

**Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda***

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

Oleh:  
**USWANUL OKTIFA  
NIM. 135080500111030**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017**

**Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda***

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:  
Uswanul Oktafa  
NIM. 135080500111030



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2017



**SKRIPSI**

**Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda***

Oleh :  
**USWANUL OKTIFA**  
NIM. 135080500111030

Telah dipertahankan di depan penguji  
pada tanggal 18 April 2017  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat  
SK Dekan No.: \_\_\_\_\_  
Tanggal: \_\_\_\_\_

Dosen Penguji I

**(Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc)**  
NIP. 19621014 198701 1 001  
Tanggal: 21 APR 2017

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I

**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)**  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal: 21 APR 2017

Dosen Penguji II

**(Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., M.Sc)**  
NIP. 19780625 200501 2 002  
Tanggal: 21 APR 2017

Dosen Pembimbing II

**(Ir. Heny Suprastyani, MS)**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal: 21 APR 2017



Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP

**(Dr. Ir. Arning Widiyeng Ekawati, MS)**  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal: 21 APR 2017



## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan 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 keuali yang tertulis dalam naskah ini atau disebutkan dalam daftar pustaka.

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



Malang, 18 April 2017  
Mahasiswa,

(Uswanul Oktafa)  
135080500111030



## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sadari laporan ini tidak akan selesai tanpa dukungan moril dan materil dari semua pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Sujud dan terima kasih yang dalam penulis persembahkan kepada kedua orang tua tercinta, Sarno dan Siti Mursini, atas dorongan dan dukungan serta kebijaksanaan dalam do'a.
2. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. selaku pembimbing I yang telah memberi arahan dan bimbingan kepada penulis.
3. Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku pembimbing II atas bimbingan dan masukan kepada penulis.
4. Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc. selaku penguji I yang telah memberikan masukan serta bimbingan kepada penulis.
5. Ibu Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., M.Sc. selaku penguji II yang telah memberikan masukan serta bimbingan kepada penulis.
6. Bapak Muchlis Zainudin A, A.Md dan Ibu Titin Yuniatik, S,TP atas bantuan memberikan izin tempat untuk melaksanakan penelitian.
7. Rekan-rekan tim penulis, Anisatul Farida, Galih Dandung, Nela Maulina dan Randi Pratama atas dukungan, motivasi dan bantuan yang diberikan.
8. Rekan-rekan Aqua GT 2013 yang memberikan motivasi terhadap penulis.
9. Pihak-pihak yang telah membantu dalam laporan PKM ini.

Malang, 18 April 2017  
Penulis,

Uswanul Oktafa  
135080500111030

## RINGKASAN

**USWANUL OKTAFI.** Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS.**

---

Ikan air tawar yang banyak dibudidayakan dan mempunyai nilai ekonomis tinggi adalah jenis *catfish* salah satunya ikan Patin. Jenis ikan ini sangat rentan terhadap penyakit *Edwardsiellosis* yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda*. Peningkatan penggunaan antibiotik dapat diikuti oleh bertambahnya penyakit patogenik, karena meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia (antibiotik). Penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol pada perikanan menawarkan alternatif pemecahan untuk menanggulangi permasalahan tersebut, yang bertujuan untuk menekan atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanpa menimbulkan dampak buruk pada sistem keseimbangan ekologis bakteri. *L. plantarum* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang mampu bertindak sebagai antibakteri patogen.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *L. plantarum* terhadap hematologi ikan Patin Jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi oleh bakteri *E. tarda*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada 28 November 2016 s/d 28 Januari 2017. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan bakteri *L. plantarum* dengan dosis  $10^3$  CFU/ml (A),  $10^8$  CFU/ml (B) dan  $10^{13}$  CFU/ml (C). Parameter utama dalam penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang meliputi sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), kadar hemoglobin, dan kadar hematokrit pada ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*. Sampel diambil pada jam 0, 12, 24 dan 36 jam setelah penginfeksian. Sebelum ikan Patin diinfeksi, ikan direndam dengan *L. plantarum* selama 7 hari. Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah prosentase kelulushidupan (*survival rate*), suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan.

Hasil yang didapatkan setelah penelitian sebagai berikut. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang didapatkan dari parameter eritrosit yang diperoleh pada 0 jam = 0,8448; 12 jam = 0,879; 24 jam = 0,8261 dan 36 jam = 0,7846. Sedangkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) pada parameter leukosit yang diperoleh pada 0 jam = 0,9497; 12 jam = 0,6408; 24 jam = 0,7125 dan 36 jam = 0,7105. Pengamatan hematokrit mendapatkan koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh pada 0 jam = 0,9826; 12 jam = 0,9678; 24 jam = 0,8929 dan 36 jam = 0,8512. Adapun koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang didapatkan dari parameter hemoglobin yang diperoleh pada 0 jam = 0,9119; 12 jam = 0,8673; 24 jam = 0,8230 dan 36 jam = 0,8082. Hasil dari pengamatan parameter tambahan untuk kualitas air menunjukkan hasil yang masih dalam kisaran normal. Sedangkan prosentase kelulushidupan ikan Patin tertinggi pada perlakuan C ( $10^{13}$  CFU/ml) dan B ( $10^8$  CFU/ml) sebesar 90%, sedangkan kelulushidupan ikan Patin terendah pada perlakuan A ( $10^3$  CFU/ml). Dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap hematologi ikan Patin Jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda* dengan B sebagai perlakuan terbaik.



## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Mu penulis dapat menyajikan laporan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*”.

Laporan ini akan disajikan berupa langkah-langkah pemeriksaan sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit), hemoglobin dan hematokrit serta data perhitungan dari hasil pengamatan. Selain itu juga terdapat data kualitas air dan kelulushidupan ikan selama pemeliharaan. Penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan. Akhir kata, penulis berharap semoga laporan ini dapat memberikan manfaat bagi berbagai pihak.

Malang, 18 April 2017  
Penulis,

(Uswanul Oktafa)  
135080500111030

## DAFTAR ISI

	Halaman
Ringkasan .....	v
Kata Pengantar .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Tabel .....	xi
Daftar Lampiran .....	xiii
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	2
1.3. Tujuan .....	3
1.4. Hipotesis .....	3
1.5. Kegunaan .....	3
1.6. Jadwal Pelaksanaan .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Ikan Patin Jambal ( <i>P. djambal</i> ) .....	5
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi .....	5
2.1.2. Habitat dan Penyebaran .....	6
2.1.3. Penyakit Pada Ikan Patin Jambal ( <i>P. djambal</i> ) .....	7
2.2. Bakteri <i>E. tarda</i> .....	7
2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi .....	7
2.2.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan .....	8
2.2.3. Infeksi Bakteri .....	9
2.3. Bakteri <i>L. plantarum</i> .....	10
2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi .....	10
2.3.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan .....	11
2.3.3. Kandungan dan Manfaat .....	12
2.4. Hematologi .....	13
2.4.1. Pengertian Hematologi .....	13
2.4.2. Sel Darah Merah (Eritrosit) .....	14
2.4.3. Sel Darah Putih (Leukosit) .....	14
2.4.4. Hematokrit .....	15
2.4.5. Hemoglobin .....	16
2.5. Sistem Kekebalan Tubuh .....	16
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1. Materi Penelitian .....	18
3.1.1. Alat-alat Penelitian .....	18
3.1.2. Bahan-bahan Penelitian .....	19
3.2. Metode Penelitian .....	19
3.3. Rancangan Penelitian .....	20
3.4. Prosedur Penelitian .....	22
3.4.1. Persiapan Penelitian .....	22



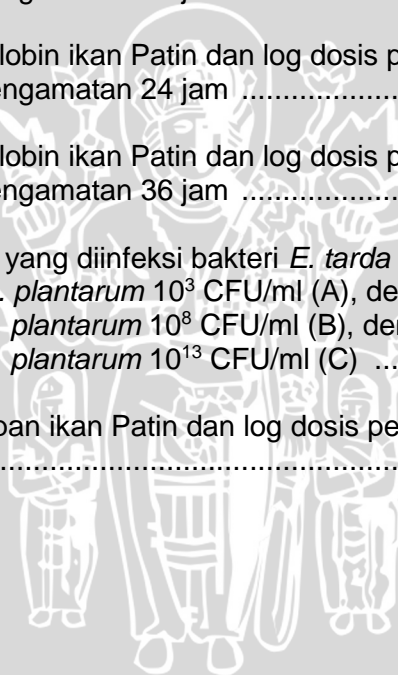
a. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	22
b. Sterilisasi Tempat Perlakuan .....	23
c. Pembuatan Media Bakteri .....	23
d. Pemiakan Bakteri.....	24
e. Perhitungan Kepadatan Bakteri .....	25
f. Pengenceran Bakteri <i>E. tarda</i> .....	28
g. Pengenceran Bakteri <i>L. plantarum</i> .....	29
h. Persiapan Alat .....	30
i. Persiapan Hewan Uji .....	30
3.4.2. Pelaksanaan Penelitian .....	31
a. Pemberian Bakteri <i>L. plantarum</i> .....	31
b. Pemberian Bakteri <i>E. tarda</i> .....	31
c. Pengambilan Sampel Darah .....	32
d. Uji Hematologi .....	32
3.5. Parameter Uji .....	34
3.5.1. Parameter Utama .....	34
3.5.2. Parameter Penunjang .....	34
3.6. Analisa Data .....	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	36
4.1. Analisis Hematologi .....	36
4.1.1. Eritrosit .....	36
4.1.2. Leukosit .....	41
4.1.3. Hematokrit .....	46
4.1.4. Hemoglobin .....	51
4.2. Parameter Penunjang .....	56
4.2.1. Gejala Klinis .....	56
4.2.2. Kualitas Air .....	57
4.2.3. Kelulushidupan .....	60
5. KESIMPULAN DAN SARAN .....	62
5.1. Kesimpulan .....	62
5.2. Saran .....	62
DAFTAR PUSTAKA .....	63
LAMPIRAN .....	68

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Patin jambal (Khairuman, 2007) .....	5
2. <i>E. tarda</i> (Kholifah, 2014) .....	8
3. Kurva pertumbuhan bakteri (Hartati, 2015) .....	9
4. <i>L. plantarum</i> (Hui dan Kachaturians, 1995) .....	11
5. Leukosit yang ditunjukkan tanda panah (Houghland, Ronneseth dan Wergeland, 2014) .....	15
6. Denah penelitian yang akan dilakukan .....	21
7. Jumlah log eritrosit ikan Patin setelah pemberian <i>L. plantarum</i> dan diinfeksi <i>E. tarda</i> .....	36
8. Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 0 jam .....	39
9. Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 12 jam .....	39
10. Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 24 jam .....	40
11. Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 36 jam .....	40
12. Jumlah log leukosit ikan Patin setelah pemberian <i>L. plantarum</i> dan diinfeksi <i>E. tarda</i> .....	42
13. Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 0 jam .....	44
14. Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 12 jam .....	45
15. Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 24 jam .....	45
16. Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 36 jam .....	45
17. Jumlah hematokrit ikan Patin setelah pemberian <i>L. plantarum</i> dan diinfeksi <i>E. tarda</i> .....	47
18. Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri	



<i>L. plantarum</i> pengamatan 0 jam.....	49
19. Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 12 jam .....	50
20. Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 24 jam .....	50
21. Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 36 jam .....	50
22. Jumlah hemoglobin ikan Patin setelah pemberian <i>L. plantarum</i> dan diinfeksi <i>E. tarda</i> .....	52
23. Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 0 jam .....	54
24. Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 12 jam .....	55
25. Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 24 jam .....	55
26. Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> pengamatan 36 jam .....	55
27. Gejala klinis ikan Patin yang diinfeksi bakteri <i>E. tarda</i> dengan penambahan Bakteri <i>L. plantarum</i> 10 <sup>3</sup> CFU/ml (A), dengan penambahan bakteri <i>L. plantarum</i> 10 <sup>8</sup> CFU/ml (B), dengan penambahan bakteri <i>L. plantarum</i> 10 <sup>13</sup> CFU/ml (C) .....	57
28. Hubungan kelulushidupan ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri <i>L. plantarum</i> .....	60



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kualitas air yang dianjurkan untuk budidaya ikan patin .....	7
2. Gejala klinis infeksi <i>E. tarda</i> .....	10
3. Log rata-rata eritrosit (sel/ml) ikan Patin selama pengamatan .....	36
4. Analisa sidik ragam log eritrosit ikan Patin selama pengamatan .....	37
5. Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin Jam 0 .....	37
6. Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin Jam 12 .....	38
7. Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin Jam 24 .....	38
8. Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin Jam 36 .....	38
9. Log rata-rata leukosit (sel/ml) ikan Patin selama pengamatan .....	41
10. Analisa sidik ragam log leukosit ikan Patin selama pengamatan .....	42
11. Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 0 .....	43
12. Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 12 .....	43
13. Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 24 .....	43
14. Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 36 .....	43
15. Rata-rata hematokrit (%) ikan Patin selama pengamatan .....	47
16. Analisa sidik ragam hematokrit ikan Patin selama pengamatan .....	47
17. Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 0 .....	48
18. Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 12 .....	48
19. Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 24 .....	48
20. Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 36 .....	48
21. Rata-rata hemoglobin (gr %) ikan Patin selama pengamatan .....	52
22. Analisa sidik ragam hemoglobin ikan Patin selama pengamatan .....	52
23. Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 0 .....	53



24. Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 12 ..... 53

25. Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 24 ..... 53

26. Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 36 ..... 53

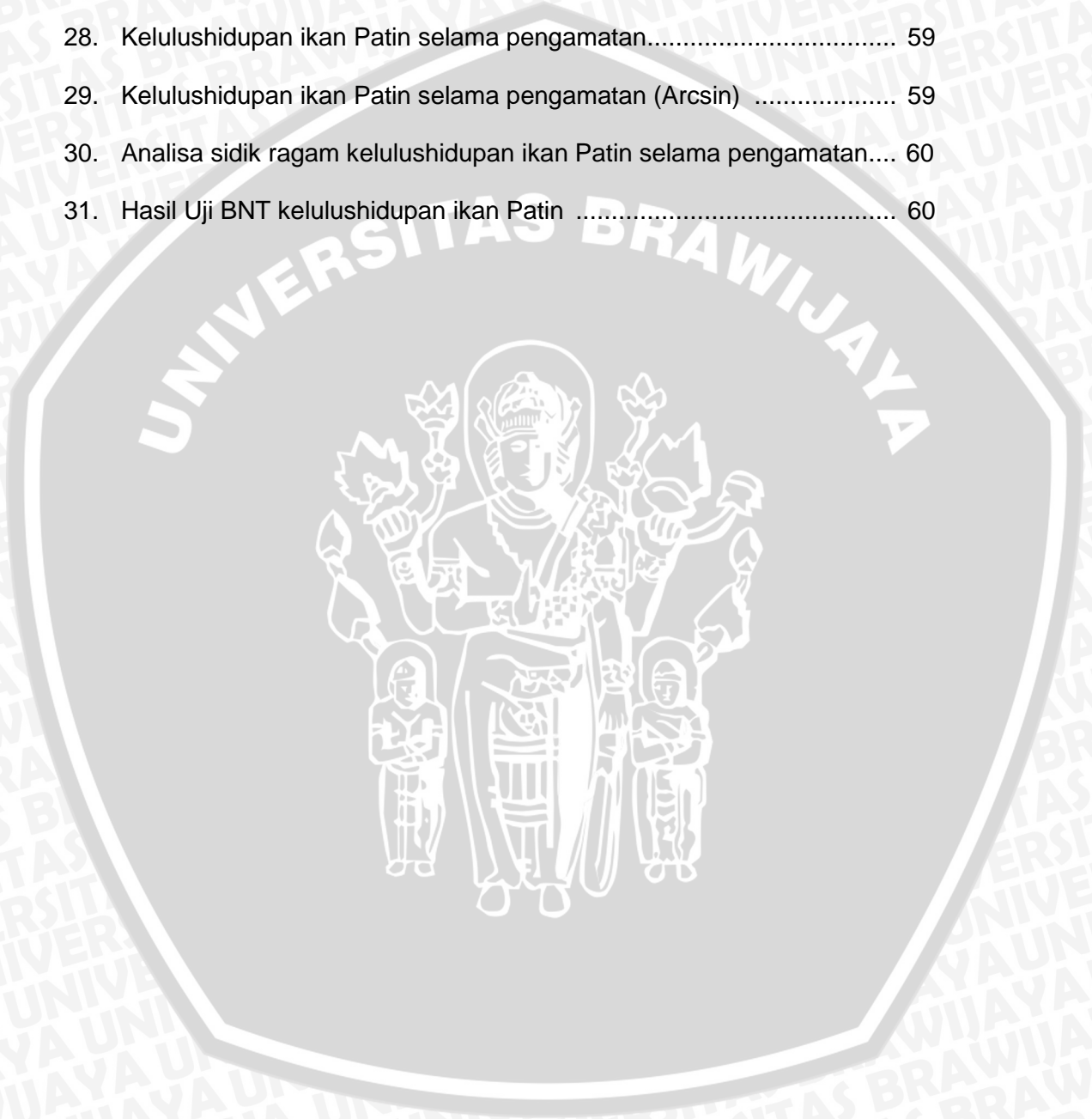
27. Hasil pengukuran kualitas air selama pengamatan ..... 58

28. Kelulushidupan ikan Patin selama pengamatan..... 59

29. Kelulushidupan ikan Patin selama pengamatan (Arcsin) ..... 59

30. Analisa sidik ragam kelulushidupan ikan Patin selama pengamatan.... 60

31. Hasil Uji BNT kelulushidupan ikan Patin ..... 60



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-alat Penelitian .....	68
2. Bahan-bahan Penelitian .....	71
3. Data Eritrosit Ikan Patin .....	73
4. Analisa Sidik Ragam Eritrosit .....	75
5. Data Leukosit Ikan Patin .....	79
6. Analisa Sidik Ragam Leukosit .....	81
7. Data Hematokrit Ikan Patin .....	85
8. Analisa Sidik Ragam Hematokrit .....	86
9. Data Hemoglobin Ikan Patin .....	90
10. Analisa Sidik Ragam Hemoglobin .....	91
11. Data Kualitas Air .....	95
12. Data Kematian Ikan Selama Pengamatan .....	99





## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Usaha budidaya ikan terus mengalami perkembangan seiring meningkatnya hasil produksi ikan disertai naiknya tingkat konsumsi ikan di masyarakat. Adanya peningkatan produksi dari budidaya ikan air tawar disebabkan oleh semakin banyaknya usaha budidaya ikan air tawar (Andayani, Marsoedi, Sanoesi, Wilujeng, dan Suprastiani, 2014). Ikan air tawar merupakan ikan yang mayoritas dikonsumsi oleh masyarakat.

Menurut Lukistyowati (2012), ikan air tawar yang banyak dibudidayakan dan mempunyai nilai ekonomis tinggi adalah jenis *catfish* salah satunya ikan Patin. Jenis ikan ini sangat rentan terhadap penyakit *Edwardsiellosis* yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda*. Infeksi *E. tarda* dapat menyebabkan penurunan produktifitas pada ikan *catfish* dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya ikan jenis ini.

Permasalahan penyakit yang disebabkan bakteri patogen dapat diatasi dengan pemberian antibiotik sebagai upaya kemoterapi untuk menghilangkan penyakit. Peningkatan penggunaan antibiotik dapat diikuti oleh bertambahnya penyakit patogenik, karena meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia (antibiotik). Penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol pada perikanan menawarkan alternatif pemecahan untuk menanggulangi permasalahan tersebut bertujuan untuk menekan atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanpa menimbulkan dampak buruk pada sistem keseimbangan ekologis bakteri (Yulvizar, Dewiyanti dan Defira, 2014).

Salah satu metode pencegahan dan pengobatan penyakit ikan adalah pengendalian secara biologis yaitu penggunaan mikroba *L. plantarum*. Penggunaan bakteri dengan tujuan menghambat perkembangan

penyakit adalah salah satu pilihan yang baik. *L. plantarum* ini merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat yang sudah dikenal yang bersifat ramah lingkungan karena tidak patogenik dan bermanfaat bagi organisme lain. Oleh karena itu perlu adanya penelitian tentang manfaat bakteri ini terhadap serangan bakteri patogen (Atira, 2011).

Menurut Sulistijowati dan Mile (2015) kelompok bakteri asam laktat mampu sebagai bakteri antagonis, salah satu contoh dari Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah *L. plantarum*. Kemampuan tersebut disebabkan BAL menghasilkan metabolit selama pertumbuhannya antara lain asam laktat dan bakteriosin. Menurut hasil penelitian Lee, Cheng, Damte, Lee, Kim, Rhee, Suh dan Park (2013), *Lactobacillus* sp. sangat berpotensi sebagai antibiotik untuk melawan bakteri patogen yaitu *E. tarda*. Sartini, Habibie, Fatiah, Astuti dan Hasmita (2011) menyatakan bahwa penelitian-penelitian mengenai efek bakteri asam laktat dalam darah mampu meningkatkan sistem imun ikan yang ditunjukkan dari peningkatan leukosit sehingga akan membantu melawan penyakit.

Penggunaan bakteri *L. plantarum* diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. tarda* dari parameter hematologi ikan, sehingga akan menjadi salah satu solusi dalam mengatasi permasalahan kesehatan dari ikan yang budidaya, khususnya ikan Patin Jambal (*P. djambal*). Parameter hematologi yang diamati dalam penelitian ini antara lain leukosit, eritrosit, hemoglobin dan hematokrit.

## 1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini harus sesuai dengan cakupan judul "Pengaruh Pemberian Bakteri *L. plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*P. djambal*) yang Diinfeksi Bakteri *E. tarda*". Rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:



- Apakah pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*?
- Berapakah dosis terbaik pemberian bakteri *L. plantarum* terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*?

### 1.3. Tujuan

Tujuan pada penelitian ini harus mampu menjawab rumusan masalah yang ada. Tujuan penelitian ini adalah:

- Untuk mengetahui pengaruh pemberian bakteri *L. plantarum* terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.
- Untuk mengetahui dosis terbaik pemberian bakteri *L. plantarum* terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*

### 1.4. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah pendugaan hasil yang dapat terjadi.

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0 : Pemberian dengan dosis berbeda bakteri *L. plantarum* tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

H1 : Pemberian dengan dosis berbeda bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

### 1.5. Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui manfaat pemberian bakteri *L. plantarum* terhadap hematologi ikan Patin jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda* sebagai upaya pencegahan terjadinya serangan penyakit pada ikan.

### 1.6. Jadwal Pelaksanaan

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 28 November 2016 s/d 28 Januari 2017.





## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Ikan Patin Jambal (*P. djambal*)

#### 2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Khairuman (2007), klasifikasi dari ikan Patin jambal adalah sebagai berikut:

Ordo	: Ostariophysi
Famili	: Pangasidae
Genus	: Pangasius
Spesies	: <i>P. djambal</i> , Bleker 1846
Nama inggris	: <i>Catfish</i>
Nama lokal	: Patin jambal

Menurut Khairuman (2007), bentuk kepala dari ikan Patin jambal melebar kearah punggung. Mata terletak pada sisi kepala. Mulut subterminal, relatif kecil dan melebar kesamping. Kemudian sungut mencapai belakang mata. Warna punggung abu-abu kehitaman, pucat pada bagian perut dan sirip transparan. Jarak sirip punggung ke ujung moncong relatif panjang. Ikan Patin lebih suka berenang di dasar perairan daripada di permukaan atau dikolom perairan. Gambar ikan Patin jambal dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Ikan Patin jambal (Khairuman, 2007).

### 2.1.2. Habitat dan Penyebaran

Menurut Mahyuddin (2010), ikan Patin (*Pangasius* sp.) banyak dijumpai pada habitat atau lingkungan hidup berupa perairan air tawar, yakni di waduk, sungai-sungai, dan muara-muara sungai. Patin lebih banyak menetap di dasar perairan daripada di permukaan. Patin tersebar di perairan pulau Sumatera, Kalimantan dan Jawa. Oleh karena itu, bisa dibilang ikan Patin sudah hampir mencakup wilayah di tanah air. Daerah-daerah di Indonesia yang berpotensi menjadi daerah komoditas ikan Patin antara lain Sumatera Selatan, Lampung, Jambi, Riau, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Kalimantan Timur dan Jawa Barat.

Menurut Khairuman (2007), di alam, penyebaran geografis Patin jambal cukup luas, yakni hampir di seluruh wilayah Indonesia. Selain itu, secara alami ikan ini banyak ditemukan di sungai-sungai besar di Sumatera salah satunya Musi. Sungai-sungai besar lainnya di Jawa seperti Brantas dan Bengawan Solo. Bahkan juga ditemukan di sungai-sungai Kalimantan seperti Kapuas. Secara alami, Patin jambal hidup di sungai-sungai besar dan berair tenang. Umumnya, ikan ini ditemukan di lokasi-lokasi tertentu di bagian sungai seperti lembah sungai yang dalam dan tersembunyi.

Menurut Mahyuddin (2010), ikan Patin dapat digolongkan menjadi ikan pemakan segala (omnivora). Namun demikian, pakan buatan (pelet) merupakan makanan yang terbaik dan mutlak diberikan bagi ikan Patin yang dibudidayakan secara intensif. Sebagai ikan nokturnal, ikan ini banyak melakukan aktifitas dan mencari makan pada malam hari dan lebih menyukai tempat gelap, agak dalam dan teduh. Namun pada ikan Patin yang dibudidayakan di kolam pemeliharaan secara intensif, Patin dibiasakan makan pada pagi atau siang hari, kendati nafsu makannya tetap tinggi jika pakan diberikan pada malam hari. Kualitas air yang dianjurkan untuk budidaya ikan Patin dapat dilihat pada Tabel 1.



**Tabel 1.** Kualitas air yang dianjurkan untuk budidaya ikan Patin.

Parameter	Kandungan yang dianjurkan
Suhu	25-31°C
Derajat Keasaman	6,5-8,5
Oksigen Terlarut	>3 mg/l
Kecerahan	30-45 cm

Sumber: Mahyuddin (2010)

### 2.1.3. Penyakit Pada Ikan Patin Jambal (*P. djambal*)

Menurut Khairuman dan Sudenda (2009), penyakit merupakan salah satu faktor penyebab kegagalan usaha budidaya ikan Patin. Penggunaan padat tebar yang tinggi akan menyebabkan air sebagai media hidup ikan akan menjadi kotor khususnya akibat metabolisme. Keadaan seperti itu yang akan membuka peluang bagi tumbuh dan berkembangnya penyakit ikan. Penyakit dapat dibedakan menjadi infeksi dan non infeksi. Untuk non infeksi dapat terjadi akibat kekurangan gizi akibat pemberian pakan tambahan yang kurang bermutu. Sedangkan penyakit infeksi dapat diakibatkan salah satunya oleh bakteri seperti *E. tarda*.

Menurut Lukistyowati (2012), ikan Patin sangat rentan terhadap penyakit *Edwardsiellosis* yang disebabkan oleh bakteri *E. tarda*. Infeksi *E. tarda* dapat menyebabkan penurunan produktifitas pada ikan Patin dan dapat menyebabkan kerugian bagi pembudidaya ikan jenis ini. Menurut Firma, Amalia, Sari, Chusbul dan Siregar (2012), *E. tarda* adalah bakteri penyebab *Edwardsiellosis* pada ikan, bersifat gram negatif, bergerak dengan flagelata dan tidak membentuk spora atau kapsul.

## 2.2. Bakteri *E. tarda*

### 2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Kholifah (2014) kasifikasi dari bakteri *E. tarda* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Edwardsiella
Spesies	: <i>E. tarda</i>

Bakteri *E. tarda* merupakan bakteri *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri gram negatif, bentuk tubuhnya yang pendek, berbentuk batang poleomorfik, dan berukuran sekitar 0.75 x 1,5–2,5  $\mu\text{M}$ . Bakteri ini bergerak menggunakan flagel yang terdapat pada tubuhnya dan bertahan hidup pada suhu 25–30  $^{\circ}\text{C}$ , dan tidak dapat bertahan pada suhu yang lebih tinggi (Woo dan Bruno, 2006). Gambar bakteri *E. tarda* dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** *E. tarda* (Kholifah, 2014)

### 2.2.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Menurut Hartati (2015), kurva pertumbuhan bakteri terbagi atas 4 fase antara lain fase lag, fase log, fase tetap dan fase penurunan. Keterangan pada setiap fase akan di jelaskan sebagai berikut:

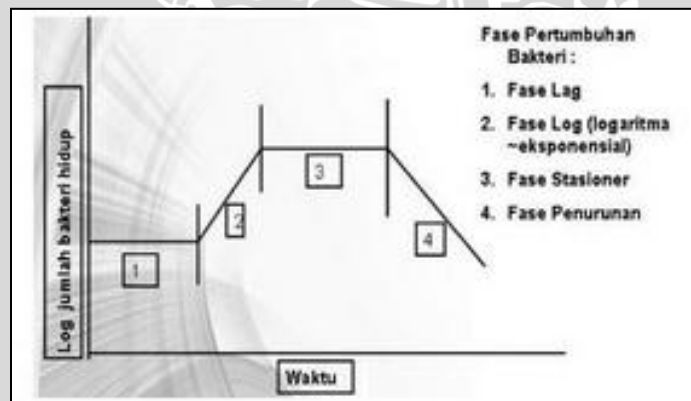
- Fase lag = *the lag pahse* = fase permulaan, dimana kecepatan pertumbuhan



nol atau  $> 0$  (tidak maksimum), disebut juga fase adaptasi.

- Fase logaritma (log) = *the log phase* = fase eksponensial, dimana kecepatan pertumbuhan mencapai maksimum. Masa dan jumlah sel bertambah secara eksponensial.
- Fase tetap = *the stationary phase* = fase statis, dimana kecepatan pertumbuhan mulai menurun.
- Fase penurunan = *death phase*, dimana jumlah kematian lebih tinggi dari pertumbuhan.

Menurut Buller (2014), bakteri *E. tarda* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki sifat anaerobik fakultatif, sehingga perkembangannya dapat terjadi tanpa adanya oksigen atau minim oksigen. *E. tarda* dapat tumbuh dan berkembang pada media selektif seperti agar MacConkey. Pertumbuhan dapat terjadi pada kandungan NaCl 0- 4%. Parameter lain yaitu dengan pH sebesar 4,5-9,5 dan pada suhu 15-42°C. Gambar fase pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 3



**Gambar 3.** Kurva pertumbuhan bakteri (Hartati, 2015)

### 2.2.3. Infeksi Bakteri

Serangan *E. tarda* pada ikan dalam tahap infeksi ringan hanya menampilkan luka-luka kecil, sebagai perkembangan penyakit lebih lanjut, luka bernanah berkembang dalam otot rusuk dan lambung, selanjutnya kasus akut, luka bernanah secara cepat bertambah dengan berbagai ukuran, kemudian luka-



luka terisi gas dan terlihat bentuk cembung menyebar keseluruh tubuh. Warna tubuh hilang dan luka-luka merata diseluruh tubuh. Jika luka digores, maka tercium bau busuk ( $H_2S$ ). Pada ikan *catfish* tampak pendarahan pada organ viseral (Andriyanto, Haririah, Yulianti, Purnomo, Astuti, Nurlaila, Samudro dan Priosoeryanto, 2009). Gejala klinis infeksi *E. tarda* dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Gejala klinis infeksi *E. tarda*

Jenis pengamatan	Gejala klinis yang timbul	
	Ikan terinfeksi <i>E. tarda</i>	Ikan kontrol
Tingkah laku	Gerakan lemah, menggantung, nafsu makan menurun	Normal
Tubuh/kulit	Warna tubuh pucat, terdapat luka pada tubuh	Normal
Sirip	Sirip ekor pecah-pecah, warna sirip ekor tampak lebih merah dan sebagian terjadi pendarahan	Normal

Sumber: Supriadi, Santoso dan Adji (2014)

Melalui hasil pengamatan pada penelitian Wahjuningrum, Ikhsan, Sukenda dan Evan, (2014), dapat diketahui pula gejala klinis yang muncul akibat infeksi bakteri *E. tarda* diawali dengan depigmentasi kulit atau perubahan warna kulit akibat nekrosis atau kematian sel dan jaringan, dilanjutkan dengan pendarahan dan luka hingga menyebabkan tukak. Gejala klinis yang muncul pada ikan uji berupa nekrosis dan ditandai dengan depigmentasi kulit, hemoragi dan luka bahkan tukak, sedangkan pada organ dalam terlihat adanya gas pada bagian saluran pencernaan yang menyebabkan perut ikan akan terlihat kembung (*dropsy*).

## 2.3. Bakteri *L. plantarum*

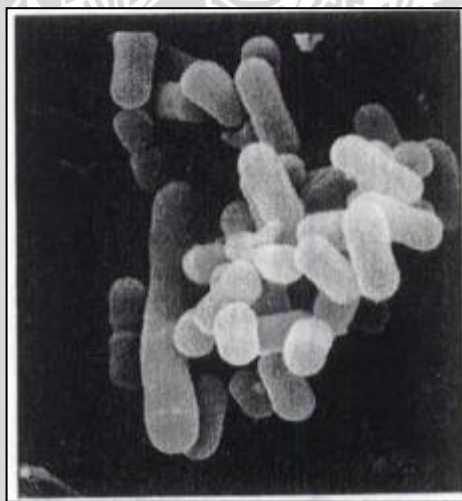
### 2.3.1. Morfologi dan Klasifikasi

Menurut Yulinery dan Nurhidayat (2012), *L. plantarum* cenderung berbentuk batang pendek dalam kondisi pertumbuhan yang sesuai dan

cenderung lebih panjang di bawah kondisi yang tidak menguntungkan, mempunyai kemampuan menghasilkan bakteriosin, merupakan senyawa polipeptida atau protein yang bersifat bakterisidal. Bakteri ini memiliki sifat katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, cepat mencerna protein dan toleran terhadap asam. Gambar bakteri *L. plantarum* dapat dilihat pada Gambar 4.

Menurut Garrity, Bell dan Lilburn (2004), klasifikasi bakteri *L. plantarum* adalah sebagai berikut:

Kelas : Mollicutes  
Ordo : Lactobacillales  
Famili : Lactobacillaceae  
Genus : Lactobacillus  
Spesies : *L. plantarum*



Gambar 4. *L. plantarum* (Hui dan Kachatourians, 1995)

### 2.3.2. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

*L. plantarum* tumbuh di bawah kondisi asam (pH 4-5). Triana, Yulianto dan Nurhidayat (2006), menyatakan bahwa pertumbuhan *L. plantarum* yang cepat adalah bila mampu tumbuh minimal mencapai  $10^8$  dalam waktu 24 jam inkubasi. Pada hasil penelitian yang didapatkan Aqil, Risdianto dan Hartati (2015) menunjukkan pH optimal untuk pertumbuhan *L. plantarum* adalah 6.



Hanya pada keadaan optimum, *L. plantarum* dapat melakukan aktivitasnya dengan sangat baik. Keadaan yang mempengaruhi kinerja agen biologis ini terutama adalah pH optimum lingkungan dimana perkembangbiakan *L. plantarum* maksimal sehingga aktivitas fermentasi oleh bakteri ini dapat menghasilkan produk yang sempurna (Kusuma, 2010). Ciri-ciri dari bakteri ini berada pada kondisi lingkungan yang menguntungkan adalah berbentuk batang pendek.

### 2.3.3. Kandungan dan Manfaat

Asam laktat dari bakteri strain *L. plantarum* efektif untuk menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, perlakuan dengan bakteri asam laktat dilakukan dengan cara menginokulasi karkas yang belum dikemas dengan strain *L. plantarum*. Jika inokulasi bakteri dilakukan dengan baik, pertumbuhan bakteri akan dapat dihambat (Murtidjo, 2003).

*L. plantarum* merupakan bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai hasil penguraian gula dan karbohidrat lain yang bekerja sama dengan bakteri fotosintesis dan ragi. Asam laktat ini merupakan bahan sterilisasi yang kuat yang dapat menekan mikroorganisme berbahaya dan dapat menguraikan bahan organik dengan cepat (Setiawan, 2010). Selain itu *L. plantarum* mampu memproduksi bakteriosin dan mampu menghambat aktivitas beberapa bakteri patogen. Bakteriosin yang diproduksi dari *L. plantarum* dihasilkan pada suhu 20-30°C.

Beberapa substansi antimikrobia yang dihasilkan bakteri probiotik, diantaranya adalah *L. plantarum* yang menghasilkan lactolin. Mekanisme penghambatan terjadi karena asam laktat dalam bentuk tidak terdisosiasi dapat menembus membran sel. Selain itu, asam laktat yang dihasilkan dalam fermentasi juga mampu menurunkan pH dan keadaan ini akan mengganggu aktivitas enzim sehingga sel tidak dapat melakukan metabolisme.

Hasil penelitian Lee *et al.*, (2013), menunjukkan bahwa kemampuan *Lactobacillus* sp. baik dalam meningkatkan imunitas ikan yang diserang *E. tarda*. Pada parameter imunologi dari ikan uji menunjukkan bahwa protein plasma, immunoglobulin M, mieloperoxidase, SOD dan CAT secara signifikan lebih tinggi ( $P < 0,05$ ) pada ikan dengan penambahan *Lactobacillus* sp. dibandingkan dengan kontrol selama masa percobaan. Penilaian beberapa parameter selular, humoral dan hematologi dan enzim antioksidan setelah injeksi *E. tarda* pada ikan uji yang diberikan bakteri asam laktat dalam hal ini adalah *Lactobacillus* sp. menunjukkan peningkatan respon imun.

## **2.4. Hematologi**

### **2.4.1. Pengertian Hematologi**

Hematologi adalah cabang ilmu pengetahuan yang mempelajari darah, organ pembentuk darah dan penyakitnya. Khususnya jumlah dan morfologi sel-sel darah, serta sumsum tulang. Darah adalah jaringan khusus yang berbeda dengan organ lain, karena berbentuk cairan. Jumlah darah dalam tubuh adalah 6-8% berat tubuh total. Empat puluh lima sampai 60% darah terdiri dari sel-sel, terutama eritrosit, leukosit dan trombosit (Arifin, Nofiza dan Elisma, 2012). Hematologi mempelajari tentang seluk beluk darah dan penyusunnya. Selain itu pembentuk darah juga dibahas saat mempelajari hematologi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Health (1995), dimana hematologi didefinisikan sebagai studi tentang darah dan jaringan yang membentuk darah. Darah terdiri dari plasma darah yang dalam bentuk cairan serta sel-sel darah dengan masing-masing fungsinya.

Menurut Parker (1995), hematologi adalah spesialisasi ilmu yang berhubungan dengan darah. Hematologi membahas hal-hal seperti sel-sel darah merah sebagai pengangkut oksigen, sel-sel darah putih untuk memerangi



kuman, trombosit sebagai penggumpalan darah saat terjadi luka dan banyak sekali unsur-unsur lainnya. Ada banyak pemeriksaan mikroskopik dan tes kimiawi terhadap darah, tergantung pada penyakit yang dicurigai. Hemoglobin sendiri terdapat pada sel darah merah yang menyebabkan sel darah merah berwarna merah dan membantu mengangkut oksigen.

#### 2.4.2. Sel Darah Merah (Eritrosit)

Ikan memiliki sel darah merah atau eritrosit yang berbentuk lonjong dan berinti dengan diameter 7-36 mikron (tergantung spesies ikannya). Warna merah dari darah disebabkan oleh hemoglobin yang terdapat dalam eritrosit. Jumlah eritrosit tiap mm<sup>3</sup> darah berkisar 20.000-3.000.000 (Burhanuddin, 2014).

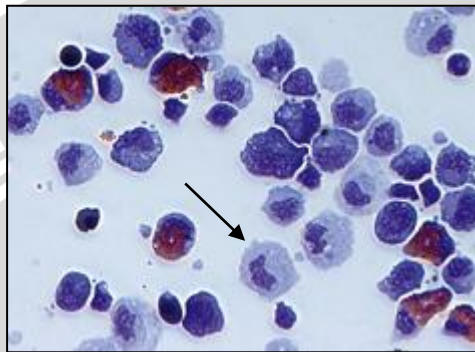
Rendahnya jumlah sel darah merah (eritrosit) menandakan ikan dalam keadaan stres. Apabila jumlah eritrosit berkurang maka keadaan tersebut ada indikasi masuknya benda asing ke dalam tubuh. menyatakan bahwa eritrosit ikan mempunyai inti dengan sel lonjong, berwarna merah kekuningan dan berukuran 12 – 13 µm dengan diameter 4 – 5 µm (Maftuch, Nursyam dan Sukarni, 2012). Menurut penelitian Sihono (2014), jumlah eritrosit pada ikan Patin sebelum diberikan perlakuan (normal) adalah  $1,59 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>.

#### 2.4.3. Sel Darah Putih (Leukosit)

Menurut Satyantini, Sukenda, Harris dan Utomo (2014), leukosit merupakan salah satu sel darah yang mempunyai peranan penting dalam sistem imun ikan. Pada penelitiannya, total leukosit pada ikan yang bertambah mengindikasikan adanya peningkatan sistem imun ikan, sehingga dapat terindikasi sedang terserang oleh zat asing.

Menurut Burhanuddin (2014), leukosit terdiri atas dua kelompok sel yang mengandung butir-butir (granula) yang disebut *granulocyte* dan yang mengandung sedikit sekali bahkan tidak mengandung butir-butir disebut *agranulocyte*. Yang mengandung granula terdiri atas *neutrophil*, *eosinophil* dan

*basophil* sedang yang tidak mengandung granula terdiri atas *lymphocyte* dan *monocyte*. Leukosit pada ikan tidak berwarna, berjumlah antara 20.000-150.000 dalam tiap  $\text{mm}^3$  darah. Leukosit dapat dibedakan menjadi tiga macam sel yaitu *granulocyte*, *lymphocyte*, dan *monocyte*. Menurut penelitian Lukistryowati (2012), ikan Patin memiliki jumlah leukosit 31.000 sel/ml. Gambar leukosit ikan ditunjukkan pada gambar 5.



**Gambar 5.** Leukosit yang ditunjukkan tanda panah (Houghland, Ronneseth dan Wergeland, 2014)

#### 2.4.4. Hematokrit

Salah satu faktor yang mengatur aliran oksigen adalah hematokrit. Hematokrit sendiri adalah persentase volume darah lengkap yang terdiri dari eritrosit (Sabiston, 1992). Hematokrit merupakan suatu hasil pengukuran yang menyatakan perbandingan sel darah merah terhadap volum darah. Hematokrit memiliki satuan menggunakan persen, contoh 42% (memiliki arti bahwa terdapat 42 ml sel darah merah di dalam 100 ml darah).

Menurut Rachmawati, Susilo dan Sistina (2010), karakteristik darah dapat digunakan untuk mengevaluasi respon fisiologi pada ikan. Respon stres pada hewan dapat dilihat dari perubahan kadar hormon kortisol, glukosa darah, Hemoglobin, dan hematokrit. Dalam kondisi stres terjadi penurunan jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin, sedangkan jumlah leukosit cenderung meningkat. Menurut penelitian Lukistryowati (2012), hematokrit ikan patin normal memiliki nilai 26 %.



#### 2.4.5. Hemoglobin

Menurut Gibson (1981), hemoglobin dapat dipecah menjadi *heme* dan *porfirin*. *Heme* yang mengandung besi dimana sebagian besar besi ditahan di dalam tubuh dan digunakan dalam pembuatan sel eritrosit baru. Selanjutnya adalah *porfirin* yang dapat dipecah menjadi bilirubin dimana mampu bersirkulasi di dalam plasma dan dibuang oleh sel-sel hati ketika darah bersirkulasi melalui organ tersebut.

Menurut Sumardjo (2006), hemoglobin adalah salah satu senyawa kimia (protein) dalam darah. Salah satu fungsi terpenting hemoglobin adalah mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Hemoglobin dapat mengikat oksigen menjadi oksihemoglobin ( $\text{HbO}_3$ ), ikatan hemoglobin terhadap CO lebih besar daripada ikatan Hb terhadap  $\text{O}_2$  sehingga Hb lebih suka mengikat CO daripada  $\text{O}_2$ . Menurut penelitian Putra (2015), ikan patin normal tanpa perlakuan memiliki hemoglobin sebesar 6,08 gr%.

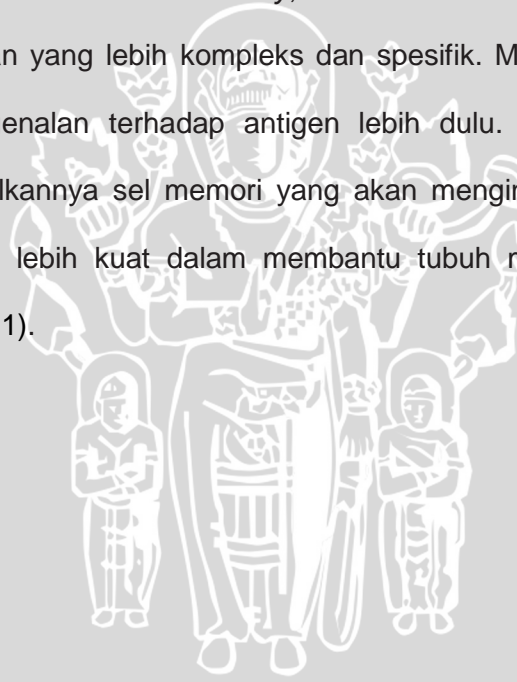
#### 2.5. Sistem Kekebalan Tubuh

Sistem imun mempunyai sedikitnya 3 fungsi utama. Pertama adalah suatu fungsi yang sangat spesifik yaitu kesanggupan untuk mengenal dan membedakan molekul target sasaran dan mempunyai respons yang spesifik. Fungsi kedua adalah membedakan antara antigen diri dan antigen asing. Fungsi ketiga adalah fungsi memori melalui kontak sebelumnya dengan zat asing patogen untuk bereaksi lebih cepat dan lebih kuat daripada kontak pertama (Munasir, 2001).

