8. (Lanjutan)**

– Tabel Uji Polinomial Orthogonal.

Polinomial Orthogonal	Data(Ti)	Perbandingan Ci	
		Linear	Kuadratik
A	141,34	-1	1
B	171,81	0	-2
C	221,14	1	1
Q		79,80	18,85
Kr		6	18
JK		1061,31	19,75

• Perhitungan Q

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (141,34 \times (-1)) + (171,81 \times (0)) + (221,14 \times (1)) \\ &= 79,80 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (141,34 \times (1)) + (171,81 \times (-2)) + (221,14 \times (1)) \\ &= 18,85 \end{aligned}$$

• Perhitungan Kr

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 2 \times 3 \\ &= 6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 6 \times 3 \\ &= 18 \end{aligned}$$

• Perhitungan JK

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \frac{-79,80^2}{6} \\ &= 1061,31 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \frac{18,85^2}{18} \\ &= 19,75 \end{aligned}$$

– Tabel Sidik Ragam Regresi Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1081,05	-	-	-	-
Linier	1	1061,31	1061,31	49,32**	5,99	13,75
Kuadratik	1	19,75	19,75	0,92 <sup>ns</sup>	5,99	13,75
Acak	6	129,10	21,52	-	-	-
Total	8					

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata

### Lampiran 9. Perhitungan Monosit

- Perhitungan Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	35,85	35,78	32,69	104,32	34,77	1,80
B	32,67	24,75	35,00	92,43	30,81	5,37
C	18,63	21,82	17,48	57,92	19,31	2,25

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 35,85+35,78+32,69 \\ &= 104,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata A} &= 104,32 / 3 \\ &= 34,77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 32,67+24,75+35,00 \\ &= 92,43 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata B} &= 92,43 / 3 \\ &= 30,81 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 18,63+21,82+17,48 \\ &= 57,92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata C} &= 57,92 / 3 \\ &= 19,31 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam dengan Uji F Tabel pada Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	387,22	193,61	15,63**	5,14	10,92
Acak	6	74,34	12,39			
Total	8	461,57				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan Sidik Ragam:

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{64855,94^2}{9} \\ &= 7206,22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} &= \sum xi^2 - FK \\ &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK \\ &= (35,85^2 + 35,78^2 + 32,69^2 + \dots + 17,48^2) - 7206,22 \\ &= 461,57 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum xi)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK \end{aligned}$$

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

$$= \frac{(104,32^2 + 92,43^2 + 57,92^2)}{3} - 7206,22$$

$$= 387,22$$

4. JK Acak = JK Total – JK Perlakuan  
 = 461,57 - 387,22  
 = 74,34

5. Kt Perlakuan =  $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$   
 $= \frac{387,22}{2}$   
 = 193,61

6. Kt Acak =  $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$   
 $= \frac{74,34}{6}$   
 = 12,39

7. F Hitung =  $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}}$   
 $= \frac{193,61}{12,39}$   
 = 15,63

– Hasil Uji BNT Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Rataan	C	B	A	Notasi
		19,31	30,81	34,77	
C	19,31	–			a
B	30,81	11,50**	–		b
A	34,77	15,47**	3,97 <sup>ns</sup>	–	b

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns = tidak Berbeda Nyata

- Menghitung Nilai BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 12,39}{3}} = 2,874$$

$$BNT \ 5\% = t \text{ tabel } 5\% (db \text{ acak}) \times SED = 2,447 \times 2,874 = 7,033$$

$$BNT \ 1\% = t \text{ tabel } 1\% (db \text{ acak}) \times SED = 3,707 \times 2,874 = 10,655$$



**Lampiran 9.** (Lanjutan)

– Tabel Uji Polinomial Orthogonal.

Polinomial Orthogonal	Data(Ti)	Perbandingan Ci	
		Linear	Kuadratik
A	104,32	-1	1
B	92,43	0	-2
C	57,92	1	1
Q		-46,40	-22,61
Kr		6	18
JK		358,82	28,40

• Perhitungan Q

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (104,32 \times (-1)) + (92,43 \times (0)) + (57,92 \times (1)) \\ &= -46,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (104,32 \times (1)) + (92,43 \times (-2)) + (57,92 \times (1)) \\ &= -22,61 \end{aligned}$$

• Perhitungan Kr

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 2 \times 3 \\ &= 6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 6 \times 3 \\ &= 18 \end{aligned}$$

