

EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*) PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* DILIHAT DARI TOTAL ERITROSIT DAN TOTAL LEUKOSIT

SKRIPSI

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

OLEH :

MIRSA FERDIAN PUTRA

NIM. 115080501111018



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

EFEKTIFITAS EKSTRAK KASAR KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*) PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* DILIHAT DARI TOTAL ERITROSIT DAN TOTAL LEUKOSIT

SKRIPSI

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

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

OLEH :

MIRSA FERDIAN PUTRA

NIM. 115080501111018



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

**EFEKTIFITAS EKSTRAK KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*)
PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* DILIHAT DARI TOTAL ERITROSIT DAN TOTAL LEUKOSIT**

Oleh :

MIRSA FERDIAN PUTRA

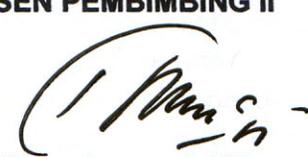
NIM. 115080501111018

**Telah Dipertahankan Didepan Penguji
pada Tanggal 19 Februari 2016 dan
Dinyatakan Memenuhi Syarat**

DOSEN PEMBIMBING I


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

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING II**


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

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**


Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
Tanggal : 07 MAR 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, Januari 2016

Mahasiswa

Mirsa Ferdian Putra



RINGKASAN

MIRSA FERDIAN PUTRA. Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit. Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, MSi** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) merupakan komoditas perikanan yang berkembang sangat pesat dari waktu ke waktu. Permintaan pasar terus meningkat dan variasi olahannya pun semakin beragam. Dengan demikian, konsumen akan terus akan melirik ke produk ikan mas. Penyebaran ikan mas sangat cepat berkembang di Indonesia. Cara budidaya yang relatif mudah dan jenis ikan mas lebih tahan terhadap lingkungan tempat hidupnya (Saparinto dan Rini, 2013). Ada banyak hal yang sering menjadi penyebab tidak berhasilnya usaha budidaya ikan mas salah satunya adalah infeksi hama atau penyakit yang berasal baik dari ikan budidaya maupun dari luar lingkungan budidaya. Oleh sebab itu, dibutuhkan adanya antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri, dan salah satu yang dapat digunakan adalah kulit ketapang (*Terminalia catappa*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) terhadap hematologi ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 2 September hingga 19 Oktober 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu dengan penggunaan dosis A (730 ppm), B (750 ppm) dan C (770 ppm). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan total sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit) sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini menggunakan gejala klinis dan kualitas air berupa suhu, pH, dan DO.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut: perhitungan eritrosit pada perlakuan C (770 ppm) memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu 417×10^4 sel/mm³ dan memiliki nilai kelulushidupan yang tinggi sebesar 70%. Hubungan antara dosis yang berbeda dengan total eritrosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,994 dengan persamaan $y = 4,8x + 3275,3$.

Perhitungan leukosit pada perlakuan A (730 ppm) memiliki rata-rata jumlah leukosit tertinggi yaitu $735,89 \times 10^3$ sel/mm³ namun kelulushidupan yang rendah sebesar 46%. Hubungan antara dosis yang berbeda dengan total leukosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,907 dengan persamaan $y = -0,025x + 20,89$.

Gejala klinis pada ikan mas (*C. carpio*) selama pengamatan berupa cara renang yang tidak normal dengan berenang cepat tidak beraturan dan terkadang ikan berenang sangat lemah serta lebih sering berkumpul mendekati sumber udara. Sedangkan pada bagian fisik ikan dapat dilihat adanya bercak merah pada kulit yang mengeluarkan darah. Bagian perut membuncit tidak normal diikuti dengan lebam yang disertai dengan keluarnya darah. Berdasarkan uji kelulushidupan (SR)

didapatkan nilai yang baik pada perlakuan A (730 ppm) sebesar 70% namun mengalami kematian massal pada hari ketiga.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) menggunakan dosis 750 ppm (perlakuan B) merupakan dosis yang baik dengan mengurangi tingkat infeksi dilihat pada hematologi ikan mas (*C. carpio*) berupa penurunan dampak infeksi bakteri *A. hydrophila* ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit dan disertai penurunan jumlah leukosit yang hampir mendekati nilai kontrol normal juga dengan nilai kelulushidupan baik sebesar 63%.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga Laporan Skripsi Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit ini dapat terselesaikan tanpa ada halangan apapun.

Atas terselesainya Laporan Skripsi Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit ini, penyusun mengucapkan terima kasih banyak kepada semua pihak yang telah membantu serta memberikan dukungannya.

Diharapkan dengan tersusunnya Laporan Skripsi Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit ini dapat bermanfaat, terutama bagi mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan. Akhir kata, tak ada gading yang tak retak, karena itu kritik dan saran yang membangun sangat saya harapkan.

Penyusun

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

- Bapak Dr. Ir. Maftuch, MSi selaku Pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu, serta selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi.
- Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku Pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, serta senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan.
- Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku Penguji yang telah meluangkan waktu, memberi saran, motivasi dan dukungan.
- Keluargaku tercinta : Bapak Moh. Takdir, Ibu Sri Ratu, S.AP, dan Kakak Andri, Adi Putra. Keluarga Besar Sumbawa Besar dan Keluarga Besar Malang serta Kiki Nur Fitriana yang telah memberikan doa, motivasi, dan dukungan materil maupun non-materil selama ini.
- Seluruh rekan – rekan Tim Kulit Ketapang : Gede Agus Andhika, Gede Angga Krishna Frasetya dan Achmad Yasin yang telah banyak membantu dan selalu memberikan dukungan motivasi untuk terselesaikannya laporan skripsi ini.
- Keluarga besar BP 2011 “Aquatic Spartans” dan GS 211 “Joni and The Geng” yang telah banyak membantu dan memberikan semangat untuk segera menyelesaikan laporan ini, serta semua pihak yang telah memberi banyak dukungan baik moril maupun materil sehingga dapat tersusunnya laporan Skripsi ini.

Malang, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

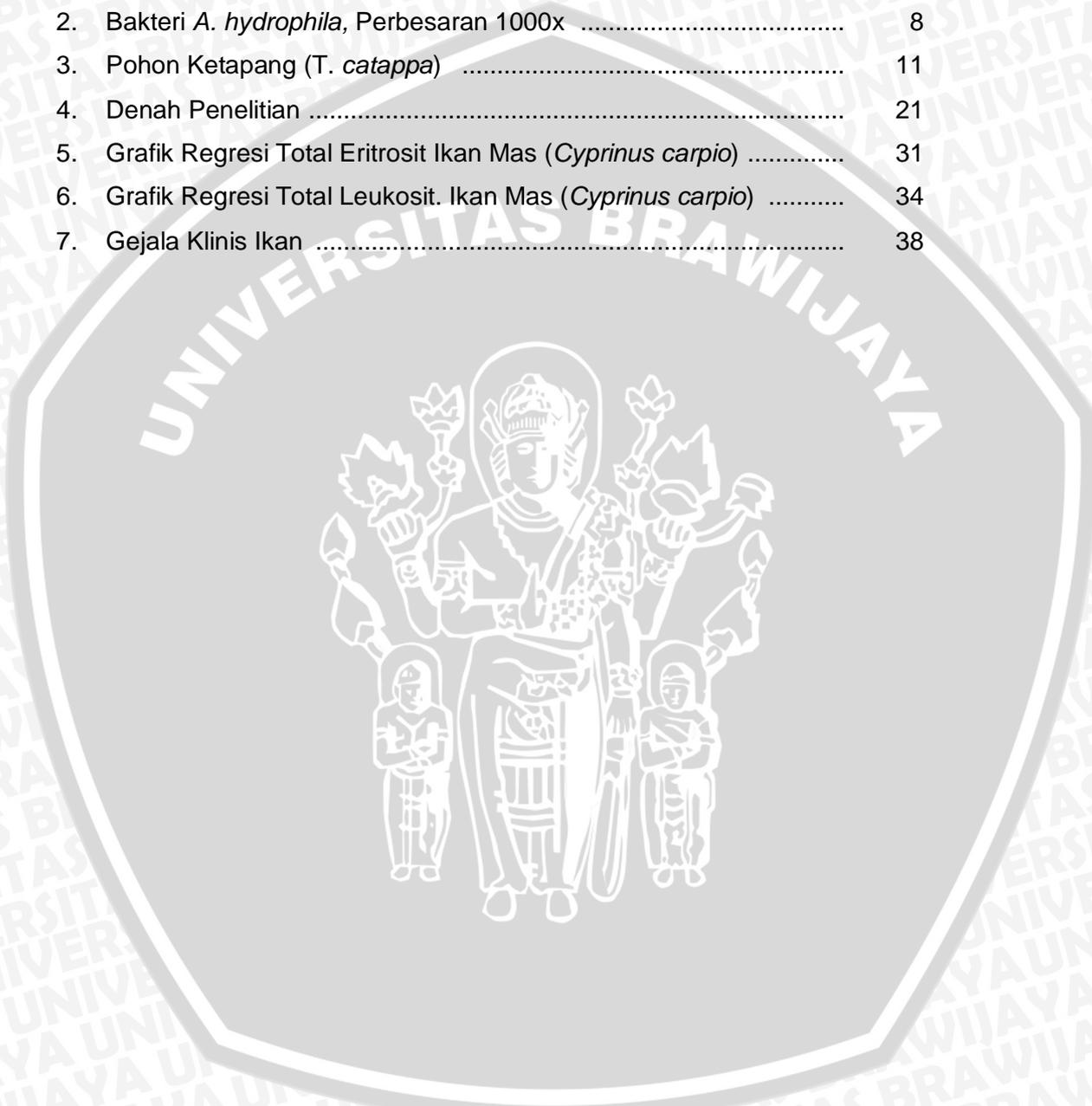
	HALAMAN
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Pakan dan Cara Makan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	7
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	9
2.2.3 Infeksi Bakteri	9
2.3 Pohon Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>)	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Ketapang.....	10
2.3.2 KandunganSenyawa Aktif dan Manfaatnya.....	12
2.4 Hematologi.....	12
2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)	13
2.4.2 Sel Darah Putih(Leukosit)	14
2.5 Sistem Kekebalan Tubuh	15
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat – Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan – Bahan Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian	18

3.3 Rancangan Penelitian	18
3.4 Prosedur Penelitian	22
3.4.1 Persiapan Penelitian	22
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengamatan Hematologi	30
4.1.1 Jumlah Eritrosit	30
4.1.2 Jumlah Leukosit	33
4.2 Gejala Klinis	36
4.3 Kelulushidupan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i> Linn)	38
4.4 Kualitas Air	42
4.4.1 Suhu	42
4.4.2 Derajat Keasaman (pH)	42
4.4.3 Oksigen Terlarut (DO / <i>Dissolved Oxygen</i>)	43
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	48



