

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*)  
TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla***

**SKRIPSI**

Oleh:

**RENDRA SETIYO AGUSTYAN  
NIM. 155080501111049**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*)  
TERHADAP HISTOLOGI GINJAL IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla***

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**RENDRA SETIYO AGUSTYAN  
NIM. 155080501111049**



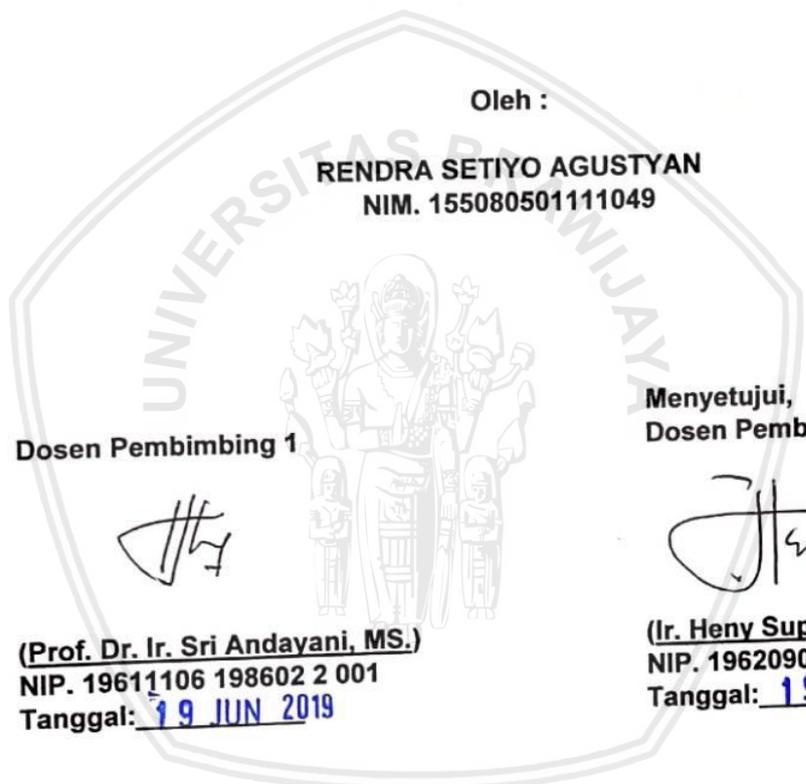
**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
JURUSAN BUDIDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*) TERHADAP HISTOLOGI GINJAL IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla*

Oleh :

RENDRA SETIYO AGUSTYAN  
NIM. 155080501111049



Dosen Pembimbing 1

(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.)  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal: 19 JUN 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2

(Ir. Heny Suprastyani, MS.)  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal: 19 JUN 2019

Mengetahui:  
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal: 19 JUN 2019



**IDENTITAS TIM PENGUJI**

Judul : PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API  
(*Avicennia marina*) TERHADAP HISTOPATOLOGI GINJAL  
IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI  
*Aeromonas hydrophilla*

Nama Mahasiswa : RENDRA SETIYO AGUSTYAN  
NIM : 155080501111049  
Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :  
Pembimbing 1 : PROF. DR. IR. SRI ANDAYANI, MS.  
Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASTYANI, MS.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :  
Dosen Penguji 1 : DR. IR. MAFTUCH, M.SI  
Dosen Penguji 2 : RANI YUWANITA, S.PI, MP

Tangga Ujian : 23 MEI 2019

## UCAPAN TERIMAKASIH

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

1. Allah SWT yang telah memberikan berkah, karunia, serta ridho Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan baik.
2. Ibu (Sulistyowati) dan Ayah (Gufron) serta adik (Nadia) yang selalu memberikan saya semangat dan dukungan moral untuk tetap kuat.
3. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. selaku dosen pembimbing I dan Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku dosen pembimbing II skripsi yang telah memberikan bimbingan, arahan dan bimbingan sehingga laporan skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Ibu dan Bapak Laboran di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
5. Teman-teman satu tim Lingga, Ratih, hafiza, Etika, Maylia, Rizqo dan Zahro yang selalu memberi motivasi dan telah bekerjasama dengan baik.
6. M. S. Qulub, S.Pi., M. Zaky Zamani, S.Pi yang telah banyak membantu selama penelitian.
7. Teman-teman Budidaya Perairan 2015, Arif, Azzam dan teman-teman yang selalu memberi semangat dan motivasi selama penelitian hingga penyusunan laporan.
8. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Laboratorium Uji BBPBAP Jepara dan UPT Materia Medica Batu yang sudah membantu dalam kelancaran skripsi.
9. Semua pihak yang telah memberi doa, semangat, dorongan dan membantu dalam menyelesaikan laporan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per-satu.

Malang, April 2019  
Penulis

Rendra Setiyo A  
155080501111049

## RINGKASAN

**RENDRA SETIYO A.** Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*Avicennia marina*) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Dibawah Bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS.**

Ikan hias air tawar merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang mempunyai peluang untuk meningkatkan perekonomian negara di sektor non migas. Ikan hias air tawar yang bernilai ekonomis tinggi karena memiliki estetika yang menarik adalah ikan koi (*Cyprinus carpio*). Salah satu patogen penyebab timbulnya penyakit pada usaha budidaya adalah bakteri, di antaranya bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Bakteri *A. hydrophilla* sering menyerang semua jenis ikan air tawar di daerah tropis, sehingga sangat berbahaya bagi budidaya ikan air tawar.

Penanganan penyakit ini umum dilakukan menggunakan antibiotik dan bahan kimia. Beberapa jenis tanaman diketahui memiliki senyawa aktif yang berfungsi sebagai anti bakteri. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah tanaman mangrove api-api (*A. marina*). Tanaman api-api (*A. marina*) mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid dan glikosida diketahui dapat menyembuhkan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri.

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimen dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebagai rancangan penelitian dengan pemberian ekstrak kasar daun tanaman api-api (*A. marina*) dengan dosis perlakuan A (10 ppm), B (30 ppm), C (50 ppm), D (70 ppm), kontrol positif (K+) dengan menggunakan antibiotik *chloramphenicol* 30 ppm dan kontrol negatif (K-) tanpa pemberian ekstrak kasar daun tanaman api-api (*A. marina*) maupun antibiotik *chloramphenicol*. Parameter utama dalam penelitian ini adalah histopatologi insang ikan koi (*C. carpio*). Sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah monitoring kualitas air antara lain suhu, pH dan oksigen terlarut yang dilakukan setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB.

Hasil dari penelitian ini menyatakan bahwa pemberian ekstrak kasar daun tanaman api-api (*A. marina*) berpengaruh terhadap histopatologi insang ikan koi (*C. carpio*). Didapatkan dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yaitu sebesar 70 ppm, dibandingkan dengan dosis 10 ppm, 30 ppm dan 50 ppm. Namun perlu adanya penelitian dengan dosis lebih tinggi dan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis yang optimal ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Pada histopatologi ginjal terdapat kerusakan jaringan yaitu Kongesti dan Nekrosis. Hasil yang didapat untuk parameter penunjang yaitu monitoring kualitas air selama penelitian didapatkan pada parameter suhu berkisar antara 24,50-28,70°C, pH 6,25-8,50 dan oksigen terlarut 5,70-10,90 ppm.