• Perhitungan JK

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \frac{-46,40^2}{6} \\ &= 358,82 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \frac{-22,61^2}{18} \\ &= 28,40 \end{aligned}$$

– Tabel Sidik Ragam Regresi Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	387,22	-	-	-	-
Linier	1	358,82	358,82	28,96**	5,99	13,75
Kuadratik	1	28,40	28,40	2,29 <sup>ns</sup>	5,99	13,75
Acak	6	74,34	12,39	-	-	-
Total	8					

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata



### Lampiran 10. Perhitungan Neutrofil

- Perhitungan Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	16,98	22,94	14,42	54,34	18,11	4,37
B	10,89	12,87	12,00	35,76	11,92	0,99
C	7,84	7,27	5,83	20,94	6,98	1,04

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 16,98+22,94+14,42 \\ &= 54,34 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata A} &= 54,34 / 3 \\ &= 18,11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 10,89+12,87+12,00 \\ &= 35,76 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata B} &= 35,76 / 3 \\ &= 11,92 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 7,84+7,27+5,83 \\ &= 20,94 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata C} &= 20,94 / 3 \\ &= 6,98 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam dengan Uji F Tabel pada Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	186,70	93,35	13,24**	5,14	10,92
Acak	6	42,29	7,05			
Total	8	228,99				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan Sidik Ragam:

$$\begin{aligned} 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{12330,65^2}{9} \\ &= 1370,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK total)} &= \sum xi^2 - FK \\ &= (A1^2+ A2^2+A3^2+...+ C3^2) - FK \\ &= (16,98^2+22,94^2+14,42^2+...+5,83^2) - 1370,07 \\ &= 228,99 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum (\sum xi)^2}{r} - FK \\ &= \frac{(TA^2+TB^2+TC^2)}{r} - FK \end{aligned}$$

**Lampiran 10. (Lanjutan)**

$$= \frac{(54,34^2 + 35,76^2 + 20,94^2)}{3} - 1370,07$$

$$= 186,70$$

4. JK Acak = JK Total – JK Perlakuan

$$= 228,99 - 186,70$$

$$= 42,29$$

5. Kt Perlakuan

$$= \frac{JK\ Perlakuan}{db\ Perlakuan}$$

$$= \frac{186,70}{2}$$

$$= 93,35$$

6. Kt Acak

$$= \frac{JK\ Acak}{db\ Acak}$$

$$= \frac{228,99}{6}$$

$$= 7,05$$

7. F Hitung

$$= \frac{KT\ Perlakuan}{KT\ Acak}$$

$$= \frac{93,35}{7,05}$$

$$= 13,24$$

– Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*).

Perlakuan	Rataan	C	B	A	Notasi
		6,98	11,92	18,11	
C	6,98	–			a
B	11,92	4,94 <sup>ns</sup>	–		a
A	18,11	11,13 <sup>**</sup>	6,19*	–	b

Keterangan : \* = Berbeda Nyata, \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns = tidak Berbeda Nyata

- Menghitung Nilai BNT

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times 7,05}{3}} = 2,168$$

$$BNT\ 5\% = t\ tabel\ 5\% (db\ acak) \times SED = 2,447 \times 2,168 = 5,304$$

$$BNT\ 1\% = t\ tabel\ 1\% (db\ acak) \times SED = 3,707 \times 2,168 = 8,037$$



### Lampiran 10. (Lanjutan)

– Tabel Uji Polinomial Orthogonal.

Polinomial Orthogonal	Data(Ti)	Perbandingan Ci	
		Linear	Kuadratik
A	54,34	-1	1
B	35,76	0	-2
C	20,94	1	1
Q		-33,40	3,76
Kr		6	18
JK		185,91	0,78

- Perhitungan Q

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (54,34 \times (-1)) + (35,76 \times (0)) + (20,94 \times (1)) \\ &= -33,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \sum Ti \times Ci \\ &= (54,34 \times (1)) + (35,76 \times (-2)) + (20,94 \times (1)) \\ &= 3,76 \end{aligned}$$

- Perhitungan Kr

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 2 \times 3 \\ &= 6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= (\sum Ci)^2 \times r_{\text{ulangan}} \\ &= 6 \times 3 \\ &= 18 \end{aligned}$$

- Perhitungan JK

$$\begin{aligned} \text{Linear} &= \frac{-33,40^2}{6} \\ &= 185,91 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadratik} &= \frac{3,76^2}{18} \\ &= 0,78 \end{aligned}$$

– Tabel Sidik Ragam Regresi Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*).