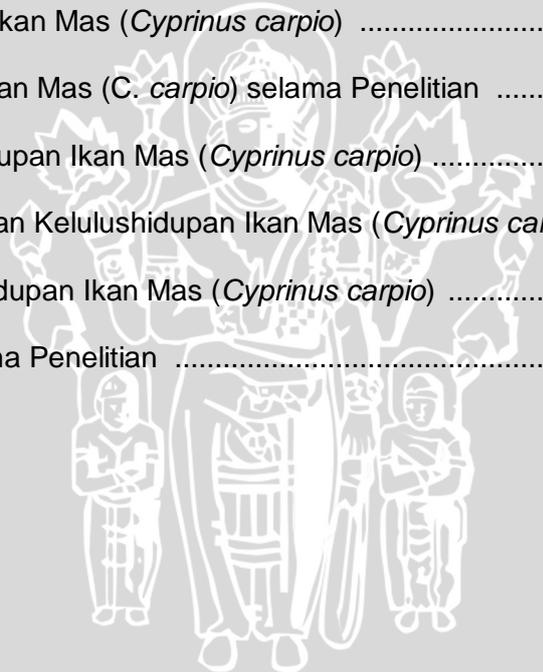
DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	HALAMAN
1. Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	6
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i> , Perbesaran 1000x	8
3. Pohon Ketapang (<i>T. catappa</i>)	11
4. Denah Penelitian	21
5. Grafik Regresi Total Eritrosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	31
6. Grafik Regresi Total Leukosit. Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	34
7. Gejala Klinis Ikan	38



DAFTAR TABEL

TABEL	HALAMAN
1. Hasil Skala Log pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda – Beda	20
2. Rerata Eritrosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	30
3. Analisis Keragaman Jumlah Eritrosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) .	30
4. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	31
5. Rerata Leukosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	33
6. Analisis Keragaman Jumlah Leukosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	33
7. Uji BNT Leukosit Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	34
8. Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) selama Penelitian	38
9. Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	39
10. Analisis Keragaman Kelulushidupan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) .	39
11. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	40
12. Kualitas Air Selama Penelitian	41



DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	HALAMAN
1. Alat – Alat Penelitian	48
2. Bahan – Bahan Penelitian	50
3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	51
4. Gambaran Darah Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	53
5. Analisis Data	54
6. Data Kelulushidupan atau <i>Survival Rate</i> (SR) Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Selama Penelitian	59
7. Data Kualitas Air Selama Penelitian	61



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam rangka memenuhi kebutuhan protein masyarakat dengan mengkonsumsi ikan, usaha budidaya mempunyai andil dalam menyukseskan pembangunan kelautan dan perikanan. Selain itu, sejalan dengan meningkatnya kesadaran dan pengetahuan masyarakat tentang manfaat ikan sebagai bahan makanan dan kesehatan yang menyebabkan tingkat konsumsi terhadap ikan turut meningkat. Sebagai bahan makanan, ikan merupakan salah satu sumber protein hewani dengan harga yang relatif murah, mudah diperoleh dan mempunyai zat gizi yang tinggi dan kaya asam lemak omega-3 (Muchlisin, Damhoeri, Fauziah, Musri dan Musman, 2003).

Meningkatnya kesadaran akan pentingnya ikan sebagai sumber pangan yang menyehatkan dan harga ikan yang relatif lebih murah dibanding sumber protein hewani lainnya, maka permintaan akan komoditas ikan terus meningkat dari waktu ke waktu. Dampak positif dari meningkatnya permintaan akan komoditas ikan telah memacu perkembangan budidayanya. Budidaya ikan yang dulunya bersifat subsistem beralih menjadi budidaya yang bersifat komersial dengan pola semi intensif atau intensif.

Menurut Narantaka (2012), ikan mas masuk ke Indonesia sekitar tahun 1810. Pertama kali ikan mas dipelihara di daerah Galuh, Ciamis Jawa Barat. Dalam kurun waktu hampir setengah abad yaitu sekitar tahun 1860 ikan mas telah menyebar di berbagai daerah di Propinsi Jawa Barat. Ikan mas sebagai ikan yang hidup didalam air tawar memiliki sifat yang sangat adaptif terhadap lingkungan hidup yang baru. Sifat yang adaptif dari ikan mas tersebut membuat

ikan mas dapat hidup dalam perairan air tawar di segala penjuru dunia termasuk Indonesia.

Ikan mas merupakan komoditas perikanan yang berkembang sangat pesat dari waktu ke waktu. Permintaan pasar terus meningkat dan variasi olahannya pun semakin beragam. Dengan demikian, konsumen akan terus akan melirik ke produk ikan mas. Penyebaran ikan mas sangat cepat berkembang di Indonesia. Cara budidaya yang relatif mudah dan jenis ikan mas lebih tahan terhadap lingkungan tempat hidupnya (Saparinto dan Rini, 2013). Ada banyak hal yang sering menjadi penyebab tidak berhasilnya usaha budidaya ikan mas salah satunya adalah infeksi hama atau penyakit yang berasal baik dari ikan budidaya maupun dari luar lingkungan budidaya.

Hama dan penyakit merupakan masalah yang dapat mengganggu jalannya usaha budidaya. Penyebab penyakit lebih kompleks baik secara fisik, kimia atau biologis. Penyebabnya bisa berasal dari luar atau dari dalam tubuh ikan itu sendiri. Menurut Ulfiana, Mahasri dan Suprpto (2012), salah satu mikroorganisme yang merupakan patogen bagi ikan adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini disebut bakteri oportunistik yang mampu menyebabkan penyakit pada kondisi tertentu karena adanya perubahan kondisi lingkungan, stress dan kondisi inang yang terinfeksi. Bakteri *A. hydrophila* dapat menginfeksi melalui permukaan tubuh yang luka atau insang kemudian masuk ke dalam pembuluh darah.

Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini sudah dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada bakteri patogen serta mengakibatkan pencemaran pada lingkungan. Penggunaan antibiotik pada ikan konsumsi dapat meninggalkan residu pada tubuh inangnya, sehingga tidak aman apabila

dikonsumsi oleh manusia, karena dapat menyebabkan efek resistensi pada bakteri yang bersifat *infectious* bagi manusia. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri. Pengobatan tradisional dengan fitofarmaka dan pemanfaatan bahan obat alamiah lainnya mulai menjadi perhatian dunia sekarang (Kamaludin, 2011). Selain itu disarankan untuk menggunakan bahan alami sebagai pengganti antibiotik seperti fitofarmaka. Menurut Sumarny (2002) dalam Agustina (2011) fitofarmaka adalah bentuk obat tradisional dari bahan alami.

Fitofarmaka yang dapat digunakan adalah pohon ketapang (*Terminalia catappa*). Menurut Hidayat (2006) dalam Aminah, Prayitno dan Sarjito (2014) menjelaskan bahwa ekstrak daun ketapang mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid atau steroid, saponin.

Menurut Maftuch dan Syamsudin (2012) dalam mendeteksi kesehatan ikan ada beberapa hal yang dapat dilakukan seperti pengamatan langsung di lapangan, pengamatan secara parasitologi, pengamatan histopatologi, pengamatan secara bakteriologis dan pengamatan secara serologis. Selain itu, menurut Bijanti, Yuliani, Wahjuni, dan Utomo (2010), parameter yang dapat menunjukkan perubahan kesehatan pada ikan salah satunya melalui pengamatan hematologi yang meliputi jumlah eritrosit (sel darah merah), hematokrit dan diferensial leukosit (monosit, limfosit dan neutrophil).

Oleh karena itu penulis berkeinginan untuk mengetahui lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* yang menyerang ikan mas (*C. carpio*.) dengan melihat total sel darah merah dan total sel darah putih dari ikan tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Apakah pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*?
- 2) Berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) pada ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.
- 2) Mengetahui dosis yang baik dari pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) pada ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Ho : Pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda diduga tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H1 : Pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) dengan dosis yang berbeda diduga berpengaruh nyata terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*

1.5 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 2 September hingga 19 Oktober 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Saparinto dan Rini (2013), klasifikasi dari ikan mas adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Superkelas	: Pisces
Kelas	: Osteichthyes
Ordo	: Cyprinoformes
Famili	: Cyprinidae
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. Ikan mas memiliki gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang tersusun tiga atas tiga baris gigi geraham. Ikan mas mempunyai ciri – ciri antara lain 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 bersebrangan, sirip dada (*pectoral*) terletak dibelakang tutup insang (*operculum*).

Dilihat secara fisik, ikan mas mempunyai betuk tubuh agak memanjang dan memipih (*compresed*) seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1. Kepala mengecil dengan mulut diujung tengah (*terminal*) dan dapat disembulkan dan di bagian ujung mulut terdapat sepasang sungut. Di ujung dalam mulut terdapat gigi kerongkongan terbentuk atas tiga baris gigi geraham. Secara umum, hampir seluruh tubuh ikan mas ditutupi sisik kecuali beberapa varietas yang hanya memiliki sedikit sisik. Sisik berukuran besar dan digolongkan kedalam sisik sikloid (lingkaran) dengan gurat sisi (*linea lateralis*) disamping tubuh tampak nyata mulai dari depan hingga belakang (Saparinto dan Rini, 2013).



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

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan Mas (*C. carpio*) menyukai tempat hidup berupa perairan tawar yang airnya tidak terlalu dalam dan alirannya tidak terlalu deras. Ikan ini hidup dengan baik di daerah dengan ketinggian 150 – 600m dpl (di atas permukaan laut) dengan suhu berkisar antara 25 – 30°C. Meskipun tergolong ikan air tawar, Ikan Mas kadang ditemukan di perairan payau atau muara sungai dengan salinitas 25 – 30 ppt (Amri dan Khairuman, 2002).

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 Pakan dan Cara Makan Ikan Mas (*Cyprino carpio*)

Jika dilihat dari kebiasaan makannya, Ikan Mas tergolong ikan omnivora, karena ikan ini merupakan ikan yang bisa memakan berbagai jenis makan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik. Meskipun demikian, pakan utamanya adalah yang berasal dari tumbuhan di dasar perairan dan daerah tepian (Amri dan Khairuman, 2002).

Menurut Narantaka (2012), makanan ikan mas sangat bervariasi. Ikan mas menyantap semua jenis bahan makanan baik tumbuhan maupun binatang renik sehingga hewan ini digolongkan kedalam hewan pemakan segala atau disebut *omnivora*. Makanan utama ikan ini berupa tumbuhan kecil yang tumbuh di dasar dan tepian perairan seperti sungai, danau dan lain – lain.

2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Holt, Kreig, Sneath, Staley dan Williams (1998), klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta
Class : Schyzomycetes
Ordo : Pseudomonadales
Sub Ordo : Pseudomonadineae
Family : Vibrionaceae
Genus : Aeromonas
Species : *Aeromonas hydrophila*

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, Hemayanti dan Iriyanti, 2006). Sedang menurut Mulia (2003), bakteri *A. hydrophila* secara normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stress, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik. Gambar bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila*, Perbesaran 1000x (Halim, 2014)

A. hydrophila merupakan bakteri gram negatif yang yang menyebabkan infeksi pada makanan dan ikan hias. Keberadaannya bersifat ancaman pada usaha budidaya. Infeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan *Aeromonas septicaemia* dan *hemorrhagic bacterial* pada ikan. Bakteri ini biasanya menyerang ikan lele, ikan mas, dan ikan koi (Thangaviji, Michaelbabu, Anand, Gunasekaran dan Citarasu, 2012).