**KATA KUNCI:** Histopatologi Ginjal Ikan Koi (*Cyprinus carpio*), Kongesti dan Nekrosis

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa berkat rahmat, karunia dan hidayat-Nya penulis dapat menyelesaikan usulan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*Avicennia marina*) Terhadap Histopatologi Ginjal Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*”. Penulis juga berterima kasih kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. selaku dosen pembimbing I, Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku dosen pembimbing II dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan usulan skripsi tersebut.

Penulis sangat berharap usulan skripsi ini dapat berguna bagi pembaca dalam rangka menambah wawasan serta pengetahuan mengenai penanganan penyakit yang menginfeksi ikan koi (*Cyprinus carpio*). Selain itu, penulis menyadari bahwa di dalam usulan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis berharap adanya kritik serta saran demi perbaikan tulisan yang akan dibuat di masa yang akan datang. Demikian penulis sampaikan terima kasih.

Malang, April 2018

Penulis

Rendra Setiyo A  
155080501111049

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>UCAPAN TERIMAKASIH.....</b>	<b>v</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xii</b>
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Ikan Koi ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat dan Persebaran.....	7
2.1.3 Kebiasaan dan Cara Makan.....	7
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	8
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	9
2.2.3 Cara Penularan.....	10
2.2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	11
2.3 Daun Api-Api ( <i>Avicennia marina</i> ).....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	11
2.3.2 Habitat dan Penyebaran.....	13
2.3.3 Kandungan dan Manfaat Daun api-api ( <i>A. marina</i> ).....	14
2.4 Histopatologi.....	15
2.5 Organ Ginjal Ikan.....	16
2.5.1 Pengertian dan fungsi organ ginjal ikan.....	16
2.5.2 Kerusakan pada Organ Ginjal.....	18
<b>3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>19</b>
3.1 Materi Penelitian.....	19
3.1.1 Alat-Alat Penelitian.....	19
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian.....	20
3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Rancangan Penelitian.....	22
3.4 Prosedur Penelitian.....	24
3.4.1 Persiapan Penelitian.....	24
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian.....	31
3.5 Uji Histopatologi Ginjal.....	34
3.5.1 Pengambilan Jaringan.....	34
3.5.2 Pembuatan Preparat Histologi.....	34
3.5.3 Skoring Histopatologi Ginjal.....	36

3.6	Paramter Uji.....	37
3.6.1	Parameter Utama.....	37
3.6.2	Parameter Penunjang .....	37
3.7	Analisis Data .....	38
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>39</b>
4.1	Histopatologi Ginjal .....	39
4.1.1	Gambaran Ginjal Ikan yang Normal dan Terinfeksi Bakteri A. <i>hydrophilla</i> .....	39
4.1.2	Gambaran Histopatologi Ginjal pada Sampel Perlakuan .....	40
4.2	Analisis Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ) .....	47
4.3	Parameter Kualitas Air .....	51
4.4	Gejala Klinis pada Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	52
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
5.1	Kesimpulan .....	55
5.2	Saran .....	55
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>56</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>62</b>



## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Alat-Alat Penelitian .....	19
2. Bahan-Bahan Penelitian .....	20
3. Hasil Pengamatan Uji MIC (Pendahuluan).....	23
4. Rerata Skoring Ginjal Penelitian Pengamatan Kongesti .....	43
5. Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Ginjal .....	43
6. Uji BNT Kongesti Jaringan Ginjal.....	43
7. Rerata nilai skoring Nekrosis .....	46
8. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal ....	46
9. Uji BNT Nekrosis Jaringan Ginjal.....	46
10. Data Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ) .....	48
11. Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	48
12. Sumber Keragaman Kelulushidupan.....	49
13. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	49
14. Kisaran parameter kualitas Air .....	51
15. Gejala Klinis Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ) .....	53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Koi ( <i>Cyprinus carpio</i> ).....	6
2. Morfologi bakteri <i>A. hydrophilla</i> .....	9
3. Morfologi daun api-api ( <i>Avicennia marina</i> ).....	13
4. Struktur molekul flavonoid.....	15
5. Struktur molekul tannin .....	15
6. Anatomi Ikan Koi ( <i>Cyprinus carpio</i> ).. .....	17
7. Ginjal ikan yang masih normal .....	17
8. Ginjal ikan yang mengalami kerusakan.....	18
9. Denah Rancangan Penelitian .....	24
10. Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag).....	36
11. Histopatologi Ginjal Ikan Sehat dan Ikan Sakit.....	39
12. Hasil Histopatologi Ginjal .....	40
13. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Mangrove dengan Nilai Skoring Kongesti pada Ginjal.....	44
14. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Mangrove dengan Nilai Skoring Nekrosis pada Ginjal.....	47
15. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	50
16. Ikan koi ( <i>C. carpio</i> ) yang mengalami gejala klinis akibat terinfeksi bakteri <i>A. hydrophilla</i> .....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	62
2. Bahan Penelitian .....	67
3. Hasil Uji Identifikasi Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ) .....	69
4. Hasil Uji Fitokimia Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ).....	70
5. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>A. hydrophilla</i> .....	71
6. Perhitungan Dosis Ekstrak Pada Uji MIC.....	72
7. Skema Uji MIC ( <i>Minimum Inhibition Concentration</i> ).....	73
8. Perhitungan Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Kasar Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ).....	74
9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc. Farland.....	75
10. Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Mangrove Api-Api ( <i>A. marina</i> ) untuk Pengobatan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ) .....	78
11. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	79
12. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	80
13. Hasil Pengamatan Data Kualitas Air .....	91
14. Uji Normalitas Kelulusan.....	94
15. Perhitungan Kelulusanhidupan .....	95

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan hias air tawar merupakan salah satu komoditas perikanan Indonesia yang mempunyai peluang untuk meningkatkan perekonomian negara di sektor non migas. Ikan hias mempunyai keunikan tersendiri apabila dibandingkan dengan ikan konsumsi diantaranya memiliki bentuk tubuh dan warna yang menarik untuk di pelihara. Harga ikan konsumsi ditentukan oleh bobot tubuh dan rasa dagingnya, sedangkan ikan hias (*ornamental fish*) ditentukan oleh penampilanya. Salah satu ikan hias air tawar yang bernilai ekonomis tinggi karena memiliki estetika yang menarik adalah ikan koi (*Cyprinus carpio*). Koi (*C. carpio*) banyak diminati karena daya tarik pada warnanya yaitu merah, putih, kuning, hitam, putih atau kombinasinya (Sari *et al.*, 2012)

Salah satu patogen penyebab timbulnya penyakit pada usaha budidaya adalah bakteri, di antaranya bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Bakteri *A. hydrophilla* merupakan penyebab penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) yang dinamakan juga dengan penyakit bercak merah. Bakteri *A. hydrophilla* sering menyerang semua jenis ikan air tawar di daerah tropis, sehingga sangat berbahaya bagi budidaya ikan air tawar. Bakteri ini sering menimbulkan wabah penyakit dalam tingkat kematian tinggi (80-100%) dalam waktu singkat (1-2 minggu). Sehingga bakteri ini termasuk bakteri yang berbahaya dalam budidaya ikan hias (Safratilofa, 2017).

