

**PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI (*Apium
graviolens L.*) DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP HEMATOLOGI IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:
**JANUAR BUDIMAN
NIM. 125080501111033**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI (*Apium
graviolens L.*) DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP HEMATOLOGI IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

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

Oleh :
JANUAR BUDIMAN
NIM. 125080501111033



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

PENGARUH PERENDAMAN EKSTRAK KASAR DAUN SELEDRI (*Apium graveolens L.*) DENGAN DOSIS YANG BERBEDA TERHADAP HEMATOLOGI IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh:

JANUAR BUDIMAN
125080501111033

telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 19 Oktober 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Dosen Penguji I

Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001
TANGGAL : 02 NOV 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001
TANGGAL : 02 NOV 2016

Menyetujui,
Dosen Penguji II

Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
TANGGAL : 02 NOV 2016

Menyetujui,
Dosen Pembimbing II

Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
TANGGAL : 02 NOV 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

Dr. Ir. Arning Wijileng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
TANGGAL : 02 NOV 2016



PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Apabila di 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, Oktober 2016

Mahasiswa

JANUAR BUDIMAN



UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. selaku dosen pembimbing 1 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
2. Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku dosen pembimbing 2 yang tidak lelah memberikan bimbingan, saran dan nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
3. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc selaku penguji 1 yang banyak memberikan waktu, masukan dan bantuan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku penguji 2 yang telah memberikan waktu, masukan dan bantuan sehingga dapat terselesaikan skripsi ini.
5. Bapak, mamah, dan aa Aris serta keluarga besar yang selalu memberikan dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
6. Pak Udin dan Mba Titin selaku staf laboratorium reproduksi ikan dan staf laboratorium penyakit dan parasit ikan yang banyak membantu.
7. Tim Skripsi yaitu Aulia dan Risyaf yang banyak memberi semangat dan bantuan dari awal perkuliahan hingga melakukan penelitian bersama.
8. Tim hore yaitu Deeda, Merry, Wahyu, Awanda, Aul, Viki, Eno, Nika, Novy, Eva dan Teman – teman *Aquasean* yang banyak memberi semangat dari awal kuliah hingga penyelesaian skripsi penulis.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu serta teman – teman semua. Aamiin yaa robbal alamiin.

RINGKASAN

JANUAR BUDIMAN. Pengaruh Perendaman Ekstrak Kasar Daun Seledri (*Apium graveolens L*) Dengan Dosis Berbeda Terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. (Dibawah Bimbingan Prof. **Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan Ir. **Heny Suprastyani, MS**)

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu ikan yang banyak diminati oleh masyarakat karena pertumbuhan cepat dan adaptif terhadap lingkungan baru. Banyak pembudidaya menggunakan sistem intensif untuk meningkatkan hasil produksi ikan ini namun mereka tidak memperhatikan dampak dari kegiatan ini terhadap lingkungan maupun ikan itu sendiri. Dalam budidaya intensif dimana menggunakan padat tebar yang tinggi pada suatu kolam hal ini dapat memicu beberapa hambatan salah satunya yaitu munculnya infeksi penyakit atau hama yang berasal dari ikan maupun dari luar lingkungan budidaya. Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah salah satu bakteri yang sering menginfeksi ikan mas pada budidaya intensif. Umumnya petani ikan menggunakan antibiotik dan obat kimia untuk mengobati ikan yang terinfeksi bakteri namun dengan dosis yang tidak tepat. Dapat menyebabkan residu bahan kimia pada tubuh ikan dan dampak negatif yang terhadap lingkungan. Oleh sebab itu dibutuhkan antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri dengan dampak positif bagi ikan serta lingkungan. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan sebagai antibiotik adalah daun seledri (*Apium graveolens L.*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) dengan dosis berbeda yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 12 Mei sampai 30 Juni 2016. Metode yang digunakan pada penelitian ini Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan berbeda dosis A (50 ppm), B (100 ppm), C (150 ppm) dan D (200 ppm) dengan 3 kali ulangan. Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan total sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan hemoglobin. Parameter penunjang yaitu dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air berupa suhu, pH dan DO.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu eritrosit kembali normal pada jam ke 36 dengan perlakuan D (200 ppm) sebesar $2,8 \times 10^6$ sel/mm³, nilai leukosit kembali normal pada jam ke 36 dengan perlakuan D (200 ppm) sebesar $8,67 \times 10^3$ sel/mm³ dan pada hemoglobin nilainya kembali normal pada jam ke 36 dengan perlakuan D (200 ppm) yaitu sebesar 7g%.

Dapat disimpulkan bahwa penggunaan daun seledri (*A. graveolens L*) dengan dosis 200 ppm (perlakuan D) memberikan pengaruh dan perlakuan terbaik karena mampu mengurangi tingkat infeksi bakteri yang ditandai dengan peningkatan jumlah eritrosit dan hemoglobin disertai penurunan jumlah leukosit ke keadaan normal.

KATA PENGANTAR

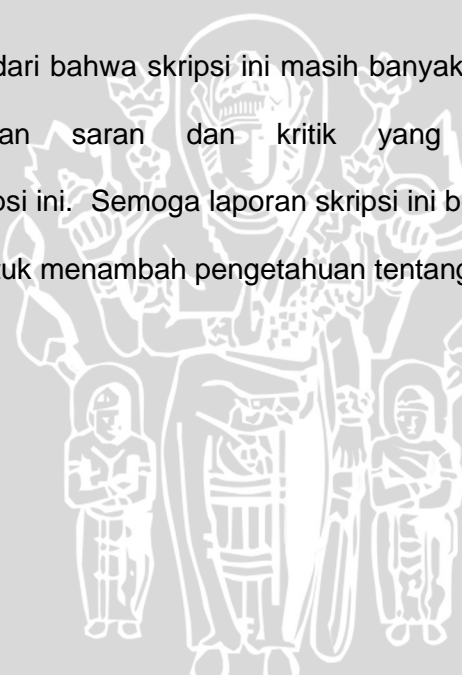
Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, sehingga laporan skripsi Pengaruh Perendaman Ekstrak Kasar Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) Dengan Dosis Berbeda Terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* ini dapat terselesaikan dengan baik.

Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga laporan skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca serta untuk menambah pengetahuan tentang kesehatan ikan.

Malang, Oktober 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
UCAPAN TERIMAKASIH	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Kebiasaan Hidup di Alam	6
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> dan Tanda Penyerangan	8
2.3 Seledri (<i>Apium graveolens L.</i>)	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	10
2.3.2 Bahan Aktif yang terkandung pada Daun Seledri	11
2.4 Hematologi.....	11
2.4.1 Eritrosit.....	11
2.4.2 Leukosit	12
2.4.3 Hemoglobin.....	12

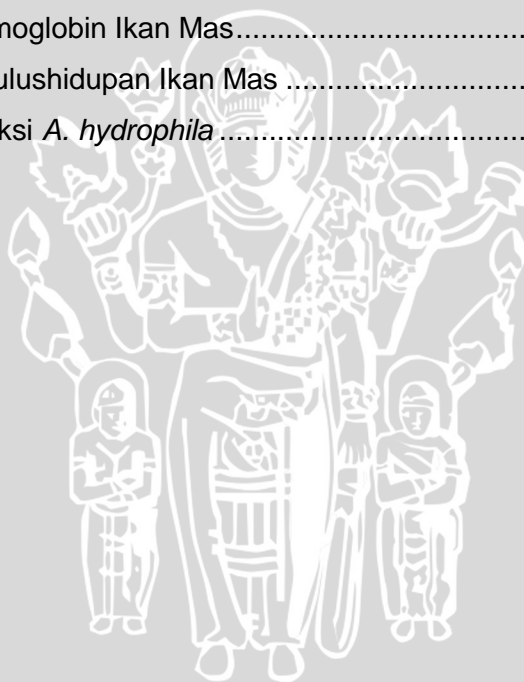
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Materi Penelitian	14
3.1.1 Alat penelitian	14
3.1.2 Bahan penelitian	14
3.2 Metode Penelitian.....	15
3.3 Rancangan Penelitian	15
3.4 Prosedur penelitian	18
3.4.1 Persiapan Penelitian	18
a. Persiapan Ikan	18
b. Pembuatan Ekstrak kasar daun seledri (<i>Apium graveolens L</i>)	18
c. LD ₅₀	19
d. Persiapan Alat Penelitian	19
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian.....	20
a. Pengenceran bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	20
b. Perendaman Ekstrak kasar daun seledri pada Ikan Mas.....	21
c. Pengambilan Sampel Darah	21
3.5 Analisa Prosedur Penelitian	22
3.6 Uji Hematologi.....	23
3.6.1 Perhitungan Jumlah Eritrosit	23
3.6.2 Perhitungan Jumlah Leukosit	23
3.6.3 Perhitungan Kadar Hemoglobin	24
3.7 Parameter Uji	25
3.7.1 Parameter Utama.....	25
3.7.2 Parameter Penunjang	25
3.8 Analisa Data.....	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Analisa Hematologi	26
4.1.1 Jumlah Eritrosit	26
4.1.2 Jumlah Leukosit	30
4.1.3 Kadar Hemoglobin	35
4.2 Kelulushidupan	39
4.3 Gejala Klinis.....	42
4.4 Kualitas Air.....	43
5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji MIC (<i>Minimum Inhibiting Concentration</i>)	16
2. Rancangan Perlakuan Uji	17
3. Jumlah Rataan Total Eritrosit.....	26
4. Sidik Ragam Eritrosit	27
5. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas Jam ke 12.....	27
6. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas Jam ke 24	27
7. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas Jam ke 36.....	28
8. Jumlah Rataan Total Leukosit.....	31
9. Sidik Ragam Leukosit Ikan Mas Selama Pengamatan.....	31
10. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas Jam ke 12.....	32
11. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas Jam ke 24.....	32
12. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas Jam ke 36.....	32
13. Jumlah Rataan Hemoglobin Ikan Mas	35
14. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Mas Selama Pengamatan	36
15. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas jam ke 12.....	36
16. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas jam ke 24.....	36
17. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas jam ke 36.....	37
18. Kelulushidupan Ikan Mas (Arcsin) Selama Masa Pemeliharaan	39
19. Hasil Uji Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Mas Selama Pemeliharaan	39
20. Hasil Uji BNT Kelulushidupan Ikan Mas Selama Pemeliharaan	40
21. Kisaran Parameter Kualitas Air	43

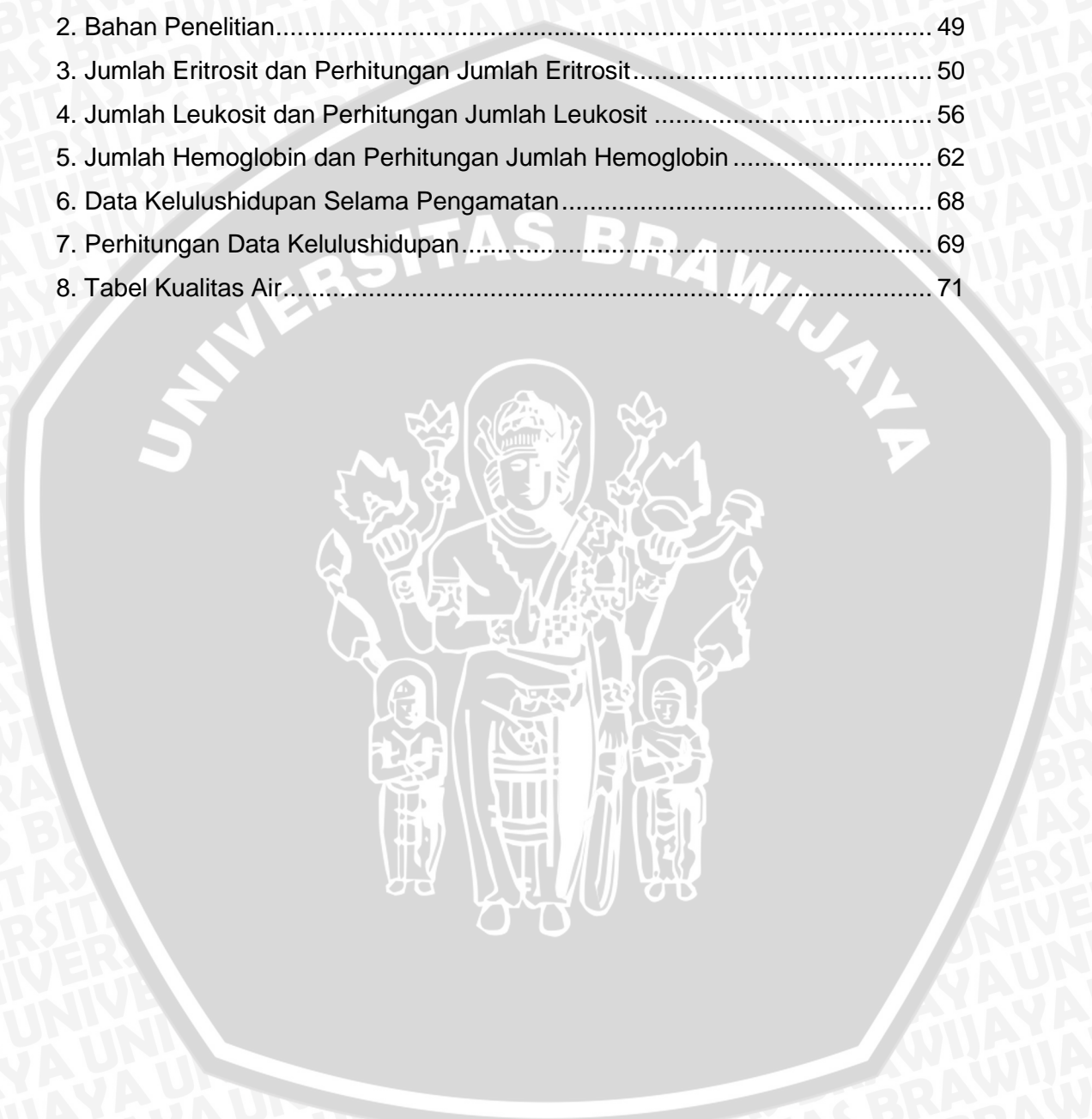
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2. <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
3. Daun Seledri (<i>Apium graveolens L.</i>)	10
4. Denah penelitian	17
5. Diagram Eritrosit ikan Mas Selama Pengamatan	26
6. Grafik Regresi Eritrosit Ikan Mas	29
7. Diagram Leukosit Ikan Mas Selama Pengamatan	31
8. Grafik Regresi Leukosit Ikan Mas	33
9. Diagram Hemoglobin Ikan Mas	35
10. Grafik Regresi Hemoglobin Ikan Mas	38
11. Grafik Regresi Kelulushidupan Ikan Mas	41
12. Ciri-ciri ikan terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	42



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	48
2. Bahan Penelitian.....	49
3. Jumlah Eritrosit dan Perhitungan Jumlah Eritrosit.....	50
4. Jumlah Leukosit dan Perhitungan Jumlah Leukosit	56
5. Jumlah Hemoglobin dan Perhitungan Jumlah Hemoglobin	62
6. Data Kelulushidupan Selama Pengamatan.....	68
7. Perhitungan Data Kelulushidupan.....	69
8. Tabel Kualitas Air.....	71



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Perkembangan masyarakat dunia pada abad ke 21 telah menunjukkan kecenderungan adanya perubahan perilaku dan gaya hidup serta pola konsumsinya ke produk perikanan. Dengan keterbatasan kemampuan hasil perikanan dunia, ikan akan menjadi komoditas strategis yang dibutuhkan oleh masyarakat. Oleh karena itu, permintaan komoditas perikanan dimasa datang akan semakin tinggi sebagai akibat meningkatnya jumlah penduduk, kualitas dan gaya hidup masyarakat. Sesuai dengan potensi sumberdaya perikanan yang dimiliki oleh Indonesia serta dalam rangka menghadapi tantangan global maka perikanan budidaya sebagai salah satu sumber pertumbuhan ekonomi andalan yang dapat diwujudkan melalui sistem budidaya yang berdaya saing dan berkelanjutan (Sukadi, 2002).

Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki prospek yang cerah untuk dibudidayakan karena ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Selain itu ikan mas merupakan salah satu komoditi unggulan perikanan tawar karena sebagian besar masyarakat Indonesia menggemari ikan mas (*C. carpio*). Budidaya Ikan Mas (*C. carpio*) memiliki peranan penting dalam usaha meningkatkan produksi perikanan untuk memenuhi kebutuhan pangan dan gizi, memperluas kesempatan kerja, meningkatkan pendapatan dan kesejahteraan petani ikan. Budidaya ikan mas dapat dilakukan di kolam dan sawah (Adliah,2011). Untuk mencukupi kebutuhan masyarakat perlu dilakukan budidaya intensif yaitu budidaya dengan kepadatan yang tinggi. Budidaya intensif harus memenuhi beberapa aspek agar dapat berjalan dengan lancar terutama aspek kesehatan. Budidaya ikan secara intensif tidak terlepas dari hambatan yaitu gangguan hama dan penyakit ikan.

Penyakit ikan adalah sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan, maupun kondisi lingkungan yang kurang menunjang kehidupan ikan. Jadi, timbulnya serangan penyakit ikan di kolam terjadi karena interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan, dan patogen. Interaksi yang tidak serasi tersebut menyebabkan stres pada ikan, sehingga mekanisme pertahanan tubuh ikan menurun dan akhirnya mudah diserang penyakit (Suwarsito dan Mustafidah, 2011). Salah satu jenis bakteri yang sering menginfeksi ikan air tawar adalah *Aeromonas hydrophila*.

Bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik. Salah satu penyakit yang dapat menyerang ikan air tawar baik ikan hias maupun ikan konsumsi dan dapat mematikan sampai 100% ikan adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *A. hydrophila*. Gejala klinis ikan terserang yaitu berupa luka dibagian tubuh, bercak merah pada kulit ikan dan bakteri ini menginfeksi semua umur dan hampir semua komoditas perikanan air tawar di Indonesia (Haryani *et al.*, 2012).

Pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* telah diupayakan yaitu dengan menggunakan obat kimia maupun pemberian antibiotik sintesis kepada ikan. Namun pemberian obat kimia dan antibiotik yang berlebihan berdampak buruk pada lingkungan, bakteri dan ikan itu sendiri. Karena dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen, pencemaran lingkungan akibat residu antibiotik dan residu antibiotik yang terdapat pada tubuh ikan menyebabkan ikan tidak aman dikonsumsi oleh manusia dalam jangka panjang. Berdasarkan problema tersebut perlu adanya alternatif bahan obat yang lebih aman dalam pengendalian penyakit ikan. Bahan obat yang berasal dari tanaman tradisional menjadi salah satu alternatif pengobatan. Salah satunya dengan menggunakan ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens* L.). Menurut

Majidah *et al.*, (2014), tanaman ini mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid, saponin, tanin, apiin, minyak atsiri, apigenin, kolin, vitamin A, B, C, zat pahit asparagin. Diantara kandungan yang dimiliki seledri, flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin merupakan senyawa yang bersifat antibakteri.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini bermula dari dilarangnya penggunaan bahan kimia sebagai obat dalam pengendalian maupun pengobatan ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* karena dapat menyebabkan resistensi bakteri, residu pada daging ikan dan berpotensi mencemari lingkungan karena sulit terdegradasi secara alami jika tidak dengan dosis yang tepat dan secara berlebihan. Perlu adanya antibiotik alternatif bahan obat dari tumbuhan alami untuk menggantikan antibiotik kimia. Salah satunya dengan menggunakan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.). Penggunaan ekstrak kasar daun seledri relatif lebih aman, mudah diperoleh, murah, tidak menimbulkan resistensi dan tidak berbahaya bagi lingkungan sekitar.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

- Bagaimana pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis berbeda terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?
- Berapa hasil terbaik perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dengan dosis berbeda terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh dan mengetahui hasil terbaik dari perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) dengan dosis berbeda terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4. Hipotesis

H0 : Diduga perendaman ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dalam ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) dengan dosis berbeda tidak mempengaruhi hematologi.

H1 : Diduga perendaman ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dalam ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) dengan dosis berbeda mempengaruhi hematologi.

1.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan 12 Mei 2016 – 30 Juni 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Khairuman, Sudenda dan Gunadi (2008), penggolongan ikan mas (*Cyprinus carpio*) berdasarkan ilmu taksonomi hewan dapat dipaparkan sebagai berikut:

Filum	: <i>Chordata</i>
Subfilum	: <i>Vertebrata</i>
Superclass	: <i>Pisces</i>
Kelas	: <i>Osteichthyes</i>
Subclass	: <i>Actinopterygii</i>
Ordo	: <i>Cypriniformes</i>
Subordo	: <i>Cyprinoidea</i>
Family	: <i>Cyprinidae</i>
Subfamily	: <i>Cyprinus</i>
Species	: <i>Cyprinus carpio</i> L

Morfologi ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Mas (*C. carpio*) (Modlofar, 2012)

Bentuk tubuh ikan mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*).

Mulutnya terletak diujung tengah (terminal) dan dapat disembulkan (protaktil).

Dibagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Di ujung dalam mulut

terdapat gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang tersusun dari tiga baris gigi geraham. Hampir seluruh bagian tubuh ikan mas ditutupi sisik, kecuali beberapa varietas yang memiliki sedikit sisik. Sisik ikan mas berukuran relatif besar dan digolongkan ke dalam sisik tipe lingkaran (sikloid) (Khairuman, Sudenda dan Gunadi, 2008).

Sirip dorsal Ikan mas terletak pada punggungnya dan pada bagian belakang sirip dorsal berjari keras. Pada sirip ketiga dan keempat bergigi. Letak antara kedua sirip, punggung dan perut berseberangan, sirip dada (pektoral) terletak di belakang tutup insang (operculum) (Laili, 2007).

2.1.2. Kebiasaan Hidup di Alam

Ikan Mas (*C. carpio*) menyukai tempat hidup (habitat) di perairan tawar yang airnya tidak terlalu dalam dan airnya tidak terlalu deras, seperti dipinggiran sungai atau danau. Ikan mas (*C. carpio*) dapat hidup baik di daerah dengan ketinggian 150-600 meter di atas permukaan air laut (dpl) dan pada suhu 25-30^o C. Meskipun ikan mas (*C. carpio*) tergolong ikan air tawar, ikan mas (*C. carpio*) terkadang ditemukan di perairan payau atau muara sungai yang bersalinitas 25-30^o/₀₀. (Khairuman *et al.*, 2008).

Kondisi pH yang sesuai untuk pertumbuhan ikan mas (*C. carpio*) berkisar antar 7-8. Ikan mas (*C. carpio*) memiliki kebiasaan hidup yaitu dengan mencari makan didasar perairan kolam atau di atas lapisan lumpur tepi kolam sehingga disebut sebagai *bottom feeder*. Ikan mas (*C. carpio*) adalah jenis ikan omnivora yaitu ikan pemakan segala, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik berupa plankton, zooplankton dan masih banyak lainnya namun para petani lebih suka memberi pakan berupa pellet atau dedak karena sudah menjadi budaya di lingkungan petani (Anggraini, 2008).

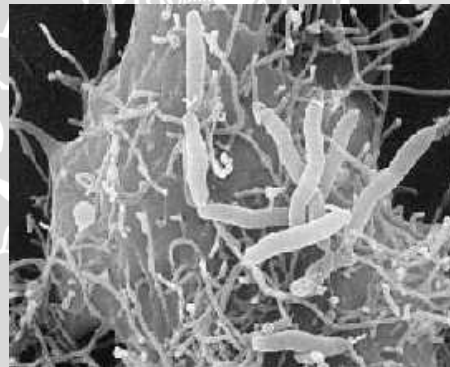
2.2. Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Holt (1979), bakteri *Aeromonas hydrophila* diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: <i>Protophyta</i>
Class	: <i>Schizomycetes</i>
Ordo	: <i>Pseumodineae</i>
Family	: <i>Vibrionaceae</i>
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Untuk lebih jelas morfologi *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *A. hydrophila* (Tanjung *et al.*, 2013)

Bakteri *A. hydrophila* termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif yang hidup di perairan. Bentuk selnya seperti batang (basilus) atau agak pendek (kokobasilus) dengan ujung membulat, berukuran diameter 0,3-1,0 μm dan panjang 1,0-3,5 μm . Bakteri ini mampu hidup tanpa oksigen (anaerobik fakultatif) dan bisa bergerak berkat flagella polar, kecuali spesies *A. salmonicida* yang *non-motile* (Tanjung *et al.*, 2013).

A. hydrophila bersifat motil dengan flagela tunggal di salah satu ujungnya. Bakteri ini berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat,

fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20-30^oC (Kabata, 1985).

2.2.2. Habitat dan Penyebaran

Menurut Prajitno (2007), genus *Aeromonas* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar. Keberadaan *Aeromonas* di suatu perairan erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* ini lebih banyak menyerang ikan di daerah tropis dan daerah sub tropis dibandingkan dengan daerah dingin. Karena daerah tropis dan daerah sub tropis kandungan bahan organiknya lebih tinggi dibandingkan dengan daerah dingin. Penyakit *Haemorrhagic septicemia* pada umumnya muncul pada musim kemarau, karena pada musim tersebut kandungan bahan organiknya tinggi.

Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material gelatin dan hemoglobin. *A. hydrophila* dapat bertahan dalam waktu satu bulan dalam temperatur rendah $\pm 4^{\circ}$ C. Bakteri ini akan resisten terhadap senyawa kimia klorin dan bertahan pada suhu yang rendah (Haryani *et al.*, 2012).

2.2.3. Infeksi Bakteri *A. hydrophila* dan Tanda Penyerangan

Menurut McMahon (2000), *A. hydrophila* menyebabkan luka atau pendarahan pada kulit bawah sisik (*Motile Aeromonas Septicemia* atau *Hemorrhagic septicemia*) pada ikan air tawar. Adanya kemampuan menghasilkan enzim proteolitik dan hemolitik menyebabkan bakteri ini mampu menyebabkan luka atau pendarahan dibagian kulit ikan yang diserang. *A. hydrophila* merupakan bakteri yang secara normal ditemukan dalam air tawar. Infeksi *A. hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres dan

perubahan temperatur air. Perubahan temperatur air yang drastis dan terkontaminasi, ketika inang tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder) oleh karena itu bakteri ini disebut bakteri bersifat patogen *oportunistik*.

Bakteri *A. hydrophila* yang patogen diduga memproduksi faktor-faktor eksotoksin dan endotoksin, yang sangat berpengaruh pada patogenitas bakteri ini. Eksotoksin meliputi hemolisin, protease, elastase, lipase, sitotoksin, enterotoksin, gelatinase, kaseinase, lecithinase dan leucocidin. Hemolisin merupakan enzim yang mampu melisiskan sel-sel darah merah dan membebaskan haemoglobinnya. Protease adalah enzim proteolitik yang berfungsi untuk melawan pertahanan tubuh inang untuk berkembangnya penyakit dan mengambil persediaan nutrisi inang untuk berkembang biak juga dapat memanfaatkan albumin, kasein, fibrinogen, dan gelatin sebagai substrat protein. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa bakteri ini bersifat proteolitik sehingga berpotensi besar sebagai patogen ikan. Adanya enzim proteolitik akan merusak dinding intestin, sehingga terjadi penebalan dinding. Apabila *A. hydrophila* masuk ke dalam tubuh inang, maka toksin yang dihasilkan akan menyebar melalui aliran darah menuju organ. Enterotoksin merupakan suatu toksin ekstraseluler bakteri yang khususnya menginfeksi saluran gastrointestinal. Lecithinase adalah enzim yang menghancurkan berbagai sel jaringan dan terutama aktif melisiskan sel-sel darah merah, sedangkan leucocidin adalah enzim yang dapat membunuh sel-sel darah putih (Rao *et al.*, 1998 *dalam* Sari, 2012).

Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan tanda-tanda, antara lain kemampuan berenang ikan menjadi lemah dan sering muncul ke permukaan, kurangnya nafsu makan, warna insang pucat dan rusak, warna tubuh ikan berubah menjadi gelap, kulit ikan mengeluarkan banyak lendir yang

diikuti oleh pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok, perut ikan membuncit dan mata menonjol, terdapat bercak-bercak merah pada bagian luar tubuhnya, serta terjadi kerusakan pada sirip (Junianto *et al.*, 2007).

2.3. Seledri (*Apium graveolens* L.)

2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Liliana (2005), tanaman seledri (*Apium graveolens* L.) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Famili	: <i>Umbelliferae (Apiaceae)</i>
Genus	: <i>Apium</i>
Spesies	: <i>Apium graveolens</i> L.

Tanaman seledri (*A. graveolens* L.) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Daun Seledri (*A. graveolens* L.)

Menurut Widyaningrum (2008), Seledri merupakan tanaman herbal tegak memiliki tinggi sekitar 50 cm dengan bau aromatik yang khas, batang persegi, beralur, beruas, tidak berambut, bercabang banyak dan berwarna hijau pucat. Daun majemuk menyirip ganjil dengan anak daun 3-7 helai. Anak daun

bertangkai yang panjangnya 1-2,7 cm, pertulangan menyirip, berwarna hijau keputih-putihan. Bunga majemuk berbentuk payung, 8-12 buah dan berwarna putih mekar secara bertahap. Buahnya buah kotak, berbentuk kerucut, panjang 1-1,5 mm dan berwarna hijau kekuningan.

2.3.2. Bahan Aktif yang Terkandung pada Daun Seledri (*A. graveolens* L.)

Sebagai salah satu obat tradisional, seledri (*A. graveolens* L.) adalah contoh baik penyedap makanan yang memiliki efek pengobatan untuk tubuh dalam berbagai cara. Sejauh ini, banyak penelitian yang telah mengungkap bermacam-macam khasiat seledri, diantaranya untuk pengobatan diare, asam urat, darah tinggi dan vertigo. Selain itu daun seledri mengandung klorofil, serta senyawa bioaktif polifenol, flavonoida dan saponin. Keempat komponen ini secara umum dikenal sebagai zat antioksidan, antikanker dan antiinflamasi (Handoko, 2005).

Seledri (*A. graveolens* L) merupakan tanaman famili Apiaceae, bahan aktif yang terdapat pada seledri (*A. graveolens* L) diantaranya yaitu flavonoid, kumarin, furanokumarin, isokuersetin, umbelliferon, asparagin, selenium dan minyak atsiri. Daun seledri mengandung flavonoid, minyak atsiri, saponin, tanin, flavoglukosida (apiin), apigenin, kolin, lipase, asparagin, alkaloid dan vitamin. Seluruh tanaman seledri mengandung glikosida apiin (glikosida flavon), isoquersetin dan umbelliferon serta mengandung mannite, inosite, asparagines, glutamine, provitamin A, vitamin C, dan vitamin B (Sudarsono *et.al.*, 1996).