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Perkembangbiakan bakteri *A. hydrophila* secara aseksual dengan pemanjangan sel yang diikuti pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988 dalam Syamsundari, 2007). Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), bakteri *A. hydrophila* termasuk kelompok bakteri gram negatif. Bakteri 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.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultatif anaerob (tanpa ada oksigen) akan tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon (Prajitno, 2007).

2.2.3 Infeksi Bakteri

Penginfeksian bakteri jenis *A. hidrophyla* dan *P. fluorescens* hampir sama, yakni pada golongan ikan air tawar, dan infeksi penyakit oleh bakteri ini dapat terjadi karena kondisi kualitas air di kolam buruk, kualitas pakan yang buruk dan menyebabkan ikan stres sehingga mudah terinfeksi penyakit. Infeksi *Aeromonas*

dapat berakibat peradangan dan hemoragik (pendarahan) pada bagian ginjal, jaringan otot, punggung dan usus. Nekrosis dapat terjadi pada organ hati dan ginjal dan dapat menyebabkan kematian. Setelah *Aeromonas* masuk ke dalam tubuh, bakteri ini akan menembus masuk ke dalam pembuluh darah dan akhirnya tersebar di seluruh tubuh. Dampak yang terjadi yaitu pembuluh darah di dekat kulit pecah, sehingga permukaan tubuh berwarna kemerahan. Peradangan akan berlanjut ke seluruh tubuh dan organ – organ dalam. Pada kejadian yang demikian ini maka sel – sel bakteri patogen dapat dijumpai di organ hati dan ginjal (Irianto *et al.*, 2006).

Menurut Saparinto dan Rini (2013) bakteri *Aeromonas* sp. menyebabkan penyakit seperti cacar atau borok. Ikan yang terinfeksi ditandai dengan adanya jaringan kulit yang melepuh atau luka berdarah pada kulit sampai ke organ tubuh. Permukaan tubuh ikan berwarna merah darah, lender kurang, sisik rusak dan rontok, sirip rusak serta pecah – pecah. Pada infeksi mulai parah, ikan kehilangan keseimbangan dan lemas.

2.3 Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Jagessar dan Alleyne (2011), klasifikasi dari pohon ketapang (*T. catappa*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Myrtales
Family	: Combretaceae
Genus	: Terminalia
Species	: <i>Terminalia catappa</i>

Menurut Suwarso, Priyono, Gani dan Kusyanto (2008), *T. catappa* (ketapang) merupakan pohon pantai dengan daerah penyebarannya cukup luas. Berasal dari daerah tropis di India, kemudian menyebar ke Asia Tenggara, Australia Utara dan Polynesia di Samudra Pasifik. Gambar pohon ketapang (*T. catappa*) dapat dilihat pada Gambar 3.



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

Ketapang (*Terminalia catappa*) adalah pohon tropis yang besar dalam keluarga pohon *Leadwood*, *Combretaceae*. Dapat tumbuh dengan tegak sampai 35 meter (115 kaki), mahkota simetris dan cabang horisontal. Pohon ini rindang, buah yang ringan dan memiliki sedikit air. Biji dalam buah ini dapat dimakan saat masak, rasanya hampir seperti almond. Daun yang besar dengan panjang 15 – 25 cm dan 10 – 14 cm lebar, bulat telur, berwarna hijau gelap mengkilap dan kasar. Mereka adalah pohon musim kemarau, sebelum daunnya jatuh batangnya akan berwarna merah muda kemerahan atau kuning coklat, akibat pigmen seperti violaxanthin, lutein, dan zeaxanthin. Bunganya bermahkota satu dengan pejantan yang berbeda

dan bunga betina pada pohon yang sama. Keduanya berdiameter 1 cm, berwarna putih kehijauan mencolok tanpa kelopak. Mereka diproduksi di ketiak atau duri terminal (Jagessar dan Alleyne, 2011).

2.3.2 Kandungan Senyawa Aktif dan Manfaatnya

Salah satu alternatif pengganti dari penggunaan antibiotik berbahan kimia pada usaha budidaya ikan adalah dengan menggunakan bahan alami yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri yang menyerang ikan budidaya dan tidak menyebabkan perairan tercemar oleh residu. Ketapang (*T. catappa*), memiliki senyawa – senyawa antibakteri yang diduga dapat menghambat atau bahkan menghentikan pertumbuhan dari bakteri *A. hydrophila* yang menginfeksi ikan mas (*C. carpio*). Menurut Hidayat (2006) dalam Aminah, Slamet Budi Prayitno, Sarjito (2014) menjelaskan bahwa ekstrak daun ketapang mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid/steroid, saponin.

Menurut Manjunath (1976) dalam Nwosu, Dosumu, dan Okocha (2008), penggunaan Ketapang (*Terminalia catappa*) belum ditemukan dalam literatur yang digunakan sebagai sumber bahan baku untuk formulasi pakan ransum. Namun, beberapa studi tentang sifat obat daun, akar dan buah-buahan telah didapatkan. Dalam pengobatan tradisional daun, kulit kayu dan buah *T. catappa* yang digunakan dalam mengobati disentri, rematik, batuk dan asma. Buah ini juga berguna dalam pengobatan kusta dan sakit kepala khusus dan daun digunakan dalam menyingkirkan parasit usus, pengobatan masalah mata, luka, dan masalah hati.

2.4 Hematologi

Menurut Sacher dan Richard (2004), hematologi adalah ilmu tentang darah dan jaringan pembentuk darah yang merupakan salah satu organ terbesar didalam

tubuh. Darah membentuk 6 sampai 8% dari berat tubuh total dan terdiri dari sel-sel darah yang tersuspensi didalam suatu cairan yang disebut plasma. Tiga jenis sel darah utama adalah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan trombosit.

Darah ikan tersusun atas cairan plasma dan sel – sel darah yang terdiri dari sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan keping darah (trombosit). Didalam plasma darah terkandung garam-garam anorganik (natrium klorida, natrium bikarbonat dan natrium fosfat), protein (dalam bentuk albumin, globulin dan fibrinogen), lemak (dalam bentuk lesitin dan kolesterol) serta zat-zat lainnya misalnya hormon, vitamin, enzim dan nutrient (Vonti 2008).

Menurut Alamanda, Handajani dan Budiharjo (2007), pemeriksaan darah dapat digunakan sebagai indikator tingkat keparahan suatu penyakit. Studi hematologi merupakan kriteria penting untuk diagnosis dan penentuan kesehatan ikan. Hal ini dikarenakan pada ikan yang terserang penyakit terjadi perubahan pada nilai hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih. Selain itu, menurut Noercholis, Muslim dan Maftuch (2013), standar normal hematologi ikan sangat diperlukan dalam melakukan diagnosis penyakit ikan secara laboratorik. Manfaat pemeriksaan darah ikan antara lain untuk membantu diagnosis suatu penyakit, mengetahui jalannya suatu penyakit, menentukan prognosa, mengetahui efek suatu pengobatan, meneliti sistem imun dan untuk mengetahui status kesehatan ikan. Adanya gangguan kesehatan maupun perubahan status fisiologi hewan sering dapat diketahui melalui komponen darahnya.

2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Ikan memiliki sel darah merah berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Elasmobranchi dan hagfish memiliki sel

darah merah yang besar sekitar 19,7 mm x 13,9 mm (Satchell, 1991 *dalam* Fujaya, 2008), beberapa spesies lain memiliki sel darah merah berbentuk lonjong dengan diameter 11 – 14 μ meter serta memiliki inti dengan rasio volume sel dan inti adalah 3,5 – 4,0 μ meter. Jumlah sel darah merah pada masing – masing spesies juga berbeda tergantung aktivitas ikan tersebut (Fujaya, 2008).

Menurut Monera dan Simon (2008), eritrosit adalah sel darah yang sangat berlimpah pada vertebrata dengan pengecualian pada mamalia, tetap ternukleasi sepanjang siklus hidup. Fungsi utama yang terkait dengan sel darah merah ini adalah pertukaran gas (pernafasan) dan sebagai kekebalan tubuh. Selain itu, menurut Takashi dan Hibiya (1995) *dalam* Maswan (2009), Sel darah merah (eritrosit) ikan mempunyai inti, umumnya berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa. Jumlah eritrosit berbeda-beda pada berbagai spesies dan juga sangat dipengaruhi oleh suhu, namun umumnya berkisar antara 1 – 3 juta sel/mm³.

2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Selain terdapat sel darah merah terdapat juga sel darah putih (Leukosit) dalam darah ikan. Sel – sel darah putih ikan jumlahnya lebih banyak daripada manusia. Sel darah putih dalam darah ikan terdiri atas 7 bentuk, yaitu dua tipe eosinofil, dan granulosit, masing – masing satu tipe neutrofil, granulosit, limposit, monosit, dan trombosit. Eosinofil, neutrofil, dan monosit merupakan leukosit yang bersifat fagosit. Eosinofil akan masuk kedalam darah dengan jumlah tinggi apabila terjadi infeksi yang disebabkan oleh benda asing, dan juga sebagai detoksikasi protein. Namun ternyata neutrofil dan monosit jauh bersifat lebih fagosit daripada eosinofil. Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam hal memfagositasi bakteri, 1 monosit

yang matang atau yang biasa disebut makrofag mampu memfagosit 100 bakteri (Fujaya,2008).

Leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Hasil produksi leukosit akan diarahkan menuju daerah terinfeksi sebagai pertahanan ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi yang mengakibatkan terjadinya inflamasi (Suhermanto, Sri dan Maftuch, 2011). Pendapat ini diperkuat oleh Mas'ud (2013) bahwa leukosit dikerahkan untuk menghadang benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya melalui aliran darah. Apabila ada benda asing masuk ke dalam tubuh maka leukosit akan memberikan respon dengan meningkatnya jumlahnya sebagai bentuk pertahanan tubuh. Respon imun akan meningkat dengan cara mengaktifkan leukosit, sehingga peran leukosit sangat penting dalam sistem kekebalan tubuh.

2.5 Sistem Kekebalan Tubuh

Menurut Fujaya (2008), Kekebalan adalah kemampuan organisme untuk melawan semua jenis organisme atau toksin yang cenderung merusak jaringan dan organ. Ada dua sistem kekebalan pada organisme yakni kekebalan nonspesifik dan kekebalan spesifik. Kekebalan nonspesifik adalah kekebalan sebagai akibat proses-proses umum, misalnya fagositosis bakteri oleh sel darah putih atau destruksi organisme yang tertelan dalam lambung oleh asam yang disekresi lambung dan oleh enzim-enzim pencernaan. Sedangkan kekebalan spesifik adalah sistem kekebalan khusus yang membentuk antigen dan membuat limfosit peka untuk segera menyerang dan menghancurkan organisme spesifik atau toksin.