Ikan-ikan yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* pada umumnya mengalami pendarahan yang meluas pada permukaan kulit (*Haemorrhagic septicemia*), yang diikuti dengan timbulnya luka terbuka (*ulcer*) pada permukaan

tubuh atau hingga ke dalam jaringan. Selain itu, pada beberapa jenis ikan lain sering ditemukan tanda klinis seperti sirip punggung dan sirip ekor rontok, serta pembengkakan pada perut dan berisi cairan (*dropsy*), yang diikuti dengan kematian. Bakteri *A. hydrophilla* biasanya menyerang bagian organ dalam ikan (Yuasa, *et al.*, 2013).

Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophilla* adalah dengan pemberian bahan-bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintesis seperti *tetracycline*. Pemberian bahan kimia ini memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat. Akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan beberapa efek negatif. Residu antibiotik dapat mencemari lingkungan dan juga dapat dijumpai di tubuh ikan. Sehingga pemberian bahan alami sangat diperlukan agar ikan yang di obati tidak membawa residu yang berbahaya bagi ikan maupun lingkungan sekitar (Lukistyowati dan Kurniasih, 2011).

Menurut pendapat Afzal, *et al.* (2011), Ekstrak *A. marina* lebih efektif digunakan sebagai anti bakteri dibandingkan anti jamur. *A. marina* yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *fenolik*, *flavonoid*, *triterpenoid* dan *glikosida*. Handayani (2013), juga melakukan penelitian pada kandungan flavonoid kulit batang dan daun sebagai senyawa aktif antioksidan, dimana kadar flavonoid total daun 1,18 % dan kulit batang 0,67 %. Mulyani, *et al.* (2013) berpendapat, tentang peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* memiliki potensi sebagai zat antibakteri. Namun saat ini penelitian tentang ekstrak kasar daun api-api terhadap histopatologi dan hematologi ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A.*

*hydrophilla* belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun api-api dalam mengobati ikan koi yang terserang penyakit MAS.

## 1.2 Rumusan Masalah

Ikan koi (*C. carpio*) memiliki harga jual yang cukup tinggi berkisar 3.000-5.000 ribu/ ekor dengan ukuran 5-8 cm. Budidaya ikan koi tergolong mudah dan tidak membutuhkan lahan yang luas. Salah satu kendala dalam budidaya ikan koi adalah serangan penyakit yang menyebabkan kematian masal. Penyakit yang menyerang ikan koi salah satunya adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla*. Upaya pencegahan dan pengobatan yang sering dilakukan pada ikan yang sakit dengan menggunakan obat-obatan kimia. Namun, penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik.

Tanaman mangrove api-api (*A. marina*) merupakan tanaman yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam gangguan biologis. Ekstrak kasar *A. marina* lebih efektif digunakan sebagai anti bakteri. *A. marina* yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid. Oleh karena itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap histologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.

Berdasarkan rumusan masalah yang dijelaskan, maka didapat permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrohilla* ?
2. Mengetahui berapa pemberian dosis terbaik ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrohilla*?

### 1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang di infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.
2. Mengetahui konsentrasi dosis terbaik ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) untuk pengobatan ikan koi (*C. carpio*) yang di infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.

### 1.4 Hipotesis

- $H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang di infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*
- $H_1$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang di infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*

### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan melakukan penelitian ini adalah untuk memberi pengetahuan tentang bakteri *A. hydrophilla* yang dapat bermanfaat bagi para pembaca. Kegunaan

yang lain yaitu mendapat pengetahuan tentang penggunaan bahan alami dalam pencegahan ikan koi (*C. carpio*) terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* dengan menggunakan ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*).

### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan dilaksanakan di Laboratorium Hidrobiologi divisi Teknologi Hasil Perikanan dan divisi Sumberdaya Ikan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Pada bulan Desember 2018–Maret 2019.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Munir, *et al.* (2016), ikan koi (*Cyprinus carpio*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Actinopterygii
Order	: Cyprinidae
Genus	: Cyprinus
Species	: <i>Cyprinus Carpio</i>

Ikan koi merupakan jenis ikan hias yang banyak di budidayakan oleh masyarakat. Ikan hias koi dikenal masyarakat karena bentuk yang bermacam-macam dan warnanya yang beragam sehingga permintaan akan ikan hias ini semakin meningkat. Ikan koi memiliki bentuk tubuh yang lonjong dengan bagian depan kepala lebih besar sampai meruncing keekor, warna pada ikan koi yang beragam disebabkan adanya sel pigmen atau *chromatophore* Subamia, *et al.*, 2013). Morfologi dari ikan koi (*Cyprinus carpio*) disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) (Kusriani, *et al.*, 2015).

### 2.1.2 Habitat dan Persebaran

Habitat asli ikan koi adalah di perairan dengan mata air yang bersih dan selalu mengalir. Kolam ikan harus di jaga agar selalu bersih dan cocok bagi ikan koi, dan juga memiliki sistem aliran air. Suhu optimal untuk ikan koi berkisar antara 15-25°C. Iklim di Indonesia masih bisa di gunakan atau masih layak untuk memelihara ikan koi. Kolam koi perlu di perhatikan agar tidak terkena sinar matahari karena hal ini dapat menyebabkan suhu kolam melebihi suhu optimal. Suhu air yang terlalu tinggi menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme serta respirasi. Ikan koi yang sering terkena sinar matahari secara langsung warnanya juga akan cenderung pudar (Esther dan Sipayung, 2010).

Koi aslinya merupakan ikan air tawar, tetapi masih bias bertahan hidup dalam air yang agak asin, yakni sekitar 10 ppm. Koi merupakan hewan yang hidup di daerah beriklim sedang dengan suhu 17-32°C. Koi tidak tahan jika mengalami perubahan suhu yang drastis. Apabila hidup pada suhu yang terlalu rendah, dalam tempo singkat koi tidak akan mati . Apabila suhu air turun hingga 15°C, biasanya koi akan beristirahat di dasar kolam dan berlaku statis. Ikan koi ini tersebar di seluruh wilayah Indonesia, dan dapat di pelihara di daerah pantai hingga daerah pegunungan (Udin dan Sitanggang, 2010).

