

**PENGARUH EKSTRAK KASAR KULIT POHON KETAPANG  
(*Terminalia catappa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh :

**ACHMAD YASIN  
NIM. 115080500111040**



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

PENGARUH EKSTRAK KASAR KULIT POHON KETAPANG  
(*Terminalia catappa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

SKRIPSI  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

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

Oleh :  
ACHMAD YASIN  
NIM. 115080500111040



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

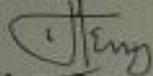
2016

**PENGARUH EKSTRAK KASAR KULIT POHON KETAPANG  
(*Terminalia catappa*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh :  
**ACHMAD YASIN**  
NIM. 115080500111040

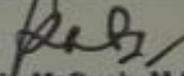
Telah dipertahankan didepanpenguji  
Pada tanggal 19 Februari 2016  
dan dinyatakan memenuhi syarat

**DOSEN PENGUJI I**



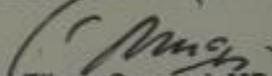
**Ir. Heny Suprastyani, MS**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal : 07 MARI 2016

**MENYETUJUI,  
DOSEN PEMBIMBING I**



**Dr. Ir. Maftuch, M.Si**  
NIP. 19660825 199203 1 001  
Tanggal : 07 MARI 2016

**DOSEN PEMBIMBING II**



**Ir. Ellana Sanoesi, MP**  
NIP. 19630924 199803 2 002  
Tanggal : 07 MARI 2016

**MENGETAHUI,  
KETUA JURUSAN MSP**



**Dr. Ir. Arning Wilolopa Ekawati, MS**  
NIP. 19622825 198803 2 001  
Tanggal : 07 MARI 2016

## PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, 19 Februari 2016

Mahasiswa

Achmad Yasin



## UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya, atas terselesaikannya laporan skripsi ini. penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu, selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi.
2. Ibu Ir. Ellana Sanoesi MP selaku pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan.
3. Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen penguji satu yang telah menguji dan memberikan sanggahan serta saran atas apa yang saya tulis dan saya ucap selama penyampean materi.
4. Bapak, Ibu serta keluarga tersayang atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya.
5. Teman – teman penghuni kontrakan di Jl. Joyo Sari, Gg I. yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
6. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini.
7. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
8. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, 19 Februari 2016

Penulis

## RINGKASAN

**ACHMAD YASIN.** Pengaruh Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) Terhadap Histopatologi insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP**

---

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu bahan makanan yang berprotein tinggi, murah dan mudah didapat. Saat ini masih sedikit jenis ikan air tawar yang dapat dibudidayakan oleh masyarakat.. Ikan mas (*C. carpio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki prospek yang cerah untuk dibudidayakan. Ikan mas merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Selain itu ikan mas merupakan salah satu komoditi unggulan perikanan air tawar karena sebagian besar masyarakat Indonesia menggemari ikan mas (Adliah N, 2011). Penyakit pada ikan mas ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*, dan penyakit ini bersifat sistemik, bakteri tersebut menginfeksi apabila daya tahan tubuh ikan turun akibat stress dan penurunan kualitas lingkungan (Hernayanti *et al.*, 2004). Bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit yang berbahaya pada budidaya ikan air tawar. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat, salah satunya Kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) yang memiliki kandungan senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid/steroid, saponin yang mampu mencegah infeksi bakteri *A. hydrophila* (Hidayat, 2006 dalam Aminah, Slamet Budi Prayitno, Sarjito, 2014).

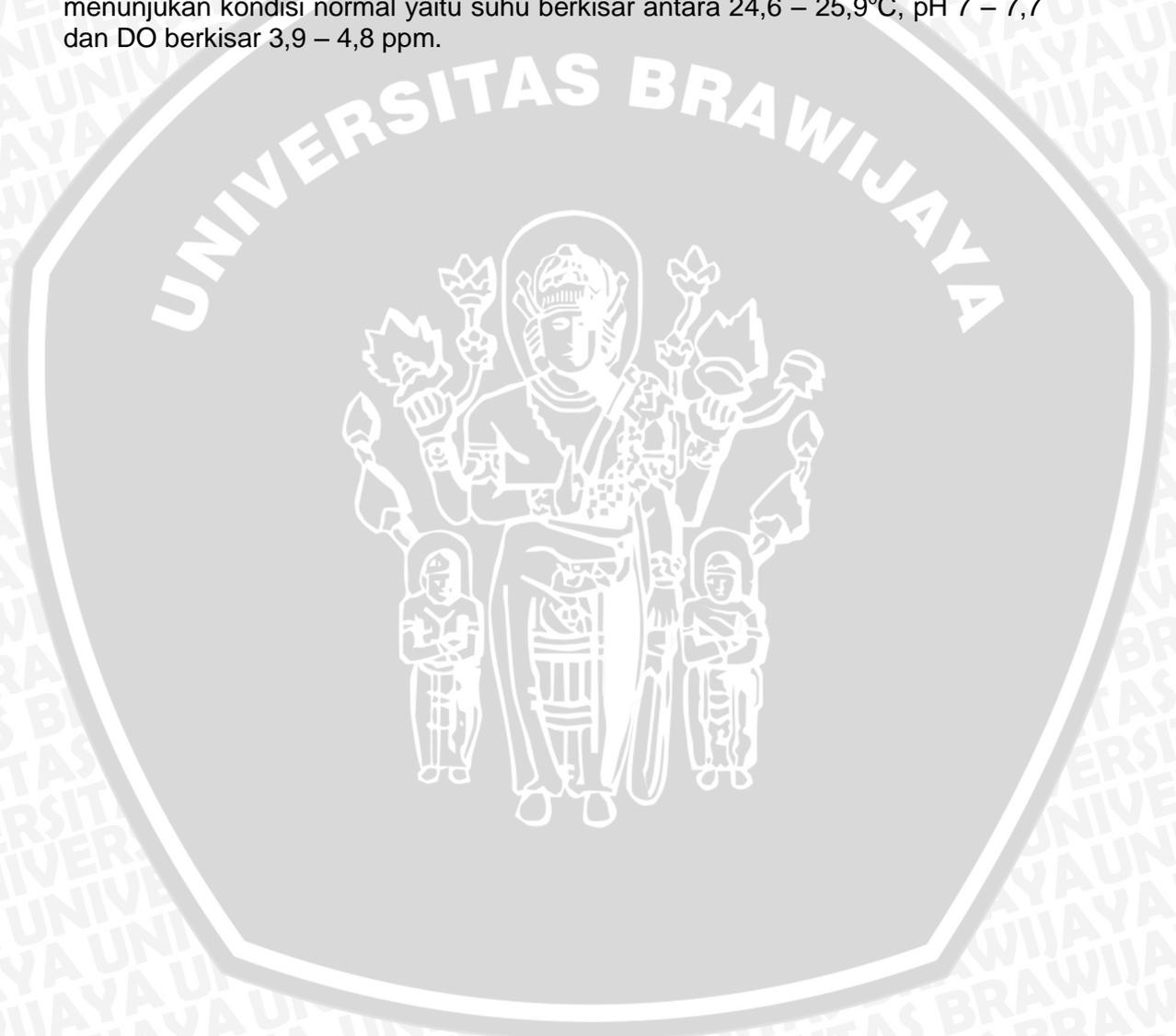
Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap kelulushidupan dan histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dan untuk mengetahui pengaruh dan dosis terbaik saat pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Anatomi, Fakultas Kdokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Pada 02 September – 05 November 2015.

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan masing-masing 3 kali ulangan yaitu dengan menggunakan dosis A (730 ppm), B (750 ppm) dan C (770 ppm). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan kerusakan jaringan insang meliputi hiperplasia, fusi dan nekrosis sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air (suhu, pH, dan DO), gejala klinis dan kelulushidupan.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut: perhitungan kerusakan jaringan hiperplasia pada perlakuan C (770ppm) memiliki rata-rata kerusakan hiperplasia paling rendah yaitu 1,55 %. Hubungan antara dosis yang berbeda dengan kerusakan hiperplasia memiliki hubungan nyata. Ditunjukkan dengan hasil  $R^2$  mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,907 dengan persamaan  $y = -0,025x + 20,89$ . Dan pada perhitungan kerusakan jaringan fusi pada perlakuan C (770ppm) memiliki rata-rata kadar kerusakan terendah yaitu 1,56 %, hubungan dosis yang berbeda dengan kerusakan fusi memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil  $R^2$  mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,841 dengan persamaan  $y = -0,022x + 18,73$ . Dan sedangkan pada perhitungan kerusakan jaringan nekrosis memiliki nilai kerusakan terendah yaitu 5 % pada perlakuan C dengan dosis 770 ppm. Pada perhitungan kerusakan

nekrosis yang telah dilakukan tidak dilanjutkan pada perhitungan selanjutnya karena pada perhitungan analisa sidik ragam mempunyai nilai F hitung yang dimana nilainya lebih kecil dari pada nilai F 5% maka tidak dilanjutkan pada perhitungan selanjutnya.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*) yang dibuktikan melalui uji kerusakan hiperplasia, fusi, dan kelulushidupan akan tetapi tidak berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis pada insang ikan mas (*C. carpio*). Dosis yang efektif untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan insang yang diakibatkan karena infeksi oleh bakteri *A. hydrophila* adalah 730 ppm pada perlakuan A. Untuk analisa kelulushidupan (SR) sebagai parameter penunjang didapatkan hasil yang terbaik adalah 57,00 pada perlakuan A. Parameter kualitas air menunjukkan kondisi normal yaitu suhu berkisar antara 24,6 – 25,9°C, pH 7 – 7,7 dan DO berkisar 3,9 – 4,8 ppm.



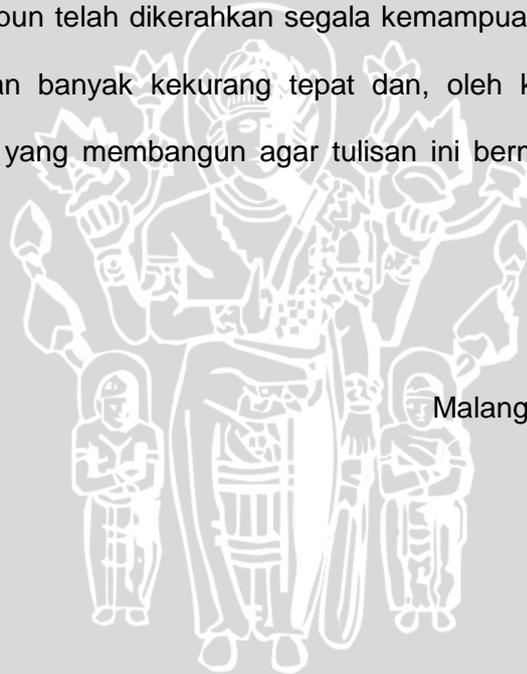
## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia Catappa*) Terhadap Histopatologi Insang Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

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

Malang, 19 Februari 2016

Penulis



DAFTAR ISI

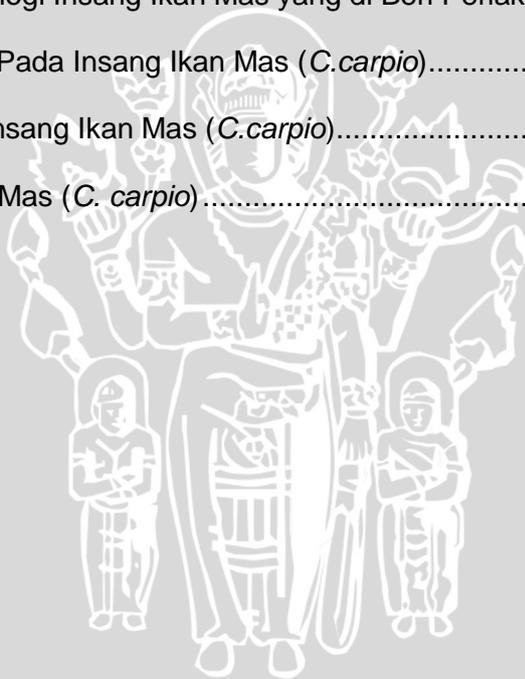
	Halaman
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	i
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	ii
<b>RINGKASAN</b> .....	iii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Tempat dan Waktu.....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Biologi Ikan mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	4
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	5
2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	6
2.1.4 Penyakit dan Gejala Klinis pada Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	6
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	7
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> .....	8
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>A. Hydrophila</i> dan Gejalanya.....	9
2.3 Pohon Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> ).....	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Pohon Ketapang ( <i>T. catappa</i> ).....	9
2.3.2 Habitat dan Penyebaran Kulit Pohon Ketapang ( <i>T. catappa</i> ).....	10
2.3.3 Kandungan Kimia pada Kulit Pohon Ketapang ( <i>T. catappa</i> ).....	11
2.4 Histopatologi.....	12
2.4.1 Pengertian Histopatologi.....	12
2.4.2 Pengamatan Histopatologi.....	12
2.5 Insang.....	15
2.5.1 Pengertian Insang.....	15
2.5.2 Fungsi Insang.....	15
2.6 Kualitas Air.....	16
2.6.1 Suhu.....	16



2.6.2 Ph .....	16
2.6.3 Oksigen Terlarut .....	17
<b>3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
3.1 Materi Penelitian .....	18
3.1.1 Alat-Alat Penelitian .....	18
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian .....	18
3.2 Metode Penelitian .....	18
3.3 Rancangan Penelitian .....	19
3.4 Prosedur Penelitian .....	21
3.4.1 Persiapan Penelitian .....	21
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian .....	25
3.5 Parameter Uji .....	30
3.5.1 Parameter Utama .....	30
3.5.2 Parameter Penunjang .....	31
3.6 Analisis Data .....	31
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>32</b>
4.1 Gambaran Histopatologi Insang .....	32
4.1.1 Gambaran Histopatologi Insang Normal, Insang Ikan yang Diberi Ekstrak Kulit Pohon Ketapang dan yang Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> .....	32
4.1.2 Gambaran Histopatologi Insang yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang ( <i>T. catappa</i> ) .....	34
4.2 Gejala Klinis .....	44
4.3 Kelulushidupan Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	45
4.4 Pengamatan Kualitas Air .....	48
4.4.1 Suhu .....	49
4.4.2 pH .....	49
4.4.3 Oksigen Terlarut .....	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>55</b>

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	5
2. Bakteri <i>Aeromonas Hydrophila</i> .....	8
3. Pohon Ketapang ( <i>Terminalia catappa</i> ) .....	10
4. Denah Penelitian .....	21
5. Alur Perhitungan Skoring .....	30
6. Histopatologi Insang Normal, Insang Ikan yang di Beri Ekstrak Kulit Pohon Ketapang dan yang Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> ...	32
7. Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas yang di Beri Perlakuan ....	35
8. Grafik Hiperplasia Pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	37
9. Grafik Fusi Pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	40
10. Gejala Klinis Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	44

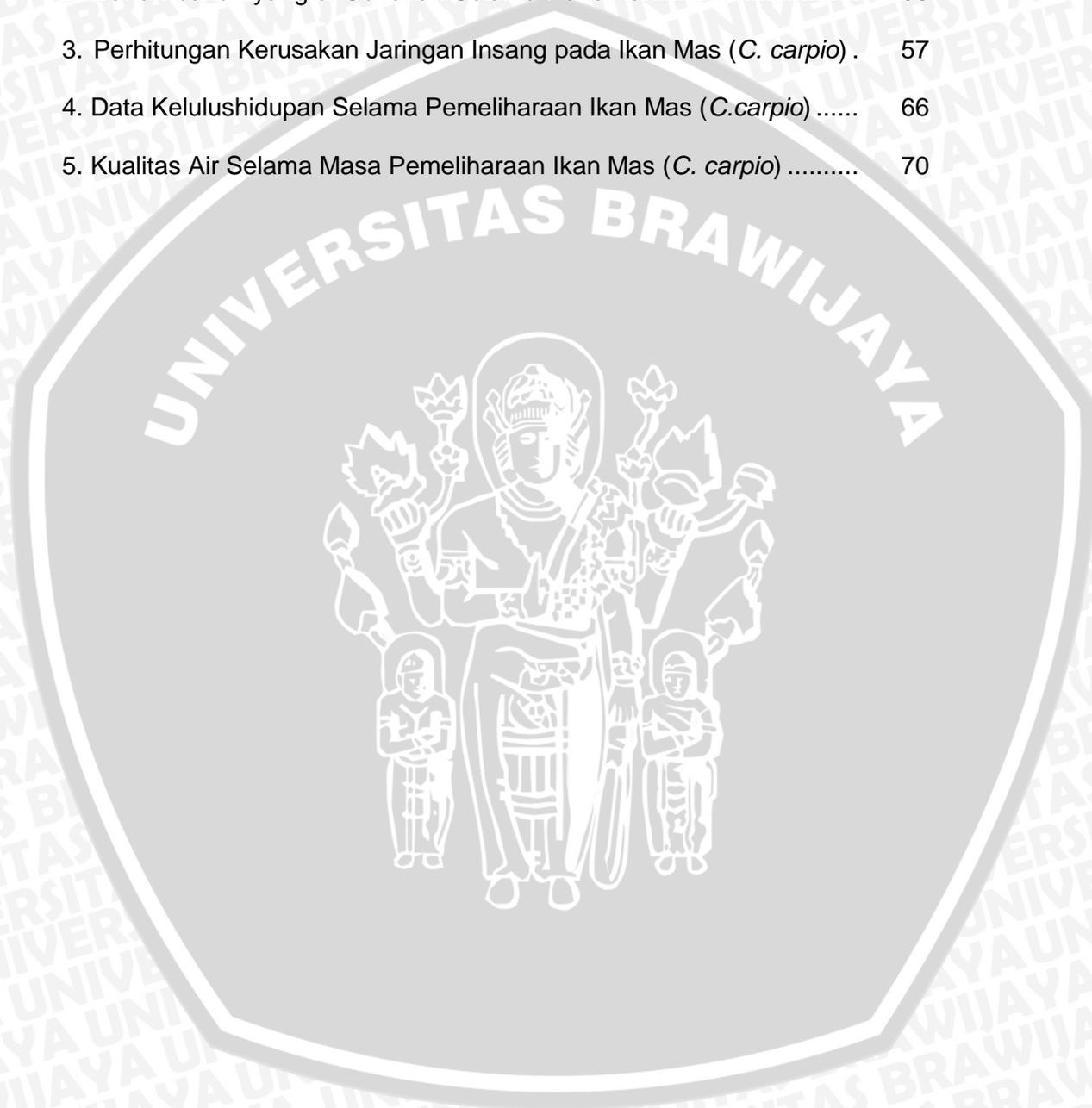


## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Skala Log pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda.....	20
2. Rerata Skoring Pengamatan Kerusakan Hiperplasia (%) pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	36
3. Analisa Keragaman Hiperplasia pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) ..	36
4. Uji BNT Skoring Hiperplasia pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	36
5. Rerata Skoring Pengamatan Kerusakan Fusi (%) pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	39
6. Sidik Ragam Fusi pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	39
7. Uji BNT Skoring Fusi pada Insang Ikan mas ( <i>C. carpio</i> ).....	39
8. Rerata Skoring Pengamatan Kerusakan Nekrosis (%) pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	42
9. Sidik Ragam Nekrosis pada Insang Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	42
10. Kelulushidupan Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) Selama 10 Hari Pemeliharaan	46
11. Rerata Kelulushidupan Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	46
12. Analisis Keragaman Kelulushidupan Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	47
13. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	47
14. Kualitas Air pada Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) Selama Penelitian .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 .Alat-alat yang di Gunakan Selama Penelitian .....	55
2 Bahan-bahan yang di Gunakan Selama Penelitian.....	56
3. Perhitungan Kerusakan Jaringan Insang pada Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .	57
4. Data Kelulushidupan Selama Pemeliharaan Ikan Mas ( <i>C.carpio</i> ) .....	66
5. Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	70