Sistem imun dapat membedakan zat asing dari zat yang berasal dari tubuh sendiri. Pada beberapa keadaan patologik, sistem imun ini tidak dapat membedakan self dari zat asing sehingga sel-sel dalam sistem imun membentuk zat anti terhadap jaringan tubuhnya sendiri yang disebut autoantibodi. Apabila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi yaitu respon imun nonspesifik dan sistem imun spesifik. Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar pada zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat yang timbul terhadap antigen tertentu, terhadap mana tubuh pernah terpapar sebelumnya (Kresno, 1991).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat – Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian tentang “Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) dalam Menghambat Laju Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprino carpio*) Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit” adalah sebagai berikut :

- Akuarium 30x30x30 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Pipet tetes
- Pipet thoma leukosit
- Pipet thoma eritrosit
- Washing Bottle
- Serok (jaring) Ikan
- Mikroskop cahaya
- Handtally counter
- Haemocytometer
- pH meter
- Thermometer
- DO meter
- Nampan

3.1.2 Bahan – Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian tentang “Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) dalam Menghambat Laju Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprino carpio*) Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit” adalah sebagai berikut :

- Ikan Mas (*C. carpio*)
- Ekstrak Kulit Ketapang (*T. catappa*)
- Bakteri *A. hydrophila*
- Larutan Alkohol 70%

- Larutan Turk
- Larutan Hayem
- Kapas
- Akuades
- Media NA (*Nutrient Agar*)
- Anti Koagulan (Na-Sitrat 3,8%)
- *Tissue*
- Kertas Label
- Pakan Ikan Komersil
- Media NB (*Nutrient Broth*)

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain (Zulnadi, 2007). Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat *induse*) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat.

Teknik yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi langsung terhadap obyek penelitian. Menurut Chariri (2009), Observasi dilakukan dengan cara mengamati secara langsung perilaku individu dan interaksi yang ada dalam seting penelitian. Oleh karena itu, peneliti harus terlibat langsung dalam kehidupan sehari – hari subyek yang dipelajari. Dengan cara ini peneliti dapat memperoleh data khusus diluar struktur dan prosedur formal organisasi.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan. Sehingga RAL banyak digunakan untuk

percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000). Penghitungan RAL dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian ini dilakukan dengan perlakuan pemberian ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak kulit 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 in vitro adalah 4 perlakuan dengan 3 ulangan beserta 1 kontrol yaitu kontrol normal. Hal pertama yang dilakukan yaitu menggunakan skala log kemudian setelah menemukan ekstrak yang pertama bening akan dilanjutkan dengan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) untuk menemukan dosis yang tepat. Setelah pengujian diketahui bahwa dosis yang dapat digunakan dikisaran 700 ppm dan 1000 ppm maka dari itu perlu dilakukan uji ulangan untuk mengetahui dosis spesifik yang akan digunakan seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasar Tabel 1 didapatkan pengaruh ekstrak kulit kayu 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 kulit ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm. 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. hydrophila* dan tanpa perendaman ekstrak kulit ketapang, kontrol infeksi sebagai perlakuan dengan infeksi bakteri *A. hydrophila* namun tanpa perendaman ekstrak kulit ketapang dan kontrol obat sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophila* namun dengan perendaman ekstrak kulit ketapang. Perlakuan sebanyak tiga kali dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 18 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A : Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 730 ppm
- B : Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 750 ppm
- C : Perlakuan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman

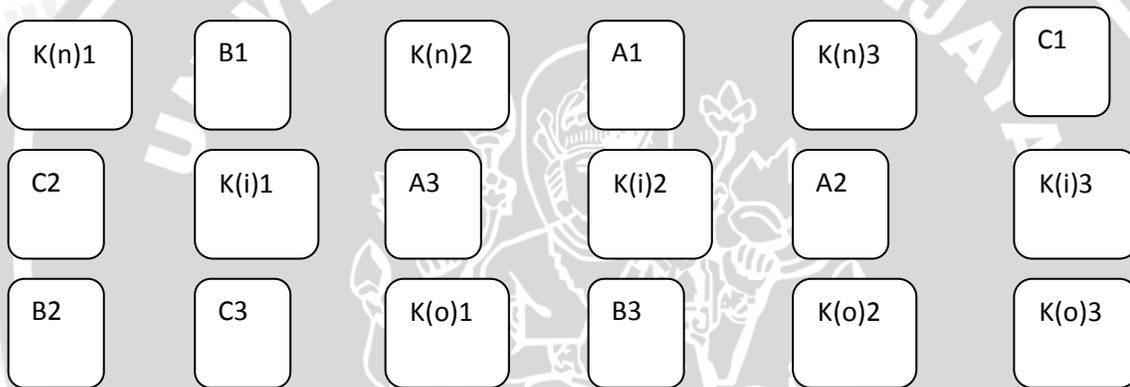
ekstrak 770 ppm

K (n) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa perendaman ekstrak

K (i) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* namun tanpa perendaman ekstrak

K (o) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* namun dengan perendaman ekstrak

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4 berikut ini :



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- A-B-C : Perlakuan
- K normal : Kontrol Normal
- K infeksi : Kontrol Infeksi
- K obat : Kontrol Obat
- 1,2,3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

- Alat – alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan plastik tahan panas dan diikat menggunakan benang.
- Air secukupnya dituang ke dalam *autoclave*, kemudian alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Tombol ON dinyalakan, setelah mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit dengan cara membuka dan/atau menutup kran uap yang berada di bagian atas tutup *autoclave*.
- Tombol OFF ditekan, ditunggu beberapa saat sampai suhu menunjukkan angka 0 (nol), kemudian buka kran uap lalu buka penutup *autoclave* dengan cara simetris.
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil.
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Sterilisasi Tempat Perlakuan

Selain alat dan bahan, tempat dan laboran harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan laboran yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun cara fisika dengan pembakaran langsung maupun dengan penyinaran dengan sinar UV.

c. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila* pada Media Padat NA (*Nutrient Agar*)

- NA merk OXOID dengan dosis 40 gram/L
 - NA sebangak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada erlemenyer
 - media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen
 - Erlemenyer ditutup dengankapas dan kertas perkamen atau aluminium foil lalu ditali dengan benang
 - Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°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
- d. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila* pada Media Cair NB (*Nutrient Broth*)
- NB ditimbang 6 gram dan dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemneyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning
 - Erlemenyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang
 - Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°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
- e. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila*
- Larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlemenyer 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 digoreskan 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 30°C selama 24 jam.
- f. Pembuatan Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) Menggunakan Metode Maserasi
- Siapkan kulit ketapang segar (1 kg)
 - Potong – potong kemudian angin – anginkan sampai kering
 - Setelah itu dioven dan diblender (hingga membentuk serbuk)
 - Serbuk kemudian ditimbang (200 g)
 - Dicampur dengan etanol 96% sebanyak 1000 ml dengan menggunakan rumus perbandingan 1 : 5 (100 g serbuk : 500 ml etanol 96% kemudian didiamkan selama 3x24 jam ditempat yang gelap)
 - Larutan yg didapat kemudian di saring menggunakan kertas saring
 - Diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 45°C pada kecepatan 80 rpm selama 1 jam untuk mendapat hasil (18,17 gram)
- g. Persiapan Alat
- Pencucian Akuarium menggunakan kaporit, didiamkan sehari kemudian dibilas
 - Persiapan alat – alat pendukung (aerasi, pH meter, DO meter)
 - Pengisian air pada akuarium
- h. Persiapan Hewan Uji

- Ikan mas sehat sebanyak 180 ekor dengan panjang 7 – 11 cm (masing – masing akuarium diisi dengan 10 ekor ikan uji)
- Proses aklimatisasi ikan selama 7 hari pada akuarium dan diberi pakan pellet secara ad libitum 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan apabila kondisi air telah kotor akibat feses dan sisa pakan.

i. Pengenceran Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya I, Jawa Timur. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^9 sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml.

- Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus :

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

Keterangan :

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 yang diinginkan

- Peremajaan bakteri 10^9 sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi selama 2 hari pada inkubator
- 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 yang sudah dikurangi air media sebanyak 200 ml sebelumnya untuk menyesuaikan kapasitas akuarium.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* kepadatan 10^7 sel/ml dengan cara perendaman pada ikan. Perendaman bakteri selama 24 jam dengan asumsi ikan gelisah pertama kali dan dilakukan didalam akuarium kapasitas $30 \times 30 \times 30$ cm³ yang sudah dilengkapi aerasi dengan kapasitas air sebanyak 20 liter sehingga dapat digunakan rumus pengenceran.

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 10^9 = 20.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{20.000 \times 10^7}{10^9}$$

$$= 200 \text{ ml}$$

Hasil tersebut dapat diketahui bahwa kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 200 ml. Selanjutnya diambil sampel darah ikan mas sebelum perendaman dan dihitung total eritrosit serta total leukosit. Ikan mas direndam masing – masing 10 ekor/akuarium. Setelah perendaman dengan bakteri, ikan direndam dengan ekstrak kulit ketapang kemudian dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Ikan dipelihara selama 3 hari. Selama 3 hari pemeliharaan, dilakukan pengambilan sampel darah untuk penghitungan total eritrosit dan total leukosit setiap sehari sekali

atau 24 jam sekali agar ikan uji tidak mengalami stres akibat pengambilan sampel. Pada setiap harinya dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB). Selama penginfeksian ikan tidak diberi pakan.

b. Pemberian Ekstrak Kulit Ketapang pada Ikan Mas

Pemberian ekstrak kulit ketapang dilakukan dengan perendaman pada akuarium ukuran 30x30x30 cm³ yang diisi air sebanyak 20 liter dan ditambahkan ekstrak kulit ketapang sesuai dengan dosis (730 ppm, 750 ppm, dan 770 ppm). Ikan mas direndam masing – masing 10 ekor per akuarium selama 6 menit dengan asumsi ikan gelisah pertama kali yang kemudian dipindahkan kedalam akuarium berisi air tawar dan dipelihara selama 3 hari untuk selanjutnya diambil sampel darah dan diamati total eritrosit serta total leukosit pada ikan selama sehari sekali. Akuarium diberi aerasi untuk menjaga kandungan oksigen terlarut.

c. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah ikan mas dilakukan dengan menggunakan spuit *disposable* 1 cc yang telah dibasahi Na-Sitrat 3,8% sebagai anti koagulan atau untuk mencegah agar darah ikan yang diambil tidak membeku atau menggumpal sehingga akan mempersulit proses pengamatan dan perhitungan sel darah. Pengambilan darah dilakukan di pangkal ekor (*caudal peduncle*) dengan cara disuntik dengan posisi jarum 45° dan ditarik perlahan – lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Darah yang didapat dimasukkan kedalam *mikrotube* yang telah diberi Na Sitrat 3,8% sebagai anti koagulan sebelumnya.

d. Uji Hematologi

1) Penghitungan Jumlah Eritrosit

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

$$\text{SDM} = (A/N) \times (1/V) \times F_p$$

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

F_p = faktor pengenceran

Jumlah sel darah merah dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma eritrosit sampai skala 0,5 kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 101 (pengenceran 1 : 200). Pipet bulir digoyang – goyangkan agar darah dan larutan hayem bercampur rata, setelah bercampur rata empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke haemositometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