### 2.1.3 Kebiasaan dan Cara Makan

Elvin dan Priatna (2018), ikan koi mudah menerima berbagai jenis pakan baik yang berasal dari hewan maupun tumbuh-tumbuhan karena ikan hias koi tergolong ikan yang memakan segala atau omnivora. Ikan koi memiliki kebiasaan makan di permukaan, di tengah perairan dan di dasar perairan (*bottom feeder*). Waktu yang tepat untuk memberi makan ikan koi adalah pagi dan sore hari. Nafsu makan ikan koi akan meningkat pada suhu yang hangat. Ikan koi termasuk ikan

jinak, suka berteman dengan ikan yang lain dan tidak membutuhkan tempat yang luas untuk dipelihara.

Ikan koi (*C. carpio*) memiliki kebiasaan makan di bagian permukaan, di tengah perairan dan di dasar perairan (*bottom feeder*). Ikan koi memiliki sifat yang agresif dapat dilihat dari gerakannya yang cepat ke arah pakan dan langsung menangkap pakan. Ikan koi termasuk ikan jenis omnivore, yaitu ikan yang memakan berbagai jenis makanan, baik tumbuhan maupun binatang renik. Namun pakan utamanya adalah tumbuhan dan binatang yang terdapat di dasar atau dinding kolam (Prasetya, 2015).

## **2.2 Bakteri *Aeromonas hydrophilla***

### **2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi**

Klasifikasi dari bakteri *Aeromonas hydrophilla* menurut Doyle (1989) adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Phylum	: Protoebacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Aeromonadales
Family	: Aeromonadaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophilla</i>

*Aeromonas hydrophilla* adalah spesies bakteri gram negatif, bakteri ini berbentuk batang. *A. hydrophilla* merupakan bakteri umum yang menyerang ikan, baik ikan air tawar maupun air laut. *A. hydrophilla* telah ditemukan pada berbagai jenis ikan air tawar di seluruh dunia, dan ada juga pada ikan laut. Organisme ini

dianggap penyerang sekunder pada inang yang lemah. Bakteri ini lebih banyak menyerang pada ikan air tawar (Lubis et al., 2014). Morfologi dari bakteri *A. hydrophilla* disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Morfologi bakteri *A. hydrophilla* (Lubis et al., 2014).

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *A. hydrophilla* dapat hidup di air tawar, air laut, air payau maupun di air tawar dalam tanah. Pada umumnya bakteri ini hidup pada air tawar yang mengandung bahan organik tinggi. *A. hydrophilla* merupakan organisme yang berukuran mikro. Bakteri ini juga diakui sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin. Di daerah tropis dan sub tropis, pendarahan pada organ dalam pada ikan yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla* pada umumnya muncul pada musim panas (kemarau) karena pada saat itu konsentrasi bahan organik tinggi dalam kolam air. Pada ikan, bakteri ini banyak ditemukan di bagian insang, kulit, hati, dan ginjal. Ada pula yang berpendapat bakteri ini dapat hidup pada saluran pencernaan (Irianto, 2005).

*A. hydrophilla* dapat ditemukan di berbagai jenis perairan, terutama perairan yang mengandung bahan organik tinggi. Disamping itu, bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 4–45°C meskipun lambat dan tumbuh optimum pada suhu 37°C. *A. hydrophilla* merupakan bakteri yang dapat tumbuh dan berkembang secara cepat.

Bakteri ini ditemukan di bagian insang, kulit, hati, dan ginjal. Bakteri ini termasuk dalam gram *negatife* (Olga, 2012).

### 2.2.3 Cara Penularan

Bakteri *A. hydrophilla* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal. Penularan bakteri *A. hydrophilla* sangat cepat melalui perantara air, kontak bagian tubuh ikan atau peralatan budidaya yang tercemar atau terkontaminasi bakteri. Bakteri ini menyebar secara cepat pada padat tebar yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian sampai 100%. *A. hydrophilla* lebih sering menyerang melalui air. Hal ini menyebabkan *A. hydrophilla* dapat menyerang biota yang berada di air (Haryani *et al.*, 2012).

*Aeromonas hydrophilla* banyak ditemukan pada insang, kulit, hati dan ginjal. Bakteri ini dapat hidup pada saluran pencernaan. Infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* bisa terjadi melalui permukaan tubuh biasanya menempel atau menyerang daerah yang terluka, saluran pencernaan makanan atau bisa melalui insang, kemudian masuk dalam pembuluh darah dan menyebar pada organ dalam lainnya yang menyebabkan pendarahan. Bakteri *A. hydrophilla* menyebar secara cepat pada ikan dengan padat penebaran tinggi dan bisa mengakibatkan kematian. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar atau dengan pemindahan ikan yang telah terserang *A. hydrophilla* dari satu tempat ke tempat lain. Penularan bakteri (*A. hydrophilla*) sangat cepat terjadi, hal ini disebabkan karena faktor kondisi kualitas air juga sangat berpengaruh terhadap perkembangan penyakit di perairan yang dapat mempengaruhi metabolisme ikan dalam menghadapi penyakit (Samsundari, 2012).

## 2.2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa-senyawa kimia alami yang dalam kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami. Antibakteri sintetik dapat dihasilkan dengan membuat suatu senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya yang dibuat secara besar-besaran, sedangkan yang alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan proses pengekstrakan. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensinya, konsentrasinya dalam cairan tubuh, dan jaringan serta kepekaan bakteri terhadap obat (Nadhila, 2014).

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri dan paling banyak terdapat pada tumbuhan. Flavonoid merupakan kelompok dari fitokimia fenolik yang berfungsi sebagai peredam radikal bebas dan bermanfaat melindungi sel, serta sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Mekanisme kerja senyawa flavonoid terjadi dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Dalam flavonoid terkandung senyawa fenol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat. Senyawa fenol ini berperan sebagai antibakteri sehingga dapat mengganggu pertumbuhan bakteri (Malinggas, *et al.*, 2015).

## 2.3 Daun Api-Api (*Avicennia marina*)

### 2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi dari daun api-api (*Avicennia marina*) menurut Budiharta (2018), adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Asteridae  
Ordo : Scrophulariales  
Family : Acanthaceae  
Genus : *Avicennia*  
Species : *Avicennia marina*

*A. marina* juga di kenal dengan nama api-api. Api-api juga memiliki nama daerah seperti kayu kendeka, kayu ting (Manado), kibalnak (Sunda), api-api brayu, api-api kacang, bogem (Jatim), peape (Madura). Di Indonesia, api-api memiliki sejumlah nama, di antaranya mangi-mangi, sia sia, boak, koak, merana pejapi, papi, atau nyapi. Pohon api-api memiliki beberapa ciri, antara lain memiliki akar napas yakni akar percabangan yang tumbuh dengan jarak teratur secara vertikal dari akar horizontal yang terbenam di dalam tanah. *A. marina* memiliki buah berbentuk bulir seperti mangga, ujung buah tumpul dan panjang 1 cm, daun berbentuk elips dengan ujung tumpul dan panjang daun sekitar 7 cm, lebar daun 3-4 cm, permukaan atas daun berwarna hijau mengkilat dan permukaan bawah berwarna hijau abu-abu dan suram. Tumubuhan ini memiliki pertumubuhan yang relative lambat berkisar 0.5-1cm pertahunnya (Halidah, 2014). Morfologi dari daun api-api (*A. marina*) disajikan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Morfologi daun api-api (*Avicennia marina*) (Halidah, 2014)

### 2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Komunitas flora semak terbentuk oleh jenis-jenis pionir dan terdapat di tepi-tepi laut atau delta baru yang berlumpur lunak. Biasanya flora yang mendiami yaitu golongan *Avicennia marina*, *A. alba* dan *Sonneratiacaseolaris*. Tipe mangrove ini, umumnya juga dapat di jumpai di dekat mulut-mulut sungai besar pada perbatasan pengaruh pasang tinggi, yang tanahnya berupa lumpur halus. Kadang-kadang tipe komunitas ini bercampur dengan beberapa jenis tumbuhan bukan mangrove.. Kejadian seperti ini terdapat di kawasan komunitas yang berbatasan dengan lahan darat atau lahan rawa (Sukardjo, 1984).

