

ANALISIS HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DAN IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) MENGGUNAKAN HEMATOLOGY ANALYZER TOOLS DAN SECARA MANUAL DI BALAI BENIH IKAN PENATAAN, PASURUAN, JAWA TIMUR

SKRIPSI

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

Oleh:

**NOVI DWI JAYANTI
NIM. 135080500111052**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

ANALISIS HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DAN IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) MENGGUNAKAN HEMATOLOGY ANALYZER TOOLS DAN SECARA MANUAL DI BALAI BENIH IKAN PENATAAN, PASURUAN, JAWA TIMUR

SKRIPSI

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

**Sebagai Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

**NOVI DWI JAYANTI
NIM. 135080500111052**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**



SKRIPSI

ANALISIS HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DAN IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) MENGGUNAKAN HEMATOLOGY ANALYZER TOOLS DAN SECARA MANUAL DI BALAI BENIH IKAN PENATAAN, PASURUAN, JAWA TIMUR

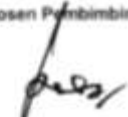
Oleh:
NOVI DWI JAYANTI
NIM. 135080500111052

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal 5 Juli 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II


(Dr. I. Maftuch, M.Si)
NIP. 19660825 199203 1 001
Tanggal: 13 JUL 2018


(Dr. Erlina Sanoesi, MP)
NIP. 19630924 199803 2 001
Tanggal: 13 JUL 2018



Mengetahui:
Ketua Jurusan

(Dr. W. W. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal: 13 JUL 2018

LEMBAR IDENTITAS PENGUJI

Judul : **ANALISIS HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DAN IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) MENGGUNAKAN HEMATOLOGY ANALYZER TOOLS DAN SECARA MANUAL DI BALAI BENIH IKAN PENATAAN, PASURUAN, JAWA TIMUR**

Nama Mahasiswa : NOVI DWI JAYANTI

NIM : 135080500111052

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing 1 : Dr. Ir. Maftuch, M.Si

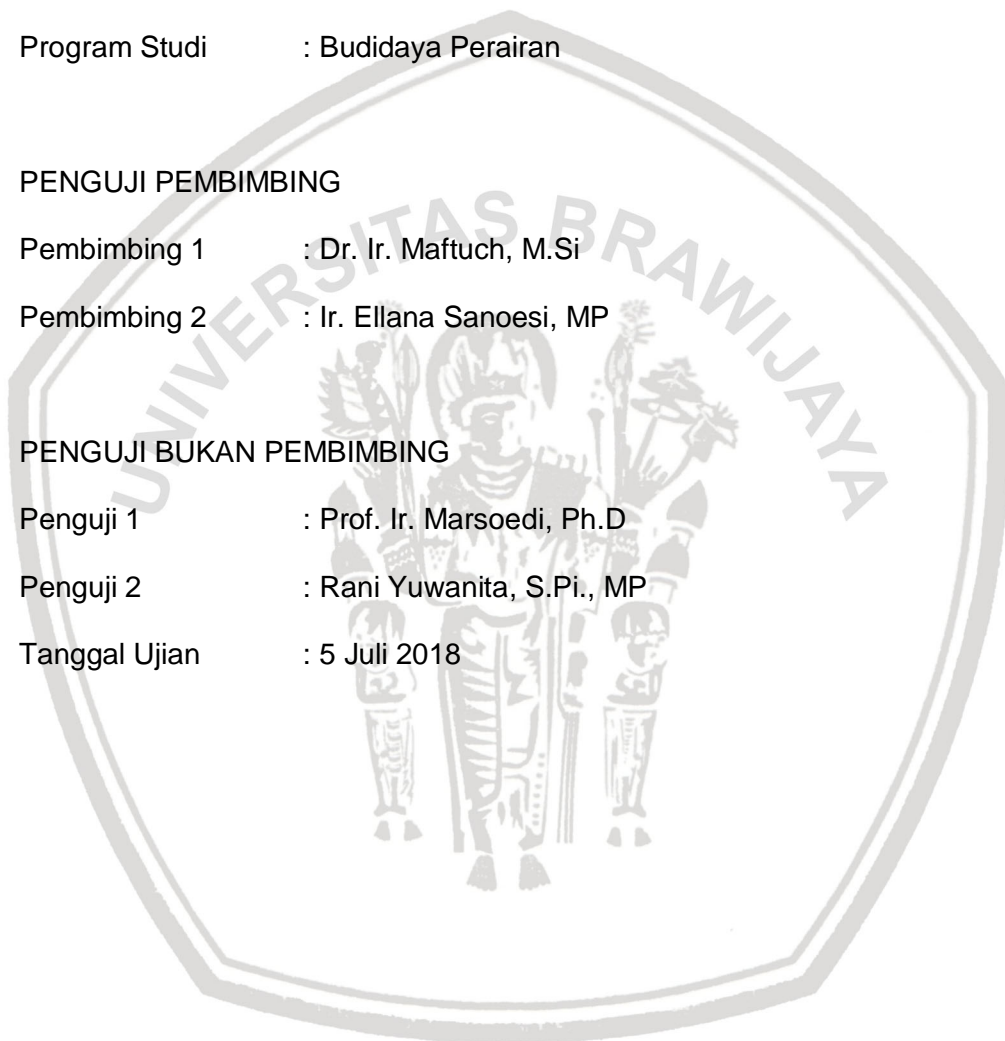
Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Penguji 1 : Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D

Penguji 2 : Rani Yuwanita, S.Pi., MP

Tanggal Ujian : 5 Juli 2018



DAFTAR RIWAYAT HIDUP



NOVI DWI JAYANTI adalah nama penulis skripsi ini. Penulis lahir dari orang tua sebagai anak kedua dari dua bersaudara. Penulis dilahirkan di Sidoarjo, Jawa Timur pada tanggal 12 November 1994. Penulis menempuh pendidikan dimulai dari SD Negeri Ganggang Panjang, Sidoarjo (lulus tahun 2007),

melanjutkan ke SMP Negeri 1 Tulangan (lulus tahun 2010), kemudian ke SMA Muhammadiyah 3 Tulangan (lulus tahun 2013) dan Universitas Brawijaya, Malang hingga akhirnya bisa menempuh masa kuliah strata 1 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Program Studi Budidaya Perairan.

Dengan ketekunan, motivasi tinggi untuk terus belajar dan berusaha, penulis telah berhasil menyelesaikan laporan skripsi ini. Semoga dengan penulisan skripsi ini mampu memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan.

Akhir kata penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya atas terselenggaranya skripsi yang berjudul "Analisis Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur".

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi tentang “Analisis Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur”, yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya dan pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Malang, Juli 2018

Novi Dwi Jayanti
135080500111052

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan puja dan puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ayah Haryono dan Ibu Lik Unis atas segala doa yang tercurah untuk anaknya sehingga laporan skripsi bisa terselesaikan, serta segala dukungan moril dan materiil yang diberikan.
2. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen pembimbing I dan Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing II yang telah memberi dorongan, bimbingan, dan arahan untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D selaku dosen penguji I dan Ibu Rani Yuwanita, S.Pi., MP selaku dosen penguji II yang telah memberi dorongan, bimbingan, dan arahan untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
4. Bapak Noercholis selaku dosen yang memberikan aplikasi yang telah memberi dorongan, bimbingan dan arahan untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
5. Tim Hematologi ikan : Aniek H., Putri J., Sekar D., Rachmad H.A., dan Arizqi F.H. yang telah banyak membantu dan memberi semangat dan teman-teman yaitu Dian Isna, Nanda Perwuri, Chintya Ayu, Putri Anugerah, Siti Badriyah, Dennys, Arigi, Azizah yang telah banyak membantu dan memberi semangat. Serta teman-teman BP angkatan 2013 yang membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Malang, Juli 2018

Penulis

RINGKASAN

Novi Dwi Jayanti. Analisis Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Ir. Ellana Sanoesi, MP**)

Indonesia memiliki sumber daya perikanan yang sangat potensial khususnya perikanan budidaya, potensi perikanan budidaya secara nasional yang terdiri dari perikanan budidaya air tawar, perikanan budidaya air payau dan perikanan budidaya air laut. Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki potensi dapat dibudidayakan karena memiliki daya adaptasi yang tinggi, pertumbuhan yang cepat, efisien dalam memanfaatkan pakan, dan relatif lebih tahan terhadap penyakit. Selain ikan nila yang memiliki potensi untuk dapat dibudidayakan, selain ikan nila, ikan patin merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki beberapa kelebihan, diantaranya pertumbuhan yang cepat, mampu mencapai ukuran besar dan dapat dibudidayakan pada kepadatan tinggi diberbagai wadah. Hematologi sangat erat kaitannya dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran ikan tersebut dalam keadaan sehat atau sakit. Pada saat proses pengamatan sel darah ikan menggunakan mikroskop membutuhkan konsentrasi tinggi yang dapat menyebabkan mata lelah karena mengamati objek kecil dalam jumlah yang banyak. Hal ini dapat mempengaruhi keakuratan hasil perhitungan pada saat pengamatan. Maka perhitungan hasil sel eritrosit dan sel leukosit dihitung menggunakan *hematology analyzer tools*.

Tujuan dari penelitian yaitu untuk mengetahui perbedaan antara hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*) secara manual menggunakan *handtally counter* dan dengan menggunakan *hematology analyzer tools* serta untuk mengetahui gambaran komponen hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan dan Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan divisi Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur pada tanggal 13 Februari - 29 Maret 2018. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode eksperimen yang dapat dibuktikan keilmiahannya (paling valid) dan metode deskriptif digunakan untuk mengetahui gambaran pada objek yang akan diteliti. Metode eksperimen digunakan untuk perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit yang menggunakan uji tabel t. Uji t dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari *tools hematology analyzer* dalam perhitungan sel eritrosit maupun sel leukosit. Sedangkan untuk metode deskriptif digunakan untuk pengamatan diferensial leukosit, hematokrit dan hemoglobin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit pada ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*) dengan menggunakan *tools hematology analyzer* lebih akurat dari pada perhitungan manual menggunakan *handtally counter*. Karena dengan adanya *tools hematology analyzer* maka dapat mempermudah dalam perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit secara cepat. Serta hasil menunjukkan bahwa gambaran komponen hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit, ikan nila masih dalam kisaran normal. Sedangkan hasil penelitian menunjukkan ikan patin nilai hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit tidak dalam kisaran normal.

KATA PENGANTAR

Penulis menyajikan laporan penelitian yang berjudul “Analisis Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Di bawah bimbingan:

1. Dr. Ir. Maftuch, M.Si.
2. Ir. Ellana Sanoesi, MP.

Sangat disadari bahwa dengan keterbatasan yang dimiliki, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran.....	6
2.2 Biologi Ikan Patin (<i>Pangasius pangasius</i>).....	6
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	7
2.3 Hematologi.....	8
2.3.1 Pengertian Hematologi.....	8
2.3.2 Eritrosit.....	8
2.3.3 Leukosit.....	9
2.3.4 Diferensial Leukosit.....	10
2.3.5 Hematokrit.....	14
2.3.6 Hemoglobin.....	15
2.4 Kualitas Air.....	16
2.5 <i>Hematology Analyzer Tools</i>	18

3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Materi Penelitian	19
3.1.1 Alat Penelitian	19
3.1.2 Bahan Penelitian	19
3.2 Metode Penelitian	19
3.3 Prosedur Penelitian	21
3.3.1 Persiapan Penelitian	21
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	21
3.4 Parameter Uji	27
3.4.1 Parameter Utama	27
3.4.2 Parameter Penunjang	27
3.5 Analisis Data	27
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Hematologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	29
4.1.1 Hasil Sel Eritrosit	29
4.1.2 Hasil Sel Leukosit	33
4.1.3 Hasil Diferensial Leukosit	37
4.1.4 Hasil Hematokrit	39
4.1.5 Hasil Hemoglobin	40
4.2 Hasil Hematologi Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	41
4.2.1 Hasil Sel Eritrosit	41
4.2.2 Hasil Sel Leukosit	45
4.2.3 Hasil Diferensial Leukosit	50
4.2.4 Hasil Hematokrit	52
4.2.5 Hasil Hemoglobin Ikan Patin	53
4.3 Parameter Kualitas Air	54
4.4 Kelebihan dan Kekurangan <i>Hematology Analyzer Tools</i>	55
5. KESIMPULAN DAN SARAN	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	5
2. Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	7
3. Eritrosit	9
4. Neutrofil	11
5. Eusinofil	12
6. Basofil	13
7. Limfosit	13
8. Monosit	14
9. Contoh Citra Hasil Foto Sel Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	29
10. Gambar Hasil <i>Processing</i> Sel Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	30
11. Contoh Citra Hasil Foto Sel Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	33
12. Gambar Hasil <i>Processing</i> Sel Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
13. Gambar Diferensial Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
14. Contoh Citra Hasil Foto Sel Eritrosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	42
15. Gambar Hasil <i>Processing</i> Sel Eritrosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	43
16. Contoh Citra Hasil Foto Sel Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	46
17. Gambar Hasil <i>Processing</i> Sel Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	47
18. Gambar Diferensial Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	31
2. Hasil Perhitungan Sel Leukosit pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	35
3. Hasil Rata-rata Nilai Diferensial Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	37
4. Hasil Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
5. Hasil Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	40
6. Hasil Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>).....	44
7. Hasil Perhitungan Sel Leukosit pada Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	48
8. Hasil Rata-rata Nilai Diferensial Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	50
9. Hasil Hematokrit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	52
10. Hasil Hemoglobin Ikan (<i>P. pangasius</i>)	53
11. Hasil Pengukuran Kualitas Air	54



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	64
2. Bahan Penelitian	66
3. Cara Penggunaan <i>Hematology Analyzer Tools</i>	69
4. Perhitungan Sel Eritrosit Secara Aplikasi dan Manual Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	72
5. Perhitungan Uji t Sel Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	74
6. Perhitungan Sel Leukosit Secara Aplikasi dan Manual Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	75
7. Perhitungan Uji t Sel Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	77
8. Perhitungan Diferensial Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	78
9. Perhitungan Sel Eritrosit Secara Aplikasi dan Manual Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>).....	81
10. Perhitungan Uji t Sel Eritrosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	83
11. Perhitungan Sel Leukosit Secara Aplikasi dan Manual Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	84
12. Perhitungan Uji t Sel Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>)	86
13. Perhitungan Diferensial Leukosit Ikan Patin (<i>P. pangasius</i>).....	87
14. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	90

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki sumber daya perikanan yang sangat potensial khususnya perikanan budidaya, potensi perikanan budidaya secara nasional diperkirakan sebesar 15,59 juta hektar yang terdiri dari potensi perikanan air tawar sebesar 2,23 juta hektar, air payau 1,22 juta hektar dan air laut sebesar 12,14 juta hektar. Namun pada saat ini, masing-masing potensi budidaya mencapai 10,1% untuk budidaya air tawar, 40% untuk budidaya air payau dan 0,01% untuk budidaya air laut. Maka perlu adanya optimalisasi untuk lahan budidaya karena ada sekitar 30-40% dari total 1,2 juta hektar yang tidak digunakan (Mujalifah *et al.*, 2018).

Menurut Satriani *et al.* (2011), ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki potensial dapat dibudidayakan karena memiliki daya adaptasi yang tinggi, pertumbuhan yang cepat, efisien dalam memanfaatkan pakan, dan relatif lebih tahan terhadap penyakit. Ikan nila berasal dari Benua Afrika dan saat ini diintroduksi secara luas di berbagai belahan dunia. Ikan nila umumnya dibudidayakan di kolam, sawah, maupun keramba. Koesharyani *et al.* (2018), menjelaskan bahwa produksi ikan nila di Indonesia terus meningkat sejak tahun 2009, yaitu mencapai 99.969 ton, sampai dengan tahun 2013 produksi ikan nila di Indonesia terus meningkat dari 91.478 ribu ton menjadi 99.964 ribu ton pada tahun 2014, kemudian pada tahun 2015 produksi nila mencapai 1.084 juta ton dengan nilai ekspor sebesar 14.681 ton.

Selain ikan nila yang memiliki potensi untuk dapat dibudidayakan, ikan patin merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki beberapa kelebihan, diantaranya pertumbuhan yang cepat, mampu mencapai ukuran besar dan dapat dibudidayakan pada kepadatan tinggi diberbagai wadah. Ikan ini mulai banyak dibudidayakan di kolam dan keramba jaring apung dengan padat tebar tinggi.

Oleh karena itu, budidaya ikan patin dapat memberikan peluang usaha bagi para pembudidaya ikan. Pada tahun 2006, produksi ikan ini mencapai 31.490 ton, kemudian meningkat menjadi 651.000 ton pada tahun 2012. Peningkatan produksi Kementerian Kelautan dan Perikanan (2013) menargetkan produksi nasional untuk ikan patin meningkat kurang lebih sebesar 1.107.000 ton/tahun. Peningkatan produksi budidaya ikan patin hanya dapat dilakukan dengan budidaya secara intensif (Setyowati *et al.*, 2014).

Jika pengelolaan dalam budidaya kurang tepat pada budidaya secara intensif, dapat mengakibatkan penurunan pada kualitas air dan adanya peluang wabah penyakit ikan yang dikarenakan oleh serangan parasit, virus maupun bakteri pada ikan yang dibudidayakan. Menurut Putri *et al.* (2016), penyakit merupakan salah satu kendala dalam budidaya ikan yang dapat menyebabkan penurunan tingkat produksi ikan. Penyebaran penyakit pada ikan sangat cepat dan akan menyebabkan kematian sangat tinggi pada ikan yang dibudidayakan.

Salah satu jenis serangan penyakit pada ikan yaitu jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Jenis penyakit oleh bakteri ini merupakan jenis penyakit yang dapat menimbulkan kerugian yang tidak sedikit. Selain dapat mematikan ikan, penyakit yang disebabkan oleh bakteri juga dapat menurunkan kualitas daging ikan yang terinfeksi. Penyakit akibat bakteri yang menyerang ikan di Indonesia ternyata dapat mengakibatkan kematian sekitar 50-100%. Hematologi sangat erat kaitannya dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran ikan tersebut dalam keadaan sehat atau sakit (Maftuch *et al.*, 2012).

Menurut Noercholis *et al.* (2013), pemeriksaan parameter hematologi ikan dapat meliputi pemeriksaan nilai hematokrit, kadar hemoglobin, jumlah sel darah merah, jumlah sel darah putih dan pengamatan parasit yang terdapat dalam darah. Selama ini perhitungan yang dilakukan menggunakan mikroskop optik masih dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah sel darah yang

tampak pada mikroskop pada setiap bidang pandang. Perhitungan ini dilakukan 6-12 kali pada bidang pandang yang berbeda dengan menggeserkan preparat untuk menghasilkan kesimpulan yang akurat. Kelelahan mata, ukuran yang kecil serta banyaknya sel darah seringkali mengakibatkan terjadinya kesalahan pada proses perhitungan secara manual. Menurut Noercholis dan Wijaya (2015), pada saat proses pengamatan langsung melalui mikroskop membutuhkan konsentrasi tinggi yang dapat menyebabkan mata lelah karena mengamati objek kecil dalam jumlah yang banyak. Hal ini dapat mempengaruhi keakuratan hasil perhitungan pada saat pengamatan. Metode untuk perhitungan jumlah sel dalam darah terus berkembang hingga saat ini. Berdasarkan permasalahan diatas maka dilakukan penelitian mengenai “Analisis Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) Dan Ikan Patin (*P. pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* Dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

- 1) Apakah ada perbedaan antara hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*) secara manual menggunakan *handtally counter* dengan menggunakan *hematology analyzer tools*?
- 2) Bagaimana mengetahui gambaran komponen diferensial leukosit, hematokrit, hemoglobin dan ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Untuk mengetahui perbedaan antara hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*) secara manual

menggunakan *handtally counter* dengan menggunakan *hematology analyzer tools*.

- 2) Untuk mengetahui gambaran komponen diferensial leukosit, hematokrit dan hemoglobin ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

H0: Penggunaan *hematology analyzer tools* tidak memberikan pengaruh terhadap hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit pada ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*).

H1: Penggunaan *hematology analyzer tools* memberikan pengaruh terhadap hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit pada ikan Nila (*O. niloticus*) dan ikan Patin (*P. pangasius*).

1.5 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini berguna untuk memberikan informasi tentang ilmu pengetahuan khususnya pemanfaatan *hematology analyzer tools* dalam dunia perikanan. Hasil penelitian juga diharapkan agar bisa dimanfaatkan secara luas pada laboratorium perikanan untuk mempermudah, mempercepat dan meningkatkan keakuratan para laboran dalam melakukan analisis hematologi pada darah ikan khususnya sel eritrosit dan sel leukosit.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan dan Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan divisi Keamanan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur pada tanggal 13 Februari – 29 Maret 2018.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Pamungkas dan Irawan (2013), klasifikasi ikan nila adalah sebagai berikut.

Filum : Chordata
Kelas : Osteichthyes
Famili : *Cichlidae*
Marga : *Oreochromis*
Spesies : *Oreochromis niloticus*

Menurut Arifin (2016), ikan nila memiliki bentuk tubuh agak memanjang dan pipih, memiliki garis vertikal berwarna gelap, pada bagian tubuh memiliki garis vertikal dan pada ekor garis melintang yang ujungnya berwarna kehitam-hitaman. Mata agak menonjol dan pinggirannya berwarna hijau kebiru-biruan, letak mulut terminal, posisi sirip perut terhadap sirip dada adalah thorik, sedangkan linea lateralis terputus menjadi dua bagian, letaknya memanjang diatas sirip dada, dan bentuk ekornya berpinggiran tegak. Dapat dilihat morfologi ikan nila pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (Arifin, 2016)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran Ikan Nila

Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki potensi cukup tinggi. Habitat dari ikan nila adalah air tawar, seperti sungai, danau, waduk dan rawa-rawa tetapi karena toleransi ikan nila terhadap salinitas sangat luas (*euryhaline*) maka dapat hidup dengan baik di perairan payau maupun laut. Salinitas yang cocok untuk ikan nila 0-35 ppt, untuk pertumbuhan ikan nila secara optimal memiliki salinitasnya berkisar 0-30 ppt. Meskipun ikan nila dapat hidup pada salinitas yang luas yaitu 31-35 ppt tetapi pertumbuhan ikan nila akan lambat (Mujalifah *et al.*, 2018).

Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar yang di introduksi dari beberapa negara Asia termasuk Indonesia. Pertama kali ikan nila di datangkan di Indonesia pada tahun 1969. Sejak saat itu perkembangan ikan nila menjadi sangat pesat. Pada tahun 1990 ikan nila di Indonesia sudah mulai membudidayakan ikan nila. Ikan nila berasal dari sungai Nil dan daerah pengairan sekitar sungai. Pada tahun 1969 didatangkan ikan nila oleh Balai Penelitian Perikanan Air Tawar (BPPAT) Bogor dari Taiwan dan mulai disebarakan ke beberapa daerah di Indonesia (Lasena *et al.*, 2017).

2.2 Biologi Ikan Patin

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut WWF Indonesia (2015), klasifikasi ikan patin adalah sebagai berikut:

Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Osteichthyes
Subclass	: Actinopterygii
Marga	: <i>Pangasius</i>
Spesies	: <i>Pangasius</i> sp.