2) Penghitungan Jumlah Leukosit

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah putih dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Jumlah sel darah putih dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{SDP} = (A/N) \times (1/V) \times F_p$$

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

A = jumlah sel darah putih yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

F_p = faktor pengenceran

Jumlah sel darah putih dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma leukosit sampai skala 0,5, kemudian larutan Turk juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 11 (Pengenceran 1 : 20). Pipet bulir digoyang goyangkan agar darah dan larutan Turk bercampur rata. Empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya ditetaskan ke *haemocytometer*, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata, sehingga memudahkan kita pada saat perhitungan sel darah putih pada mikroskop. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel leukosit pada 4 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengamatan Hematologi

4.1.1 Jumlah Eritrosit

Hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan rerata jumlah eritrosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada kontrol normal adalah sebesar $245,33 \times 10^4$ sel/mm³, kontrol infeksi sebesar $450,67 \times 10^4$ sel/mm³ dan kontrol obat sebesar $392,89 \times 10^4$ sel/mm³. Sedangkan pada perlakuan A (730 ppm) sebesar $224,67 \times 10^4$ sel/mm³, B (750 ppm) sebesar $332,67 \times 10^4$ sel/mm³, C (770 ppm) sebesar 417×10^4 sel/mm³. Hasil lengkap dari jumlah eritrosit ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini :

Tabel 2. Rerata Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) (10^4 sel/mm³)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	238,67	170,00	265,00	674,00	224,67	49,18
B	292,33	298,00	407,67	998,00	332,67	65,01
C	436,67	390,00	423,00	1250,00	417,00	24,04
K normal	243,33	245,00	247,67	736,00	245,33	2,19
K infeksi	683,33	168,33	500,00	1352,00	450,67	261,07
K obat	396,67	325,00	457,00	1178,67	392,89	66,08
Total				6188,67		

Berdasarkan dari hasil Tabel 2 diatas, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisis Keragaman untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 3).

Tabel 3. Analisis Keragaman Jumlah Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	55584,00	27792,00	11,54**	5,14	10,92
Acak	6	14447,33	2407,89			
Total	8					

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Dilihat dari perhitungan keragaman (Tabel 3) di atas menunjukkan hasil dari F hitung sebesar 11,54 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 jumlah eritrosit ikan mas (*C. carpio*). Selanjutnya dilanjutkan dengan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 4).

Tabel 4. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

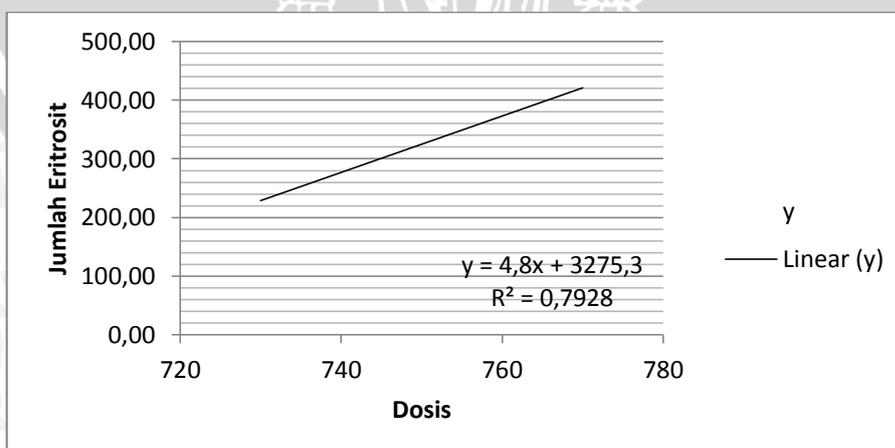
Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		224,67	332,67	416,67	
A	224,67	0 ^{ns}			a
B	332,67	108**	-		b
C	416,67	192**	84*	-	c

Keterangan : ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata)

* = Berbeda Nyata

** = Berbeda Sangat Nyata

Dari uji BNT tersebut menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan notasi tiap perlakuan yang berbeda sehingga perlu dilakukan Uji *Polinomial Orthogonal* untuk mengetahui respon pemberian dosis ekstrak kulit ketapang terhadap jumlah eritrosit ikan mas (*C. carpio*) yang baik. Untuk mengetahui perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5 dan untuk mengetahui bentuk hubungan regresi pada antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Regresi Total Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Pada Gambar 5 menunjukkan hubungan antara dosis berbeda dalam perlakuan terhadap total eritrosit yang berbentuk linier. Hal ini ditunjukkan dengan hasil regresi mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang diperoleh dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100% yaitu sebesar 0,7928 dengan persamaan $y = 4,8x + 3275,3$).

Berdasarkan perhitungan di atas dapat diketahui bahwa perlakuan C (770 ppm) merupakan dosis yang baik jika dibandingkan hasil perhitungan eritrosit perlakuan A dan B sebesar 417 sel/mm³. Peningkatan jumlah eritrosit pada masing – masing perlakuan menunjukkan bahwa ekstrak kulit ketapang mampu mengobati ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aminah, Prayitno, dan Sarjito (2014) bahwa senyawa – senyawa dalam daun ketapang yang berperan sebagai antibakteri adalah senyawa golongan alkaloid dan flavonoid. Selain itu, senyawa alkaloid merupakan salah satu senyawa yang bersifat antibakteri karena dapat merusak dinding sel bakteri.

Pada perlakuan C (770 ppm) dipilih untuk dosis tertinggi karena pada pemberian dosis ini terjadi kematian apabila perendaman dilakukan selama lebih dari 3 hari. Apabila dosis dinaikkan lebih dari 770 ppm maka ikan akan mati karena ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) sudah tidak berperan sebagai obat namun menjadi racun bagi tubuh ikan. Hal ini disebabkan karena dosis yang diberikan terlalu tinggi serta diketahui bahwa ekstrak kulit ketapang mengandung antibakteri yang dapat mematikan bakteri *A. hydrophila* karena mempunyai kandungan zat aktif seperti saponin, tanin, alkaloid, dan flavonoid. Menurut Hidayat (2006) dalam Aminah *et al.*, (2014) ekstrak daun ketapang mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin yang bersifat bakterisidal dan dapat membunuh bakteri.

4.1.2 Jumlah Leukosit

Hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan rerata jumlah leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada kontrol normal adalah sebesar $411,11 \times 10^4$ sel/mm³, kontrol infeksi sebesar 513×10^4 sel/mm³ dan kontrol obat sebesar $308,22 \times 10^4$ sel/mm³. Sedangkan pada perlakuan A (730 ppm) sebesar $735,89 \times 10^4$ sel/mm³, B (750 ppm) sebesar $684,78 \times 10^4$ sel/mm³, C (770 ppm) sebesar $652,67 \times 10^4$ sel/mm³. Hasil lengkap dari jumlah leukosit ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Rerata Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) (10^4 sel/mm³)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	727,67	712,33	767,67	2207,67	735,89	28,57
B	698,33	676,33	680,67	2054,33	684,78	11,86
C	626,00	659,00	673,00	1958,00	652,67	24,13
K normal	399,00	430,33	404,00	1233,33	411,11	16,83
K infeksi	403,00	634,00	501,67	1538,33	513,00	115,73
K obat	275,00	421,33	228,33	924,67	308,22	100,70
Total				9916,33		

Berdasarkan dari hasil Tabel 5 diatas, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisis Keragaman untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 6).

Tabel 6. Analisis Keragaman Jumlah Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	10569,41	5284,70	10,31**	5,14	10,92
Acak	6	3078,15	513,02			
Total	8					

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Nilai F hitung pada tabel di atas menunjukkan bahwa F hitung sebesar 10,30 dimana hasil ini lebih besar daripada F tabel 5% dan F tabel 1 %. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap jumlah leukosit ikan mas (*C. carpio*).

Selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pada penelitian.

Tabel 7. Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

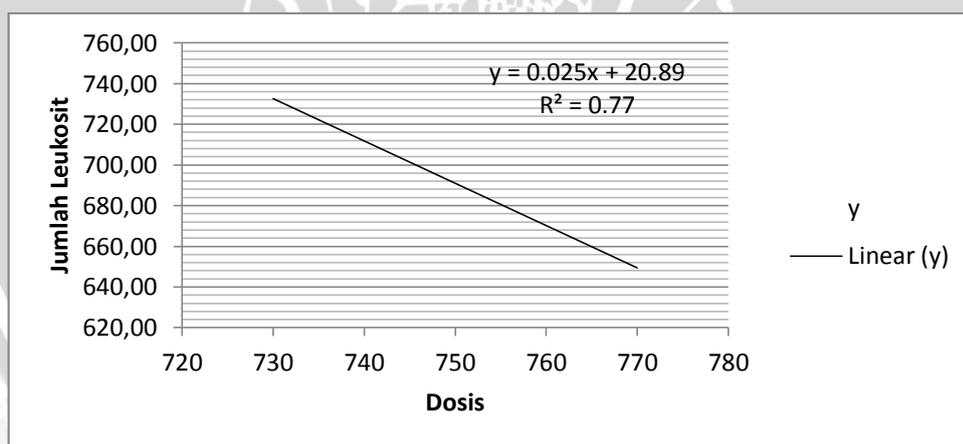
Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		652,67	684,78	735,89	
C	652,67	0 ^{ns}			a
B	684,78	32,11*	-		b
A	735,89	83,22**	51,11**	-	c

Keterangan : ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata)

* = Berbeda Nyata

** =Berbeda Sangat Nyata

Dari uji BNT tersebut menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan notasi tiap perlakuan yang berbeda sehingga perlu dilakukan Uji *Polinomial Orthogonal* untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kulit ketapang terhadap jumlah leukosit ikan mas (*C. carpio*) yang baik. Untuk mengetahui perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5 dan untuk mengetahui hubungan regresi pada masing – masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Regresi Total Leukosit. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Pada Gambar 6 menunjukkan hubungan antara dosis berbeda dalam perlakuan terhadap total leukosit yang berbentuk linier. Hal ini ditunjukkan dengan hasil regresi mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang diperoleh

dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100% yaitu sebesar 0,77 dengan persamaan $y = 0,025x + 20,89$.

Berdasarkan perhitungan sebelumnya dapat diketahui bahwa perlakuan A (730 ppm) merupakan dosis yang baik jika dibandingkan hasil perhitungan eritrosit perlakuan B dan C sebesar $735,89 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$. Terjadi peningkatan leukosit pada darah yang mengindikasikan bahwa terjadi peristiwa fagositosis dimana kemungkinan ada patogen atau bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Leukosit meningkat sebagai respons fisiologis untuk melindungi tubuh dari serangan bakteri. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan (Suhermanto, Sri dan Maftuch, 2011). Nantinya leukosit akan dikerahkan untuk menghadang benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya melalui aliran darah.