Pada umumnya ikan sehat susah terserang penyakit karena memiliki pertahanan tubuh yang kuat. Sistem pertahanan tubuh ini berkaitan erat dengan system imun dari ikan itu sendiri. Sistem pada tubuh ikan dapat berubah, tergantung dari efektivitas sel darah putih untuk memakan bakteri dan

menurunnya produksi antibodi (protein khas yang diumpai dalam darah yang berperan membantu sel darah putih untuk menetralkan atau membunuh bakteri) (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Sistem imun sendiri mampu dibedakan menjadi sistem imun spesifik dan non spesifik. Pada sistem imun nonspesifik merupakan mekanisme pertahanan yang mencegah masuknya dan menyebarnya mikroorganisme dalam tubuh serta mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Dapat dikatakan, sistem pertahanan non spesifik merupakan pertahanan pertama pada ikan. Selanjutnya sistem pertahanan spesifik akan diaktifkan bila mikroorganisme dapat melewati pertahanan non spesifik/*innate immunity*, maka tubuh akan membentuk mekanisme pertahanan yang lebih kompleks dan spesifik. Mekanisme imunitas ini memerlukan pengenalan terhadap antigen lebih dulu. Produk dari imun spesifik adalah dihasilkannya sel memori yang akan mengingat patogen yang datang untuk mampu lebih kuat dalam membantu tubuh mengatasi patogen tersebut (Munasir, 2001).





### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi Penelitian

##### 3.1.1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

Peralatan yang digunakan selama penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*” adalah sebagai berikut:

- Serok (jaring) Ikan
- Timbangan Digital
- Aerator set
- *Haemocytometer*
- pH meter
- Selang Air
- Pipet tetes
- Pipet thoma leukosit
- Pipet thoma eritrosit
- *Tube*
- *Crushable tank*
- *Autoclave*
- Lemari Pendingin
- *Hot plate*
- Mikropipet
- Jarum osse
- Gelas ukur
- Cawan petri
- Bunsen
- Cuvet
- Mikroskop cahaya
- *Handtally counter*
- Nampan
- Erlenmeyer
- *Thermometer*
- DO meter
- *Sentrifuge* darah
- Tabung dan rak tabung reaksi
- *Washing bottle*
- Hb Sahli set
- Inkubator
- *Laminar Air Flow*
- *Sprayer*
- Lap basah
- Spatula
- Gunting
- *Vortex*
- Cover glass



- Beaker glass
- Kain penyaring
- Spektrofotometer
- Toples kapasitas 16 liter (r atas=14cm; r bawah=12cm; t=30cm)

### 3.1.2. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat pada Lampiran 2. Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*” adalah sebagai berikut:

- Ikan Patin jambal (*P. djambal*)
- Tali Kasur
- Sampel Darah Ikan Patin jambal (*P. djambal*)
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tisu
- Media TSB
- Plastik pembungkus
- Kertas bekas
- Media PCA
- Bakteri *E. tarda*
- Anti Koagulan (Na-sitrat 3.8%)
- Bakteri *L. plantarum*
- Lilin / malam
- Kertas Label
- Larutan Hayem
- Akuades
- HCl 0.1 N
- Media TSA
- Spirtus
- Larutan Giemsa
- Pipet hematokrit

### 3.2. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih. Menurut Marzuki (1986), dengan metode eksperimen maka peneliti dapat mengatur atau memberikan perlakuan



tertentu pada suatu variabel.

Teknik yang digunakan dalam penelitian ini adalah observasi terhadap obyek penelitian. Marzuki (1986) menyatakan bahwa dengan metode ini orang melakukan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap gejala/fenomena yang diselidiki. Memperoleh informasi dengan cara observasi dapat menggunakan bantuan suatu alat.

### 3.3. Rancangan Penelitian

Pada rancangan penelitian eksperimen peneliti bebas melakukan perlakuan atau modifikasi terhadap suatu hal X untuk menghasilkan hal Y. Oleh karena itu hal X disebut variabel bebas, sedangkan hal Y disebut variabel terkait karena keberadaannya terikat oleh adanya variabel bebas tersebut (Praptomo, 2016). Rancangan penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan. Menurut Pratisto (2004), rancangan acak lengkap merupakan rancangan percobaan sederhana diantara rancangan percobaan standar lainnya. Rancangan ini memiliki sifat yang fleksibel terhadap jumlah penggunaan, perlakuan serta ulangan. Penghitungan RAL dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

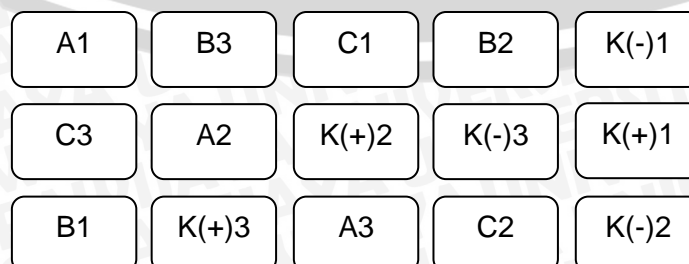
$$Y = \mu + T + \epsilon$$

Keterangan:  $\mu$  = nilai rerata harapan (*mean*),  $\tau$  = pengaruh faktor perlakuan, dan  $\epsilon$  = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian bakteri *L. plantarum* dengan mempertimbangkan kepadatan yang diberikan. Berdasarkan penelitian Yulinery dan Hidayat (2012)

yang menyatakan bahwa *L. plantarum* mampu bertindak sebagai probiotik dengan kepadatan lebih dari  $10^7$  CFU/ml. Pada penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol negatif dan kontrol positif. Kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan pemberian bakteri *E. tarda* dan tanpa bakteri *L. plantarum*. Kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *E. tarda* dan tanpa pemberian bakteri *L. plantarum*. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sedangkan kontrol negatif dan positif hanya sebagai pembanding. Total sampel diperoleh dari perlakuan sebanyak lima belas sampel. Denah penelitian yang telah dilakukan disajikan pada Gambar 6. Adapun perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini akan dijelaskan sebagai berikut:

- A : Perlakuan pencegahan infeksi bakteri *E. tarda* dengan pemberian bakteri *L. plantarum*  $10^3$  CFU/ml.
- B : Perlakuan pencegahan infeksi bakteri *E. tarda* dengan pemberian bakteri *L. plantarum*  $10^8$  CFU/ml
- C : Perlakuan pencegahan infeksi bakteri *E. tarda* dengan pemberian bakteri *L. plantarum*  $10^{13}$  CFU/ml
- K (+) : Perlakuan sampel dengan pemberian bakteri *E. tarda* dan tanpa pemberian bakteri *L. plantarum*
- K (-) : Perlakuan sampel tanpa pemberian bakteri *E. tarda* serta tanpa pemberian bakteri *L. plantarum*



**Gambar 6.** Denah penelitian yang telah dilakukan



Keterangan:

A, B, C : Perlakuan

1, 2, 3 : Ulangan

K (+) : Kontrol positif

K (-) : Kontrol negatif

### 3.4. Prosedur Penelitian

#### 3.4.1. Persiapan Penelitian

##### a. Sterilisasi Alat dan Bahan

###### 1) Alat-alat yang tahan panas

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

###### 2) Alat dan Bahan yang Tidak Tahan Panas

- Alat-alat dicuci dengan bersih lalu dibilas kemudian dikeringkan hingga

benar-benar kering.

- Gunakan ember yang sudah berisi kaporit 20 ppm untuk perendaman alat dan bahan selama 1x24 jam.
- Setelah 24 jam alat dan bahan diambil dan dibilas dengan air bersih.
- Selanjutnya disemprot menggunakan alkohol 70%
- kemudian dibersihkan dengan menggunakan tisu.
- Simpan peralatan dalam wadah tertutup.

### 3) Toples dan Peralatan Besar Lainnya

- Dicuci dengan bersih lalu diisi dengan air bersih.
- Ditambahkan larutan klorin sebanyak 20 ppm/liter air dan di aerasi selama 1 x 24 jam.
- Dibilas dengan Na-thiosulfat 50% dari total klorin yang digunakan.
- Diaerasi selama 1 x 24 jam.

#### **b. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Selain alat dan bahan, tempat dan peneliti harus steril guna menghindari kontaminan. Tangan peneliti yang bersinggungan, meja dan barang disekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat dapat dilakukan dengan cara kimia menggunakan alkohol maupun dengan penyinaran dengan sinar UV. Penyemprotan alkohol dengan sprayer dilakukan pada tangan, meja dan barang sekitar tempat perlakuan pada setiap kegiatan. Hal tersebut untuk menghindari terjadinya kontaminan. Selanjutnya digunakan sarung tangan dan masker untuk menghindari kontaminan dari manusia.

#### **c. Pembuatan Media Bakteri**

##### 1) Media Padat TSA (*Tryptic Soya Agar*)

- TSA dengan dosis 37 gram/liter.
- Timbang TSA lalu dilarutkan ke dalam akuades pada erlenmeyer dengan jumlah yang diinginkan.



- Media dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen.
- Erlemenyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu ditali dengan benang kasur.
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.
- Media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label.

## 2) Media Cair TSB (*Tryptitone Sot Broth*)

- TSB dengan dosis 30 gram/liter.
- Timbang TSB lalu dilarutkan ke dalam akuades pada erlemenyer dengan jumlah yang diinginkan.
- Erlemenyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning menggunakan spatula.
- Media dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen.
- Erlemenyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang.
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

## d. Pembiakan Bakteri

### 1) Pembiakan Bakteri pada Media Padat TSA (*Tryptic Soya Agar*)

- Disiapkan cawan petri yang berisi media TSA.
- Disiapkan biakan murni bakteri.
- Jarum osse dipanaskan di api bunsen sampai berpijar.
- Diletakkan jarum osse pada media yang tidak terdapat bakteri lalu ambil

bakteri pada permukaan media.

- Digoreskan ke dalam media TSA secara zig zag dengan metode goresan sinambung, T, atau kuadran.
- Media TSA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam.

## 2) Pembiakan Bakteri pada Media Cair TSB (*Tryptitone Sot Broth*)

- Disiapkan wadah yang telah berisi media TSB steril.
- Jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *E. tarda* kemudian dicelupkan pada TSB sebanyak 2 osse.
- Larutan TSB dibiarkan 12 – 24 jam dalam inkubator dengan suhu 30°C.

## e. Perhitungan Kepadatan Bakteri

### 1) Persiapan Awal Perhitungan Optical Density (OD)

- Disiapkan 4 tabung reaksi berisi media TSB sebanyak 6 ml steril.
- Disiapkan 1 tabung reaksi berisi media TSB sebanyak 10 ml yang berisi biakan bakteri sebagai OD<sub>1</sub>.
- Disiapkan kertas label bertuliskan OD<sub>1</sub>, ..., OD<sub>5</sub>.
- Diambil 4 ml dari tabung reaksi berisi media TSB yang berisi biakan bakteri.
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi TSB steril pertama sebagai OD<sub>2</sub>.
- Dihomogenkan dengan *vortex mixer*.
- Diambil 4 ml dari tabung reaksi OD<sub>2</sub>.
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi TSB steril kedua sebagai OD<sub>3</sub>.
- Dihomogenkan menggunakan *vortex mixer*.
- Dilanjutkan hingga tabung reaksi OD<sub>5</sub>.

### 2) Perhitungan Nilai *Optical Density* (OD)

- Ditekan tombol 'On' untuk menyalakan Spektrofotometer.
- Dilakukan kalibrasi menggunakan aquades ke dalam cuvet (3/4 bagian).
- Diatur panjang gelombang sebesar 600 nm dengan tombol ▲▼.



- Diukur absorbansi blanko dengan memasukkan larutan blanko (TSB steril) ke dalam cuvet (volume minimal hingga  $\frac{3}{4}$  bagian).
- Dibersihkan bagian luar cuvet yang transparan menggunakan tissue.
- Dimasukkan cuvet ke dalam cell holder pada sample chamber.
- Ditutup sample chamber.
- Ditekan tombol ABS untuk mengatur blanko pada konsentrasi 0.
- Dibersihkan cuvet dengan aquades dan disiapkan sampel yang akan diukur.
- Diukur satu persatu sampel dengan dimasukkan ke dalam cuvet.
- Dicatat nilai absorbansi-nya.
- Nilai absorbansi dapat menunjukkan jumlah sel bakteri, dengan cara memasukan ke dalam persamaan garis kurva standar  $y = a+bx$ , dimana  $y =$  jumlah sel, dan  $x =$  besarnya nilai absorbansi.

### 3) Pembuatan Na-Fis 0,9%

- Timbang NaCl dengan dosis 0,9 gr / 100 ml aquades dengan wadah erlenmeyer.
- Dipindahkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml dengan pipet *volume*.
- Tabung reaksi ditutup kapas.
- Na-Fis disterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Na-Fis dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

### 4) Pengenceran Bertingkat

- Disiapkan tabung reaksi yang berisi Na-Fis 0,9 steril pada rak tabung reaksi.
- Disiapkan bakteri yang telah dibiakkan pada media TSB.
- Disiapkan kertas label pada tabung reaksi yang bertuliskan  $10^{-1}$ , ...,  $10^{-18}$  sebagai penanda jumlah pengenceran.
- Diambil 1 ml media TSB yang telah berisi biakan bakteri menggunakan

mikropipet.

- Dimasukkan pada tabung reaksi pertama ( $10^{-1}$ ), lalu dihomogenkan dengan *vortex mixer*.
- Diambil 1 ml dari tabung reaksi pertama ( $10^{-1}$ ), lalu dimasukkan pada tabung reaksi selanjutnya dan dihomogenkan.
- Dilanjutkan hingga tabung reaksi terakhir ( $10^{-18}$ ).

#### 5) Pembuatan Media Agar PCA (*Plate Count Agar*)

- PCA dengan dosis 17.5 gram/liter.
- Timbang PCA sebanyak 1.75 gram lalu dilarutkan ke dalam 100 ml akuades pada erlenmeyer.
- Media dipanaskan di atas *hotplate* hingga homogen.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil lalu ditali dengan benang kasur.
- Media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media dibiarkan hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

#### 6) Pemiakan Bakteri Pada Media PCA (*Plate Count Agar*)

- Disiapkan lima buah cawan petri steril beserta media PCA dan hasil pengenceran bertingkat.
- Diambil 1ml dari pengenceran terakhir ( $10^{-18}$ ) lalu tuang pada cawan petri kemudian tuang media PCA setelahnya.
- Dilanjutkan pada pengenceran  $10^{-16}$ ,  $10^{-14}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-10}$ .
- Disimpan dalam inkubasi selama 24 jam dengan suhu  $30^{\circ}\text{C}$ .

#### 7) Perhitungan jumlah bakteri pada media PCA (*Plate Count Agar*)

- Disiapkan cawan petri berisi bakteri yang telah dibiakkan pada media PCA.
- Disiapkan alat *Colony Counter*.



- Disambungkan ke arus listrik.
- Ditekan "ON" untuk menyalakan lalu letakkan cawan petri satu persatu dibagian atas alat yang bercahaya.
- Ditekan "New Count" untuk memunculkan angka "0".
- Ditekan pada bulatan putih (bakteri tumbuh) pada cawan petri menggunakan spidol, sehingga akan langsung terhitung.
- Setelah selesai pada satu cawan petri, ditekan "New Count" untuk mengembalikan nilai menjadi "0".
- Setelah pemakaian, alat dimatikan dan diputus dari arus listrik.

#### f. Pengenceran Bakteri *E. tarda*

Bakteri *E. tarda* diperoleh dari Balai Karantina Ikan Kelas II Tanjung Perak, Surabaya. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan  $10^{10}$  CFU/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan  $10^7$  CFU/ml. Untuk mendapatkan kepadatan  $10^7$  CFU/ml dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus:

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

Keterangan:

$N_1$ : Kepadatan populasi bakteri dalam media (CFU/ml)

$N_2$ : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (CFU/ml)

$V_1$ : Volume suspensi bakteri dalam media yang dibutuhkan (ml)

$V_2$ : Volume yang diinginkan (ml)

Peremajaan bakteri dilakukan dengan penanaman bakteri pada media TSB (*Trypticase Soy Broth*) dan diinkubasi selama 1 hari pada inkubator. Diencerkan menggunakan air media infeksi dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus di atas. Berdasarkan rumus di atas didapatkan perhitungan sebagai berikut:

Kebutuhan bakteri *E. tarda*  $10^7$  CFU/ml pada 1 toples adalah,

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 10^{10} &= 10.000 \times 10^7 \\ V_1 &= \frac{1 \times 10^{11}}{10^{10}} \\ &= 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

**g. Pengenceran Bakteri *L. plantarum***

Bakteri *L. plantarum* diperoleh dari Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan awal  $10^{10}$  CFU/ml. Selanjutnya pengenceran dilakukan untuk kepadatan  $10^3$  CFU/ml,  $10^8$  CFU/ml dan  $10^{13}$  CFU/ml. Berdasarkan penelitian Yulinery dan Nurhidayat (2012) yang menyatakan bahwa *L. plantarum* mampu bertindak sebagai probiotik dengan kepadatan lebih dari  $10^7$  CFU/ml. Pengenceran pada toples menggunakan air media dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:  $N_1$ : Kepadatan populasi bakteri dalam media (CFU/ml)

$N_2$ : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (CFU/ml)

$V_1$ : Volume suspense bakteri dalam media yang dibutuhkan (ml)

$V_2$ : Volume yang diinginkan (ml)

Berdasarkan rumus di atas, untuk mendapatkan kepadatan bakteri yang diinginkan pada tiap toples yang diisi air media sebanyak 10 liter didapatkan perhitungan sebagai berikut:

Kebutuhan bakteri *L. plantarum*  $10^3$  CFU/ml pada 1 toples adalah,

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



$$\begin{aligned}
 V_1 \times 10^7 &= 10.000 \times 10^3 \\
 V_1 &= \frac{1 \times 10^7}{10^7} \\
 &= 1 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Kebutuhan bakteri *L. plantarum*  $10^8$  CFU/ml pada 1 toples adalah,

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 10^{10} &= 10.000 \times 10^8 \\
 V_1 &= \frac{1 \times 10^{12}}{10^{10}} \\
 &= 1 \times 10^2 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Kebutuhan bakteri *L. plantarum*  $10^{13}$  CFU/ml pada 1 toples adalah,

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 10^{16} &= 10.000 \times 10^{13} \\
 V_1 &= \frac{1 \times 10^{17}}{10^{16}} \\
 &= 1 \times 10 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

#### h. Persiapan Alat

- Persiapan alat – alat pendukung (aerator set).
- Pengisian air pada toples sebanyak 10 liter.
- Penataan toples dan alat-alat pendukung sehingga siap digunakan untuk hewan uji.

#### i. Persiapan Hewan Uji

- Ikan Patin sehat sebanyak 150 ekor dengan panjang 10-13 cm (masing – masing toples diisi dengan 10 ekor ikan uji)
- Proses aklimatisasi ikan selama 3 hari pada toples.
- Pemberian pakan berupa pelet 2 kali sehari pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 16.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap

pagi.

- Penentuan bobot pakan yang diberikan berdasarkan FR 5% dari rerata bobot tubuh ikan Patin dalam satu toples.
- Ikan Patin dikontrol kualitas air pada kondisi optimal agar ikan dapat bertahan dan beradaptasi dengan baik.

### 3.4.2. Pelaksanaan Penelitian

#### a. Pemberian Bakteri *L. plantarum*

Pemberian bakteri *L. plantarum* dilakukan dengan cara toples ukuran 10 liter dan ditambahkan bakteri *L. plantarum* sesuai perlakuan yang diinginkan dengan dosis  $10^3$  CFU/ml,  $10^8$  CFU/ml dan  $10^{13}$  CFU/ml. Toples diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Ikan Patin dipelihara selama 1 minggu untuk merangsang peningkatan sistem imun ikan. Untuk ikan kontrol negatif, ikan patin diambil darah sebelum diberikan perlakuan apapun. Ikan Patin direndam masing – masing 10 ekor/toples. Selama pemeliharaan, dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB).

#### b. Pemberian Bakteri *E. tarda* pada Ikan Patin

Pasca pemberian bakteri *L. plantarum* sebagai upaya pencegahan, dilakukan infeksi bakteri *E. tarda* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml dengan cara perendaman. Pemberian bakteri disesuaikan dengan perhitungan yang didapatkan. Penginfeksi dilakukan selama 3 x 24 jam pada masing-masing toples. Selama penginfeksi ikan tidak diberi pakan. Selama pemeliharaan, dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB). Pengambilan sampel darah dilakukan pada jam 0, 12, 24, 36 jam untuk diperiksa total leukosit, eritrosit, hemoglobin dan hematokrit. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Harper, Rodwell dan Mayes (1977), bahwa sel darah akan kembali normal setiap 48 jam, sehingga perlunya



dilakukan pengambilan sebelum darah kembali normal.

#### c. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah ikan Patin dilakukan dengan menggunakan spuit yang telah dibasahi Na Citrat 3,8% sebagai anti koagulan atau untuk mencegah agar darah ikan yang diambil tidak membeku atau menggumpal yang akan mempersulit proses pengamatan dan perhitungan sel darah. Pengambilan darah dilakukan di pangkal ekor dengan cara disuntik dengan posisi jarum  $45^{\circ}$  dan ditarik perlahan – lahan sampai darah masuk kedalam spuit.