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan Mas merupakan salah satu bahan makanan yang berprotein tinggi, murah dan mudah didapat. Saat ini masih sedikit jenis ikan air tawar yang dapat dibudidayakan oleh masyarakat. Salah satu jenis ikan air tawar yang umum dikonsumsi dan dibudidayakan yaitu ikan mas (*Cyprinus carpio*). Ikan mas merupakan salah satu ikan yang memiliki nilai ekonomis tinggi dan memenuhi 46,5% produksi ikan air tawar Indonesia (Tauhid *et al.* 2007). Ikan ini menyebar hampir di semua tempat budidaya ikan air tawar diseluruh provinsi di Indonesia. Bahkan di beberapa daerah tertentu seperti Jawa Barat, Sumatera Barat, Sulawesi Utara dan Sulawesi Selatan budidaya ikan mas telah menjadi sumber mata pencarian masyarakat setempat. Penyediaan benih yang baik, jumlah yang cukup dan secara kontinyu menjadi hal yang sangat penting dalam mengembangkan budidaya ikan mas ini. Oleh karena itu salah satu hal yang menjadi jaminan kualitas ikan adalah kondisi kesehatannya. Hal ini mungkin masih jarang diperhatikan secara serius atau dalam proses yang benar. Nilai produksi yang menjadi porsi terbesar yang digarap para peternak ikan mas. Padahal kondisi kesehatan ikan akan mempengaruhi kuantitas dan kualitas produksi secara keseluruhan (Lingga, 2002).

Ikan mas (*C. carpio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki prospek yang cerah untuk dibudidayakan. Ikan mas merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Selain itu ikan mas merupakan salah satu komoditi unggulan perikanan air tawar karena sebagian besar masyarakat Indonesia menggemari ikan mas (Adliah. N, 2011). Penyakit pada ikan mas disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*, dan penyakit ini

bersifat sistemik, bakteri tersebut menginfeksi apabila daya tahan tubuh ikan turun akibat stres dan penurunan kualitas lingkungan (Irianto *et al.*, 2006)

Kendala utama dalam usaha budidaya ikan adalah adanya penyakit. Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Dengan demikian timbulnya penyakit ikan di kolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak sesuai ini dapat menyebabkan ikan stres, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan akhirnya mudah terkena penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri merupakan kendala utama dalam budidaya perikanan. Suatu kegiatan budidaya ikan, pastinya tidak akan terlepas dari adanya berbagai permasalahan yang dapat mempengaruhi dan mengganggu kondisi fisiologis ikan, sehingga ikan sakit bahkan mati (Prajitno, 2005).

Bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit yang berbahaya pada budidaya ikan air tawar. Bakteri tersebut banyak menginfeksi ikan mas yang merupakan salah satu komoditas unggulan air tawar dan dapat menginfeksi ikan pada semua ukuran yang dapat menyebabkan kematian hingga 80%, sehingga mengakibatkan kerugian yang sangat besar baik dalam usaha budidaya ikan air tawar (Sanoesi. E, 2008)

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk pengobatan penyakit ini adalah menggunakan antibiotika yang dapat menimbulkan resistensi bakteri patogen dan residu antibiotika pada ikan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat, salah satunya Kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) yang memiliki kandungan senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid/steroid, saponin yang mampu mencegah infeksi bakteri *A. hydrophyla* (Hidayat, 2006 dalam Aminah *et al.*, 2014)

## 1.2 Rumusan Masalah

- Bagaimana pengaruh pemberian dosis yang berbeda pada ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap jaringan histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?
- Berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar kulit ketapang (*T. cattapa*) pada ikan mas (*C. carpio*) yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?

## 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

- mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*
- mengetahui dosis terbaik saat pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## 1.4 Hipotesis

$H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap histopatologi insang Ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

$H_1$  : Diduga pemberian ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histopatologi insang Ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## 1.5 Tempat Dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang. Pada 02 September – 10 November 2015.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Adapun klasifikasi dari ikan Mas (*Cyprinus carpio*) menurut Adliah N. (2011), adalah sebagai berikut:

Kelas	: Pisces
Subkelas	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Subordo	: Cyprinoidea
Famili	: Cyprinidea
Genus	: <i>Cyprinus</i>
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i>

Khairuman, Sudenda dan Gunadi (2008) menyatakan bahwa ikan mas memiliki tubuh agak memanjang dan memipih tegak. Mulutnya dapat disembulkan (*Protaktil*) dan mempunyai dua pasang sungut di ujung mulutnya (Gambar 1). Ikan mas memiliki gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang tersusun tiga atas tiga baris gigi geraham. Ikan mas mempunyai ciri – ciri antara lain bentuk badan agak memanjang pipih kesamping (*compressed*), mulut berada di ujung tengah (*terminal*) dapat disembulkan dan lunak, memiliki kumis (barbel) dua pasang, kadang-kadang mempunyai sungut dua pasang, jari-jari sirip punggung (*dorsal*) yang kedua mengeras seperti gergaji. Sedangkan letak antara kedua sirip punggung dan perut berseberangan, sirip dada (*pectoral*) terletak dibelakang tutup insang (*operculum*). Pada bibirnya yang lunak terdapat dua pasang sungut (*berbel*) dan tidak bergerigi. Pada bagian dalam mulut terdapat gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) sebanyak tiga baris berbentuk geraham.



**Gambar 1.** Ikan mas (*C. carpio*) (Google Image, 2015)

### 2.1.2 Habitat dan Penyebaran ikan Mas (*C. carpio*)

Ikan mas dapat dibudi dayakan hampir pada semua jenis kolam baik kolam yang airnya mengalir deras atau kolam berair tenang. Ikan mas juga dapat tumbuh baik di sungai, danau, waduk atau kolam buatan. Kondisi optimal untuk pertumbuhan ikan mas yaitu pada ketinggian antara 150 - 1.000 meter di atas permukaan laut, suhu air antara 200 – 250°C dan pH air antara 7 – 8 (Santoso 1999).

Ikan mas termasuk jenis ikan yang bersifat termofil karena mampu menyesuaikan diri dengan suhu lingkungan yang tinggi. Ikan mas masih dapat tumbuh pada suhu 35°C. Ikan mas dapat hidup dengan kandungan oksigen air kurang dari 4mg/L, kandungan nitrit kurang dari 0,1mg/L, kandungan nitrat kurang dari 0,25 mg/L serta kandungan amonia kurang dari 0,6 mg/L (Boyd, 1979).

Menurut Narantaka (2012), ikan mas masuk ke Indonesia pada tahun 1810 yang berasal dari Cina dan Rusia. Ikan mas dipelihara pertama kali di daerah Galuh, Ciamis, Jawa Barat dan dalam kurun waktu setengah abad ikan mas telah menyebar di berbagai daerah di propinsi Jawa Barat. Penyebaran ikan mas tidak hanya ke Indonesia namun ke daerah sub tropis di belahan Bumi utara seperti Eropa sampai ke daerah tropis di belahan selatan Bumi seperti Asia Timur dan Asia Selatan. Seiring terjadinya migrasi orang – orang Cina ke Negara

lain pemeliharaan ikan mas banyak dilakukan didalam karamba atau keranjang bambu seperti yang dilakukan oleh Chow Mit.

### 2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan Ikan Mas (*C. carpio*)

Menurut Bachtiar (2002), pakan yang berkualitas akan membantu meningkatkan pertumbuhan, produksi, dan reproduksi ikan. Pakan yang terbaik adalah pakan yang mengandung protein, energy, dan vitamin yang dibutuhkan oleh ikan. Pakan ikan mas terdiri dari pakan alami dan pakan buatan. Pakan alami berupa plankton dan zooplankton yang hidup melayang di perairan kolam. Ketersediaan pakan alami di setiap kolam berbeda-beda tergantung dari kondisi kesuburan perairan kolam. Sedangkan pakan buatan yang sering diberikan dapat berupa pelet, larutan (emulsi dan suspense), lembaran (flake atau wafer) dan remahan.

Ikan mas termasuk pemakan segala. Pada umur muda (ukuran 10 cm), ikan mas senang memakan jasad hewan atau tumbuhan yang hidup didasar perairan/kolam, misalnya *chironomidae*, *oligochaeta*, *tubificidae*, *epimidae*, *trichoptera*, *molusca*, dan sebagainya. Selain itu juga memakan *protozoa* dan *zooplankton* seperti *copepod* dan *cladocera*. Hewan-hewan kecil tersebut disedot bersama lumpurnya, diambil yang dapat dimanfaatkan dan sisanya dikeluarkan melalui mulut (Santoso, 1995).

### 2.1.4 Penyakit dan Gejala Klinis pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Penyakit merupakan salah satu hambatan dalam proses budidaya ikan, selain faktor lingkungan perairan kolam dan cara penanganannya. Penyakit ikan dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi alat tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung. Terjadinya penyakit pada ikan melalui proses hubungan antar tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi didalam air), kondisi ikan, dan adanya jasad pathogen (jasad penyakit). Dengan demikian timbulnya penyakit merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara lingkungan ikan dan jasad organisme penyakit (Kordi dan

Ghufran, 2004). Penyakit bakterial, virus dan lainnya merupakan salah satu kendala dalam usaha budidaya ikan air tawar (Pasaribu dan Somantri, 2004).

Penyakit MAS (*Motil Aeromonas Septicemia*) pada ikan disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*, dan penyakit ini bersifat sistemik yaitu bakteri yang masuk kedalam tubuh ikan dan merusak organ bagian dalam (Hernayanti *et al.*, 2004).

Gejala klinis yang disebabkan bakteri atau virus pada ikan Mas (*C. carpio*) memiliki ciri-ciri seperti kehilangan nafsu makan, luka-luka pada permukaan tubuh, pendarahan pada insang, perut membengkak, sisik terlepas dari tubuh, sirip ekor lepas, pendarahan pada otot, usus bagian belakang lengket dan bersatu, serta pembengkakan limpa dan ginjal yang berkembang menjadi nekrosis atau kematian jaringan (Tantu *et al.*, 2013).

## **2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila***

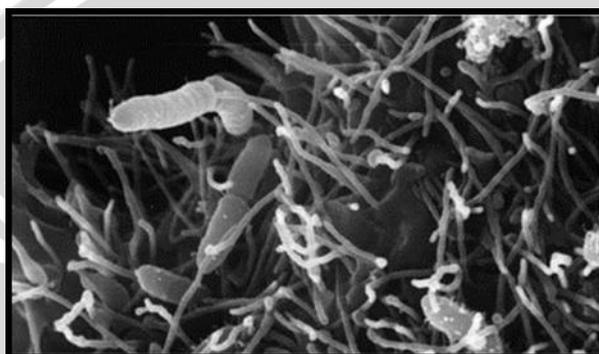
### **2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *A. hydrophila***

Klasifikasi Bakteri *A. hydrophila* menurut Holt *et al.*, (1998) dalam Prajitno (2007) adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Classis	: Schzonymetes
Ordo	: Pseudanonadeles
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerob dan fakultatif anaerob, oksidasi positif. Bakteri ini bergerak secara cepat dan hidup pada lingkungan perairan dan di saluran gastrointestinal ikan (Laith dan Najiah, 2013). *A. hydrophila* bersifat mesofil, motil, dengan flagella polar, dan dapat dijumpai di perairan tawar daerah tropis maupun subtropis (Irianto *et al.*, 2006). Sedang menurut Mulia (2003), bakteri *A. hydrophila* secara

normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan perairan kolam, stress, perubahan temperatur air, air yang terkontaminasi dengan senyawa beracun dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik yaitu bakteri yang berkemampuan sebagai patogen ketika mekanisme pertahanan inang diperlemah. Gambar bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Bakteri *A. hydrophila* (Google image, 2015)

### 2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan *A. hydrophila*

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

Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara aseksual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut bembelahan biner, waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988). Bakteri *A. hydrophila* termasuk kelompok bakteri gram negatif. Bakteri *A. hydrophila* ini dapat tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38 °C – 41 °C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0 °C – 5 °C dengan kisaran pH 5,5 – 9 (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

### 2.2.3 Infeksi Bakteri *A. hydrophila* dan Gejalanya

Bakteri *A. hydrophila* secara normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, pertumbuhan temperatur air yang terkontaminasi dan ketika *host* tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan gejala – gejala di antaranya, kulit mudah terkelupas bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna merah atau kebiruan, *exophthalima* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan (Mulia, 2003).

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

## 2.3 Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*)

### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Pitrianty Satara (2012), menjelaskan klasifikasi dari kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) dapat dilihat sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Myrtales
Family	: Combretaceae

Genus : Terminalia

Species : *Terminalia catappa*

Pohon ketapang (Gambar 3), memiliki penampilan yang cukup besar dengan tinggi yang berkisar antara 35 – 40 meter, memiliki tajuk yang rindang dengan cabang yang tumbuh mendatar dan bertingkat. Pohon ketapang yang masih muda akan terlihat seperti pagoda. *T. catappa* mempunyai batang kayu (*lignosus*) yaitu batang yang keras dan kuat bentuk batang kayunya berbentuk bulat, sifat permukaan batang beralur, yaitu jika membujur batang terdapat alur – alur yang jelas, arah batangnya memiliki arah tumbuh yang tegak lurus, yaitu memiliki arah lurus ke atas percabangan pada *T. catappa* termasuk percabangan simpodial karena batang pokok sukar ditentukan. Tumbuhan ini termasuk tumbuhan menahun, yaitu tumbuhan yang dapat bertahan hidup selama bertahun-tahun, bahkan selama ratusan tahun (Infotek, 2010).



**Gambar 3.** Pohon Ketapang (*T. catappa*) (Google Image, 2015)

### **2.3.2 Habitat dan Penyebaran Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*)**

Pohon ketapang (*T. catappa*) merupakan salah satu tanaman yang dapat tumbuh di tanah yang kering dan kurang nutrisi atau miskin unsur hara. Pohon

ketapang tersebar hampir diseluruh wilayah Indonesia sehingga dalam pemeliharannya cukup mudah untuk dibudidayakan dan dikembangkan. Selama ini masyarakat hanya mengenal tanaman ketapang sebagai tanaman peneduh kota dan belum banyak dimanfaatkan secara optimal sehingga nilai ekonomis dari pohon ketapang masih tergolong rendah (Riskitavani dan Purwani, 2013).

Tanaman ketapang (*T. catappa*) merupakan keluarga *Combretaceae* yang bisa tumbuh di tepi pantai. Pohon ketapang dapat tumbuh dengan baik pada tanah dengan *drainase* yang baik pada dataran rendah seperti pesisir pantai sampai daerah pegunungan atau dataran tinggi. Pertumbuhan relative cepat dan membentuk tajuk rindang indah yang bertingkat. Oleh sebab itu tanaman ketapang sering digunakan sebagai pohon peneduh di taman – taman dan tepi jalan. Ketapang merupakan tanaman asli Asia Tenggara yang dapat ditemukan hampir di seluruh daerah Indonesia. Saat ini tanaman ketapang banyak tersebar di wilayah Australia bagian utara India, Pakistan, Madagaskar, sebagian wilayah Afrika dan Amerika (Infotek, 2010).