Leukosit dapat digunakan sebagai indikator adanya infeksi. Tubuh akan memproduksi lebih banyak leukosit saat adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh. Dalam melawan penyakit tersebut, leukosit berperan sebagai sistem imun dan pertahanan. Pada perlakuan C (770 ppm) yang memiliki nilai leukosit paling rendah sebesar $652,67 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ hal ini dikarenakan kemungkinan ikan yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* sudah dapat disembuhkan dengan pemberian ekstrak. Kulit ketapang (*T. catappa*) sendiri memiliki zat aktif yang dapat menghambat dan membunuh bakteri misalnya flavonoid dan saponin. Robinson (1995) dalam Aminah *et al.*, (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. Selain itu, Rinawati (2011) dalam Aminah *et al.*, (2014) menyatakan bahwa flavonoid mampu melisis bakteri dengan merusak struktur protein,

kestabilan dinding sel dan membran plasma yang terganggu karena memiliki sifat anti inflamasi melalui ikatan hidrogen.

Menurut Alamanda, Handajani dan Budiharjo (2007), pemeriksaan darah dapat digunakan sebagai indikator tingkat keparahan suatu penyakit. Studi hematologi merupakan kriteria penting untuk diagnosis dan penentuan kesehatan ikan. Hal ini dikarenakan pada ikan yang terserang penyakit terjadi perubahan pada nilai hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah dan jumlah sel darah putih. Selain itu, pemeriksaan darah ikan antara lain untuk membantu diagnosis suatu penyakit, mengetahui jalannya suatu penyakit, menentukan prognosa, mengetahui efek suatu pengobatan, meneliti sistem imun dan untuk mengetahui status kesehatan ikan. Adanya gangguan kesehatan maupun perubahan status fisiologi hewan sering dapat diketahui melalui komponen darahnya.

Pengamatan hematologi dilakukan dengan menggunakan metode pengamatan langsung total eritrosit dan total leukosit pada mikroskop. Menurut Samsisko (2013) parameter yang biasa menjadi indeks dalam menentukan status kesehatan ikan adalah total sel darah merah, sel darah putih, dan hematokrit.

4.2 Gejala Klinis

Pada pengamatan gejala klinis yang dilakukan selama masa pemeliharaan sepuluh hari terlihat perubahan berbeda baik sebelum dilakukan penginfeksi maupun sesudah penginfeksi bakteri *A. hydrophila*. Gejala klinis ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 7 berikut ini :



Gambar 7. Gejala Klinis Ikan (a). Bercak Merah di tubuh, (b). Sisik mengelupas

Gejala klinis yang ditunjukkan pada ikan kontrol infeksi K(i) ikan berenang di dasar dan menggesek – gesekkan tubuhnya ke dinding akuarium. Ikan terlihat kurang aktif dan matanya pucat menonjol. Sisik ikan mengelupas yang ditandai dengan banyaknya sisik terlepas dan berada di dasar perairan. Hal ini dikarenakan serangan bakteri *A. hydrophila* mulai menyerang sistem kekebalan ikan mas dan ikan tidak diberi perlakuan pengobatan sehingga gejala ikan sakit mulai dapat dilihat. Pada ikan K(i) tubuhnya mengeluarkan lendir karena ikan mulai mengaktifkan sistem pertahanan tubuhnya untuk melawan serangan bakteri atau sebagai bentuk respon sistem kekebalan non spesifik ikan mas sebagai akibat serangan bakteri *A. hydrophila* sesuai dengan pernyataan Tauhid *et al.*, (2004) dalam Maswan (2009) bahwa beberapa gejala – gejala yang timbul pada ikan mas yang terinfeksi berupa produksi lendir (mukus) berlebih sebagai respon fisiologis terhadap kehadiran patogen. Kemudian nafsu makan yang menurun, terlihat dengan banyaknya sisa pakan di air media pemeliharaan. Hal ini sesuai dengan pendapat Sarjito, Haditomo dan Prayitno (2013) bahwa ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* akan tampak lemah. Penurunan respon pakan disebabkan karena adanya gangguan metabolisme didalam tubuh. Menurut Cipriano (2001), respon reaksi rangsangan nafsu makan ikan akan menurun sebagai akibat terinfeksi *A. hydrophila*. Berbeda dengan ikan kontrol obat K(o) 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. Namun mengalami kematian massal pada hari ketiga dikarenakan ekstrak kulit ketapang (*T. catappa*) sudah menjadi racun bagi tubuh ikan.

Gejala klinis pada masing – masing perlakuan menunjukkan bahwa dosis ekstrak kulit pohon ketapang yang diberikan memberikan respon berbeda terhadap penyembuhan ikan mas terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada perlakuan A (dosis 730 ppm) belum menunjukkan respon yang baik terhadap penyembuhannya. Pada perlakuan B (dosis 750 ppm) terlihat ikan di akuarium masih berenang aktif namun ada beberapa ikan berenang pasif dan saat pemberian pakan ikan merespon dengan baik. Sedangkan pada perlakuan C (dosis 770 ppm) ikan sudah mampu disembuhkan oleh senyawa aktif yang ada pada ekstrak kulit pohon ketapang.

4.3 Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Berdasarkan hasil penelitian, berikut ini adalah data kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) selama penelitian 3 hari dapat dilihat pada Tabel 8 dan pada Lampiran 7.

Tabel 8. Kelulushidupan Ikan Mas (*C. Carpio*) Selama Penelitian

Perlakuan	Ulangan	∑ Ikan awal penelitian	∑ Ikan akhir penelitian	Rerata (%)	SR (%)
A (730 ppm)	1	10	8	80	70
	2	10	6	60	
	3	10	7	70	
B (750 ppm)	1	10	6	60	63,3
	2	10	6	60	
	3	10	7	70	
C (770 ppm)	1	10	6	60	46,7
	2	10	5	50	
	3	10	3	30	
Kontrol Normal	1	10	10	100	100
	2	10	10	100	
	3	10	10	100	
Kontrol Obat	1	10	7	70	66,3
	2	10	6	60	
	3	10	6	70	
Kontrol Infeksi	1	10	3	30	25
	2	10	2	20	
	3	10	0	0	

Dari Tabel 8 dapat diketahui bahwa selama penelitian kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang baik didapat dari perlakuan A yang menggunakan dosis sebesar 730 ppm dengan nilai SR sebesar 70%, sedangkan hasil yang buruk didapat dari perlakuan C yang menggunakan dosis 770 ppm dengan nilai SR sebesar 46,7%. Dikarenakan data kelulushidupan yang diperoleh masih berbentuk angka binomial atau persen maka perlu ditransformasi untuk normalitas data penelitian menggunakan metode Arc Sin. Hasil lengkap dari kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Tabel 9 berikut ini :

Tabel 9. Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	63,44	50,77	56,79	171,00	57,00	6,34
B	50,77	50,77	56,79	158,33	52,78	3,48
C	50,77	45,00	56,79	152,56	50,85	8,95
K normal	90,00	90,00	90,00	213,21	71,07	32,79
K infeksi	33,21	26,56	0,00	59,77	19,92	17,57
K obat	56,79	50,77	56,79	164,35	54,78	3,48
Total				919,22		

Berdasarkan dari hasil Tabel 9 diatas, selanjutnya dilakukan perhitungan Uji Analisis Keragaman untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Tabel 10).

Tabel 10. Analisis Keragaman Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3745,49	1248,49	37,73**	5,14	10,92
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11					

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Dilihat dari perhitungan keragaman (Tabel 10) 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 11).

Tabel 11. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		42,99	52,78	57,00	
C	42,99	0 ^{ns}			a
B	52,78	9,78 ^{ns}	—		a
A	57,00	14,01 ^{ns}	4,22 ^{ns}	—	a
K	90,00	47,01*	37,22*	33,00 ^{ns}	b

Keterangan : ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata)

* = Berbeda Nyata

Dari uji BNT tersebut menunjukkan hasil yang tidak berbeda dengan notasi a sehingga tidak perlu dilakukan Uji *Polinomial Orthogonal* dimana untuk mengetahui respon pemberian dosis ekstrak kulit ketapang terhadap jumlah kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang baik. Untuk mengetahui perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 5.

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 seperti alkaloid dan tanin di dalam kulit kayu ketapang akan bersifat racun jika kadarnya terlalu tinggi dalam air media pemeliharaan. Menurut Saifudin (2006) dalam Aminah *et al.* (2014) senyawa alkaloid merupakan salah satu senyawa yang bersifat antibakteri karena fungsi kerjanya dapat merusak dinding sel bakteri, sehingga pembelahan sel terhambat. Tanin memiliki daya antibakteri dengan cara mempresipitasikan protein. Secara umum efek antibakteri tanin berupa inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik bakteri.

4.4 Kualitas Air

Air sangat diperlukan dalam kehidupan ikan karena sebagai media hidup untuk berlangsungnya proses metabolisme dan pembentukan cairan tubuh. Kualitas air pada media pemeliharaan berperan sangat penting dalam kelangsungan hidup ikan yang dipelihara. Parameter yang berpengaruh dalam kelangsungan hidup ikan diantaranya adalah suhu, derajat keasaman atau pH, dan oksigen terlarut atau DO (*Dissolved Oxygen*). Parameter tersebut diukur setiap harinya pada pagi dan sore hari. Selain pengukuran kualitas air, setiap pagi hari dan sore hari juga dilakukan penyiponan dan pergantian air agar sisa pakan di dasar tidak mencemari perairan. Berikut ini data yang menyajikan kualitas air selama masa pemeliharaan.

Tabel 12. Kualitas Air Selama Penelitian

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

4.4.1 Suhu

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air, kisaran suhu yang diukur selama pengamatan berkisar antara 24,6°C – 25,9°C. Kisaran suhu ini masih dalam kategori normal. Hal ini sesuai dengan pendapat Narantaka (2002) bahwa kondisi suhu optimum dalam budidaya ikan mas berkisar antara 25 – 30°C.

4.4.2 Derajat Keasaman (pH)

Hasil pengukuran pH selama pemeliharaan berkisar antara 7 – 7,7. Nilai tersebut masih termasuk dalam kategori normal dan dapat ditoleransi oleh ikan mas. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suseno (2002) bahwa nilai derajat keasaman sejenis ikan mas berkisar antara 6,5 hingga 8,5.

4.4.3 Oksigen Terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO)

Pada pengukuran DO selama pemeliharaan ikan uji didapatkan nilai rata-rata DO berkisar antara 3,9 – 4,8 mg/l. Hal ini masih dalam kategori normal dan dapat ditoleransi oleh ikan. Hal ini sesuai dengan pendapat Saparinto dan Rini (2013), bahwa rata – rata ikan air tawar menyukai kehidupan dengan kadar oksigen terlarut di perairan berkisar antara 3 hingga 5 ppm.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasar penelitian yang berjudul "Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit" ini dapat disimpulkan bahwa :

- Pemberian ekstrak dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda terhadap parameter hematologi ikan mas yang diuji. Seperti terjadinya peningkatan total eritrosit yang disertai dengan penurunan total leukosit dilihat dari perlakuan yang diberikan.
- Dosis baik dari tiga dosis yang diberikan adalah 750 ppm (perlakuan B). Ditandai dengan peningkatan jumlah sel eritrosit dan penurunan sel leukosit darah ikan mas (*C. carpio*) yang mengindikasikan bahwa ikan sudah sembuh serta memiliki nilai kelulushidupan baik dengan nilai 46%.