2.4. Hematologi

2.4.1. Eritrosit

Menurut Kiswari (2014) Eritrosit memiliki fungsi utama yaitu untuk pertukaran gas. Eritrosit membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan tubuh dan membawa karbon dioksida dari jaringan tubuh ke paru. Eritrosit tidak

mempunyai inti sel namun mengandung beberapa organel dalam sitoplasmanya. Sebagian besar sitoplasma eritrosit berisi hemoglobin yang mengandung zat besi. Eritrosit berbentuk bikonkaf, berdiameter 7-9 μ . Pada mikroskop eritrosit tampak bulat, berwarna merah dan bagian tengahnya tampak lebih pucat, disebut dengan *central pallor* yang diameternya sepertiga dari eritrosit.

Menurut Yanto, *et al.* (2015), menyebutkan bahwa jumlah eritrosit pada hewan dipengaruhi oleh jenis kelamin. Kadar eritrosit yang rendah menunjukkan bahwa ikan sedang stres dan terserang penyakit. Menurut Lukistryowati dan Windarti (2007), jumlah eritrosit normal ikan yaitu $1-3 \times 10^6$ sel/mm³.

2.4.2. Leukosit

Menurut Handayani dan Hariwibowo (2008), Leukosit atau sel darah putih bentuknya dapat berubah-ubah dan dapat bergerak dengan perantara kaki palsu (pseudopodia). Mempunyai bermacam-macam inti sel, sehingga ia dapat dibedakan menurut inti selnya serta warnanya bening (tidak berwarna). Fungsi dari sel darah putih yaitu membunuh dan memakan bibit penyakit/bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Selanjutnya mengangkut/membawa zat lemak dari dinding usus melalui limpa terus ke pembuluh darah.

Menurut Yanto, *et al.* (2015), Jumlah leukosit pada ikan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor diantaranya spesies ikan, faktor fisiologis seperti umur, aktifitas otot dan aktivitas. Jumlah leukosit akan meningkat ketika ikan terinfeksi karena sel darah putih berperan dalam melawan penyakit infeksi. Afifah, *et al.* (2014), juga menyatakan bahwa jumlah leukosit normal ikan mas yaitu 3390-14200/mm³.

2.4.3. Kadar Hemoglobin

Menurut Fujaya (2004), hemoglobin merupakan kombinasi dari hem, yaitu porphyrin besi dan globin. Atom besi yang terdapat pada hem, berasosiasi

dengan molekul oksigen dan dikenal sebutan *oxygenation*. Setiap molekul hemoglobin ikan elasmobranchi dan teleostei mengandung empat atom besi yang kemudian mengangkut empat molekul.

Menurut Kiswari (2014), tugas utama dari molekul hemoglobin adalah pengiriman oksigen. Struktur CO₂ dari jaringan, serta menjaga darah pada pH yang seimbang. Satu molekul hemoglobin dapat mengikat satu molekul oksigen pada alveoli paru-paru. Hemoglobin memiliki afinitas yang tinggi untuk oksigen di lingkungan paru-paru, karena pada jaringan kapiler di paru-paru terjadi proses difusi oksigen yang cepat. Menurut pendapat Yanto, Hasan dan Sunarto (2015), kadar hemoglobin (Hb) normal ikan mas jantan yang sehat berkisar $6,22 \pm 0,91$ g/dl dan ikan mas betina $7,20 \pm 2,30$ g/dl.



3. METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

3.1.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain dapat dilihat pada Lampiran 1.

- Akuarium 30x30x30 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- Pipet thoma leukosit
- Pipet thoma eritrosit
- *Handtally counter*
- Mikroskop cahaya
- Serok (jaring) ikan
- Ember plastik
- Toples kaca
- Filter
- Heater akuarium
- Thermometer
- DO meter
- pH meter
- *haemocytometer*
- objek glass
- cover glass

3.1.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain dapat dilihat pada Lampiran 1.

- Ikan Mas (*C. carpio*) ukuran 10 cm
- Daun Seledri (*A. graveolens* L)
- Kertas label
- Bakteri *A. hydrophila*
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tissue
- Ethanol 96%
- Kertas Saring

- Aquades
- Larutan Hayem
- Anti Koagulan (Na-sitrat 3,8%)
- Sampel Darah Ikan Mas
- Alumunium Foil

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Wibisono (2013), metode eksperimen digunakan untuk melakukan sesuatu terhadap objek dan mengobservasi reaksinya dalam kondisi dimana performanya dapat diukur menggunakan ukuran yang sudah dikenal. Penelitian eksperimental laboratorium terdiri atas dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama dimana hasil pengamatan pada penelitian pendahuluan dijadikan sebagai acuan untuk melaksanakan penelitian utama.

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

3.3. 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. Rancangan acak lengkap digunakan bila faktor yang akan diteliti satu faktor atau lebih dari satu faktor. Berikut merupakan rumus yang digunakan pada RAL:

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

Keterangan:

T = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

μ = nilai rerata harapan (mean)

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) dengan dosis yang didapat dari hasil penelitian pendahuluan melalui uji MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yaitu 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm. Dosis ini berdasarkan dari penelitian sebelumnya yaitu percobaan in vitro ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hasil uji MIC menunjukkan adanya perbedaan setiap perlakuan pengamatan dengan menggunakan spektrofotometer seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*)

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1.	10000	0,559	Keruh
2.	1000	0,657	Keruh
3.	100	0,613	Bening
4.	10	0,548	Bening
5.	1	0,418	Bening
6.	0,1	0,431	Keruh
7.	0,01	0,398	Keruh
8.	0	0,724	Keruh
9.	Kontrol (-)	0,543	Keruh
10.	Kontrol (+)	0,563	Bening

Berdasarkan hasil penelitian tersebut didapat hasil uji MIC pada dosis 10 ppm menjadi bening menghasilkan absorbansi 0,548, nilai absorbansi ini mendekati kontrol positif yaitu sebesar 0,563. Tingkat kejernihan pada larutan uji dipengaruhi karena adanya aktivitas antibakteria dari ekstrak kasar seledri (*A. graveolens L.*) yakni flavonoid yang bereaksi membunuh bakteri *A. hydrophila* dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri karena adanya aktivitas bakteri yang bereaksi dengan dosis perlakuan berbeda, maka akan

mempengaruhi nilai absorbansi di tiap tabung perlakuan yang ditandai dengan tingkat kekeruhan. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Sebagai berikut :

Tabel 2. Rancangan Perlakuan Uji

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₃
K-	K ₋₁	K ₋₂	K ₋₃
K+	K ₊₁	K ₊₂	K ₊₃

Keterangan :

A : perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) 50 ppm

B : perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) 100 ppm

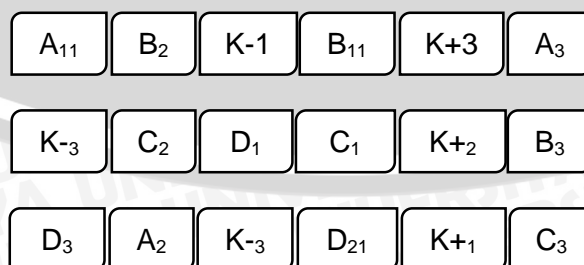
C : perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) 150 ppm

D : perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) 200 ppm

K (-) : perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*)

K (+) : perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*)

Denah penelitian dapat dilihat pada Gambar 4. Berikut ini:



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

A-B-C-D : perlakuan

K (-) : kontrol negatif

K (+) : kontrol positif

1,2,3 : ulangan

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Persiapan Penelitian

a. Persiapan Ikan

Ikan mas (*C. carpio*) sebanyak 180 ekor dengan panjang 10 cm. ikan mas (*C. carpio*) diperoleh dari petani ikan daerah Pare, masing-masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor. Setiap akuarium diisi 10 ekor ikan mas (*C. carpio*). Ikan sebelumnya dipelihara selama 7 hari agar ikan siap dengan kondisi yang baik. Ikan diberi pakan sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Apabila kondisi air telah kotor maka dilakukan penyiponan sisa pakan dan kotoran ikan.

b. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens L.*)

Proses pembuatan ekstrak kasar daun seledri langkah yang dilakukan sebagai berikut:

- 1.) Daun sebanyak 5 kg dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan dengan cara diangin – anginkan
- 2.) Daun dihaluskan dengan menggunakan blender.
- 3.) Daun yang sudah halus ditimbang dengan hasil berat kering 750 gr
- 4.) Daun yang halus dicampur dengan pelarut etanol dalam beaker glass 1000 ml dengan perbandingan 1 : 6 lalu ditutup dengan alumunium foil.
- 5.) Daun yang sudah dicampur dengan pelarut didiamkan selama 1 x 24 jam (maserasi).

- 6.) Daun yang sudah dimaserasi disaring menggunakan kertas saring
- 7.) Hasil filtrasi dievaporasi dengan rotary evaporator selama 6 jam pada suhu 60 – 70 °C sampai pelarut menguap.
- 8.) Hasil ekstraksi ditimbang.

Dari 750 gr serbuk daun seledri dihasilkan ekstrak murni sebanyak 115 gr. Sehingga diperoleh nilai rendemen sebesar 6,52%.

c. LD₅₀

Dosis yang digunakan dalam penelitian didapat dari uji LD₅₀. Sebelumnya telah dilakukan uji MIC pada penelitian invitro untuk mendapatkan dosis minimal. Selanjutnya dilakukan uji LD₅₀ dengan tujuan mengetahui penambahan dosis daun seledri terhadap ikan uji dan tingkat toksisitas dari daun seledri pada kematian ikan uji yang mencapai 50% dari total ikan disetiap dosis dalam waktu 24-96 jam. Uji LD₅₀ dilakukan perendaman ikan dengan selisih dosis sebesar kelipatan 10 ppm untuk tiga perlakuan, yaitu 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dengan ikan uji sebanyak 10 ekor pada setiap perlakuan. Didapatkan hasil uji LD₅₀ menunjukkan bahwa dalam waktu 24 jam pada dosis 1000 ppm ikan uji mengalami penurunan aktivitas gerak dan beberapa ada yang mati. Dosis 1000 ppm digunakan untuk batas tertinggi dari dosis yang digunakan dalam penelitian. Pada penelitian digunakan selisih dosis sebesar 50 ppm pada tiap perlakuan, sehingga didapatkan dosis 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm.

d. Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan dalam ujiantang ini adalah akuarium 30x30x30 cm sebanyak 14 buah. Akuarium sebelumnya dicuci dengan detergen dan kemudian direndam dengan klorin 30 menit, kemudian diberi Na-Thiosulfat untuk menetralkan. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari sebelum diisi air tawar. Air diisi sebanyak 2 liter dan dilengkapi dengan aerasi

dan juga *heater* untuk menjaga kandungan oksigen dalam air serta untuk menjaga suhu air.

3.4.2. Pelaksanaan Penelitian

a. Pengenceran Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara dengan kepadatan bakteri yang didapatkan adalah 6×10^8 sel/ml. Penginfeksi terhadap ikan uji adalah bakteri dengan kepadatan 1×10^7 sel/ml, untuk memperoleh bakteri dengan kepadatan yang diinginkan maka dilakukan pengenceran dengan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

perhitungan :

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

$$V_1 \times (6 \times 10^8) = 96.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{96.000 \times 10^7}{6 \times 10^8}$$

$$V_1 = 1600 \text{ ml}$$

Penginfeksi ikan uji dengan bakteri *A. hydrophila* menggunakan satu akuarium berukuran $80 \times 40 \times 50 \text{ cm}^3$ dengan kapasitas air 96 liter yang sebelumnya bakteri ditanam pada media *Nutrient Both* (NB) yang kemudian diinkubasi dengan *incubator shaker* selama 24 jam. Bakteri 6×10^8 diencerkan dengan menggunakan air pada media infeksi dengan menggunakan

perbandingan seperti rumus diatas. Dari rumus tersebut dapat diketahui bahwa untuk mendapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml sebanyak 96 liter (96.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan 6×10^8 sebanyak 1600 ml ke dalam 94.400 ml air.

b. Perendaman Ekstrak Kasar Daun Seledri (*A. graveolens* L.) pada ikan Mas (*C. Carpio*)

Perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) dilakukan dengan cara akuarium diisi sebanyak 10 liter dan kemudian ditambahkan ekstrak kasar daun seledri sesuai dosis yang telah ditentukan. Ikan yang telah terinfeksi bakteri selanjutnya dipindahkan pada akuarium yang telah diberikan ekstrak kasar daun seledri. Sebelum perendaman diambil terlebih dahulu ikan yang sudah terinfeksi bakteri dan dihitung total eritrosit, leukosit, dan hemoglobin. Setiap akuarium yang berisi 10 ekor ikan direndam selama 17 jam lalu dilakukan proses pengambilan darah setelah perendaman selesai, yaitu pada setiap 12 jam sekali sebanyak tiga kali pengambilan sampel darah. Selanjutnya dipindahkan ke akuarium baru serta diamati parameter penunjang seperti suhu, DO dan pH setiap pagi dan sore pukul 08.00 dan 16.00 WIB.

c. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan dengan cara mengisi spuit ukuran 0,5 ml lalu diisi Na-Sitrat sebagai anti koagulan agar darah yang diambil tidak langsung membeku. Selanjutnya mengambil sampel darah melalui *caudal peduncle* dengan posisi spuit 45° dan ditarik perlahan-lahan sampai didapatkan darah ikan. Proses pengambilan dilakukan sebelum ikan diinfeksi bakteri dan setelah ikan diinfeksi yang telah diberi perlakuan perendaman ekstrak. Sampel darah yang didapat diletakan pada tabung *appendorf*. Setelah darah ditempatkan pada tabung *appendorf* langsung disiapkan untuk dihitung jumlah eritrosit, leukosit dan hemoglobin.

3.5. Analisa Prosedur Penelitian

Analisa prosedur penelitian yang dilakukan yaitu mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Setelah itu dilakukan persiapan akuarium yang akan digunakan untuk memelihara ikan uji. Ikan diaklimatisasi selama tujuh hari sebagai pengondisian dan mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya serta ikan diberi pakan pellet sebanyak 2 kali sehari pada setiap pagi dan sore. Kemudian dilakukan penginfeksi bakteri pada ikan yang dilakukan secara massal. Hal ini dilakukan agar seluruh ikan dapat homogen terinfeksi bakteri. Adapun jumlah kepadatan bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan yakni sebesar 10^7 per milliliter air.

Kapasitas akuarium yang digunakan adalah 96 liter (96.000 ml), maka jumlah bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan yakni sebesar 1600 ml. Ikan diinfeksi bakteri selama kurang lebih 24 jam sampai ikan terlihat mulai gelisah. Kemudian dilakukan pengobatan dengan cara merendam ikan pada ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L) pada akuarium sesuai dosis yang sudah ditentukan sampai ikan pertama kali gelisah. Setelah itu dilakukan pengambilan darah ikan untuk mengetahui profil darahnya seperti total eritrosit, total leukosit, dan kadar hemoglobin pada jam ke 12, 24, dan 36 pemeliharaan. Proses pengambilan sampel darah ikan dilakukan dengan cara mengambil sampel darah melalui *caudal peduncle* dengan posisi spuit 45° dan ditarik perlahan-lahan yang sebelumnya spuit diisi dengan Na-sitrat sebagai anti koagulan. Setelah didapatkan darah ikan kemudian darah diletakkan pada *appendorf*. Setelah proses pengambilan darah ikan selesai maka ikan dipindahkan pada akuarium yang baru yang berisi air tawar serta diamati parameter penunjang seperti pH, DO dan suhu setiap pagi dan sore pada pukul (08.00 dan 16.00 WIB).