### 2.3.3 Kandungan Kimia pada Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*)

Fitokimia dari tanaman ketapang ini termasuk tannin (punicalagin, punicalin, terflavins A dan B, tergalagin, tercatain, asam chebulagik, geranin, granatin B, corilagin), flavanoid (isovitexin, vitexin, isoorientin, rutin) dan triterpinoid (asam ursolat,  $2\alpha$ ,  $3\beta$ , 23-trihydroxyurs-12-en-28 OKI asam) (Ahmed *et al.*, 2005).

Ekstrak ketapang ditemukan banyak mengandung beberapa metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan makhluk hidup dan memiliki bentuk yang tidak sama antar spesies. Metabolit sekunder diantaranya resin, steroid, alkaloid, tannin dan

saponin serta flavonoid yang berperan dalam dalam aktifitas antimikroba pada tanaman obat (Muhammad dan Mudi, 2011).

## **2.4 Histopatologi**

### **2.4.1 Pengertian Histopatologi**

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu (Wales, 2010 *dalam* Eka Yuliantati, 2011).

Menurut Pazra (2008), histopatologi merupakan pengamatan terhadap penyakit secara mikroskopik daimana dalam pengamatan histopatologi data atau informasi yang didapatkan dalam bentuk organ/jaringan. Hal ini dapat membantu mengetahui ada atau tidaknya infeksi penyakit serta mengetahui proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit. Infeksi suatu penyakit dapat didiagnosa dengan beberapa cara, salah satunya dengan diagnosa secara histopatologi yang bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang penyakit.

### **2.4.2 Pengamatan Histopatologi**

Pengamatan histopatologi dilakukan dari persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan spesimen, refiksasi, dan dekaflaso. Selanjutnya, pengolahan jaringan dilakukan dengan tahap dehidrasi, penjernihan, pemberian parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dalam bentuk blok yang akan dibuat irisan tipis jaringan dengan mikrotom sehingga menjadi preparat yang diwarnai dengan beberapa jenis pewarna jaringan, misalnya giemsa, eosin dan lain-lain (Panigoro *et al.*, 2007).

Menurut Humason (1967) *dalam* Ersa (2008), spesimen organ (insang) yang telah ada, dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dengan ketebalan 2 – 3 mm dan diletakkan dalam *tissue cassette*. Langkah-langkahnya yaitu:

- a. Organ yang telah dipotong direndam ke dalam larutan fiksasi Buffer Netral Formalin (BNF) 10%, minimal selama 24 jam
- b. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi, yaitu proses untuk menarik air dari jaringan dengan merendam organ hasil fiksasi ke dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat, yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95% dan alkohol absolut 100%. Perendaman organ hasil fiksasi pada masing-masing konsentrasi alkohol dilakukan selama 2 jam.
- c. Tahap selanjutnya adalah clearing, yaitu proses yang dilakukan dengan cara merendam organ hasil dehidrasi pada larutan xylol.
- d. Setelah dilakukan proses clearing, maka dilakukan infiltrasi, yaitu proses pengisian parafin ke dalam pori-pori jaringan organ. Parafin yang digunakan adalah berplastik yang memiliki titik lebur 58<sup>0</sup>C. Proses infiltrasi dilakukan dengan dua tahap, yaitu tahap parafinisasi 1 dan parafinisasi 2, masing-masing tahapan dilakukan selama dua jam agar pori-pori jaringan organ terisi parafin dengan sempurna.
- e. Embedding (*blocking*) merupakan proses penanaman spesimen organ ke dalam parafin yang dicetak menjadi blok-blok parafin dalam wadah khusus berupa *tissue cassette/block* besi. Parafin yang digunakan sama dengan parafin yang digunakan dalam proses infiltrasi.
- f. Setelah parafin menjadi blok-bok, maka selanjutnya dilakukan pemotongan spesimen berparafin menggunakan *Rotary Mikrotom Spencer, USA*. Spesimen dipotong dengan ketebalan 4-5  $\mu$ m yang nantinya akan berupa "pita-pita" jaringan yang saling bersambungan.
- g. Potongan-potongan tersebut diletakkan di atas penangas air dengan suhu 37<sup>0</sup>C. Sediaan potongan-potongan jaringan, dipilih yang terbaik dan diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi perekat putih telur.

Kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 56°C untuk mencairkan parafin yang melekat pada jaringan dan melekatkan jaringan pada gelas objek secara sempurna.

- h. Preparat yang telah difiksasi pada gelas objek diwarnai dengan Haematoxillin dan Eosin. Awalnya preparat dimasukkan kedalam xylol 1 dan xylol 2 selama dua menit untuk melarutkan parafin yang masih melekat pada gelas objek. Untuk hidrasi diperlukan larutan alkohol absolut 100% selama dua menit, alkohol 95%, dan alkohol 80% masing-masing selama satu menit.
- i. Kemudian cuci dalam air kran selama satu menit, dimasukkan ke dalam pewarna Mayer's Haematoxyllin selama 10 menit, cuci lagi dalam air kran selama 30 detik, dimasukkan ke dalam Lithium carbonat selama 15-30 detik, dan cuci dalam air kran selama dua menit. Setelah itu preparat dimasukkan ke dalam larutan pewarna Eosin selama 2-3 menit, kemudian cuci dalam air kran selama 30-60 detik untuk menghilangkan Eosin yang masih tertinggal. Setelah pewarnaan, preparat dimasukkan ke dalam larutan alkohol 95% dan alkohol absolut 1 sebanyak 10 celupan serta alkohol absolut 2 selama dua menit.
- j. Setelah tahap pewarnaan selesai, maka dilakukan perekatan (*mounting*) menggunakan zat perekat permount dengan entelan, kemudian ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*). Selanjutnya sediaan preparat siap diamati.

## 2.5 Insang

### 2.5.1 Pengertian Isang

Struktur jaringan insang terdiri dari lengkungan insang, sisir insang dan filament insang di sokong oleh kartilago, sistem vaskuler dan lapisan lapisan epithelium. Tulang rawan ini tersusun pula dari lamela primer dan sekunder yang dibungkus oleh lapisan epithelium. Pada lamela primer berjejer sejumlah lamela

sekunder, dimana lamela sekunder ini disokong pula oleh lamela sekunder yang berkontraksi serta mengatur lacuna yang terdapat pada insang (Natalia, 2007).

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

### **2.5.2 Fungsi Insang**

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

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

## 2.6 Kualitas Air

### 2.6.1 Suhu

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

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

### 2.6.2 pH

Keasaman air untuk reproduksi atau perkembangbiakan biasanya akan baik pada pH 6,4 – 7,0 sesuai jenis ikan oleh karena itu dalam pemeliharaan ikan sebaiknya kondisi air dijaga agar berada pada kisaran nilai tersebut (Lesmana, 2001). Derajat keasaman lebih dikenal dengan istilah pH (singkatan dari *pulscane negative de H*), yaitu logaritma dari kepekatan ion-ion H (hidrogen) yang terlepas dalam satu cairan. Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktifitas ion hidrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hydrogen (Kordi dan Tanjung, 2007).

Derajat Keasaman (pH) merupakan banyaknya ion hidrogen yang terkandung di dalam air. Setiap organisme yang hidup di perairan memiliki kadar pH optimum untuk kehidupannya, termasuk ikan dan organisme lainnya. Nilai pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang berhubungan dengan susunan

spesies dari ikan dan kisaran pH yang optimum bagi ikan adalah 6,5-8,5 (Aqil, 2010).

### 2.6.3 Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut merupakan parameter kunci kualitas air. Tersedianya oksigen terlarut dalam air sangat menentukan kehidupan udang dan ikan. Oksigen terlarut dalam suatu perairan diperoleh melalui difusi dari udara ke dalam air, aerasi mekanis, dan fotosintesis tanaman akuatik. Sementara itu, oksigen terlarut dalam air dapat berkurang akibat adanya respirasi dan pembusukan bahan organik pada dasar perairan (Effendy, 2003).

Kandungan oksigen terlarut (DO) sangat penting bagi kehidupan organisme air, terutama ikan. Perairan dikatakan baik apabila kandungan oksigen terlarut cukup banyak. Oksigen terlarut di air dapat disebabkan oleh difusi udara, proses asimilasi tanaman air hijau, aliran air yang masuk, dan hujan. Ikan jenis carp mempunyai batas minimum oksigen yang dibutuhkan untuk hidup di suatu perairan, yakni sebesar 4,5 ppm. Apabila jumlah oksigen terlarut tinggi tidak mempengaruhi kehidupan ikan karper. Akan tetapi dalam kadar tertentu terlalu tinggi kadar oksigen terlarut dapat menyebabkan kematian pada ikan karper. Terjadi proses emboli gas dalam pembuluh darah ikan (Murtidjo, 2004)

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat – Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah baskom, nampan, section set, timbangan digital, mikroskop, kamera digital, beaker glass, gelas ukur, rotary evaporator, akuarium, aerator, batu aerasi, selang aerator, blower, seser, thermometer, pH meter, DO meter, spektrofotometer, tissue processor, Embedding machine, mikrotom, fotomikroskop, labu erlemayer, botol akuades, corong, autoklav.

##### 3.1.2 Bahan – Bahan Penelitian

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan mas (*C. carpio*) yang berasal dari petani ikan Punten Batu Jawa Timur. Ikan yang digunakan berukuran 7 – 11 cm. Bakteri yang digunakan adalah bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml yang telah diencerkan dengan kepadatan awal  $10^9$  sel/ml. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar dari kulit pohon ketapang (*T. catappa*), kertas saring, etanol 90%, Xylo, Formalin 10%, kertas label, alkohol 70%, tissue, Aquades, NB (*Nutrient Both*), sarung tangan, masker, paraffin cair, Hematoksin eosin, Benang, Aseton, NA (*Nutrien Agar*), pakan ikan (pellet), air tawar.

##### 3.2 Metode Penelitian

Penelitian eksperimental atau *experimental research* merupakan penelitian yang paling menyeluruh terkait dengan pengujian sebab-akibat. Penelitian eksperimental yang dilakukan dalam bidang fisika, kimia maupun biologi hampir secara keseluruhan ditujukan untuk menguji hubungan sebab-akibat dari beberapa hal atau variabel. Penelitian eksperimental menguji secara langsung hubungan antara variabel satu dengan variabel yang lain dan menguji hipotesis atau dugaan hubungan sebab-akibat (Sukmadinata, 2005).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Gambaran umum dari penelitian dapat kita lihat dari rancangan penelitiannya. Pada penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan paling sederhana jika dibandingkan rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat *local control*, sehingga sumber keragaman yang dapat diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun Rancangan Acak Lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- $Y_{ij}$  = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i ke ulangan ke-j
- $\mu$  = nilai rerata umum (mean)
- $T_i$  = pengaruh faktor perlakuan ke-i
- $\varepsilon_{ij}$  = pengaruh galat

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak kasar kulit pohon ketapang terhadap bakteri *A. hydrophila* pada cawan petri selama 24 jam. Pengamatan dilakukan berdasarkan pengukuran besarnya zona hambat yang muncul pada medium agar padat dengan satuan milimeter (mm). Tingkat dosis yang dipakai dalam pengukuran ini yaitu 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan beserta 1 kontrol yaitu kontrol normal. Hal pertama yang dilakukan yaitu menggunakan skala log dengan dosis 0 ppm, 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm serta K+ dan K-. Kemudian setelah menemukan ekstrak yang pertama kali bening akan dilanjutkan dengan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) untuk menemukan dosis yang tepat.

Berdasar Tabel 1 didapatkan pengaruh ekstrak kasar kulit pohon ketapang yang efektif untuk menghambat bakteri pada kisaran 750 ppm karena nilainya hampir mendekati kontrol positif (+). Maka dari itu, penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak kasar kulit pohon ketapang terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hasil dari skala log disajikan pada Tabel 1.

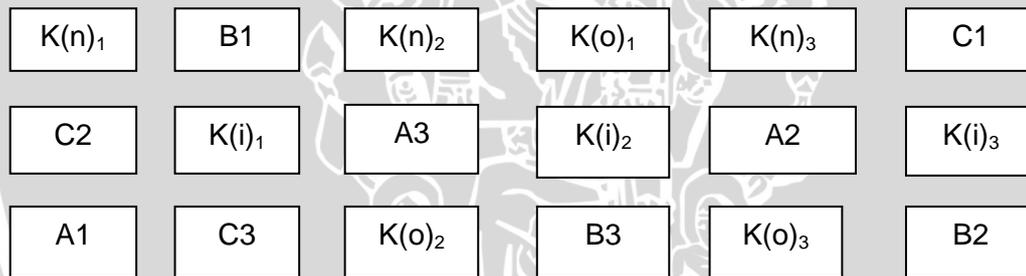
**Tabel 1.** Hasil Skala Log pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda – Beda

No	Dosis	Absorbansi	Keterangan
1	750 ppm	0,160	Bening
2	800 ppm	0,530	Bening
3	850 ppm	0,198	Bening
4	900 ppm	0,095	Bening
5	950 ppm	0,200	Bening
6	1000 ppm	0,595	Bening
7	1050 ppm	0,123	Bening
8	Kontrol -	0,358	Keruh
9	Kontrol +	0,151	Bening

Pada penelitian ini digunakan 3 kontrol pembanding yaitu kontrol normal, kontrol obat dan kontrol infeksi. Kontrol normal sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa perendaman ekstrak kasar kulit pohon ketapang, kontrol obat yaitu sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* namun dilakukan perendaman ekstrak kasar kulit pohon ketapang sedangkan kontrol infeksi sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* namun tanpa perendaman ekstrak kasar kulit ketapang. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol normal kontrol obat dan kontrol infeksi hanya sebagai pembanding. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 18 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 730 ppm
- B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman Ekstrak 750 ppm
- C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman Ekstrak 770 ppm
- Kn : Kontrol normal, yaitu tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak
- Ki : Kontrol infeksi, yaitu dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* namun tanpa perendaman ekstrak
- Ko : Kontrol obat, yaitu tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* namun dengan perendaman ekstrak

Untuk denah penelitian disajikan pada Gambar 4 :



**Gambar 4.** Denah Penelitian

Keterangan :

- A-B-C : perlakuan
- Ki : kontrol infeksi
- 1,2,3 : ulangan
- Kn : kontrol normal
- Ko : kontrol obat

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

- alat yang dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan koran dan diikat
- akuades dimasukkan ke dalam ruang sterilisasi autoklaf sampai menutup sistem pemanas untuk mencegah penimbunan kapur pada elemen pemanas

- keranjang yang berisi bahan atau alat yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian tutup autoklaf
- pada saat menutup, selang dimasukkan ke posisi yang tepat. Tanda panah pada penutup sejajar dengan garis tuas ditutup secara diagonal agar seimbang kekuatan pada saat menutup autoklaf
- klep keluarnya uap diposisikan berdiri atau tegak
- tombol ditekan ke arah ON
- thermostat diputar pada posisi maksimal di angka 10
- tunggu hingga keluar uap air dari klep lalu tutup atau arahkan ke samping
- tunggu sampai jarum menunjukkan suhu sterilisasi, temperatur diturunkan sampai lampu pada sterilisasi berwarna kuning
- atur waktu pada posisi 15 menit
- alarm berbunyi tanda sterilisasi berakhir, turunkan temperatur pada posisi minimal, matikan autoklaf pada posisi kebawah (OFF)

#### **b. Persiapan Alat Penelitian**

Wadah yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 40 x 40 x 40 cm<sup>3</sup> sebanyak 18 buah. Akuarium dicuci dengan detergen kemudian direndam dengan khlorin selama 30 menit dan kemudian dinetralsir dengan Na-Thiosulfat. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 2 hari untuk kemudian siap diisi dengan air pemeliharaan. Kemudian air pemeliharaan ikan diisi hingga tinggi air mencapai 25 cm dengan volume air 20 liter untuk kepadatan 15 ekor ikan dengan ukuran 7-11 cm. Akuarium dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk ketersediaan oksigen.

#### **c. Perisapan Ikan Uji**

Ikan uji yang digunakan adalah ikan Mas (*C. carpio*) yang diperoleh dari petani ikan. Dipilih ikan mas yang sehat sebanyak 300 ekor ukuran 7 – 11 cm dan diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui ikan yang akan digunakan adalah ikan yang benar – benar sehat

dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pellet secara adlibitum 2 kali sehari pada pukul 09.00 WIB dan sore hari pada pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi hari apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feses. Apabila ikan sudah beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka ikan siap untuk digunakan.

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

##### **1. Media Padat NA (*Nutrien Agar*)**

- NA merk OXOID dengan dosis 40gram/L
- NA sebangak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada erlemenyer
- media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen
- Erlemenyer ditutup dengan kapas dan kertas aluminium foil lalu ditali dengan benang
- media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 12°C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas
- media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label

##### **2. Media Cair NB (*Nutrien Broth*)**

- NB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemenyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning
- erlemenyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang
- media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 12°C tekanan 1 atm selama 15 menit
- media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas

### 3. Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

- larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlenmeyer sebanyak 220 ml
- jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 osse
- larutan NB dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C
- disiapkan cawan petri yang berisi media NA
- setelah NB menjadi keruh, jarum osse dicelupkan ke NB dan digoreakan ke permukaan NA
- digoreskan ke dalam media NA secara zig zag dengan metode goresan sinambung, T, atau kuadran
- media NA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.