5.2 Saran

Berdasar penelitian yang berjudul "Efektifitas Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dilihat dari Total Eritrosit dan Total Leukosit" ini dapat disarankan bahwa pengobatan ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat disembuhkan menggunakan ekstrak kulit kayu ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 750 ppm. Selain itu, disarankan untuk dilakukan pengujian hematologi lanjutan dengan dosis berbeda untuk diketahui dosis optimal ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* juga dengan nilai kelulushidupan yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto dan Liviawati 1992. **Fisiologi Hewan**. Gramedia. Jakarta. 97 hlm.
- Agustina, F. 2011. **Proses Produksi Jamu Sehat Ramping di PT. Putro Kinasih**. 1 – 51.
- Amri, K. dan Khairuman. 2002. **Menanggulangi Penyakit Pada Ikan Mas Dan Koi**. Agro Media Pustaka : Jakarta. 52 hal.
- Aminah, S.B. Prayitno, dan 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.
- Alamanda, I. E, N. S. Handajani dan A. Budiharjo. 2007. **Penggunaan Metode Hematologi dan Pengamatan Endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepienus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali**. *Biodiversitas*. 8(1): 34-36.
- Bijanti, R, M.G.A. Yuliani, R. S. Wahjuni, dan R. B. Utomo. 2010. **Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner**. Universitas Airlangga Press. Surabaya. 97 hlm.
- Chariri, A. 2009. **Landasan Filsafat dan Metode Penelitian Kualitatif, Paper disajikan pada Workshop Metodologi Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif, Laboratorium Pengembangan Akuntansi (LPA), Fakultas Ekonomi Universitas Diponegoro Semarang**. 13-14.
- Cipriano, R.C. 2001. ***Aeromonas hydrophila* and Motil *Aeromonas* Septicemia of Fish**. United States Departement of The Interior Fish and Wild Life Service Division of Fisheries Research, Washington DC. 25 hal.
- Fujaya, Y. 2008. **Fisiologi Ikan**. Rineka Cipta : Jakarta. 179 hal.
- Google Image. 2015. **Gambar Ikan Mas**. <https://puangrate.files.wordpress.com/2011/06/ikanmas.jpg> diunduh pada 15 Maret 2015
- _____. 2015. **Gambar Pohon Ketapang**. [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d2/Desi_Badam_\(Terminalia_catappa\)_tree_in_Kolkata_W_IMG_2207.jpg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d2/Desi_Badam_(Terminalia_catappa)_tree_in_Kolkata_W_IMG_2207.jpg) diunduh pada 15 Maret 2015.
- Halim, A. M. 2014. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila***. *Skripsi*. UB : Malang. 72 hlm.

- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9th ed. Williams and Wilkins. A Waverly Company. London. 992 hlm.
- 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.**
- Jagessar, R.C dan R. Alleyne. 2011. **Antimicrobial Potency of The Aqueous Extract of Leaves of Terminalia Catappa**. *Academic Research International*. 1 : 1-10.
- Kamaludin, I. 2011. **Efektivitas Ekstrak Lidah Buaya Aloe Vera untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Lele Dumbo *Clarias sp.* Melalui Pakan**. Skripsi. IPB : Bogor. 54 hlm.
- Khairuman., D. Sudenda dan B. Gunadi. 2008. **Budidaya Ikan Mas secara Intensif**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm.
- Kresno, S. B. 1991. **Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi kedua**. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 288 hlm.
- Laith, A.R dan M. Najiah. 2013. ***Aeromonas hydrophila*: Antimicrobial Susceptibility and Histopathology of Isolates from Diseased Catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell)**. *J Aquac Res Development*. 5(2) : 1-7
- Maftuch dan S. Dalimunthe. 2012. **Penyakit Hewan Akuakultur**. UB Press : Malang. 153 hal.
- Mas'ud, F. 2013. **Efektifitas *Candida sp.* sebagai imunostimulan pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) terhadap Infeksi *A. hydrophila***. *Jurnal Ilmu Eksakta*. Vol 1 (2): 27-38.
- Maswan. 2009. **Pengujian Efektivitas Dosis Vaksin DNA Dan Korelasinya Terhadap Parameter Hematologi Secara Kuantitatif**. *Skripsi*. IPB : Bogor. 70 hlm.
- Muchlisin, Z.A., A. Damhoeri, R. Fauziah, M. Musri dan Musman. 2003. **Pengaruh Beberapa Jenis Pakan Alami Terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Larva Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*)**. *Biologi* 3(2) : 105-113.
- 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.
- Mones, R. A. 2008. **Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea**. Skripsi. IPB. Bogor.

- Monera, D. dan Simon A. 2008. ***The Impact of Toxic Heavy Metals on The Hematological Parameters in Common Carp (Cyprinus carpio)***. *Journal Environment*. 6 (1): 23-28.
- Narantaka, A. 2012. **Pembenihan Ikan Mas**. Javalitera : Yogyakarta. 160 hal.
- Noercholis, A, M. A. Muslim dan Maftuch. 2013. **Ekstraksi Fitur Roundness untuk Menghitung Jumlah Leukosit dalam Citra Sel Darah Ikan**. *Jurnal EECCIS*. 7 (1) : 35-40.
- Nwosu, F. O., Dosumu, O. O., dan Okocha, J. O. C. 2008. ***The potential of Terminalia catappa (Almond) and Hyphaene thebaica (Dum palm) Fruits as Raw Materials for Livestock Feed***. *African Journal of Biotechnology*. 7 (24) : 4576-4580.
- Prajitno, A. 2007. **Penyakit Ikan – Udang Bakteri**. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Sacher, R.A dan Richard A.M. 2004. **Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium**. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 705 hal.
- Samsisko, R.L.W. 2013. **Respon Hematologis Ikan Kerapu Tikus (Cromileptes Altivelis) Pada Suhu Media Pemeliharaan Yang Berbeda**. *Artikel Skripsi*. UNAIR Surabaya. 14 hal.
- Sarjito, A.C. Haditomo. dan S.B. Prayitno. 2013. **Agensia Penyebab Penyakit Motile Aeromonas septicemia di Sentra Produksi Lele Jawa Tengah**. Inpress. Prosiding KAI. Seminar Konferensi Akuakultur Indonesia (KAI) Solo.
- Saparinto, C. dan R. Susiana. 2013. **Sukses Pembenuhan 6 Jenis Ikan Air Tawar Ekonomis**. Lily Publisher : Yogyakarta. 278 hal.
- Sastrosupadi, A. 2000. **Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi**. Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Suhermanto, A, S. Andayani dan Maftuch. 2011. **Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (Holothuria scabra) untuk Meningkatkan Leukosit dan Differensial Leukosit Ikan Mas (Cyprinus carpio) yang diinfeksi Bakteri Aeromonas hydrophila**. *Jurnal Kelautan*. 4(2): 49-56.
- Suseno, D. 2002. **Pengelolaan Usaha Pembenuhan Ikan Mas**. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Suwarso, W. Priyono, I.Y. Gani dan Kusyanto. 2008. **Sintesis Biodiesel dari Minyak Biji Ketapang (Terminalia Catappa Linn.) yang berasal dari Tumbuhan di Kampus UI Depok**. 1(2) : 44-52.
- Syahida, I. E. Amalia, Sarjito, S. B. Prayitno, dan A.L. Mariana. 2013. **Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum) Terhadap Profil Darah Dan Kelulushidupan Ikan Mas (Cyprinus Carpio) Yang Diinfeksi Bakteri Aeromonas hydrophila**. *Journal of Aquaculture Management and Technology* (2) 4 : 94-107.

- Syamsundari, S. 2007. **Pengujian Ekstrak Temulawak Dan Kunyit Terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas Hydrophilla* Yang Menyerang Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*)**. 71-84.
- Thangaviji, V, M. Michaelbabu, S. B. Anand, P. Gunasekaran dan C. Citarasu. 2012. ***Immunization with the Aeromonas OMP Provides Protection against Aeromonas hydrophila in Goldfish (Carassius auratus)***. *J Microbial Biochem Technol.* 4(2) : 45-49.
- Ulfiana, R, G.M. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. **Tingkat Kejadian Aeromonosis pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi *Myxobolus koi* pada Derajat Infeksi yang Berbeda**. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* 4(2) : 169-174.
- Utami, D.A, Y. Aida dan F. S. Pranata. 2013. **Variasi Kombinasi Tepung Labu Kuning (*Cucurbita moschata* D.) dan Tepung Azolla (*Azolla pinnata* R.br.) pada Kecerahan Warna Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.)**. 1-12.
- Vonti, O. 2008. **Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Sinyonya yang Berasal dari Daerah Ciampea**. *Skripsi*. IPB : Bogor. 60 hlm.
- Zulnaidi. 2007. **Metode Penelitian**. Universitas Sumatera Utara. 20 hlm.

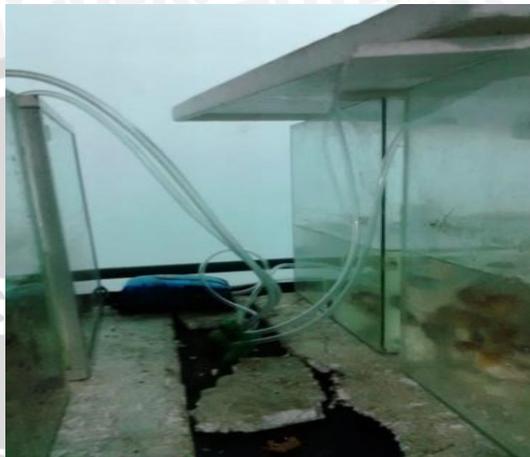


LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat – Alat Penelitian



Akuarium



Set Aerasi
(Aerator, Selang Aerasi dan Batu Aerasi)



Tube



Mikroskop Cahaya



pH meter



DO meter

Lampiran 1. (Lanjutan)



Sprit disposable



Set Haemocytometer
(Pipet Thoma Leukosit dan Pipet Thoma Eritrosit)



Washing Bottle



Timbangan Digital



Lampiran 2. Bahan – Bahan Penelitian



Ikan Mas
(*Cyprinus carpio*)



Ekstrak Kulit Ketapang
(*Terminalia catappa*)



Bakteri *Aeromonas hydrophila*



Alkohol 70%



Turk



Hayem



Anti Koagulan (Na – Sitrat 3,8%)

Lampiran 3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Sterilisasi Alat dan Media Kultur