#### d. Uji Hematologi

##### 1) Leukosit

Darah sampel dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk berwarna putih sampai skala 0,5. Lalu, tambahkan larutan Turk's sampai skala 11, pipet diayun membentuk angka 8 selama 3-5 menit sehingga darah bercampur rata. Setelah itu, dua tetes pertama larutan darah dari dalam pipet dibuang. Kemudian teteskan larutan pada *haemocytometer*, setelah itu ditutup dengan gelas penutup. Cairan akan memenuhi ruang hitung secara kapiler. Jumlah sel darah putih atau leukosit total dihitung dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 X. Jumlah sel darah putih dinyatakan dalam sel/ml. Jumlah leukosit total dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak kecil, dan jumlahnya dihitung menurut rumus:

$$\text{Jumlah sel darah putih} = \sum \text{sel darah putih terhitung} \times 50$$

##### 2) Eritrosit

Adapun prosedurnya adalah pertama darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah sampai skala 1, lalu tambahkan larutan Hayem's sampai skala 101. Pengadukan darah di dalam pipet dilakukan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan

selama 3-5 menit sehingga darah tercampur rata. Dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang. Cairan yang dikeluarkan tersebut diasumsikan sebagai cairan yang tidak homogeny antara darah dan Hayem's. Selanjutnya teteskan pada *haemocytometer* lalu ditutup dengan gelas penutup. Kemudian, dihitung jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jumlah sel darah merah dinyatakan dalam sel/ml. Jumlah eritrosit total dihitung sebanyak 5 kotak kecil dan jumlahnya dihitung menurut rumus:

$$\text{Jumlah sel darah merah} = \sum \text{sel darah merah terhitung} \times 10^4$$

### 3) Hematokrit

Pengukuran kadar hematokrit yaitu dengan cara ujung pipet mikrohematokrit dicelupkan ke dalam *tube* yang berisi darah. Darah diambil sebanyak  $\frac{3}{4}$  bagian tabung. Ujung tabung yang telah berisi darah ditutup dengan lilin malam dengan cara menancapkan ujung tabung ke dalam lilin malam sehingga terbentuk sumbat *cryptoceal*. Tabung mikrohematokrit tersebut disentrifuge selama 4 menit pada 5000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran sentrifuse seimbang. Panjang bagian darah yang mengendap dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung diukur dengan menggunakan table perhitungan hematokrit. Kadar hematokrit merupakan banyaknya sel darah (digambarkan dengan padatan atau endapan) dalam cairan darah. Kadar hematokrit dinyatakan dalam %.

### 4) Hemoglobin

Pengukuran kadar hemoglobin yaitu dengan cara darah sampel dihisap dengan pipet sahli sampai skala 20 mm<sup>3</sup> atau pada skala 0.2 ml. Darah dalam pipet dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0.1 N sampai skala 10 (merah). Darah tersebut lalu diaduk dengan batang pengaduk selama 3-5 menit. Akuades ditambahkan ke dalam tabung sampai warna darah tersebut



seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb-meter tersebut. Skala hemoglobin dapat dilihat pada skala jalur gr % (kuning) yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

### **3.5. Parameter Uji**

#### **3.5.1. Parameter Utama**

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap hematologi Ikan Patin yang meliputi penghitungan sel darah merah (eritrosit), penghitungan sel darah putih (leukosit), hematokrit dan hemoglobin. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat upaya pencegahan infeksi bakteri *E. tarda* pada ikan Patin jambal dengan pemberian bakteri *L. plantarum*. Selain itu pengamatan juga dilakukan pada ikan kontrol. Pengamatan perlakuan dilakukan setiap 12 jam sampai jam ke-36 setelah penginfeksi. Hasil dari pengamatan akan menunjukkan kemampuan dari bakteri *L. plantarum* untuk mencegah infeksi *E. tarda* pada ikan Patin jambal.

#### **3.5.2. Parameter Penunjang**

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air yang meliputi:

- Suhu yang diukur menggunakan thermometer
- pH air yang diukur dengan pH meter
- Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter
- Kelulushidupan

### **3.6. Analisa Data**

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk

mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau. Apabila nilai menunjukkan hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan hubungan antar hasil perlakuan dengan taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipergunakan, digunakan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik, sehingga akan didapatkan kesimpulan dari hasil penelitian dalam bentuk grafik dan tabel. Hal tersebut akan memudahkan dalam menyimpulkan hasil penelitian.





## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

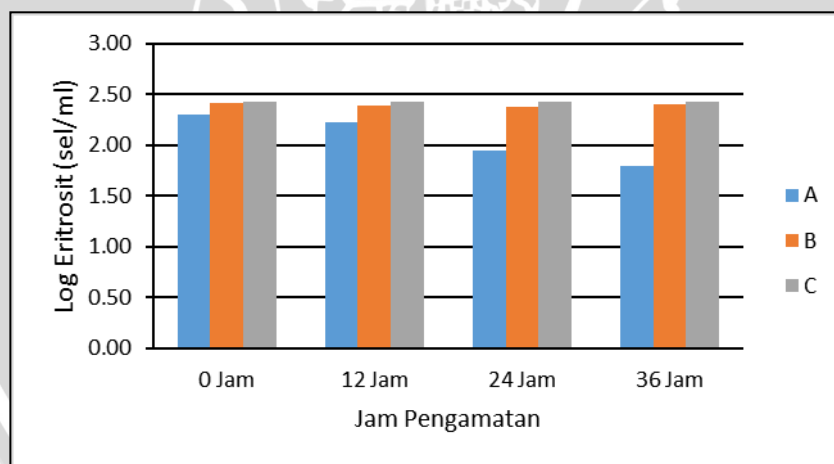
### 4.1. Analisis Hematologi

#### 4.1.1. Eritrosit

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan data eritrosit selama pengamatan Ikan Patin yang dilampirkan pada Lampiran 3. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dosis pemberian *L. plantarum* yaitu A= $10^3$  CFU/ml, B= $10^8$  CFU/ml, dan C= $10^{13}$  CFU/ml dengan 3 kali ulangan. Jumlah log rerata eritrosit selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3, dan hasil yang didapatkan selama pengamatan eritrosit ikan Patin dapat dilihat pada Gambar 7.

**Tabel 3.** Log rata-rata eritrosit (sel/ml) ikan Patin selama pengamatan

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,30±0,03	2,22±0,04	1,95±0,06	1,80±0,20
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,42±0,02	2,38±0,01	2,38±0,02	2,40±0,02
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43±0,06	2,43±0,03	2,43±0,02	2,43±0,02



**Gambar 8.** Jumlah log eritrosit ikan Patin setelah pemberian *L. plantarum* dan diinfeksi *E. tarda*.

Selanjutnya, dari hasil tersebut dilakukan analisa sidik ragam jumlah eritrosit setiap jam pengamatan. Perhitungan analisa sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 4. Sedangkan untuk hasil analisa sidik ragam selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 4. Analisa sidik ragam berfungsi untuk

mengetahui berpengaruh atau tidaknya perlakuan terhadap parameter yang diamati. Adanya penurunan eritrosit diakibatkan masuknya *E. tarda* dan dianggap sebagai antigen oleh tubuh ikan Patin, sehingga pengamatan jam 12 mengalami penurunan karena ikan masih dalam penyesuaian. Peningkatan terjadi pada pengamatan jam 24 dan 36 pada perlakuan B dan C dikarenakan ikan telah mampu mengatasi antigen yang masuk karena adanya antibodi. Berbeda dengan perlakuan A dengan dosis yang lebih rendah, sehingga antibodi yang dimiliki ikan tidak mampu untuk mengatasi antigen yang masuk.

**Tabel 4.** Analisa sidik ragam log eritrosit ikan Patin selama pengamatan

Sumber Keragaman	Nilai F Hitung Sidik Ragam				Nilai F Tabel	
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
Perlakuan	11,14**	44,92**	147,48**	27,50**	5,14	6,37

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 4 dapat diketahui bahwa nilai F hitung pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam di atas nilai F tabel 5% dan F tabel 1%, sehingga disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap eritrosit ikan Patin yang diinfeksi bakteri *Edwardisella tarda* pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam selama penginfeksian. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji BNT dilakukan pada hasil setiap pengamatan. Hasil uji BNT eritrosit ikan patin jam 0 dapat dilihat pada Tabel 5. Hasil uji BNT eritrosit ikan patin jam 12 dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil uji BNT eritrosit ikan patin jam 24 dapat dilihat pada Tabel 7. Hasil uji BNT eritrosit ikan patin jam 36 dapat dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 5.** Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin jam 0

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		2,30	2,42	2,43	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	2,30	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	2,42	0,12 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	2,43	0,13 **	0,02 ns	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata



**Tabel 6.** Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin jam 12

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		2,22	2,38	2,43	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	2,22	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	2,38	0,16 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	2,43	0,21 **	0,04 ns	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 7.** Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin jam 24

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		1,95	2,38	2,43	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	1,95	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	2,38	0,43 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	2,43	0,48 **	0,05 ns	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 8.** Hasil uji BNT log eritrosit ikan Patin jam 36

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		1,80	2,40	2,43	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	1,80	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	2,40	0,60 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	2,43	0,63 **	0,03 ns	-	b

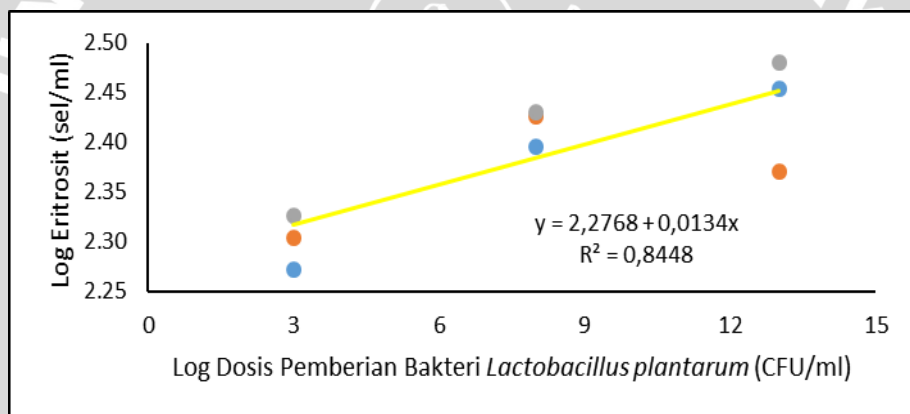
Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

Berdasarkan Lampiran 3 diketahui bahwa jumlah eritrosit Ikan Patin yang diberikan *L. plantarum* dengan perlakuan C memiliki hasil tertinggi setiap jam pengamatan. Sedangkan hasil terendah pada perlakuan A sebesar  $68,00 \times 10^4$  sel/ml. Perlakuan A selalu mengalami penurunan jumlah eritrosit mendekati kontrol positif yaitu  $50,33 \times 10^4$  sel/ml. Sedangkan jumlah eritrosit pada ikan kontrol negatif adalah  $180,00 \times 10^4$  sel/ml. Hasil yang diperoleh selama pengamatan, dapat diketahui bahwa eritrosit pada perlakuan B dan C pada 36 jam kembali mendekati hasil pada sebelum infeksi.

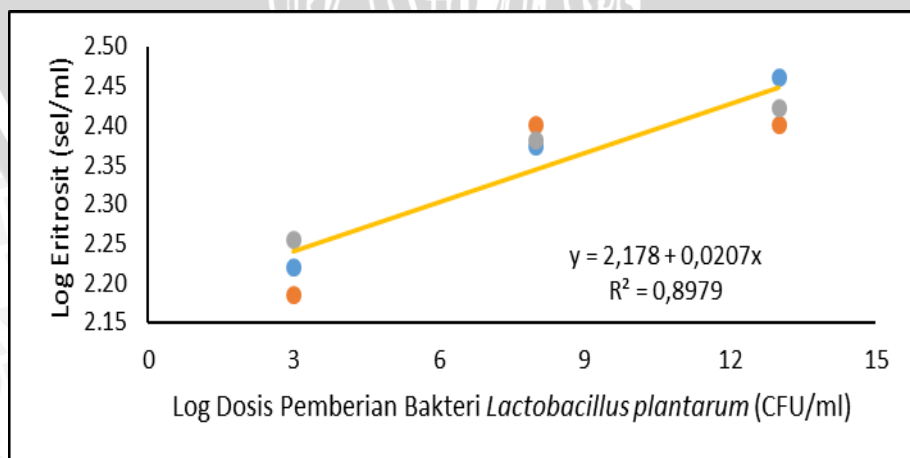
Berdasarkan Tabel 5, 6, 7 dan 8 Uji BNT diketahui bahwa pada pengamatan jam ke 0, 12, 24 dan 36 perlakuan A memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan B dan C. Sedangkan hasil perlakuan B dan C tidak



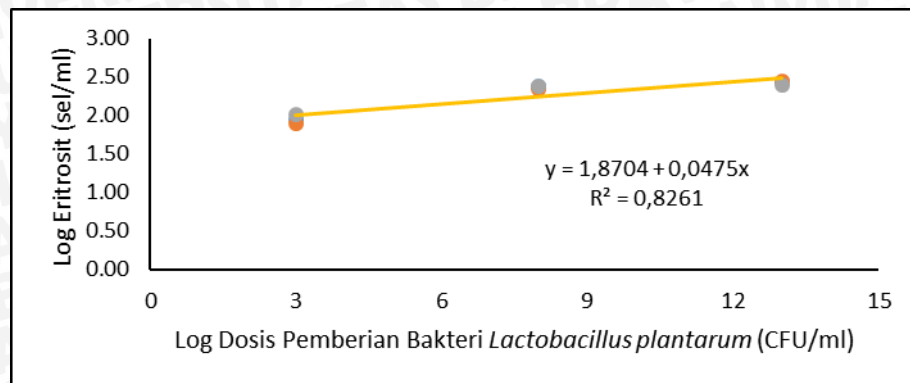
berbeda nyata. Untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilanjutkan dengan membuat grafik regresi setiap jam pengamatan. Grafik hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam dapat dilihat pada Gambar 8. Grafik hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam dapat dilihat pada Gambar 9. Grafik hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Gambar 10. Grafik hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam dapat dilihat pada Gambar 11.



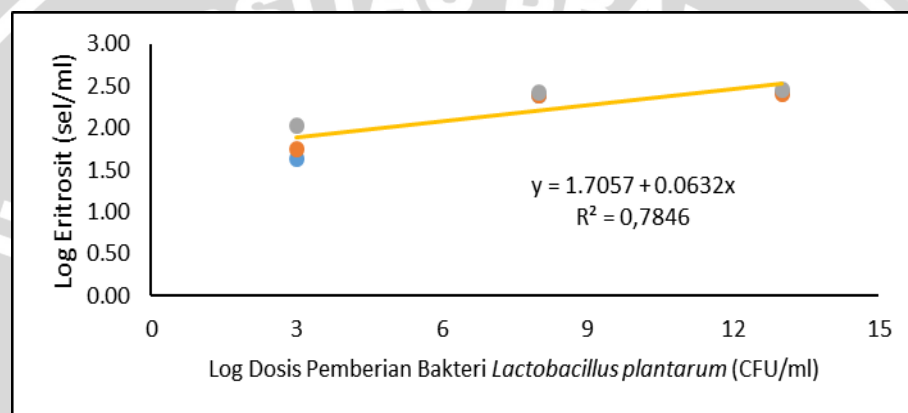
**Gambar 8.** Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam



**Gambar 9.** Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam



**Gambar 10.** Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam



**Gambar 11.** Hubungan total log eritrosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam

Berdasarkan grafik regresi yang telah dibuat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah eritrosit juga lebih besar. Hal tersebut disebabkan ikan yang diberikan *L. plantarum* akan bertambah kekebalan tubuhnya sehingga memiliki kemampuan pertahanan diri yang baik yang menyebabkan jumlah sel darah merah dalam keadaan stabil dikisaran normal dan terlihat dari semakin tinggi dosis pemberian maka jumlah eritrosit semakin besar. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh pada 0 jam = 0,8448; 12 jam = 0,879; 24 jam = 0,8261 dan 36 jam = 0,7846. Apabila koefisien determinasi memiliki hasil mendekati 1 dapat dikatakan variabel bebas (faktor yang dimanipulasi) semakin berpengaruh terhadap variabel terikat (Larasati, 2014), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum*

berpengaruh terhadap jumlah eritrosit Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

Rendahnya jumlah sel darah merah (eritrosit) menandakan ikan dalam keadaan stress (Maftuch *et al.*, 2012). Namun apabila sel darah merah berada di atas kisaran normal juga menandakan ikan mengalami gangguan dalam tubuhnya. Menurut penelitian Sihono (2014), jumlah eritrosit pada ikan Patin sebelum diberikan perlakuan (normal) adalah  $1,59 \times 10^6$  sel/mm<sup>3</sup>.

Menurut penelitian Wahjuningrum, Ashry dan Nuryati (2008), setelah terinfeksi bakteri, jumlah sel darah merah pada ikan menurun hingga akhir pengamatan. Penurunan dikarenakan adanya luka sehingga darah keluar dari pembuluhnya.

Selama ini, *L. plantarum* diketahui sebagai bakteri yang berperan baik dalam kegiatan budidaya sebagai probiotik. Kemampuannya dalam menekan pertumbuhan dari patogen dengan cara menghasilkan bakteriosin. *L. plantarum* juga memiliki kemampuan dalam menstimulasi sistem imun, merangsang pertumbuhan dan menambah kekebalan terhadap penyakit (Doan, Hoseinifar, Tapingkae, Tongsiri dan Khamtavee, 2016).

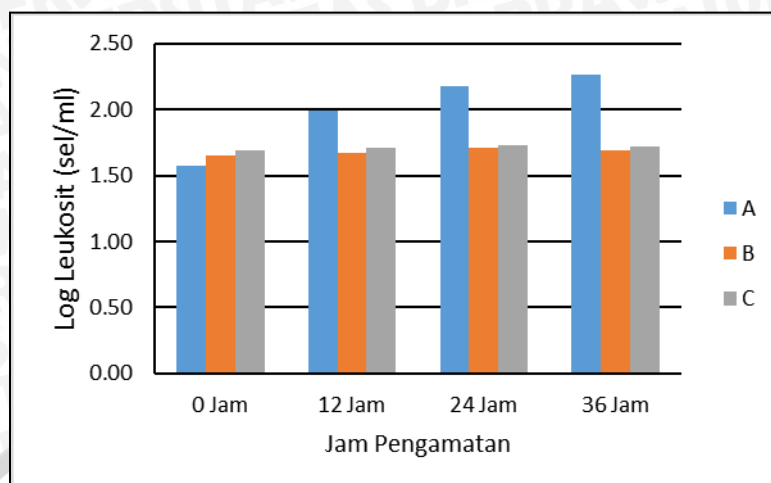
#### 4.1.2. Leukosit

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan data leukosit selama pengamatan Ikan Patin yang dilampirkan pada Lampiran 5. Jumlah log rerata leukosit selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 9. Selanjutnya hasil yang didapatkan selama pengamatan leukosit ikan Patin telah diperlihatkan pada Gambar 12.

**Tabel 9.** Log rata-rata leukosit (sel/ml) ikan Patin selama pengamatan

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,57±0,03	1,99±0,02	2,18±0,04	2,26±0,02
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,66±0,04	1,67±0,06	1,71±0,01	1,70±0,01
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,69±0,05	1,71±0,04	1,73±0,01	1,72±0,04





**Gambar 12.** Jumlah log leukosit ikan Patin setelah pemberian *L. plantarum* dan diinfeksi *E. tarda*.

Selanjutnya hasil tersebut dilakukan analisa sidik ragam jumlah leukosit selama pengamatan. Perhitungan analisa sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 6. Sedangkan untuk hasil analisa sidik ragam selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 10. Adanya peningkatan leukosit diakibatkan masuknya *E. tarda* dan dianggap sebagai antigen asing oleh tubuh ikan Patin, sehingga pengamatan jam 12 mengalami peningkatan leukosit karena ikan masih dalam penyesuaian untuk mengenali antigen tersebut. Penurunan leukosit terjadi pada pengamatan jam 24 dan 36 pada perlakuan B dan C dikarenakan ikan telah mampu mengatasi antigen yang masuk karena adanya antibodi. Berbeda dengan perlakuan A dengan dosis yang lebih rendah, sehingga antibodi yang dimiliki ikan tidak mampu untuk mengatasi antigen yang masuk.

**Tabel 10.** Analisa sidik ragam log leukosit ikan Patin selama pengamatan

Sumber Keragaman	Nilai F Hitung Sidik Ragam				Nilai F Tabel	
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
Perlakuan	6,90**	49,74**	349,36**	407,16**	5,14	6,37

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 10 dapat diketahui bahwa nilai F hitung pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam di atas nilai F tabel 5% dan F tabel 1%, sehingga disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* memberikan pengaruh

berbeda sangat nyata terhadap leukosit ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda* pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam selama penginfeksi. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT leukosit ikan patin jam 0 dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil uji BNT leukosit ikan patin jam 12 dapat dilihat pada Tabel 12. Hasil uji BNT leukosit ikan patin jam 24 dapat dilihat pada Tabel 13. Hasil uji BNT leukosit ikan patin jam 36 dapat dilihat pada Tabel 14.

**Tabel 11.** Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 0

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	1,57	-	-	-	a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	1,66	0,08 *	-	-	b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	1,69	0,12 **	0,04 ns	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 12.** Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 12

Perlakuan	Rerata	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	A=10 <sup>3</sup>	Notasi
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	1,67	-	-	-	a
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	1,71	0,04 ns	-	-	a
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	1,99	0,32 **	0,28 **	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 13.** Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 24

Perlakuan	Rerata	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	A=10 <sup>3</sup>	Notasi
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	1,71	-	-	-	a
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	1,73	0,02 ns	-	-	a
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	2,18	0,47 **	0,45 **	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

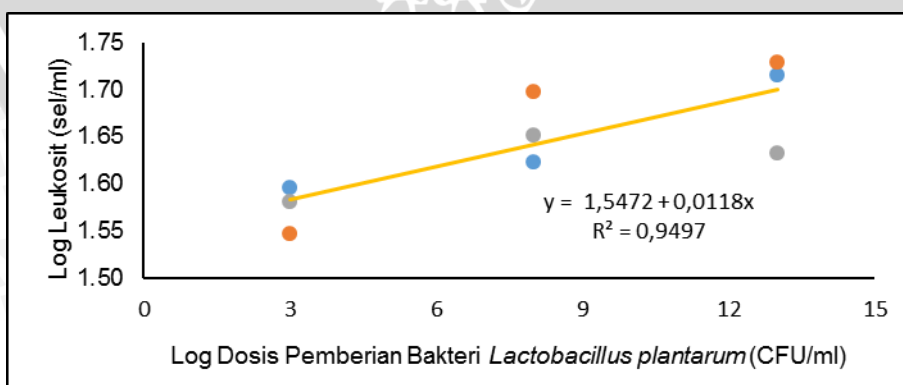
**Tabel 14.** Hasil uji BNT log leukosit ikan Patin jam 36

Perlakuan	Rerata	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	A=10 <sup>3</sup>	Notasi
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	1,70	-	-	-	a
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	1,72	0,03 ns	-	-	a
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	2,26	0,57 **	0,54 **	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

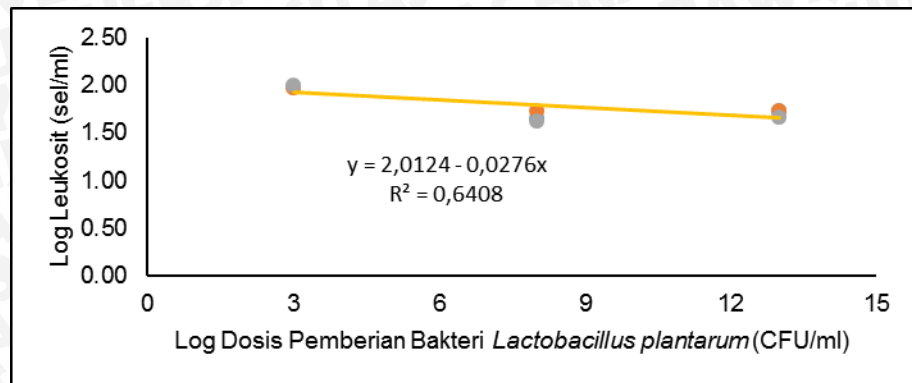
Berdasarkan Lampiran 5 diketahui bahwa jumlah leukosit Ikan Patin yang diberikan *L. plantarum* dengan perlakuan A memiliki hasil tertinggi pada jam ke 36 sebesar  $182,98 \times 10^3$  sel/ml, sedangkan hasil terendah pada perlakuan A sebesar  $37,60 \times 10^3$  sel/ml. Perlakuan A selalu mengalami peningkatan jumlah leukosit melebihi kontrol positif yaitu  $170,10 \times 10^3$  sel/ml, sedangkan jumlah leukosit pada ikan kontrol negatif adalah  $35,83 \times 10^3$  sel/ml. Hasil menunjukkan perlakuan B dan C pada pengamatan 36 jam kembali mendekati hasil pada sebelum infeksi. Berdasarkan hasil uji BNT diketahui bahwa pada pengamatan jam ke 0, 12, 24 dan 36 perlakuan A memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan B dan C. Sedangkan hasil perlakuan B dan C tidak berbeda nyata.