### e. Pembuatan Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*)

Pembuatan ekstrak kasar kulit pohon ketapang dilarutkan dengan pelarut etanol 96% serta kulit pohon ketapang seberat 1 kg dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Dari 1 kg bahan basah diharapkan dapat menghasilkan serbuk kering sebanyak 200 gram. Serbuk kulit pohon ketapang 200 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml dengan rumus perbandingan 1:5 (100 g serbuk : 500 ml etanol 96% selama 2x24 jam ditempat yang gelap) kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Proses maserasi ini didiamkan selama 3 hari pada tempat yang gelap. Setelah 3 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari kulit pohon ketapang. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu

45°C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan selama 1 jam maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental sebanyak 25 gram.

### 3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a. Sterilisasi Akuarium Penelitian

- akuarium ukuran 40x40x40 cm<sup>3</sup> yang akan dipergunakan dipersiapkan terlebih dahulu
- akuarium dicuci dengan kaporit, didiamkan selama sehari kemudian dibilas dengan air bersih sampai bersih.
- akuarium dikeringkan
- akuarium disusun berdasarkan denah percobaan
- masing – masing akuarium diisi air

#### b. Pengenceran Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Protokol Pemeriksaan Laboratorium Uji Balai KIPM Kelas 1 Surabaya I. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan  $6 \times 10^9$  sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml. Untuk mendapatkan kepadatan  $10^7$  sel/ml dilakukan pengenceran. Perhitungan suspensi bakteri dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

- $N_1$ : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)
- $N_2$ : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)
- $V_1$ : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan
- $V_2$ : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Peremajaan bakteri  $10^9$  sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media NA (*Nutrien Agar*) dan diinkubasi selama 2 hari pada inkubator. Bakteri  $10^9$  sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media infeksi dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus di atas.

Berdasarkan rumus di atas didapatkan bahwa untuk mendapatkan bakteri kepadatan  $10^7$  sel/ml sebanyak 20 liter (20.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan  $10^9$  sel/ml sebanyak 200 ml ke dalam air sebanyak 20.000 ml.

#### c. Penginfeksi Bakteri pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Penginfeksi dilakukan dengan lama waktu maksimal 24 jam. Penginfeksi dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman. Pada perendaman ikan dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml menggunakan satu akuarium berukuran  $40 \times 40 \times 40$  cm<sup>3</sup> yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 20 liter, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 10^9 &= 20.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{10^9} \\ &= 200 \text{ ml} \end{aligned}$$

Hasil tersebut dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 200 ml. Selanjutnya diambil sampel insang ikan mas sebelum perendaman dan diamati insang ikan tersebut dari warna, struktur, dan bentuknya. Ikan mas direndam masing – masing 15 ekor/akuarium, kemudian dilakukan perendaman dengan bakteri. Ditunggu ikan hingga gelisah pertama kalinya dengan ciri-ciri ikan bergerak tidak beraturan. Kemudian dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Ikan dipelihara selama 10 hari. Pada setiap harinya dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB).

#### d. Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*) pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang dilakukan dengan metode perendaman. Akuarium ukuran  $40 \times 40 \times 40$  cm<sup>3</sup> yang sudah diisi air sebanyak 20

liter dan ditambahkan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) sesuai dengan dosis (730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm). Ikan direndam selama 6 menit sampai ikan gelisah pertama kali yang menandakan ekstrak kasar kulit pohon ketapang sudah bereaksi pada tubuh ikan, setelah ikan diobati dengan ekstrak kulit pohon ketapang, ikan dimasukkan ke dalam akuarium dengan ukuran 40x40x40 cm<sup>3</sup> masing-masing 15 ekor. Akuarium yang digunakan telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 10 hari. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari secara ad libitum, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari.

#### **e. Uji Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)**

Setelah selesai dilakukan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pemberian obat ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka ikan mas dipindahkan ke akuarium berukuran 40 x 40 x 40 cm<sup>3</sup> yang berisi air 20 liter, sebelumnya akuarium sudah diberi aerasi selama 24 jam. Kemudian akuarium tersebut diberi tanda setiap perlakuan seperti A (1,2,3), B (1,2,3), C (1,2,3), K<sub>normal</sub> (1,2,3), K<sub>infeksi</sub> (1,2,3), dan K<sub>obat</sub> (1,2,3). Pengamatan dilakukan selama 10 hari masa pemeliharaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi gejala klinis dari ikan dan jumlah ikan yang mati selama masa pemeliharaan. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari secara ad libitum, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

#### **f. Pengambilan Jaringan Insang**

Pengambilan sampel insang ikan dilakukan pada penelitian minggu kedua. Ikan diambil insangnya untuk diamati histologi insangnya. Sampel insang dimasukkan ke dalam botol kaca dan diberi pengawet yaitu larutan formalin

dilanjutkan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

#### **g. Pembuatan Histopatologi insang Ikan Mas (*C. carpio*)**

Setelah masa adaptasi selesai, insang ikan mas diambil sebagai salmpel untuk diamati histopatologinya. Sampel insang dimasukan ke dalam botol film dan diberi bahan pengawet yaitu larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahap–tahapnya yaitu:

- **Tahap Fiksasi**

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

- **Tahap Dehidrasi**

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

- **Tahap Clearing**

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

- **Tahap Impregnasi**

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

- **Tahap *Embedding***

Tahap ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40° C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE (*Hemotocyn Eosin*)), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat polyisin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50 - 60°C kurang lebih selama 30 menit.

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

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

- **Tahap *Mounting***

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

#### **h. Prosedur Skoring**

Hasil uji histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan insang ikan mas yang telah diberi ekstrak, dilakukan analisis statistik pemberian skoring dengan metode semi kuantitatif menurut Kakkilaya (2002), yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan

posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig zag) dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zig Zag)

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari tiga luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria hiperplasia, fusi, dan nekrosis. Persentase kerusakan setiap luas bidang lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan menurut KIM (2006) dalam Raza'i (2008) dengan rumus:

$$\text{Presentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel Yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

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

### 3.5 Parameter Uji

#### 3.5.1 Parametr Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan histopatologi Insang ikan mas. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan mas yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan mas setelah diobati yaitu dengan melihat histopatologi jaringan insang ikan.

### 3.5.2 Parameter Penunjang

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

### 3.6 Analisis Data

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

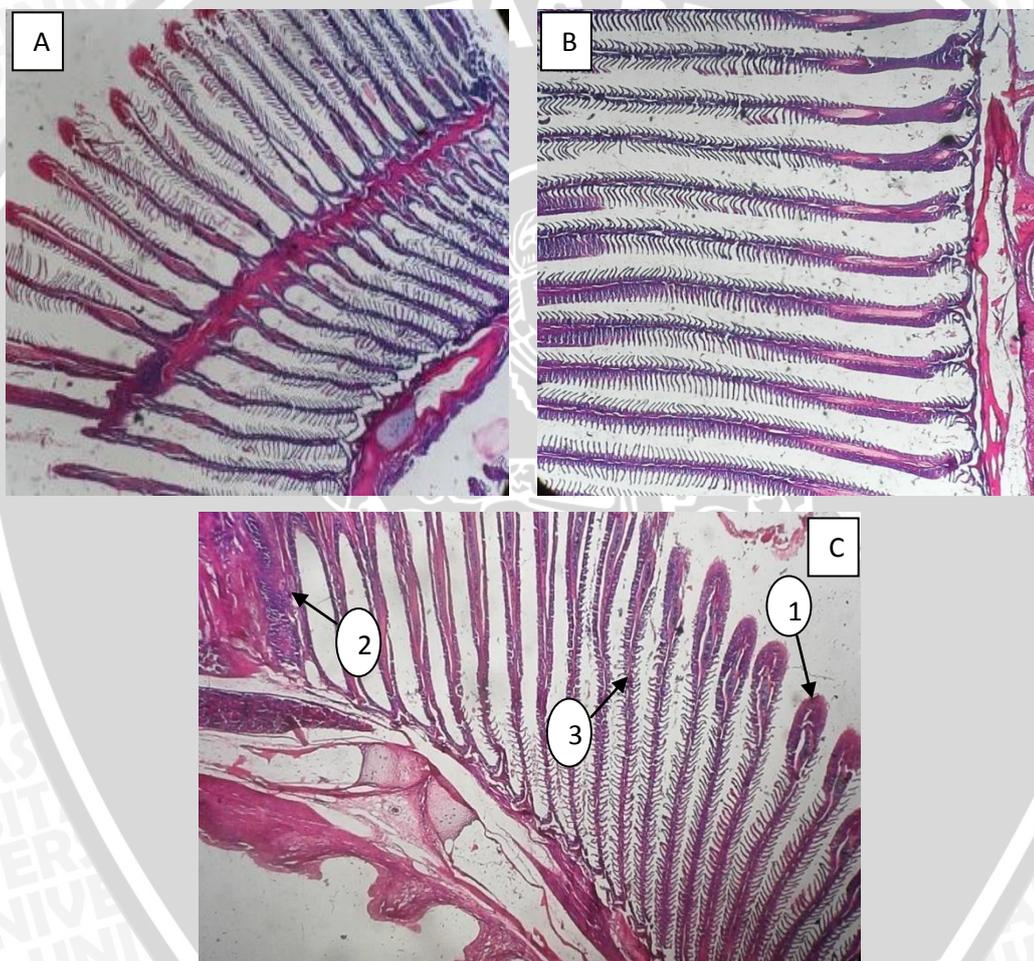
Analisis regresi mempelajari bentuk hubungan antara satu atau lebih peubah/variable bebas (X) dengan satu peubah tak bebas (Y). Dalam penelitian peubah bebas (X) biasanya peubah yang ditemukan oleh peneliti secara bebas misalnya dosis obat, lama penyimpanan, kadar zat pengawet, umur ternak dan sebagainya. Disamping itu peubah bebas bias juga berupa peubah tak bebasnya, misalnya dalam pengukuran panjang badan dan berat badan, karena panjang badan lebih mudah diukur maka panjang badan dimasukkan peubah bebas (X), sedangkan peubah tak bebas (Y) dalam penelitian berupa respon yang diukur akibat perlakuan/peubah bebas (X), misalnya jumlah sel darah merah akibat pengobatan dengan dosis tertentu, jumlah mikroba daging setelah disimpan beberapa hari berat pada umur tertentu dan sebagainya.

#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1 Gambaran Histopatologi Insang

##### 4.1.1 Gambaran Histopatologi Insang Normal, Insang Ikan yang Diberi Ekstrak Kulit Pohon Ketapang dan yang Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan dari hasil pengamatan selama penelitian terhadap gambaran histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*), pada insang ikan kontrol normal, kontrol obat dan kontrol infeksi dapat dilihat pada Gambar 6 dibawah ini.



**Gambar 6.** (A) Histologi Insang Normal Tanpa Perlakuan.(B) Histologi Insang yang diberi Obat Ekstrak, (C) Histologi Insang Infeksi Bakteri, Tanda Panah No. C1. Hiperplasia ; C2. Fusi ; C3. Nekrosis. Perbesaran 100x

Pada Gambar 6 (A), pada struktur jaringan insang ikan yang normal memperlihatkan jaringan insang yang masih utuh. Strukturnya terdiri dari

lengkung insang, sisir insang dan filamen insang. Pada lengkung insang dan lamella di sokong oleh kartilago (tulang rawan), sistem vaskuler dan lapisan epitelium. Menurut Fujaya (2004), insang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras dengan beberapa filamen insang di dalamnya. Tiap-tiap filamen terdiri atas banyak lamella, yang merupakan tempat pertukaran gas. Tugas ini ditunjang oleh struktur lamella itu yang tersusun atas sel-sel epitel yang tipis pada bagian luar, membran dasar dan sel-sel tiang sebagai penyangga pada bagian dalam. Pinggiran lamella yang tidak menempel pada lengkung insang sangat tipis, ditutupi oleh epitelium dan mengandung jaringan pembuluh darah kapiler. Jumlah dan ukuran lamella sangat besar variasinya, tergantung tingkah laku ikan.

Pada Gambar 6 (B), insang ikan mas (*C. carpio*) yang diberi obat ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terlihat mengalami kerusakan pada tulang rawan penyangga lamela insang ikan mas, karena pada kontrol obat, dosis yang diberikan sebesar 750 ppm, karena pada saat ikan mas dilakukan perendaman ekstrak kasar kulit pohon ketapang bias mengakibatkan racun bagi ikan mas itu seniri. Ekstrak kulit pohon ketapang mengandung beberapa metaolt skunder. Metabolit skunder merupakan senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan makhluk hidup dan memiliki bentuk yang tidak sama spesies. Metabolit sekunder diantaranya resin, steroid, alkaloid, tannin dan saponin serta flavonoid yang berperan dalam aktifitas antimikroba pada tanaman obat (Muhammad dan Mudi, 2011).

Sedangkan pada Gambar 6 (C), insang yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat mengalami kerusakan. Hal ini disebabkan telah terjadi penginfeksian bakteri *A. hydrophila*. *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif dan sering menimbulkan penyakit pada ikan air tawar. Gejala penyakit yang disebabkan *A. hydrophila* dapat menyebabkan gangguan pada sirip, ekor

dan organ dalam lainnya seperti insang. Seperti yang dikatakan oleh Natalia (2007), bahwa adanya bahan pencemar atau bakteri dalam perairan akan menyebabkan gejala kerusakan ditandai dengan pendarahan juga pembengkakan pada percabangan lamella.

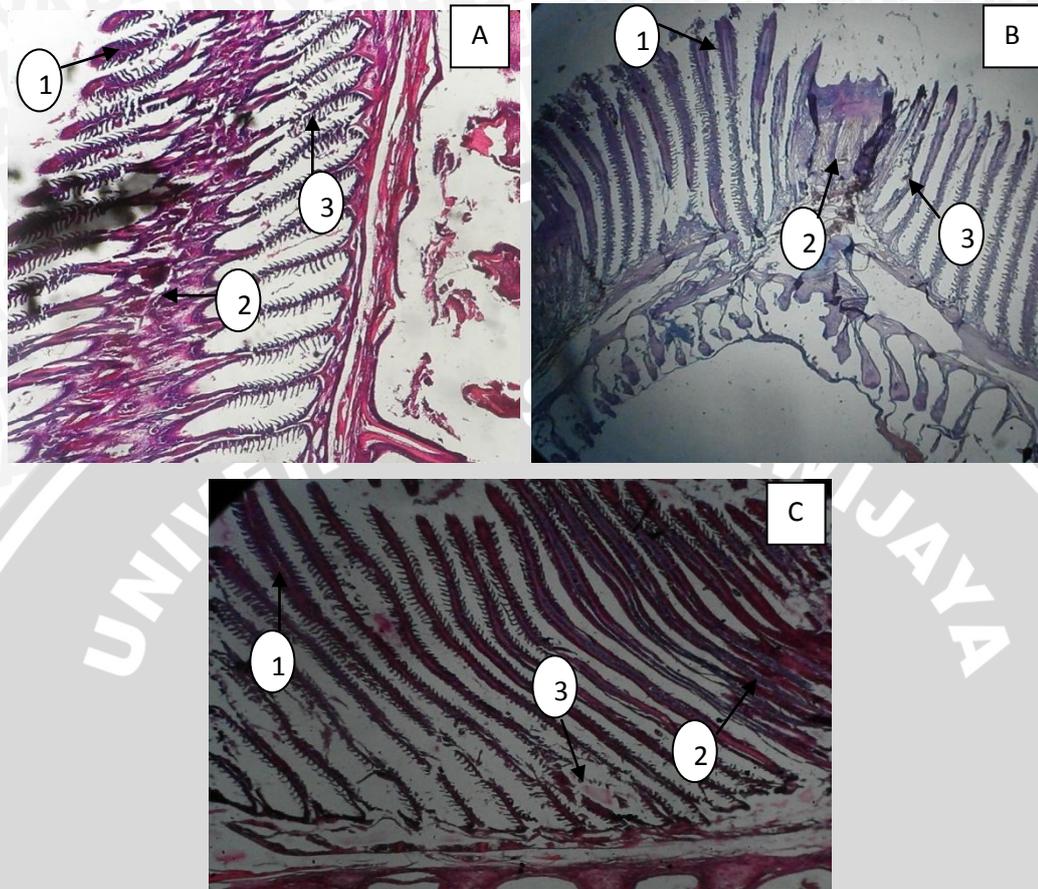
Insang ikan merupakan organ yang sangat penting dan sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup ikan karena fungsinya sebagai tempat bernafas (pertukaran udara). Peran insang yang sangat penting dan berhubungan langsung dengan air sebagai media hidupnya. Jika dalam media hidupnya yaitu air terdapat bakteri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

#### **4.1.2 Gambaran Histopatologi Insang Ikan Yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*)**

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan insang ikan Mas (*C. carpio*) yang diberi perlakuan yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 7. dengan pembesaran 400x. Dimana kondisi insang ikan Mas (*C. carpio*) setelah diberi perlakuan perendaman dengan dosis yang berbeda memperlihatkan bentuk histopatologi yang berbeda-beda pada tiap perlakuan. Meskipun tidak terlihat secara langsung bahwa pemberian obat dapat mempengaruhi pemulihan jaringan, tetapi perbedaan kerusakan yang terjadi pada jaringan insang dengan penambahan dosis ekstrak yang berbeda dapat ditunjukkan melalui nilai skoring.