3.6. Uji Hematologi

3.6.1. Perhitungan Jumlah Eritrosit

Dalam penghitungan sel darah merah, hal pertama yang harus dilakukan adalah sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan dihisap dengan pipet thoma eritrosit sampai skala 0,5. Kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 101 (pengenceran 1:200). Pipet digoyang-goyangkan agar darah dan larutan hayem bercampur rata. Setelah itu, empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke *haemocytometer*, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan kelima akan didapatkan darah yang telah benar-benar tercampur dengan larutan hayem. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

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

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

Keterangan:

SDM : jumlah sel darah merah

a : jumlah sel darah merah yang terhitung

n : jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

v : volume *haemocytometer*

Fp : faktor pengenceran

3.6.2. Perhitungan Jumlah Leukosit

Dalam penghitungan sel darah putih, hal pertama yang harus dilakukan yaitu sampel darah yang telah bercampur dengan antikoagulan dihisap dengan

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

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

$$SDP = (a/n) \times (1/v) \times Fp$$

Keterangan:

- SDP : jumlah sel darah putih
a : jumlah sel darah putih yang terhitung
n : jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati
v : volume *haemocytometer*
Fp : faktor pengenceran

3.6.3. Perhitungan Kadar Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan metode Sahli yang didasarkan pada prosedur Fernando dan Rajapaksa (1990) sebagai berikut:

- Tabung sahli diisi dengan larutan 0,1 N HCL
- Diambil darah ikan uji sebanyak 0,02 ml dan dimasukkan kedalam tabung sahli yang telah berisi 0,1 N HCL
- Tabung sahli dikocok dan dibiarkan selama 5 menit

- Ditambahkan aquades pada tabung sahli hingga warna sampel berubah sama dengan warna standart tabung sahli

3.7. Parameter Uji

3.7.1. Parameter Utama

Parameter utama yang digunakan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah ikan Mas yang meliputi penghitungan jumlah eritrosit, leukosit dan Hemoglobin. Hal ini dilakukan untuk mengamati perbedaan ikan yang sehat, ikan yang terinfeksi bakteri dan ikan yang telah diberi perlakuan perendaman ekstrak kasar daun seledri.

3.7.2. Parameter Penunjang

Parameter penunjang pada penelitian ini adalah pengukuran kualitas air seperti suhu, DO dan pH yang dilakukan pada pukul 08.00 WIB dan 16.00 WIB selama pemeliharaan. Selain itu juga diamati tingkat kelulushidupan (SR) dan gejala klinis dari ikan yang dipelihara selama 7 hari penelitian.

3.8. Analisa Data

Data yang didapat dari penelitian ini akan dianalisa pengaruhnya pada masing-masing perlakuan dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F hitung berbeda nyata atau sangat nyata, maka analisa akan dilanjutkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberikan respon terbaik dengan derajat kepercayaan 5% dan 1%. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dan hasil, maka digunakan analisa regresi.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

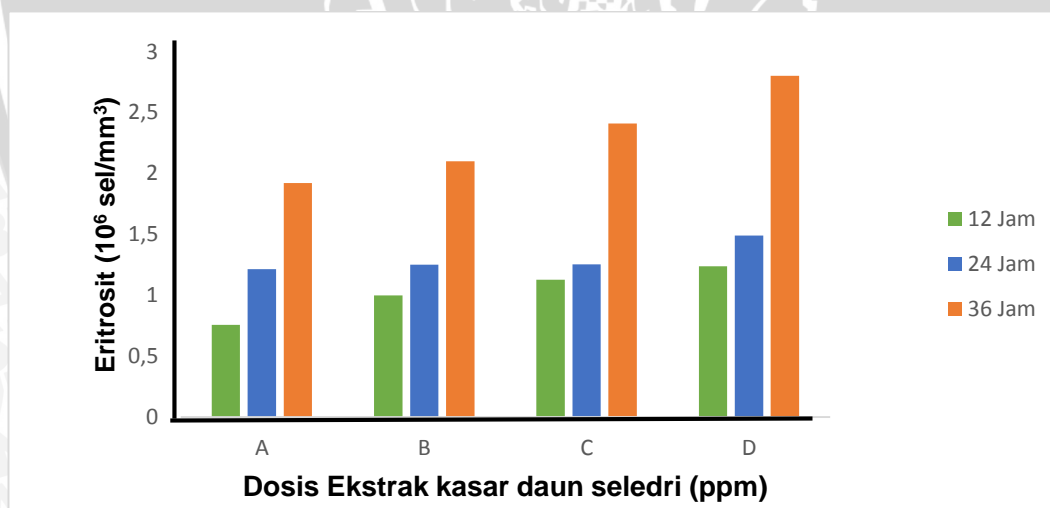
4.1. Analisa Hematologi

4.1.1. Jumlah Eritrosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama penelitian diperoleh hasil jumlah eritrosit pada Tabel 4. Pada penelitian ini digunakan 4 perlakuan yaitu A= 50 ppm, B= 100 ppm, C= 150 ppm dan D= 200 ppm dilakukan dengan 3 kali ulangan. Hasil pengamatan dan jumlah eritrosit dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 3. Jumlah Rataan Total Eritrosit (10^6 sel/mm³) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 50 ppm	0,757	1,21	1,92
B = 100 ppm	0,997	1,25	2,1
C = 150 ppm	1,127	1,253	2,41
D = 200 ppm	1,237	1,49	2,80



Gambar 5. Diagram Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Berdasarkan Gambar 5 jumlah eritrosit pada tiap pengamatan setelah perendaman dengan ekstrak kasar daun seledri menunjukkan hasil yang beragam dan mengalami peningkatan. Perhitungan jumlah eritrosit ikan mas selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 3. Untuk mengetahui pengaruh

perendaman ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens L*) terhadap jumlah eritrosit ikan uji maka dilakukan uji sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam			Nilai F tabel	
	12 Jam	24 Jam	36 jam	5%	1%
A = 50 ppm					
B = 100 ppm	7,19*	7,70**	7,85**	4,07	7,59
C = 150 ppm					
D = 200 ppm					

Keterangan : *Berbeda Nyata, ** Berbeda Sangat Nyata

Pada Tabel 4 pengamatan jam ke-12 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu dengan nilai F hitung 7,19 berada diantara nilai F tabel 5% dan F tabel 1%. Pada pengamatan 24 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 7,70 lebih besar dari nilai F tabel 1% dan pada pengamatan 36 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 7,85 lebih dari nilai F tabel 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, perhitungan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam ke 12

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		0,757	0,997	1,127	1,237	
A	0,757	—				a
B	0,997	0,24*	—			b
C	1,127	0,37**	0,13 ^{ns}	—		bc
D	1,237	0,48**	0,24*	0,11 ^{ns}	—	c

Tabel 6. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam ke 24

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,21	1,25	1,253	1,49	
A	1,21	—				a
B	1,25	0,037 ^{ns}	—			a
C	1,253	0,04 ^{ns}	0,03 ^{ns}	—		a
D	1,49	0,277**	0,24**	0,236**	—	b

Tabel 7. Hasil Uji BNT Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam ke 36

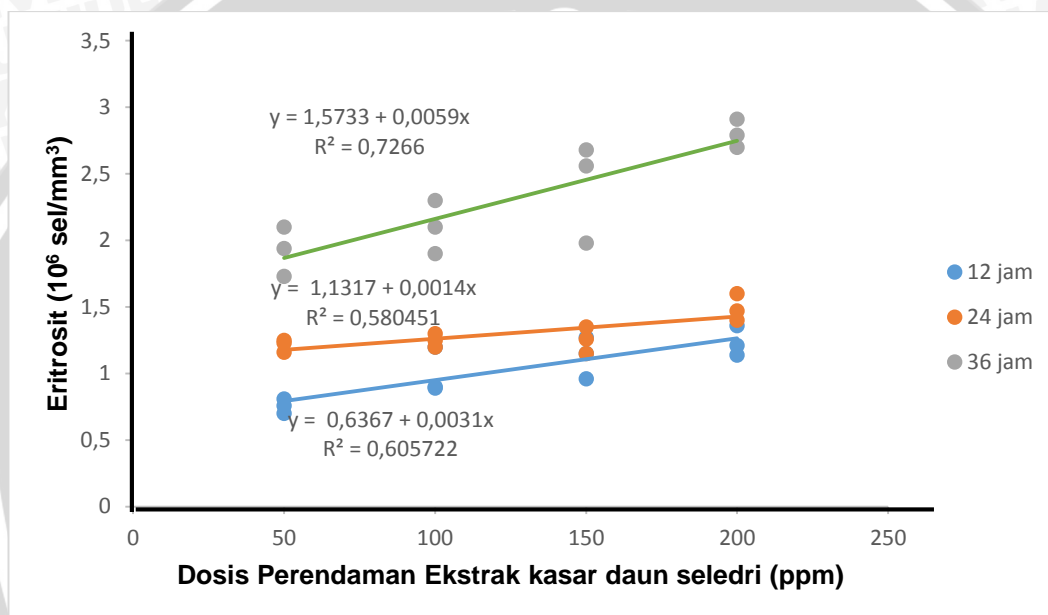
Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,92	2,1	2,41	2,8	
A	1,92	—				a
B	2,1	0,18 ^{ns}	—			ab
C	2,41	0,48*	0,31 ^{ns}	—		b
D	2,8	0,88**	0,7**	0,39*	—	c

Keterangan: ^{ns}Non significant (tidak berbeda nyata), *berbeda nyata, **berbeda sangat nyata

Pada Tabel 5 perhitungan BNT pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri pada eritrosit ikan mas pengamatan jam ke-12 perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan D berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, namun berbeda nyata dengan perlakuan B dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Pada Tabel 6 pengamatan jam ke-24 perlakuan D memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan A begitupun dengan perlakuan B dan juga perlakuan C. Pada Tabel 7 pengamatan jam ke-36 perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A dan B serta perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan C. Hasil perhitungan uji BNT dapat dilihat pada Lampiran 3.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal. Grafik regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri terhadap eritrosit ikan mas yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 6.

Berdasarkan grafik yang disajikan pada Gambar 7 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan jumlah eritrosit mengalami peningkatan dan didapat persamaan pada pengamatan jam ke 12 yaitu $y = 0,6367 + 0,0031x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,605722. Pada pengamatan jam ke 24 didapat persamaan yaitu $y = 1,1317 + 0,0014x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,580451. Pada pengamatan jam ke 36 didapat persamaan $y = 1,5733 + 0,0059x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,7266.



Gambar 6. Grafik Regresi Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Berdasarkan grafik yang disajikan pada Gambar 6 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, jumlah eritrosit mengalami peningkatan. Pada perlakuan D dengan dosis 200 ppm adalah perlakuan terbaik karena total eritrosit sudah kembali normal pada pengamatan jam ke- 36 yaitu sebesar $2,8 \times 10^6$ sel/mm³ jumlah eritrosit sudah kembali normal dan mendekati nilai rata-rata ikan kontrol negatif. Adapun nilai eritrosit pada ikan kontrol negatif pada pengamatan sebesar $2,44 \times 10^6$ sel/mm³ dan kontrol positif sebesar $0,94 \times 10^6$ sel/mm³ Sedangkan perlakuan A dengan dosis 50 ppm merupakan hasil terendah hal ini dikarenakan ikan telah mengalami anemia. Anemia pada ikan

dapat menyebabkan nafsu makan ikan menurun. Eritrosit dalam tubuh berperan penting dalam metabolisme karena memiliki fungsi mentransfer energi keseluruhan tubuh. Menurunnya jumlah eritrosit menyebabkan rendahnya suplai oksigen ke jaringan dan organ-organ tubuh serta menurunnya suplai makanan ke dalam sel.

Menurut Nikinma (2011), berpedapat bahwa eritrosit berperan penting pada suplai oksigen dalam tubuh. Jumlah eritrosit ikan yang terserang bakteri akan mengalami penurunan hal ini dikarenakan organ yang sel darah merah yaitu ginjal, limpa dan organ hemopoitik lainnya terganggu, sehingga terjadi penurunan jumlah sel darah merah.

Perendaman ekstrak kasar daun seledri mampu meningkatkan jumlah eritrosit ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* karena ekstrak kasar daun seledri diduga mengobati sel darah merah. Menambahkan (Ajizah, 2004), mekanisme kerja tanin adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati hal ini sesuai dengan peningkatan jumlah eritrosit pada perlakuan D dengan dosis 200 ppm telah mendekati kisaran normal. Menurut Lukistyowati dan Windarti (2007), jumlah eritrosit normal ikan yaitu $1-3 \times 10^6$ sel/mm³.

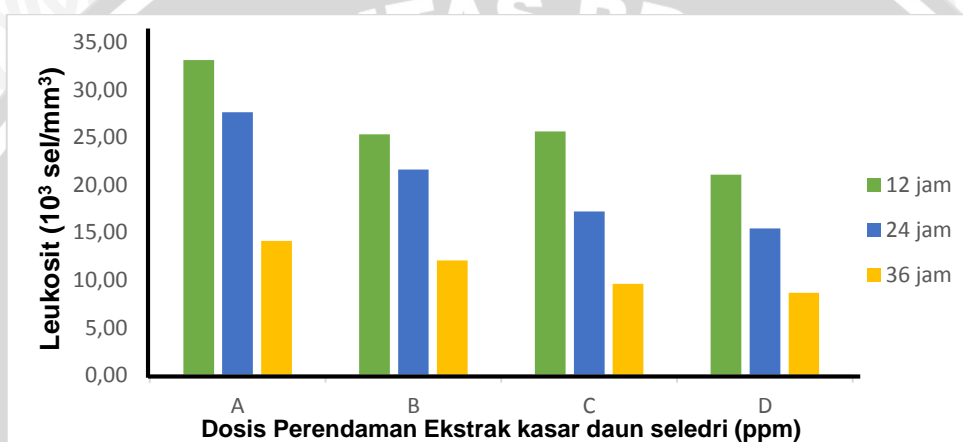
4.1.2. Jumlah Leukosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama penelitian diperoleh hasil jumlah leukosit pada ikan mas seperti pada Lampiran 4 yang berisi jumlah leukosit dari jam ke-12, pengamatan pada jam ke-24 dan pengamatan pada jam ke-36 serta perhitungan jumlah leukosit yang didapat dari hasil pengamatan. Hasil dari pengamatan pemeliharaan ikan dengan menggunakan 4 dosis yang

berbeda yaitu A= 50 ppm, B= 100 ppm, C= 150 ppm dan D= 200 ppm dengan 3 kali ulangan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Jumlah Rataan Total Leukosit (10^3 sel/mm³) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 50 ppm	33,15	27,65	14,14
B = 100 ppm	25,33	21,62	12,07
C = 150 ppm	25,62	17,23	9,6
D = 200 ppm	21,08	15,43	8,67



Gambar 7. Diagram Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Berdasarkan Gambar 7 jumlah Leukosit pada tiap pengamatan setelah perendaman dengan ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens L*) menunjukkan hasil yang beragam dan mengalami penurunan. Perhitungan jumlah Leukosit ikan mas selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 4. Untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L*) terhadap jumlah leukosit ikan uji maka dilakukan uji sidik ragam. Data hasil uji sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Sidik Ragam Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam			Nilai F tabel	
	12 Jam	24 Jam	36 jam	5%	1%
A = 50 ppm					
B = 100 ppm	7,30*	7,93**	7,66**	4,07	7,59
C = 150 ppm					
D = 200 ppm					