Ikan Patin memiliki ciri-ciri yaitu bentuk tubuh patin lebih gemuk, seluruh tubuh didominasi warna putih keperakan dengan sirip berwarna merah ketika sudah mulai dewasa. Kepala patin relatif kecil dengan mulut terletak di ujung kepala agak di sebelah bawah. Pada bagian sudut mulut terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba serta tubuhnya licin dan tidak memiliki sisik (Buwono *et al.*, 2018). Dapat dilihat morfologi ikan patin pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) (Fishbase, 2017)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran Ikan Patin

Menurut Asis *et al.* (2017), ikan patin sangat toleran terhadap lingkungan perairan yang asam maupun basa. Kisaran pH untuk ikan patin berkisar 5 – 7, suhu untuk ikan patin berkisar antara 28,7 – 31,5°C, dan nilai oksigen terlarut yaitu berkisar 3 – 7 mg/l. Lingkungan perairan merupakan faktor pembatas terhadap jenis ikan yang dibudidayakan sehingga lingkungan tempat hidup ikan patin yang sesuai dapat mempengaruhi pertumbuhan serta kelangsungan hidup.

Penyebaran ikan patin di Indonesia sebagian besar sungai-sungai utama di pulau Sumatera (Sungai Musi, Batanghari, Way Rarem dan Indragiri) dari bagian timur pulau Jawa (Sungai Brantas dan Bengawan Solo) dan dari pulau Kalimantan (Sungai Kayan, Berau, Mahakam, Barito, Kahayan dan Kapuas). Keanekaragaman spesies yang besar tersebar di pulau Sumatera dan tingkat endemisitas yang tinggi di pulau Kalimantan (Gustiano *et al.*, 2005).

2.3 Hematologi

2.3.1 Pengertian Hematologi

Darah merupakan suatu komponen yang sangat penting karena memiliki fungsi untuk mengedarkan substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses-proses metabolisme. Oleh karena itu darah menjadi salah satu parameter yang sangat pokok dalam penelitian praklinik/biomedik. Hematologi merupakan ilmu yang mempelajari cara penilaian dalam darah. Nilai hematologi (profil darah) berguna untuk menilai dan mengetahui kondisi kesehatan dan sebagai acuan nilai awal (*baseline*) atau kontrol dalam suatu penelitian (Fitria dan Sarto, 2014).

Profil 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 perubahan jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin, sedangkan jumlah leukosit cenderung meningkat. Stres merupakan respon bertahan pada ikan terhadap penyebab stres (*stressor*). Berbagai sumber stres baik berupa faktor lingkungan (suhu, salinitas, pH, cahaya, pemeliharaan) maupun faktor biotik seperti infeksi mikroorganisme akan mempunyai dampak negatif terhadap perubahan fisiologis tubuh hewan. Perubahan tersebut meliputi, gangguan pertumbuhan, produktivitas dan semua aktivitas yang merupakan akibat dari mekanisme homeostasis dalam tubuh yang terganggu. Karakteristik darah dapat digunakan untuk mengevaluasi respon fisiologi pada ikan (Royan *et al.*, 2014).

2.3.2 Eritrosit (Sel Darah Merah)

Menurut Handayani dan Haribowo (2008), eritrosit merupakan cairan bikonkaf dengan diameter sekitar 7 μm . Bikonkavitas memungkinkan gerakan oksigen masuk dan keluar sel dengan cepat, dengan adanya jarak yang pendek antara membran dan isi sel. Warnanya kuning kemerah-merahan, karena

didalamnya mengandung suatu zat yang disebut **hemoglobin**. Sel ini tidak dapat melakukan mitosis, fosforilasi oksidatif sel, atau pembentukan protein.

Eritrosit sebagai bagian terbesar dari sel darah memiliki jumlah bervariasi namun biasanya jumlah tersebut berkisar antara $1,05-3,0 \times 10^6$ sel/mL. Rata-rata eritrosit pada berbagai perlakuan bervariasi namun masih berada pada kisaran jumlah normal untuk ikan (Kumar *et al.*, 2013). Pada pernyataan Maftuch *et al.* (2012), pada ikan yang normal jumlah sel darah merah berkisar antara 1.050.000 - 3.000.000 sel/mm³. 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. Eritrosit ikan mempunyai inti dengan sel lonjong, berwarna merah kekuningan dan berukuran 12 – 13 μm dengan diameter 4 – 5 μm . Dapat dilihat sel eritrosit yang bertanda lingkaran merah pada Gambar 3.



Gambar 3. Sel Eritrosit (Sayed *et al.*, 2016)

2.3.3 Leukosit (Sel Darah Putih)

Leukosit merupakan suatu sistem untuk mempertahankan tubuh terhadap infeksi dari patogen ataupun bakteri. Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang memiliki tanggung jawab dalam sistem pertahanan tubuh. Sebagian besar leukosit ditransfer ke daerah yang terinfeksi untuk memberikan pertahanan yang cepat terhadap setiap gen yang terinfeksi. Ketika bakteri masuk ke dalam tubuh, bakteri menempel atau melekat pada sel inang, biasanya setelah bakteri

menetap pada daerah yang terinfeksi awal, bakteri berkembang biak dan menyebar langsung melalui jaringan menuju aliran darah pada tubuhnya (Andayani, 2009).

Leukosit merupakan sel darah putih yang memiliki peran dalam sistem pertahanan tubuh yang sangat tanggap terhadap agen infeksi penyakit. Leukosit berfungsi melindungi tubuh terhadap berbagai penyakit yang menyerang tubuh dengan cara fagosit dan menghasilkan antibodi. Dimana tingkat kenaikan dan penurunan jumlah leukosit dalam sirkulasi darah menggambarkan ketanggapan sel darah putih dalam mencegah hadirnya agen penyakit. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit yaitu kondisi lingkungan, umur dan kandungan nutrisi pakan. Diantara faktor-faktor tersebut, faktor nutrisi (protein) memiliki peran yang sangat penting dalam proses pembentukan leukosit karena protein merupakan salah satu komponen darah (Purnomo *et al.*, 2015).

2.3.4 Diferensial Leukosit

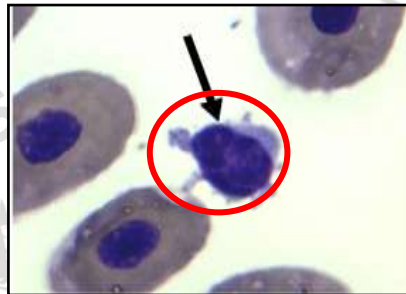
Diferensial leukosit dibagi menjadi granulosit dan agranulosit. Granulosit terdiri dari neutrofil, basofil dan eosinofil, sedangkan agranulosit terdiri dari limfosit dan monosit.

1) Neutrofil

Neutrofil merupakan bagian dari diferensial leukosit yang sel-sel pertama meninggalkan pembuluh darah yang penting karena mengandung vakuola yang berisi enzim untuk menghancurkan organisme yang dihancurkannya. Pada penelitian Sukenda *et al.* (2008), disebutkan bahwa pasca injeksi mengalami peningkatan jumlah neutrofil, hal ini diduga karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem pertahanan tubuh sehingga saat infeksi bakteri maka neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ke tempat infeksi tersebut. Semakin hari jumlah neutrofil menurun karena tubuh tidak memerlukan neutrofil lagi dan peran neutrofil sudah banyak diambil alih oleh sistem pertahanan yang spesifik. Pada

saat terjadi infeksi bakteri, biasanya jumlah neutrofil dalam darah meningkat, hal ini disebabkan oleh limfoid perlu melepas leukosit untuk melawan infeksi yang terjadi dalam tubuh.

Neutrofil disebut sebagai leukosit polimorfonuklear (PMN). Fungsi utama neutrofil adalah sebagai fagositosis (membunuh dan mencerna mikroorganisme). Peningkatan jumlah neutrofil ini dapat disebut sebagai “*shift to the left*” yang mengindikasikan adanya infeksi bakteri yang akut (Atmadja *et al.*, 2016). Dapat dilihat sel neutrofil yang diberi tanda lingkaran merah pada Gambar 4.



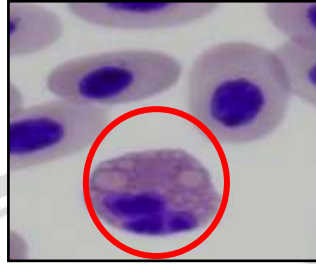
Gambar 4. Neutrofil (Clauss *et al.*, 2008)

2) Eusinofil

Eusinofil merupakan salah satu bagian dari diferensial leukosit. Sel eusinofil pada ikan mempunyai bentuk bervariasi, dengan ukuran hampir sama dengan sel neutrofil. Inti sel esinofil tidak sentris, ada yang berbentuk oval atau memanjang, sitoplasma berwarna kemerahan. Inti sel eusinofil berwarna violet terang tetapi lebih muda dibandingkan sel neutrofil. Sitoplasma tidak menyerap warna atau berwarna biru muda kemerahan dengan memiliki granula besar atau kecil (Salasia *et al.*, 2001).

Eusinofil memiliki granula yang berwarna merah dengan pewarnaan asam, ukuran dan bentuknya hampir sama dengan neutrofil, tetapi granula dalam sitoplasmanya lebih besar, banyaknya kira-kira 24%. Sel ini sangat penting dalam respon terhadap penyakit parasitik dan alergi. Fungsi utama eusinofil adalah detoksifikasi baik terhadap protein asing yang masuk ke dalam tubuh

melalui paru-paru ataupun saluran cerna maupun racun yang dihasilkan oleh bakteri dan parasit. Eusinofilia pada hewan domestik merupakan peningkatan jumlah eosinofil dalam darah (Saputri *et al.*, 2006). Dapat dilihat sel eosinofil yang ditandai dengan lingkaran merah pada Gambar 5.

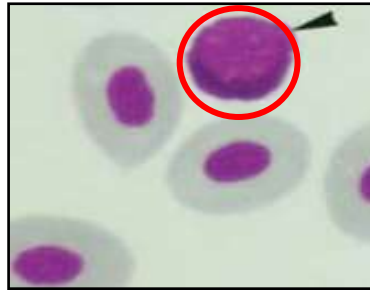


Gambar 5. Eusinofil (Grant, 2015)

3) Basofil

Basofil merupakan bagian dari granulosit yang memiliki granula berwarna biru dengan pewarnaan basa, sel ini lebih kecil daripada eosinofil, tetapi mempunyai inti yang bentuknya teratur, didalam protoplasmanya terdapat granula-granula yang besar, banyaknya kira-kira 0,5 % di sumsum merah. Jumlah basofil di dalam sirkulasi darah relatif sedikit. Di dalam sel basofil terkandung zat heparin (antikoagulan). Basofilia merupakan peningkatan jumlah basofil dalam sirkulasi (Handayani dan Haribowo, 2008).

Basofil jumlahnya 0% dari leukosit darah, ukuran garis tengah 12 μm , inti satu, umumnya bentuk huruf S, sitoplasma basofil terisi granul yang lebih besar, dan seringkali granul menutupi inti, granul bentuknya ireguler berwarna metakromatik. Granula basofil metakromatik dan mensekresi histamin dan heparin, dan keadaan tertentu, basofil merupakan sel utama pada tempat peradangan ini dinamakan *hypersesitivitas* kulit basofil. Hal ini menunjukkan basofil mempunyai hubungan kekebalan dalam tubuh (Effendi, 2003). Dapat dilihat sel basofil yang ditandai dengan lingkaran merah pada Gambar 6.

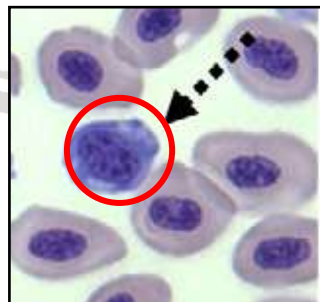


Gambar 6. Basofil (Tavares-Dias dan de Moraes, 2007)

4) Limfosit

Limfosit merupakan salah satu sel imunokompeten yang sangat rentan terhadap serangan radikal bebas. Hal ini terjadi karena membran sel limfosit tersusun atas fosfolipid dan glikolipid, yang banyak mengandung asam lemak tak jenuh. Limfosit adalah sel imunokompeten yang dapat diaktivasi oleh Zn. Zn berperan untuk diferensiasi sel T. Timulin adalah hormon kelenjar timus, yang juga berfungsi untuk maturasi limfosit T (Winarsi *et al.*, 2005).

Limfosit merupakan 30-60% dari seluruh leukosit darah. Kebanyakan berupa sel kecil yang berdiameter 9 μm dengan nukleus biru tua, gelap, bundar dan sitoplasma biru muda. Limfosit bergerak secara aktif tetapi tidak fagositik. Limfosit dapat dibedakan atas limfosit T dan limfosit B atau sel pembunuh alami, atas dasar sifat-sifat fisik dan imunologisnya. Limfositosis absolut yang mencolok dapat ditemukan pada injeksi akut tertentu (Behrman *et al.*, 2000). Dapat dilihat sel limfosit yang ditandai dengan lingkaran merah pada Gambar 7.

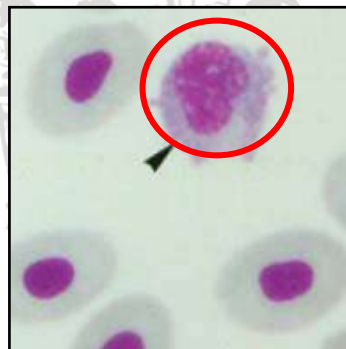


Gambar 7. Limfosit (Clauss *et al.*, 2008)

5) Monosit

Monosit adalah leukosit terbesar yang berdiameter 15 sampai 20 μm dan berjumlah 3 sampai 9% dari seluruh sel darah putih. Terdapat kesulitan dalam identifikasi monosit dengan adanya bentuk transisi antara limfosit kecil dan besar, karena terdapat kemiripan satu sama lain. Sitoplasma monosit lebih banyak dari limfosit, dan berwarna biru abu-abu pucat. Sering tampak adanya butir azurofil halus seperti debu. Inti berbentuk lonjong, seperti ginjal atau mirip tapal kuda, jelasnya memiliki lekuk cukup dalam (Saputri *et al.*, 2006).

Monosit adalah sel fagositik yang dapat melawan bakteri sama halnya seperti neutrofil. Monosit memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan neutrofil protoplasma lebih besar. Inti sel monosit bulat dan panjang. Monosit memproduksi interfero, yang merupakan imunostimulan endogen tubuh. Monosit dapat diproduksi secara cepat dan bertahan lebih lama dibandingkan dengan neutrofil (Atmadja *et al.*, 2016). Dapat dilihat sel monosit yang ditandai dengan lingkaran merah pada Gambar 8.



Gambar 8. Monosit (Tavares-Dias dan de Moraes, 2007)

2.3.5 Hematokrit

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah dengan plasma darah yang terdapat pada tabung kapiler hematokrit. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai adanya rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin atau ikan mendapat infeksi. Pada saat terjadi

luka pada tubuh ikan, dapat menyebabkan penurunan nilai hematokrit. Selain dari infeksi bakteri, respon makan dapat memberi pengaruh pada komposisi darah termasuk jumlah sel darah merah yang juga berpengaruh terhadap kadar hematokrit. Karena hematokrit adalah persentase volume sel darah merah di dalam darah maka seiring dengan terjadinya peningkatan jumlah sel darah maka nilai hematokrit akan meningkat (Wahjuningrum *et al.*, 2008).

Menurut Syawal dan Ikhwan (2011), hematokrit menggambarkan suatu proporsi besarnya jumlah sel eritrosit dalam darah ikan. Jumlah hematokrit dan eritrosit saling berhubungan dimana jumlah keduanya dapat menggambarkan satu sama lain. Nilai hematokrit dapat menggambarkan naik turunnya jumlah eritrosit dan hemoglobin di dalam darah ikan. Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan sebagai indikator rendahnya kandungan protein dalam pakan, defisiensi vitamin atau ikan menderita infeksi, sedangkan meningkatnya kadar hematokrit dan eritrosit menunjukkan bahwa ikan dalam keadaan stres.

2.3.6 Hemoglobin

Warna merah eritrosit disebabkan oleh adanya zat warna darah yang disebut dengan hemoglobin. Hemoglobin adalah satu protein majemuk yang tersusun atas protein sederhana (globin) dan radikal prostetik (hem). Salah satu fungsi penting hemoglobin adalah mengangkut oksigen dari kedua paru-paru ke jaringan tubuh dan mengangkut karbondioksida dari jaringan tubuh. Hemoglobin dapat mengikat oksigen menjadi oksihemoglobin (HbO_2). Afinitas hemoglobin (Hb) terhadap CO lebih besar daripada afinitas Hb terhadap O_2 sehingga Hb lebih suka mengikat CO daripada O_2 (Sumardjo, 2008).

Menurut Minaka *et al.* (2012), menurunnya kadar hemoglobin dalam darah berkaitan dengan rendahnya nilai eritrosit yang diduga karena ikan mengalami lisis di dalam darah. Lisis disebabkan oleh pecahnya sel darah merah karena adanya toksin bakteri yang ada di dalam darah yang disebut haemolisin. Toksin

ini akan melisiskan dan melepaskan hemoglobin. Kadar hemoglobin yang rendah menjadi salah satu indikasi pada ikan yang dapat terjadi akibat infeksi dalam tubuhnya yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Sedangkan menurut Royan *et al.* (2014), rendahnya kadar hemoglobin berdampak pada jumlah oksigen yang rendah di dalam darah. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi rendahnya kadar hemoglobin diantaranya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin dan kualitas air buruk atau ikan terkena infeksi oleh bakteri.

2.4 Kualitas Air

Air sebagai media tempat hidup ikan yang memiliki sifat cocok bagi kehidupan ikan, karena kualitas air dapat memberikan pengaruh pada jenis biota yang dibudidayakan. Kualitas air merupakan faktor pembatas terhadap jenis biota yang dibudidayakan dalam suatu perairan. Beberapa karakteristik fisik dan kimia dari kualitas yang sangat berpengaruh pada kehidupan hewan akuatik diantaranya pH (keasaman), suhu dan oksigen terlarut (O_2).

a. pH (Nilai Keasaman)

Nilai pH atau nilai keasaman merupakan nilai yang menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam air. Nilai pH dalam suatu perairan mencerminkan keseimbangan antara asam dan basa dalam suatu perairan. Tingginya nilai pH dalam suatu perairan karena adanya pengaruh aktivitas budidaya yaitu pemberian pakan. Selain itu feses ikan juga menyebabkan nilai pH tinggi, bahwa feses ikan mengandung amonia yang dapat meningkatkan nilai pH tinggi yaitu menjadi basa (Wijaya dan Hariyati, 2011).

Nilai pH atau nilai derajat keasaman merupakan salah satu parameter kimia yang cukup penting dalam memantau kestabilan suatu perairan. Perubahan nilai pH suatu perairan terhadap organisme akuatik mempunyai batasan tertentu dengan nilai pH yang bervariasi, tergantung dari suhu dan oksigen terlarut. Nilai

pH pada umumnya dalam suatu perairan berkisar antara 4-9. Nilai pH yang baik untuk kehidupan ikan adalah 5-9 dan antara 6,5-8,5 (Simanjutak, 2009).

b. Oksigen Terlarut / *Dissolved Oxygen (DO)*

Oksigen terlarut merupakan salah satu parameter kimia perairan yang memiliki peran pada kehidupan biota. Jika nilai oksigen terlarut dalam suatu perairan dapat mengurangi efisiensi pengambilan oksigen bagi biota perairan sehingga kemampuan biota perairan untuk hidup normal menurun. Kandungan oksigen terlarut dalam perairan minimal 5 ppm. Semakin banyak organisme perairan maka oksigen terlarut banyak digunakan sehingga ketersediaan oksigen terlarut semakin berkurang (Wijaya dan Hariyati, 2011).

Oksigen terlarut dalam perairan dimanfaatkan oleh organisme untuk respirasi dan penguraian zat-zat organik oleh mikroorganisme. Sumber utama oksigen terlarut adalah udara melalui proses difusi dan dari fotosintesis fitoplankton. Oksigen terlarut merupakan salah satu faktor penunjang utama dalam perairan dan sebagai indikator kesuburan perairan. Semakin menurun oksigen terlarut dikarenakan semakin meningkatnya limbah organik dalam perairan. Hal ini oksigen terlarut yang ada, dibutuhkan oleh bakteri untuk menguraikan zat organik menjadi zat anorganik (Megawati *et al.*, 2014).

c. Suhu

Suhu merupakan suhu badan air dipengaruhi oleh musim, lintang, ketinggian dari permukaan laut dan kedalaman badan air. Suhu memegang peran penting sebagai salah satu faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan dan saling berhubungan erat dengan laju metabolisme, untuk melakukan pernafasan dan bereproduksi. Ikan memiliki toleransi terhadap suhu dengan kisaran tertentu, suhu sangat berperan penting terhadap pertumbuhan ikan dan resistensi terhadap penyakit. Ikan akan mengalami stres jika suhu berada di luar kisaran toleransi. Jika suhu rendah memungkinkan oksigen terlarut dalam

perairan terlalu tinggi, pada suhu rendah akan menyebabkan ikan stres dimana kondisi suhu berpengaruh terhadap kehidupan ikan. Semakin tinggi suhu maka laju metabolisme ikan akan meningkat (Andriyani dan Sumantriyadi, 2017).

Suhu berperan penting bagi kehidupan dan perkembangbiakan biota perairan. Peningkatan suhu dapat menurunkan kadar oksigen terlarut sehingga metabolisme seperti laju pernafasan dan konsumsi oksigen serta karbon dioksida. Nilai suhu berbanding terbalik dengan nilai oksigen terlarut, jika nilai suhu menurun maka oksigen terlarut akan mengalami kenaikan. Suhu untuk budidaya ikan pada umumnya berkisar antara 27- 32 °C (Affan, 2012).

2.5 Hematology Analyzer Tools

Hematology Analyzer merupakan salah satu alat yang digunakan untuk menghitung sel darah. Dalam hal ini *hematology analyzer* yang digunakan berbasis *image processing* yaitu proses yang digunakan untuk mengolah gambar. Tujuan utama yaitu untuk memperbaiki kesalahan gambar pada saat pengambilan gambar serta meningkatkan kualitas gambar untuk mendapatkan hasil yang lebih baik ketika diproses menggunakan aplikasi yang lain serta memudahkan manusia dalam penglihatan. Semakin berkembangnya dunia tentang teknologi yang dapat ditandai dengan semakin meningkatnya kapasitas dan kecepatan proses komputer, maka *hematology analyzer tools* tidak dapat dilepaskan dari bidang komputer (Al Islami *et al.*, 2016).

Menurut Nasution (2016), seiring dengan perkembangan teknologi di bidang komputer, teknologi tentang pengolahan citra (*image processing*) telah banyak digunakan dalam berbagai bidang antara lain bidang kedokteran dan bidang industri hiburan serta bidang yang lainnya. Secara umum, pengolahan citra yang baik adalah citra yang memiliki kualitas tinggi dan sesuai dengan gambar asli serta memiliki informasi yang lengkap dan jelas sesuai yang diinginkan.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian tentang “Analisis Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) dan Ikan Patin (*P. pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur” adalah sebagai berikut: coolbox, pipet thoma leukosit, *haemocytometer*, pipet thoma eritrosit, mikroskop cahaya, *handtally counter*, rak tube, pH meter, *thermometer*, pipet tetes, DO meter, nampan, ember plastik, *washing bottle*, Hb sahli, *sentrifuge* hematokrit. Alat penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian tentang “Analisis Hematologi Ikan Nila (*O. Niloticus*) Dan Ikan Patin (*P. Pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur” adalah sebagai berikut: aquades, tisu, sampel darah ikan patin dan ikan nila, *objek glass*, *cover glass*, *tube*, kertas label, tali kasur, anti koagulan (*Na-sitrat* 3,8%), larutan hayem, pipet kapiler hematokrit, larutan turk, spuit 1 ml, *methanol*, larutan giemsa, aquades dan HCl 0,1 N. Bahan penelitian yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dan metode deskriptif. Menurut Jaedun (2011), metode eksperimen umumnya digunakan dalam penelitian yang bersifat laboratoris. Penelitian eksperimen merupakan metode yang paling dapat dibuktikan keilmiahannya (paling valid).