Pada perlakuan A, B, dan C dengan dosis ekstrak berturut-turut adalah 730 ppm, 750 ppm, dan 770 ppm rata-rata mengalami kerusakan jaringan yang sama yaitu hiperplasia, fusi dan nekrosis. Namun pada hasil skoring terlihat ada perbedaan hasil pada masing-masing perlakuan. Pada hasil analisis data keragaman satu arah (one way anova) didapatkan hasil bahwa kerusakan yang

terjadi pada jaringan insang yaitu hiperplasia, fusi dan nekrosis menunjukkan hasil berbeda nyata.



**Gambar 7.** Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas yang telah Diberi Perlakuan Keterangan Gambar: (A) Dosis 730 ppm, (B) Dosis 750 ppm, dan (C) Dosis 770 ppm. (1) Hiperplasia, (2) Fusi dan (3) Nekrosis. Dokumentasi Penelitian. Perbesaran 100x

Analisis data kerusakan pada histologi jaringan insang yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar kulit pohon Ketapang (*T. catappa*) sebagai berikut :

#### a. Hiperplasia

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak kasar kulit pohon Ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rerata yang berbeda pada histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rerata Skoring Pengamatan Kerusakan Hiperplasia (%) pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan Rerata pandang			Jumlah	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
730 ppm (A)	2,67	2,33	2,67	7,67	2,55
750 ppm (B)	2,67	2,33	2	7	2,33
770 ppm (C)	1,67	1,67	1,33	4,67	1,55
Kontrol Normal	1	1	1	3	1
Kontrol Obat	3,33	3,33	3,33	9,99	3,33
Kontrol Infeksi	3,67	3,33	3	10	3,33

Berdasarkan Tabel 2 diatas dan perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisa Keragaman untuk mengetahui pengaruh perlakuan (Tabel 3).

**Tabel 3.** Analisa Keragaman Skoring Hiperplasia Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,65	0,825	13,095**	5,14	10,92
Acak	6	0,38	0,063			
Total	8	2,03	-			

Keterangan :(\*\*) = Berbeda sangat nyata

Pada hasil perhitungan Analisa Keragaman (Tabel 3), menunjukkan bahwa hasil F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, berarti perlakuan tersebut berpengaruh sangat nyata. Untuk itu perlu dilakukan perhitungan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 4).

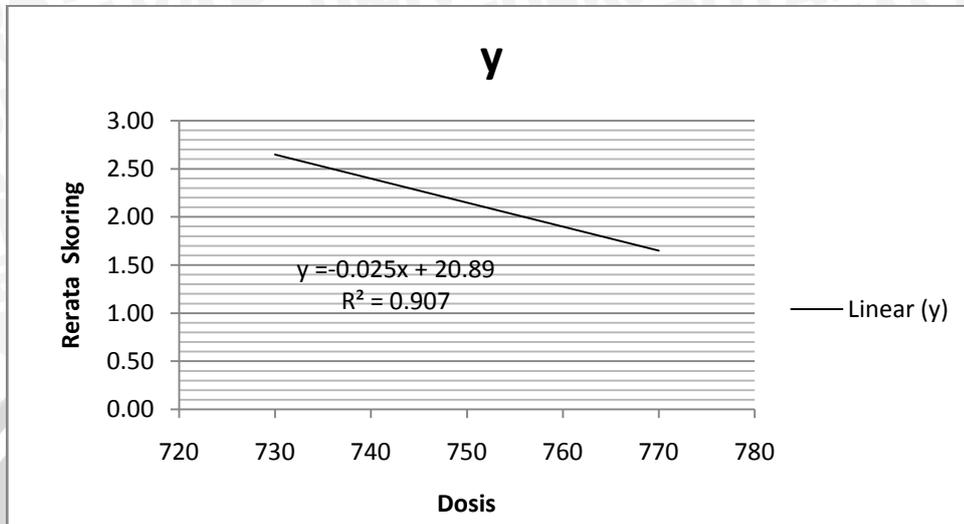
**Tabel 4.** Uji BNT Skoring Hiperplasia Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		4,67	7	7,67	
C	4,67	-	-	-	a
B	7	2,33**	-	-	b
A	7,67	3,00**	0,67*	-	c

Keterangan : BNT 5% = 0,46; BNT 1% = 0,75

Pada Tabel 4, diketahui bahwa hasil perlakuan A berbeda dengan perlakuan B dan C, dan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Untuk mengetahui perhitungan uji BNT bisa dilihat pada Lampiran 3. Selanjutnya

dilakukan uji *polynomial orthogonal* untuk mengetahui bentuk hubungan pemberian ekstrak yang berbeda terhadap histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*) dijelaskan pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Grafik Regresi Hiperplasia pada Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Pada grafik diatas (Gambar 8), menunjukkan bentuk hubungan antara dosis yang berbeda pada perlakuan terhadap kerusakan hiperplasia insang ikan mas (*C. carpio*) yang berbentuk Linier. Serta dapat dilihat pada Grafik tersebut persentase kerusakan hiperplasia yang terendah didapatkan pada perlakuan C (770 ppm) diikuti dengan perlakuan B (750 ppm) dan perlakuan A (730 ppm). Hal ini ditunjukkan dengan regresi mendekati nilai satu dimana didapatkan persamaan  $y = -0,025x + 20,89$  yang memiliki koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni 0,907.

Persentase kerusakan hiperplasia pada insang ikan mas (*C. carpio*) tiap perlakuan berbeda-beda, semakin rendah dosis yang diberikan pada perlakuan maka kerusakan yang ditimbulkan oleh bakteri semakin tinggi (parah), sebaliknya jika semakin tinggi dosis yang diberikan pada perlakuan maka kerusakan yang ditimbulkan oleh bakteri pada jaringan insang semakin rendah (berkurang), hal ini diketahui bahwa bentuk hubungan antara dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan kerusakan hiperplasia insang ikan mas (*C. carpio*)

berbanding terbluk, serta menunjukkan dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang diberikan berpengaruh terhadap persentase kerusakan insang ikan mas (*C. carpio*). Hal ini dikarenakan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memiliki bahan aktif alami seperti fenol dan flavonoid sebagai antibakteri. Sumino, Asep dan Wardianto (2013), menyatakan bahwa zat kimia yang terkandung dalam ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang diduga sebagai antibakteri adalah *tannin* dan *flavonoid* yang memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa ini menghambat proses metabolisme pada bakteri sehingga menyebabkan kematian pada bakteri. Maka dari itu bahan aktif dari ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) berperan aktif melawan bakteri yang menginfeksi insang ikan mas, dengan semakin tingginya dosis yang diberikan mampu mengurangi dan menghambat dampak kerusakan hiperplasia yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*.

Kerusakan hiperplasia adalah pembengkakan pada jaringan atau sel karena bertambahnya jumlah sel. Kerusakan hiperplasia dapat diakibatkan oleh infeksi bakteri, virus dan parasit serta bahan beracun lainnya yang mengakibatkan terjadinya kerusakan hiperplasia pada jaringan insang ikan mas (*C. carpio*). Routledge (1978) dalam Mahasri *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa, hiperplasia diantaranya disebabkan oleh adanya infestasi parasit dan toksin. Zat spesifik (mucus spesifik) *Zoothamnium* sp. dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada organ. Hiperplasia terjadi pada tingkat iritasi yang ujung filament yang memperlihatkan bentuk seperti pemukul bisbol (*clubbing distal*) atau penebalan jaringan epithelium yang terletak disekitar dasar lamella (basal hiperplasia). Hiperplasia ini dapat terjadi akibat stimulasi kimia dari polutan-polutan, infeksi parasit, bakteri, desinfeksi asam pantotenat dan bentuk pencemaran lingkungan yang lain misalnya pH yang terendah (Fesit, 2002 dan Olurin *et al.*, 2006 dalam Ersa *et al.*, 2010)

## b. Fusi

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan mas yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rerata yang berbeda pada histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang disajikan pada Tabel 5.

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

Perlakuan	Ulangan Rerata pandang			Jumlah	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
730 ppm (A)	2,33	2,33	2,67	7,33	2,44
750 ppm (B)	2,67	2,33	2	7	2,33
770 ppm (C)	1,67	1,67	1,33	4,67	1,56
Kontrol Normal	1	1	1	3	1
Kontrol Obat	2,67	2,67	2,33	7,67	2,55
Kontrol Infeksi	3,33	3	3,33	9,66	3,22

Berdasarkan Tabel 5 diatas dan dapat dilihat pada Lampiran 3, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisa Keragaman untuk mengetahui pengaruh perlakuan (Tabel 6).

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

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,41	0,70	11,10**	5,14	10,29
Acak	6	0,37	0,06			
Total	8	1,78				

Keterangan : (\*\*) = Berbeda sangat nyata

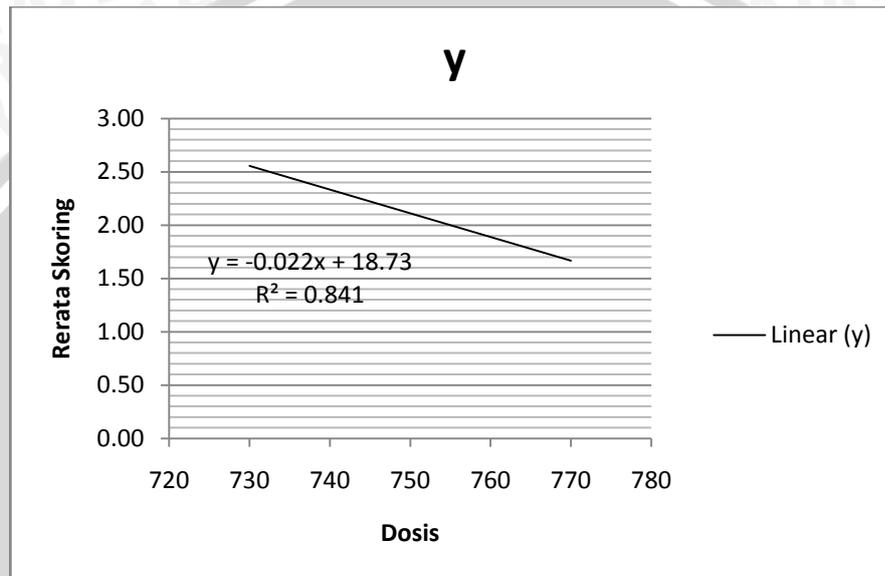
Pada hasil perhitungan sidik ragam (Tabel 6), menunjukkan bahwa hasil F hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, berarti perlakuan tersebut berpengaruh sangat nyata. Untuk itu perlu dilakukan perhitungan Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 7).

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

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		4,67	7	7,33	
C	4,67	-	-	-	a
B	7	2,33**	-	-	b
A	7,33	2,66**	0,33*	-	c

Keterangan : BNT 5% = 0,43 ; BNT 1% = 0,70

Pada Tabel 7, diketahui bahwa hasil perlakuan A berbeda dengan perlakuan B dan C, dan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Untuk mengetahui perhitungan uji BNT bisa dilihat pada Lampiran 3. Perlu dilakukan uji *polynomial orthogonal* untuk mengetahui bentuk hubungan pemberian ekstrak yang berbeda terhadap histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*) dijelaskan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Grafik Regresi Fusi pada Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Pada grafik diatas (Gambar 9), menunjukkan bentuk hubungan antara dosis berbeda pada perlakuan terhadap kerusakan hyperplasia insang ikan mas (*C. carpio*) yang berbentuk Linier. Hal ini ditunjukkan dengan regresi mendekati nilai satu dimana didapatkan persamaan  $y = -0,022x + 18,73$  yang memiliki koefisien determinasi ( $R^2$ ) yakni 0,841.

Berdasarkan perhitungan diatas dapat diketahui bahwa perlakuan C (770 ppm) dengan hasil rerata sebesar 1,56, merupakan dosis yang baik bila dibandingkan dengan perlakuan A (730 ppm) dan B (750 ppm), dimana bentuk hubungan antara dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan kerusakan fusi insang ikan mas (*C. carpio*) berbanding terbalik, semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun (semakin

membaik), serta menunjukkan dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang diberikan berpengaruh terhadap persentase kerusakan fusi insang ikan mas (*C. carpio*). Hal ini dikarenakan selain ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memiliki bahan aktif seperti tannin dan flavonoid sebagai antibakteri, ekstrak juga mengandung saponin dan tanin juga sebagai antibakteri. Hal ini didukung oleh pernyataan Alabi *et al.* (2012), sebagai antibakteri tannin bekerja menggumpalkan sel sitoplasma bakteri sehingga metabolisme bakteri terganggu. Setelah itu dilanjutkan dengan bahan aktif saponin yang bekerja memberikan jalan masuk untuk materi toksik ke dalam sel bakteri atau dengan kata lain membuka jalan kebocoran kandungan sitoplasma sel yang sebelumnya digumpalkan oleh tannin. Maka dari itu bahan aktif dari ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan semakin tinggi dosis yang diberikan mampu mengurangi dan menghambat dampak fusi yang diakibatkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila*.

Kerusakan fusi terjadi diyakini akibat adanya hiperplasia yang meluas pada sel-sel jaringan insang. Terjadinya kerusakan fusi juga diyakini disebabkan karena terinfeksi akibat bakteri *A. hydrophila* pada sel-sel jaringan insang seperti lamella sekunder memaksa organ tersebut mengeluarkan banyak lender untuk menutupi luka tersebut sehingga terjadi pendempetan antara lamella sekunder yang satu dengan yang lainnya. Hal ini sesuai pendapat Sipahutar *et al.*, (2013), fusi lamella terjadi akibat peningkatan patologi hiperplasia secara terus menerus dan menyebabkan terisinya ruang antara lamella sekunder oleh sel-sel baru yang kemudian memicu terjadinya perlekatan pada kedua sisi lamella. Kejadian ini didukung oleh Benli dan Ozkul (2008) dalam Sipahutar *et al.*, (2013), yang menyatakan bahwa kejadian fusi lamella merupakan level kerusakan berat karena fusi lamella merupakan kerusakan tahap lanjutan dari kerusakan hiperplasia.

### c. Nekrosis

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rerata yang berbeda pada histopatologi insang ikan mas yang disajikan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Rerata Skoring Pengamatan Kerusakan Nekrosis (%) pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan Rerata Pandang			Jumlah	Rerata
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
730 ppm (A)	1,67	2,33	3	7	2,33
750ppm (B)	2,33	2	1,67	6	2
770ppm (C)	1,33	1,67	2	5	1,67
Kontrol Normal	1	1	1	3	1
Kontrol Obat	2	2	2,67	6,67	2,22
Kontrol Infeksi	3,33	3,33	3,33	9,99	3,33

Berdasarkan Tabel 8 dan pada Lampiran 3, dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan nekrosis pada jaringan insang ikan Mas (*C. carpio*) yang terbaik berturut-turut diperoleh pada perlakuan C (770 ppm), B (750 ppm) dan A (730 ppm). Kemudian dilanjutkan dengan uji Sidik Ragam untuk mengetahui pengaruh perlakuan (Tabel 9).

**Tabel 9.** Sidik Ragam Skoring Nekrosis pada Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,67	0,33	1,52 <sup>ns</sup>	5,14	10,92
Acak	6	1,32	0,22			
Total	8	1,99	-			

Keterangan (<sup>ns</sup>) Tidak Berbeda Nyata

Pada Tabel 9 menunjukkan bahwa hasil F hitung sebesar 1,52 lebih kecil dari F tabel 5% yakni 5,14 dan F tabel 1% yakni 10,92, hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) tidak berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis pada histopatologi insang ikan Mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Sehingga tidak perlu dilakukan perhitungan BNT (Beda Nyata Terkecil), untuk perhitungan lengkapnya sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 3.

Nekrosis adalah kematian dini sel dan jaringan hidup. Nekrosis ini disebabkan oleh faktor eksternal, seperti infeksi (bakteri, virus ataupun jamur), dan disebabkan oleh racun. Prince dan Wilson (2006) dalam Asniatih, Muhammad Idris dan Kadir Sabilu (2013), menyatakan bahwa nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan hilangnya fungsi pada daerah yang mengalami nekrosis.

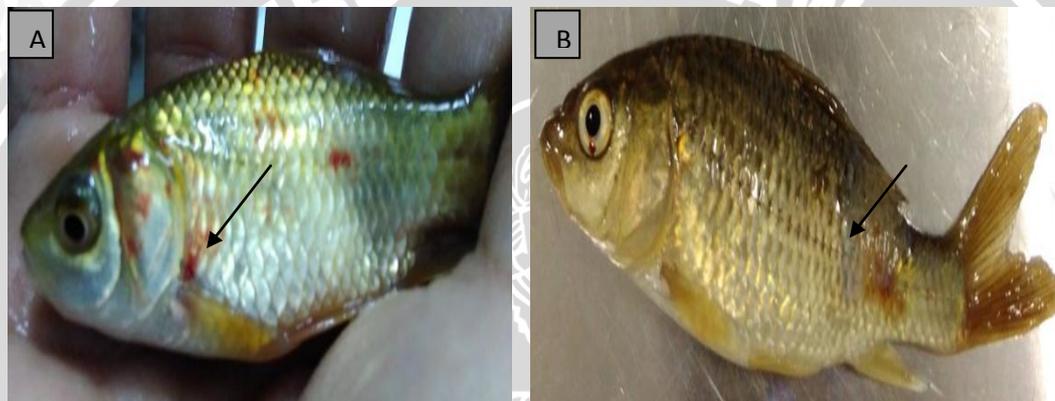
Hasil pengamatan yang dilakukan pada kerusakan nekrosis yang terjadi pada insang ikan Mas (*C. carpio*) yang diberikan perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta dilakukan pemberian ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) tidak menunjukkan adanya nilai yang tinggi. Sehingga pada tahapan skoring tidak dilakukan perhitungan lanjutan. Hal ini dimungkinkan karena sebelum terjadinya kerusakan nekrosis pada insang ikan mas (*C. carpio*), bakteri *A. hydrophila* yang menginfeksi insang ikan mas (*C. carpio*) sudah mengalami kematian karena diduga disebabkan oleh bahan aktif yang terkandung didalam ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dan juga dosis yang diberikan sangat tinggi meyakinkan bahwa pada jaringan insang ikan mas yang terkena kerusakan bakteri *A. hydrophila* sudah terjadi pemulihan pada jaringan sel-sel yang rusak, sehingga tidak sampai pada tahap kerusakan nekrosis.