Selanjutnya dibuat grafik regresi berdasarkan pada lampiran 5 data leukosit yang telah dikonversi dengan log. Grafik hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam dapat dilihat pada Gambar 13. Grafik hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam dapat dilihat pada Gambar 14. Grafik hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Gambar 15. Grafik hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam dapat dilihat pada Gambar 16.

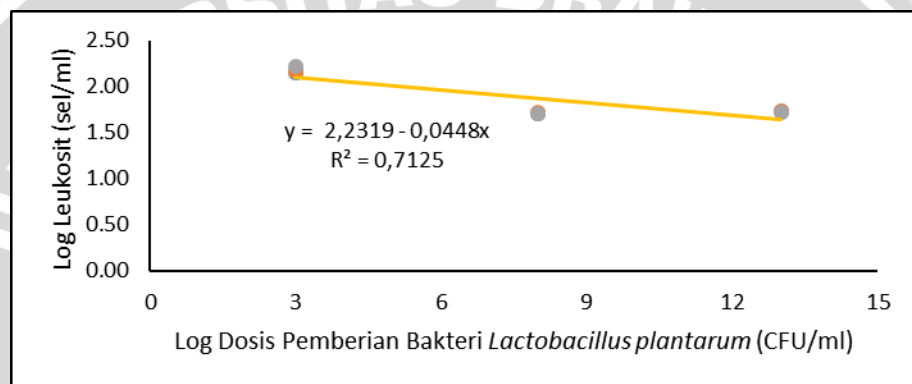


**Gambar 13.** Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam

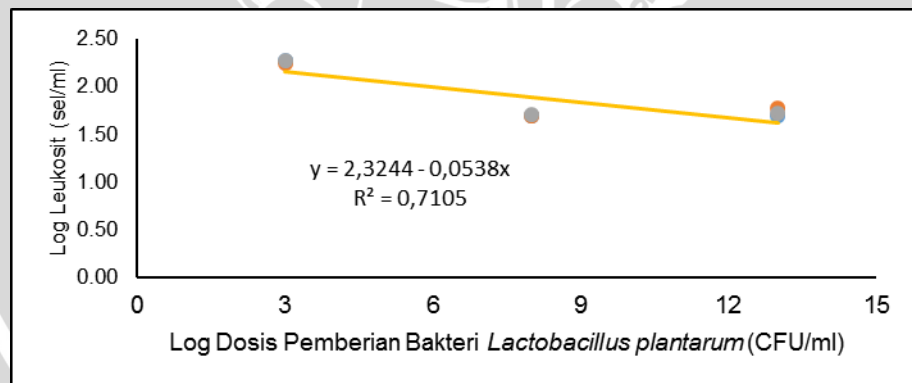




**Gambar 14.** Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam



**Gambar 15.** Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam



**Gambar 16.** Hubungan total log leukosit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam

Berdasarkan grafik regresi yang telah dibuat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin rendah jumlah leukosit ikan selama penginfeksi. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap jumlah leukosit Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh pada 0 jam =

0,9497; 12 jam = 0,6408; 24 jam = 0,7125 dan 36 jam = 0,7105. Nilai  $R^2$  yang kecil berarti pengaruh variabel bebas (faktor yang mempengaruhi) terhadap variabel terikat (faktor yang diukur) terbatas (Widodo, 2006), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap jumlah leukosit Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

Peningkatan jumlah leukosit pada ikan mengindikasikan bahwa ikan sedang meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuhnya. Jika jumlah leukosit berada di atas atau di bawah kisaran normal, maka ikan dapat terindikasi mengalami gangguan. Menurut penelitian Lukistyowati (2012), ikan Patin memiliki jumlah leukosit 31.000 sel/mm<sup>3</sup>.

*L. plantarum* merupakan bakteri yang memproduksi asam laktat. Asam laktat ini merupakan bahan sterilisasi yang kuat yang dapat menekan mikroorganisme berbahaya dan dapat menguraikan bahan organik dengan cepat (Setiawan, 2010), sehingga bakteri ini mampu menekan bakteri *E. tarda* pada ikan.

Leukosit merupakan sel darah yang berperan penting dalam sistem imun. Peningkatan jumlah leukosit merupakan reaksi dari peningkatan daya tahan ikan. Selain itu, meningkatnya jumlah leukosit ikan yang terinfeksi diduga karena sifat leukosit yang bersifat aktif atau bergerak menuju organ yang terinfeksi atau mengalami gangguan. Jika infeksi sudah teratasi, maka jumlah leukosit akan kembali mendekati jumlah awal (Maftuch, *et al.*, 2012).

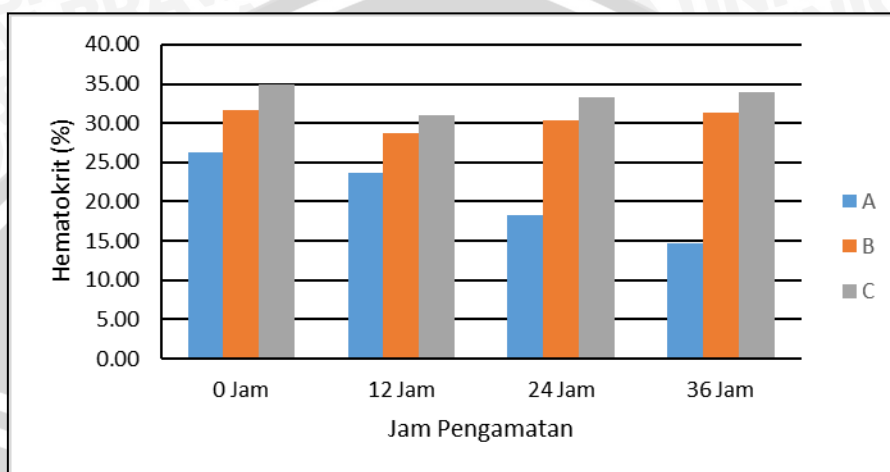
#### 4.1.3. Hematokrit

Berdasarkan hasil penelitian, data hematokrit selama pengamatan ikan Patin yang dilampirkan pada Lampiran 7. Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dosis pemberian *L. plantarum* yaitu A=10<sup>3</sup> CFU/ml, B=10<sup>8</sup> CFU/ml, dan C=10<sup>13</sup> CFU/ml dengan 3 kali ulangan. Jumlah rerata hematokrit selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 15, dan hasil yang didapatkan selama

pengamatan hematokrit ikan Patin dapat dilihat pada Gambar 17.

**Tabel 15.** Rata-rata Hematokrit (%) ikan Patin selama pengamatan

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	26,33±1,53	23,67±1,15	18,33±2,08	14,67±1,15
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,67±0,58	28,67±1,53	30,00±2,52	31,33±1,53
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	35,00±1,00	31,00±1,00	33,33±1,53	34,00±2,00



**Gambar 17.** Jumlah hematokrit ikan Patin setelah pemberian *L. plantarum* dan diinfeksi *E. tarda*.

Selanjutnya hasil tersebut dilakukan analisa lebih lanjut untuk dapat mengetahui adanya pengaruh antara variabel terikat dan bebas yang diuji. Analisa yang digunakan adalah analisa sidik ragam jumlah hematokrit selama pengamatan. Perhitungan analisa sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 8. Sedangkan untuk hasil analisa sidik ragam selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 16. Adanya fluktuasi hematokrit akan sejalan dengan eritrosit.

**Tabel 16.** Analisa sidik ragam hematokrit ikan Patin selama pengamatan

Sumber	Nilai F Hitung Sidik Ragam				Nilai F Tabel	
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
Keragaman						
Perlakuan	46,91**	27,07**	43,62**	128,87**	5,14	6,37

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 16 dapat diketahui bahwa nilai F hitung pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam di atas nilai F tabel 5% dan F tabel 1%, disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap hematokrit ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda* pada 0 jam,



12 jam, 24 jam dan 36 jam selama pengamatan. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji BNT dilakukan pada setiap hasil pengamatan di masing-masing jam. Hasil uji BNT hematokrit ikan patin jam 0 dapat dilihat pada Tabel 17. Hasil uji BNT hematokrit ikan patin jam 12 dapat dilihat pada Tabel 18. Hasil uji BNT hematokrit ikan patin jam 24 dapat dilihat pada Tabel 19. Hasil uji BNT hematokrit ikan patin jam 36 dapat dilihat pada Tabel 20.

**Tabel 17.** Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 0

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		26,33	31,67	35,00	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	26,33	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	31,67	5,33 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	35,00	8,67 **	3,33 **	-	c

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 18.** Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 12

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		23,67	28,67	31,00	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	23,67	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	28,67	5,00 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	31,00	7,33 **	2,33 *	-	c

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 19.** Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 24

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		18,33	30,33	33,33	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	18,33	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	30,33	12,00 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	33,33	15,00 **	3,00 ns	-	b

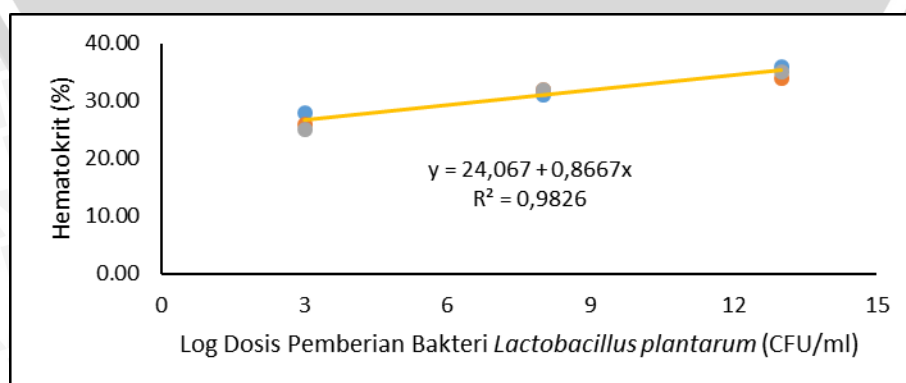
Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 20.** Hasil uji BNT hematokrit ikan Patin jam 36

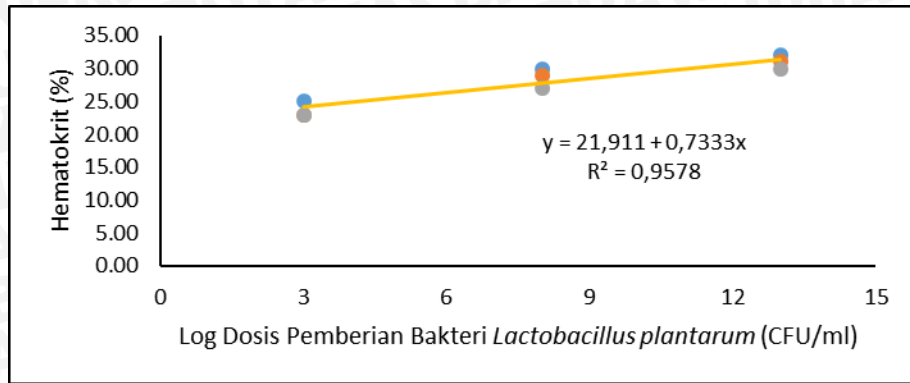
Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		14,67	31,33	34,00	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	14,67	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	31,33	16,67 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	34,00	19,33 **	2,67 ns	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

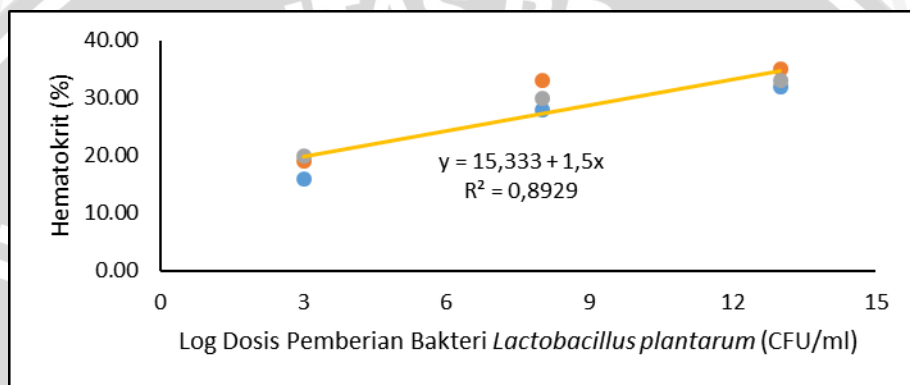
Berdasarkan Lampiran 7 diketahui bahwa jumlah hematokrit Ikan Patin yang diberikan *L. plantarum* dengan perlakuan C memiliki hasil tertinggi setiap jam pengamatan. Sedangkan hasil terendah pada perlakuan A sebesar 14,67 %. Perlakuan A selalu mengalami penurunan jumlah hematokrit mendekati rerata kontrol positif yaitu 11,67 %. Jumlah hematokrit pada ikan kontrol negatif adalah 28 %. Berdasarkan dari hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa hematokrit pada perlakuan B dan C pada 36 jam kembali mendekati hasil pada sebelum infeksi. Berdasarkan Tabel uji BNT diketahui pada pengamatan jam ke 0 dan jam ke 12 masing-masing perlakuan memiliki hasil yang berbeda nyata. Pada jam ke 24 dan jam ke 36 perlakuan A memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan B dan C, sedangkan hasil perlakuan B dan C tidak berbeda nyata. Untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilanjutkan dengan membuat grafik regresi. Grafik hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam dapat dilihat pada Gambar 18. Grafik hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam dapat dilihat pada Gambar 19. Grafik hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Gambar 20. Grafik hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam dapat dilihat pada Gambar 21.



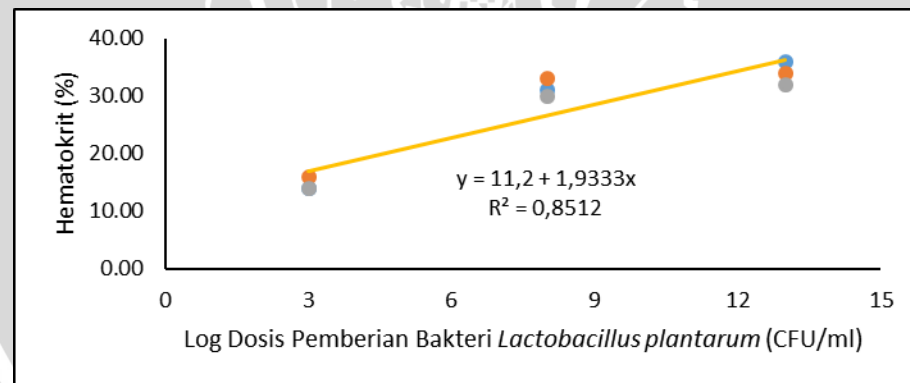
**Gambar 18.** Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam



**Gambar 19.** Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam



**Gambar 20.** Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam



**Gambar 21.** Hubungan total hematokrit ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam

Berdasarkan grafik regresi yang telah dibuat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi jumlah hematokrit ikan selama penginfeksi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh pada 0 jam = 0,9826; 12 jam = 0,9678; 24 jam = 0,8929 dan 36 jam = 0,8512. Apabila koefisien determinasi memiliki hasil mendekati 1 dapat dikatakan variabel bebas



(faktor yang dimanipulasi) semakin berpengaruh terhadap variabel terikat (Larasati, 2014), sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap jumlah hematokrit Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

Respon stres pada hewan dapat dilihat dari perubahan kadar hormon kortisol, glukosa darah, hemoglobin, dan hematocrit. Ketika kondisi stress, terjadi penurunan jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin, sedangkan jumlah leukosit cenderung meningkat. Menurut penelitian Lukistyowati (2012), hematokrit ikan patin normal memiliki nilai 26 %.

Namun tidak hanya peningkatan saja yang mengindikasikan ikan stres. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Wahjuningrum, *et al.* (2008), pada saat terjadinya luka pada tubuh ikan, ternyata dapat menyebabkan penurunan nilai hematokrit. Nilai hematokrit akan sejalan dengan fluktuasi eritrosit dalam darah, sehingga apabila eritrosit menurun, maka akan diikuti oleh nilai dari hematokrit. Hematokrit sendiri dinyatakan dalam satuan %.

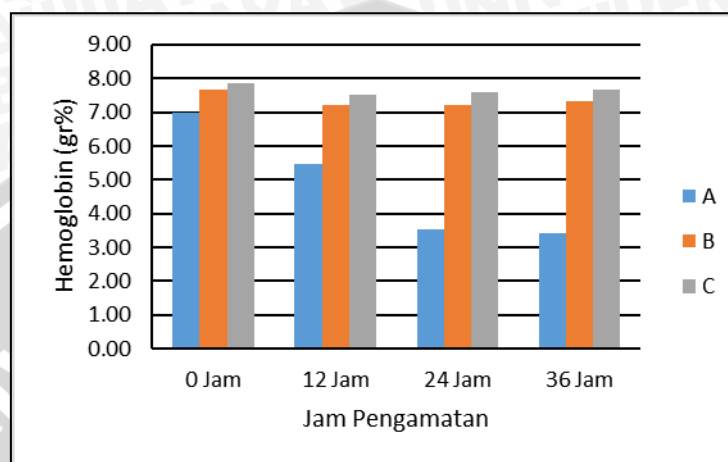
Menurut Atira (2009), terdapat bakteri yang mampu sebagai pengendalian biologis terhadap mikroba patogen pada organisme akuakultur. Bakteri tersebut adalah bakteri asam laktat, karena dapat bersifat antimikroba dan tidak berbahaya organisme akuakultur. *L. plantarum* merupakan kelompok bakteri asam laktat yang selama ini digunakan sebagai alternatif pengganti antibiotik pada hewan akuakultur dalam pencegahan serangan penyakit, sehingga bakteri ini mampu dimanfaatkan sebagai agen biologi di perairan.

#### **4.1.4. Hemoglobin**

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan data hemoglobin selama pengamatan Ikan Patin yang dilampirkan pada Lampiran 9. Jumlah rerata hemoglobin selama pengamatan dapat dilihat pada Tabel 21, dan hasil yang didapatkan selama pengamatan hemoglobin ikan Patin dilihat pada Gambar 22.

**Tabel 21.** Rata-rata Hemoglobin (gr %) ikan Patin selama pengamatan

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	7,00±0,20	5,47±0,50	3,53±0,61	3,40±0,53
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,67±0,31	7,20±0,35	7,20±0,35	7,33±0,42
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,87±0,31	7,53±0,12	7,60±0,35	7,67±0,31

**Gambar 22.** Jumlah hemoglobin ikan Patin setelah pemberian *L. plantarum* dan diinfeksi *E. tarda*.

Selanjutnya hasil tersebut dilakukan analisa sidik ragam jumlah hemoglobin selama pemeliharaan. Perhitungan analisa sidik ragam dapat dilihat pada Lampiran 10. Sedangkan untuk hasil analisa sidik ragam selama pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 22. Fluktuasi hemoglobin akan mengikuti fluktuasi yang terjadi pada eritrosit.

**Tabel 22.** Analisa sidik ragam hemoglobin ikan Patin selama pengamatan

Sumber Keragaman	Nilai F Hitung Sidik Ragam				Nilai F Tabel	
	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
Perlakuan	8,18**	28,66**	73,72**	92,71**	5,14	6,37

Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 22 dapat diketahui bahwa nilai F hitung pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam di atas nilai F tabel 5% dan F tabel 1%, sehingga disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap hemoglobin ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda* pada 0 jam, 12 jam, 24 jam dan 36 jam selama penginfeksi. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil uji BNT hemoglobin ikan patin jam



0 dapat dilihat pada Tabel 23. Hasil uji BNT hemoglobin ikan patin jam 12 dapat dilihat pada Tabel 24. Hasil uji BNT hemoglobin ikan patin jam 24 dapat dilihat pada Tabel 25. Hasil uji BNT hemoglobin ikan patin jam 36 dapat dilihat pada Tabel 26.