Metode eksperimen dalam penelitian meliputi pengamatan sel darah merah (eritrosit) dan pengamatan sel darah putih (leukosit) dengan menggunakan uji T. Sedangkan menurut Danim dan Darwis (2003), penelitian deskriptif dimaksudkan untuk mendeskriptifkan secara sistematis dan akurat suatu situasi atau area populasi tertentu yang bersifat faktual. Penelitian deskriptif dapat pula diartikan sebagai penelitian yang dimaksudkan untuk memotret fenomena individual, situasi atau kelompok tertentu. Penelitian metode deskriptif yaitu penelitian yang meliputi pengamatan diferensial leukosit, hematokrit dan hemoglobin.

Lokasi pengambilan sampel darah didasarkan pada pembagian *cluster* dari daerah yang ada di Provinsi Jawa Timur yang telah dibuat dan disepakati secara bersama. Pembagian *cluster* ini dibagi menjadi 3 (tiga) *cluster*, *Cluster pertama* yaitu Wilayah Sidoarjo, Surabaya, Gresik, Lamongan, Bojonegoro dan Tuban, selanjutnya *Cluster kedua* yaitu Wilayah Malang, Kota Batu, Mojokerto, Jombang, Nganjuk, Madiun, Ngawi, Magetan, Ponorogo, Pacitan, Trenggalek, Tulungagung, Blitar dan Kediri sedangkan *Cluster Tiga* yaitu Wilayah Pasuruan, Probolinggo, Lumajang, Jember, Bondowoso, Situbondo dan Banyuwangi. Pembagian *cluster* ini dilakukan dengan tujuan untuk membedakan jenis ikan yang diambil sampel darah berdasarkan tempat lingkungan hidupnya. Tiap daerah kondisi lingkungan berbeda-beda, oleh karena itu penentuan lokasi dilakukan secara sampling dari masing-masing *cluster*. Maka dipilih beberapa daerah di Jawa Timur yaitu Mojokerto, Tuban dan Pasuruan untuk dijadikan lokasi dalam pengambilan sampel.

Pemilihan lokasi sampel ini berdasarkan wilayah di Jawa Timur karena merupakan wilayah tropis maka setiap wilayah di Jawa Timur memiliki kondisi lingkungan yang berbeda-beda dan setiap kota atau kabupaten di Jawa Timur belum tentu mempunyai spesies ikan air tawar yang kita butuhkan karena setiap daerah jenis ikan air tawar sangat *endemis* (spesies yang unik/dapat di

budidayakan pada satu lokasi tertentu). Oleh karena itu, penentuan lokasi dilakukan secara sampling dimana dalam satu kabupaten/kota banyak yang membudidayakan jenis ikan tersebut.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

a) Persiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada tahap uji hematologi adalah *Haemocytometer*, mikroskop cahaya, nampan, pipet thoma leukosit, pipet thoma eritrosit, *setrifuge* hematokrit dan Hb Sahli (*Sahlinometer*). Bahan yang digunakan untuk uji hematologi adalah lap basah, spuit 1 ml, *tube*, sampel darah ikan nila (*O. niloticus*) dan ikan patin (*P. pangasius*), tisu, pipet kapiler hematokrit, *objek glass*, *cover glass*, larutan hayem, larutan turk, aquades, HCL 0,1 N, *methanol* dan larutan giemsa.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Pengambilan Sampel Darah Ikan

Pengambilan sampel darah ikan nila dan ikan patin dilakukan dengan menyuntik ikan menggunakan jarum spuit yang telah diisi *Na-sitrat* 3,8% sebagai anti koagulan atau untuk mencegah agar darah ikan yang diambil tidak membeku atau menggumpal. Pengambilan darah dilakukan dengan posisi 45° dan ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk ke dalam spuit kemudian darah dipindahkan di dalam *tube*. Pengambilan sampel darah dapat dilakukan di bagian *linea lateralis*. Hal ini Menurut Insivitawati *et al.* (2015), pengambilan sampel darah ikan dilakukan dengan cara spuit diisi dengan EDTA (*Etylene Diamine Tetraacetic Acid*) agar darah yang diambil tidak membeku. Selanjutnya ikan disiapkan dan diambil darahnya dengan cara yaitu spuit ditusukkan pada bagian *linea lateralis* dengan kemiringan 45°, lalu darah diambil dengan spuit secara

perlahan, sehingga didapatkan darah yang diinginkan. Tempat pengambilan darah ikan dapat dilakukan pada daerah linea lateralis, dorsal ventralis, caudal peduncle dan jantung. Selanjutnya sampel darah tersebut diamati di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

b) Pengamatan Eritrosit

Darah diambil dengan cara dihisap menggunakan pipet thoma eritrosit sebanyak 0,5. Setelah itu diambil larutan hayem dengan cara dihisap sampai batas 101, kemudian darah dan larutan hayem dihomogenkan akan tercampur rata. Lalu dibuang 3-4 tetes pertama. Kemudian sampel di teteskan pada *haemocytometer*, setelah itu ditutup menggunakan *cover glass* dengan cara perlahan agar tidak menimbulkan gelembung. Setelah itu di letakkan di bawah mikroskop untuk diamati eritrosit dan didokumentasikan untuk dilakukan perhitungan menggunakan *hematology analyzer tools* agar diketahui jumlah eritrosit secara akurat.

Menurut Wardhana *et al.* (2001), sampel darah dihisap dengan pipet eritrosit sampai tanda 0,5, kemudian menghisap larutan Hayem hingga tanda 101. Selama penghisapan larutan Hayem, pipet diputar melalui sumbu panjangnya agar darah bercampur baik (*homogen*). Larutan Hayem pada bagian kapiler yang tidak mengandung darah dibuang dengan meneteskan isi pipet sebanyak tiga tetes. Larutan darah dimasukkan ke dalam kamar penghitung yang ditutup dengan gelas penutup. Penghitungan jumlah eritrosit dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 45 kali. Jumlah eritrosit per milimeter kubik (mm^3) adalah jumlah sel yang terhitung dalam lima kotak dikalikan 10.000.

Menurut Dianti *et al.* (2013), perhitungan jumlah sel darah merah (eritrosit) dapat dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Sel darah merah (eritrosit) dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Eritrosit} = \sum N \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$$

Keterangan:

N : Jumlah sel eritrosit yang dihitung

Sel/mm³ : Satuan dari sel eritrosit

c) Pengamatan Leukosit

Darah diambil dengan cara dihisap menggunakan pipet thoma leukosit sebanyak 0,5. Setelah itu diambil larutan turk dengan cara dihisap sampai batas 11, kemudian darah dan larutan turk dihomogenkan agar tercampur rata. Lalu dibuang 3-4 tetes pertama. Kemudian sampel di teteskan pada *haemocytometer*, setelah itu ditutup menggunakan *cover glass* dengan cara perlahan agar tidak menimbulkan gelembung. Setelah itu di letakkan di bawah mikroskop untuk dilakukan perhitungan sel leukosit menggunakan *hematology analyzer tools* agar diketahui jumlah leukosit secara akurat.

Prosedur pengamatan jumlah leukosit, pertama 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 (sama dengan pengadukan untuk penghitungan jumlah sel darah merah) 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 leukosit total dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak kecil (Hartika *et al.*, 2014).

Menurut Dianti *et al.* (2013), penghitungan jumlah sel darah putih dilakukan dengan menggunakan *Haemocytometer*. Jumlah sel darah putih dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Leukosit} = \sum N \times 50$$

Keterangan:

N : Jumlah sel leukosit yang dihitung

Sel/mm³ : Satuan dari sel leukosit

d) Pengamatan Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan dengan cara mengambil darah dari tube menggunakan spuit, kemudian darah diteteskan pada objek glass satu tetes, diletakkan pada bagian tengah bawah. Kemudian darah diratakan dengan menggunakan metode *smear*. Metode *smear* (metode *apusan*) dilakukan dengan cara darah diletakkan pada *objek glass* di tarik ke depan pelan tetapi pasti. Lalu diberi penanda pada *objek glass* untuk menandai jenis darah ikan yang diambil. Setelah itu sampel darah dibiarkan sampai kering diatas nampan. Kemudian setelah kering difiksasi dengan *methanol*, lalu dibiarkan sampai kering dengan cara diberdirikan di atas nampan. Setelah kering diberi larutan giemsa ditunggu sampai 15-20 menit. Kemudian setelah 15-20 dibilas dengan aquades. Ditunggu sampai kering lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran yaitu 400X.

Preparat apus darah digunakan untuk pengamatan diferensial leukosit. Pengamatan diferensiasi leukosit dilakukan untuk menentukan presentase setiap jenis leukosit yang terdapat di dalam darah. Pembuatan preparat apus darah dilakukan dengan cara menempatkan setetes darah pada gelas objek. Gelas objek kedua diletakkan dengan sudut 45° diatas gelas objek pertama, lalu digeser ke belakang sampai menyentuh darah sehingga darah menyebar. Gelas objek kedua kemudian digeser ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan darah tipis. Preparat ulas darah yang terbentuk dibiarkan kering. Lalu dilanjutkan dengan proses fiksasi dengan cara merendam preparat di dalam *methanol* selama 5 menit, lalu dikeringkan. Preparat kemudian dimasukkan kedalam larutan *giemsa* selama 30 menit, setelah itu dicuci dan dikeringkan.

Selanjutnya preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan perhitungan masing-masing jenis leukosit (Santoso *et al.*, 2013).

e) Perhitungan Hematokrit

Pengukuran hematokrit menggunakan pipet kapiler hematokrit dengan cara darah diambil dengan menggunakan pipet kapiler. Kemudian diseimbangkan antara sisi kanan dan sisi kiri dengan cara digeserkan sedikit. Lalu salah satu sisi lubang ditutup dan sisi lubang yang satunya ditutup menggunakan lilin malam. Untuk pengambilan sampel darah pengukuran hematokrit harus segera dilakukan karena jika tidak darah tidak bisa memisah ketika dilakukan *sentrifuge*. Ketika akan dilakukan *sentrifuge* harus menggunakan pipet kapiler yang lain untuk penyeimbang. *Sentrifuge* dibuka kemudian dimasukkan pipet kapiler hematokrit yang berisi sampel ke dalamnya. Kemudian ditutup kembali *sentrifuge*, lalu diatur kecepatan 12.000 rpm selama 4 menit. Setelah 4 menit dibuka tutup *sentrifuge* untuk dilihat hasilnya dengan membaca skala tabel yang ada kemudian ditarik garis sesuai tabel hematokrit dan dilihat hasil hematokrit yang dinyatakan dalam %.

Menurut Andayani *et al.* (2017), 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 lilinmalam sehingga terbentuk sumbat *cryptoceal*. Tabung mikro hematokrit tersebut disentrifugasi selama 4 menit pada 5000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran *sentrifuge* 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 %.

f) Perhitungan Hemoglobin

Pengukuran hemoglobin menggunakan Hb sahli (*Sahlinometer*). Langkah pertama tabung sahli di letakkan diantara 2 tabung yang ada di Hb-meter. Diambil darah menggunakan pipet sahli sebanyak 20 mm (batas garis pipet sahli). Lalu dimasukkan larutan HCl 0,1 N sebanyak angka 2 (batas garis berwarna kuning). Kemudian sampel darah dimasukkan dengan cara ditiup atau digoyangkan lalu ditunggu sampai berwarna coklat kehitaman. Setelah itu ditambahkan aquades sedikit demi sedikit sampai berubah warna menjadi warna yang standar sesuai dengan warna dari kedua tabung yang ada di Hb-sahli. Lalu dilihat presentase Hb yang dinyatakan g/dL.

Menurut Insivitawati *et al.* (2015) menyatakan bahwa pengukuran kadar Hemoglobin (Hb) dilakukan dengan metode Sahli yang mengkonversi darah ke dalam bentuk asam hematin setelah darah ditambah dengan HCl. Pertama darah dihisap dengan pipet sahli sampai skala 20 mm³ atau pada skala 0,02 ml, kemudian darah dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0,1 N sampai skala 10, aduk dan dibiarkan sampai membentuk asam hematin. Setelah itu aquades ditambahkan sampai warna darah dan HCl tersebut seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb meter tersebut. Skala dibaca dengan melihat permukaan cairan dan dicocokkan dengan skala tabung sahli yang dilihat pada skala jalur gr% (kuning) yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

g) Penggunaan *Hematology Analyzer Tools*

Langkah pertama yang harus dilakukan yaitu membuka aplikasi matlab. Kemudian aplikasi sudah keluar klik *open* untuk membuka file yaitu *browse.m*, lalu klik *run* kemudian klik *add to path* setelah itu muncul kotak untuk proses melakukan pengolahan citra. Setelah itu klik *browse image* kemudian cari file foto yang akan digunakan untuk proses citra. Kemudian klik *crop* untuk memotong

bagian area hitung sel yang diinginkan. Lalu atur *dynamic contrast* sesuai dengan citra foto yang asli setelah *dynamic contrast* klik *filling* setelah itu maka atur kembali bagian *opening* untuk membersihkan objek-objek kecil yang bukan termasuk jenis sel. Setelah itu klik bagian hitung maka akan muncul *figure 1* dan *figure 2*. Dapat dilihat pada Lampiran 3 cara penggunaan *hematology analyzer tools*.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan hematologi ikan nila dan ikan patin. Pengamatan ini dilakukan untuk mengetahui hasil perhitungan sel eritrosit dan leukosit dengan menggunakan *hematology analyzer tools*, untuk mempermudah, mempercepat dan meningkatkan keakuratan hasil data. Selain perhitungan eritrosit dan perhitungan leukosit yang dihitung dengan menggunakan *hematology analyzer tools*, untuk melihat gambaran komponen hematologi yang lainnya dilakukan pengamatan diferensial leukosit, hematokrit, dan hemoglobin secara manual.

3.4.2 Parameter Penunjang

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

- Suhu yang diukur menggunakan *thermometer*
- pH air yang diukur dengan pH meter
- Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter
- Pengukuran parameter penunjang dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB

3.5 Analisa Data

Analisis hematologi ikan nila (*O. niloticus*) dan ikan patin (*P. pangasius*) dilakukan dengan cara penelitian eksperimen dan deskriptif. Data sel eritrosit dan

sel leukosit ikan nila (*O. niloticus*) dan ikan patin (*P. pangasius*) yang didapatkan dengan cara perhitungan manual menggunakan *handtally counter* dan *hematology analyzer tools* di lakukan uji menggunakan uji tabel t, yang mana digunakan untuk mengetahui pengaruh penggunaan dari *hematology analyzer tools* apakah lebih akurat. Data yang diperoleh dari penelitian deskriptif yaitu data hasil hematokrit, hemoglobin serta diferensial leukosit ikan nila (*O. niloticus*) dan ikan patin (*P. pangasius*).

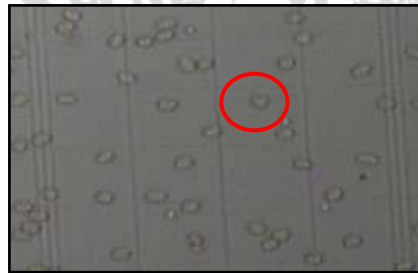


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

4.1.1 Hasil Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

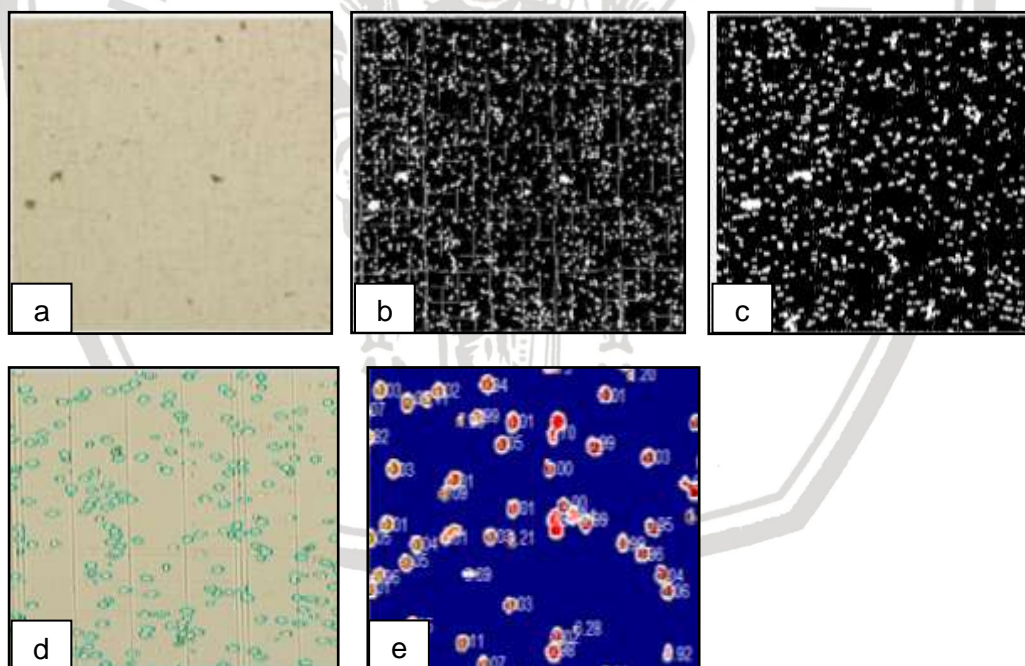
Sel eritrosit merupakan sel darah merah yang menggunakan larutan hayem sebagai larutan pengencer. Larutan hayem digunakan untuk menghilangkan sel leukosit agar pada saat pengambilan citra hasil foto hanya sel eritrosit yang terlihat. Jika dilihat dari citra hasil foto sel eritrosit berwarna putih bening, karena larutan pengencer berwarna putih sehingga sel eritrosit menyerap warna dari larutan hayem. Hasil citra foto diambil menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 dengan perbesaran 100X. Dapat dilihat citra hasil foto sel eritrosit ikan Nila yang bertanda lingkaran merah pada Gambar 9.



Gambar 9. Contoh Citra Hasil Foto Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) Menggunakan Mikroskop Digital Olympus BX-41 dengan Perbesaran 100X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Tahap proses perhitungan jumlah sel eritrosit secara manual dilakukan dengan menggunakan *handtally counter* yang umum dapat dilakukan dalam skala laboratorium karena proses relatif lebih cepat dan langsung dihitung melalui mikroskop tetapi hasilnya kurang akurat, karena kejelian mata dan ketepatan pada saat mengklik *handtally counter*. Sedangkan untuk proses yang lebih utama dilakukan menggunakan *hematology analyzer tools* cara ini membutuhkan waktu yang relatif lama tetapi hasilnya lebih akurat karena prosesnya membutuhkan keahlian dalam melakukan pengolahan citra hasil foto.

Dalam proses perhitungan sel eritrosit menggunakan pengolahan citra hasil foto mikroskop digital olympus BX-41, masalah yang dihadapi adalah bagaimana cara mengenali objek sel eritrosit pada citra hasil foto. Citra hasil foto pada Gambar 9 memiliki format *.jpg dimana sel eritrosit yang bertumpuk masih dihitung menjadi satu sel eritrosit. Perhitungan sel eritrosit dapat dilakukan dengan baik ketika objek sel eritrosit terpisah dari sel yang bukan termasuk eritrosit. Jenis citra hasil foto yang cocok untuk dilakukan perhitungan adalah citra hitam putih. Pada saat melakukan pengolahan citra hitam putih membutuhkan teknik yang tepat, sesuai dengan karakteristik citra sel eritrosit, untuk dapat membuat citra asli menjadi citra hitam putih tanpa harus mengubah bentuk, ukuran dan jumlah sel eritrosit yang ada didalam citra hasil foto. Dapat dilihat pada Gambar 10 adalah gambar hasil *processing* yang telah dilakukan menggunakan *hematology analyzer tools*.



Gambar 10. Hasil *Processing* Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) a. Gambar Hasil *Cropping*, b. Hasil *Dinamic Contrast* dan *Filling*, c. Hasil *Opening*, d. Hasil Pewarnaan, e. Hasil Fitur Tingkat *Roundness* Objek Sel Eritrosit (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 10 adalah hasil *processing* sel eritrosit ikan Nila (*O. niloticus*) dalam melakukan perhitungan menggunakan *hematology analyzer tools*, pada Gambar 10a hasil *cropping* dari citra hasil foto sel eritrosit ikan Nila menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 digunakan untuk memotong gambar sesuai area hitung untuk sel eritrosit pada *haemocytometer*. Pada Gambar 10b hasil *dynamic contrast* digunakan untuk mengubah warna *background* citra berwarna menjadi citra hitam putih dan *filling* digunakan untuk mengisi objek yang terdeteksi sebagai sel. Pada Gambar 10c hasil *opening* digunakan untuk membersihkan objek-objek kecil yang sudah dipastikan sebagai sel eritrosit. Pada Gambar 10d hasil pewarnaan digunakan untuk menandai sel eritrosit dan mengkonfirmasi yang termasuk sel eritrosit atau bukan sel eritrosit. Pada Gambar 10e hasil fitur tingkat *roundness* (tingkat kebulatan sel) objek sel eritrosit digunakan untuk mengetahui sel eritrosit atau bukan sel eritrosit berdasarkan tingkat *roundness*. Jika sel yang ada didalam area hitung memiliki nilai *roundness* 0,75 maka dapat dikatakan sebagai sel eritrosit dan jika memiliki nilai *roundness* dibawah 0,75 bukan termasuk sel eritrosit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noercholis *et al.* (2013), suatu objek sel dapat dikatakan sebagai sel darah yaitu jika memiliki nilai *roundness* diatas 0,75. Hasil perhitungan sel eritrosit menggunakan *hematology analyzer tools* dan perhitungan manual menggunakan *handtally counter* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit (10^6 sel/mm ³)	
	Aplikasi	Manual
Ikan Nila 1	$0,82 \times 10^6$	$0,77 \times 10^6$
Ikan Nila 2	$2,88 \times 10^6$	$2,83 \times 10^6$
Ikan Nila 3	$2,22 \times 10^6$	$2,18 \times 10^6$
Ikan Nila 4	$2,58 \times 10^6$	$2,40 \times 10^6$
Ikan Nila 5	$2,97 \times 10^6$	$2,89 \times 10^6$
Jumlah	$11,47 \times 10^6$	$11,07 \times 10^6$
Rata-rata	$2,294 \times 10^6$	$2,214 \times 10^6$

Berdasarkan Tabel 1 hasil penelitian ikan Nila memiliki nilai rata-rata sel eritrosit dengan menggunakan aplikasi sebesar $2,294 \times 10^6$ sel/mm³, sedangkan untuk perhitungan manual menggunakan *handtally counter* hasil rata-rata sel eritrosit sebesar $2,214 \times 10^6$ sel/mm³. Hasil perhitungan sel eritrosit dengan menggunakan aplikasi maupun manual dapat dilihat pada Lampiran 4.