Keterangan : *Berbeda Nyata, ** Berbeda Sangat Nyata

Pada Tabel 9 pengamatan jam ke-12 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu dengan nilai F hitung 7,30 berada diantara nilai F tabel 5% dan F tabel 1%. Pada pengamatan 24 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 7,93 lebih besar dari nilai F tabel 1% dan pada pengamatan 36 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 7,66 lebih dari nilai F tabel 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, perhitungan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam 12

		A	B	C	D	
Perlakuan	Rerata	33,15	25,33	25,62	21,08	Notasi
A	33,15	—				A
B	25,33	7,82**	—			B
C	25,62	7,53*	0,29 ^{ns}	—		B
D	21,08	12,07**	4,25 ^{ns}	4,53 ^{ns}	—	B

Tabel 11. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam 24

		A	B	C	D	
Perlakuan	Rerata	27,65	21,62	17,23	15,43	Notasi
A	27,65	—				A
B	21,62	6,03*	—			B
C	17,23	10,42**	4,38 ^{ns}	—		Bc
D	15,43	12,22**	6,18*	1,80 ^{ns}	—	C

Tabel 12. Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pada Jam 36

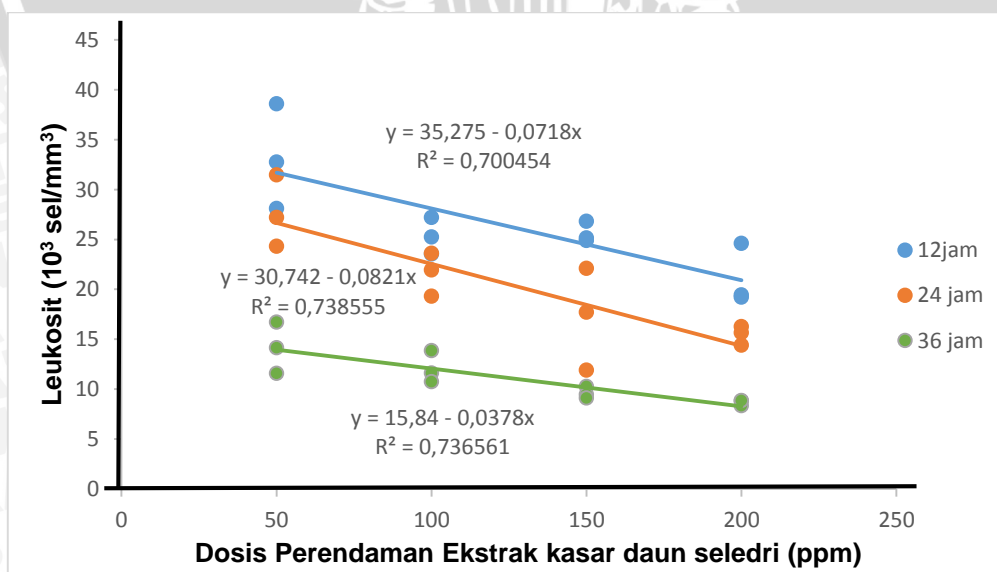
		A	B	C	D	
Perlakuan	Rerata	14,14	12,07	9,6	8,67	Notasi
A	14,14	—				A
B	12,07	2,07 ^{ns}	—			A
C	9,6	4,54**	2,47*	—		B
D	8,67	5,47**	3,4*	0,93 ^{ns}	—	Bc

Keterangan: ^{ns}Non significant (tidak berbeda nyata), *berbeda nyata, **berbeda sangat nyata

Pada Tabel 10 hasil uji BNT pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri terhadap leukosit ikan mas pengamatan jam ke-12 perlakuan B berbeda

sangat nyata terhadap perlakuan A. Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan C. Pada Tabel 11 pengamatan jam ke-24 menunjukkan bahwa perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A, perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan B namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Pada Tabel 12 pengamatan jam ke 36 menunjukkan perlakuan A dan B tidak berbeda nyata. Perlakuan C dengan A sangat berbeda nyata, perlakuan C dengan B berbeda nyata dan perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Hasil perhitungan uji BNT dapat dilihat pada Lampiran 4.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal. Grafik regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri terhadap Leukosit ikan mas dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik Regresi Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Berdasarkan grafik yang disajikan pada Gambar 8 menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, jumlah leukosit semakin menurun dan didapat persamaan pada pengamatan jam ke-12 yaitu $y = 35,275 - 0,0718x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,700454. Pada pengamatan jam ke-24 didapat persamaan $y = 30,742 - 0,0821x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,738555. Pada pengamatan jam ke-36 didapat persamaan $y = 15,84 - 0,0378x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,736561.

Pada perlakuan D dengan dosis 200 ppm adalah perlakuan terbaik karena total leukosit mengalami penurunan dan kembali normal pada pengamatan jam ke-36 yaitu sebesar $8,67 \times 10^3$ sel/mm³ jumlah leukosit mendekati nilai rata-rata ikan kontrol negatif. Adapun nilai eritrosit pada ikan kontrol negatif pada pengamatan sebesar $8,46 \times 10^3$ sel/mm³. Adapun nilai ikan kontrol positif sebesar $33,52 \times 10^3$ sel/mm³.

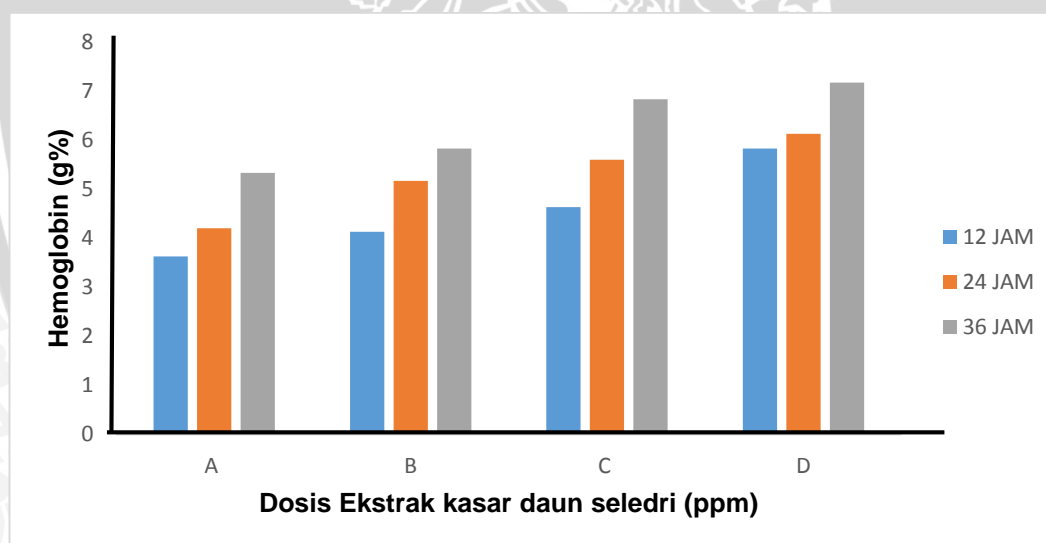
Perendaman ekstrak kasar daun seledri mampu meningkatkan jumlah leukosit ikan mas yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* peningkatan jumlah leukosit pada perlakuan D dengan dosis 200 ppm telah mendekati kisaran normal. Hal ini diduga ikan mengalami kesembuhan setelah perendaman ekstrak kasar daun seledri yang memiliki zat aktif berupa flavonoid dan saponin. Aminah *et al.* (2014), menjelaskan bahwa saponin sebagai zat antiseptik yang memiliki fungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang timbul pada luka sehingga tidak mengalami infeksi yang berat. Pradikta, Sjoftan dan Djunaidi (2010), menambahkan flavonoid dapat berperan sebagai anti inflamasi, anti bakteri, anti virus dan antibiotik alami. Flavonoid dapat menurunkan jumlah leukosit akibat adanya respon terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh yang bersifat patogen dan dapat merusak.

4.1.3. Kadar Hemoglobin

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah hemoglobin ikan mas yang dilampirkan pada Lampiran 5. Pada penelitian ini digunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu A= 50 ppm, B= 100 ppm, C= 150 ppm dan D= 200 ppm. Adapun hasil yang didapatkan selama pengamatan hemoglobin dapat dilihat pada Gambar 9 dan jumlah rerata hemoglobin dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Jumlah Rerata Hemoglobin (g%) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 50 ppm	3,63	4,2	5,33
B = 100 ppm	4,13	5,17	5,83
C = 150 ppm	4,63	5,6	6,83
D = 200 ppm	5,83	6,13	7,17



Gambar 9. Diagram Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Berdasarkan Gambar 9 jumlah Hemoglobin pada tiap pengamatan setelah perendaman dengan ekstrak kasar daun seledri menunjukkan hasil yang beragam dan mengalami peningkatan. Perhitungan jumlah Hemoglobin ikan mas selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 5. Untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens L*) terhadap jumlah

hemoglobin ikan uji maka dilakukan uji sidik ragam. Data hasil uji sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pengamatan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam			Nilai F tabel	
	12 Jam	24 Jam	36 jam	5%	1%
A = 50 ppm					
B = 100 ppm	7,10*	8,49**	8,08**	4,07	7,59
C = 150 ppm					
D = 200 ppm					

Keterangan : *Berbeda Nyata, ** Berbeda Sangat Nyata

Pada Tabel 14 pengamatan jam ke-12 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata yaitu dengan nilai F hitung 7,10 berada diantara nilai F tabel 5% dan F tabel 1%. Pada pengamatan 24 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 8,49 lebih besar dari nilai F tabel 1% dan pada pengamatan 36 jam menunjukkan hasil berbeda sangat nyata dengan nilai F hitung 8,08 lebih dari nilai F tabel 1%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, perhitungan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Pada jam ke 12

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	3,63	—				a
B	4,13	0,497 ^{ns}	—			ab
C	4,63	0,997*	0,5 ^{ns}	—		b
D	5,83	2,2**	1,703**	1,203*	—	C

Tabel 16. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Pada jam ke 24

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	4,2	—				A
B	5,17	0,97*	—			B
C	5,6	1,4*	0,43 ^{ns}	—		Bc
D	6,13	1,93**	0,97*	0,53 ^{ns}	—	C

Tabel 17. Hasil Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Pada jam ke 36

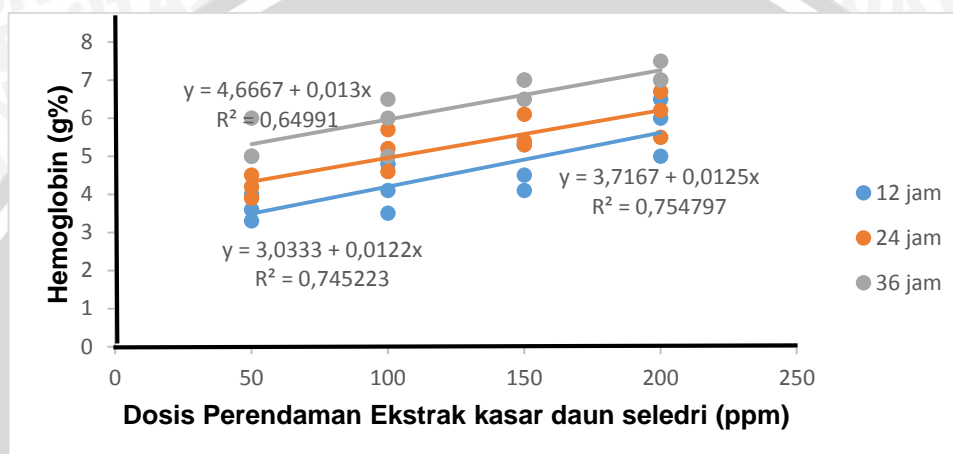
Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	5,33	–				A
B	5,83	0,5 ^{ns}	–			A
C	6,83	1,5 ^{**}	1 [*]	–		B
D	7,17	1,83 ^{**}	1,33 ^{**}	0,33 ^{ns}	–	B

Keterangan: ^{ns}Non significant (tidak berbeda nyata), ^{*}berbeda nyata, ^{**}berbeda sangat nyata

Pada Tabel 15 hasil uji BNT pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) terhadap hemoglobin ikan mas pengamatan jam ke-12 perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A dan B namun berbeda nyata dengan perlakuan C. Pada Tabel 16 pengamatan jam ke-24 perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A, perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan B namun perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Pada Tabel 17 pengamatan jam ke 36 menunjukkan perlakuan A dan B tidak berbeda nyata, namun perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan B berbeda nyata dengan perlakuan C. Pada perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A dan B namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan C Hasil perhitungan uji BNT dapat dilihat pada lampiran 5.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka perhitungan dilanjutkan dengan uji polynomial orthogonal. Grafik regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri terhadap Hemoglobin ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Gambar 10.

Berdasarkan grafik regresi pada Gambar 10 menunjukkan hasil yang beragam. Pada pengamatan jam ke-12 didapat persamaan $y = 3,0333 + 0,0122x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,745223. Pada pengamatan jam ke-24 didapat persamaan $y = 3,7167 + 0,0125x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,754797. Pada pengamatan jam ke-36 didapat persamaan $y = 0,013x + 4,6667$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,64991.



Gambar 10. Grafik Regresi Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)

Pada Gambar 10 perlakuan D dengan dosis 200 ppm didapat jumlah hemoglobin tertinggi karena pada jam ke- 36 hemoglobin ikan sudah kembali pada keadaan normal yakni 7 g% dan sudah sesuai dengan hasil pengamatan pada ikan kontrol negatif sebesar 7g%. Nilai pada kontrol positif sebesar 3,06 g%.

Perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) pada dosis 200 ppm mampu mengembalikan hemoglobin ke jumlah normal dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* hal ini sesuai dengan pendapat Agusandi *et al.* (2013), yaitu alkaloid mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Menurut Yanto *et al.* (2015), Kisaran normal hemoglobin ikan mas jantan yang sehat adalah $6,22 \pm 0,91$ g/dl dan ikan mas betina 7.20 ± 2.30 g/dl.

4.2 Kelulushidupan

Kelulushidupan atau *survival rate* merupakan perbandingan ikan yang masih hidup sebelum diberi perlakuan dengan ikan yang masih hidup setelah diberi perlakuan. Kelulushidupan dinyatakan dalam bentuk persen. Pada penelitian ini yang dilakukan selama 7 hari dengan perlakuan A= 50 ppm, B=100 ppm, C=150 ppm dan D= 200 ppm didapatkan tingkat kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil perhitungan kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Lampiran 7. Didapatkan hasil kelulushidupan ikan mas masih dalam bentuk persen. Dikarenakan data kelulushidupan yang diperoleh masih dalam bentuk angka binomial atau dalam bentuk persen maka perlu dikonversikan untuk normalitas data penelitian dengan menggunakan metode arcsin. Hasil data kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*) (Arcsin) Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A	45,00	39,23	33,21	117,44	39,15 \pm 5,89
B	63,43	50,77	45,00	159,20	53,07 \pm 9,43
C	63,43	63,43	56,79	183,66	61,22 \pm 3,83
D	63,43	71,57	71,57	206,57	68,86 \pm 4,69
	Total			666,87	

Berdasarkan data kelulushidupan yang didapat pada Tabel 18 diatas kemudian dilanjutkan dengan perhitungan uji sidik ragam untuk mengetahui pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap kelulushidupan ikan uji dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel. 19 Hasil Uji Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1453,11	484,37	12,08**	4,07	7,59
Acak	8	320,87	40,11			
Total	11					

Berdasarkan hasil perhitungan uji sidik ragam pada Tabel 19 diatas dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F 1% yaitu sebesar 12,08 sehingga dapat dinyatakan berbeda sangat nyata. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) terhadap tingkat kelulushidupan ikan mas dapat dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada Tabel 20.