Mandasari (2006) dalam Aminah, Selamet dan Sarjito (2014) menyatakan bahwa ekstrak daun ketapang mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin. Sedangkan menurut Saifudin, (2006) dalam Aminah, Selamet dan Sarjito (2014), Tanin memiliki daya antibakteri dengan cara mempresipitasikan protein. Secara umum efek antibakteri tanin antara lain reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik bakteri. Robinson (1995) dalam Aminah, Selamet dan Sarjito (2014), menjelaskan bahwa saponin memiliki

kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang mempunyai fungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga luka tidak mengalami infeksi yang berat.

#### 4.2 Gejala Klinis

Pada pengamatan gejala klinis dilakukan pengamatan selama masa pemeliharaan sepuluh hari, dimana terdapat perubahan gejala klinis yang sangat berbeda yaitu setelah dilakukan penginfeksi dan sebelum penginfeksi (normal). Gejala klinis ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 10 di bawah ini :



**Gambar 10.** Gejala Klinis Ikan Mas (*C. carpio*) (A). Bercak Merah di tubuh, (B). Sisik mengelupas

Gejala klinis yang ditunjukkan pada ikan setelah dilakukan penginfeksi adalah ikan berenang di dasar dan menggesek-gesekkan tubuhnya ke dinding akuarium. Ikan terlihat kurang aktif. Sisik ikan mengelupas ditandai banyak sisik yang terlepas serta berada di dasar perairan. Hal ini dikarenakan serangan bakteri *A. hydrophila* sudah mulai menyerang kekebalan tubuh ikan mas, sehingga gejala ikan sakit mulai dapat dilihat. Pada ikan yang sudah dilakukan penginfeksi bakteri *A. hydrophila*, terlihat tubuhnya mengeluarkan lendir, hal ini terjadi karena ikan mulai mengeluarkan sistem pertahanan tubuhnya untuk melawan serangan bakteri. Berbeda dengan ikan yang belum dilakukan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* (ikan normal), yang dipelihara di akuarium

dengan kondisi lingkungan yang sama, ikan terlihat berenang aktif, badannya segar dan tidak terdapat cacat fisik atau gejala klinis yang lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Mulia (2003) gejala-gejala serangan bakteri *A. hydrophila* di antaranya, kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilangnya nafsu makan.

Gejala klinis pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa dosis ekstrak kulit pohon ketapang yang diberikan memberikan respon berbeda terhadap penyembuhan ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada dosis yang diberikan, dosis A (730 ppm) belum menunjukkan respon yang baik terhadap penyembuhannya. Pada dosis B (750 ppm) terlihat ikan yang diakuarium berenang aktif tapi masih ada beberapa ikan yang berenang pasif dan pada saat pemberian pakan ikan merespon dengan baik. Sedangkan pada dosis C (770 ppm) ikan mampu disembuhkan setelah dilakukan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kulit pohon ketapang. Pada dosis 770 ppm ikan sudah mampu disembuhkan oleh senyawa aktif yang ada pada ekstrak kulit pohon ketapang. Seperti yang diketahui bahwa bahan aktif yang terdapat pada kulit pohon ketapang bersifat sebagai antibakteri. Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang khusus digunakan untuk mencegah infeksi bakteri. Aktivitas antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu aktivitas bakteristatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas).

#### **4.3 Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)**

Berdasarkan hasil penelitian, berikut ini adalah data kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) selama pemeliharaan 10 hari, dapat dilihat pada Tabel 10 dan dapat dilihat di Lampiran 4.

**Tabel 10.** Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*) Selama 10 Hari Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan	$\Sigma$ Ikan awal penelitian	$\Sigma$ Ikan akhir penelitian (10 hari)	SR (%)	ARCSIN
A (730 ppm)	1	10	8	80	63,44
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
B (750 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
C (770 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	5	50	45,00
	3	10	3	30	33,21
Kontrol Normal	1	10	10	100	90,00
	2	10	10	100	90,00
	3	10	10	100	90,00
Kontrol Infeksi	1	10	3	30	33,21
	2	10	2	20	26,56
	3	10	0	0	0
Kontrol Obat	1	10	7	70	56,79
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79

Pernyataan tabel diatas, untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*), maka dilakukan uji sidik ragam. Sebelum data diolah menggunakan regresi, data nilai kelulushidupan dan setiap perlakuan di lakukan 3 kali ulangan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di dapatkan data rerata nilai kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang dapat di lihat pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (730 ppm)	63,44	50,77	56,79	171,00	57,00
B (750 ppm)	50,77	50,77	56,79	158,33	52,78
C (770 ppm)	50,77	45,00	33,21	128,98	43,00
Kontrol Normal	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
Kontrol Obat	56,79	50,77	56,79	164,35	54,78
Kontrol Infeksi	33,21	26,56	0	59,77	19,92

Berdasarkan dari hasil Tabel 11 diatas, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisis Keragaman untuk mengetahui pengaruh perlakuan (Tabel 12).

**Tabel 12.** Analisis Keragaman Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3745,46	1248,49	37,73**	4,07	7,59
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11	4010,16	-			

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Dilihat dari perhitungan asalisa keragaman (Tabel 12) di atas menunjukkan hasil dari F hitung sebesar 37,73 lebih besar dari F tabel 5 % dan F tabel 1 %. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*). Selanjutnya dilanjutkan dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 13).

**Tabel 13.** Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rerata	C	B	A	K	Notasi
		43,00	52,78	57,00	90,00	
C	43,00	-	-	-	-	a
B	52,78	9,78 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
A	57,00	14,01 <sup>ns</sup>	4,22 <sup>ns</sup>	-	-	a
K	90,00	47,01**	37,22*	33,00*	-	b

Keterangan : BNT 5% = 24,14; BNT 1% = 41,29

Dari uji BNT tersebut menunjukkan hasil tidak berbeda nyata sehingga tidak perlu dilakukan Uji *Polinomial Orthogonal* untuk mengetahui respon pemberian dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang baik. Untuk mengetahui perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 4.

Berdasarkan perhitungan sebelumnya dapat diketahui bahwa perlakuan A (730 ppm) merupakan dosis yang baik jika dibandingkan hasil perhitungan kelulushidupan perlakuan B dan C sebesar 70%. Berdasar data ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka

dapat menurunkan nilai kelulushidupan dari ikan mas (*C. carpio*). Kandungan alami yang terdapat pada ekstrak kulit pohon ketapang seperti saponin atau tanin di dalam kulit pohon ketapang akan bersifat racun jika kadarnya terlalu tinggi dalam air media pemeliharaan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Francis *et al.*, (2002), Kandungan alami yang terkandung dalam kulit pohon ketapang seperti Saponin dapat berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan karena memiliki daya toksik atau racun karena dapat merusak sistem epitelia pada sistem respirasi. Saponin dapat digunakan sebagai bahan tradisional aktif untuk membunuh atau meracuni ikan. Namun, penggunaan saponin yang sesuai dengan kebutuhan ikan yakni sebesar 20 mg saponin/L selama 24 jam akan menimbulkan efek yang cukup baik seperti pertumbuhan ikan akan meningkat, sebagai obat antikanker, keseimbangan hormon dan tingkat konsumsi  $O_2$  berkurang.

#### 4.4 Pengamatan Kualitas Air

Kualitas air selama masa pemeliharaan berlangsung merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan karena kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Apabila kualitas air tidak sesuai dengan lingkungan hidup ikan Mas (*C. carpio*) maupun bakteri *A. hydrophila* maka kemungkinan akan mempengaruhi kelangsungan hidup ikan Mas (*C. carpio*) dan *A. hydrophila* sehingga dapat mengakibatkan ikan mati. Selama penelitian berlangsung dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Selain itu kualitas air yang buruk akan mempengaruhi kondisi ikan menjadi stres, akibatnya bakteri dengan mudah menginfeksi ikan.

Selama penelitian dilakukan pengukuran kualitas air media uji yaitu : suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Berikut hasil pengukuran kualitas air selama penelitian disajikan pada Tabel 14 dan dapat diliaht pada Lampiran 5.

**Tabel 14.** Kualitas Air pada Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Penelitian

No	Parameter Kualitas Air	Kisaran Pemeliharaan Kualitas Air Pada Perlakuan
1.	Suhu (°C)	24,6 – 25,9°C
2.	pH	7 – 7,7
3.	Oksigen Terlarut (DO)	3,9 – 4,8 mg/L

#### 4.4.1 Suhu

Pada pengukuran kualitas air yang terdapat pada pengamatan histopatologi didapatkan hasil suhu berkisar antara 24,6-25,9°C. Hal ini membuktikan bahwa kondisi suhu air hidup ikan Mas (*C. carpio*) sama seperti habitatnya. Menurut Esther dan Sipayung (2010), suhu ideal bagi ikan mas berkisar antara 15-25°C. Iklim Indonesia masih cukup layak untuk memelihara ikan mas. Meskipun demikian harus diperhatikan agar kolam atau aquarium ikan mas tidak langsung terkena sinar matahari. Hal ini untuk mencegah suhu air tidak melebihi suhu ideal.

#### 4.4.2 pH

Kisaran pH yang diamati selama pengamatan histologi berkisar antara 7 – 7,7. Tidak berbeda jauh dengan Dayat dan Sitanggung (2004), ikan Mas (*C. carpio*) biasanya sangat suka dengan air yang memiliki pH 6 – 7. Ini berarti sangat cocok dengan kondisi perairan di Indonesia.

#### 4.4.3 DO (Oksigen Terlarut)

Dalam penelitian selama dua minggu mengenai histopatologi, penelitian ini juga mengamati dissolved oxygen (DO) yang memiliki kisaran yang besar antara 3,9-4,8 ppm. Menurut Rudiyantri dan Diana (2009), pada penelitian yang dilakukan terhadap ikan mas pengukuran DO berkisar antara 3,40 – 5,19 mg/L.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*) terhadap Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” yaitu sebagai berikut :

- Pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap histopatologi insang ikan mas (*C. carpio*) yang dibuktikan melalui uji kerusakan hiperplasia, fusi, dan kelulushidupan akan tetapi tidak berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis pada insang ikan mas (*C. carpio*).
- Dosis yang efektif untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan insang yang diakibatkan karena infeksi oleh bakteri *A. hydrophila* adalah 730 ppm pada perlakuan A. Untuk analisa kelulushidupan (SR) sebagai parameter penunjang didapatkan hasil yang terbaik adalah 57,00 pada perlakuan A. Parameter kualitas air menunjukkan kondisi normal yaitu suhu berkisar antara 24,6 – 25,9<sup>0</sup>C, pH 7 – 7,7 dan DO berkisar 3,9 – 4,8 ppm.

### 5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian bisa disarankan dapat menggunakan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) dengan dosis 730 ppm untuk ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan dilakukan pengujian histopatologi selain insang ikan mas (*C. carpio*) seperti kulit, hati, ginjal, ataupun saluran pencernaan lainnya dari ikan mas (*C. carpio*), serta untuk mengetahui perhitungan pemberian dosis yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adliah, N. 2011. Analisa Pendapatan Usha Pengolahan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Perspektif Laporan Keuangan (Studi Kasus pada Limbung mas Indah, Kelurahan Kelebajeng, Kecamatan Bajeng, Kecamatan Gowa).
- Afrianto dan Liviawaty, 1992. Pakan Ikan dan Perkembangannya. Yogyakarta: Kanisius. 157 hlm.
- Ahdiyah, U. L. 2011. Penggunaan Jerami Dan Serbuk Gergaji Sebagai Media Pengisi Pada Penyimpanan Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*) Tanpa Media Air. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 65 hlm.
- Ahmed, S. M., V. Swamy., P.G.R Dhanapal and Vm Chandrashekara. 2005. Anti-Diabetic Activity of *Terminalia catappa* Linn. Leaf Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics*. (4): 36-39.
- Alabi, O. A., M. T. Haruna., C. P. Anokwuru., T. Jagede., H. Abia., V. E. Okegbe, dan B. E. Esan. 2012. Comparative Studies on Antimicrobial Properties of Extracts of Fresh and Dried Leaves of *Carica papaya* L. on Clinical Bacterial and Fungi Isolates. *Advances in Applied Science Research* 3(5): 3107-3114.
- Aminah., S.B. Prayitno, Sarjito. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia Cattapa*) Terhadap Kelulushidupan Dan Histologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(4) : 118-125.
- Aqil, D.E. 2010. Pemanfaatan Plankton Sebagai Sumber Makanan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Waduk H. Juanda, Jawa Barat. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. 70 hlm.
- Asniatih., M. Idris Dan S. Kadir. 2013. Studi Histopatologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. Vol. 03 No.12. hal 13-21.
- Bachtiar, Y. 2002 Pembesaran Ikan Mas di Kolam Pekarangan. Jakarta: Agromedia Pustaka. 178 hlm.
- Boyd, C. E. 1979. Water Quality Management and Aeration In Shrimp Farming. Proyek Penelitian. 293 hlm.
- Campbell dan A. Neil, 2004. Biologi Insang Ikan. Erlangga. Jakarta. 504 hlm.
- Dayat., Muhammad dan Sitanggang. 2004. Budidaya Ikan Koi Blitar. PT. Agromedia : Jakarta.

- Effendy dan Hefni. 2003. Telaah Kualitas Air : Bagi pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Kanisius Yogyakarta. 338 hlm.
- Eka, Y. 2011. Tingkat Serangan Ektoparasit pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*) pada Beberapa Pembudidaya Di Kota Makasar (Skripsi). Makasar, Universitas Hasanuddin. Tidak di Publikasikan.
- Ersa, I. M. 2010. Gambaran Histopatologi Insang, Usus dan Otot pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Cimpea, Bogor. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Tidak di Publikasikan.
- Esther, Fransisca, Sipayung Dan Hendra. 2010. Panduan Praktis Memelihara Koi. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. hlm 14
- Fujaya, Y. 2008. Fisiologi Hewan Air. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 180 hlm
- Francis., George., Z. Kerem., H. P. S. Makkar dan K. Becker. 2002. The Biological Action Of Saponins In Animal Systems. British Journal of Nutrition. (88): 587–605.
- Google Image. 2015. Gambar Ikan Mas. <https://puangrate.files.wordpress.com/2011/06/ikanmas.jpg> diunduh pada 15 Maret 2015
- \_\_\_\_\_. 2015. Gambar *Aeromonas hydrophila*. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Aeromonas\\_hydrophila\\_Blanco1.144.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Aeromonas_hydrophila_Blanco1.144.jpg) diunduh pada 15 Maret 2015
- \_\_\_\_\_. 2015. Gambar Pohon Ketapang. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Terminalia\\_catappa\\_Blanco1.144.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cc/Terminalia_catappa_Blanco1.144.jpg) diunduh pada 15 Maret 2015
- Infotek, 2010. Tanaman Ketapang Sebagai Penghasil Minyak Nabati. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2 (8).
- Irianto, A., Hemayanti dan N. Iriyanti. 2006. Pengaruh Suplementasi Probiotik A3-51 Terhadap Derajat Imunitas *Oreochromis niloticus* didasarkan pada Angka Kuman pada Ginjal Setelah Uji Tantang dengan *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas salmonicida achromogenes*. *Jurnal Perikanan*. 8(2): 144-152.
- Khairuman., D. Sudenda dan B. Gunadi. 2008. Budidaya Ikan Mas secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm.
- Kordi, K.M.G.H. 2004. Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan. Jakarta. PT. Rineka Cipta. 190 hlm
- Kordi. K.M.G.H dan Tanjung, 2007. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. Penervit Rineka Cipta. Jakarta. 210. hlm.
- Lingga. P. 2002. Ikan Mas Kolam Air Deras. Penebar Swadaya, Depok.