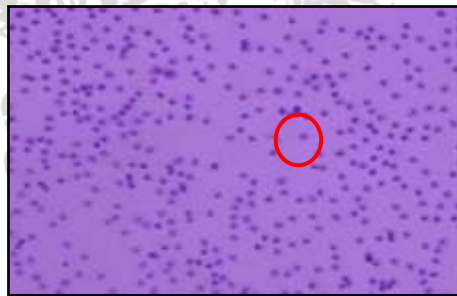
Menurut Bittencourt *et al.* (2003), nilai sel eritrosit ikan Nila normal berkisar antara $0,7 \times 10^6$ sel/mm³ - 28×10^6 sel/mm³. Berdasarkan hasil penelitian nilai sel eritrosit masih dalam kisaran normal. Menurut pernyataan Shen *et al.* (2018), sel eritrosit memiliki peran yang sangat penting dalam sirkulasi darah yaitu mengangkut gas oksigen ke dalam sel dan jaringan selain itu sel eritrosit memiliki peran yang sama pentingnya dengan leukosit yaitu sebagai sistem pertahanan tubuh ikan terhadap penyakit. Akibat adanya stres ikan mudah terserang infeksi bakteri sehingga perubahan pada nilai sel eritrosit mengalami penurunan. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi ikan stres yaitu faktor lingkungan yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada nilai sel eritrosit pada ikan (Bailone *et al.*,2010).

Untuk mengetahui pengaruh perhitungan sel eritrosit manual menggunakan *handtally counter* dan perhitungan sel eritrosit yang menggunakan *hematology analyzer tools* maka dilakukan uji t yang dapat dilihat pada Lampiran 5. Berdasarkan hasil yang didapatkan t hitung (Lampiran 5), untuk uji t sel eritrosit ikan Nila yaitu 3,09. Apabila t hitung lebih besar dari t tabel 1% yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata, t hitung lebih besar dari t tabel 5% tetapi masih lebih kecil dari tabel 1% menunjukkan hasil berbeda nyata, t hitung lebih kecil dari t tabel 5% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada hasil perhitungan uji t didapatkan hasil bahwa t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih kecil dari t tabel 1% atau $2,77 < 3,09 < 4,60$ yang menunjukkan hasil berbeda nyata atau signifikan. Dari hasil uji t dapat disimpulkan bahwa hasil

perhitungan sel eritrosit ikan Nila (*O. niloticus*) yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada hasil manual yang menggunakan *handtally counter*.

4.1.2 Hasil Sel Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

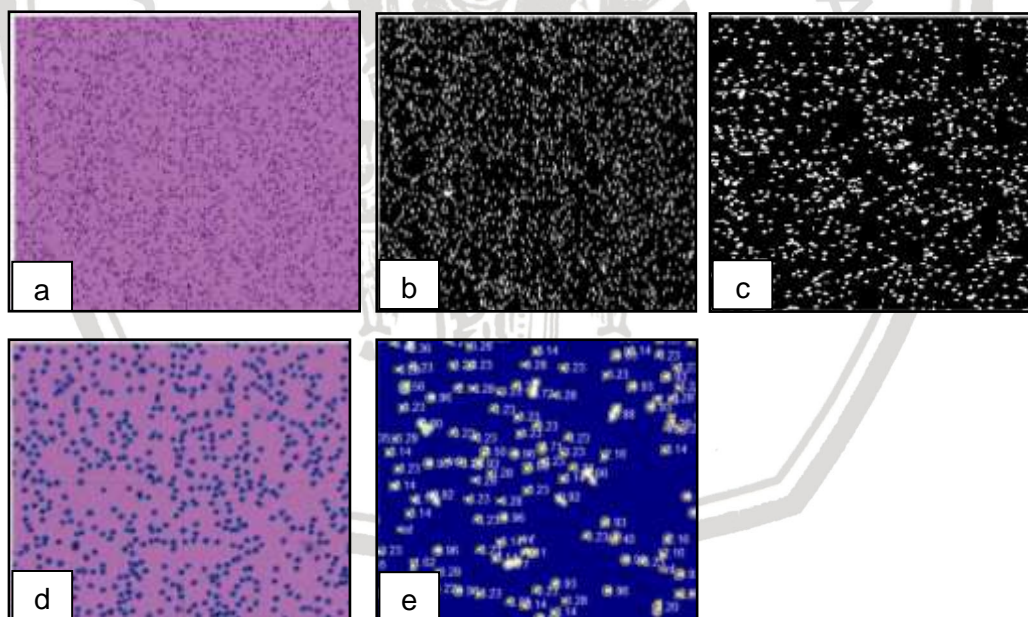
Sel leukosit merupakan sel darah putih yang menggunakan larutan turk sebagai larutan pengencer. Larutan turk digunakan untuk menghilangkan sel eritrosit agar pada saat pengambilan citra hasil foto hanya sel leukosit yang terlihat. Jika dilihat hasil citra sel leukosit berwarna ungu karena pengencernya berwarna biru keunguan. Sehingga sel leukosit menyerap warna dari larutan turk. Pengambilan citra foto dilakukan menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 dengan perbesaran 400X. Dapat dilihat citra hasil foto sel leukosit ikan Nila yang bertanda lingkaran merah pada Gambar 11.



Gambar 11. Contoh Citra Hasil Foto Sel Leukosit (*O. niloticus*) Menggunakan Mikroskop Digital Olympus BX-41 dengan Perbesaran 400X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Tahap proses perhitungan jumlah leukosit secara manual dilakukan dengan menggunakan *handtally counter* yang dapat dilakukan dalam skala laboratorium karena proses relatif lebih cepat dan langsung dihitung melalui mikroskop tetapi hasilnya kurang akurat, karena kejelian mata dan ketepatan pada saat mengklik *handtally counter*. Sedangkan untuk proses yang lebih utama dilakukan dengan menggunakan *hematology analyzer tools* cara ini membutuhkan waktu yang relatif lama tetapi hasilnya lebih akurat karena prosesnya membutuhkan keahlian dalam melakukan pengolahan citra hasil foto.

Dalam proses perhitungan sel leukosit menggunakan pengolahan citra hasil foto mikroskop digital olympus BX-41, masalah yang dihadapi adalah bagaimana cara mengenali objek sel leukosit pada citra hasil foto. Citra hasil foto pada Gambar 11 memiliki format *.jpg dimana sel leukosit yang bertumpuk masih dihitung menjadi satu sel leukosit. Perhitungan sel leukosit dapat dilakukan dengan baik ketika objek sel leukosit terpisah dari sel yang bukan termasuk leukosit. Jenis citra hasil foto yang cocok untuk dilakukan perhitungan adalah citra hitam putih. Pada saat melakukan pengolahan citra hitam putih membutuhkan teknik yang tepat, sesuai dengan karakteristik citra sel leukosit, untuk dapat membuat citra asli menjadi citra hitam putih tanpa harus mengubah bentuk, ukuran dan jumlah sel leukosit yang ada didalam citra hasil foto. Dapat dilihat pada Gambar 12 adalah gambar hasil *processing* yang telah dilakukan menggunakan *hematology analyzer tools*.



Gambar 12. Hasil *Processing* Sel Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) **a.** Gambar Hasil *Cropping*, **b.** Hasil *Dinamic Contrast* dan *Filling*, **c.** Hasil *Opening*, **d.** Hasil Pewarnaan, **e.** Hasil Fitur Tingkat *Roundness* Objek Sel Leukosit (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 12 adalah hasil *processing* sel leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) dalam melakukan perhitungan menggunakan *hematology*

analyzer tools, pada Gambar 12a hasil *cropping* dari citra hasil foto sel leukosit ikan Nila menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 digunakan untuk memotong gambar sesuai area hitung untuk sel leukosit pada *haemocytometer*. Pada Gambar 12b hasil *dynamic contrast* digunakan untuk mengubah warna background citra berwarna menjadi citra hitam putih dan *filling* digunakan untuk mengisi objek yang terdeteksi sebagai sel. Pada Gambar 12c hasil *opening* digunakan untuk membersihkan objek-objek kecil yang sudah dipastikan sebagai sel leukosit. Pada Gambar 12d hasil pewarnaan digunakan untuk menandai sel leukosit dan mengkonfirmasi yang termasuk sel leukosit maupun bukan sel leukosit. Pada Gambar 12e hasil fitur tingkat *roundness* objek sel leukosit digunakan untuk mengetahui sel leukosit atau bukan sel leukosit berdasarkan tingkat *roundness*. Jika sel yang ada di dalam area hitung memiliki nilai *roundness* diatas 0,75 maka dapat dikatakan sebagai sel leukosit dan jika memiliki nilai *roundness* dibawah 0,75 bukan termasuk sel leukosit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noercholis *et al.* (2013), suatu objek sel dapat dikatakan sebagai sel darah yaitu jika memiliki nilai *roundness* diatas 0,75. Hasil perhitungan sel leukosit menggunakan *hematology analyzer tools* dan perhitungan manual menggunakan *handtally counter* dapat dilihat Pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Sel Leukosit pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit (sel/mm ³)	
	Aplikasi	Manual
Ikan Nila 1	357.100	347.750
Ikan Nila 2	420.700	398.750
Ikan Nila 3	361.800	349.250
Ikan Nila 4	326.250	310.500
Ikan Nila 5	436.500	413.150
Jumlah	1.902.350	1.819.400
Rata-rata	380.470	363.880

Berdasarkan Tabel 2 hasil penelitian ikan Nila memiliki nilai rata-rata sel leukosit didapatkan yaitu untuk perhitungan dengan menggunakan aplikasi sebesar 380.470 sel/mm³, sedangkan perhitungan manual menggunakan

handtally counter sebesar 363.880 sel/mm³. Hasil perhitungan sel leukosit ikan Nila dengan aplikasi maupun secara manual dapat dilihat pada Lampiran 6.

Hasil penelitian leukosit pada ikan Nila (*O. niloticus*) menunjukkan bahwa hasil leukosit lebih tinggi dari kisaran normal, menurut Mael *et al.* (2007), sel leukosit ikan Nila normal berkisar antara 18.750 - 151.750 sel/mm³. Jumlah sel leukosit merupakan salah satu parameter yang sangat penting dalam ilmu hematologi karena dapat digunakan untuk mendiagnosa berbagai macam jenis penyakit (Nussey *et al.*, 1995). Peningkatan jumlah sel leukosit dapat disebabkan karena ikan mengalami stres. Stres pada ikan disebabkan karena ikan baru beradaptasi ke lingkungan barunya. Faktor lingkungan yang dapat menyebabkan stres yaitu perubahan salinitas dan gangguan eksternal (Fatimah *et al.*, 2017).

Untuk mengetahui pengaruh perhitungan sel leukosit manual yang menggunakan *handtally counter* dengan perhitungan sel leukosit aplikasi yang menggunakan *hematology analyzer tools* maka dilakukan uji t yang dapat dilihat pada Lampiran 7. Berdasarkan hasil t hitung (Lampiran 7), untuk uji t sel leukosit ikan Nila yaitu 6,19. Apabila t hitung lebih besar dari t tabel 1% yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata, t hitung lebih besar dari t tabel 5% tetapi masih lebih kecil dari tabel 1% menunjukkan hasil berbeda nyata, t hitung lebih kecil dari t tabel 5% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada hasil perhitungan uji t didapatkan hasil bahwa t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1% atau $2,77 < 6,19 > 4,60$ yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Dari hasil uji t dapat disimpulkan bahwa hasil perhitungan sel leukosit ikan Nila (*O. niloticus*) menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada manual yang menggunakan *handtally counter*.

4.1.3 Hasil Diferensial Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Diferensial leukosit merupakan bagian dari sel leukosit yang terdiri dari polimorfonuklear (neutrofil, eosinofil, basofil) dan mononuklear (monosit dan limfosit). Dapat dilihat hasil diferensial leukosit ikan Nila pada Tabel 3.

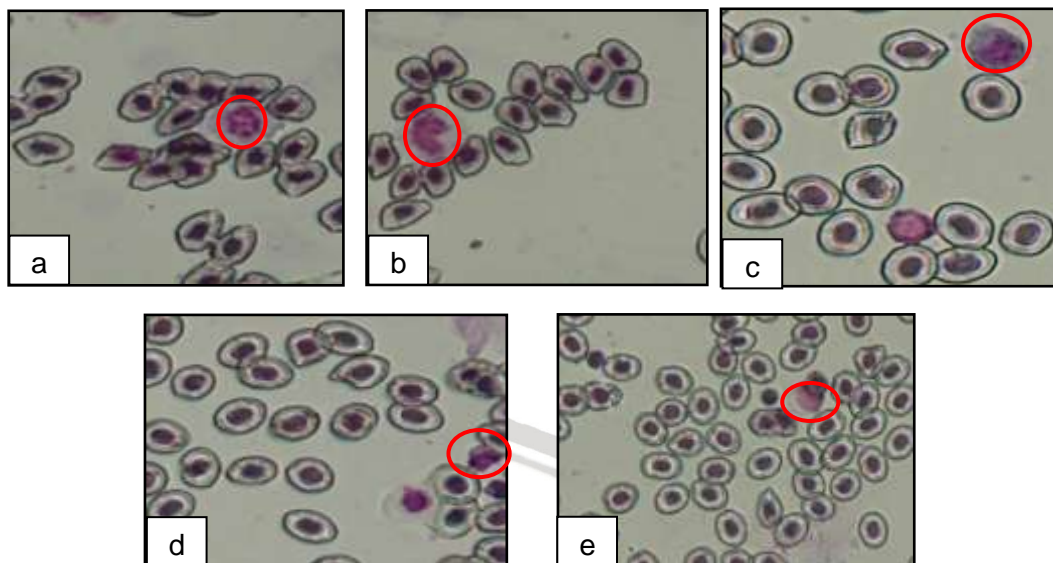
Tabel 3. Hasil Rata-rata Nilai Diferensial Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sampel/Variabel	Sel Limfosit (%)	Sel Monosit (%)	Sel Basofil (%)	Sel Eusinofil (%)	Sel Neutrofil (%)
Ikan Nila 1	25,8	28,8	5	9	31,4
Ikan Nila 2	29,6	26,4	4,8	9,6	29,6
Ikan Nila 3	29,8	28,6	1	10,4	30,2
Ikan Nila 4	38,4	33	0,2	6,4	22
Ikan Nila 5	32,2	30,8	2,8	9,2	25
Jumlah	155,8	147,6	13,8	44,6	138,2
Rata-rata	31,16	29,52	2,76	8,92	27,64

Berdasarkan Tabel 3 merupakan hasil penelitian dari nilai rata-rata difrensial leukosit 5 kali perhitungan dalam satu *objek glass* menunjukkan bahwa rata-rata sel limfosit pada ikan Nila 4 memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 38,4% dan rata-rata sel limfosit pada ikan Nila 1 memiliki nilai terendah yaitu sebesar 25,8%. Pada rata-rata sel monosit ikan Nila 4 memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 33% dan rata-rata sel monosit ikan Nila 2 memiliki nilai terendah yaitu sebesar 26,4%. Rata-rata nilai sel basofil ikan Nila 2 memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 4,8% dan nilai rata-rata sel basofil ikan Nila 4 memiliki nilai terendah sebesar 0,2%. Nilai rata-rata sel eosinofil pada ikan Nila 3 memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 10,4% dan ikan Nila 4 memiliki nilai rata-rata sel eosinofil terendah yaitu sebesar 6,4%. Nilai rata-rata sel neutrofil pada ikan Nila 1 memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 31,4% dan nilai rata-rata sel neutrofil pada ikan Nila 4 memiliki nilai terendah yaitu sebesar 22%.

Dapat dilihat pada Lampiran 8 perhitungan hasil rata-rata nilai diferensial leukosit yang menunjukkan bahwa ikan Nila banyak ditemukan sel limfosit

dengan rata-rata 31,16% dan sel basofil jarang ditemukan dengan rata-rata 2,76%. Menurut Tavares-Dias *et al.* (2002), kisaran limfosit pada ikan nila normal yaitu 11% - 42%, kisaran neutrofil ikan nila normal yaitu 3% - 27%, dan kisaran monosit yaitu 0% - 32%. Dari hasil penelitian nilai sel limfosit masih dalam kisaran normal. Menurut Nussey *et al.* (1995), limfosit merupakan leukosit agranulosit yang memiliki sitoplasma tanpa adanya granular. Limfosit memiliki bentuk yang bulat atau oval, kaya dengan kromatin dan strukturnya tidak jelas dan memiliki warna ungu atau kemerahan yang menempati hampir seluruh sel. Limfosit merupakan jenis leukosit yang paling banyak ditemukan dalam darah ikan. Jumlah limfosit dalam darah meningkat merupakan tanda bahwa sel darah tersebut bereaksi terhadap protein dan infeksi parasit dari luar tubuh ikan. Kisaran basofil dan eosinofil dalam kisaran ikan nila sehat tidak ditemukan. Menurut Grant (2015), bahwa sel eosinofil dan sel basofil jarang ditemukan pada jenis ikan teleostei, pada beberapa spesies ikan teleostei sel eosinofil jarang ditemukan, sel eosinofil memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan sel neutrofil, memiliki bentuk inti bulat dan bergranul. Sitoplasma sel eosinofil berwarna biru pucat. Sel eosinofil juga memiliki peran dalam mempertahankan tubuh dari infeksi parasit yang menyerang ikan. Namun, ikan yang tidak ditemukan sel eosinofil akan bergantung pada sel darah yang lain untuk mempertahankan tubuhnya dari infeksi parasit. Sel basofil juga jarang ditemukan pada ikan teleostei tetapi ada beberapa informasi bahwa pada beberapa spesies ikan tertentu. Bentuk dari sel basofil memiliki sel bulat kecil dengan butiran sel basofilik dan inti sel. Sering ditemukan sel basofil yang memiliki butiran pada sitoplasma sehingga inti sel sulit untuk dilihat. Dapat dilihat hasil diferensial leukosit pada ikan Nila yang diberi tanda lingkaran merah pada Gambar 13.



Gambar 13. a. Neutrofil, b. Monosit, c. Basofil, d. Eusinofil dan e. Limfosit Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Berdasarkan Gambar 13 hasil diferensial leukosit ikan Nila pada saat melakukan penelitian yaitu pada Gambar 13a yaitu neutrofil memiliki inti berbentuk bulat, dan bergranul, Gambar 13b yaitu monosit memiliki inti berbentuk lonjong dan ukuran lebih besar dibandingkan dengan neutrofil, Gambar 13c yaitu basofil memiliki inti berbentuk bulat, granul pada basofil menutupi inti, Gambar 13d yaitu eusinofil memiliki inti sel tidak sentris, berbentuk oval atau memanjang, dan Gambar 13e yaitu limfosit memiliki inti berbentuk bulat yang hampir menutupi sel.

4.1.4 Hasil Hematokrit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Tabel 4. Hasil Hematokrit ikan Nila (*O. niloticus*)

No.	Sampel/Variabel	Hematokrit (%)		Keterangan
		Penelitian	Normal	
1	Ikan Nila 1	20		Normal
2	Ikan Nila 2	27	15-45	Normal
3	Ikan Nila 3	27	(Bittencourt <i>et al.</i> ,	Normal
4	Ikan Nila 4	22	2003)	Normal
5	Ikan Nila 5	22		Normal

Hematokrit merupakan perbandingan volume sel darah dengan plasma darah yang dapat dinyatakan dengan presentase. Pada Tabel 4 nilai hematokrit pada ikan Nila 1 sebesar 20%, ikan Nila 2 dan ikan Nila 3 nilai hematokrit sebesar 27%, ikan Nila 4 dan ikan Nila 5 nilai hematokrit sebesar 22%. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai presentase hematokrit ikan Nila masih dalam kisaran normal. Tinggi rendahnya hematokrit pada ikan Nila dipengaruhi oleh ukuran tubuh dan musim pemijahan. Perbedaan ukuran tubuh ikan mempengaruhi nilai hematokrit, semakin panjang tubuh ikan maka semakin meningkat nilai hematokrit. Sedangkan peningkatan nilai hematokrit juga berkaitan dengan kebutuhan energi ikan pada saat musim pemijahan (Jawad *et al.*, 2004). Ada beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai hematokrit yaitu stres (anestesi dan asupan air) serta faktor lingkungan (suhu, oksigen terlarut). *Anemia* dapat dikatakan jika nilai hematokrit kurang dari 20% akibat kurangnya darah pada tubuh ikan, kerusakan pada sel darah atau terjadi penurunan produksi pada darah ikan. Sedangkan jika nilai hematokrit 45% dapat dikatakan ikan mengalami *polycythemia* karena pembengkakan pada sel eritrosit, stres, serta *hipoksia*. Selain itu jika nilai hematokrit menurun maka ikan terkena infeksi (Grant, 2015).

4.1.5 Hasil Hemoglobin Ikan Nila (*O. niloticus*)

Tabel 5. Hasil Hemoglobin ikan Nila (*O. niloticus*)

No.	Sampel/Variabel	Hemoglobin (g/dL)		Keterangan
		Penelitian	Normal	
1	Ikan Nila 1	46		Normal
2	Ikan Nila 2	4,2	2,3-9,8	Normal
3	Ikan Nila 3	5	(Hamid <i>et al.</i> , 2013)	Normal
4	Ikan Nila 4	4,8		Normal
5	Ikan Nila 5	4,2		Normal

Hemoglobin adalah salah satu parameter hematologi yang sangat erat kaitannya dengan jumlah sel eritrosit. Pada Tabel 5 nilai hemoglobin ikan Nila 1

yaitu 4,6 g/dL, ikan Nila 2 nilai hemoglobin sebesar 4,2 g/dL, ikan Nila 3 nilai hemoglobin sebesar 5 g/dL, ikan Nila 4 nilai hemoglobin sebesar 4,8 g/dL dan ikan Nila 5 nilai hemoglobin sebesar 4,2 g/dL. Hasil penelitian menunjukkan nilai hemoglobin ikan Nila masih dalam kisaran normal. Nilai hemoglobin dapat digunakan untuk mengindiskan bahwa dibawah kondisi normal nilai hemoglobin maka ikan mengalami *anemia* (Hesser,1960). Secara fisiologis nilai hemoglobin sangat penting untuk kelangsungan hidup ikan karena berkaitan dalam pengikatan oksigen dalam tubuhnya. Tinggi rendahnya nilai hemoglobin ikan Nila dapat dipengaruhi oleh umur ikan, perubahan musim serta kondisi lingkungan perairan. *Anemia* dapat terjadi karena ikan kekurangan zat mineral dan vitamin, hemoglobin dapat digunakan untuk menentukan tingkat ketahanan tubuh pada ikan karena hubungannya dengan sel eritrosit sangat erat. Kemampuan ikan dalam mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin yang terdapat di dalam eritrosit. Sehingga jika nilai hemoglobin rendah maka dapat menyebabkan laju metabolisme pada ikan menurun (Rios *et al.*, 2005).

4.2 Hasil Hematologi Ikan Patin (*P. pangasius*)

4.2.1 Hasil Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Sel eritrosit merupakan sel darah merah yang menggunakan larutan hayem sebagai larutan pengencer. Larutan hayem ini berbeda dengan larutan turk dapat dilihat dari segi warna, larutan hayem digunakan untuk menghilangkan sel leukosit agar pada saat pengambilan citra hasil foto hanya sel eritrosit yang terlihat. Jika dilihat pada hasil citra foto sel eritrosit berwarna putih bening, karena larutan pengencer berwarna putih sehingga sel eritrosit menyerap warna dari larutan hayem. Pengambilan citra foto menggunakan menggunakan mikroskop digital Olympus BX-41 dengan perbesaran 100X. Dapat dilihat

citra hasil foto sel eritrosit ikan Patin yang bertanda lingkaran merah pada Gambar 14.