Tabel 20. Uji BNT kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*) Selama Pemeliharaan

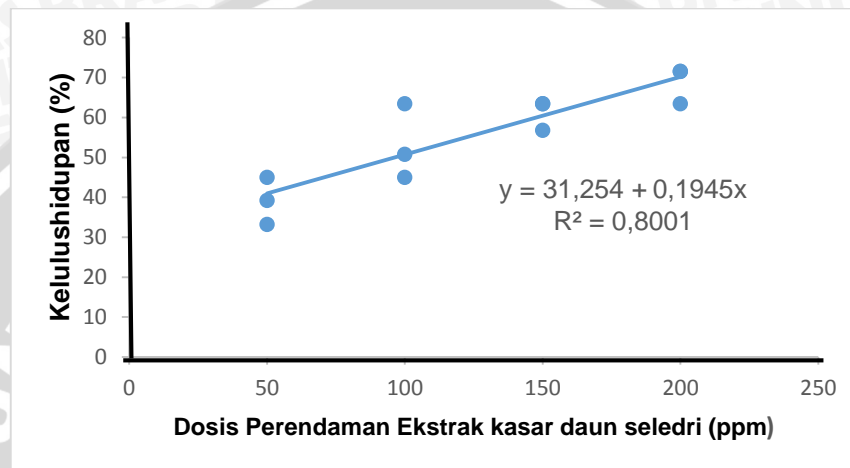
Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		39,15	53,07	61,22	68,86	
A	39,15	—				a
B	53,07	13,92*	—			b
C	61,22	22,07**	8,15 ^{ns}	—		bc
D	68,86	29,71**	15,79**	7,64 ^{ns}	—	c

Keterangan: ^{ns}Non significant (tidak berbeda nyata), *berbeda nyata, **berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 20 pengaruh perendaman ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) terhadap tingkat kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) didapatkan hasil bahwa perlakuan B berbeda nyata terhadap perlakuan A. Perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan A namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan D berbeda sangat nyata dengan perlakuan A dan B namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan C. Diketahui bahwa pada dosis 50 ppm tingkat kelulushidupan ikan mas rendah dibandingkan dengan dosis 200 ppm hal ini diduga karena pada dosis 50 ppm ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan mas sehingga daya tahan tubuh ikan mas (*C. carpio*) masih lemah terhadap penyakit sehingga menyebabkan kematian. Ashari (2014), menjelaskan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri dapat menyebabkan kematian diatas 80% dalam waktu relatif cepat. Adanya ketidakseimbangan antara ikan, bakteri patogen dan lingkungan hidup ikan yang menyebabkan munculnya penyakit pada ikan. Perubahan lingkungan dan berkembangnya patogen dapat

mengganggu sistem pertahanan tubuh ikan, sehingga ikan mudah terserang penyakit dan mengalami kematian.

Selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter kelulushidupan. Grafik regresi dapat dilihat pada Gambar 11.



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

Berdasarkan Gambar 11 bahwa grafik tersebut linier yaitu ditandai dengan semakin tinggi dosis yang diberikan jumlah kelulushidupan ikan akan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa hubungan antara dosis yang berbeda dalam perendaman dengan kelulushidupan ikan mas memiliki hubungan nyata. Sehingga didapatkan persamaan $y = 31,254 + 0,1945x$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,8001.

Perlakuan terbaik adalah perlakuan D dengan dosis 200 ppm diduga senyawa antibakteri yang terdapat pada ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens* L.) sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga kekebalan daya tahan tubuh ikan meningkat. Peningkatan perendaman dosis ekstrak kasar daun seledri *A. graveolens* L.) terhadap ikan mas (*C. carpio*) yang terserang bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat meningkatkan kesehatan dan memberikan efek positif bagi kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*). Menurut

Kurnianingtyas, Djati dan Rifa'i (2013), saponin mampu berperan menguatkan sistem imun, sehingga daya tahan tubuh tetap dalam keadaan optimal dan tetap sehat ketika diserang virus, bakteri dan mikroba lainnya.

4.3. Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis pada ikan mas (*C. carpio*) dilakukan dengan mengamati luka dan tingkah laku ikan yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang dilakukan selama satu minggu masa pemeliharaan. Gejala klinis ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan kontrol positif (perlakuan infeksi bakteri tanpa pengobatan) ikan berenang di dasar serta menggosokkan tubuhnya ke dinding akuarium, sisik ikan mengelupas yang ditandai dengan banyaknya sisik terlepas di dasar akuarium, ikan berenang dipermukaan air. Ikan banyak mengeluarkan lendir karena ikan mulai mengaktifkan sistem pertahanan tubuhnya untuk melawan serangan bakteri tau sebagai bentuk respon sistem kekebalan non spesifik ikan mas sebagai akibat infeksi bakteri sesuai dengan pernyataan Maswan (2009), bahwa beberapa gejala yang timbul pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi berupa produksi lendir (mukus) berlebih sebagai respon fisiologis terhadap kehadiran patogen. Kemudian nafsu makan yang menurun, terlihat dengan banyaknya sisa pakan di akuarium. Ciri-ciri ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Ciri Ikan yang terinfeksi

Menurut Haryani *et al.* (2012), ikan yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* yang masih bertahan hidup pada akhirnya akan mengalami proses penyembuhan. Gejala klinis yang masih teramati yaitu sisik ikan yang rontok dan warna kemerahan pada kulit.

4.4. Kualitas Air

Parameter kualitas yang diamati selama masa pemeliharaan dalam penelitian ini diantaranya adalah suhu, derajat keasaman atau pH dan oksigen terlarut atau DO (*Dissolved Oxygen*). Ketiga parameter tersebut diukur setiap harinya pada pagi dan sore. Kemudian setiap sore sebelum pemberian makan dilakukan penyiponan dan penambahan air agar sisa pakan didasar tidak mencemari kualitas air pada akuarium. Data pengamatan kualitas air selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 8. Berikut merupakan data kualitas air selama masa pemeliharaan Tabel 21.

Tabel 21. Kisaran Parameter Kualitas Air

Parameter Kualitas Air	Kisaran Kualitas Air
Derajat Keasaman (pH)	7,1 - 8,45
Suhu	24°C - 28°C
Oksigen Terlarut (DO)	3,3 mg/l – 5,9 mg/l

Pada pengukuran Derajat Keasaman (pH) didapat hasil 7 – 8,4 hal ini sesuai dengan pendapat Tatangidatu, Kalesaran dan Rompas (2013), kisaran pH yang sesuai untuk kehidupan biota air tawar adalah 6,8-8,5 pH yang rendah dapat bersifat toksik bagi ikan karena menyebabkan kelarutan logam-logam dalam air semakin besar sedangkan pH yang tinggi menyebabkan meningkatnya konsentrasi amoniak dalam air yang juga bersifat toksik bagi ikan. Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air kisaran suhu didapat selama pengamatan berkisar 24°C - 28°C, kisaran suhu ini masih dalam kategori normal hal ini sesuai dengan pendapat Narantaka (2002), bahwa kondisi suhu optimum budidaya ikan mas berkisar antara 25 - 30°C . Sedangkan pada pengukuran DO atau oksigen terlarut selama pemeliharaan ikan uji didapat nilai DO berkisar antara 3,3 – 5,9 mg/l, hal ini masih dalam kategori normal dan dapat ditoleransi oleh ikan sesuai dengan pendapat Rudyanti dan Ekasari (2009), kandungan oksigen terlarut yang dapat ditoleransi kelangsungan hidup ikan mas adalah 3,4 -5,19 mg/l.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang berjudul “Pengaruh Perendaman Ekstrak Kasar Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) dengan Dosis Berbeda Terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*” adalah sebagai berikut.

Perendaman daun seledri (*A. graveolens L.*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Perlakuan D dengan dosis 200 ppm merupakan hasil yang terbaik. Pada dosis 200 ppm nilai eritrosit, leukosit dan hemoglobin kembali ke kisaran normal pada pengamatan jam ke-36 serta pada dosis 200 ppm memberikan hasil kelulushidupan yang tinggi.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan menggunakan ekstrak kasar daun seledri (*A. graveolens L.*) dengan dosis 200 ppm untuk mengobati ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, kemudian disarankan melakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan dosis optimal.

DAFTAR PUSTAKA













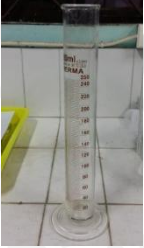



- Adliah, N. 2011. Analisis Pendapatan Usaha Pengolahan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Perspektif Laporan Keuangan (Studi Kasus pada Usaha Limbung Mas Indah, Kelurahan Kalebajeng, Kecamatan bajeng, Kabupaten Gowa). Skripsi. Jurusan Perikanan. Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin.
- Afifah, B. Nurlita A. dan M. Gunanti. 2014. Efektifitas Perendaman Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.) dalam Larutan Perasan Daun Api-api (*Avicennia marina*) terhadap Penurunan Jumlah *Trichodina* sp. *Jurnal Sains dan Seni POM ITS*. 3 (2): 58-62.
- Agusandi, A. Supriyadi dan S.D. Lestari. 2013. Pengaruh penambahan tinta cumi-cumi (*Loligo* sp) terhadap kualitas nutrisi dan penerimaan sensoris mi basah. *J. Fishtec*. 2(1): 23-37.
- Ajizah, A. 2004. Sensivitas Salmonella typhimurium terhadap ekstrak daun Psidium guajava L. *Jurnal Bioscientie*. 1 (1): 31-38.
- Aminah, S.B., Prayitno, dan Sarijito. 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*. 2(4) : 118-125.
- Anggraini, S. 2008. Analisis Kelayakan Finansial Usaha Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Dengan Cara Pemberokan (Kasus: Desa Selajambe, Kecamatan Cisaat, Kabupaten Sukabumi, Propinsi Jawa Barat). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor .
- Ashari, C., Tumbol R.A dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa Penyakit Bakterial Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Di Budidaya Pada Jaring Tancap Di Danau Tondano. *Budidaya Perairan*. 2 (3): 24-30.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. *Dasar Teknik Pengembangan Perikanan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Handayani R. dan A. S. Haribowo. 2008. Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi. Salemba Medika: Jakarta.
- Handoko, L. 2005. Pengaruh Ekstrak kasar daun seledri *Apium graviolens* Terhadap Perubahan SGOT-SGPT Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Karbon Tetraklorida. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Fakultas kedokteran. Univeritas Diponegoro. Semarang.
- Haryani, A., Grandiosa R., Buwono I. D. dan A. Santika. 2012. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki (*Carrisus auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3 (3) : 213-220.

- Holt, J.G. 1979. The Sorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The William and Wilkins Company Baltimore. USA. 157 pp.
- Junianto, H. K. dan I. Maulina. 2007. Pengaruh Meniran dalam Pakan untuk Mencegah Infeksi Bakteri *Aeromonas sp.* pada Benih Ikan Mas (*Ciripinus carpio*). *Journal of Tropical Fisheries* 1 (2): 145 — 150.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Diseases of Fish Cultured in Tropics. Taylor and Francisco Ltd. London.
- Khairuman, D. Sudenda dan B. Gunadi. 2008. Budi Daya Ikan Mas Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm.
- Kiswari, R. 2014. Hematologi dan Transfusi. Erlangga: Jakarta.
- Kurnianingtyas, E., Djati M. S. dan M. Rifa'i. 2013. Aktivitas Imunomodulator *Polyscias Obtusa* Terhadap Sistem Imunitas Pada Bone Marrow Broiler Setelah Pemberian *Salmonella typhimurium*. *J.Exp. Life Sci.* 3(1): 25-30.
- Laili, U. 2007. Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) Terhadap Prevalensi Dan Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophyla*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Malang. Malang.
- Liliana, W. 2005. Kajian Proses Pembuatan Teh Herbal Dari Seledri (*Apium graveolens L.*). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lukistyowati, I dan Windarti. 2007. Hematologi Ikan-Ikan Air Tawar. Lembaga Penelitian Universitas Riau Pekanbaru.
- Majidah, D., Fatmawati D.W.A dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak kasar daun seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. Artikel ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Fakultas Kedokteran Gigi. Univertas Jember.
- Maswan, N.A. 2009. Pengujian Efektivitas Dosis Vaksin DNA dan Korelasinya Terhadap Parameter Hematologi Secara Kuantitatif. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- McMahon M.A.S. 2000. The Expression of Proteinases and Haemolysins by *Aeromonas Hydrophila* under Modified Atmospheres. *Journal of Applied Microbiology.* 89 (1) : 415-422.
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea. Skripsi. IPB. Bogor.
- Narantaka, A. 2002. Pembenuhan Ikan Mas. Javlitara : Yogyakarta. 160 hal.
- Nikinmaa, M. 2011. Transport and Exchange of Respiratory Gases in Blood: Red Blood Cell Function. *Elsevier.* 2: 87-886.