**Tabel 23.** Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 0

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		7,00	7,67	7,87	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	7,00	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	7,67	0,67 *	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	7,87	0,87 **	0,20 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 24.** Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 12

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		5,47	7,20	7,53	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	5,47	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	7,20	1,73 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	7,53	2,07 **	0,33 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 25.** Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 24

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		3,53	7,20	7,60	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	3,53	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	7,20	3,67 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	7,60	4,07 **	0,40 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

**Tabel 26.** Hasil uji BNT hemoglobin ikan Patin jam 36

Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		3,40	7,33	7,67	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	3,40	-			a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	7,33	3,93 **	-		b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	7,67	4,27 **	0,33 <sup>ns</sup>	-	b

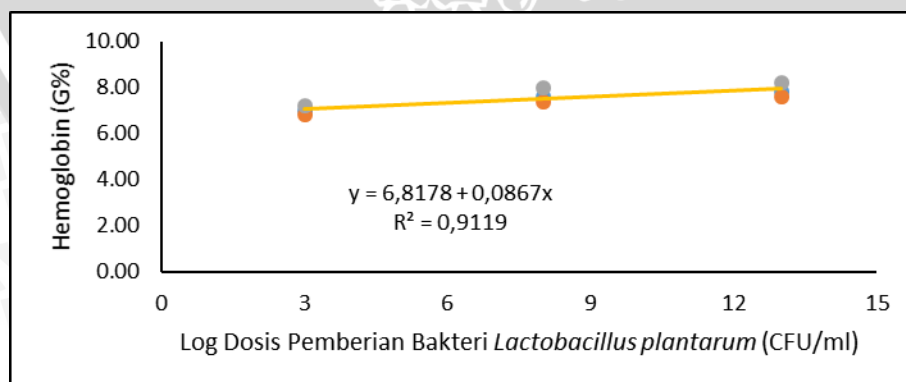
Keterangan: ns=tidak berbeda nyata, \*\*=berbeda sangat nyata

Berdasarkan Lampiran 9, perlakuan C memiliki hasil tertinggi setiap jam pengamatan. Sedangkan hasil terendah pada perlakuan A sebesar 3,4 gr % pada jam fke 36. Perlakuan A selalu mengalami penurunan jumlah hemoglobin,

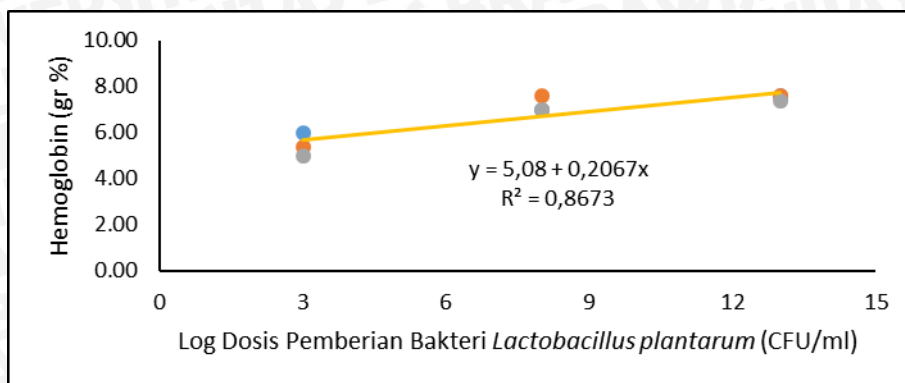


lebih rendah dari kontrol positif yaitu 3,6 gr %. Sedangkan jumlah hemoglobin pada ikan kontrol negatif adalah 7,33 gr %. Berdasarkan hasil selama pengamatan, diketahui bahwa hemoglobin pada perlakuan B dan C pada 36 jam kembali mendekati hasil pada sebelum infeksi, pada 36 jam hasil pengamatan mendekati pengamatan pada 0 jam.

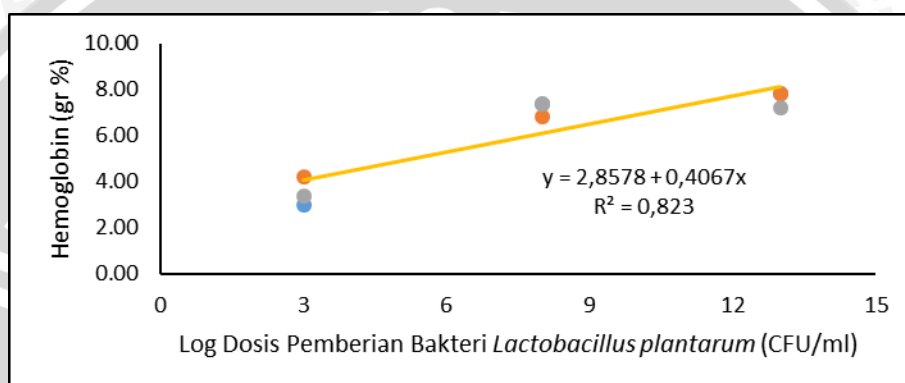
Berdasarkan hasil uji BNT, diketahui bahwa pada pengamatan jam ke 0, 12, 24 dan 36 perlakuan A memiliki hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan B dan C. Sedangkan hasil perlakuan B dan C tidak berbeda nyata. Setelah uji BNT, diperlukan uji lanjut untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dan parameter uji. Untuk mengetahui hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilanjutkan dengan membuat grafik regresi. Grafik regresi dibuat setiap jam pengamatan. Grafik hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam dapat dilihat pada Gambar 23. Grafik hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam dapat dilihat pada Gambar 24. Grafik hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam dapat dilihat pada Gambar 25. Grafik hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam dapat dilihat pada Gambar 26.



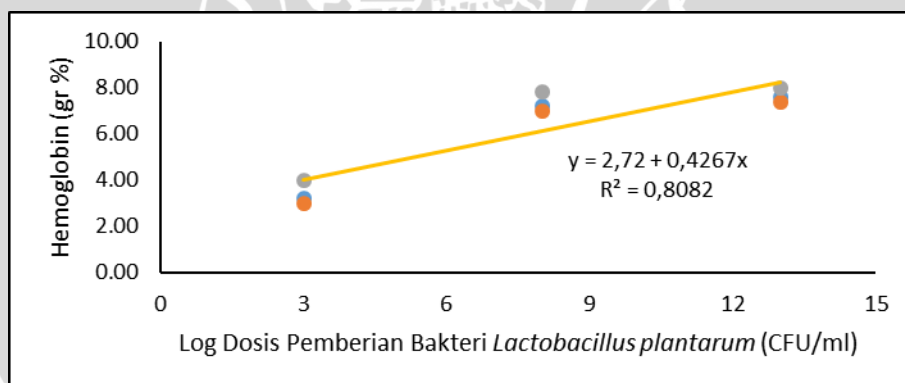
**Gambar 23.** Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 0 jam



**Gambar 24.** Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 12 jam



**Gambar 25.** Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 24 jam



**Gambar 26.** Hubungan total hemoglobin ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* pengamatan 36 jam

Berdasarkan grafik regresi yang telah dibuat menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi jumlah hemoglobin ikan selama penginfeksi. Koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang diperoleh pada 0 jam = 0,9119; 12 jam = 0,8673; 24 jam = 0,8230 dan 36 jam = 0,8082. Semakin tinggi  $R^2$  atau mendekati satu maka model yang digunakan

semakin baik (Larasati, 2014). Terlihat dari koefisien detremisasi yang dihasilkan mendekati jumlah satu, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap jumlah hemoglobin Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*.

Hemoglobin (Hb) adalah pigmen merah pembawa oksigen dalam sel darah merah yang merupakan suatu protein yang kaya akan zat besi (Sahetapy, 2012), sehingga fluktuasi kadar Hb dalam darah akan mengikuti fluktuasi eritrosit. Menurut Wahjuningrum, *et al.* (2008), penurunan jumlah sel darah merah dikarenakan adanya luka sehingga darah keluar dari pembuluhnya dan menyebabkan kadar hemoglobin ikut rendah.

Menurut penelitian Giri, Sukumaran dan Oviya (2013), bakteri *L. plantarum* diketahui menghasilkan substansi antimikroba seperti *plantacirin* yang efektif untuk melawan patogen dan dapat digunakan sebagai probiotik. Respon imun non spesifik dari ikan mampu ditingkatkan dengan pemberian bakteri *L. plantarum* sebelum adanya infeksi dari patogen dengan menghasilkan enzim *lysozyme*. *Lysozyme* merupakan komponen penting pada sistem imun ikan yang bersifat *bactericidal* dengan menghidrolisis dinding sel peptidoglikan bakteri sehingga terjadi bakteriolisis yang juga dikenal sebagai *opsonin*.

## **4.2. Parameter Penunjang**

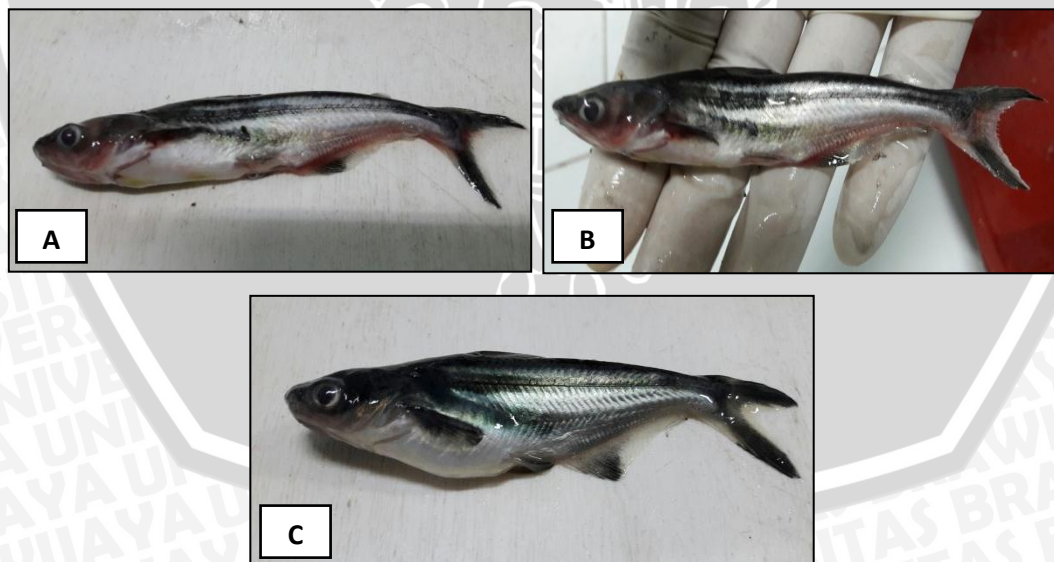
### **4.2.1. Gejala Klinis**

Pada pengamatan gejala klinis yang dilakukan selama masa penginfeksi sampai 72 jam terlihat adanya perbedaan dengan sebelum penginfeksi. Pengamatan meliputi tingkah laku, luka dan nafsu makan pada ikan selama penginfeksi. Gejala klinis ikan yang terinfeksi *E. tarda* pada ikan kontrol positif yaitu kulit memiliki lendir lebih banyak, nafsu makan berkurang, haemoragi (pendarahan) di beberapa bagian tubuh dan berenang secara pasif di



dasar. Selain itu juga pada organ dalam lebih pucat dari kontrol negatif dan lebih membengkak serta mengeluarkan bau tidak enak. Hal ini merupakan gejala klinis yang sering dialami ikan saat terserang *E. tarda*. Gambaran ikan Patin pada masing-masing perlakuan pemberian *L. Plantarum* disajikan pada Gambar 27. Menurut Rahmaningsih (2016), sisik dan kulit merupakan pelindung fisik yang melindungi ikan. Kerusakan sisik atau kulit akan mempermudah patogen menginfeksi inang.

Menurut Wahjuningrum, *et al.* (2014), bakteri *E. tarda* memiliki beberapa gejala klinis. Gejala klinis yang muncul pada ikan uji berupa nekrosis dan ditandai dengan depigmentasi kulit, hemoragi dan luka bahkan tukak, sedangkan pada organ dalam terlihat adanya gas pada bagian saluran pencernaan yang menyebabkan perut ikan akan terlihat kembung (*dropsy*). Haemoragi adalah pendarahan yang biasa terlihat kasat mata pada bagian tubuh luar dari ikan. Adanya gas pada bagian saluran pencernaan merupakan penyebab bau yang tidak enak dari ikan yang mati karena infeksi *E. tarda*.



**Gambar 27.** Gejala klinis ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda* dengan penambahan Bakteri *L. plantarum*  $10^3$  CFU/ml (A), dengan penambahan bakteri *L. plantarum*  $10^8$  CFU/ml (B), dengan penambahan bakteri *L. plantarum*  $10^{13}$  CFU/ml (C).

Gejala klinis pada masing-masing perlakuan menunjukkan bahwa dosis pemberian bakteri *L. plantarum* yang diberikan sebelum penginfeksi memberikan respon berbeda terhadap pencegahan bakteri *E. tarda*. Pada perlakuan A (Kepadatan *L. plantarum*  $10^3$  CFU/ml) menunjukkan ikan berenang pasif, nafsu makan rendah dengan sering tidak habisnya pakan di media pemeliharaan serta munculnya bercak luka di bagian kulit. Hasil tersebut mendekati hasil kontrol positif sehingga dikatakan tidak mampu memberikan efek pencegahan yang baik. Pada perlakuan B (Kepadatan *L. plantarum*  $10^8$  CFU/ml) terlihat ikan pada media pemeliharaan berenang aktif namun ada beberapa ikan berenang pasif dan nafsu makan yang baik. Pada perlakuan B tidak menunjukkan gejala terserang *E. tarda*. Pada perlakuan C (Kepadatan *L. plantarum*  $10^{13}$  CFU/ml) ikan berenang secara aktif dan nafsu makan yang baik. Pada perlakuan C juga tidak menunjukkan gejala terserang *E. tarda*. Perlakuan B dan C dikatakan mampu memberikan efek pencegahan yang baik.

#### 4.2.2. Kualitas Air

Kualitas air pada media hidup ikan sangat berperan penting dalam kelangsungan hidup ikan yang dipelihara. Data rerata pengukuran kualitas air disajikan pada Tabel 27. Sedangkan data selama pengamatan akan disajikan pada Lampiran 11.

**Tabel 27.** Hasil pengukuran kualitas air selama pengamatan

Parameter	Rerata Pengukuran Kualitas Air
Suhu	26,83°C
Derajat Keasaman (pH)	6,93
Oksigen Terlarut	7,72 mg/l

Hasil pengukuran kualitas air pada Tabel 27 masih dalam kisaran normal dan dapat ditoleransi oleh ikan, sehingga didapatkan bahwa ikan mengalami kematian bukan karena kualitas air yang buruk. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mahyuddin (2010), bahwa terdapat kisaran kualitas air yang mampu



ditoleransi oleh ikan Patin pada kondisi normal. Suhu yang baik bagi ikan Patin berkisar antara 25-31°C. Untuk derajat keasaman (pH) berada pada kisaran 6,5-8,5. Sedangkan oksigen terlarut (DO) memiliki nilai minimal 3 mg/l.

#### 4.2.3. Kelulushidupan

Selama pemeliharaan dilakukan pengamatan terhadap kelulushidupan ikan. Data rerata kelulushidupan dapat dilihat pada Tabel 28. Sedangkan data kematian selama pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 12.

**Tabel 28.** Kelulushidupan ikan Patin selama pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan	Jumlah Ikan		SR (%)	Rerata SR (%)
		Tebar (Ekor)	Mati (Ekor)		
A ( $10^3$ CFU/ml)	1	10	4	60	43,33
	2	10	6	40	
	3	10	7	30	
B ( $10^8$ CFU/ml)	1	10	1	90	90
	2	10	1	90	
	3	10	1	90	
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1	10	1	90	90
	2	10	1	90	
	3	10	1	90	

Berdasarkan Tabel 28 didapatkan hasil kelulushidupan selama pemeliharaan dalam bentuk persen. Selanjutnya dikonversikan untuk normalitas data sehingga tidak dalam bentuk persen menggunakan metode arcsin. Hasil konversi dapat dilihat pada Tabel 29.

**Tabel 29.** Kelulushidupan ikan Patin selama pemeliharaan (Arcsin)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±STDEV
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	50,75	39,22	33,20	123,16	41,05±8,92
B ( $10^8$ CFU/ml)	71,54	71,54	71,54	214,61	71,54±0,00
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	71,54	71,54	71,54	214,61	71,54±0,00

Berdasarkan hasil tersebut dilakukan analisa sidik ragam kelulushidupan ikan Patin selama pemeliharaan. Untuk hasil analisa sidik ragam selama



pemeliharaan dapat dilihat pada Tabel 30. Berdasarkan Tabel 29 perlakuan C dan B memiliki nilai kelulushidupan tertinggi sebesar  $71,54 \pm 0,00$ , dan hasil terendah pada perlakuan A sebesar  $41,05 \pm 8,92$ .

**Tabel 30.** Analisa sidik ragam kelulushidupan ikan Patin selama pemeliharaan

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2	1858,36	929,18	35,05 **	5,14	6,37
Galat	6	159,08	26,51			
Total	8	2017,44				

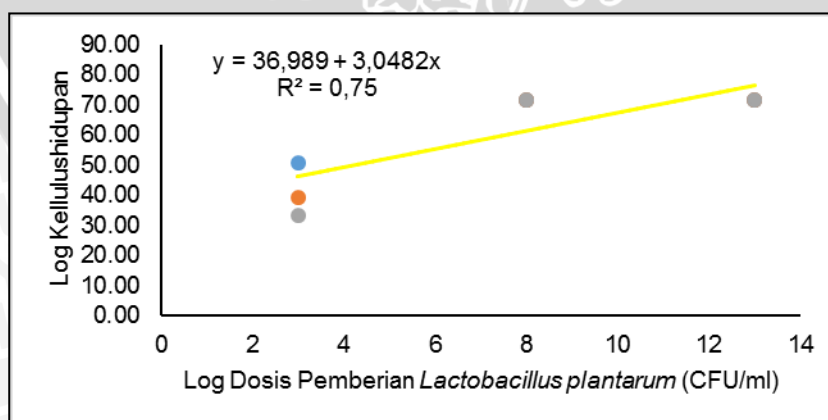
Keterangan : \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 30 dapat diketahui bahwa nilai F hitung  $>$  F tabel 5% dan F tabel 1%, sehingga disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*. Hasil uji BNT kelulushidupan ikan Patin dapat dilihat pada Tabel 31. Grafik hubungan kelulushidupan ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum* dapat dilihat pada Gambar 28.

**Tabel 31.** Hasil Uji BNT kelulushidupan ikan Patin

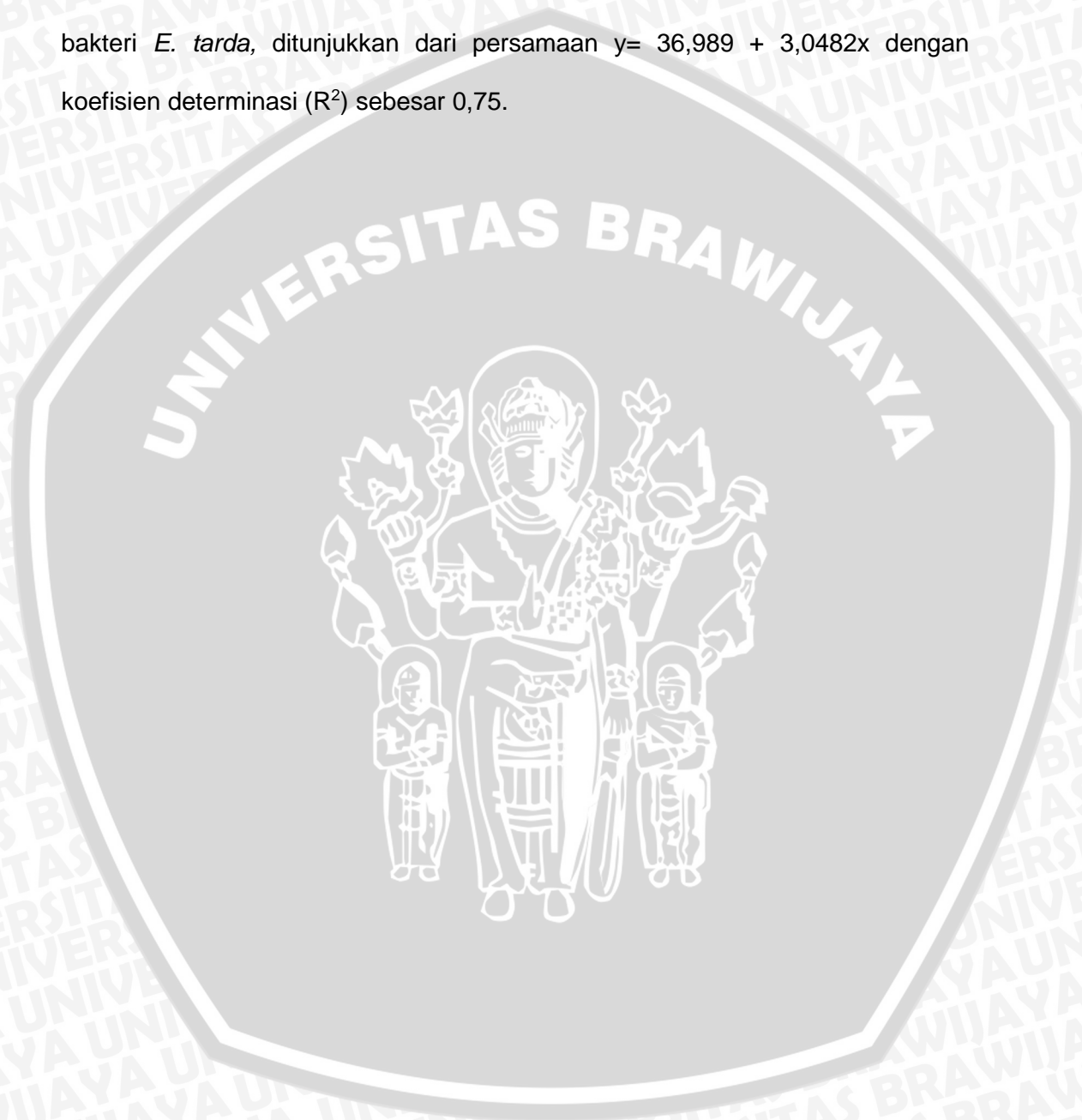
Perlakuan	Rerata	A=10 <sup>3</sup>	B=10 <sup>8</sup>	C=10 <sup>13</sup>	Notasi
		41,05	71,54	71,54	
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	41,05	-	-	-	a
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	71,54	30,48 **	-	-	b
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	71,54	30,48 **	-	-	b

Keterangan: \*\*=berbeda sangat nyata



**Gambar 28.** Hubungan kelulushidupan ikan Patin dan log dosis pemberian bakteri *L. plantarum*

Berdasarkan grafik regresi pada Gambar 28 menunjukkan grafik yang linear, ditandai dengan semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi nilai kelulushidupan ikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap kelulushidupan Ikan Patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda*, ditunjukkan dari persamaan  $y = 36,989 + 3,0482x$  dengan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,75.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Bakteri *Lactobacillus plantarum* pada Hematologi Ikan Patin Jambal (*Pangasius djambal*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*” adalah pemberian bakteri *L. plantarum* berpengaruh terhadap eritrosit, leukosit, hematokrit dan hemoglobin Ikan Patin Jambal (*P. djambal*) yang diinfeksi bakteri *E. tarda* dengan dosis terbaik adalah perlakuan B ( $10^8$  CFU/ml) berdasarkan dari hasil uji BNT yang dilakukan.