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	186,70	-	-	-	-
Linier	1	185,91	185,91	26,38**	5,99	13,75
Kuadratik	1	0,78	0,78	0,11 <sup>ns</sup>	5,99	13,75
Acak	6	42,29	7,05	-	-	-
Total	8					

Keterangan : \*\* = Berbeda Sangat Nyata, ns= Tidak Berbeda nyata

### Lampiran 11. Data Kualitas Air Penelitian

#### Parameter Suhu

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
C1	26.1	27.4	26.3	27.6	26.5	27.9	26.5	28.4
C2	26.8	27.8	26.7	27.9	26.6	28.3	26.7	28.3
C3	26.4	27.4	26.7	27.9	26.8	28.8	26.8	28.3
Rata-rata	<b>26.4</b>	<b>27.5</b>	<b>26.6</b>	<b>27.8</b>	<b>26.6</b>	<b>28.3</b>	<b>26.7</b>	<b>28.3</b>
B1	26.6	28.3	26.4	27.4	26.3	28.3	26.3	28.4
B2	26.5	27.9	26.3	27.9	26.7	27.8	26.7	28.7
B3	26.9	27.3	26.6	27.3	27.1	28.4	27.4	28.4
Rata-rata	<b>26.7</b>	<b>27.8</b>	<b>26.4</b>	<b>27.5</b>	<b>26.7</b>	<b>28.2</b>	<b>26.8</b>	<b>28.5</b>
A1	26.4	27.5	26.6	27.5	27.2	29.3	27.2	29.3
A2	26.9	28.5	26.6	27.6	26.8	28.5	26.7	28.5
A3	26.9	28.3	26.7	28.5	26.9	28.4	26.9	28.4
Rata-rata	<b>26.7</b>	<b>28.1</b>	<b>26.6</b>	<b>27.9</b>	<b>27.0</b>	<b>28.7</b>	<b>26.9</b>	<b>28.7</b>
K-(1)	26.7	27.5	26.9	27.5	26.9	28.3	26.6	28.4
K-(2)	26.3	27.8	27.1	27.8	27.1	29.1	27.1	29.4
K-(3)	26.9	27.6	26.7	27.6	26.4	28.7	26.3	28.7
Rata-rata	<b>26.6</b>	<b>27.6</b>	<b>26.9</b>	<b>27.6</b>	<b>26.8</b>	<b>28.7</b>	<b>26.7</b>	<b>28.8</b>
K+(1)	26.3	28.7	27.2	28.3	26.8	28.3	27.1	28.4
K+(2)	26.8	28.3	26.8	28.4	26.4	28.4	27.3	28.9
K+(3)	26.9	28.4	26.6	28.9	26.8	28.5	27.4	28.5
Rata-rata	26.7	28.5	26.9	28.5	26.7	28.4	27.3	28.6

#### Parameter pH

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
C1	7.3	7.6	7.7	7.7	7.6	7.7	8.0	7.9
C2	7.6	7.9	8.0	8.1	8.0	8.1	8.3	8.3
C3	7.9	8.1	7.8	8.0	7.9	8.1	8.2	8.6
Rata-rata	<b>7.6</b>	<b>7.8</b>	<b>7.8</b>	<b>7.9</b>	<b>7.8</b>	<b>7.9</b>	<b>8.2</b>	<b>8.3</b>
B1	7.5	7.6	7.4	7.4	7.4	7.5	7.7	7.6
B2	7.3	7.4	7.4	7.4	7.3	7.6	7.6	7.4
B3	7.5	7.8	7.9	8.0	7.9	7.9	8.2	7.9
Rata-rata	<b>7.4</b>	<b>7.6</b>	<b>7.5</b>	<b>7.6</b>	<b>7.5</b>	<b>7.6</b>	<b>7.8</b>	<b>7.7</b>
A1	7.8	7.9	8.0	8.1	8.1	8.2	8.2	7.3
A2	7.6	7.8	8.1	8.0	8.0	8.1	8.0	7.9
A3	7.3	7.5	7.4	7.4	7.2	7.6	7.5	7.3
Rata-rata	<b>7.6</b>	<b>7.7</b>	<b>7.8</b>	<b>7.8</b>	<b>7.8</b>	<b>8.0</b>	<b>7.9</b>	<b>7.5</b>
K-(1)	7.4	7.6	7.2	7.2	7.5	7.4	7.8	7.5
K-(2)	7.5	7.6	7.4	7.5	7.5	7.5	7.7	7.8
K-(3)	7.7	7.9	7.8	7.8	7.8	7.8	8.1	7.9
Rata-rata	<b>7.5</b>	<b>7.7</b>	<b>7.5</b>	<b>7.5</b>	<b>7.6</b>	<b>7.6</b>	<b>7.8</b>	<b>7.7</b>
K+(1)	7.6	7.9	7.9	7.8	7.9	7.9	7.8	7.8
K+(2)	7.4	7.7	7.9	7.8	7.8	7.8	8.2	7.8
K+(3)	7.0	7.2	8.0	8.0	7.8	7.9	7.8	7.7
Rata-rata	7.4	7.6	7.9	7.9	7.8	7.8	8.0	7.8