Tumbuhan mangrove diperkirakan berasal dari Indo-Malaysia, kawasan pusat biodiversitas mangrove dunia. Spesies ini terbawa arus laut ke seluruh pantai daerah tropis dan subtropis dunia, pada garis lintang 25° LU dan 25° LS. Tumbuhan mangrove yang berada di Indo-Pasifik Barat biasanya berupa *Avicennia officinalis*, *A. marina*, *Rhizophora mucronata*, *R. apiculata*, *Bruguiera gymnorhiza*, dan *Sonneratia alba*, sedangkan di Atlantik tumbuhan mangrove yang ditemukan adalah *A. nitida*, *R. racemosa*, *R. mangle*, *R. harrissonii*, dan *Laguncularia racemose* (Setyawan, et al., 2003).

### 2.3.3 Kandungan dan Manfaat Daun Api-Api (*A. marina*)

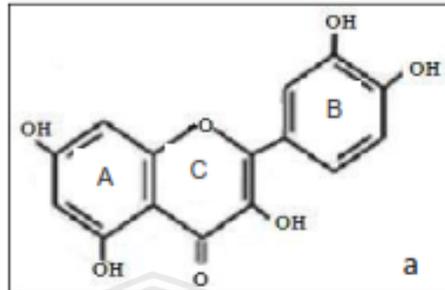
Ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*) mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam gangguan biologis seperti sebagai antioksidan, antitumor, antialergi dan antibakteri. Ekstrak kasar daun mangrove api-ap (*A. marina*) lebih efektif digunakan sebagai anti bakteri dibandingkan anti jamur. Mangrove api-api (*A. marina*) yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa *alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid* dan *glikosida* serta tidak ditemukan adanya steroid. Hal ini menunjukkan bahwa *A. marina* dapat digunakan sebagai obat alami. Sehingga tidak menyebabkan residu pada ikan (Danata dan Yamindago, 2014).

Mangrove api-api (*A. marina*) merupakan pohon mangrove pionir, jadi mudah sekali dikenal. Tumbuhnya selalu di tepi laut ataupun tepi sungai dan merupakan pohon berukuran sedang sampai besar dan tinggi. Tumbuhan mangrove sering dijumpai pada daerah tropis di seluruh dunia. Tumbuhan mangrove *A. marina* yang secara umum tumbuh pada lingkungan muara dan tepi pantai yang merupakan tempat penumpukan sedimen yang berasal dari sungai. *A. marina* memiliki kemampuan untuk menyerap dan memanfaatkan logam berat yang terbawa di dalam sedimen sebagai sumber hara yang dibutuhkan untuk melakukan proses-proses metabolisme (Handayani, 2006). Hasil uji kandungan fitokima yang dilakukan pada Dinas Kesehatan UPT Materia Medica Batu dapat di lihat pada lampiran 4. Kandungan fitokimia yang didapatkan pada mangrove diantaranya yaitu :

a. Flavonoid

Lumbessy *et al.* (2013) mengungkapkan, flavonoid hampir terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk buah, akar, daun dan kulit luar batang. Kandungan flavonoid menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri,

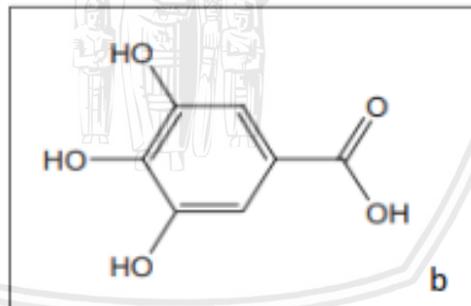
mikrosom dan lisosom yang disebabkan oleh interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri. Sifat lipofilik merupakan senyawa yang dapat merusak membrane sel bakteri.



**Gambar 4.** Struktur Molekul Flavonoid (Neldawati, *et al.*, 2013)

b. Tannin

Tannin merupakan senyawa metabolit sekunder yang dalam konsentrasi rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengkoagulasi protoplasma bakteri. Senyawa tannin dapat berfungsi sebagai agen anti mikroba alami (Ismarani, 2012).



**Gambar 5.** Struktur Molekul Tannin (Hernawan dan Setyawan, 2003).

## 2.4 Histopatologi

Histopatologi merupakan suatu teknik atau ilmu yang mempelajari perubahan abnormal dari sel atau jaringan yang digunakan untuk mendiagnosa penyakit. Pemeriksaan secara histopatologi merupakan pendukung dari suatu diagnosa dan

dapat menjadi pemeriksaan diagnosa utama dari suatu penyakit dengan ditemukannya perubahan sel atau jaringan yang spesifik pada penyakit tertentu. Pada saat yang bersamaan, pemeriksaan histopatologi merupakan pemeriksaan lanjutan dari penyakit parasit pada ikan, perubahan yang terjadi sering diakibatkan karena perubahan lingkungan (air pemeliharaan ikan) yang terjadi secara ekstrim. Histopatologi dilakukan dengan mengambil sampel yang berasal dari makhluk hidup. Pemeriksaan histopatologi dilakukan lebih lanjut untuk mengetahui gambaran perubahan sel dan jaringan pada ikan. Histopatologi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui penyakit yang menyerang ikan (Utama *et al.*, 2014).

Teknik histopatologi merupakan teknik yang cepat, sensitif, handal dan relative murah. Histopatologi merupakan alat penilaian terhadap respon stres dari bahan toksik *xenobiotic* (zat asing). Perubahan dan evaluasi histopatologis memberikan wawasan informasi terhadap tingkat stres, kerentanan dan adaptif kemampuan organisme menghadapi stres. Analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari penyakit diorgan insang, hati dan ginjal (Sari *et al.*, 2012).