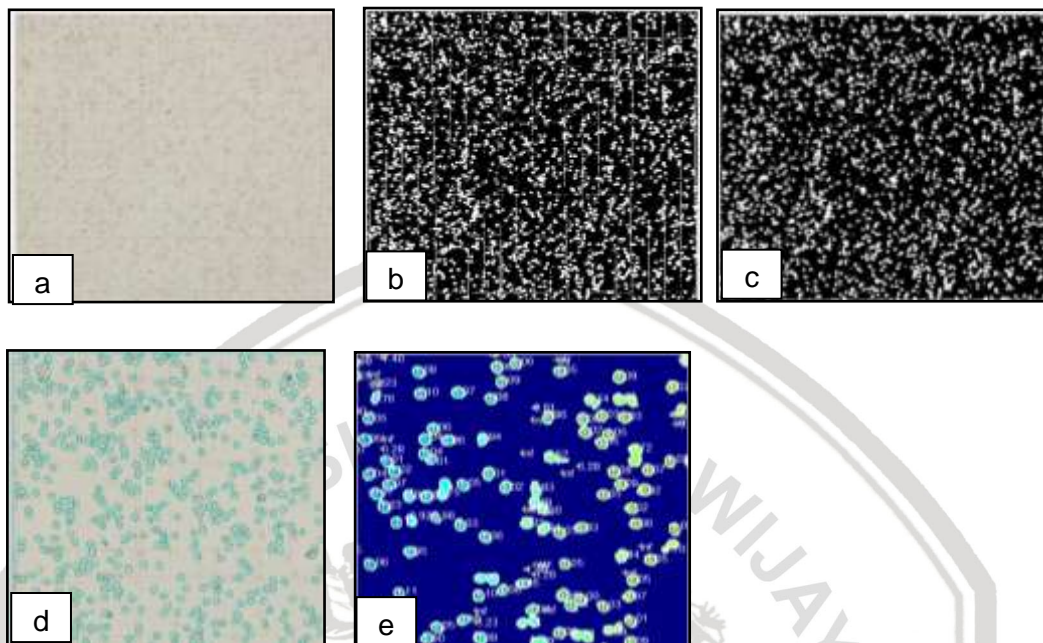


Gambar 14. Contoh Citra Hasil Foto Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*) Menggunakan Mikroskop Digital Olympus BX-41 dengan Perbesaran 100X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Pada tahap proses perhitungan jumlah sel eritrosit ikan Patin secara manual dilakukan dengan menggunakan *handtally counter* yang dapat dilakukan dalam skala laboratorium karena proses relatif lebih cepat dan langsung dihitung melalui mikroskop tetapi hasilnya kurang akurat, karena kejelian mata dan ketepatan pada saat mengklik *handtally counter*. Sedangkan untuk proses yang lebih utama dilakukan dengan menggunakan *hematology analyzer tools* cara ini membutuhkan waktu yang relatif lama tetapi hasilnya lebih akurat karena prosesnya membutuhkan keahlian dalam melakukan pengolahan citra hasil foto.

Dalam proses perhitungan sel eritrosit menggunakan pengolahan citra hasil foto mikroskop digital olympus BX-41, masalah yang dihadapi adalah bagaimana cara mengenali objek sel eritrosit pada citra hasil foto. Citra hasil foto pada Gambar 14 memiliki format *.jpg dimana sel eritrosit yang bertumpuk masih dihitung menjadi satu sel eritrosit. Perhitungan sel eritrosit dapat dilakukan dengan baik ketika objek sel eritrosit terpisah dari sel yang bukan termasuk eritrosit. Jenis citra hasil foto yang cocok untuk dilakukan perhitungan adalah citra hitam putih. Pada saat melakukan pengolahan citra hitam putih membutuhkan teknik yang tepat, sesuai dengan karakteristik citra sel eritrosit, untuk dapat membuat citra asli menjadi citra hitam putih tanpa harus mengubah

bentuk, ukuran dan jumlah sel eritrosit yang ada didalam citra hasil foto. Gambar hasil *processing* yang telah dilakukan menggunakan *hematology analyzer tools* dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil *Processing* Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*) **a.** Gambar Hasil *Cropping*, **b.** Hasil *Dinamic Contrast* dan *Filling*, **c.** Hasil *Opening*, **d.** Hasil Pewarnaan, **e.** Hasil Fitur Tingkat *Roundness* Objek Sel Eritrosit (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 15 adalah hasil *processing* sel eritrosit ikan Patin (*P. pangasius*) dalam melakukan perhitungan menggunakan *hematology analyzer tools*, pada Gambar 15a hasil *cropping* dari citra hasil foto sel eritrosit ikan Patin menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 digunakan untuk memotong gambar sesuai area hitung untuk sel eritrosit pada *haemocytometer*. Pada Gambar 15b hasil *dinamic contrast* digunakan untuk mengubah warna *background* citra berwarna menjadi citra hitam putih dan *filling* digunakan untuk mengisi objek yang terdeteksi sebagai sel. Pada Gambar 15c hasil *opening* digunakan untuk membersihkan objek-objek kecil yang sudah dipastikan sebagai sel eritrosit. Pada Gambar 15d hasil pewarnaan digunakan untuk menandai sel eritrosit dan mengkonfirmasi yang termasuk sel eritrosit

maupun bukan sel eritrosit. Pada Gambar 15e hasil fitur tingkat *roundness* (tingkat kebulatan sel) objek sel eritrosit digunakan untuk mengetahui sel eritrosit atau bukan sel eritrosit berdasarkan tingkat *roundness*. Jika sel yang ada didalam area hitung memiliki nilai *roundness* diatas 0,75 maka dapat dikatakan sebagai sel eritrosit dan jika memiliki nilai *roundness* dibawah 0,75 bukan termasuk sel eritrosit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noercholis *et al.* (2013), suatu objek sel dapat dikatakan sebagai sel darah yaitu jika memiliki nilai *roundness* diatas 0,75. Hasil perhitungan sel eritrosit menggunakan *hematology analyzer tools* dan perhitungan manual menggunakan *handtally counter* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit (10^6 sel/mm ³)	
	Aplikasi	Manual
Ikan Patin 1	$3,88 \times 10^6$	$3,78 \times 10^6$
Ikan Patin 2	$3,87 \times 10^6$	$3,72 \times 10^6$
Ikan Patin 3	$3,18 \times 10^6$	$3,07 \times 10^6$
Ikan Patin 4	$5,17 \times 10^6$	$5,09 \times 10^6$
Ikan Patin 5	$4,05 \times 10^6$	$3,87 \times 10^6$
Jumlah	$20,15 \times 10^6$	$19,53 \times 10^6$
Rata-rata	$4,03 \times 10^6$	$3,906 \times 10^6$

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 6 ikan Patin memiliki nilai rata-rata sel eritrosit sebesar $4,03 \times 10^6$ sel/mm³ untuk perhitungan menggunakan aplikasi, sedangkan hasil rata-rata nilai sel eritrosit menggunakan *handtally counter* sebesar $3,906 \times 10^6$ sel/mm³. Hasil perhitungan sel eritrosit ikan Patin dengan aplikasi maupun secara manual dapat dilihat pada Lampiran 9.

Pada penelitian yang dilakukan hasil sel eritrosit ikan Patin menunjukkan bahwa sel eritrosit tinggi karena ikan mengalami stress. Menurut Galagarza *et al.* (2017) nilai sel eritrosit pada ikan Patin normal yaitu berkisar antara $1,79 \times 10^6$ sel/mm³ - $2,75 \times 10^6$ sel/mm³, hal ini tidak sesuai dengan kisaran nilai sel eritrosit.

Sel eritrosit pada ikan merupakan jenis sel yang sangat melimpah dalam darah. Sel eritrosit memiliki peran utama yaitu mengangkut oksigen dan memiliki peran penting untuk mempertahankan tubuh dari aktivitas bakteri yang dapat menginfeksi tubuh ikan (Noordin *et al.*, 2017). Jika nilai sel eritrosit mengalami penurunan maka nilai hematokrit serta hemoglobin menurun. Karena nilai hematokrit dan jumlah hemoglobin serta sel eritrosit mempunyai keterkaitan. Penurunan dan peningkatan nilai hemoglobin dan hematokrit mengindikasikan bahwa ikan mengalami stres dan anemia akibat adanya infeksi. Kebanyakan ikan jika mengalami stres serta terinfeksi maka ikan akan sakit dan mati. Salah satu penyebab stres pada ikan adalah kandungan oksigen yang tidak sesuai dengan parameter kualitas air untuk budidaya ikan Patin (Rosidah *et al.*, 2018).

Untuk mengetahui pengaruh perhitungan sel eritrosit manual yang menggunakan *handtally counter* dengan perhitungan sel eritrosit aplikasi yang menggunakan *hematology analyzer tools* maka dilakukan dengan perhitungan uji t yang dapat dilihat pada Lampiran 10. Berdasarkan hasil perhitungan (Lampiran 10), menunjukkan bahwa hasil t hitung yaitu 6,88. Apabila t hitung lebih besar dari t tabel 1% yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata, t hitung lebih besar dari t tabel 5% tetapi masih lebih kecil dari tabel 1% menunjukkan hasil berbeda nyata, t hitung lebih kecil dari t tabel 5% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada hasil perhitungan uji t didapatkan hasil bahwa t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1% atau $2,77 < 6,88 > 4,60$ yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Dari hasil uji t dapat disimpulkan bahwa hasil perhitungan sel eritrosit ikan Patin (*P. pangasius*) yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada hasil manual yang menggunakan *handtally counter*.

4.2.2 Hasil Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Sel leukosit merupakan sel darah putih yang menggunakan larutan turk sebagai larutan pengencer. Larutan turk digunakan untuk menghilangkan sel eritrosit agar pada saat pengambilan citra hasil foto hanya sel leukosit yang terlihat. Jika dilihat hasil citra sel leukosit berwarna biru keunguan, karena pengencernya berwarna biru keunguan karena sel leukosit menyerap warna dari larutan turk. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan citra hasil foto ikan Patin menggunakan mikroskop digital olympus BX-41. Pengambilan citra foto sel leukosit dilakukan dengan menggunakan perbesaran 400X. Dapat dilihat citra hasil foto sel leukosit ikan Patin pada Gambar 16.

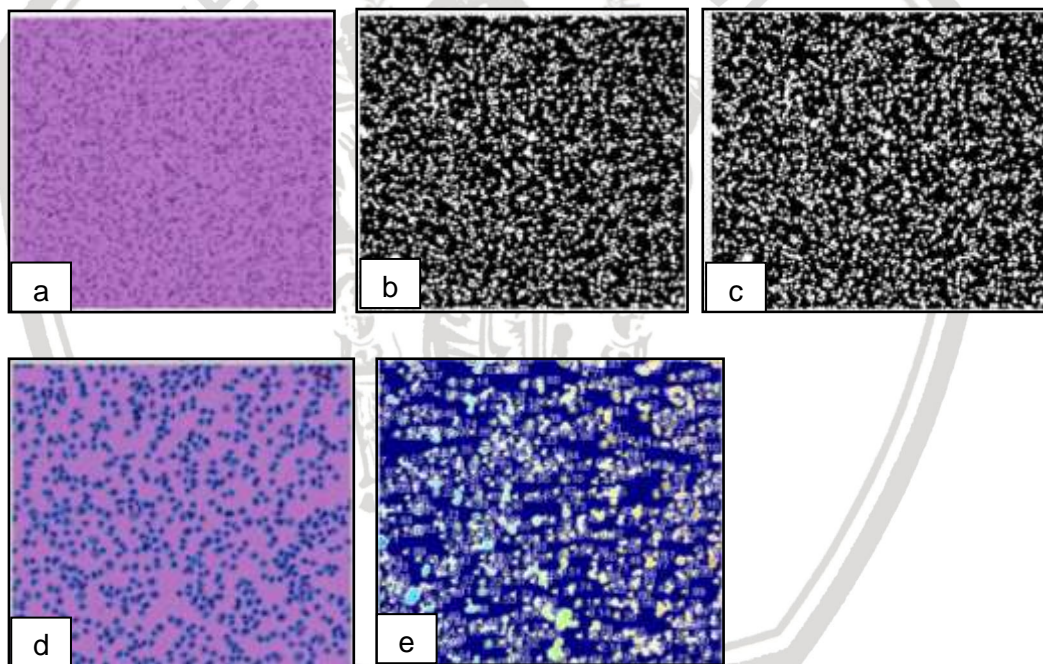


Gambar 16. Contoh Citra Hasil Foto Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*) Menggunakan Mikroskop Digital Olympus BX-41 dengan Perbesaran 400X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Pada tahap proses perhitungan jumlah leukosit secara manual dilakukan dengan menggunakan *handtally counter* yang dapat dilakukan dalam skala laboratorium karena proses relatif lebih cepat dan langsung dihitung melalui mikroskop tetapi hasilnya kurang akurat, karena kejelian mata dan ketepatan pada saat mengklik *handtally counter*. Sedangkan untuk proses yang lebih utama dilakukan dengan menggunakan aplikasi *hematology analyzer tools* cara ini membutuhkan waktu yang relatif lama tetapi hasilnya lebih akurat karena prosesnya membutuhkan keahlian dalam melakukan pengolahan citra hasil foto.

Dalam proses perhitungan sel leukosit menggunakan pengolahan citra hasil foto mikroskop digital olympus BX-41, masalah yang dihadapi adalah bagaimana

cara mengenali objek sel leukosit pada citra hasil foto. Citra hasil foto pada Gambar 16 memiliki format *.jpg dimana sel leukosit yang bertumpuk masih dihitung menjadi satu sel leukosit. Perhitungan sel leukosit dapat dilakukan dengan baik ketika objek sel leukosit terpisah dari sel yang bukan termasuk leukosit. Jenis citra hasil foto yang cocok untuk dilakukan perhitungan adalah citra hitam putih. Pada saat melakukan pengolahan citra hitam putih membutuhkan teknik yang tepat, sesuai dengan karakteristik citra sel leukosit, untuk dapat membuat citra asli menjadi citra hitam putih tanpa harus mengubah bentuk, ukuran dan jumlah sel leukosit yang ada didalam citra hasil foto. Dapat dilihat hasil *processing* sel leukosit ikan Patin menggunakan *hematology analyzer tools* pada Gambar 17.



Gambar 17. Hasil *Processing* Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*) **a.** Gambar Hasil *Cropping*, **b.** Hasil *Dinamic Contrast* dan *Filling*, **c.** Hasil *Opening*, **d.** Hasil Pewarnaan, **e.** Hasil Fitur Tingkat *Roundness* Objek Sel Leukosit (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 17 adalah hasil *processing* sel leukosit ikan Patin (*P. pangasius*) dalam melakukan perhitungan menggunakan *hematology analyzer tools*, pada Gambar 17a hasil *cropping* dari citra hasil foto

sel leukosit ikan Patin menggunakan mikroskop digital olympus BX-41 digunakan untuk memotong gambar sesuai area hitung untuk sel leukosit pada *haemocytometer*. Pada Gambar 17b hasil *dynamic contrast* digunakan untuk mengubah warna background citra berwarna menjadi citra hitam putih dan *filling* digunakan untuk mengisi objek yang terdeteksi sebagai sel. Pada Gambar 17c hasil *opening* digunakan untuk membersihkan objek-objek kecil yang sudah dipastikan sebagai sel leukosit. Pada Gambar 17d hasil pewarnaan digunakan untuk menandai sel leukosit dan mengkonfirmasi yang termasuk sel leukosit maupun bukan sel leukosit. Pada Gambar 17e hasil fitur tingkat *roundness* (tingkat kebulatan sel) objek sel leukosit digunakan untuk mengetahui sel leukosit atau bukan sel leukosit berdasarkan tingkat *roundness*. Jika sel yang ada didalam area hitung memiliki nilai *roundness* diatas 0,75 maka dapat dikatakan sebagai sel leukosit dan jika memiliki nilai *roundness* dibawah 0,75 bukan termasuk sel leukosit. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Noercholis *et al.* (2013), suatu objek sel dapat dikatakan sebagai sel darah yaitu jika memiliki nilai *roundness* diatas 0,75. Pada Tabel 7 menunjukkan hasil perhitungan sel leukosit menggunakan *hematology analyzer tools* dan perhitungan manual menggunakan *handtally counter*.

Tabel 7. Hasil Perhitungan Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit (sel/mm ³)	
	Aplikasi	Manual
Ikan Patin 1	343.250	320.250
Ikan Patin 2	367.900	344.450
Ikan Patin 3	379.100	358.000
Ikan Patin 4	357.600	330.350
Ikan Patin 5	352.750	333.150
Jumlah	1.800.600	1.686.200
Rata-rata	360.120	337.240

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 7 ikan Patin nilai rata-rata sel leukosit didapatkan hasil pada perhitungan yang menggunakan aplikasi yang

didapatkan yaitu 360.120 sel/mm^3 , sedangkan perhitungan manual menggunakan *handtally counter* sebesar 337.240 sel/mm^3 . Hasil perhitungan sel leukosit ikan Patin dengan aplikasi maupun secara manual dapat dilihat pada Lampiran 11.

Menurut Kumar dan Ramulu (2013), nilai sel leukosit ikan patin normal berkisar antara 38.000 sel/mm^3 – 41.000 sel/mm^3 . Dari hasil penelitian sel leukosit tinggi dan tidak dalam kisaran normal. Menurut Tavares-Dias dan de Moraes (2007), sel leukosit merupakan indikator penting dari keadaan kesehatan pada ikan yang dapat digunakan untuk mengevaluasi sistem kekebalan tubuh pada ikan. Jumlah sel leukosit dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor fisiologis dan juga lingkungan serta respon ikan yang sering ditemukan ketika ikan menjadi sasaran berbagai jenis racun yang ada, khususnya pada lingkungan perairan. Perubahan jumlah sel leukosit merupakan respon untuk membantu ikan dalam melawan efek herbisida atau logam berat pada lingkungan perairan. Biasanya faktor fisiologis dan lingkungan serta respon yang biasanya ditemukan ketika ikan terkena berbagai jenis racun adalah jumlah presentase sel limfosit lebih rendah dan presentase sel neutrofil lebih tinggi (Modesto dan Martinez, 2010).

Untuk mengetahui pengaruh perhitungan sel leukosit aplikasi yang menggunakan *hematology analyzer tools* dengan perhitungan sel leukosit manual yang menggunakan *handtally counter* maka dilakukan uji t untuk perhitungan uji t dapat dilihat pada Lampiran 12. Berdasarkan perhitungan uji t (Lampiran 12), menunjukkan bahwa hasil t hitung dalam uji t yaitu 17,74. Apabila t hitung lebih besar dari t tabel 1% yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata, t hitung lebih besar dari t tabel 5% tetapi masih lebih kecil dari t tabel 1% menunjukkan hasil berbeda nyata, t hitung lebih kecil dari t tabel 5% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata. Pada hasil perhitungan uji t didapatkan hasil bahwa t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1%

atau $2,77 < 17,74 > 4,60$ yang menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Dari hasil uji t dapat disimpulkan bahwa hasil perhitungan sel leukosit ikan Patin (*P. pangasius*) yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada hasil manual yang menggunakan *handtally counter*.

4.2.3 Hasil Diferensial Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Tabel 8. Hasil Rata-rata Nilai Perhitungan Diferensial Leukosit

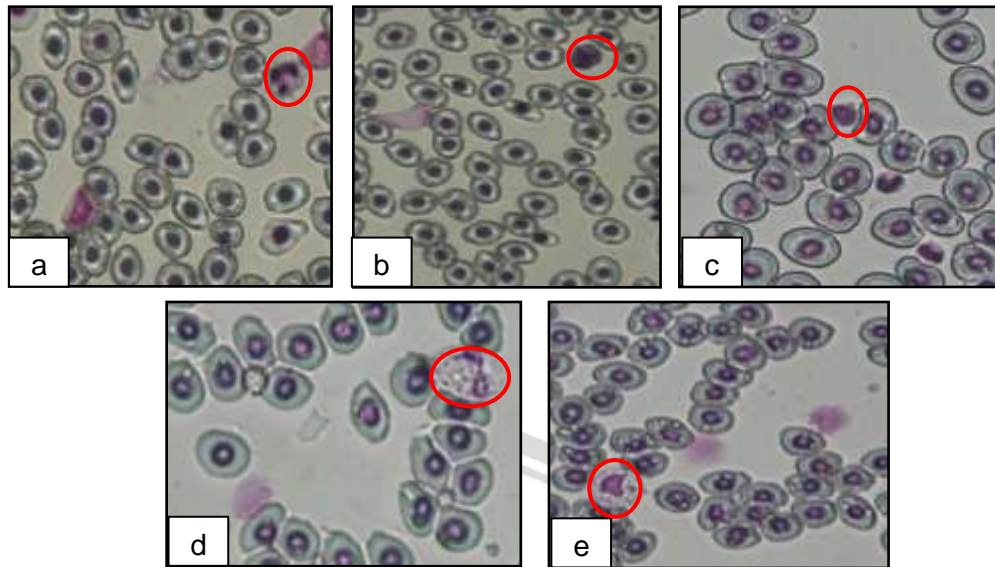
Sampel/Variabel	Sel Limfosit (%)	Sel Monosit (%)	Sel Basofil (%)	Sel Eusinofil (%)	Sel Neutrofil (%)
Ikan Patin 1	22	23,6	7,4	13	34
Ikan Patin 2	19	22	11	11	37
Ikan Patin 3	18	23	11	10	38
Ikan Patin 4	18	24	13	11,6	33,4
Ikan Patin 5	17,6	23,4	15,6	11,4	32
Jumlah	94,6	116	58	57	174,4
Rata-rata	18,92	23,2	11,6	11,4	34,88

Diferensial leukosit merupakan bagian dari leukosit yang dapat dijadikan patokan dalam sistem pertahanan tubuh pada ikan yang terdiri dari sel limfosit, monosit, basofil, eusinofil, dan neutrofil. Pada Tabel 8 merupakan grafik hasil nilai rata-rata perhitungan diferensial leukosit pada ikan Patin 5 kali perhitungan dalam satu objek glass. Hasil penelitian diferensial leukosit ikan Patin 1 memiliki nilai rata-rata sel limfosit tertinggi yaitu sebesar 22% dan ikan Patin 5 memiliki nilai rata-rata sel limfosit terendah yaitu sebesar 17,6%. Ikan Patin 4 memiliki nilai rata-rata sel monosit tertinggi yaitu sebesar 24% dan ikan Patin 2 memiliki nilai rata-rata sel monosit terendah yaitu sebesar 22%. Ikan Patin 5 memiliki nilai rata-rata sel basofil tertinggi yaitu sebesar 15,6% dan ikan Patin 1 memiliki nilai rata-rata sel basofil terendah yaitu sebesar 7,4%. Ikan Patin 1 memiliki nilai rata-rata sel eusinofil tertinggi yaitu sebesar 13 dan ikan Patin 3 memiliki nilai rata-rata sel eusinofil terendah yaitu sebesar 10%. Ikan Patin 3 memiliki nilai rata-rata

sel neutrofil tertinggi yaitu sebesar 38% dan ikan Patin 5 memiliki nilai rata-rata sel neutrofil terendah yaitu sebesar 32%. Perhitungan diferensial leukosit pada ikan Patin dapat dilihat pada Lampiran 13.