### 5.2. Saran

Saran yang dapat penulis sampaikan adalah perlunya pemakaian bakteri *L. plantarum* sebagai upaya pencegahan infeksi *E. tarda* pada Ikan Patin Jambal (*P. djambal*) dengan dosis terbaik pada penelitian ini yaitu perlakuan B ( $10^8$  CFU/ml) pada skala yang lebih besar.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian hama dan penyakit ikan. Kanisius. Yogyakarta. 92 hal.
- Andayani, S., Marsoedi, E. Sanoesi, A. E. Wilujeng dan H. Suprastiani. 2014. Profil hematologis beberapa spesies ikan air tawar budidaya. National Conference Green Technology. 1-3.
- Andriyanto, S., Haririah, Y. Yulianti, S.H.I Purnomo, S.T. Astuti, Nurlaila, T. Samudro dan B.P. Priosoeryanto. 2009. Deteksi *Edwardsiella tarda* secara imunohistokimia pada ikan patin (*Pangasius pangasius*). *Indonesian Journal of Veterinary Science and Medicine*. **1**(1): 7-12.
- Aqil, H., D. Risdianto dan I. Hartati. 2015. Isolasi dan pengayaan bakteri *Lactobacillus* dari rumen sapi. *Momentum*. **11**(2): 93-98.
- Arifin, H., W. Nofiza dan Elisma. 2012. Pengaruh pemberian jus buah naga *Hylocereus undatus* (haw.) britt&rose terhadap jumlah hemoglobin, eritrosit dan hematokrit pada mencit putih betina. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. **17**(2): 118-125.
- Atira. 2009a. Pengaruh pemberian konsentrasi inokulum *Lactobacillus plantarum* terhadap tingkat kelangsungan hidup ikan patin (*Pangasius hypophthalmus Sauvage*). *J. Agroland*. **16**(2): 98-102.
- \_\_\_\_\_. 2011b. Tingkat keganasan saprolegnia parasitica pada ikan patin (*Pangasius hypophthalmus Sauvage*) dan tindakan kuratif alaminya dengan *Lactobacillus plantarum*. *Biocelebes*. **5**(1): 56-70.
- Buller, N.B. 2014. Bacteria and fungi from fish and other aquatic animal: a practical identification manual. Departement of Agriculture and Food Western. Australia.
- Burhanuddin, A.I. 2014. Iktiologi, Ikan dan Segala Aspek Kehidupannya. Deepublish. Yogyakarta. 421 hal.
- Doan, H., S.H. Hoseinifar, W. Tapingkae, S. Tongsiri and P. Khamtavee. 2016. Combined administration of low molecular weight sodium alginate boosted immunomodulatory, disease resistance and growth enhancing effects of *Lactobacillus plantarum* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. **58**:678-685.
- Firma, R.R. Amalia, U. Sari, C. Chusbul dan A. A. Siregar. 2012. Deteksi *Edwardsiella tarda* pada ikan lele (*Clarias* sp.) dengan metode *fluorescent antibody technique* (FAT). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **11**(1):96-102.

- Garrity, G.M., J.A. Bell and T.G. Lilburn. 2004. Taxonomic outline of the prokaryotes bergey's manual of systematic bacteriology, second edition. Springer. New York. 399 hal.
- Gibson, J. 1981. Fisiologi dan anatomi untuk perawat. EGC. Jakarta. 405 hal.
- Giri, S. S., V. Sukumaran and M. Oviya. 2013. Potential probiotik *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish and Shellfish immunology*. **34**: 660-666.
- Hartati, A.S. 2015. Peran mikrobiologi dalam bidang kesehatan. Andi Publisher. Yogyakarta. 114 hal.
- Harper, H.A., V. W. Rodwell and P. A. Mayes. 1977. Review of physiological chemistry. Lange Medical Publications. California. 316 p.
- Health, A.G. 1995. Water Pollution and Fish Physiology. CRC Press. Florida. 597 hal.
- Houghland, G.T., A. Ronneseth and H.I. Wergeland. 2014. Flow cytometry analyses of phagocytic and respiratory burst activities and cytochemical characterization of leucocytes isolated from wrasse (*Labrus bergylta* A.). *Fish and Shellfish Immunology*. **39**:51-60.
- Hui, Y.H. and G. G. Khachatourians. 1995. Food Biotechnology: Microorganism. Willey-VCH. Canada. 664 p.
- Khairuman. 2007. Budidaya patin super. Agromedia Pustaka. Jakarta. 134 hal.
- \_\_\_\_\_ dan D. Sudenda. 2009. Budidaya patin secara intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 116 hal.
- Kholifah. 2014. Uji Aktivitas ekstrak etanol dan ekstrak air buah pare (*Momordica charantia* L) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Edwardsiella tarda* penyebab penyakit *edwardsiellosis* pada ikan. Skripsi. UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Kusuma, E. F. 2010. Analisa pH optimum untuk perkembangbiakan *Lactobacillus bulgaricus* Dalam proses fermentasi fruktosa pada susu menjadi asam laktat. Tugas Akhir DIII. FT UNDIP. Semarang.
- Larasati, S. 2014. Pengaruh motivasi kerja terhadap kinerja karyawan wilayah Telkom Jabar Barat Utara (witel Bekasi). *Jurnal Manajemen dan Organisasi*. **5**(3):200-213.
- Lee, J., H. Cheng, D. Damte, S. Lee, J. Kim, M. Rhee, J. Suh and S. Park. 2013. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus pentosus* PL11 on the growth performance, immune and antioxidant systems of Japanese eel *Anguilla japonica* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Fish & Shellfish*



*Immunology*. **34**:756-761.

Lukistyowati, I. 2012. Studi efektifitas sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) untuk mencegah penyakit *edwardsiellosis* pada ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*. **40**(2): 56-74.

Maftuch, H. Nursyam dan Sukarni. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap hematologi ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J.Exp. Life Sci.* **2**(2): 65-69.

Mahyuddin, K. 2010. Panduan Lengkap Agribisnis Patin. Penebar Swadaya. Jakarta. 216 hal.

Munasir, Z. 2001. Respons imun terhadap infeksi bakteri. *Sari Pediatri*. **2**(4):193-197.

Marzuki. 1986. Metodologi Riset. Hanindita Offset. Yogyakarta. 130 hal.

Murtidjo, B. A. 2003. Pemotongan dan Penanganan Daging Ayam. Kanisius. Yogyakarta. 90 hal.

Parker, S. 1995. Ilmu Kedokteran. Buku Dorling Kindersley. 199 hal.

Pratisto, A. 2004. Cara Mudah Mengatasi Masalah Statistik dan Rancangan Percobaan dengan SPSS 12. Elex Media Komputindo. Jakarta.

Praptomo, A. J. 2016. Metodologi Kesehatan Teknologi Laboratorium Medik dan Bidang Kesehatan Lainnya. Deepublish. Yogyakarta. 115 hal.

Putra, A. N. 2015. Gambaran darah ikan patin (*Pangasius* sp.) dengan penambahan prebiotik pada pakan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan*. **4**(1): 63-69.

Rachmawati, F.N., U. Susilo dan Y. Sistina. 2010. Respon fisiologi ikan nila, *Oreochromis niloticus*, yang distimulasi dengan daur pemuasaan dan pemberian pakan kembali. *Seminar Nasional Biologi*. 492-499.

Rahmaningsih, S. 2016. Hama dan Penyakit Ikan. Deepublish Publisher. Yogyakarta. 352 hal.

Sabiston. 1992. Buku Ajar Bedah. EGC. Jakarta. 593 hal.

Sahetapy, J. M. F. 2012. Dampak toksisitas sub kronis logam berat timbal (Pb) terhadap respons hematologi dan pertumbuhan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Manajemen Sumberdaya Perairan*. **8**(1): 1-69.

Sartini, Habibie, D. Fatiah, D.D. Astuti dan W. Hasmita. 2011. Pengaruh pemberian bakteri probiotik indigenus terhadap aktivitas imunoglobulin g



(IgG) dan imunoglobulin m (IgM) pada mencit (*Mus musculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. **15**(3):10-12.

Satyantini, W. H., Sukenda, E. Harris dan N. B. P. Utomo. 2014. Pemberian fikosianin spirulina meningkatkan jumlah sel darah, aktivitas fagositosis, dan pertumbuhan ikan kerapu bebek juvenile. *Jurnal Veteriner*. **15**(1): 46-56.

Setiawan, B. S. 2010. Membuat pupuk kandang secara cepat. Penebar swadaya. Jakarta. 69 hal.

Sihono, D. 2014. Toksisitas tembaga (cu) terhadap hematologi, bioakumulasi, sintasan dan pertumbuhan juvenil ikan patin (*Pangasius* sp). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hal.

Sulistijowati, R dan L. Mile. 2015. Efektivitas penghambatan filtrat asam laktat *Lactobacillus* sp. hasil isolasi dari usus ikan bandeng (*Chanos chanos*) terhadap bakteri pathogen. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Negeri Gorontalo*. 1-5.

Sumardjo, D. 2006. Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta. EGC. Jakarta. 650 hal.

Supriadi I., J. Santoso dan S. S. Adji. 2014. Viabilitas dan patogenitas *Edwardsiella tarda* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibekukan pada suhu -20°C. *Jurnal Manajemen Perikanan dan Kelautan*. **1**(1): 1-13.

Triana, E., E. Yulianto dan N. Nurhidayat. 2006. Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. mar 8 terenkapsulasi. *Biodiversitas*. **7**(2): 114 – 117.

Wahjuningrum, D., N Ashry dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan ekstrak daun ketapang *terminalia cattapa* untuk pencegahan dan pengobatan ikan patin *Pangasionodon hypophthalmus* yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7**(1): 79–94.

\_\_\_\_\_, M. N. Ikhsan, Sukenda dan Y. Evan. 2014. Penggunaan ekstrak kunyit sebagai pengendali infeksi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan lele. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **13**(1): 1–10.

Widodo, U. 2006. analisis pengaruh gaya kepemimpinan dan kepuasan kerja terhadap kinerja bawahan (studi empiris pada perguruan tinggi swasta di Kota Semarang). *Fokus Ekonomi*. **1**(2):92-108.

Woo, P.T.K dan W. Bruno. 2006. Fish Diseases and Disorders. Cabi. USA. 513 hal.

Yulinery, T dan N. Nurhidayat. 2012. Analisis viabilitas probiotik *Lactobacillus* terenkapsulasi dalam penyalut dekstrin dan jus markisa (*Passiflora*

edulis). *J. Tek. Ling.* **13**(1):109-121.









Yulvizar, C., I. Dewiyanti dan C. N. Defira. 2014. Seleksi bakteri berpotensi probiotik dari ikan mas (*Cyprinus carpio*) indogenous jantho berdasarkan aktivitas antibakteri secara in vitro. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia.* **6**(2): 44-48.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat Penelitian

	
<p>Pipet thoma dan haemocytometer</p>	<p>Tube darah</p>
	
<p>Nampan</p>	<p>Mikroskop</p>
	
<p>Autoclave</p>	<p>Lemari pendingin</p>
	
<p>Haemometer set</p>	<p>Hotplate</p>





Timbangan digital



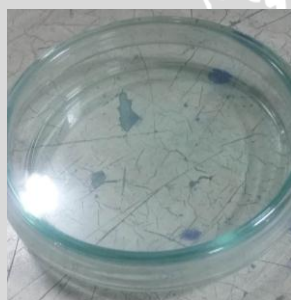
Total plate count



Spektrofotometer



Washing Bottle



Cawan petri



Erlenmeyer



Tabung reaksi dan rak tabung



Sentrifuge darah



Bunsen



Spatula



Air pump



Beaker glass, blue tip dan yellow tip



Mikro pipet



Cuvet



Vortex



Sprayer



Lampiran 2. Bahan-bahan Penelitian



Pipet hematokrit dan malam



Ikan Patin



Plastik wrap



Akuades



Na Sitrata



TURK



HAYEM



SUIT





Alumunium foil



Tisu



Alkohol



Sarung tangan



Masker

**Lampiran 3. Data Eritrosit Ikan Patin**

- **Data tanpa dikonversi dengan log**

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml) Jam-0

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	187,00	12,53	212,00	12,53	200,00
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	249,00	11,02	269,00	11,02	261,67
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	284,00	34,67	302,00	34,67	273,67

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml) Jam-12

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	166,00	153,00	180,00	13,50	166,33
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	236,00	251,00	240,00	7,77	242,33
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	289,00	251,00	264,00	19,31	268,00

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml) Jam-24

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	87,00	79,00	103,00	12,22	89,67
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	245,00	227,00	242,00	9,64	238,00
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	270,00	277,00	252,00	12,90	266,33

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml) Jam-36

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	43,00	55,00	106,00	33,45	68,00
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	249,00	246,00	263,00	9,07	252,67
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	269,00	259,00	283,00	12,06	270,33

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml)

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
	A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	200,00	166,33	89,67
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	261,67	242,33	238,00	252,67
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	273,67	268,00	266,33	270,33

Eritrosit (x 10<sup>4</sup> sel/ml) Kontrol

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
K (-)	117,00	189,00	234,00	59,02	180,00
K (+)	44,00	50,00	57,00	6,51	50,33

• Data yang dikonversi dengan log

Log eritrosit (sel/ml) Jam-0

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,27	2,30	2,33	0,03	2,30
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,40	2,43	2,43	0,02	2,42
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,45	2,37	2,48	0,06	2,43

Log eritrosit (sel/ml) Jam-12

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,22	2,18	2,26	0,04	2,22
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,37	2,40	2,38	0,01	2,38
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,46	2,40	2,42	0,03	2,43

Log eritrosit (sel/ml) Jam-24

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,94	1,90	2,01	0,06	1,95
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,39	2,36	2,38	0,02	2,38
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	2,44	2,40	0,02	2,43

Log eritrosit (sel/ml) Jam-36

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,63	1,74	2,03	0,20	1,80
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,40	2,39	2,42	0,02	2,40
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	2,41	2,45	0,02	2,43

Log eritrosit (sel/ml)

Perlakuan	0	12	24	36
	Jam	Jam	Jam	Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,30	2,22	1,95	1,80
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,42	2,38	2,38	2,40
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,30	2,22	1,95	1,80

Log eritrosit (sel/ml) Kontrol

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
K (-)	2,07	2,28	2,37	0,15	2,24
K (+)	1,64	1,70	1,76	0,06	1,70



#### Lampiran 4. Analisa Sidik Ragam Log Eritrosit

##### • Pengamatan Eritrosit Jam Ke 0

##### a. Data Rerata

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,27	2,30	2,33	6,90	2,30
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,40	2,43	2,43	7,25	2,42
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,45	2,37	2,48	7,30	2,43
Total	7,12	7,10	7,24	21,46	
Rerata	2,37	2,37	2,41		

##### b. Uji Sidik Ragam

Faktor Koreksi = 51,16

Jumlah Kuadrat Total = 0,04

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,03

Jumlah Kuadrat Galat = 0,01

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,02

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,03	0,02	11,14 **	5,14	6,37
Galat	6,00	0,01	0,00			
Total	8,00	0,04				

##### c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED = 0,03

BNT 5% = 0,065618

BNT 1% = 0,09942

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,30	-	-	-	a
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,42	0,12 **	-	-	b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	0,13 **	0,02 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Eritrosit Jam Ke 12**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,22	2,18	2,26	6,66	2,22
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,37	2,40	2,38	7,15	2,38
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,46	2,40	2,42	7,28	2,43
Total	7,05	6,98	7,06	21,10	
Rerata	2,35	2,33	2,35		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 49,44

Jumlah Kuadrat Total = 0,08

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,07

Jumlah Kuadrat Galat = 0,00

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,04

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,07	0,04	44,92 **	5,14
Galat	6,00	0,00	0,00		6,37
Total	8,00	0,08			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,02

BNT 5% = 0,048928

BNT 1% = 0,074134

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,22	-	2,38	2,43	a
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,38	0,16 **	-	-	b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	0,21 **	0,04 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Eritrosit Jam Ke 24**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,94	1,90	2,01	5,85	1,95
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,39	2,36	2,38	7,13	2,38
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	2,44	2,40	7,28	2,43
Total	6,76	6,70	6,80	20,25	
Rerata	2,25	2,23	2,27		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 45,58

Jumlah Kuadrat Total = 0,42

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,41

Jumlah Kuadrat Galat = 0,01

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,20

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,41	0,20	147,48 **	5,14	6,37
Galat	6,00	0,01	0,00			
Total	8,00	0,42				

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,03

BNT 5% = 0,064497

BNT 1% = 0,097723

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
		1,95	2,38	2,43	
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,95	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,38	0,43 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	0,48 **	0,05 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"



• **Pengamatan Eritrosit Jam Ke 36**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,63	1,74	2,03	5,40	1,80
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,40	2,39	2,42	7,21	2,40
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	2,41	2,45	7,29	2,43
Total	6,46	6,54	6,90	19,90	
Rerata	2,15	2,18	2,30		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 44,01

Jumlah Kuadrat Total = 0,85

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,76

Jumlah Kuadrat Galat = 0,08

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,38

Kuadrat Tengah Galat = 0,01

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
					0,05 0,01
Perlakuan	2,00	0,76	0,38	27,50 **	5,14 6,37
Galat	6,00	0,08	0,01		
Total	8,00	0,85			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,08

BNT 5% = 0,203839

BNT 1% = 0,308846

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,80	-	2,40	2,43	a
B ( $10^8$ CFU/ml)	2,40	0,60 **	-	-	b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	2,43	0,63 **	0,03 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*"="berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

**Lampiran 5. Data Leukosit Ikan Patin**

- **Data tanpa dikonversi dengan log**

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml) Jam-0

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	39,45	35,25	38,10	2,14	37,60
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	41,95	49,85	44,80	4,00	45,53
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	51,95	53,65	42,95	5,75	49,52

A (10<sup>3</sup> CFU/ml)

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml) Jam-24

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	140,95	145,55	168,55	14,79	151,68
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	51,05	52,00	50,50	0,76	51,18
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	53,45	55,00	53,25	0,96	53,90

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml)

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
	A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	37,60	97,60	151,68
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	45,53	47,32	51,18	49,68
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	49,52	51,88	53,90	53,18

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml) Jam-12

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	98,85	93,40	100,55	3,74	97,60
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	45,00	54,35	42,60	6,21	47,32
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	54,85	54,90	45,90	5,18	51,88

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml) Jam-36

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A (10 <sup>3</sup> CFU/ml)	185,00	174,90	189,05	7,29	182,98
B (10 <sup>8</sup> CFU/ml)	48,85	48,60	51,60	1,66	49,68
C (10 <sup>13</sup> CFU/ml)	48,90	58,95	51,70	5,19	53,18

Leukosit (x 10<sup>3</sup> sel/ml) Kontrol

Perlakuan	1	2	3	Std Dev	Rerata
	K (-)	32,55	36,8		
K (+)	155,4	180,65	174,25	13,13	170,1

• Data yang dikonversi dengan log

Log leukosit (sel/ml) Jam-0

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,60	1,55	1,58	0,03	1,57
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,62	1,70	1,65	0,04	1,66
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,72	1,73	1,63	0,05	1,69

Log leukosit (sel/ml) Jam-12

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,99	1,97	2,00	0,02	1,99
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,65	1,74	1,63	0,06	1,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,74	1,74	1,66	0,04	1,71

Log leukosit (sel/ml) Jam-24

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,15	2,16	2,23	0,04	2,18
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,71	1,72	1,70	0,01	1,71
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,73	1,74	1,73	0,01	1,73

Log leukosit (sel/ml) Jam-36

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,27	2,24	2,28	0,02	2,26
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,69	1,69	1,71	0,01	1,70
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,69	1,77	1,71	0,04	1,72

Log leukosit (sel/ml)

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
	A ( $10^3$ CFU/ml)	1,57	1,99	2,18
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,66	1,67	1,71	1,70
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,69	1,71	1,73	1,72

Log leukosit (sel/ml) Kontrol

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
K (-)	1,51	1,57	1,58	0,04	35,83
K (+)	2,19	2,26	2,24	0,03	170,10



## Lampiran 6. Analisa Sidik Ragam Log Leukosit

### • Pengamatan Leukosit Jam Ke 0

#### a. Data Rerata

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,60	1,55	1,58	4,72	1,57
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,62	1,70	1,65	4,97	1,66
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,72	1,73	1,63	5,08	1,69
Total	4,93	4,97	4,87	14,77	
Rerata	1,64	1,66	1,62		

#### b. Uji Sidik Ragam

Faktor Koreksi = 24,25

Jumlah Kuadrat Total = 0,03

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,02

Jumlah Kuadrat Galat = 0,01

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,01

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,02	0,01	6,90 **	5,14
Galat	6,00	0,01	0,00		6,37
Total	8,00	0,03			

#### c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED = 0,03

BNT 5% = 0,069083

BNT 1% = 0,104671

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,57	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,66	0,08 *	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,69	0,12 **	0,04 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Leukosit Jam Ke 12**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,99	1,97	2,00	5,97	1,99
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,65	1,74	1,63	5,02	1,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,74	1,74	1,66	5,14	1,71
Total	5,39	5,45	5,29	16,13	
Rerata	1,80	1,82	1,76		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 28,89

Jumlah Kuadrat Total = 0,19

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,18

Jumlah Kuadrat Galat = 0,01

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,09

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,18	0,09	49,74 **	5,14
Galat	6,00	0,01	0,00		6,37
Total	8,00	0,19			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,03

BNT 5% = 0,07318

BNT 1% = 0,11088

Perlakuan	Rerata	B= $10^8$	C= $10^{13}$	A= $10^3$	Notasi
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,67	-			a
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,71	0,04 <sup>ns</sup>	-		a
A ( $10^3$ CFU/ml)	1,99	0,32 <sup>**</sup>	0,28 <sup>**</sup>	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Leukosit Jam Ke 24**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,15	2,16	2,23	6,54	2,18
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,71	1,72	1,70	5,13	1,71
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,73	1,74	1,73	5,19	1,73
Total	5,59	5,62	5,66	16,86	
Rerata	1,86	1,87	1,89		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 31,59

Jumlah Kuadrat Total = 0,43

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,42

Jumlah Kuadrat Galat = 0,00

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,21

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,42	0,21	349,36 **	5,14
Galat	6,00	0,00	0,00		6,37
Total	8,00	0,43			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,02

BNT 5% = 0,042554

BNT 1% = 0,064475

Perlakuan	Rerata	B= $10^8$	C= $10^{13}$	A= $10^3$	Notasi
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,71	-	-	-	a
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,73	0,02 ns	-	-	a
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,18	0,47 **	0,45 **	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"



• **Pengamatan Leukosit Jam Ke 36**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,27	2,24	2,28	6,79	2,26
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,69	1,69	1,71	5,09	1,70
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,69	1,77	1,71	5,17	1,72
Total	5,65	5,70	5,70	17,05	
Rerata	1,88	1,90	1,90		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 32,29