- Mahasri, G., L. Raya, A. S, Mubarak dan B, Irawan, 2008. Gambaran Patologi Insang Dan Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) Yang Terserang Ciliata Patogen Dari Famili Vorticellidae (*Zoothamnium* sp.). Berkala Ilmiah Perikanan. Vol 3, No. 1. Universitas Airlangga. 09 hlm
- Muhammad, A., S.Y. Mudi. 2011. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Terminalia catappa*, Leaf Extracts. Department of Pure and Industrial Chemistry, Bayero University, Kano. 23 (1): 35-39.
- Mulia, D.S. 2003. Pengaruh Vaksin *Debris* Sel *Aeromonas hydrophila* Dengan Kombinasi Cara Vaksinasi dan Booster Terhadap Respons Imun dan Tingkat Perlindungan Relatif Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). Tesis. PPs. UGM. Yogyakarta. 60 hlm.
- Murtidjo, B.A. 2004. Budidaya Karper Dalam Jaring Apung Karamba. Kanisius. Yogyakarta. 76 hlm.
- Muryati., S., Devi R.Y, dan Erlita, V.M., 2009. Uji Aktivitas Antiksidan Dengan Metode Linoleat-Tiosianat Serta Penentuan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa*). Jurnal Media Farmasi Indonesia. Vol 4, No. 2. Universitas Semarang. 426-431 hlm.
- Muslim. 2010. Maskulinisasi Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Dengan Pemberian Tepung Testis Sapi. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. hal 55-56. Tidak di Publikasikan
- Narantaka dan Anggit. 2012. Pembenuhan Ikan Mas. Javalitera : Yogyakarta. 287 hlm.
- Natalia dan Mariani. 2007. Pengaruh Plumbum (Pb) Terhadap Struktur Insang Ikan Mas (*Cyprinus carpio*, L). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan* . Vol. 12 No. 1. 42 - 47 hlm
- Pasaribu dan Somantri. 2004. Penyakit Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Dan Koi. Agro Media Pustaka : Jakarta. 235 hlm.
- Pazra, D.B. 2008. Gambaran histopatologi insang, otot dan usus Pada ikan lele (*clarias* spp.) Asal dari Daerah bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hlm
- Pitrianty. S. 2012. Anatomi tumbuhan.html. <https://www.blogger.com/navbar.g>. Diakses pada tanggal 4 Mei 2015
- Prajitno, A. 2005. Diktat Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Ratnawati. A., Purwaningsih., Uni., dan Kurniasih. 2013. Histopatologis Dugaan *Edwardsiella tarda* sebagai Penyebab Kematian Ikan Mas koki (*Crassius auratus*): Postulat Koch. *Jurnal Sain Veteriner*. Vol 31 (1): hlm 55-65

- Riskitavani, D.V dan K.I Purwani. 2013. Studi Potensi Bioherbisida Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap Gulma Rumput Teki (*Cyperus rotundus*). Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). hal 21-22
- Rudiyanti., Siti Dan D. Ekasari, Astri.2009. Pertumbuhan Dan *Survival Rate* Ikan Mas (*Cyprinus Carpio Linn*) Pada Berbagai Konsentrasi Pestisida Regent 0,3 G. *Jurnal Saintek Perikanan* .Vol. 5, No. 1 : hlm 49 - 54
- Salikin., R. Qamarul., Sarjito Dan Budi Prayitno, Slamet. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Terhadap Mortalitas Dan Histologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Caviae*. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*. Vol 3, No 3 :hlm 43-50
- Sanoesi, E. 2008 Penggunaan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya linn*) terhadap jumlah sel makrofag pada ikan mas (*Cyprinus carpio L.*) yang terinfeksi bakteri aeromonas hydrophila. *Jurnal penelitian perikanan*, vol 11, no. 2, desember 2008.
- Santoso, B. 1995. Budidaya Ikan. Yogyakarta: Kanisius. 357 hlm.
- Sipahutar, L. W., D. Aliza, Winaruddin dan Nazaruddin, 2013. Gambaran Histopatologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang dipelihara Dalam Temperatur Air Di Atas Normal. *Jurnal Medika Veterinaria*. Vol. 7, No, 1. 03 hlm
- Sumino., A. Supriyadi dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasioniodon hypophthalmus*). Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. JSV: 31 (1). 79-88.
- Surachmad., W. 1998 Dasar dan Teknik Research: Pengantar Metodologi Ilmiah. Tarsito. Bandung. 105 hlm.
- Tantu,W., Reiny A. T. dan Sammy N. J. L. 2013. Deteksi Keberadaan Bakteri *Aeromonas sp.* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Karamba Jaring Apung Danau Tondano. *Budidaya Perairan* 1 (3): 74-80.
- Taukhid., Nugraha E dan Subagyo. 2007. Efektifitas Daun Sambilotto (*Andrographis peniculata*) bagi pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Riset Akuakultur*, Jakarta. Vol. 2 No. 3 Tahun 2007. 433 hal.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan Selama Penelitian



Section set



Aquarium



pH meter



DO meter



Handtally counter



Aerator



Selang Aerator



Seser



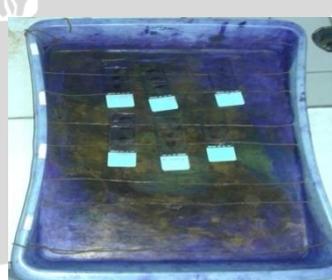
Botol Film



Mikroskop



Timbangan Digital



Preparat

Lampiran 2. Bahan – bahan yang digunakan Selama Penelitian



Ikan Mas



Ekstrak Kulit Pohon Ketapang



Larutan Ethanol 95%



Larutan Formalin 10%



Bubuk NB



Bakteri *A. hydrophila*



Akuades



Alkohol 70%

Lampiran 3. Perhitungan Kerusakan Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

a. Perhitungan Hiperplasia Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Organ kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	area lapang pandang			rerata LP	rerata sampel
			1	2	3		
Hyperplasia	A	1	2	3	3	2,67	2,56
		2	3	2	2	2,33	
		3	3	2	3	2,67	
	B	1	2	3	3	2,67	2,33
		2	2	3	2	2,33	
		3	3	2	1	2,00	
	C	1	2	1	2	1,67	1,56
		2	1	2	2	1,67	
		3	1	2	1	1,33	
	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
		2	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1,00	
	KO	1	4	3	3	3,33	3,33
		2	3	3	4	3,33	
		3	3	4	3	3,33	
KI	1	3	4	4	3,67	3,33	
	2	4	3	3	3,33		
	3	3	3	3	3,00		

$$\text{Total A} = 2,67 + 2,33 + 2,67$$

$$= 7,67$$

$$\text{Total B} = 2,67 + 2,33 + 2$$

$$= 7$$

$$\text{Total C} = 1,67 + 1,67 + 1,33$$

$$= 4,67$$

$$\text{A rata-rata} = \frac{7,67}{3}$$

$$= 2,56$$

$$\text{B rata-rata} = \frac{7}{3}$$

$$= 2,33$$

$$\text{C rata-rata} = \frac{4,67}{3}$$

$$= 1,56$$

- Tabel Rerata Kerusakan Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	2,67	2,33	2,67	7,67	2,56
B	2,67	2,33	2	7	2,33
C	1,67	1,67	1,33	4,67	1,56
				19,34	

### Lampiran 3 (Lanjutan)

- Perhitungan Sidik Ragam Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

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

$$= \frac{19,34^2}{9} = 41,55$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} = (A^2 + A^2 + A^2 + \dots + C^2) - FK$$

$$= (1,67^2 + 1,67^2 + 1,33^2 + \dots + 2,67^2) - 41,55$$

$$= 2,03$$

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

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

$$= \frac{(4,67^2 + 7^2 + 7,67^2)}{3} - 41,55$$

$$= 1,65$$

$$4. \text{ JK galat/acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan}$$

$$= 2,03 - 1,65$$

$$= 0,38$$

- Tabel Analisa Keragaman Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,65	0,825	13,095**	5,14	10,92
Acak	6	0,38	0,063			
Total	8	2,03	-			

Keterangan (\*) = Berbeda Sangat Nyata

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

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{r}}$$

**Lampiran 3 (Lanjutan)**

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,063}{3}}$$

$$= 0,24$$

$$\text{BNT 5\%} = T \text{ table 5\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED}$$

$$= 1,943 \times 0,24$$

$$= 0,46$$

$$\text{BNT 1\%} = T \text{ table 1\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED}$$

$$= 3,143 \times 0,24$$

$$= 0,75$$

- Table BNT (Beda Nyata Terkecil) Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Rerata Perlakuan		C	B	A	Notasi
		4,67	7	7,67	
C	4,67	0 <sup>ns</sup>	-	-	a
B	7	2,33**	0 <sup>ns</sup>	-	b
A	7,67	3,00**	0,67*	0 <sup>ns</sup>	c

Keterangan (\*) = Berbeda Nyata  
 (\*\*) = Berbeda Sangat Nyata  
 (ns) = Tidak Berbeda Nyata

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

- Tabel Polynomial Orthogonal Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7,67	-3	1	-1
B	7	-1	-1	3
C	4,67	1	-1	-3
Q= Σci*Ti		-25,34	-4	-0,68
Hasil Kuadrat		11	3	19
Kr= (Σci^2)*r		33	9	57
JK=Q^2/Kr		19,46	1,78	0,1

- JK regresi total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik  

$$= 19,46 + 1,78 + 0,01 = 21,24394$$



### Lampiran 3 (Lanjutan)

- Table sidik ragam regresi Hiperplasia pada Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

SidikRagam	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,65			5,14	10,95
Linear	1	19,46	19,46	308,37		
Kuadratik	1	1,78	1,78	28,17		
Kubik	1	0,01	0,01	0,13		
Acak (galat)	6	0,38				
Total	8					

### b. Perhitungan Fusi Jaringan Histopatologi Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Organ kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area lapang pandang			rerata LP	rerata sampel
			1	2	3		
Fusi	A	1	2	3	2	2,33	2,44
		2	3	2	2	2,33	
		3	3	2	3	2,67	
	B	1	3	3	2	2,67	2,33
		2	2	3	2	2,33	
		3	3	1	2	2,00	
	C	1	2	2	1	1,67	1,56
		2	2	1	2	1,67	
		3	2	1	1	1,33	
	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
		2	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1,00	
KO	1	2	3	3	2,67	2,56	
	2	3	2	3	2,67		
	3	2	2	3	2,33		
KI	1	3	4	3	3,33	3,22	
	2	3	3	3	3,00		
		3	4	3	3,33		

$$\text{Total A} = 2,33+2,33+2,67$$

$$= 7,33$$

$$\text{Total B} = 2,67+2,33+2$$

$$= 7$$

$$\text{Total C} = 1,67+1,67+1,33 = 4,67$$

$$\text{A rata-rata} = \frac{7,33}{3}$$

$$= 2,44$$

$$\text{B rata-rata} = \frac{7}{3}$$

$$= 2,33$$

$$\text{C rata-rata} = \frac{4,67}{3} = 1,56$$

### Lampiran 3 (Lanjutan)

- Tabel Rerata Kerusakan Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,33	2,33	2,67	7,33	2,44
B	2,67	2,33	2	7	2,33
C	1,67	1,67	1,33	4,67	1,56
				19	

- Perhitungan Sidik Ragam Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N} = \frac{19^2}{9} \\ = 40,11$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + \dots + C_3^2) - FK \\ = (1,67^2 + 1,67^2 + 1,33^2 + \dots + 2,67^2) - 40,11 \\ = 1,78$$

$$3. \text{ JK Perlakuan} = \frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK \\ = \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK \\ = \frac{(4,67^2 + 7^2 + 7,33^2)}{3} - 40,11 \\ = 1,41$$

$$4. \text{ JK galat/acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan} \\ = 1,78 - 1,41 \\ = 0,37$$

- Tabel Analisa Keragaman Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,41	0,70	11,10**	5,14	10,92
Acak	6	0,37	0,06			
Total	8	1,78	-			

Keterangan (\*\*)= Berbeda Sangat Nyata

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

### Lampiran 3 (Lanjutan)

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,07}{3}} \\ &= 0,20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= T \text{ table } 5\% (\text{db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 1,943 \times 0,22 \\ &= 0,39 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= T \text{ table } 1\% (\text{db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 3,143 \times 0,24 = 0,64 \end{aligned}$$

- Table Uji Beda Nyata Terkecil BNT Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Rerata Perlakuan		C	B	A	Notasi
		4,67	7	7,33	
C	4,67	0 <sup>ns</sup>	-	-	a
B	7	2,33**	0 <sup>ns</sup>	-	b
A	7,33	2,66**	0,33*	0 <sup>ns</sup>	c

Keterangan (\*) = Berbeda Nyata  
 (\*\*) = Berbeda Sangat Nyata  
 (<sup>ns</sup>) = Tidak Berbeda Nyata

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

- Tabel Polynomial Orthogonal Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7,33	-3	1	-1
B	7	-1	-1	3
C	4,67	1	-1	-3
Q= Σci*Ti		-24,32	-4,34	-0,34
Hasil Kuadrat		11	3	19
Kr= (Σci <sup>2</sup> )*r		33	9	57
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		17,92	2,09	0,00

### Lampiran 3 (Lanjutan)

- JK regresi total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik

$$= 17,92 + 2,09 + 0,00$$

$$= 20,02$$

- Table sidik ragam regresi Fusi Jaringan Insang pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Sidik Ragam	Db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,40			5,14	10,95
Linear	1	17,92	17,92	284,04		
Kuadratik	1	2,09	2,09	33,17		
Kubik	1	0,00	0,00	0,03		
Acak (galat)	6	0,38				
Total	8					

### c. Perhitungan Nekrosis pada Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Organ kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area lapang pandang			Rerata LP	Rerata sampel
			1	2	3		
Nekrosis	A	1	2	2	1	1,67	2,33
		2	3	2	2	2,33	
		3	3	3	3	3,00	
	B	1	3	2	2	2,33	2
		2	3	1	2	2,00	
		3	1	2	2	1,67	
	C	1	1	3	2	2,00	1,67
		2	2	2	1	1,67	
		3	2	2	3	1,33	
	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
		2	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1,00	
	KO	1	2	1	3	2,00	2,22
		2	1	3	2	2,00	
		3	3	2	3	2,67	
KI	1	4	3	3	3,33	3,33	
	2	3	3	4	3,33		
	3	3	4	3	3,33		

$$\text{Total A} = 1,67 + 2,33 + 3$$

$$= 7$$

$$\text{A rata-rata} = \frac{7}{3}$$

$$= 2,33$$

### Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\text{Total B} = 2,33 + 2 + 1,67$$

$$= 6$$

$$\text{Total C} = 1,33 + 1,67 + 2$$

$$= 5$$

$$\text{B rata-rata} = \frac{6}{3}$$

$$= 2$$

$$\text{C rata-rata} = \frac{5}{3}$$

$$= 1,67$$

- Tabel Rerata Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	1,67	2,33	3	7	2,33
B	2,33	2	1,67	6	2
C	1,33	1,67	2	5	1,67
				18	

- Perhitungan Sidik Ragam Kerusakan Nekrosis pada Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N} = \frac{18^2}{9}$$

$$= 36$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + \dots + C_3^2) - \text{FK}$$

$$= (1,33^2 + 1,67^2 + 2^2 + \dots + 1,67^2) - 36$$

$$= 1,99$$

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

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

$$= \frac{(5^2 + 7^2 + 6^2)}{3} - 36$$

$$= 0,67$$

$$4. \text{ JK galat/acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan}$$

$$= 1,99 - 0,67$$

$$= 1,32$$

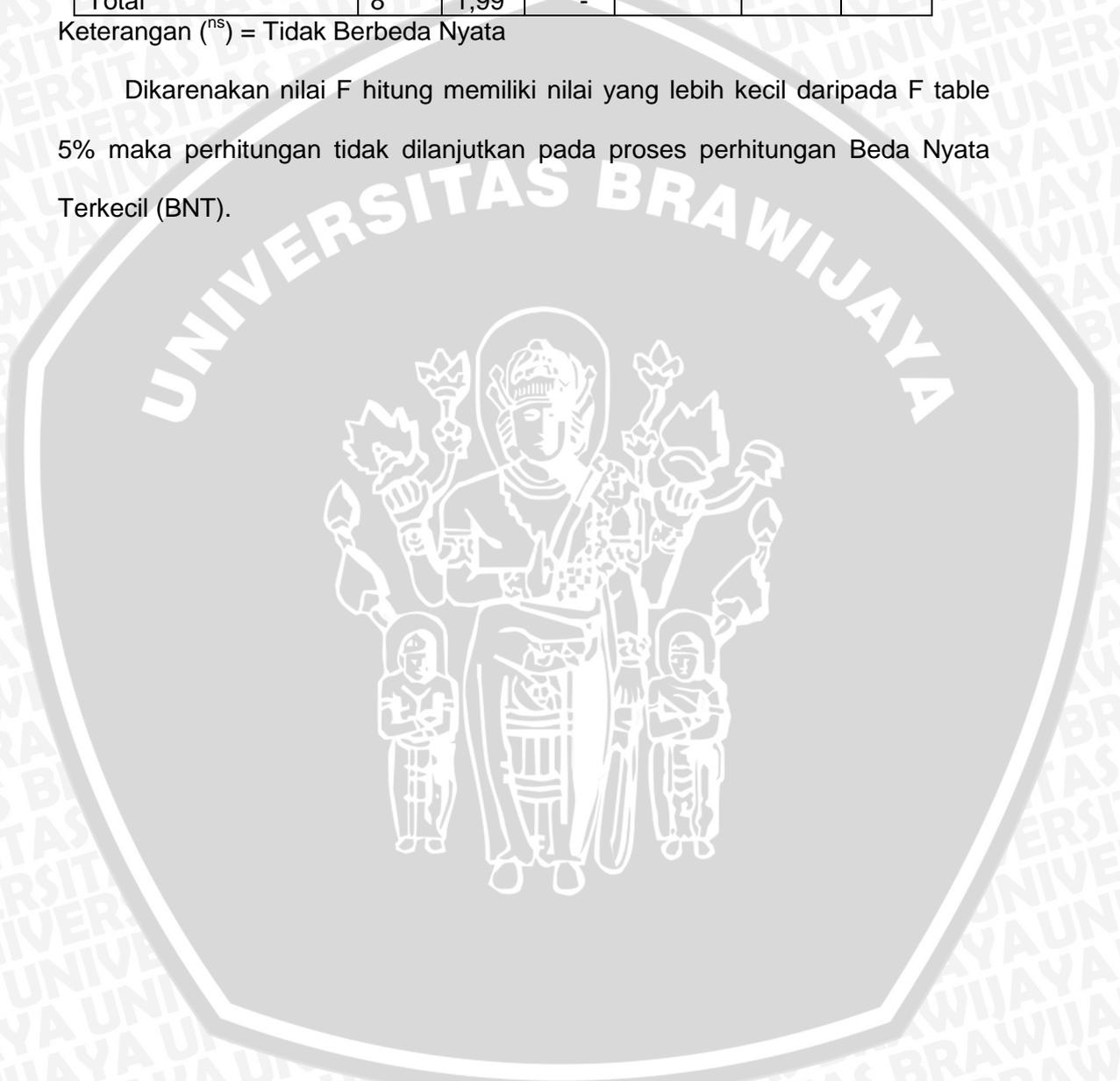
**Lampiran 3. (Lanjutan)**

- Tabel Analisa Keragaman Nekrosis pada Jaringan Histopatologi Insang Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Uji F		
				F. hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,67	0,335	1,52 <sup>ns</sup>	5,14	10,92
Acak	6	1,32	0,22			
Total	8	1,99	-			

Keterangan (<sup>ns</sup>) = Tidak Berbeda Nyata

Dikarenakan nilai F hitung memiliki nilai yang lebih kecil daripada F table 5% maka perhitungan tidak dilanjutkan pada proses perhitungan Beda Nyata Terkecil (BNT).