Menurut Kumar dan Lamuru (2013), kisaran neutrofil ikan patin normal yaitu 23% – 28%, limfosit berkisar antara 68% - 72%, monosit berkisar antara 2% - 3% dan eosinofil berkisar antara 1% - 3%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah sel neutrofil paling banyak ditemukan dan tidak dalam kisaran normal, menurut Palic *et al.* (2011), neutrofil merupakan salah satu komponen diferensial leukosit yang penting dalam mempertahankan tubuh terhadap infeksi bakteri, jamur dan virus. Neutrofil digunakan sebagai penilaian tentang kesehatan dari individu ikan. Menurut Davis *et al.* (2008), menyatakan bahwa secara khusus perubahan yang disebabkan oleh stres akan meningkatkan jumlah sel neutrofil dan mengakibatkan jumlah sel limfosit menurun. Sel neutrofil adalah salah satu diferensial leukosit yaitu fagosit primer dan sebagai respon terhadap infeksi, peradangan dan stres. Sel limfosit terlibat dalam fungsi imunologi yaitu produksi immunoglobulin dan modulasi terhadap pertahanan kekebalan tubuh, sel eosinofil berperan dalam proses *inflamasi* dan berhubungan dalam pertahanan terhadap parasit. Sel monosit merupakan sel fagositik yang terkait dalam pertahanan terhadap infeksi bakteri, serta sel basofil perannya tidak begitu jelas dalam diferensial leukosit, oleh karena itu sel basofil jarang ditemukan.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 18 yang bertanda merah merupakan hasil diferensial leukosit pada ikan Patin. Gambar 18a menunjukkan sel neutrofil memiliki inti lebih dari satu, bentuknya tidak beraturan, Gambar 18b yaitu limfosit memiliki inti berbentuk bulat yang hampir menutupi sel. Gambar 18c yaitu monosit memiliki inti berbentuk lonjong, Gambar 18d yaitu eosinofil memiliki inti tidak sentris, berbentuk oval dan memanjang, Gambar 18e yaitu basofil memiliki inti yang bergranul.



Gambar 18. a. Neutrofil, b. Limfosit, c. Monosit, d. Eusinofil dan e. Basofil Menggunakan Mikroskop dengan Perbesaran 400X (Dokumentasi Pribadi, 2018)

4.2.4 Hasil hematokrit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Tabel 9. Hasil Hematokrit ikan Patin (*P. pangasius*)

No.	Sampel/Variabel	Hematokrit (%)		Keterangan
		Penelitian	Normal	
1	Ikan Patin 1	38	41,32 – 50,76 (Sirimanapong <i>et al.</i> , 2014)	Tidak Dalam Kisaran Normal
2	Ikan Patin 2	39		
3	Ikan Patin 3	37		
4	Ikan Patin 4	39		
5	Ikan Patin 5	32		

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 9 nilai hematokrit ikan Patin 1 sebesar 38%, ikan Patin 2 nilai hematokrit sebesar 39%, ikan Patin 3 nilai hematokrit sebesar 37%, ikan Patin 4 nilai hematokrit sebesar 39% dan ikan Patin 5 nilai hematokrit sebesar 32%. Hasil penelitian ikan Patin 1, ikan Patin 2, ikan Patin 3, ikan Patin 4, ikan Patin 5 tidak dalam kisaran normal. Hal ini dikatakan bahwa ikan yang memiliki nilai hematokrit rendah mengalami *anemia*. Penyebab terjadinya anemia yaitu keracunan, gangguan pada nutrisi, gangguan pada limfa. Sedangkan untuk ikan yang memiliki nilai hematokrit diatas kisaran normal umumnya mengalami *polycythemia* akibat dehidrasi yang berhubungan

dengan peningkatan *osmolalitas*. *Polycythemia* ini terjadi pada ikan akibat hipoksia dan pembengkakan pada sel eritrosit (Clauss *et al.*, 2008). Peningkatan nilai hematokrit dapat disebabkan oleh peningkatan jumlah sel darah merah dan hemoglobin untuk dapat mempertahankan dalam mengangkut oksigen. Sedangkan penurunan nilai hematokrit, hemoglobin dan sel eritrosit dapat dikaitkan dengan lisisnya sel darah. Sehingga akan menyebabkan *anemia hemolitik* (Avilez *et al.*, 2004).

4.2.5 Hasil hemoglobin Ikan Patin (*P. pangasius*)

Tabel 10. Hasil Hemoglobin ikan Patin (*P. pangasius*)

No.	Sampel/Variabel	Hemoglobin (g/dL)		Keterangan
		Penelitian	Normal	
1	Ikan Patin 1	5	8,68 – 16,09 (Okomoda <i>et al.</i> , 2018)	Tidak Dalam Kisaran Normal
2	Ikan Patin 2	5,6		
3	Ikan Patin 3	5,2		
4	Ikan Patin 4	6		
5	Ikan Patin 5	5,6		

Hemoglobin merupakan bagian dari sel eritrosit yang saling berkaitan. Pada Tabel 10 menunjukkan Nilai presentase hemoglobin ikan Patin selama penelitian, pada darah ikan Patin 1 nilai hemoglobin adalah 5 g/dL, darah ikan Patin 2 memiliki nilai 5,6 g/dL, darah ikan Patin 3 memiliki nilai 5,2 g/dL, darah ikan Patin 4 memiliki nilai hemoglobin 6 g/dL dan darah ikan Patin 5 memiliki nilai hemoglobin sebesar 5,6 g/dL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai hemoglobin ikan Patin 1, ikan Patin 2, ikan Patin 3, ikan Patin 4 dan ikan Patin 5 tidak dalam kisaran normal. Perbedaan nilai hemoglobin dalam penelitian tersebut berkaitan dengan kondisi lingkungan perairan (kualitas air) media pemeliharaan ikan terutama oksigen terlarut. Jika kondisi lingkungan perairan buruk maka nilai hemoglobin akan mengalami penurunan. *Hipoksia* sering terjadi pada lingkungan perairan karena oksigen terlarut dalam air sedikit sehingga dapat mempengaruhi respon fisiologis pada ikan (Verde *et al.*, 2011). Hal ini

menurut Evan dan Claiborne (2005), menurunnya nilai hemoglobin mengakibatkan ketersediaan oksigen di dalam jaringan akan berkurang atau jaringan mengalami *hipoksia*, sehingga proses metabolisme pada ikan akan terganggu maka ikan akan kekurangan energi. Lebih dari 90% oksigen yang dibawa oleh hemoglobin berasal dari oksigen yang masuk melalui *epitel* insang secara difusi dan kemudian akan berikatan pada sel eritrosit yang berada pada kapiler darah.

4.3 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi timbulnya penyakit pada ikan yang dibudidayakan. Perubahan kualitas air yang akan dapat menyebabkan ikan mengalami stres, sehingga ikan akan mudah terserang penyakit baik itu bakteri, parasit maupun jamur. Dalam penelitian kualitas air merupakan parameter penunjang yang diamati, dapat meliputi pH, DO, dan suhu. Parameter diukur ketika melakukan penelitian pada pagi hari jam 08.00 WIB, hasil pengukuran parameter kualitas air dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Pengukuran Kualitas Air

Sampel/Variabel	Ikan Nila		Ikan Patin	
	Penelitian	Optimal ¹	Penelitian	Optimal ²
pH	7,8	5 – 11	8,4	6,8 – 8,3
DO (mg/l)	4,92	3 – 5,9	4,78	3,8 – 8
Suhu (°C)	31	25,2 – 31	29	24 – 32,7

Sumber: (1) Ridha dan Cruz (2001)
(2) Ali *et al.* (2005)

Dari hasil Tabel 11 parameter kualitas air yaitu untuk ikan Nila diperoleh hasil pengukuran pH sebesar 7,8, untuk DO (*Dissolved Oxygen*) sebesar 4,92 dan untuk suhu sebesar 31°C. Menurut Ridha dan Cruz (2001), hasil penelitian parameter kualitas air ikan nila sesuai dengan kisaran optimal. Menurut Swan (1992), kualitas air sebagian besar sangat menentukan keberhasilan atau kegagalan dalam budidaya ikan. Karakteristik fisik dan kimia seperti suhu, pH

dan oksigen terlarut harus dijaga agar tidak mengalami perubahan yang akan menyebabkan kondisi ikan buruk.

Hasil untuk parameter kualitas air ikan patin diperoleh hasil pengukuran pH sebesar 8,4, untuk DO (*Dissolved Oxygen*) sebesar 4,78 dan untuk suhu sebesar 29°C. Menurut Ali *et al.* (2005), dari hasil penelitian parameter kualitas air ikan Patin hasil pH tidak dalam kisaran optimal. Dalam hal ini dapat mempengaruhi nilai sel darah yaitu salah satunya nilai eritrosit tinggi yang dapat menyebabkan ikan stres. Dalam kegiatan budidaya ikan, stres merupakan salah satu hal yang menyebabkan banyaknya perubahan secara alami dalam gangguan kimia, biologi maupun fisik dalam hal kerentanan terhadap penyakit. Dalam budidaya ikan akan mengalami stres jika kondisi mengalami perubahan salah satunya yaitu kondisi perubahan kualitas air (Kubilay dan Ulukoy, 2002).

4.4 Kelebihan dan Kekurangan *Hematology Analyzer Tools*

Hematology analyzer tools yaitu suatu aplikasi yang dapat digunakan untuk menghitung sel eritrosit dan sel leukosit. Kelebihan dari *hematology analyzer tools* diantaranya yaitu dapat mempermudah dalam perhitungan sel eritrosit maupun leukosit, selain itu kelebihan *hematology analyzer tools* ini dapat digunakan untuk membersihkan objek kecil yang bukan termasuk sel eritrosit maupun leukosit serta mampu mengenali objek sel berdasarkan tingkat *roundness* (kebulatan sel). Sedangkan untuk kekurangan *hematology analyzer tools* diantaranya yaitu jika terjadi eror pada aplikasi maka hasil yang didapatkan kurang akurat dan membutuhkan tingkat ketelitian yang tinggi dalam melakukan proses perhitungan. Menurut Noercholis dan Wijaya (2015), kesulitan dalam proses perhitungan jumlah sel eritrosit dan sel leukosit dapat diselesaikan menggunakan pengolahan citra atau menggunakan *hematology analyzer tools* dengan cara menerapkan fitur *roundness*.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang berjudul “Analisis Hematologi Ikan Nila (*O.niloticus*) dan Ikan Patin (*P. pangasius*) Menggunakan *Hematology Analyzer Tools* dan Secara Manual di Balai Benih Ikan Penataan, Pasuruan, Jawa Timur” adalah sebagai berikut:

- Hasil perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit pada ikan nila (*O. niloticus*) dan ikan patin (*P. pangasius*) dengan menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada hasil perhitungan manual yang menggunakan *handtally counter*. Karena dengan adanya *hematology analyzer tools* ini maka dapat mempermudah dalam perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit secara cepat.
- Gambaran komponen hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit, dapat dilihat pada hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit ikan nila (*O. niloticus*) masih dalam kisaran normal. Sedangkan hasil penelitian nilai hematokrit, hemoglobin dan diferensial leukosit ikan patin (*P. pangasius*) tidak dalam kisaran normal.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan untuk menggunakan *hematology analyzer tools* dalam perhitungan sel eritrosit dan sel leukosit pada ikan. Serta penggunaan *hematology analyzer tools* disarankan untuk dikembangkan lagi dalam perhitungan diferensial leukosit.

DAFTAR PUSTAKA

- Affan, J. M. 2012. Identifikasi lokasi untuk pengembangan budidaya keramba jaring apung (KJA) berdasarkan faktor lingkungan dan kualitas air di perairan pantai timur Bangka Tengah. *Depik*. **1**(1):78-85.
- Al Islami, F. R. Z. M. Subekti., M.Sitorus dan Danna Saputra. 2016. Peningkatan kualitas pada citra dengan metode point operation. *Proceeding of the 2nd Informatics Conference*. Universitas Budi Luhur, Jakarta, Indonesia. 54-59.
- Ali, Z., A. Hossain dan A. Mazid. 2005. Effect of mixed feeding schedules with varying dietary protein in the growth of sutchi catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage) with silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes) in ponds. *Aquaculture Research*. **36**: 627-634.
- Andayani, S. 2009. Respon non-spesifik ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) terhadap immunostimulan senyawa aktif alkaloid ubur-ubur (*Bougainvillia* sp) Melalui pakan. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*. **3B**: 67-73.
- Andayani, S., H. Suprastyani., G. D. A. Gumala., U. Oktafa., N. M. Fatikah., M. Wahyudi., A. Farida dan R. Pratama. 2017. Pengaruh pemberian bakteri *lactobacillus plantarum* terhadap histopatologi dan hematologi ikan patin jambal (*Pangasius djambal*) yang diinfeksi bakteri *Edwarsiella tarda*. *Journal of Fisheries and Marine Science*. **1**(4): 31-38.
- Andriyani, W. dan Sumantriyadi. 2017. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) terhadap salinitas yang berbeda. *Jurnal Ilmu-ilmu Perikanan dan Budidaya Perairan*. **12**(1): 48-55.
- Arifin, Y. M. 2016. Pertumbuhan dan *Survival Rate* ikan nila (*Oreochromis* sp) strain merah dan strain hitam yang dipelihara pada media bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. **16**(1): 159-166.
- Asis, A., M. Sugiharto dan M. Ghofur. 2017. Pertumbuhan ikan patin siam pada pemeliharaan sistem akuaponik dengan kepadatan yang berbeda. *jurnal akuakultur sungai dan danau*. **2**(2): 51-57.
- Atmadja, A. S., R. Kusuma dan F. Dinata. 2016. Pemeriksaan Laboratorium untuk Membedakan Infeksi Bakteri dan Infeksi Virus. *Analisis*. **43**(6): 457- 461.
- Avilez, Ive M., Alexandre E. Altran., L. H. Aguiar dan G. Moraes. 2004. Hematological responses of the Neotropical teleost matrinxã (*Brycon cephalus*) to environmental nitrite. *Comparative Biochemistry and Physiology*. **139**: 135-139.

- Bailone, R.L., M.L. Martins, J. L. P. Mourino., F.. N. Vieira., F.S. Pedrotti, G.C. Nunes dan B.C. Silva. 2010. Hematology and agglutination titer after polyvalent immunization and subsequent challenge with *Aeromonas hydrophila* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Arch Med Vet.* **42**: 221-227.
- Behrman., Kliegman dan Arvin. 2009. Ilmu Kesehatan Anak Nelson. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 52 hlm.
- Bittencourt, N. de Lucas R., L. M. Molinari., D. de Oliveira Scoaris., R. B. Pedroso., C. V. Nakamura., T. Ueda-Nakamura., B. A. de Abreu Filho dan B. P. Dias Filho. 2003. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scientiarum Biological Sciences Maringa.* **25**(2): 385-389.
- Buwono, I. D., A. Soraya dan Y. Mulyani. 2018. Keragaman dan Kekerabatan genetic pada ikan patin. *Prosiding Seminar Nasional Ikan ke-8*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Hal 161-176.
- Clauss, T. M., Alistair D.M. D., dan Jill E. A. 2008. Hematologic Disorders of Fish. *Vet Clin Exot Anim.* **11**: 445-462.
- Danim, S. dan Darwis. 2003. Metode Penelitian Kebidanan: Prosedur, Kebijakan, dan Etik. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 333 hlm.
- Davis , A. K., D. L. Maney dan J. C. Maerz. 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology.* **22**: 760- 772.
- Dianti, Lusi., S. B. Prayitno dan R. W. Ariyati. 2013. Ketahanan nonspesifik ikan mas (*cyprinus carpio*) yang direndam ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology.* **2**(4): 63-71.
- Effendi, Z. 2003. Peranan leukosit sebagai anti inflamasi alergik dalam tubuh. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. Medan. 8 hlm.
- Evan, D.H., dan J. B. Claiborne. 2005. The Physiology of Fishes. Taylor and Francis Group. CRC Press. 300 pp.
- Fatimah, F., F. N. Rachmawati dan E. S. Wibowo. 2017. Leukocyte differential of Anguillid eel, *Anguilla bicolor mccllelland*, exposed to varied salinities. *Scripta biologica.* **4**(2): 79-83.
- Fishbase.2017.<http://www.fishbase.org/summary/Pangasiuspangasius.html>. Diakses pada tanggal 3 November 2017.
- Fitria, L dan M. Sarto. 2014. Profil hematologi tikus (*Rattus norvegicus* berkenhout, 1769) galur wistar jantan dan betina umur 4, 6, dan 8 minggu. *Biogenesis.* **2**(2): 94-100.

- Galagarza, O. A. D. D. Kuhn., S. A. Smith., T. C. Hrubec. 2017. Hematologic and plasma chemistry RIS for cultured striped catfish (*Pangasius hypophthalmus*) in recirculating aquaculture systems. *Vet Clin Pathol.* 1–9.
- Grant, K. R. 2015. Fish Hematology and Associated Disorders. *Vet Clin Exot Anim.* **18**: 83–103.
- Gustiano, R., Sudarto dan L. Pouyaud. 2005. Bagaimana mengenal *Pangasius djambal*? Balai Riset Budidaya Air Tawar. Jakarta. 15 hlm.
- Hamid, S.H. A., F.A. M. Ahmed., I. M. A. Mohammed dan S.I. M. Ali. 2013. Physical & Chemical Characteristics of Blood of two Fish Species (*Oreochromis niloticus* and *Clarias lazera*). *World's Vet. J.* **3**(1): 17-20.
- Handayani, W dan A. S. Haribowo. 2008. Buku Ajar Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi. Salemba Medika. Jakarta. 158 hlm.
- Hartika, R., Mustahal dan A. N. Putra. 2014. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis prebiotik yang berbeda dalam pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan.* **4**(4) : 259-267.
- Hesser, E. F. 1960. Methods for Routine Fish Hematology. *The Progressive Fish-Culturis.* **22**(4): 164-171.
- Insivitawati, E., G. Mahasri dan Kusnoto. 2015. Gambaran darah dan histopatologi insang, usus dan otak ikan koi (*Cyprinus carpio koi*) yang diinfeksi spora *myxobolus koi* secara oral. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan.* **7**(2): 225-234.
- Jaedun, A. 2011. Metode penelitian eksperimen. *Artikel Ilmiah.* Fakultas Teknik, Universitas Negeri Yogyakarta. 13 hlm.
- Jawad, L. A., M. A. Al-Mukhtar dan H. K. Ahmed. 2004. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilish* (Family *Clupeidae*). *Animal Biodiversity and Conservation.* **27**(2): 47-52.
- Koesharyani, I., L. Gardenia., Z. Widowati., Khumaira dan D. Rustianti. 2018. Studi kasus infeksi tilapia lake virus (tlv) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur.* **13**(1): 85-92.
- Kubilay, A. dan G. Ulukoy. 2002. The Effects of Acute Stress on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk J Zool.* **26**: 249-254.
- Kumar, M. Phani dan K. Sree Ramulu. 2013. Haematological changes in *pangasius hypophthalmus* infected with *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences.* **3**(1): 70-75.

- Kumar, S., R.P. Raman, P.K. Pandey., S. Mohanty., A. Kumar and K. Kumar. 2013. Effect of orally administered Azadirachtin on nonspecific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn., 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*. **34**(1): 564-573.
- Lasena, A., Nasriani, dan M. Irdja. 2017. Pengaruh dosis pakan yang dicampur probiotik terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah Media Publikasi Ilmu Pengetahuan dan Teknologi*. Program Studi Budidaya Perairan Universitas Muhammadiyah Gorontalo. Hal 65-76.
- 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.
- Mauel, M. J., D. L. Miller D.V.M., Anita L. Merrillbs. 2007. Hematologic and plasma biochemical values of healthy hybrid tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*) maintained in a recirculating system. *Journal Of Zoo And Wildlife Medicine*. **38**(3): 420–424.
- Megawati, C., M. Yusuf dan L. Maslukah. 2014. Sebaran kualitas perairan ditinjau dari zat hara, oksigen terlarut dan ph di perairan selat bali bagian selatan. *Jurnal Oseanografi*. **3**(2). 142-150.
- Minaka, A., Sarjito dan S. Hastuti. 2012. Identifikasi Agensia Penyebab dan Profil Darah Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) yang Terserang Penyakit Bakteri. *Journal Of Aquaculture Management and Technology*. **1**(1): 249-263.
- Modesto, K. A. dan C. B.R. Martinez. 2010. Effects of roundup transorb on fish: hematology, antioxidant defenses and acetylcholinesterase sactivity. *Chemosphere*. **81**: 781–787.
- Mujalifah., Santoso, H dan S. Laili. 2018. Kajian morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam habitat air tawar dan air payau. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. **3**(3): 10-17.
- Nasution, H. 2016. Aplikasi perbaikan citra digital dengan Menggunakan metode geometric mean filter. *Jurnal infotek*. **1**(2): 88.
- Noercholis, A., A. Z. Muslim dan Maftuch. 2013. Ekstraksi fitur *roundness* untuk menghitung jumlah *leukosit* dalam citra sel darah ikan. *Jurnal EECCIS*. **7**(1): 35-40.
- Noercholis, A. dan E. T. Wijaya. 2015. *Hematology analyzer tools* pada citra mikroskopis *eritrosit* dengan *hemocytometer* untuk menghitung jumlah *eritrosit* dalam 1mm^3 darah ikan. Seminar Nasional “Inovasi Dalam Desain Dan Teknologi”. Teknik Informatika Sekolah Tinggi Manajemen Informatika Dan Komputer Asia Malang. 8 hlm.

- Noordin, N. M., Md. A. Kader., M. M. Morni., A. M. A. Raes., Mohd S. M. Daud., R. M. Khir dan A. H. Kamaruzaman. 2017. Application of fish bone meal from byproducts of fish processing industry in diets of juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *AAFL Bioflux*. **10**(6): 1395-1403.
- Nussey, G. J. H. J. Van Vuren dan H. H. du Preez. 1995. Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comp. Biochem. Phsilogy*. **111**(3): 381 – 388.
- Okomoda V. T., I. C. C. Koh., A. Hassan., T. Amornsakun dan M. S. Shahreza. 2018. Hematological parameters of pure and reciprocal crosses of *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Comparative Clinical Pathology*. **27**:549–554.
- Pamungkas, Y. P. dan B. Irawan. 2013. Pengukuran panjang berat ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di danau Lindu, Sulawesi Tengah. *BTL*. **11**(1): 59-60.
- Palic, Dusan., Linda S. Beck., Jelena Palic dan Claire B. Andreasen. 2011. Use of rapid cytochemical staining to characterize fish blood granulocytes in species of special concern and determine potential for function testing. *Fish & Shellfish Immunology*. **30**: 646-652.
- Purnomo, D., Sugiharto dan Isroli. 2015. Total leukosit dan diferensial leukosit darah ayam broiler akibat penggunaan tepung onggok fermentasi *rhizopus oryzae* pada ransum. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. **25**(3): 59 – 68.
- Putri, S. M., A. H. C. Haditomo dan Desrina. 2016. Infestasi monogenea pada ikan konsumsi air tawar di kolam budidaya desa Ngrajek Magelang. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **5**(1): 162-170.
- Ridha, M. T dan E. M. Cruz. 2001. Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. reared in a simple recirculating system. *Aquaculture Engineering*. **24**: 157-166.
- Rios, F.S., E.T. Oba., M.N. Fernandes., A.L. Kalinin dan F.T. Rantin. 2005. Erythrocyte senescence and haematological changes induced by starvation in the neotropical fish traíra, *Hoplias malabaricus* (Characiformes, Erythrinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*. **140**: 281–287.
- Rosidah, A Rizal, I. Rustikawati dan F. Octavia. 2018. The effect of differences in altitude location of an aquaculture on fish's hematocrit and fish's haemoglobin of *Carp fish* and resistance to bacterial attack. *Earth and Environmental Science*. **137**: 1-10.
- Royan, F., S. Rejeki dan A. H. C. Haditomo. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(2): 109-117.