## Lampiran 11. (Lanjutan)

Parameter DO

Akuarium	Rabu		Kamis		Jumat		Sabtu	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
C1	7.1	6.2	7.3	6.8	7.1	7.1	7.3	7.2
C2	7.4	7.4	7.9	7.5	7.6	7.6	7.6	7.9
C3	6.9	7.0	7.5	7.2	7.3	7.2	7.4	7.6
Rata-rata	<b>7.1</b>	<b>6.9</b>	<b>7.6</b>	<b>7.2</b>	<b>7.3</b>	<b>7.3</b>	<b>7.4</b>	<b>7.6</b>
B1	7.2	7.4	6.2	6.3	7.5	7.3	6.8	6.6
B2	6.2	5.6	7.7	6.1	7.0	5.9	6.7	5.6
B3	7.4	7.0	7.3	6.9	7.3	7.6	7.4	7.3
Rata-rata	<b>6.9</b>	<b>6.7</b>	<b>7.1</b>	<b>6.4</b>	<b>7.3</b>	<b>6.9</b>	<b>7.0</b>	<b>6.5</b>
A1	7.7	7.6	7.7	7.4	7.3	8.0	7.8	7.0
A2	7.3	7.2	7.4	6.9	7.9	8.5	8.3	7.9
A3	6.9	6.2	7.1	5.7	6.5	7.2	6.4	7.3
Rata-rata	<b>7.3</b>	<b>7.0</b>	<b>7.4</b>	<b>6.6</b>	<b>7.3</b>	<b>7.9</b>	<b>7.5</b>	<b>7.4</b>
K-(1)	7.3	6.8	6.8	6.8	6.5	7.1	6.4	5.8
K-(2)	6.9	5.5	6.4	6.1	6.3	6.8	6.2	6.1
K-(3)	7.3	7.0	7.2	7.4	7.4	7.2	7.2	7.5
Rata-rata	<b>7.2</b>	<b>6.4</b>	<b>6.8</b>	<b>6.8</b>	<b>6.7</b>	<b>7.0</b>	<b>6.6</b>	<b>6.5</b>
K+(1)	7.8	7.3	8.0	7.5	7.9	8.5	7.5	7.9
K+(2)	7.9	7.6	7.8	7.1	7.5	7.8	7.4	7.2
K+(3)	6.9	6.5	8.2	7.5	7.9	8.7	8.3	7.4
Rata-rata	<b>7.5</b>	<b>7.1</b>	<b>8.0</b>	<b>7.4</b>	<b>7.7</b>	<b>8.3</b>	<b>7.7</b>	<b>7.5</b>

Lampiran 12. Identifikasi Daun Sembung (*B. balsamifera* (L.) DC.)



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI**  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046 Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 014 /IPH.06/HM/I/2016

Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :

**Muhammad Affifudla El Moslem, NIM : 12508050111037**

Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 26 Januari 2016 berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume II, tahun 1965, halaman 387 dan PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 12 ( I ) ; Medicinal and poisonous plants 1, editor L.S. de Padua ,N. Bunyaphratsara dan R.H.M.J. Lemmens, tahun 1999, halaman 155

sama ilmiahnya :

Genus : *Bliwewa*  
Species : *Bliwewa balsamifera* (L.) DC.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XVII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Asteridae*  
Ordo : *Asterales*  
Family : *Asteraceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 02 Februari 2016

An. Kepala  
Kepala Seksi Konservasi Ek-situ,



Deden Muliana, S.Hut, MSI