**LAMPIRAN 4.** Data Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)1. Data Nilai Kelulushidupan Per-Hari pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Hari	Perlakuan	Ulangan			SR (%)
		1	2	3	
Sabtu, 10 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	10	10	9	9,7
	K. Obat	10	10	10	10,0
	A (730 ppm)	10	10	10	10,0
	B (750 ppm)	10	10	10	10,0
	C (770 ppm)	9	9	10	9,3
Minggu, 11 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	10	9	9	9,3
	K. Obat	9	10	9	9,3
	A (730 ppm)	10	10	10	10,0
	B (750 ppm)	10	10	10	10,0
	C (770 ppm)	8	8	8	8,0
Senin, 12 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	8	8	7	7,7
	K. Obat	8	7	8	7,7
	A (730 ppm)	9	8	8	8,3
	B (750 ppm)	9	8	7	8,0
	C (770 ppm)	7	6	6	6,3
Selasa, 13 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	5	6	4	5,0
	K. Obat	8	7	7	7,3
	A (730 ppm)	8	7	8	7,7
	B (750 ppm)	8	7	8	7,7
	C (770 ppm)	6	5	5	5,3
Rabu, 14 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	4	4	3	3,7
	K. Obat	7	7	7	7,0
	A (730 ppm)	8	7	7	7,3
	B (750 ppm)	7	7	7	7,0
	C (770 ppm)	6	5	4	5,0
Kamis, 15 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	3	3	1	2,3
	K. Obat	7	6	7	6,7
	A (730 ppm)	8	7	7	7,3
	B (750 ppm)	7	7	7	7,0
	C (770 ppm)	6	5	4	5,0

## Lampiran 4. (Lanjutan)

Hari	Perlakuan	Ulangan			SR (%)
		1	2	3	
Jumat, 16 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	3	3	2	2,7
	K. Obat	7	6	7	6,7
	A (730 ppm)	8	7	7	7,3
	B (750 ppm)	6	7	7	6,7
	C (770 ppm)	6	5	3	4,7
Sabtu, 17 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	3	2	2	2,3
	K. Obat	7	6	7	6,7
	A (730 ppm)	8	6	7	7,0
	B (750 ppm)	6	6	7	6,3
	C (770 ppm)	6	5	3	4,7
Minggu, 18 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	3	2	2	2,3
	K. Obat	7	6	6	6,3
	A (730 ppm)	8	6	7	7,0
	B (750 ppm)	6	6	7	6,3
	C (770 ppm)	6	5	3	4,7
Senin, 19 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10	10,0
	K. Infeksi	3	2	2	2,3
	K. Obat	7	6	6	6,3
	A (730 ppm)	8	6	7	7,0
	B (750 ppm)	6	6	7	6,3
	C (770 ppm)	6	5	3	4,7

➤ Perhitungan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
Kontrol	90	90	90	270	90
A	63,44	50,77	56,79	171	57
B	50,77	50,77	56,79	158,33	53
C	50,77	45,00	33,21	128,98	43
				728,31	

• Perhitungan Sidik Ragam

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

$$= \frac{728,31^2}{12}$$

$$= 44202,95$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK \\
 &= (90^2 + 90^2 + 90^2 + \dots + 33,21^2) - 44202,95 \\
 &= 48213,11 - 44202,95 \\
 &= 4010,16
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{(21,00^2 + 19,00^2 + 14,00^2)}{3} - 324 \\
 &= 47948,41 - 44202,95 \\
 &= 3745,46
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK perlakuan} \\
 &= 4010,16 - 3745,46 \\
 &= 264,71
 \end{aligned}$$

➤ Tabel Analisis Keragaman Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3745,46	1248,49	37,73**	4,07	7,59
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11	4010,16				

Keterangan(\*\*) = Berbeda sangat nyata

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

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2 \text{ K Tacak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 33,09}{3}} \\
 &= 4,696
 \end{aligned}$$

#### Lampiran 4. (Lanjutan)

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

$$= 5,14 \times 4,696$$

$$= 24,14$$

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

$$= 10,92 \times 4,696$$

$$= 41,29$$

➤ Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Rerata Perlakuan		C	B	A	K	Notasi
		43,00	52,78	57,00	90,00	
C	43,00	-	-	-	-	a
B	52,78	9,78 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
A	57,00	14,01*	4,22 <sup>ns</sup>	-	-	a
K	90,00	47,01**	37,22*	33,00*	-	b

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidakberbedanyata)

(\*) = berbedanyata

(\*\*) = berbedasangatnyata

Berdasarkan hasil perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata pada perlakuan, dalam hal ini tidak dilanjutkan perhitungan uji *Polynomial Orthogonal*.

Lampiran 5 : Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan Ikan Mas (*C. carpio*)

Hari Ke-	Kualitas air	Waktu	KONTROL								PERLAKUAN									
			Normal			Obat		Infeksi			A (730 ppm)			B (750 ppm)			C (770 ppm)			
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.7	7.5	7.4	7.2	7.4	7.5	7.3	7.4	7.3	7.5	7.2	7.3
		Sore	7.3	7.6	7.5	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.4	7.3	7.5	7.5	7.2	7.3	7.5	7	7.4
	Suhu	Pagi	24.2	24.6	24.2	24.2	24.7	24.6	24.2	24.5	24.6	24.2	24	24.3	24.2	24.6	24.6	24.2	24.2	24.2
		Sore	25	25.6	25	25	25.3	25.2	25	25.7	26	25	25.3	25.3	25	25.9	25.4	25.1	25	25.4
	DO	Pagi	4	4.3	4.2	4.3	4	4.5	4.7	4	4.2	4.5	4	4.5	4.3	4	4.5	4.2	4.5	4
		Sore	4.7	4.2	4.5	4.5	4.7	4.2	4.5	4.5	4	4.2	4.3	4.5	4.7	4.5	4.2	4	4.3	4.2
2	pH	Pagi	7.5	7.6	7.4	7.6	7.6	7.7	7.4	7.5	7.6	7.4	7.4	7.5	7.3	7.3	7.2	7.3	7.2	7.5
		Sore	7.7	7.4	7.7	7.5	7.4	7.5	7.5	7.6	7.7	7.5	7	7.3	7.8	7.1	7.5	7.3	7	7.2
	Suhu	Pagi	24.2	24.4	24.5	24.6	24.5	24.2	24	24.5	24.3	24.6	24.5	24.2	24.5	24.5	24.7	24.5	24.2	24.5
		Sore	24.9	25.1	25.6	25.7	25.1	25.6	24.9	25.7	25.3	25.1	25.3	25.6	24.9	25.7	25.1	25.6	25.7	24.9
	DO	Pagi	4.3	4.5	4	4.2	4.8	4	4.8	4.3	4.5	4.7	4.3	4.5	4.7	4.8	4	4.2	4.7	4.3
		Sore	4.8	4.3	4	4.8	4.5	4.5	4.7	4	4.7	4.6	4.7	4.2	4.3	4.6	4.5	4.3	4.5	4.5
3	pH	Pagi	7.4	7.5	7.6	7	7.7	7.4	7.8	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.4	7.2	7	7.4	7.2	7
		Sore	7.6	7.5	7.5	7.4	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5	7.4	7.5	7.5	7.2	7.3	7.2	7	7.4
	Suhu	Pagi	24.1	24.5	24.3	24.2	24.6	24.7	24.2	24.5	24.3	24.1	24.7	24.6	24.7	24.5	24.3	24.6	24.5	24.3
		Sore	25.1	24.9	25.7	25.1	25.7	24.9	25.6	25.7	25.6	25.1	25.7	24.9	25.4	25.7	25.1	25.1	25.6	24.9
	DO	Pagi	4.2	4.7	4.5	4	4.2	4.5	4.8	4.7	4.2	4.3	4.5	4.8	4.5	4.8	4.3	4	4.5	4.5
		Sore	4.5	4.2	4.7	4.5	4.8	4.2	4	4.3	4.5	4.8	4.8	4	4.5	4.7	4.8	4.5	4.7	4.3
4	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	8	7.7	7.4	7.5	7.4	7.4	7.5	7.4	7.5	7.5	7.4	7.2	7
		Sore	7.5	7.4	7.6	7.7	7.6	7.5	7.4	7.5	7.6	7.4	7.2	7.4	7.3	7.4	7.4	7.4	7.3	7.4
	Suhu	Pagi	24.6	24.1	24.3	24.7	24.3	24.6	24.1	24.7	24.7	24.3	24.1	24.6	24.6	24.3	24.3	24.5	24.3	24.6
		Sore	25.7	24.9	25.7	25.1	25.7	24.9	25.7	25.7	25.4	24.9	25.7	24.9	24.9	25.1	25.7	24.9	25.6	25.1
	DO	Pagi	4.3	4.5	4	4.2	4.5	4.6	4.6	4.5	4.3	4.7	4.2	4.2	4.3	4.6	4	4.7	4.3	4.7
		Sore	4.2	4.6	4.3	4.6	4.6	4.3	4.2	3.9	4	4.7	4.6	4.5	4.6	3.7	4.2	4.7	4.6	4

## Lampiran 5. (Lanjutan)

Hari ke-	Kualitas air	Waktu	KONTROL									PERLAKUAN								
			Normal			Obat			Infeksi			A (730 ppm)			B (750 ppm)			C (770 ppm)		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
5	pH	Pagi	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.7	7.6	7.5	7.6	7.4	7.7	7.4	7.2	7.1	7.2	7.4	7.2	7
		Sore	7.5	7.4	7.7	7.6	7.7	7.6	7.5	7.4	7.7	7.2	7.4	7.2	7.3	7.4	7.2	7.2	7.3	7.6
	Suhu	Pagi	24.6	24.3	24.3	24.3	24.5	24.3	24.6	24.3	24.6	24.3	24.3	24.5	24.5	24.3	24.1	24.3	24.3	24.6
		Sore	25.7	25.1	25.1	25.1	25.7	25.4	24.9	26.4	25.7	25.1	25.4	25.1	26.5	25.7	25.7	24.9	25.7	25.7
	DO	Pagi	4.8	4.5	4.3	4	4.8	4.5	4.7	4.5	4.3	4.2	4.5	4	4.8	4.7	4.5	4.3	4.6	4
		Sore	4.5	4	4.2	4.7	4.2	4.2	4.6	4	4.6	4.8	4.7	4.5	4.3	4.5	4.6	4	4.7	4.5
6	pH	Pagi	7.6	7.4	7.6	7.4	7.6	7.7	7.6	7.4	7.5	7	7	7.4	7.1	7.2	7.2	7.5	7.2	7.3
		Sore	7.6	7.6	7.4	7.5	7.6	7.6	7.4	7.6	7.5	7	7	7	7.3	7.2	7.4	7.2	7	7
	Suhu	Pagi	24.3	24.1	24.3	24.5	24.6	24.3	24.6	24.5	24.1	24.6	24.3	24.1	24.3	24.1	24.6	24.3	24.6	24.6
		Sore	25.7	25.1	25.7	24.9	25.7	25.4	24.9	26.1	25.1	25.7	25.1	25.7	25.4	24.9	25.7	25.1	24.9	25.7
	DO	Pagi	4.3	4	4.4	4.2	4	4.5	4.5	4.3	4.4	4.2	4.5	4.7	4	4.7	4.3	4.7	4.5	4.7
		Sore	4.5	4.3	4.2	4	4.3	4.4	4.2	4	4.7	4.5	4.4	4.2	4.7	4.3	4.7	4.2	4	4.2
7	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.5	7.4	7.7	7.6	7.6	7.4	7.7	7.4	7.4	7.5	7.2	7.1	7.2	7.2	7.4
		Sore	7.5	7.6	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.7	7.4	7.2	7.2	7.3	7.3	7.4	7.4	7	7.2
	Suhu	Pagi	24.3	24.6	24.1	24.3	24.1	24.6	24.3	24.1	24.5	24.6	24.3	24.1	24.6	24.5	24.1	24.3	24.6	24.3
		Sore	25.1	24.9	25.8	24.9	24.9	25.1	24.9	26.2	25.4	24.9	25.4	25.1	25.4	25.4	26	25.1	24.9	26.2
	DO	Pagi	4.3	4.2	4.5	4.3	4.5	4.4	4.3	4.7	4.2	4.4	4.5	4.3	4.2	4	4.3	4.4	4.5	4.3
		Sore	4.5	4.3	4.2	4	4.7	4.2	4.3	4.5	4.3	4.2	4.4	4.3	4.2	4.4	4.5	4.3	4.2	4.3
8	pH	Pagi	7.5	7.5	7.5	7.4	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5	7.6	7.4	7.1	7.2	7.2	7.1	7.2	7.5
		Sore	7.5	7.4	7.3	7.6	7.7	7.6	7.2	7.1	7.4	7.5	7.5	7.9	7.7	7.4	7.6	7.4	7.3	7.6
	Suhu	Pagi	24.3	24.3	24.3	24.5	24.5	24.3	24.2	24.3	24.4	24.3	24.3	24.3	24.4	24.3	24.2	24.3	24.5	24.3
		Sore	25.7	25.7	25.6	25.6	25.7	25.6	24.9	26.4	25.6	25.7	25.7	25.5	26.7	25.7	25.7	24.9	25.8	25.9
	DO	Pagi	4.3	4.5	4.3	4.6	4.8	4.5	4.7	4.5	4.4	4.2	4.3	4.2	4.2	4.5	4.5	4.3	4.5	4.4
		Sore	4.5	4.3	4.2	4.7	4.2	4.2	4.6	4	4.6	4.8	4.7	4.5	4.3	4.5	4.6	4	4.7	4.5
9	pH	Pagi	7.4	7.3	7.5	7.4	7.6	7.7	7.6	7.4	7.5	7.7	7.7	7.8	7.5	7.7	7.5	7.5	7.6	7.6
		Sore	7.2	7.3	7.4	7.4	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.5	7.3	7.2	7.3	7.2	7.3	7.4	7.2	7.3

## Lampiran 5. (Lanjutan)

Hari Ke-	Kualitas air	Waktu	KONTROL								PERLAKUAN									
			Normal			Obat		Infeksi			A (730 ppm)			B (750 ppm)			C (770 ppm)			
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
10	Suhu	Pagi	24.2	24.2	24.3	24.3	24.4	24.3	24.4	24.4	24.1	24.3	24.3	24.1	24.3	24.1	24.3	24.4	24.3	24.5
		Sore	25.7	25.5	25.7	25.4	25.7	25.4	25.7	26.1	25.5	25.4	25.4	25.7	25.4	25	25.7	25	25	25
	DO	Pagi	4.3	4	4.4	4.2	4.3	4.5	4.5	4.3	4.4	4.2	4.5	4.7	4	4.7	4.3	4.7	4.5	4.7
		Sore	4.5	4.3	4.2	4.2	4.3	4.4	4.2	4.4	4.4	4.5	4.4	4.2	4.7	4.3	4.7	4.2	4	4.2
	pH	Pagi	7.4	7.4	7.4	7.5	7.4	7.5	7.4	7.6	7.4	7.5	7.4	7.3	7.5	7.2	7.4	7.4	7.5	7.4
		Sore	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.3	7.2	7.4	7.3	7.4	7.2	7.3	7.3	7.1	7.3	7.4	7.2	7.2
	Suhu	Pagi	24.3	24.4	24.3	24.3	24.4	24.4	24.3	24.2	24.4	24.3	24.3	24.3	24.4	24.2	24.4	24.3	24.4	24.3
		Sore	25	25	25.4	25.5	25.3	25.1	24.9	26.2	25.4	25	25.4	25	25.4	25.4	26	26	25.6	26
	DO	Pagi	4.3	4.2	4.4	4.3	4.3	4.4	4.3	4.5	4.2	4.5	4.5	4.3	4.5	4.4	4.3	4.4	4.5	4.5
		Sore	4.4	4.4	4.5	4.5	4.6	4.4	4.4	4.4	4.4	4.3	4.2	4.3	4.4	4.4	4.2	4.3	4.2	4.3