Penanaman Bakteri
Aeromonas hydrophila



Persiapan Aquarium



Aklimatisasi Hewan Uji



Infeksi Bakteri *A. Hydrophila*

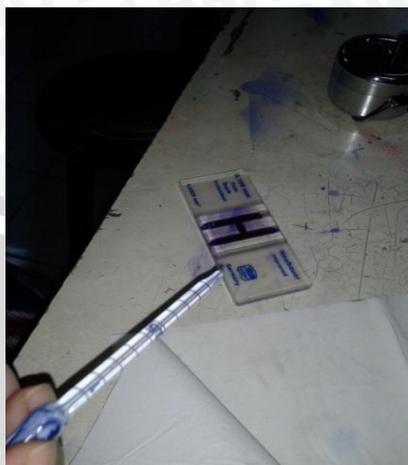


Pemberian Larutan Ekstrak
Kulit Ketapang (*Terminalia catappa*)

Lampiran 3. (Lanjutan)



Pengambilan Sampel Darah Ikan Mas
(*Cyprinus carpio*)



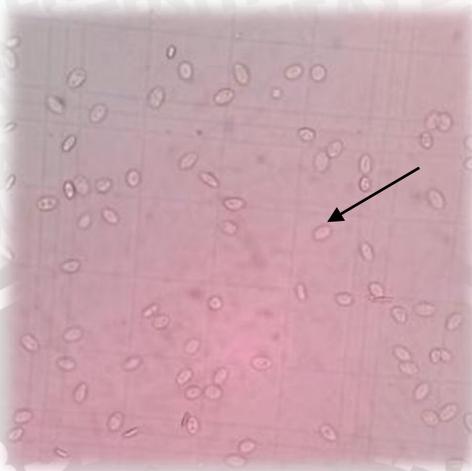
Pembuatan Preparat pada
Haemocytometer



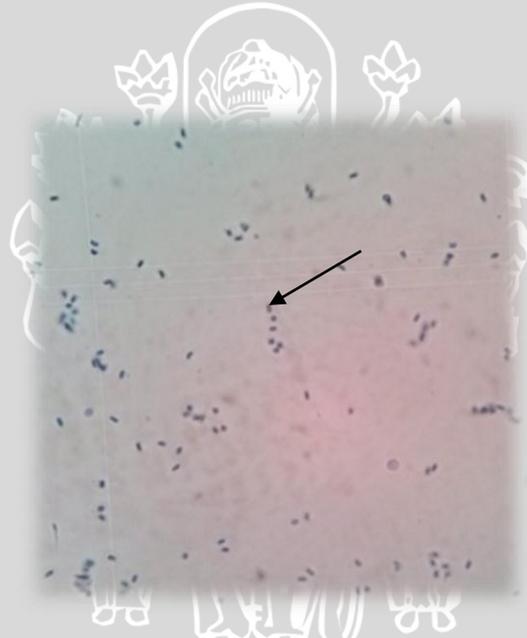
Pengamatan Di bawah Mikroskop



Lampiran 4. Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)



Pengamatan Eritrosit (←) Perbesaran 400 x pada *Haemocytometer*



Pengamatan Lekuosit (←) Perbesaran 400 x pada *Haemocytometer*

Lampiran 5. Analisis Data

a. Perhitungan Rerata Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	238,67	170	265	674	224,67	49,18
B	292,33	298	407,67	998	332,67	65,01
C	436,67	390	423	1250	417	24,04
Total				1866		

Fk 948676

Jk Total 70031,3

Jk Perlakuan 55584

Jk Acak 14447,3

1) Analisis Keragaman Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	55584	27792	11,54**	5,14	10,92
Acak	6	14447,33	2407,89			
Total	8					

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

SED = $\sqrt{2}$ KT acak/r = 40,07

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 77,85

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 125,93

2) Uji BNT Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	Notasi
		224,67	332,67	416,67	
A	224,67	0 ^{ns}			a
B	332,67	108*	0 ^{ns}		ab
C	416,67	192*	84*	0 ^{ns}	c

Keterangan: ns = Non Significant (tidak berbeda nyata)

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

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

Lampiran 5. (Lanjutan)

3) Tabel *Polynomial Orthogonal* Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	674	-3	1
B	998	-1	-1
C	1250	1	-1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		576	-72
Hasil Kuadrat		22	2
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		6	18
JK= Q^2 / Kr		55296	288

JK regresi total = JK Linear + JK Kuadratik

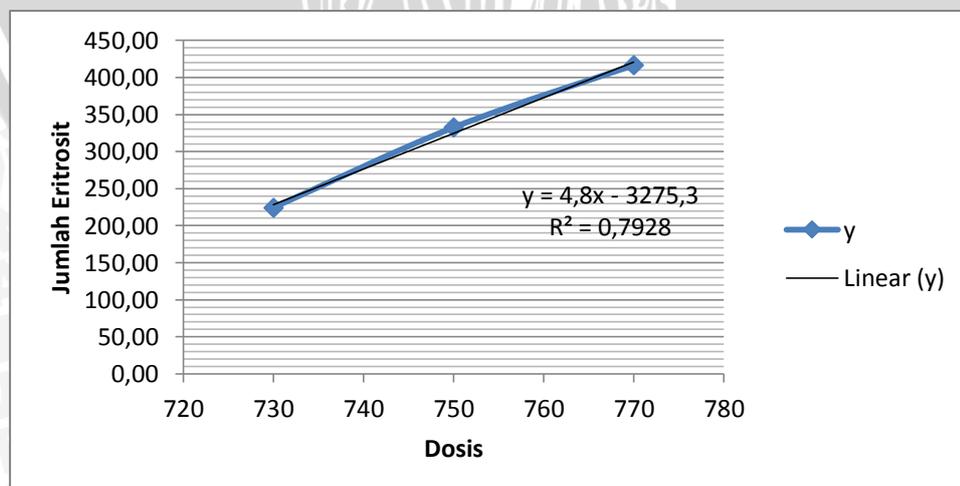
$$= 55296 + 288$$

$$= 55584$$

- Tabel Analisis Keragaman Regresi Eritrosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sidik Ragam	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	55584			5,14	10,92
Acak (galat)	6	14447,33	2407,89			
Linear	1	55296	55296	22,96**		
Total	8					

Berdasarkan perhitungan tersebut diketahui perlakuan terhadap sampel memiliki respon yang semakin bertingkat atau linier, maka dilanjutkan pada perhitungan R^2 linier kemudian dilanjutkan dengan penyusunan kurva linier



Lampiran 5. (Lanjutan)

b. Perhitungan Rerata Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	727,67	712,33	767,67	2207,67	735,89	28,57
B	698,33	676,33	680,67	2054,33	684,78	11,86
C	626	659	673	1958	652,67	24,13
Total						

Fk 1404.003333

JK Total 72.6477

JK Perlakuan 66.97146667

JK Acak 5.6762

1) Analisis Keragaman Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	10569,41	5284,70	10,31**	5,14	10,92
Acak	6	3078,15	513,02			
Total	8					

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

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 18,49

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 35,93

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 58,13

2) Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Rerata	C	B	A	Notasi
		652,67	684,78	735,89	
C	652,67	0 ^{ns}			a
B	684,78	32,11*	0 ^{ns}		b
A	735,89	83,22**	51,11*	0 ^{ns}	c

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata),

* = berbeda nyata,

** = berbeda sangat nyata

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

Lampiran 5. (Lanjutan)

4) Tabel *Polynomial Orthogonal* Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)	
		Linier	Kuadratik
A	2207,67	-1	1
B	2054,33	0	-2
C	1958	1	1
$Q = \sum c_i \cdot T_i$		-249,67	-72
Hasil Kuadrat		2	6
$Kr = (\sum c_i^2) \cdot r$		6	18
$JK = Q^2 / Kr$		10388,91	180,5

JK regresi total = JK Linear + JK Kuadratik

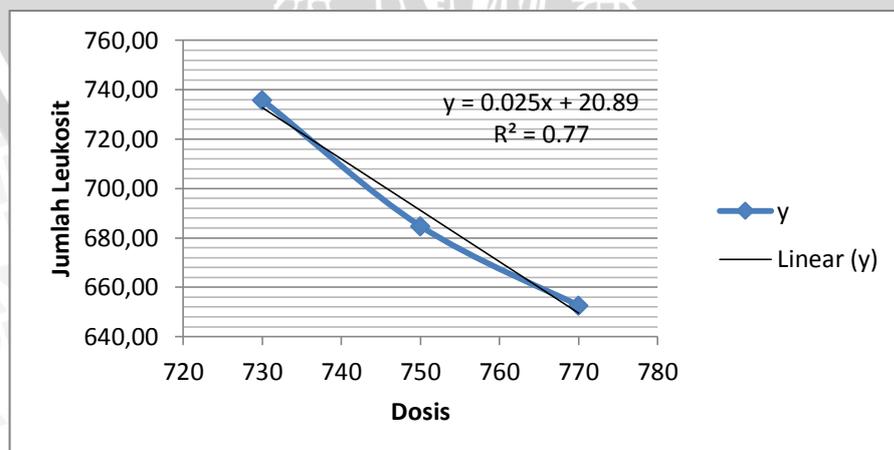
$$= 10388,91 + 180,5$$

$$= 10569,41$$

- Tabel Analisis Keragaman Regresi Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sidik Ragam	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	10569,41			5,14	10,92
Acak (galat)	6	3078,15	513,02			
Linear	1	10388,91	10388,91	20,25**		
Kuadratik	1	180,5	180,5	0,35 ^{ns}		
Total	8					

Berdasarkan perhitungan tersebut diketahui perlakuan terhadap sampel memiliki respon yang semakin bertingkat/ linier, maka dilanjutkan pada perhitungan R^2 linier kemudian dilanjutkan dengan penyusunan kurva linier



c. Perhitungan Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
K	90,00	90,00	90,00	213,21	71,07	32,79
A	63,44	50,77	56,79	171,00	57,00	6,34
B	50,77	50,77	56,79	158,33	52,78	3,48
C	50,77	45,00	56,79	152,56	50,85	8,95
Total				695,10		

Fk 44202,95

Jk Total 4010,16

Jk Perlakuan 3745,46

Jk Acak 264,71

5) 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**	5,14	10,92
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11					

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

SED = $\sqrt{2}$ KT acak/r = 4,67

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 24,14

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 51,29

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

Perlakuan	Rerata	C	B	A	K	Notasi
		42,99	52,78	57,00	90,00	
C	42,99	0 ^{ns}				a
B	52,78	9,78 ^{ns}	—			a
A	57,00	14,01 ^{ns}	4,22 ^{ns}	—		a
K	90,00	47,01*	37,22*	33,00*	-	b

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata)

* = berbeda nyata

** = berbeda sangat nyata

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

Lampiran 6. Data Kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Penelitian

Pengamatan	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

Lampiran 6. (Lanjutan)

	C (770 ppm)	6	5	4	5,0
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

Lampiran 7. Data Kualitas Air Selama Penelitian

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

Lampiran 7. (Lanjutan)

		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
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
	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

Lampiran 7. (Lanjutan)

	DO	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
		Pagi	4.3	4	4.4	4.2	4.3	4.5	4.5	4.3	4.4	4.2	4.5	4.5	4.7	4	4.7	4.3	4.7	4.5
	pH	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
		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
10	Suhu	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
		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
	DO	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
		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