- Pradikta, R. W., Sjoftan O. dan I. H. Djunaidi. 2010. Effect Of katuk Wheat Leaves (*Sauropus androgynus L.merr*) Feeding On Blood Profile Of Lactating Period New Zealand White Rabbit. 1-9.
- Pajitno, A. 2007. Penyakit Ikan dan Udang Bakteri. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 105 hlm.
- Rudianti.S dan A.D Ekasari. 2009. Pertumbuhan dan Survival Rate Ikan Mas (*C. carpio*) pada Berbagai Konsentrasi Pestisida Regent 0.3 G. *Jurnal Saintek Perikanan*. FPIK. UNDIP. 5(1): 39-47.
- Sari, D. S. 2012. Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Pemberian Ekstrak Etil Asetat Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa*). Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sudarsono, Pudjoanto A, Gunawan D, Wahyuono S dan Ngatidjan. 1996. Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat dan Penggunaan. Yogyakarta : Pusat Penelitian Obat Tradisional UGM. 190 hlm.
- Sukadi, M. F. 2002. Peningkatan Teknologi Budidaya Perikanan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. 2 (2) : 61-66.
- Surachmad, W. 1998. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penerbit Tarsito. Bandung. 106 hlm.
- Suwarno dan H. Mustafidah. 2011. Ikan Dinagnosa Penyakit Ikan Menggunakan Sistem Pakar. *JUITA*. 1 (4) : 131-140.
- Tanjung, R. L., Sadi H. N., Maghfiroh M., Dina R. dan D. S. Said. 2013. Keanekaragaman Bakteri *Aeromonas* Dari KJA Di Waduk Jatiluhur dan Kolam Budidaya Di Pulau Lombok dan Sumbawa. *LIMNOTEK*. 20 (01) : 100-110.
- Tatangindatu, B.J.D., Takahashi L. S., Saita M. V., Gimbo R. Y. and Urbinanti. 2013. Leukocytes Respiratory Burst Activity As Indicator of Innate Immunity Of Pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Braz J. Biol*. 73(2): 425-429.
- Wibisono, D. 2013. Panduan Penyusun Skripsi, Tesis dan Disertasi. Penerbit Andi: Yogyakarta. 98 hlm.
- Widyaningrum L. 2008. Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etanol 70% Daun Seledri (*Apium Graveolens L.*) Pada Kelinci Jantan. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Yanto, H., Hasan H. dan Sunarto. 2015. Studi Hematologi Untuk Diagnosa Penyakit Ikan Secara Dini di Sentra Produksi Budidaya Ikan Air Tawar Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Jurnal Akuatika*. FPIK UNMUH Pontianak. 6(1) : 11-20.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian

			
Timbangan Digital	Appendorf dan Nampan	Spuit 0,1 ml	Haemocytometer dan Pipet Toma
			
Akuarium	Tabung Sahli	Aerator Set	Mikroskop cahaya
			
Seser	Laminary air flow	Spatula	Sendok Bahan
			
Gelas Ukur	Erlenmeyer	pH meter	Tabung Reaksi

Lampiran 2. Bahan Penelitian

			
Ikan Mas	Ekstrak kasar daun seledri dan Alumunium foil	Larutan Hayem	HCL 0,1
			
Larutan Turk	Aquades	Alkohol 70%	Kapas
			
Na Sitrat	TSA	NB (nutrient both)	Etanol 96%

Lampiran 3. Jumlah Eritrosit Ikan Mas Pada Tiap-Tiap Pengamatan Dan Perhitungan Jumlah Eritrosit

1. Jumlah Eritrosit Ikan Mas Jam ke 12

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	0,7	0,76	0,81	2,27	0,757±0,05
B= 100 ppm	0,9	1,2	0,89	2,99	0,997±0,17
C= 150 ppm	0,96	1,15	1,27	3,38	1,127±0,15
D= 200 ppm	1,36	1,21	1,14	3,71	1,237±0,11
K+	0,9	0,96	0,98	2,84	0,94±0,04
K-	2,14	2,8	2,4	7,34	2,44±0,33
Total				22,53	

2. Jumlah Eritrosit Ikan Mas Jam ke 24

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	1,25	1,6	1,23	3,64	1,213±0,04
B= 100 ppm	1,13	1,2	1,25	3,75	1,250±0,05
C= 150 ppm	1,15	1,35	1,26	3,76	1,253±0,10
D= 200 ppm	1,47	1,4	1,6	4,47	1,49±0,101
K+	0,9	0,96	0,98	2,84	0,94±0,04
K-	2,14	2,8	2,4	7,34	2,44±0,33
Total				25,8	

3. Jumlah Eritrosit Ikan Mas Jam ke 36

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	1,73	2,1	1,94	5,77	1,92±0,18
B= 100 ppm	1,9	2,3	2,1	6,3	2,1±0,2
C= 150 ppm	2,68	2,56	1,98	7,22	2,41±0,37
D= 200 ppm	2,91	2,7	2,79	8,4	2,80±0,10
K+	0,9	0,96	0,98	2,84	0,94±0,04
K-	2,14	2,8	2,4	7,34	2,44±0,33
Total				37,87	

Lanjutan Lampiran 3

- Pengamatan eritrosit pada jam ke 12
 - a. Rataan Eritrosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A= 50 ppm	0,7	0,76	0,81	2,27	0,757
B= 100 ppm	0,9	1,2	0,89	2,99	0,997
C= 150 ppm	0,96	1,15	1,27	3,38	1,127
D= 200 ppm	1,36	1,21	1,14	3,71	1,237
	Total			12,35	

$$\begin{aligned} \text{FK} &= 12,71021 \\ \text{JK Total} &= 0,52 \\ \text{JK Perlakuan} &= 0,38 \\ \text{JK Acak} &= 0,14 \end{aligned}$$

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,38	0,13	7,19*	4,07	7,59
Acak	8	0,14	0,02			
Total	11					

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ KT acak/r}} = 0,10 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} * \text{SED} = 0,20 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} * \text{SED} = 0,31 \end{aligned}$$

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	0,757	—				a
B	0,997	0,24*	—			b
C	1,127	0,37**	0,13 ^{ns}	—		bc
D	1,237	0,48**	0,24*	0,11 ^{ns}	—	c

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

* = Berbeda Nyata

** = Berbeda Sangat Nyata

Lanjutan Lampiran 3

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	2,27	-3	1	-1
B	2,99	-1	-1	3
C	3,38	1	-1	-3
D	3,71	3	1	1
Q= $\sum c_i \cdot T_i$		4,71	-0,39	0,27
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		0,369735	0,012675	0,001215

JK Regresi 0,383625

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,383625		4,07	7,59	
Linier	1	0,369735	0,369735	20,791097	**	
Kuadratik	1	0,012675	0,012675	0,712746	ns	
Kubik	1	0,001215	0,001215	0,0683224	ns	
Acak	8	0,1422667	0,0177833			
Total	12					

R² Linier 0,722136R² Kuadratik 0,081805R² Kubik 0,008468

• Pengamatan Eritrosit pada Jam ke 24

a. Rataan Eritrosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A= 50 ppm	1,25	1,16	1,23	3,64	1,213
B= 100 ppm	1,3	1,2	1,25	3,75	1,250
C= 150 ppm	1,15	1,35	1,26	3,76	1,253
D= 200 ppm	1,47	1,4	1,6	4,47	1,49
	Total			15,62	
FK	20,33203				
JK TOTAL	0,19				
JK PERLAKUAN	0,14				
JK ACAK	0,05				

Lanjutan Lampiran 3

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,14	0,04	7,70**	4,07	7,59
Acak	8	0,05	0,006			
Total	11					

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ KT acak}/r} &&= 0,06 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} * \text{SED} &&= 0,12 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} * \text{SED} &&= 0,18 \end{aligned}$$

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	1,21	—				a
B	1,25	0,037 ^{ns}	—			a
C	1,253	0,04 ^{ns}	0,003 ^{ns}	—		a
D	1,49	0,277**	0,24**	0,236667**	—	b

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

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	3,64	-3	1	-1
B	3,75	-1	-1	3
C	3,76	1	-1	-3
D	4,47	3	1	1
Q= $\sum Ci * Ti$		2,5	0,6	0,8
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum Ci^2) * r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		0,10417	0,03	0,01067

JK REGRESI 0,144833

Lanjutan Lampiran 3

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,144833			4,07	7,59
Linier	1	0,10417	0,10417	16,6223	**	
Kuadratik	1	0,03	0,03	4,01873	ns	
Kubik	1	0,01067	0,01067	1,70213	ns	
Acak	8	0,050133	0,006267			
Total	12					

R² Linier 0,67509R² Kuadratik 0,37438R² Kubik 0,17544

• Pengamatan Eritrosit pada Jam ke 36

a. Rataan Eritrosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A= 50 ppm	1,73	2,1	1,94	5,77	1,92
B= 100 ppm	1,9	2,3	2,1	6,3	2,1
C= 150 ppm	2,68	2,56	1,98	7,22	2,41
D= 200 ppm	2,91	2,7	2,79	8,4	2,80
				27,69	

FK 63,89468

JK TOTAL 1,78

JK PERLAKUAN 1,32

JK ACAK 0,45

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,33	0,44	7,85**	4,07	7,59
Acak	8	0,45	0,06			
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 0,19

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0,36

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 0,56

Lanjutan Lampiran 3

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,92	2,1	2,41	2,8	
A	1,92	—				a
B	2,1	0,18 ^{ns}	—			ab
C	2,41	0,48*	0,31 ^{ns}	—		b
D	2,8	0,88**	0,7**	0,39*	—	c

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

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Linier	Perbandingan (Ci)		
			Kuadratik	Kubik	
A	5,77	-3	1	-1	
B	6,3	-1	-1	3	
C	7,22	1	-1	-3	
D	8,4	3	1	1	
Q= $\sum ci \cdot Ti$		8,81	0,65	-0,13	
Hasil Kuadrat		20	4	20	
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60	
JK= Q^2 / Kr		1,2936017	0,0352083	0,00028167	

JK REGRESI 1,329092

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1,3290917			4,07	7,59
Linier	1	1,2936017	1,2936017	22,9294239	**	
Kuadratik	1	0,0352083	0,0352083	0,62407681	ns	
Kubik	1	0,0002817	0,0002817	0,00499261	ns	
Acak	8	0,4513333	0,0564167			
Total	12					

R² Linier 0,741347

R² Kuadratik 0,072364

R² Kubik 0,000624

Lampiran 4. Jumlah Leukosit Ikan Mas Pada Tiap-Tiap Pengamatan Dan Perhitungan Jumlah Leukosit

1. Jumlah Leukosit Ikan Mas Jam ke 12

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	32,75	28,1	38,6	99,45	33,15±5,26
B= 100 ppm	27,2	23,55	25,25	76	25,33±1,82
C= 150 ppm	24,9	25,15	26,8	76,85	25,62±1,03
D= 200 ppm	19,45	19,2	24,6	63,25	21,08±3,04
K+	30,2	35,24	35,13	100,57	33,52±2,77
K-	8,4	8,5	8,5	25,4	8,46±0,05
Total				441,52	

2. Jumlah Leukosit Ikan Mas Jam ke 24

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	24,3	27,2	31,45	82,95	27,65±3,59
B= 100 ppm	21,95	23,6	19,3	64,85	21,62±2,16
C= 150 ppm	17,7	22,1	11,9	51,7	17,23±5,11
D= 200 ppm	16,25	14,4	15,65	46,3	15,43±0,94
K+	30,2	35,24	35,13	100,57	33,52±2,77
K-	8,4	8,5	8,5	25,4	8,46±0,05
Total				371,77	

3. Jumlah Leukosit Ikan Mas Jam ke 36

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	16,7	14,15	11,57	42,42	14,14±2,56
B= 100 ppm	13,85	11,6	10,75	36,2	12,07±1,60
C= 150 ppm	10,25	9,45	9,1	28,8	9,60±0,58
D= 200 ppm	8,8	8,35	8,85	26	8,67±0,27
K+	30,2	35,24	35,13	100,57	33,52±2,77
K-	8,4	8,5	8,5	25,4	8,46±0,05
Total				259,3	

Lanjutan Lampiran 4

- Pengamatan Leukosit pada jam ke 12
 - a. Rataan Leukosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A=50ppm	32,75	28,1	38,6	99,45	33,15
B=100ppm	27,2	23,55	25,25	76	25,33
C=150ppm	24,9	25,15	26,8	76,85	25,62
D=200ppm	19,45	19,2	24,6	63,25	21,08
	Total			315,55	

FK	8297,65
JK TOTAL	309,3623
JK PERLAKUAN	226,6123
JK ACAK	82,75

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	226,61	75,54	7,30*	4,07	7,59
Acak	8	82,75	10,34			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 2,62
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 4,88
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 7,60

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	33,15	—				A
B	25,33	7,82**	—			B
C	25,62	7,53*	0,29 ^{ns}	—		B
D	21,08	12,07**	4,25 ^{ns}	4,53 ^{ns}	—	B

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



Lanjutan Lampiran 4

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	99,45	-3	1	-1
B	76	-1	-1	3
C	76,85	1	-1	-3
D	63,25	3	1	1
Q= $\sum c_i \cdot T_i$		-107,75	9,85	-38,75
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		193,501	8,085208	25,02604

JK REGRESI 226,6123

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	226,6123			4,07	7,59
Linier	1	193,501	193,501	18,70705	**	
Kuadratik	1	8,085208	8,085208	0,781652	Ns	
Kubik	1	25,02604	25,02604	2,419436	Ns	
Acak	8	82,75	10,34375			
Total	12					

R² Linier 0,700454R² Kuadratik 0,08901R² Kubik 0,232204

• Pengamatan Leukosit pada jam ke 24

a. Rataan Leukosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A=50 ppm	24,3	27,2	31,45	82,95	27,65
B=100ppm	21,95	23,6	19,3	64,85	21,62
C=150ppm	17,7	22,1	11,9	51,7	17,23
D=200ppm	16,25	14,4	15,65	46,3	15,43
		Total		245,8	

Lanjutan Lampiran 4

FK	5034,803
JK TOTAL	355,53
JK PERLAKUAN	266,13
JK ACAK	89,40

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	266,13	88,71	7,94**	4,07	7,59
Acak	8	89,40	11,18			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 2,72
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 5,07
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 7,90

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	27,65	—				A
B	21,62	6,03*	—			B
C	17,23	10,42**	4,38 ^{ns}	—		Bc
D	15,43	12,22**	6,18*	1,80 ^{ns}	—	C

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

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	82,95	-3	1	-1
B	64,85	-1	-1	3
C	51,7	1	-1	-3
D	46,3	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		-123,1	12,7	2,8
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK=Q ² /Kr		252,5602	13,44083	0,130667

JK REGRESI 266,1317

Lanjutan Lampiran 4

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	266,1317			4,07	7,59
Linier	1	252,5602	252,5602	22,5992	**	
Kuadratik	1	13,44083	13,44083	1,202692	Ns	
Kubik	1	0,130667	0,130667	0,011692	Ns	
Acak	8	89,405	11,17563			
Total	12					

R² Linier 0,738555R² Kuadratik 0,130689R² Kubik 0,001459

• Pengamatan Leukosit pada jam ke 36

a. Rataan Leukosit

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A	16,7	14,15	11,57	42,42	14,14
B	13,85	11,6	10,75	36,2	12,07
C	10,25	9,45	9,1	28,8	9,60
D	8,8	8,35	8,85	26	8,67
			Total	133,42	

FK 1483,408

JK TOTAL 74,17

JK PERLAKUAN 55,03

JK ACAK 19,13

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	55,04	18,35	7,67**	4,07	7,59
Acak	8	19,14	2,39			
Total	11					

SED = $\sqrt{2}$ KT acak/r = 1,26

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 2,34

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 3,65

Lanjutan Lampiran 4

c. Uji Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	14,14	—				A
B	12,07	2,07 ^{ns}	—			a
C	9,6	4,54 ^{**}	2,47 [*]	—		b
D	8,67	5,47 ^{**}	3,4 [*]	0,93 ^{ns}	—	b

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

* = Berbeda Nyata

** = Berbeda Sangat Nyata

d. Uji Polinomial orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	42,42	-3	1	-1
B	36,2	-1	-1	3
C	28,8	1	-1	-3
D	26	3	1	1
Q = $\sum ci \cdot Ti$		-56,66	3,42	5,78
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr = $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK = Q^2 / Kr		53,50593	0,9747	0,556807

JK REGRESI 55,03743

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	55,03743			4,07	7,59
Linier	1	53,50593	53,50593	22,36761	**	
Kuadratik	1	0,9747	0,9747	0,407463	ns	
Kubik	1	0,556807	0,556807	0,232767	ns	
Acak	8	19,13693	2,392117			
Total	12					

R² Linier 0,736561

R² Kuadratik 0,048464

R² Kubik 0,028273

Lampiran 5. Jumlah Hemoglobin Ikan Mas Pada Tiap-Tiap Pengamatan Dan Perhitungan Jumlah Hemoglobin

1. Jumlah Hemoglobin Ikan Mas Jam ke 12

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	3,3	3,6	4	10,9	3,63±0,35
B= 100 ppm	4,8	4,1	3,5	12,4	4,13±0,65
C= 150 ppm	4,1	5,3	4,5	13,9	4,63±0,61
D= 200 ppm	6	6,5	5	17,5	5,83±0,76
K+	3,2	3	3	9,2	3,06±0,11
K-	7	7	7	21	7±0,00
Total				84,9	