Jumlah Kuadrat Total = 0,61

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 0,61

Jumlah Kuadrat Galat = 0,00

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,31

Kuadrat Tengah Galat = 0,00

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2,00	0,61	0,31	407,16 **	5,14	6,37
Galat	6,00	0,00	0,00			
Total	8,00	0,61				

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,02

BNT 5% = 0,047374

BNT 1% = 0,071779

Perlakuan	Rerata	B= $10^8$	C= $10^{13}$	A= $10^3$	Notasi
B ( $10^8$ CFU/ml)	1,70	-	-	-	a
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	1,72	0,03 ns	-	-	a
A ( $10^3$ CFU/ml)	2,26	0,57 **	0,54 **	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

## Lampiran 7. Data Hematokrit Ikan Patin

Hematokrit (%) Jam-0

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	28,00	26,00	25,00	1,53	26,33
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,00	32,00	32,00	0,58	31,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	36,00	34,00	35,00	1,00	35,00

Hematokrit (%) Jam-12

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	25,00	23,00	23,00	1,15	23,67
B ( $10^8$ CFU/ml)	30,00	29,00	27,00	1,53	28,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	32,00	31,00	30,00	1,00	31,00

Hematokrit (%) Jam-24

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	16,00	19,00	20,00	2,08	18,33
B ( $10^8$ CFU/ml)	28,00	33,00	30,00	2,52	30,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	32,00	35,00	33,00	1,53	33,33

Hematokrit (%) Jam-36

Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	14,00	16,00	14,00	1,15	14,67
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,00	33,00	30,00	1,53	31,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	36,00	34,00	32,00	2,00	34,00

Hematokrit (%)

Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	26,33	23,67	18,33	14,67
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,67	28,67	30,33	31,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	35,00	31,00	33,33	34,00

Hematokrit (%) Kontrol

Perlakuan	1	2	3	Std Dev	Rerata
K (-)	26,00	28,00	30,00	2,00	28,00
K (+)	11,00	13,00	11,00	1,15	11,67

## Lampiran 8. Analisa Sidik Ragam Hematokrit

### • Pengamatan Hematokrit Jam Ke 0

#### a. Data Rerata

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	28,00	26,00	25,00	79,00	26,33
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,00	32,00	32,00	95,00	31,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	36,00	34,00	35,00	105,00	35,00
Total	95,00	92,00	92,00	279,00	
Rerata	31,67	30,67	30,67		

#### b. Uji Sidik Ragam

Faktor Koreksi = 8649,00

Jumlah Kuadrat Total = 172,00

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 122,00

Jumlah Kuadrat Galat = 7,33

Kuadrat Tengah Perlakuan = 57,33

Kuadrat Tengah Galat = 1,22

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	114,67	57,33	46,91 **	5,14
Galat	6,00	7,33	1,22		6,37
Total	8,00	122,00			

#### c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED = 0,78

BNT 5% = 1,91

BNT 1% = 2,90

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
		26,33	31,67	35,00	
A ( $10^3$ CFU/ml)	26,33	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,67	5,33 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	35,00	8,67 **	3,33 **	-	c

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"



• **Pengamatan Hematokrit Jam Ke 12**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	25,00	23,00	23,00	71,00	23,67
B ( $10^8$ CFU/ml)	30,00	29,00	27,00	86,00	28,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	32,00	31,00	30,00	93,00	31,00
Total	87,00	83,00	80,00	250,00	
Rerata	29,00	27,67	26,67		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 6944,44

Jumlah Kuadrat Total = 93,56

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 84,22

Jumlah Kuadrat Galat = 9,33

Kuadrat Tengah Perlakuan = 42,11

Kuadrat Tengah Galat = 1,56

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	84,22	42,11	27,07 **	5,14
Galat	6,00	9,33	1,56		6,37
Total	8,00	93,56			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,88

BNT 5% = 2,16

BNT 1% = 3,27

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	23,67	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	28,67	5,00 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	31,00	7,33 **	2,33 *	-	c

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Hematokrit Jam Ke 24**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	16,00	19,00	20,00	55,00	18,33
B ( $10^8$ CFU/ml)	28,00	33,00	30,00	91,00	30,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	32,00	35,00	33,00	100,00	33,33
Total	76,00	87,00	83,00	246,00	
Rerata	25,33	29,00	27,67		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 6724,00

Jumlah Kuadrat Total = 404,00

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 378,00

Jumlah Kuadrat Galat = 26,00

Kuadrat Tengah Perlakuan = 189,00

Kuadrat Tengah Galat = 4,33

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
					0,05 0,01
Perlakuan	2,00	378,00	189,00	43,62 **	5,14 6,37
Galat	6,00	26,00	4,33		
Total	8,00	404,00			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 1,47

BNT 5% = 3,60

BNT 1% = 5,46

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
		18,33	30,33	33,33	
A ( $10^3$ CFU/ml)	18,33	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	30,33	12,00 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	33,33	15,00 **	3,00 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Hematokrit Jam Ke 36**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	14,00	16,00	14,00	44,00	14,67
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,00	33,00	30,00	94,00	31,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	36,00	34,00	32,00	102,00	34,00
Total	81,00	83,00	76,00	240,00	
Rerata	27,00	27,67	25,33		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 6400,00

Jumlah Kuadrat Total = 674,00

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 658,67

Jumlah Kuadrat Galat = 15,33

Kuadrat Tengah Perlakuan = 329,33

Kuadrat Tengah Galat = 2,56

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2,00	658,67	329,33	128,87 **	5,14	6,37
Galat	6,00	15,33	2,56			
Total	8,00	674,00				

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 1,13

BNT 5% = 2,77

BNT 1% = 4,20

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	14,67	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	31,33	16,67 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	34,00	19,33 **	2,67 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda

nyata"



**Lampiran 9. Data Hemoglobin Ikan Patin**

Hemoglobin (gr %) Jam-0					
Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	7,00	6,80	7,20	0,20	7,00
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,60	7,40	8,00	0,31	7,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,80	7,60	8,20	0,31	7,87

Hemoglobin (gr %) Jam-12					
Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	6,00	5,40	5,00	0,50	5,47
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,00	7,60	7,00	0,35	7,20
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,60	7,60	7,40	0,12	7,53

Hemoglobin (gr %) Jam-24					
Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	3,00	4,20	3,40	0,61	3,53
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,40	6,80	7,40	0,35	7,20
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,80	7,80	7,20	0,35	7,60

Hemoglobin (gr %) Jam-36					
Perlakuan	Ulangan			Std Dev	Rerata
	1	2	3		
A ( $10^3$ CFU/ml)	3,20	3,00	4,00	0,53	3,40
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,20	7,00	7,80	0,42	7,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,60	7,40	8,00	0,31	7,67

Hemoglobin (gr %)				
Perlakuan	0 Jam	12 Jam	24 Jam	36 Jam
A ( $10^3$ CFU/ml)	7,00	5,47	3,53	3,40
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,67	7,20	7,20	7,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,87	7,53	7,60	7,67

Hemoglobin (gr %) Kontrol					
Perlakuan	1	2	3	Std Dev	Rerata
K (n)	7,6	7	7,4	0,31	7,333333
K (i)	4	3	3,8	0,53	3,6

## Lampiran 10. Analisa Sidik Ragam Hemoglobin

### • Pengamatan Hemoglobin Jam Ke 0

#### a. Data Rerata

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	7,00	6,80	7,20	21,00	7,00
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,60	7,40	8,00	23,00	7,67
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,80	7,60	8,20	23,60	7,87
Total	22,40	21,80	23,40	67,60	
Rerata	7,47	7,27	7,80		

#### b. Uji Sidik Ragam

Faktor Koreksi = 507,75

Jumlah Kuadrat Total = 1,69

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 1,24

Jumlah Kuadrat Galat = 0,45

Kuadrat Tengah Perlakuan = 0,62

Kuadrat Tengah Galat = 0,08

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
					0,05 0,01
Perlakuan	2,00	1,24	0,62	8,18 **	5,14 6,37
Galat	6,00	0,45	0,08		
Total	8,00	1,69			

#### c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

SED = 0,19

BNT 5% = 0,475594176

BNT 1% = 0,720594482

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
		41,05	71,54	71,54	
A ( $10^3$ CFU/ml)	41,05	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	71,54	30,48 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	71,54	30,48 **	-	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Hemoglobin Jam Ke 12**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	6,00	5,40	5,00	16,40	5,47
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,00	7,60	7,00	21,60	7,20
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,60	7,60	7,40	22,60	7,53
Total	20,60	20,60	19,40	60,60	
Rerata	6,87	6,87	6,47		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 408,04

Jumlah Kuadrat Total = 8,16

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 7,39

Jumlah Kuadrat Galat = 0,77

Kuadrat Tengah Perlakuan = 3,69

Kuadrat Tengah Galat = 0,13

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	7,39	3,69	28,66 **	5,14
Galat	6,00	0,77	0,13		6,37
Total	8,00	8,16			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,25

BNT 5% = 0,621170849

BNT 1% = 0,941164354

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
		7,00	7,67	7,87	
A ( $10^3$ CFU/ml)	7,00	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,67	0,67 *	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,87	0,87 **	0,20 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"



• **Pengamatan Hemoglobin Jam Ke 24**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	3,00	4,20	3,40	10,60	3,53
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,40	6,80	7,40	21,60	7,20
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,80	7,80	7,20	22,80	7,60
Total	18,20	18,80	18,00	55,00	
Rerata	6,07	6,27	6,00		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 336,11

Jumlah Kuadrat Total = 31,37

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 30,14

Jumlah Kuadrat Galat = 1,23

Kuadrat Tengah Perlakuan = 15,07

Kuadrat Tengah Galat = 0,20

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel
				0,05	0,01
Perlakuan	2,00	30,14	15,07	73,72 **	5,14 6,37
Galat	6,00	1,23	0,20		
Total	8,00	31,37			

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,32

BNT 5% = 0,782331799

BNT 1% = 1,185346678

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	5,47	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,20	1,73 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,53	2,07 **	0,33 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

• **Pengamatan Hemoglobin Jam Ke 36**

**a. Data Rerata**

Perlakuan	1	2	3	Total	Rerata
A ( $10^3$ CFU/ml)	3,20	3,00	4,00	10,20	3,40
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,20	7,00	7,80	22,00	7,33
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,60	7,40	8,00	23,00	7,67
Total	18,00	17,40	19,80	55,20	
Rerata	6,00	5,80	6,60		

**b. Uji Sidik Ragam**

Faktor Koreksi = 338,56

Jumlah Kuadrat Total = 34,88

Jumlah Kuadrat Perlakuan = 33,79

Jumlah Kuadrat Galat = 1,09

Kuadrat Tengah Perlakuan = 16,89

Kuadrat Tengah Galat = 0,18

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	2,00	33,79	16,89	92,71 **	5,14	6,37
Galat	6,00	1,09	0,18			
Total	8,00	34,88				

**c. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)**

SED = 0,30

BNT 5% = 0,738590974

BNT 1% = 1,119072954

Perlakuan	Rerata	A= $10^3$	B= $10^8$	C= $10^{13}$	Notasi
A ( $10^3$ CFU/ml)	3,40	-			a
B ( $10^8$ CFU/ml)	7,33	3,93 **	-		b
C ( $10^{13}$ CFU/ml)	7,67	4,27 **	0,33 ns	-	b

Keterangan: "ns=tidak berbeda nyata", "\*=berbeda nyata", "\*\*\*=sangat berbeda nyata"

Lampiran 11. Data Kualitas Air

Tanggal	Nomor Sampel	Pagi			Sore		
		DO (mg/l)	Ph	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Ph	Suhu (°C)
18 Januari 2017	A1				7.62	7.02	26.80
	A2				7.62	6.95	27.10
	A3				7.68	6.94	26.90
	B1				7.66	6.83	26.80
	B2				7.64	6.72	27.20
	B3				7.62	6.88	27.00
	C1				7.67	6.67	27.10
	C2				7.65	6.73	26.80
	C3				7.63	6.66	26.90
	K (-) 1				7.62	7.17	26.90
	K (-) 2				7.65	7.14	27.20
	K (-) 3				7.70	7.19	27.00
	K (+) 1				-	-	-
	K (+) 2				-	-	-
K (+) 3				-	-	-	
19 Januari 2017	A1	7.70	7.00	26.6	7.68	7.05	26.80
	A2	7.82	7.05	26.7	7.71	6.93	26.90
	A3	7.86	6.98	26.6	7.69	6.99	26.80
	B1	7.78	6.62	26.6	7.67	6.65	27.20
	B2	7.70	6.64	26.8	7.62	6.68	26.90
	B3	7.68	6.63	26.5	7.67	6.82	27.20
	C1	7.75	6.73	26.7	7.67	6.82	27.20
	C2	7.79	6.84	26.5	7.73	6.64	27.20
	C3	7.84	6.75	26.8	7.65	6.84	26.80
	K (-) 1	7.87	7.20	26.8	7.70	7.18	26.80
	K (-) 2	7.74	7.18	26.6	7.71	7.14	27.10
	K (-) 3	7.80	7.09	26.7	7.67	7.20	27.00
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
K (+) 3	-	-	-	-	-	-	
20 Januari 2017	A1	7.82	6.95	26.5	7.69	6.91	27.00
	A2	7.82	6.91	26.8	7.61	6.99	27.20
	A3	7.77	7.09	26.7	7.63	7.01	27.10
	B1	7.77	6.81	26.8	7.64	6.66	26.90
	B2	7.80	6.89	26.5	7.60	6.74	27.10
	B3	7.77	6.83	26.7	7.63	6.89	26.90
	C1	7.67	6.70	26.5	7.70	6.64	27.10
	C2	7.77	6.87	26.7	7.64	6.69	27.00



	C3	7.67	6.76	26.5	7.63	6.73	26.80
	K (-) 1	7.69	7.17	26.8	7.63	7.14	27.00
	K (-) 2	7.74	7.18	26.5	7.62	7.18	27.00
	K (-) 3	7.87	7.16	26.7	7.67	7.14	27.00
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
	K (+) 3	-	-	-	-	-	-
	A1	7.82	7.03	26.7	7.73	6.92	27.10
	A2	7.69	7.05	26.6	7.69	7.01	27.10
	A3	7.75	6.95	26.5	7.67	7.08	27.10
	B1	7.70	6.86	26.5	7.71	6.85	27.00
	B2	7.75	6.70	26.5	7.63	6.79	27.00
	B3	7.68	6.63	26.5	7.63	6.82	26.90
21 Januari 2017	C1	7.74	6.82	26.7	7.71	6.85	26.90
	C2	7.79	6.84	26.7	7.61	6.83	26.90
	C3	7.75	6.88	26.7	7.64	6.65	26.90
	K (-) 1	7.87	7.12	26.7	7.65	7.09	27.00
	K (-) 2	7.83	7.18	26.5	7.70	7.11	26.80
	K (-) 3	7.74	7.19	26.6	7.70	7.20	27.20
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
	K (+) 3	-	-	-	-	-	-
	A1	7.83	7.05	26.7	7.66	7.10	26.80
	A2	7.81	7.03	26.7	7.68	7.02	27.00
	A3	7.69	7.03	26.8	7.62	7.05	27.20
	B1	7.74	6.63	26.5	7.65	6.63	27.00
	B2	7.71	6.73	26.7	7.72	6.78	26.90
	B3	7.74	6.76	26.5	7.60	6.84	27.20
22 Januari 2017	C1	7.75	6.61	26.8	7.62	6.74	26.80
	C2	7.75	6.77	26.5	7.64	6.83	26.90
	C3	7.68	6.63	26.7	7.62	6.68	26.80
	K (-) 1	7.77	7.09	26.8	7.70	7.16	26.90
	K (-) 2	7.84	7.19	26.5	7.70	7.13	26.90
	K (-) 3	7.73	7.13	26.6	7.63	7.15	27.20
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
	K (+) 3	-	-	-	-	-	-
	A1	7.78	6.97	26.6	7.70	6.96	26.90
	A2	7.84	6.92	26.8	7.66	7.05	26.80
	A3	7.78	6.91	26.8	7.60	6.95	26.90
23 Januari 2017	B1	7.74	6.86	26.8	7.67	6.80	27.10
	B2	7.77	6.77	26.5	7.62	6.61	27.00
	B3	7.74	6.78	26.6	7.63	6.66	27.00
	C1	7.76	6.75	26.8	7.68	6.73	26.80
	C2	7.67	6.68	26.6	7.70	6.61	27.10
	C3	7.84	6.78	26.6	7.68	6.84	27.00

	K (-) 1	7.83	7.13	26.8	7.67	7.17	26.90
	K (-) 2	7.79	7.16	26.8	7.70	7.11	27.00
	K (-) 3	7.79	7.15	26.6	7.69	7.14	27.10
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
	K (+) 3	-	-	-	-	-	-
	A1	7.68	6.92	26.8	7.60	6.98	27.10
	A2	7.77	7.08	26.5	7.64	7.02	26.80
	A3	7.75	6.99	26.7	7.62	7.01	27.00
	B1	7.86	6.88	26.7	7.65	6.76	27.20
	B2	7.83	6.70	26.6	7.72	6.68	26.90
	B3	7.70	6.89	26.5	7.64	6.64	27.10
24 Januari 2017	C1	7.75	6.89	26.5	7.67	6.86	27.10
	C2	7.75	6.86	26.7	7.65	6.85	26.90
	C3	7.77	6.71	26.7	7.66	6.66	27.00
	K (-) 1	7.74	7.15	26.5	7.60	7.10	27.10
	K (-) 2	7.80	7.15	26.7	7.61	7.16	27.00
	K (-) 3	7.82	7.19	26.5	7.61	7.17	26.90
	K (+) 1	-	-	-	-	-	-
	K (+) 2	-	-	-	-	-	-
	K (+) 3	-	-	-	-	-	-
		A1	7.68	6.92	26.7	7.63	7.05
	A2	7.76	7.10	26.8	7.64	7.05	26.90
	A3	7.86	6.96	26.5	7.73	6.94	27.10
	B1	7.76	6.75	26.6	7.69	6.88	27.10
	B2	7.84	6.85	26.5	7.71	6.82	26.90
	B3	7.76	6.76	26.8	7.72	6.88	26.90
25 Januari 2017	C1	7.77	6.70	26.8	7.73	6.85	26.90
	C2	7.85	6.63	26.6	7.72	6.75	27.10
	C3	7.70	6.82	26.5	7.62	6.87	27.20
	K (-) 1	7.78	7.10	26.5	7.71	7.17	27.10
	K (-) 2	7.74	7.12	26.6	7.71	7.13	26.80
	K (-) 3	7.71	7.11	26.6	7.71	7.09	27.10
	K (+) 1	-	-	-	7.61	7.10	26.80
	K (+) 2	-	-	-	7.71	7.17	27.10
	K (+) 3	-	-	-	7.71	7.17	27.00
		A1	7.81	6.94	26.7	7.61	6.91
	A2	7.70	7.06	26.6	7.72	7.04	27.10
	A3	7.80	6.96	26.7	7.69	6.91	26.80
	B1	7.79	6.78	26.7	7.66	6.77	26.90
	B2	7.85	6.87	26.8	7.64	6.62	26.80
	B3	7.81	6.85	26.6	7.68	6.83	27.20
26 Januari 2017	C1	7.79	6.71	26.8	7.61	6.88	27.00
	C2	7.85	6.78	26.6	7.62	6.83	27.20
	C3	7.73	6.88	26.7	7.70	6.63	26.90
	K (-) 1	7.79	7.09	26.5	7.66	7.12	26.80



	K (-) 2	7.72	7.17	26.8	7.65	7.12	27.20
	K (-) 3	7.87	7.11	26.7	7.67	7.12	26.80
	K (+) 1	7.82	7.15	26.7	7.63	7.17	26.80
	K (+) 2	7.73	7.14	26.8	7.60	7.12	27.10
	K (+) 3	7.85	7.16	26.7	7.65	7.17	27.00
	A1	7.86	6.98	26.7	7.60	7.05	27.20
	A2	7.79	7.09	26.7	7.61	6.95	27.20
	A3	7.81	7.05	26.7	7.70	7.07	26.80
	B1	7.83	6.64	26.5	7.68	6.87	26.80
	B2	7.86	6.87	26.7	7.73	6.88	27.20
	B3	7.79	6.70	26.5	7.73	6.72	27.10
27 Januari 2017	C1	7.74	6.88	26.6	7.61	6.70	26.80
	C2	7.86	6.67	26.8	7.69	6.64	27.00
	C3	7.75	6.85	26.6	7.61	6.69	26.90
	K (-) 1	7.75	7.10	26.7	7.68	7.20	26.80
	K (-) 2	7.81	7.16	26.7	7.70	7.13	26.90
	K (-) 3	7.73	7.15	26.7	7.62	7.14	26.90
	K (+) 1	7.77	7.18	26.8	7.68	7.16	27.10
	K (+) 2	7.86	7.14	26.5	7.73	7.17	27.00
	K (+) 3	7.87	7.13	26.6	7.64	7.14	27.20
		A1	7.82	7.02	26.6	7.73	7.08
	A2	7.78	6.92	26.7	7.68	7.09	26.90
	A3	7.87	6.92	26.7	7.68	6.98	27.10
	B1	7.83	6.80	26.7	7.63	6.63	26.90
	B2	7.77	6.76	26.7	7.62	6.63	27.10
	B3	7.69	6.86	26.6	7.68	6.61	26.80
28 Januari 2017	C1	7.77	6.86	26.5	7.70	6.77	27.10
	C2	7.72	6.73	26.5	7.71	6.67	26.80
	C3	7.87	6.64	26.5	7.69	6.88	27.10
	K (-) 1	7.88	7.11	26.7	7.73	7.19	27.10
	K (-) 2	7.81	7.11	26.8	7.71	7.13	27.10
	K (-) 3	7.82	7.12	26.8	7.72	7.18	26.80
	K (+) 1	7.86	7.15	26.6	7.73	7.13	27.20
	K (+) 2	7.70	7.13	26.7	7.68	7.16	27.10
	K (+) 3	7.83	7.15	26.6	7.73	7.16	27.20



Lampiran 12. Data Kematian Ikan Selama Pengamatan

Tanggal	Perlakuan	Ulangan		
		1	2	3
18 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	1	1	1
19 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
20 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
21 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
22 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
23 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
24 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
25 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0

26 Januari 2017	A	0	0	0
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	0	0	0
	K (-)	0	0	0
27 Januari 2017	A	1	0	2
	B	0	0	0
	C	0	0	0
	K (+)	1	2	0
	K (-)	0	0	0
28 Januari 2017	A	3	6	5
	B	2	1	1
	C	1	1	1
	K (+)	5	6	5
	K (-)	0	1	0