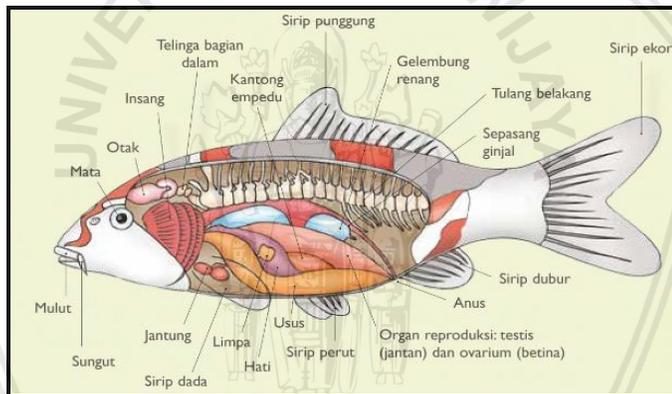
## **2.5 Organ Ginjal Ikan**

### **2.5.1 Pengertian dan fungsi organ ginjal ikan**

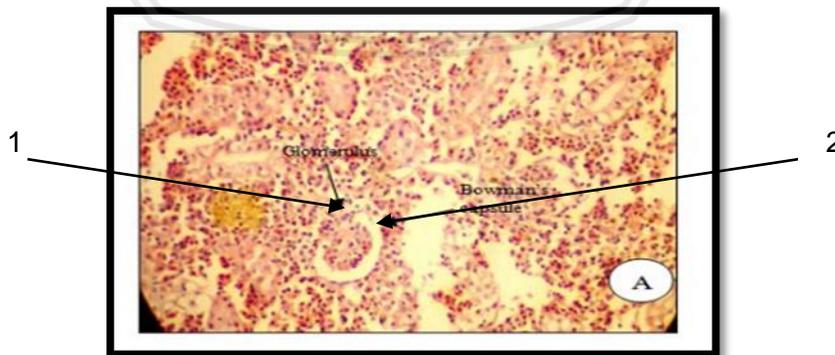
Ginjal adalah organ yang mempunyai peranan penting dalam tubuh. Organ ini berfungsi untuk membuang sampah metabolisme dan racun tubuh dalam bentuk urin atau air seni. Selain itu, ginjal juga berperan dalam mempertahankan keseimbangan air ,garam dan elektrolit. Ginjal merupakan organ tubuh yang rentan terhadap pengaruh zat-zat kimia, karena organ ini menerima 25-30 % sirkulasi darah

untuk dibersihkan, sehingga sebagai organ filtrasi kemungkinan terjadinya perubahan atau kerusakan fungsi ginjal sangat tinggi (Suhita *et al.*, 2013). Anatomi ginjal ikan koi (*C. carpio*) disajikan pada Gambar 6.

Salah satu organ yang sensitif terhadap pencemaran adalah ginjal. Ginjal merupakan organ vital yang dilalui darah karena ginjal berfungsi sebagai penyaring darah. Ginjal melakukan fungsi penting yang berkaitan dengan elektrolit dan keseimbangan air serta mempertahankan lingkungan internal yang stabil (*osmoregulasi*). Organ ginjal juga dapat di jadikan indikator adanya pencemaran pada suatu perairan (Mandia *et al.*, 2013). Ginjal ikan yang masih normal dapat dilihat pada Gambar 7.



**Gambar 6.** Anatomi Ikan Koi (Papilion dan Effendy, 2017).

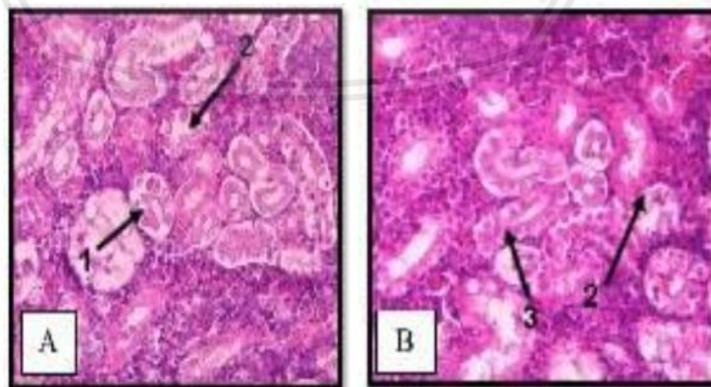


**Gambar 7.** Ginjal ikan yang masih normal, Tanda panah no. 1. Glomerulus dan 2. Bowma's capsule. (Mikroskop Perbesaran 100x) (Khatun *et al.*, 2016).

## 2.5.2 Kerusakan pada Organ Ginjal

Struktur organ ginjal yang terlihat adanya kelainan berupa nekrosis, dengan tanda sel yang mengalami nekrosis dapat dikenali dari bentuk intinya yang mengecil (*piknotik*), membesar, kabur atau hilang (*karyolisis*). Selanjutnya kelainan berupa degenerasi juga di temukan dalam organ ginjal. Degenerasi merupakan reaksi peradangan yang terjadi bila kerusakan sel tidak mematikan, perubahannya bersifat reversibel (bisa pulih kembali setelah sumber kerusakan di lenyapkan) dan dapat disebabkan oleh luka karena kuman, bakteri, zat-zat kimia (Sari *et al.*, 2014).

Organ tubuh yang menjadi target infeksi adalah organ insang, ginjal, otak dan hati, karena organ tersebut memiliki prevalensi (populasi virus) dibandingkan organ lainnya. Kelainan jaringan ginjal akibat nekrosis menggambarkan keadaan dimana terjadi penurunan aktivitas jaringan dengan mulai hilangnya beberapa bagian sel yang dalam waktu singkat akan mengalami kematian. Struktur organ ginjal juga terlihat kelainan berupa kongesti. Kongesti merupakan pembendungan darah akibat adanya gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi (Cahyaningrum *et al.*, 2015). Ginjal ikan yang mengalami kerusakan dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Ginjal ikan yang mengalami kerusakan. Tanda panah no. 1. Degenerasi, 2. Nekrosis dan 3. Kongesti. (Mikroskop Perbesaran 400x) (Andayani *et al.*, 2017).

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian disajikan pada dan dapat dilihat pada Lampiran 1.

**Tabel 1.** Alat-Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Toples plastik 16L	Untuk wadah pemeliharaan ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
2.	Toples kaca 10L	Untuk wadah bahan pada saat maserasi daun api-api ( <i>A. marina</i> )
3.	Akuarium (200x60x80)cm <sup>2</sup>	Untuk wadah aklimatisasi ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
4.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang digunakan dengan ketelitian 10 <sup>-2</sup>
5.	Batu aerator	Untuk menyalurkan suplai oksigen pada ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
6.	<i>Blower</i>	Untuk penyuplai oksigen pada ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
7.	Selang air	Untuk membantu mengisi air pada toples
8.	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan yang digunakan
9.	Oven	Untuk memanaskan sampel
10.	Blender	Untuk menghaluskan daun api-api yang sudah dikeringkan
11.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
12.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri dari media pada saat penanaman bakteri.
13.	Bunsen	Untuk pengondisian aseptis di dalam LAF
14.	Tabung reaksi	Untuk wadah media bakteri <i>A. hydrophilla</i>
15.	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak kasar daun api-api dan bakteri <i>A. hydrophilla</i>
16.	Botol film	Untuk wadah ekstrak kasar daun api-api
17.	Gelas ukur	Untuk wadah mengukur larutan
18.	<i>Sprayer</i>	Untuk wadah alcohol 70%
19.	Mikroskop	Untuk mengamati jaringan pada ginjal ikan koi ( <i>C. carpio</i> )