2. Jumlah Hemoglobin Ikan Mas Jam ke 24

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	3,9	4,2	4,5	12,6	4,2±0,3
B= 100 ppm	4,6	5,7	5,2	15,5	5,17±0,55
C= 150 ppm	5,3	6,1	5,4	16,8	5,6±0,43
D= 200 ppm	6,2	6,7	5,5	18,4	6,13±0,60
K+	3,2	3	3	9,2	3,06±0,11
K-	7	7	7	21	7±0,00
Total				93,5	

3. Jumlah Hemoglobin Ikan Mas Jam ke 36

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A= 50 ppm	6	5	5	16	5,33±0,3
B= 100 ppm	6	6,5	5	17,5	5,83±0,55
C= 150 ppm	7	6,5	7	20,5	6,83±0,43
D= 200 ppm	7	7,5	7	21,5	7,17±0,60
K+	3,2	3	3	9,2	3,06±0,11
K-	7	7	7	21	7±0,00
Total				105,7	

Lanjutan Lampiran 5

- Pengamatan Hemoglobin pada jam ke 12
 - a. Rataan Hemoglobin

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A=50ppm	3,3	3,6	4	10,9	3,63
B=100ppm	4,8	4,1	3,5	12,4	4,13
C=150ppm	4,1	5,3	4,5	13,9	4,63
D=200ppm	6	6,5	5	17,5	5,83
	Total			54,7	

FK	249,3408
JK TOTAL	11,00917
JK PERLAKUAN	8,0025
JK ACAK	3,067

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	8,00	2,67	7,10**	4,07	7,59
Acak	8	3,01	0,38			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0,50
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 0,93
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1,44

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	3,63	—				a
B	4,13	0,497 ^{ns}	—			ab
C	4,63	0,997*	0,5 ^{ns}	—		b
D	5,83	2,2**	1,7**	1,2*	—	c

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

Lanjutan Lampiran 5

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	10,9	-3	1	-1
B	12,4	-1	-1	3
C	13,9	1	-1	-3
D	17,5	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		21,3	2,1	2,1
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		7,5615	0,3675	0,0735

JK REGRESI 8,0025

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	8,0025			4,07	7,59
Linier	1	7,5615	7,5615	20,11929	**	
Kuadratik	1	0,3675	0,3675	0,977827	ns	
Kubik	1	0,0735	0,0735	0,195565	ns	
Acak	8	3,006667	0,375833			
Total	12					

 R^2 Linier 0,715498 R^2 Kuadratik 0,108916 R^2 Kubik 0,023862

• Pengamatan Hemoglobin pada jam ke 24

a. Rataan Hemoglobin

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A=50ppm	3,9	4,2	4,5	12,6	4,2
B=100ppm	4,6	5,7	5,2	15,5	5,17
C=150ppm	5,3	6,1	5,4	16,8	5,6
D=200ppm	6,2	6,7	5,5	18,4	6,13
			Total	63,3	

Lanjutan Lampiran 5

FK	333,9075
JK TOTAL	7,92
JK PERLAKUAN	6,029
JK ACAK	1,89

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6,03	2,01	8,49**	4,07	7,59
Acak	8	1,89	0,24			
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0,39
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 0,73
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1,15

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		4,2	5,17	5,6	6,13	
A	4,2	—				a
B	5,17	0,97*	—			b
C	5,6	1,4*	0,43 ^{ns}	—		bc
D	6,13	1,93**	0,97*	0,53 ^{ns}	—	c

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

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadrat	Kubik
A	12,6	-3	1	-1
B	15,5	-1	-1	3
C	16,8	1	-1	-3
D	18,4	3	1	1
Q= $\sum ci \cdot Ti$		18,7	-1,3	1,9
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2/Kr		5,828167	0,140833	0,060167

JK REGRESI 6,029166667



Lanjutan Lampiran 5

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6,029167			4,07	7,59
Linier	1	5,828167	5,828167	24,62606	**	
Kuadratik	1	0,140833	0,140833	0,59507	ns	
Kubik	1	0,060167	0,060167	0,254225	ns	
Acak	8	1,893333	0,236667			
Total	12					

R² Linier 0,754797211

R² Kuadratik 0,069233921

R² Kubik 0,03079942

- Pengamatan Hemoglobin pada jam ke 36
 - a. Rataan Hemoglobin

Perlakuan	Ulangan			Total	\bar{X}
	1	2	3		
A=50ppm	6	5	5	16	5,33
B=100ppm	6	6,5	5	17,5	5,83
C=150ppm	7	6,5	7	20,5	6,83
D=200ppm	7	7,5	7	21,5	7,17
	Total			75,5	

FK 475,0208333
 JK TOTAL 8,729166667
 JK PERLAKUAN 6,5625
 JK ACAK 2,166666667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6,56	2,19	8,08**	4,07	7,59
Acak	8	2,17	0,27			
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$ = 0,42

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0,7

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1,23



Lanjutan Lampiran 5

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A	5,33	–				a
B	5,83	0,5 ^{ns}	–			a
C	6,83	1,5 ^{**}	1 [*]	–		b
D	7,17	1,83 ^{**}	1,33 ^{**}	0,33 ^{ns}	–	b

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

* = Berbeda Nyata

** = Berbeda Sangat Nyata

d. Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	16	-3	1	-1
B	17,5	-1	-1	3
C	20,5	1	-1	-3
D	21,5	3	1	1
Q = $\sum C_i \cdot T_i$	19,5	-0,5		-3,5
Hasil Kuadrat	20	4		20
Kr = $(\sum C_i^2) \cdot r$	60	12		60
JK = Q^2 / Kr	6,3375	0,020833		0,204167

JK REGRESI 6,5625

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6,5625		4,07		7,59
Linier	1	6,3375	6,3375	23,4	**	
Kuadratik	1	0,020833	0,020833	0,076923	ns	
Kubik	1	0,204167	0,204167	0,753846	ns	
Acak	8	2,166667	0,270833			
Total	12					

R² Linier 0,74522293R² Kuadratik 0,00952381R² Kubik 0,086115993

Lampiran 6. Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Selama

Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan	Jumlah	Jumlah	SR (%)	\bar{X} (%)
		Ikan Awal Penelitian	Ikan Akhir Penelitian		
A (50 ppm)	1	10	5	50	40
	2	10	4	40	
	3	10	3	30	
B (100 ppm)	1	10	8	80	63,3
	2	10	6	60	
	3	10	5	50	
C (150 ppm)	1	10	8	80	76,6
	2	10	8	80	
	3	10	7	70	
D (200 ppm)	1	10	8	80	86,6
	2	10	9	90	
	3	10	9	90	

Lampiran 7. Perhitungan Data Kelulushidupan

a. Perhitungan Statistik Kelulushidupan (Arc sin)

Perlakuan	Ulangan			Total	$\bar{X} \pm SD$
	1	2	3		
A	45,00	39,23	33,21	117,44	39,15±5,89
B	63,43	50,77	45,00	159,20	53,07±9,43
C	63,43	63,43	56,79	183,66	61,22±3,83
D	63,43	71,57	71,57	206,57	68,86±4,69
	Total			666,87	

FK	37059,62
JK TOTAL	1773,978
JK PERLAKUAN	1453,112
JK ACAK	320,8666

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1453,11	484,37	12,08**	4,07	7,59
Acak	8	320,87	40,11			
Total	11					

SED	5,170966
BNT 5%	9,617996
BNT 1%	14,97512

c. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		39,15	53,07	61,22	68,86	
A	39,15	—				a
B	53,07	13,92*	—			b
C	61,22	22,07**	8,15 ^{ns}	—		bc
D	68,86	29,71**	15,79**	7,64 ^{ns}	—	c

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

Lanjutan Lampiran 7

d. Uji polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	117,4424	-3	1	-1
B	159,2034	-1	-1	3
C	183,659	1	-1	-3
D	206,5651	3	1	1
Q= $\sum C_i \cdot T_i$		291,8234	-18,8549	15,75594
Hasil Kuadrat		20	4	20
K _r = ($\sum C_i^2$)*r		60	12	60
JK=Q ² /K _r		1419,348	29,62571	4,137496

JK REGRESI 1453,112

e. Uji Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1453,112			4,07	7,59
Linier	1	1419,348	1419,348	35,38787	**	
Kuadratik	1	29,62571	29,62571	0,738642	ns	
Kubik	1	4,137496	4,137496	0,103158	ns	
Acak	8	320,8666	40,10833			
Total	12					

R² Linier 0,815617R² Kuadratik 0,084526R² Kubik 0,012731

Lampiran 8. Tabel Kualitas Air Suhu

perlakuan	24-Jun-16		25-Jun-16		26-Jun-16		27-Jun-16		28-Jun-16		29-Jun-16		30-Jun-16	
	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore
A1	25	26	24	24	26	28	26	25	27	25	28	26	26	28
A2	27	26	26	27	27	25	26	27	27	24	24	25	28	27
A3	28	25	24	26	25	25	26	26	26	24	25	24	26	27
B1	28	24	24	26	28	28	26	28	25	26	26	28	25	28
B2	28	27	25	24	26	27	28	28	24	27	25	28	25	28
B3	27	24	28	24	28	26	26	27	25	26	25	28	25	27
C1	27	27	26	28	27	26	27	27	27	27	24	27	24	25
C2	25	26	25	28	28	25	24	27	25	26	26	27	26	25
C3	26	27	24	24	25	25	26	25	27	25	26	28	28	24
D1	28	26	27	28	27	24	28	28	24	24	27	28	26	25
D2	24	28	27	26	28	27	26	27	26	28	26	26	24	27
D3	27	25	25	26	28	26	25	28	26	26	24	24	26	25
K-1	27	26	26	25	26	26	25	28	27	24	25	28	27	27
K-2	25	28	24	25	27	24	24	28	24	27	26	26	26	24
K-3	28	28	24	25	24	26	28	24	25	25	25	24	27	28
K+1	27	25	24	27	26	24	27	27	27	28	28	26	25	28
K+2	24	28	24	27	26	28	25	28	24	24	24	24	28	24
K+3	27	24	26	27	27	25	24	24	28	25	25	25	27	27

pH

Perlakuan	24-Jun-16		25-Jun-16		26-Jun-16		27-Jun-16		28-Jun-16		29-Jun-16		30-Jun-16	
	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore
A1	7,06	7,77	7,89	7,18	7,41	7,27	7,04	7,25	7,21	7,85	7,36	8,45	8,31	8,26
A2	7,26	7,77	8,23	7,32	7,69	7,48	7,28	7,34	7,65	7,5	7,96	8	7,46	8,23
A3	8,41	8,38	7,03	8,46	7,9	7,38	7,91	8,41	7,72	8,05	7,55	7,11	7,98	8,09
B1	7,28	8,08	8,1	8,12	7,59	7,02	8,28	8,29	8,45	7,44	7,41	8,09	7,38	7,12
B2	7,22	7,12	7,42	7,17	8,25	8,11	7,88	7,51	7,87	7,41	7,94	7,92	7,88	8,49
B3	8,21	7,07	8,33	8,38	7,22	7,65	8,23	7,34	7,65	8,31	7,07	7,13	8,47	7,15
C1	8,04	7,41	7,93	7,31	7,97	7,62	7,64	7,94	8,49	7,81	8,04	7,08	8,07	7,14
C2	7,78	7,15	7,5	7,52	7,01	7,85	7,45	8,12	7,72	7,18	7,56	7,67	7,38	7,4
C3	7,94	8,23	7,42	8,29	7,76	7,32	7,05	7,68	8,04	7,36	8,41	7,8	8,02	7,22
D1	7,34	7,31	8,3	7,94	7,54	8,2	7,12	7,45	7,24	7,17	8,39	8,44	7,27	7,31
D2	7,5	7,58	7,57	7,23	8,49	8,34	8,43	7,82	7,49	8,02	7,48	7,62	7,94	8,16
D3	7,96	7,75	7,69	7,86	7,68	8,39	7,5	7,96	7,68	8,27	8,21	8,08	7,66	7,7
K-1	7,66	8	7,44	7,01	8,15	7,32	8,28	8,29	7,41	8	7,14	8,25	8,1	8,26
K-2	7,03	7,5	7,03	7,19	7,74	7,74	7,01	7,52	7,56	7,05	7,29	7,33	8,09	7,98
K-3	7,64	7,08	7,27	7,5	7,36	8,41	8,2	8,4	7,6	7,85	7,14	8,47	7,96	8,42
K+1	7,03	7,5	7,39	7,24	7,65	7,5	7,15	8,28	8,36	7,06	7,67	7,02	7,21	8,48
K+2	8,37	8,16	8,05	7,39	7,78	8,4	8,45	7,69	7,18	7,65	7,68	7,72	7,52	8,41
K+3	8,32	8,2	7,26	7,69	7,94	7,98	7,92	7,47	7,57	8,36	8,45	7,27	7,76	7,15

Lanjutan Lampiran 8

DO

Perlakuan	24-Jun-16		25-Jun-16		26-Jun-16		27-Jun-16		28-Jun-16		29-Jun-16		30-Jun-16	
	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore	pagi	sore
a1	3,54	4,9	5,83	4,23	4,39	5,95	4,45	3,33	3,97	5,61	5,54	4,63	4,29	4,24
a2	3,75	5,1	4,17	5,71	4,98	4,06	4,52	5,58	5,8	5,14	5,35	5,1	5,84	3,67
a3	4	5,8	3,58	5,49	4,25	4,93	5,39	5,7	3,72	4,16	4,87	4,98	4,99	3,47
b1	5,9	4,5	3,42	5,9	3,91	5,47	4,42	5,61	3,91	3,52	3,53	3,68	5,62	4,41
b2	4,39	4,8	4,07	4,04	5,7	5,12	3,88	5,79	4,86	5,32	3,58	4,86	4,15	4,94
b3	4,14	4,9	3,56	5,65	3,36	5,89	5,72	5,88	4,92	5,85	3,88	4,36	3,93	3,84
c1	5,44	4,4	5,18	4,04	4,75	3,39	3,68	3,93	4,35	5,95	4,09	4,75	4,4	5,11
c2	3,67	4,5	5,56	3,81	3,37	3,82	4	5,95	5,72	3,69	5,84	4,55	3,49	4,01
c3	5,19	5,3	3,69	3,53	4,56	3,51	4,96	5,49	4,68	3,52	4,14	4,86	4,19	5,03
d1	4,24	4,1	4,03	3,66	5,43	4,49	5,83	4,84	5,63	5,56	4,18	3,48	4,75	4,69
d2	3,89	3,5	4,66	4,88	3,57	4,89	4,55	3,69	5,11	5,26	4,55	3,48	3,25	5,83
d3	5,32	5	5,32	3,36	4,12	3,27	4,96	5,58	4,2	3,6	5,89	5,08	5,72	3,34
k-1	4,83	5,5	5,19	3,84	4,02	4,41	4,25	5,37	5,68	4,54	5,79	4,34	5,21	3,47
k-2	5,49	5,7	3,53	5,07	4,42	3,64	4,54	3,65	4,14	3,77	3,61	4,19	5,06	4,71
k-3	3,38	4	4,83	5,12	3,32	4,46	3,62	3,34	3,68	5,68	5,7	4,73	4,21	5,28
k+1	3,82	4,6	4,68	5,29	3,54	3,69	4,99	3,25	4,63	5,7	5,68	4,21	3,66	4,58
k+2	3,38	3,5	4,67	3,3	4,54	4,45	3,64	4,68	3,98	5,22	4,85	5,06	5,14	4,89
k+3	4,23	5,5	4,47	4,86	4,19	4,84	5,5	5	4,89	4,96	5,85	4,64	3,69	3,31