- Salasia, S. I. O., D. Sulanjari dan A. Ratnawati. 2001. Studi hematologi ikan air tawar. *Berkala Ilmiah Biologi*. **2**(12).
- Santoso, B.B., F. Basuki dan S. Hastuti. 2013. Analisa ketahanan tubuh benih hibrida nila larasati (*Oreochromis niloticus*) generasi 5 (f5) yang di infeksi bakteri *Streptococcus agalactiae* dengan konsentrasi berbeda. 2013. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(3): 64-75.
- Saputri, D. N. E., A. P. Dyah dan N. N. Abdulgani. 2006. Jumlah total dan diferensial leukosit mencit (*Mus musculus*) pada evaluasi in vivo anti kanker ekstrak spons laut *Aaptosuberitoides*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Hal 1-25.
- Satriani, G. I., D. T. Soelistyowati., D. Hardianto dan R. S. Aliah. 2011. Keragaman genetik ikan nila *Oreochromis niloticus* generasi kelima menggunakan marka DNA mikrosatelit. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **10**(2): 124–130.
- Sayed, A. E.H., U. M. Mahmoud dan I. A. Mekkawy. 2016. Erythrocytes alterations of monosex tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) produced using methyltestosterone. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. **42**: 83-90.
- Setyowati, E., S. B. Prayitno Dan Sarjito. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*. L) terhadap kelulushidupan dan histologi hati ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management And Technology*. **3**(4): 174-182.
- Shen, Y., D. Wang., Jinliang Zhao., dan Xiaowu Chen. 2018. Fish red blood cells express immune genes and responses. *Aquaculture and Fisheries*. **3**: 14-21.
- Simanjuntak, M. 2009. Hubungan faktor lingkungan kimia, fisika terhadap distribusi plankton di perairan belitung timur, Bangka Belitung. *Jurnal Perikanan*. **9**(1): 31-45.
- Sirimanapong, Wanna., Kim D. Thompson., Kan Kledmanee., Prawporn Thaijongrak., Bertrand Collet., Ei Lin Ooi dan Alexandra Adams. 2014. Optimisation and standardisation of functional immune assays for striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) to compare their immune response to live and heat killed *Aeromonas hydrophila* as models of infection and vaccination. *Fish and Shellfish Immunology*. **40**: 374 - 383.
- Sukenda., L. Jamal., D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias sp.* *Jurnal Akuakultur Indonesia*. **7**(2): 159–169.
- Sumardjo, D. 2008. Pengantar Kimia. Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 650 hlm.
- Swann, L. 1992. A Basic Overview of Aquaculture. Technical Bulletin Series # 102. Purdue University. West Lafaette. 10 pp.

- Syawal, H. dan Y.Ikhwan. 2011. Respon fisiologis ikan jambal siam (*pangasius hypophthalmus*) pada suhu pemeliharaan yang berbeda. *Berkala Perikanan Terubuk*. **39**(1): 51-57.
- Tavares-Dias, M., Fla vio dan R. De Moraes. 2007. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf), with an assessment of morphologic, cytochemical, and ultrastructural features. *Veterinary Clinical Pathology*. **36**(1): 49-54.
- Tavares-Dias, Marcos., F. R. De Moraes., M. L. Martins dan A. E. Santana. 2002. Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: cichlidae) with gill *Ichthyophthiriasis* and *Saprolegniosis*. *Boletim Do Instituto Da Pesca, Sao Paulo*. **28**(1): 1- 9.
- Verde, C., D. Giordano., R. Russo dan G. di Prisco. 2011. Hemoglobin Differentiation in Fishes. *National Research Council (CNR), Naples, Italy*. 944-950.
- 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.
- Wardhana, A. H., E. Kencanawati., Nurmawati., Rahmaweni dan C. B. Jatmiko. 2001. Pengaruh pemberian sediaan patikan kebo (*Euphorbia hirta* L) terhadap jumlah eritrosit, Kadar hemoglobin, dan nilai hematokrit pada ayam yang diinfeksi dengan *Eimeria tenella*. 2001. *Jurnal Ilmu Ternak Dan Veteriner*. **6**(2): 126-133.
- Wijaya, T. S. dan R. Hariyati. 2011. Struktur Komunitas Fitoplankton sebagai Bio Indikator Kualitas Perairan Danau Rawapening Kabupaten Semarang Jawa Tengah. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. 55-61.
- Winarsi, H., D. Muchtadi., F. R. Zakaria dan A. Purwanto. 2005. Efek Suplementasi Zn terhadap Status Imun Wanita Premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavin. *Hayati*. **12**(2): 82-86.
- Wwf Indonesia. 2015. Budidaya Ikan Patin Siam (*P. hypophthalmus*). Tim Perikanan WWF Indonesia. 42 hlm.

Lampiran 1. Alat Penelitian



Mikroskop



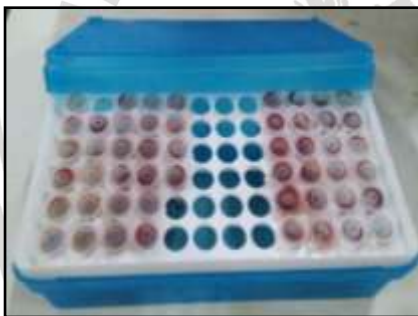
Mikroskop Olympus BX-41



Coolbox



Hb Sahli (1 set)



Rak Tube



Haemocytometer dan Pipet Thoma



Handtally Counter



Washing Bottle

Lampiran 1 (Lanjutan).

	
<p>Sprayer</p>	<p>pH Meter</p>
	
<p>DO Meter</p>	<p>Nampan</p>
	
<p>Pipet Tetes</p>	<p>Sput</p>
	
<p>Thermometer</p>	<p>Sentrifuge Hematokrit</p>

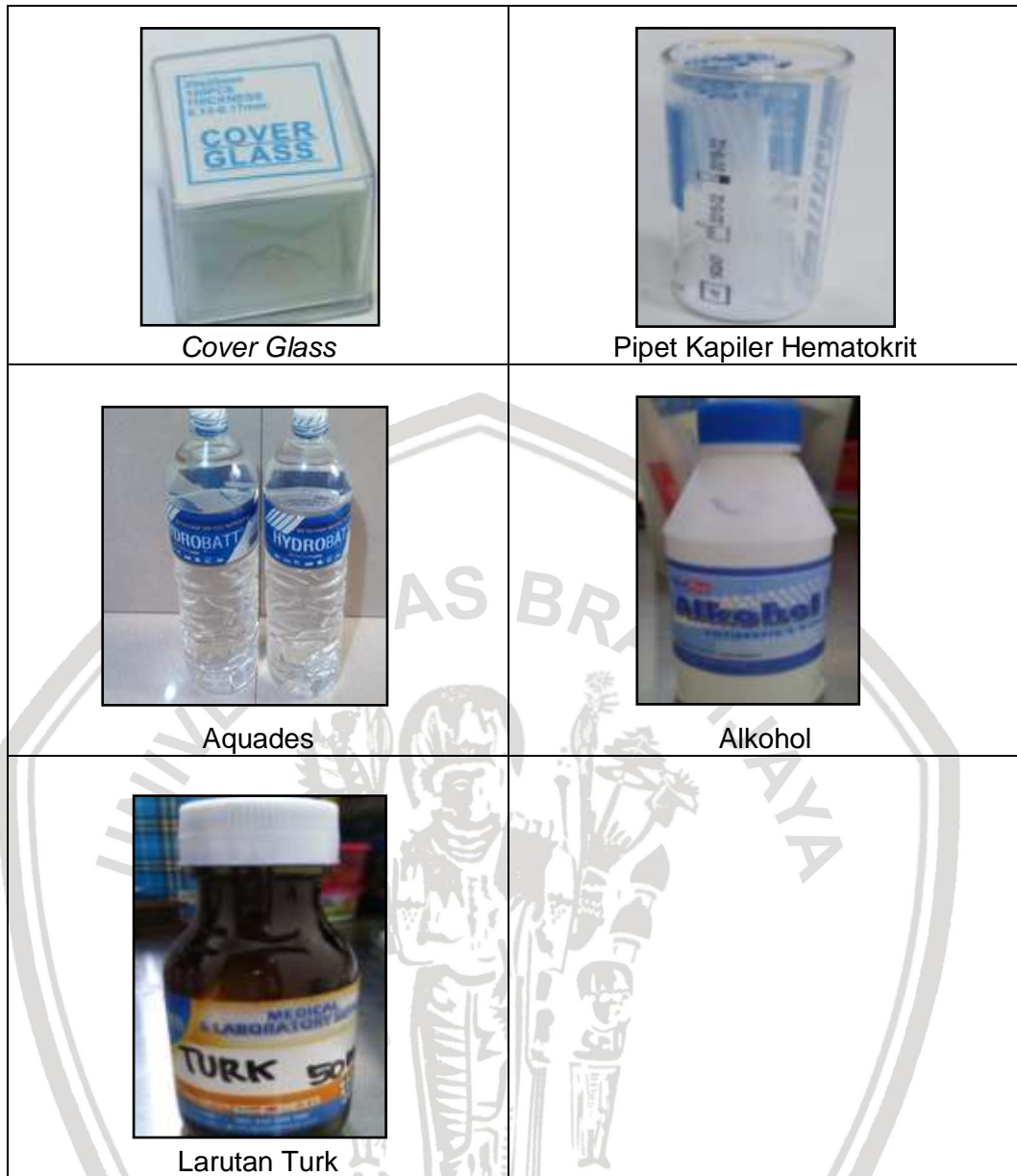
Lampiran 2. Bahan Penelitian

	
Ikan Patin (<i>P. Pangasius</i>)	Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)
	
Tube	Sampel Darah
	
Es Batu Gel	Larutan Hayem
	
Objek Glass	Larutan Giemsa

Lampiran 2 (Lanjutan).

	
<p>Tisu</p>	<p>HCl 0,1 N</p>
	
<p>Serbet</p>	<p>Na-Sitrat 3,8%</p>
	
<p>Sarung Tangan (Lateks)</p>	<p>Methanol</p>
	
<p>Lilin Malam</p>	<p>Benang Kasur</p>

Lampiran 2 (Lanjutan).

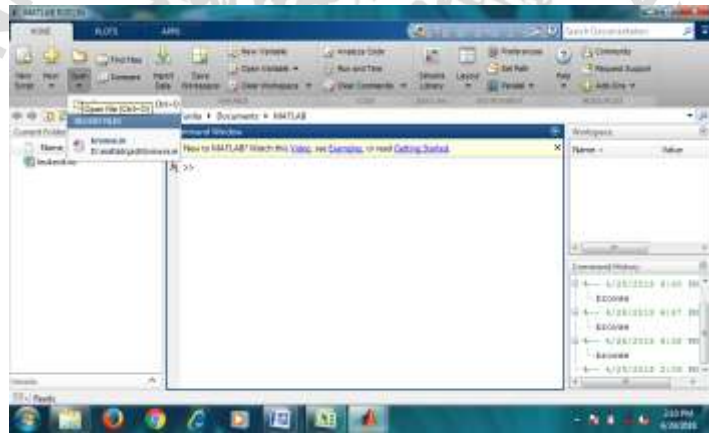


Lampiran 3. Cara Penggunaan *Hematology Analyzer Tools*

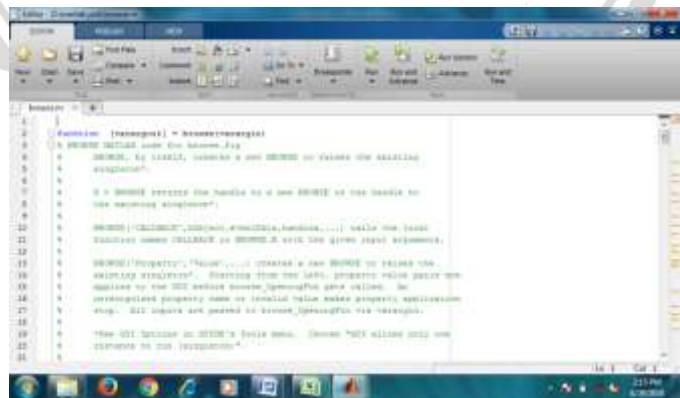
1. Buka Aplikasi Matlab



2. Akan Keluar Kotak Seperti Gambar di bawah dan Klik *Open*, Buka *Browse.m*.



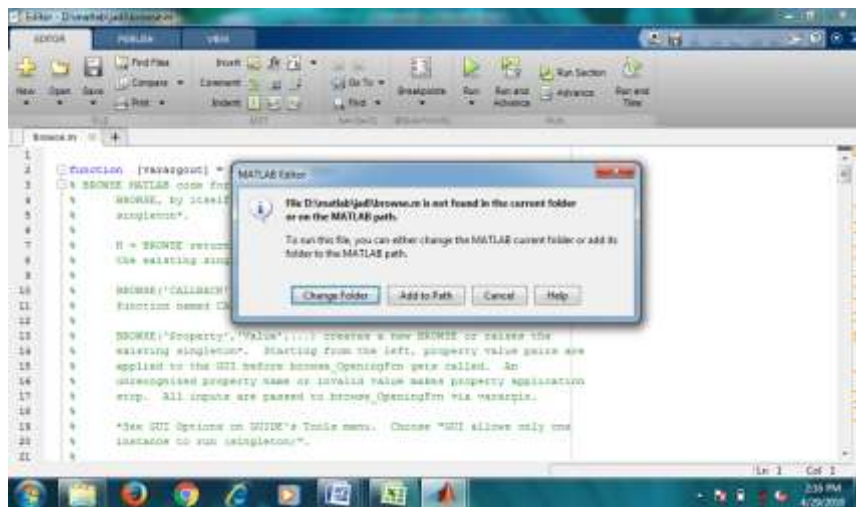
3. Kemudian akan muncul seperti gambar di bawah dan klik *run*



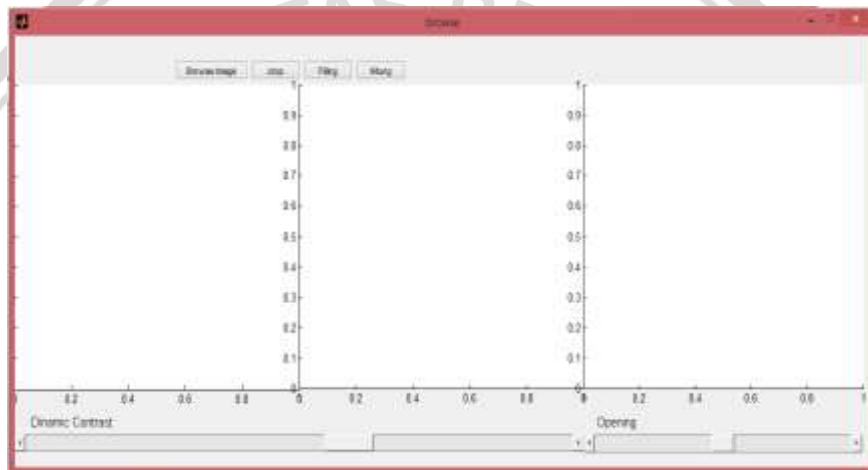
Lampiran 3 (Lanjutan).



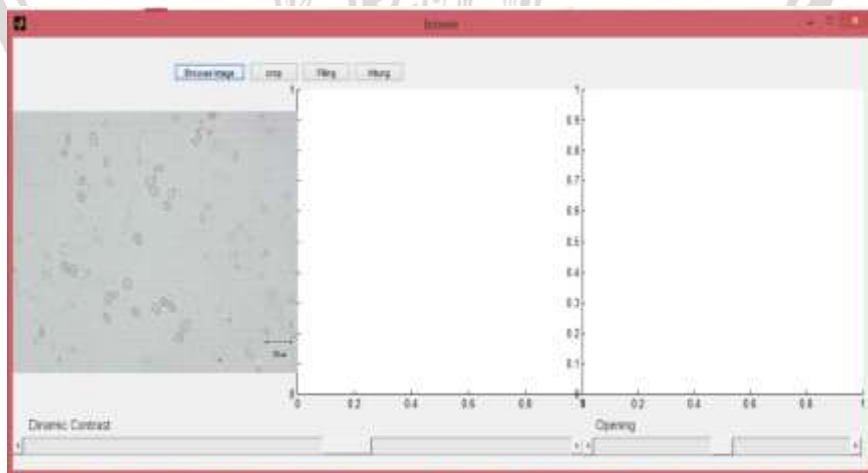
4. Kemudian klik *add to path*



5. Maka akan muncul gambar seperti di bawah



6. Setelah itu klik bagian *Browse Image*, maka akan muncul kotak gambar seperti dibawah.

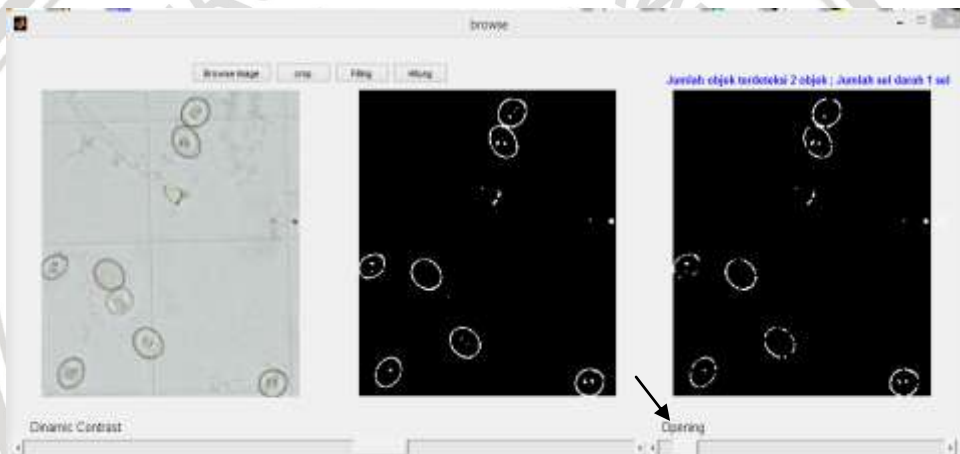


Lampiran 3 (Lanjutan).

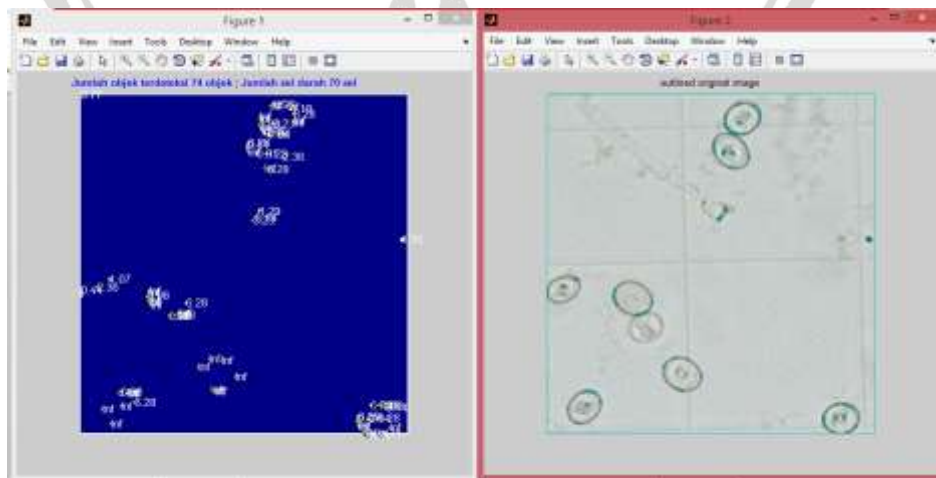
7. Klik bagian *crop*, lalu diatur bagian *dynamic kontras* dan setelah di atur klik bagian *filling*.



8. Setelah klik *filling*, maka atur bagian *opening*



9. Setelah diatur bagian *opening* maka akan muncul hasil perhitungan yaitu *figure 1* (hasil tingkat *roundness*) dan *figure 2* (hasil pewarnaan)



Lampiran 4. Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Aplikasi

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit dalam 5 area hitung	Jumlah Eritrosit per- mm ³
	Aplikasi	Aplikasi
Ikan Nila 1	82	82 x 10 ⁴
Ikan Nila 2	288	288 x 10 ⁴
Ikan Nila 3	222	222 x 10 ⁴
Ikan Nila 4	258	258 x 10 ⁴
Ikan Nila 5	297	297 x 10 ⁴
Jumlah	1.147	1.147 x 10⁴
Rata-rata	229,4	229,4 x 10⁴

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Eritrosit Terhitung} \times 10.000 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Nila 1
Eritrosit = 82 x 10.000 sel/mm³
= 82 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 2
Eritrosit = 288 x 10.000 sel/mm³
= 288 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 3
Eritrosit = 222 x 10.000 sel/mm³
= 222 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 4
Eritrosit = 258 x 10.000 sel/mm³
= 258 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 5
Eritrosit = 297 x 10.000 sel/mm³
= 297 x 10⁴ sel/mm³

Lampiran 4 (Lanjutan).

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit dalam 5 area hitung	Jumlah Eritrosit per- mm ³
	Manual	Manual
Ikan Nila 1	77	77 x 10 ⁴
Ikan Nila 2	283	283 x 10 ⁴
Ikan Nila 3	218	218 x 10 ⁴
Ikan Nila 4	240	240 x 10 ⁴
Ikan Nila 5	289	289 x 10 ⁴
Jumlah	1.107	1.107 x 10⁴
Rata-rata	221,4	221,4 x 10⁴

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Eritrosit Terhitung} \times 10.000 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Nila 1
Eritrosit = 77 x 10.000 sel/mm³
= 77 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 2
Eritrosit = 283 x 10.000 sel/mm³
= 283 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 3
Eritrosit = 218 x 10.000 sel/mm³
= 218 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 4
Eritrosit = 240 x 10.000 sel/mm³
= 240 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Nila 5
Eritrosit = 289 x 10.000 sel/mm³
= 289 x 10⁴ sel/mm³

Lampiran 5. Perhitungan Uji t Sel Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Ulangan	Perlakuan		(A-B)
	Aplikasi (A)	Manual (B)	
Ikan Nila 1	82 x 10 ⁴	77 x 10 ⁴	5 x 10 ⁴
Ikan Nila 2	288 x 10 ⁴	283 x 10 ⁴	5 x 10 ⁴
Ikan Nila 3	222 x 10 ⁴	218 x 10 ⁴	4 x 10 ⁴
Ikan Nila 4	258 x 10 ⁴	240 x 10 ⁴	18 x 10 ⁴
Ikan Nila 5	297 x 10 ⁴	289 x 10 ⁴	8 x 10 ⁴
Jumlah	1.147 x 10⁴	1.107 x 10⁴	40 x 10⁴
Rata-rata	229,4 x 10⁴	221,4 x 10⁴	8 x 10⁴

T tabel 5% (Db: 4) = 2,77

T tabel 1% (Db: 4) = 4,60

$$F_k = \frac{(A-B)^2}{n} = \frac{(400.000)^2}{5} = 32 \times 10^9$$

$$JK = \sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n} = (50.000)^2 + (50.000)^2 + (40.000)^2 + (180.000)^2 + (80.000)^2 - \frac{(400.000)^2}{5} = 454 \times 10^8 - 320 \times 10^8 = 134 \times 10^8$$

$$Sd = \sqrt{\frac{JK}{n-1}} = \sqrt{\frac{134 \times 10^8}{5-1}} = \sqrt{335 \times 10^7} = 57.879,18$$

$$SED = \frac{Sd}{\sqrt{n}} = \frac{57.879,18}{\sqrt{5}} = \frac{57.879,18}{2,24} = 25.838,91$$

$$T \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{SED} = \frac{|2.294.000 - 2.214.000|}{25.838,91} = \frac{80.000}{25.838,91} = 3,09$$

T hitung > T tabel 5% = 3,09 > 2,77

T hitung < T tabel 1% = 3,09 < 4,60

Jadi, dapat disimpulkan bahwa jika t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih kecil dari t tabel 1% maka hasilnya berbeda nyata dapat dikatakan bahwa hasil perhitungan sel eritrosit ikan Nila yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada menggunakan *handtally counter*.