20.	Spektrofotometer	Untuk mengukur panjang gelombang bahan paa saat uji MIC
21.	<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk memisahkan ekstrak kasar dengan etanol PA
22.	Inkubator	Untuk tempat inkubasi pada saat penanaman bakteri <i>A. hydrophilla</i>
23.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan larutan
24.	<i>Object glass</i>	Untuk tempat sampel yang akan diamati
25.	<i>Cover glass</i>	Untuk penutup sampel yang akan diamati
26.	Seser ikan	Untuk membantu mengambil ikan
27.	Erlenmeyer	Untuk wadah pengenceran ekstrak
28.	<i>Hotplate</i>	Untuk memanaskan media
29.	<i>Thermometer</i>	Untuk pengukuran parameter kualitas air suhu
30.	pH meter	Untuk mengukur parameter kualitas air pH
31.	DO meter	Untuk mengukur parameter kualitas airDO
32.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri <i>A. hydrophilla</i>
33.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
34.	Penggaris	Untuk mengukur panjang ikan
35.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
36.	Autoklaf	Untuk mensterilkan alat bahan yang akan digunakan
37.	<i>Laminary Air Flow (LAF)</i>	Untuk preparasi bahan-bahan mikrobiologi dan sebagai tempat penanaman bakteri agar tidak terkontaminasi dengan udara luar
38.	<i>Beaker glass</i>	Untuk wadah tabung reaksi pada saat sterilisasi
39.	<i>Sectio set</i>	Untuk membantu pada saat pengambilan organ ginjal ikan koi ( <i>C. carpio</i> )

### 3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian disajikan pada Tabel 2 dan dapat dilihat pada Lampiran 2.

**Tabel 2.** Bahan-Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Ikan koi ( <i>C. carpio</i> ) ukuran 8-10 cm dari Gresik	Sebagai ikan yang diuji
2.	Daun mangrove api-api ( <i>A. marina</i> ) dari Gresik	Sebagai bahan untuk pembuatan ekstrak kasar

3.	Bakteri <i>A. hydrophilla</i>	Sebagai bakteri yang digunakan pada saat penginfeksian
4.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai penutup seluruh bagian <i>beaker glass</i> dan <i>erlenmeyer</i> pada saat disterilkan
5.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis
6.	Etanol PA	Sebagai bahan pelarut daun api-api pada saat maserasi
7.	Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran media dan bakteri
8.	Sarung tangan	Sebagai bahan pengondisian aseptis pada tangan
9.	Kertas saring	Sebagai penyaring bahan setelah maserasi
10.	Kertas bekas	Sebagai pembungkus peralatan yang akan disterilisasi
11.	Masker	Sebagai pengondisian aseptis
12.	<i>Tissue</i>	Sebagai pembersih alat yang sudah digunakan
13.	Kapas	Sebagai penutup alat pada saat sterilisasi
14.	Kertas label	Sebagai penanda
15.	<i>Nutrient Agar (NA)</i>	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar.
16.	<i>Nutrient Broth (NB)</i>	Sebagai media tumbuh bakteri dalam bentuk cair
17.	Air media	Sebagai media hidup ikan uji
18.	BaCl	Sebagai bahan pada saat McFarland
19.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sebagai bahan pada saat McFarland

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan untuk penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen yaitu metode yang menggunakan rancangan percobaan untuk mengetahui hasilnya. Metode eksperimen adalah berupa observasi yang dilakukan di bawah kondisi buatan yang diatur oleh si peneliti. Tujuan dari penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki ada tidaknya suatu hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara melakukan perlakuan-perlakuan pada beberapa kelompok eksperimental, sehingga data yang didapat beragam, hal ini disebabkan karena hasil dari setiap perlakuan yang di uji bisa berbedah-bedah (Ubaidillah, *et al.*, 2014).

Metode eksperimental merupakan metode yang digunakan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek dan adanya suatu kontrol. Metode eksperimental ini memiliki berbagai macam keuntungan dalam pengapikasiannya diantaranya yaitu tujuannya untuk menyelidiki ada atau tidaknya hubungan dengan sebab akibat dan seberapa besar hubungan terjadi diantara sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan-perlakuan tertentu dan menyediakan kontrol untuk perbandingan (Lestari, *et al.*, 2017).

### 3.3 Rancangan Penelitian

Keuntungan dari Rancangan Acak Lengkap dipilih sebagai metode yang digunakan karena denah perancangan percobaan lebih mudah, analisis statistika terhadap subjek percobaan sangat sederhana, fleksibel dalam penggunaan jumlah percobaan, dan kehilangan info lebih sedikit bila ada data yang hilang (Christina, *et al.*, 2016).

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (1995), RAL digunakan untuk percobaan yang tempat percobaannya homogen. Pengaplikasian media percobaan yang homogen menyebabkan media percobaan tidak memberikan pengaruh pada dosis yang sama, perlu dilakukan penentuan dosis yang berbeda pada setiap perlakuan yang diamati. Model untuk RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

- $Y_{ij}$  : Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan k-i dan kelompok ke-j
- $\mu$  : Nilai tengah umum
- $T_i$  : Pengaruh dari perlakuan ke-i
- $\epsilon_{ij}$  : Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke - i dan kelompok ke-j

Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan antibiotik sintetis yaitu *Chlorampenicol* 30 ppm. Sedangkan kontrol negatif dengan menginokulasi bakteri ke media tanpa penambahan ekstrak. Pembuatan dosis ekstrak dilakukan dengan membuat larutan induk dengan dosis tertinggi yang dibutuhkan, kemudian dilakukan pengenceran sesuai dosis yang ditentukan. Pembuatan larutan induk serta pengenceran dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*), DMSO sebanyak 10% dan aquades. Perhitungan dosis ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 6.

Penentuan dosis perlakuan berdasarkan uji MIC (penelitian pendahuluan), dimana menggunakan dosis 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dari dosis tersebut dilihat tabung yang jernih dan mendekati kontrol positif untuk dilakukan uji MIC. Adapun hasil dari uji log disajikan pada Tabel 3.