Lampiran 6. Perhitungan Sel Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dengan Aplikasi

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit dalam 4 area hitung	Jumlah Leukosit per-mm ³
	Aplikasi	Aplikasi
Ikan Nila 1	7.142	357.100
Ikan Nila 2	8.414	420.700
Ikan Nila 3	7.236	361.800
Ikan Nila 4	6.525	326.250
Ikan Nila 5	8.730	436.500
Jumlah	38.047	1.902.350
Rata-rata	7609,4	380.470

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Leukosit Terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Nila 1
Leukosit = 7.142 x 50 sel/mm³
= 357.100 sel/mm³
- Ikan Nila 2
Leukosit = 8.414 x 50 sel/mm³
= 420.700 sel/mm³
- Ikan Nila 3
Leukosit = 7.236 x 50 sel/mm³
= 361.800 sel/mm³
- Ikan Nila 4
Leukosit = 6.525 x 50 sel/mm³
= 326.250 sel/mm³
- Ikan Nila 5
Leukosit = 8.730 x 50 sel/mm³
= 436.500 sel/mm³

Lampiran 6 (Lanjutan).

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit dalam 4 area hitung	Jumlah Leukosit per- mm ³
	Manual	Manual
Ikan Nila 1	6.955	347.750
Ikan Nila 2	7.975	398.750
Ikan Nila 3	6.985	349.250
Ikan Nila 4	6.210	310.500
Ikan Nila 5	8.263	413.150
Jumlah	36.388	1.819.400
Rata-rata	7277,6	363.880

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Leukosit Terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Nila 1
Leukosit = $6.955 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 347.750 sel/mm^3
- Ikan Nila 2
Leukosit = $7.975 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 398.750 sel/mm^3
- Ikan Nila 3
Leukosit = $6.985 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 349.250 sel/mm^3
- Ikan Nila 4
Leukosit = $6.210 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 310.500 sel/mm^3
- Ikan Nila 5
Leukosit = $8263 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 413.150 sel/mm^3

Lampiran 7. Perhitungan Uji t Sel Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Ulangan	Perlakuan		(A-B)
	Aplikasi (A)	Manual (B)	
Ikan Nila 1	357.100	347.750	9.350
Ikan Nila 2	420.700	398.750	21.950
Ikan Nila 3	361.800	349.250	12.550
Ikan Nila 4	326.250	310.500	15.750
Ikan Nila 5	436.500	413.150	23.350
Jumlah	1.902.350	1.819.400	82.950
Rata-rata	380.470	363.880	16.590

T tabel 5% (Db: 4) = 2,77

T tabel 1% (Db: 4) = 4,60

$$F_k = \frac{(A-B)^2}{n} = \frac{(82.950)^2}{5} = 1.376.140.500$$

$$JK = \sum X_1^2 - \frac{(\sum X_1)^2}{n}$$

$$= (9.350)^2 + (21.950)^2 + (12.550)^2 + (15.750)^2 + (23.350)^2 - \frac{(82.950)^2}{5}$$

$$= 1.520.012.500 - 1.376.140.500$$

$$= 143.872.000$$

$$Sd = \sqrt{\frac{JK}{n-1}} = \sqrt{\frac{143.872.000}{5-1}} = \sqrt{35.968.000} = 5.997,33$$

$$SED = \frac{Sd}{\sqrt{n}} = \frac{5.997}{\sqrt{5}} = \frac{5.997,33}{2,24} = 2.677,38$$

$$T \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{SED} = \frac{|380.470 - 363.880|}{2.677,28} = \frac{16.590}{2.677,38} = 6,19$$

T hitung > T tabel 5% = 6,19 > 2,77

T hitung > T tabel 1% = 6,19 > 4,60

Jadi, dapat disimpulkan bahwa jika t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1% maka hasilnya sangat berbeda nyata dapat dikatakan bahwa hasil perhitungan sel leukosit ikan Nila yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada menggunakan *handtally counter*.

Lampiran 8. Perhitungan Diferensial Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

➤ **Limfosit**

Sampel/Variabel	Limfosit (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Nila 1	40	25	22	22	20	129	25,8
Ikan Nila 2	33	32	23	32	28	148	29,6
Ikan Nila 3	30	32	27	30	30	149	29,8
Ikan Nila 4	42	40	38	32	40	192	38,4
Ikan Nila 5	30	38	26	25	42	161	32,2

- Ikan Nila 1
Limfosit = $(40+25+22+22+20) : 5$
= 25,8
- Ikan Nila 2
Limfosit = $(33+32+23+32+28) : 5$
= 29,6
- Ikan Nila 3
Limfosit = $(30+32+27+30+30) : 5$
= 29,8
- Ikan Nila 4
Limfosit = $(42+40+38+32+40) : 5$
= 38,4
- Ikan Nila 5
Limfosit = $(30+38+26+25+42) : 5$
= 32,2

➤ **Monosit**

Sampel/Variabel	Monosit (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Nila 1	30	25	33	23	33	144	28,8
Ikan Nila 2	24	28	25	28	27	132	26,4
Ikan Nila 3	16	30	33	30	34	143	28,6
Ikan Nila 4	42	25	30	30	38	165	33
Ikan Nila 5	30	38	30	32	24	154	30,8

- Ikan Nila 1
Monosit = $(30+25+33+23+33) : 5$
= 28,8
- Ikan Nila 2
Monosit = $(24+28+25+28+27) : 5$
= 26,4

Lampiran 8 (Lanjutan).

- Ikan Nila 3
Monosit = $(16+30+33+30+34) : 5$
= 28,6
- Ikan Nila 4
Monosit = $(42+25+30+30+38) : 5$
= 33
- Ikan Nila 5
Monosit = $(30+38+30+32+24) : 5$
= 30,8

➤ **Basofil**

Sampel/Variabel	Basofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Nila 1	10	7	0	3	5	25	5
Ikan Nila 2	7	3	5	3	6	24	4,8
Ikan Nila 3	0	0	0	1	4	5	1
Ikan Nila 4	1	0	0	0	0	1	0,2
Ikan Nila 5	0	4	4	4	2	14	2,8

- Ikan Nila 1
Basofil = $(10+7+0+3+5) : 5$
= 5
- Ikan Nila 2
Basofil = $(7+3+5+3+6) : 5$
= 4,8
- Ikan Nila 3
Basofil = $(0+0+0+1+4) : 5$
= 1
- Ikan Nila 4
Basofil = $(1+0+0+0+0) : 5$
= 0,2
- Ikan Nila 5
Basofil = $(0+4+4+4+2) : 5$
= 2,8

➤ **Eusinofil**

Sampel/Variabel	Eusinofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Nila 1	0	8	13	12	12	45	9
Ikan Nila 2	8	12	9	7	12	48	9,6
Ikan Nila 3	7	8	17	8	12	52	10,4
Ikan Nila 4	5	5	7	8	7	32	6,4
Ikan Nila 5	10	5	12	9	10	46	9,2

Lampiran 8 (Lanjutan).

- Ikan Nila 1
Eusinofil = $(0+8+13+12+12) : 5$
= 9
- Ikan Nila 2
Eusinofil = $(8+12+9+7+12) : 5$
= 9,6
- Ikan Nila 3
Eusinofil = $(7+8+17+8+12) : 5$
= 10,4
- Ikan Nila 4
Eusinofil = $(5+5+7+8+7) : 5$
= 6,4
- Ikan Nila 5
Eusinofil = $(10+5+12+9+10) : 5$
= 9,2

➤ **Neutrofil**

Sampel/Variabel	Neutrofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Nila 1	20	35	32	40	30	157	31,4
Ikan Nila 2	28	25	38	30	27	148	29,6
Ikan Nila 3	47	30	23	31	20	151	30,2
Ikan Nila 4	10	30	25	30	15	110	22
Ikan Nila 5	30	15	28	30	22	125	25

- Ikan Nila 1
Neutrofil = $(20+35+32+40+30) : 5$
= 31,4
- Ikan Nila 2
Neutrofil = $(28+25+38+30+27) : 5$
= 29,6
- Ikan Nila 3
Neutrofil = $(47+30+23+31+20) : 5$
= 30,2
- Ikan Nila 4
Neutrofil = $(10+30+25+30+15) : 5$
= 22
- Ikan Nila 5
Neutrofil = $(30+15+28+30+22) : 5$
= 25

Lampiran 9. Perhitungan Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*) dengan Aplikasi

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit dalam 5 area hitung	Jumlah Eritrosit per- mm ³
	Aplikasi	Aplikasi
Ikan Patin 1	388	388 x 10 ⁴
Ikan Patin 2	387	387 x 10 ⁴
Ikan Patin 3	318	318 x 10 ⁴
Ikan Patin 4	517	517 x 10 ⁴
Ikan Patin 5	405	405 x 10 ⁴
Jumlah	2.015	2.015 x 10⁴
Rata-rata	403	403 x 10⁴

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Eritrosit Terhitung} \times 10.000 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Patin 1

$$\begin{aligned} \text{Eritrosit} &= 388 \times 10.000 \text{ sel/mm}^3 \\ &= 388 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \end{aligned}$$

- Ikan Patin 2

$$\begin{aligned} \text{Eritrosit} &= 387 \times 10.000 \text{ sel/mm}^3 \\ &= 387 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \end{aligned}$$

- Ikan Patin 3

$$\begin{aligned} \text{Eritrosit} &= 318 \times 10.000 \text{ sel/mm}^3 \\ &= 318 \times 10^5 \text{ sel/mm}^3 \end{aligned}$$

- Ikan Patin 4

$$\begin{aligned} \text{Eritrosit} &= 517 \times 10.000 \text{ sel/mm}^3 \\ &= 517 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \end{aligned}$$

- Ikan Patin 5

$$\begin{aligned} \text{Eritrosit} &= 405 \times 10.000 \text{ sel/mm}^3 \\ &= 405 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3 \end{aligned}$$

Lampiran 9 (Lanjutan).

Objek Penelitian	Jumlah Eritrosit dalam 5 area hitung	Jumlah Eritrosit per- mm ³
	Manual	Manual
Ikan Patin 1	378	378 x 10 ⁴
Ikan Patin 2	372	372 x 10 ⁴
Ikan Patin 3	307	307 x 10 ⁴
Ikan Patin 4	509	509 x 10 ⁴
Ikan Patin 5	387	387 x 10 ⁴
Jumlah	1.953	1.953 x 10⁴
Rata-rata	390,6	390,6 x 10⁴

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Eritrosit Terhitung} \times 10.000 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Patin 1
Eritrosit = 378 x 10.000 sel/mm³
= 378 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Patin 2
Eritrosit = 372 x 10.000 sel/mm³
= 372 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Patin 3
Eritrosit = 307 x 10.000 sel/mm³
= 307 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Patin 4
Eritrosit = 509 x 10.000 sel/mm³
= 509 x 10⁴ sel/mm³
- Ikan Patin 5
Eritrosit = 387 x 10.000 sel/mm³
= 387 x 10⁴ sel/mm³

Lampiran 10. Perhitungan Uji t Sel Eritrosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Ulangan	Perlakuan		(A-B)
	Aplikasi	Manual	
Ikan Patin 1	388 x 10 ⁴	378 x 10 ⁴	10 x 10 ⁴
Ikan Patin 2	387 x 10 ⁴	372 x 10 ⁴	15 x 10 ⁴
Ikan Patin 3	318 x 10 ⁴	307 x 10 ⁴	11 x 10 ⁴
Ikan Patin 4	517 x 10 ⁴	509 x 10 ⁴	8 x 10 ⁴
Ikan Patin 5	405 x 10 ⁴	387 x 10 ⁴	18 x 10 ⁴
Jumlah	2.015 x 10⁴	1.953 x 10⁴	62 x 10⁴
Rata-rata	403 x 10⁴	390,6 x 10⁴	12,4 x 10⁴

T tabel 5% (Db: 4) = 2,77

T tabel 1% (Db: 4) = 4,60

$$F_k = \frac{(A-B)^2}{n} = \frac{(620.000)^2}{5} = 768,8 \times 10^8$$

$$JK = \sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n}$$

$$= (100.000)^2 + (150.000)^2 + (110.000)^2 + (80.000)^2 + (180.000)^2 - \frac{(620.000)^2}{5}$$

$$= 834 \times 10^8 - 768,8 \times 10^8$$

$$= 652 \times 10^7$$

$$S_d = \sqrt{\frac{JK}{n-1}} = \sqrt{\frac{652 \times 10^7}{4}} = \sqrt{163 \times 10^7} = 40.373,26$$

$$SED = \frac{S_d}{\sqrt{n}} = \frac{40.373,26}{\sqrt{5}} = \frac{40.373,26}{2,24} = 18.023,78$$

$$T \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{SED} = \frac{|4.030.000 - 3.906.000|}{18.023,78} = \frac{124.000}{18.023,78} = 6,88$$

T hitung > T tabel 5% = 6,88 > 2,77

T hitung > T tabel 1% = 6,88 > 4,60

Jadi, dapat disimpulkan bahwa jika t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1% maka hasilnya sangat berbeda nyata dapat dikatakan bahwa hasil perhitungan eritrosit ikan Patin yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada menggunakan *handtally counter*.

Lampiran 11. Perhitungan Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*) dengan Aplikasi

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit dalam 4 area hitung	Jumlah Leukosit per-mm ³
	Aplikasi	Aplikasi
Ikan Patin 1	6.865	343.250
Ikan Patin 2	7.358	367.900
Ikan Patin 3	7.582	379.100
Ikan Patin 4	7.152	357.600
Ikan Patin 5	7.055	352.750
Jumlah	36.012	1.800.600
Rata-rata	7.202,4	360.120

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Leukosit Terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Patin 1
 Leukosit = 6.865 x 50 sel/mm³
 = 343.250 sel/mm³
- Ikan Patin 2
 Leukosit = 7.358 x 50 sel/mm³
 = 367.900 sel/mm³
- Ikan Patin 3
 Leukosit = 7.582 x 50 sel/mm³
 = 379.100 sel/mm³
- Ikan Patin 4
 Leukosit = 7.152 x 50 sel/mm³
 = 357.600 sel/mm³
- Ikan Patin 5
 Leukosit = 7.055 x 50 sel/mm³
 = 352.750 sel/mm³



Lampiran 11 (Lanjutan).

Objek Penelitian	Jumlah Leukosit dalam 4 area hitung	Jumlah Leukosit per-mm ³
	Manual	Manual
Ikan Patin 1	6.405	320.250
Ikan Patin 2	6.889	344.450
Ikan Patin 3	7.160	358.000
Ikan Patin 4	6.607	330.350
Ikan Patin 5	6.663	333.150
Jumlah	33.724	1.686.200
Rata-rata	6744,8	337.240

Rumus :

$$\text{Rumus} = \sum \text{Jumlah Sel Leukosit Terhitung} \times 50 \text{ sel/mm}^3$$

- Ikan Patin 1
Leukosit = $6.405 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 320.250 sel/mm^3
- Ikan Patin 2
Leukosit = $6.889 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 344.450 sel/mm^3
- Ikan Patin 3
Leukosit = $7.160 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 358.000 sel/mm^3
- Ikan Patin 4
Leukosit = $6.607 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 330.350 sel/mm^3
- Ikan Patin 5
Leukosit = $6.663 \times 50 \text{ sel/mm}^3$
= 333.150 sel/mm^3

Lampiran 12. Perhitungan Uji t Sel Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

Ulangan	Perlakuan		(A-B)
	Aplikasi (A)	Manual (B)	
Ikan Patin 1	343.250	320.250	23.000
Ikan Patin 2	367.900	344.450	23.450
Ikan Patin 3	379.100	358.000	21.100
Ikan Patin 4	357.600	330.350	27.250
Ikan Patin 5	352.750	333.150	19.600
Jumlah	1.800.600	1.686.200	114.400
Rata-rata	360.120	337.240	22.880

T tabel 5% (Db: 4) = 2,77

T tabel 1% (Db: 4) = 4,60

$$F_k = \frac{(A-B)^2}{n} = \frac{(114.400)^2}{5} = 2.617.472.000$$

$$JK = \sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n}$$

$$= (23.000)^2 + (23.450)^2 + (21.100)^2 + (27.250)^2 + (19.600)^2 - \frac{(114.400)^2}{5}$$

$$= 2.650.835.000 - 2.617.472.000$$

$$= 33.363.000$$

$$S_d = \sqrt{\frac{JK}{n-1}} = \sqrt{\frac{33.363.000}{5-1}} = \sqrt{8.340.750} = 2.888$$

$$SED = \frac{S_d}{\sqrt{n}} = \frac{2.888}{\sqrt{5}} = \frac{2.888}{2,24} = 1.289,28$$

$$T \text{ hitung} = \frac{|\bar{A} - \bar{B}|}{SED} = \frac{|360.120 - 337.240|}{1.289,28} = \frac{22.880}{1.289,28} = 17,74$$

T hitung > T tabel 5% = 17,74 > 2,77

T hitung > T tabel 1% = 17,74 > 4,60

Jadi, dapat disimpulkan bahwa jika t hitung lebih besar dari t tabel 5% dan lebih besar dari t tabel 1% maka hasilnya sangat berbeda nyata dapat dikatakan bahwa hasil perhitungan sel leukosit ikan Patin yang menggunakan *hematology analyzer tools* lebih akurat dari pada menggunakan *handtally counter*.

Lampiran 13. Perhitungan Diferensial Leukosit Ikan Patin (*P. pangasius*)

➤ **Limfosit**

Sampel/Variabel	Limfosit (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Patin 1	25	30	20	20	15	110	22
Ikan Patin 2	15	20	15	20	25	95	19
Ikan Patin 3	20	25	15	10	20	90	18
Ikan Patin 4	20	15	23	15	17	90	18
Ikan Patin 5	20	15	18	20	15	88	17,6

- Ikan Patin 1
Limfosit = $(25+30+22+20+15) : 5$
= 22
- Ikan Patin 2
Limfosit = $(15+20+15+20+25) : 5$
= 19
- Ikan Patin 3
Limfosit = $(20+25+15+10+20) : 5$
= 18
- Ikan Patin 4
Limfosit = $(20+15+23+15+17) : 5$
= 18
- Ikan Patin 5
Limfosit = $(20+15+18+20+15) : 5$
= 17,6

➤ **Monosit**

Sampel/Variabel	Monosit (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Patin 1	15	20	23	30	30	118	23,6
Ikan Patin 2	25	20	30	20	15	110	22
Ikan Patin 3	20	20	25	30	20	115	23
Ikan Patin 4	20	25	27	25	23	120	24
Ikan Patin 5	25	25	27	20	20	117	23,4

- Ikan Patin 1
Monosit = $(15+20+23+30+30) : 5$
= 23,6
- Ikan Patin 2
Monosit = $(25+20+30+20+15) : 5$
= 22

Lampiran 13 (Lanjutan).

- Ikan Patin 3
Monosit = $(20+20+25+30+20) : 5$
= 23
- Ikan Patin 4
Monosit = $(20+25+27+25+23) : 5$
= 24
- Ikan Patin 5
Monosit = $(25+25+27+20+20) : 5$
= 23,4

➤ **Basofil**

Sampel/Variabel	Basofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Patin 1	5	10	7	10	5	37	7,4
Ikan Patin 2	10	15	5	10	15	55	11
Ikan Patin 3	10	10	10	15	10	55	11
Ikan Patin 4	15	15	10	15	10	65	13
Ikan Patin 5	15	10	18	15	20	78	15,6

- Ikan Patin 1
Basofil = $(5+10+7+10+5) : 5$
= 7,4
- Ikan Patin 2
Basofil = $(10+15+5+10+15) : 5$
= 11
- Ikan Patin 3
Basofil = $(10+10+10+15+10) : 5$
= 11
- Ikan Patin 4
Basofil = $(15+15+10+15+10) : 5$
= 13
- Ikan Patin 5
Basofil = $(15+10+18+15+20) : 5$
= 15,6

➤ **Eusinofil**

Sampel/Variabel	Eusinofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Patin 1	15	10	10	20	10	65	13
Ikan Patin 2	10	15	10	10	10	55	11
Ikan Patin 3	10	10	10	10	10	50	10
Ikan Patin 4	10	5	15	15	13	58	11,6
Ikan Patin 5	10	10	7	15	15	57	11,4

Lampiran 13 (Lanjutan).

- Ikan Patin 1
Eusinofil = $(15+10+10+20+10) : 5$
= 13
- Ikan Patin 2
Eusinofil = $(10+15+10+10+10) : 5$
= 11
- Ikan Patin 3
Eusinofil = $(10+10+10+10+10) : 5$
= 10
- Ikan Patin 4
Eusinofil = $(10+5+15+15+13) : 5$
= 11,6
- Ikan Patin 5
Eusinofil = $(10+10+7+15+15) : 5$
= 11,4

➤ Neutrofil

Sampel/Variabel	Neutrofil (%)					Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5		
Ikan Patin 1	40	30	40	20	40	170	34
Ikan Patin 2	40	30	40	40	35	185	37
Ikan Patin 3	40	35	40	35	40	190	38
Ikan Patin 4	35	40	25	30	37	167	33,4
Ikan Patin 5	30	40	30	30	30	160	32

- Ikan Patin 1
Neutrofil = $(40+30+40+20+40) : 5$
= 34
- Ikan Patin 2
Neutrofil = $(40+30+40+40+35) : 5$
= 37
- Ikan Patin 3
Neutrofil = $(40+35+40+35+40) : 5$
= 38
- Ikan Patin 4
Neutrofil = $(35+40+25+30+37) : 5$
= 33,4
- Ikan Patin 5
Neutrofil = $(30+40+30+30+30) : 5$
= 32

Lampiran 14. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Pengambilan Sampel Darah Ikan Nila



Pengambilan Sampel Darah Ikan Patin



Pengukuran Kualitas Air



Pembuatan Sampel Hematokrit



Pembacaan Hasil Hematokrit



Pembuatan Sampel Hemoglobin



Pengukuran Nilai Hemoglobin



Penghisapan Darah untuk Sampel Eritrosit

Lampiran 14 (Lanjutan).



Penghisapan Larutan Hayem



Penghisapan Larutan Turk



Pengamatan Eritrosit dan Leukosit



Pembuatan Preparat Diferensial Leukosit



Pengamatan Diferensial Leukosit