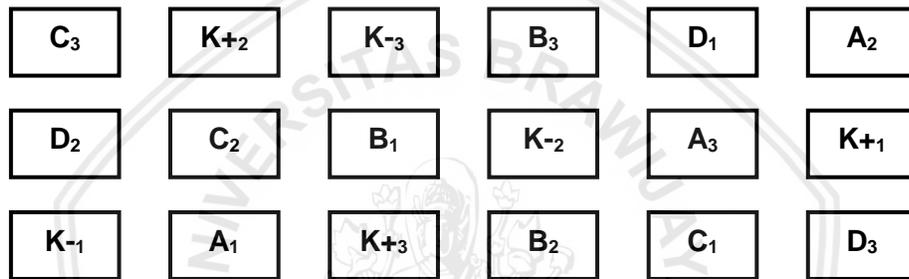
**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Uji MIC (Pendahuluan)

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Warna
1	0.01	0,467	Keruh
2	0.1	0,404	Bening
3	0	0,389	Bening
4	1	0,358	Bening
5	10	0,418	Bening
6	100	0,414	Bening
7	1000	0,400	Bening
8	K(+)	0,431	Bening
9	K(-)	0,408	Bening

Hasil Tabel 3 diatas menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *A. hydrophilla*, dikarenakan dosis tersebut mendekati nilai kontrol positif dan dipilihnya dosis tersebut karena merupakan dosis yang efektif dikarenakan bakteri *A. hydrophilla* merupakan bakteri yang sensitif dan termasuk dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina). Sehingga dari hasil uji MIC tersebut digunakan

untuk acuan dosis perlakuan penelitian. Adapun perlakuan yang digunakan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- A : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 10 ppm
- B : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 30 ppm
- C : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 50 ppm
- D : Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 70 ppm
- K+ : Perlakuan dengan pemberian antibiotik *Chlorampenichol* dengan dosis 30 ppm
- K- : Perlakuan tanpa pemberian antibiotik dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*)



**Gambar 9.** Denah Rancangan Penelitian

Keterangan:

- A, B, C, D : Perlakuan
- K+ : Kontrol positif
- K- : Kontrol negatif
- 1, 2, 3 : Ulangan

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian menyangkut beberapa aspek yang harus dilakukan terlebih dahulu, diantaranya sterilisasi alat dan bahan, kemudian dilanjutkan dengan sterilisasi tempat perlakuan, pembuatan media NA dan NB, pembiakkan dan peremajaan bakteri *A. hydrophilla*, cara menghitung kepadatan bakteri *A. hydrophilla* dan cara memperoleh bakteri *A. hydrophilla* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml yang dijelaskan sebagai berikut:

**a. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi dilakukan sebelum alat dan bahan digunakan saat penelitian. Tujuan sterilisasi adalah untuk membunuh semua mikroorganisme yang tidak diinginkan yang menempel pada alat dan bahan yang akan digunakan. Proses sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci, kemudian dikeringkan lalu ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Bahan-bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Akuades dituang ke dalam autoklaf secukupnya.
- Alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian ditutup rapat dengan mengencangkan sekrup secara simetris.
- Letakkan autoklaf diatas kompor dan nyalakan api.
- Ditunggu sampai autoklaf mencapai suhu 121°C dan tekanan menunjukkan 2 atm, lalu *klep* atau katup uap air dibuka.
- Kemudian api dkecilkan selama 15 menit.
- Matikan kompor dan katup autoklaf dibuka, kemudian autoklaf ditunggu sampai tidak berbunyi, kemudian autoklaf dibuka.
- Alat yang sudah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

**b. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Sterilisasi tempat perlakuan juga diperlukan untuk menghindari kontaminasi. Laboran yang bersinggungan dengan meja dan barang di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat perlakuan dapat dilakukan secara kimia menggunakan alkohol 70% yang disemprotkan ke area sekitar

perlakuan, sterilisasi juga dapat dilakukan dengan cara fisika yaitu dengan menyalakan bunsen area sekitar perlakuan dan dapat dilakukan sinar UV yang terdapat pada ruangan *Laminary Air Flow* (LAF).

### c. Pembuatan Media

Media yang dapat digunakan untuk menjamin dan menumbuhkan bakteri tersebut yaitu media NA dan media NB. Mekanisme pembuatan media diantaranya adalah sebagai berikut:

#### 1) Media NB (*Nutrient Broth*)

Media NB merupakan media cair yang digunakan untuk kultur bakteri *A. hydrophilla*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan NB sebesar 8 g/L Adapun proses pembuatan media NB adalah sebagai berikut:

- Media NB ditimbang sebanyak 0,08 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml aquades.
- Larutan dihomogenkan hingga larut sempurna yang dicirikan dengan warna larutan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *plastic wrap* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama  $\pm$  30 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu  $\pm$  30°C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

#### 2) Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri *A. hydrophilla*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan NA sebesar 20 g/L. Adapun proses pembuatan media NA adalah sebagai berikut:

- Media NA ditimbang sebanyak 0,4 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml aquades.

- Dihomogenkan sampai larut kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus *plastic wrap*, selanjutnya direbus selama  $\pm 15$  menit.
- Erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 30$  menit.
- Media NA yang akan digunakan ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada tabung reaksi, tabung reaksi ditutup kapas dan dimiringkan kemudian ditunggu hingga dingin dan berbentuk agar.
- Apabila media tidak langsung di tanam bakteri, media dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label jika hendak digunakan keesokan harinya.

**d. Persiapan Bakteri *A. hydrophilla***

Bakteri *A. hydrophilla* diperoleh dari BBPBAP (Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau) Jepara, Jawa Tengah. Adapun hasil biokimia bakteri *A. hydrophilla* disajikan pada Lampiran 5. Isolat murni yang kemudian diremajakan pada media agar miring dan media cair yaitu dengan menggunakan media NB (*Nutrient Broth*) dan NA (*Nutrient Agar*). Bakteri yang akan di pakai merupakan, bakteri yang diperoleh dengan menggunakan perhitungan kepadatan  $12 \times 10^8$  sel/ml hasil pengukuran pada media NB (*Nutrient Broth*) yang sudah dicocokkan dengan metode Mc. Farland. Langkah-langkah dalam penentuan tersebut adalah sebagai berikut:

- Pembuatan media bakteri
- Perhitungan kepadatan bakteri

Perhitungan kepadatan bakteri yang ada pada media NB dapat dilakukan dengan metode Mc. Farland dengan cara:

- Menyediakan 10 tabung reaksi yang bersih.

- Membuat larutan  $H_2SO_4$  murni dalam 1% dan membuat larutan  $BaCl_2$  dalam 1%.
- Campurkan kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel. Sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tutuplah tabung-tabung tersebut.
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi bakteri *A. hydrophilla* per ml.

**e. Pemiakan Bakteri *A. hydrophilla***

**1) Peremajaan Bakteri**

Pemiakan bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) miring yang akan digunakan untuk peremajaan bakteri. Adapun langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- Menyiapkan media NA yang masih steril.
- Memanaskan jarum ose yang akan digunakan diatas Bunsen hingga berwarna merah menyala.
- Membuka penutup kapas pada tabung reaksi yang telah berisi bakteri kemudian dinginkan jarum ose pada ujung media agar NA.
- Mengambil satu inokulan bakteri dengan jarum ose dari hasil peremajaan sebelumnya kemudian goreskan secara zig-zag pada media agar yang masih steril di dekat bunsen yang menyala.
- Setelah itu, media hasil goresan diinkubasi di inkubator selama 24 jam dengan suhu  $30^{\circ}C$  untuk melihat pertumbuhan bakteri.
- Setelah bakteri pada media agar tumbuh, disimpan pada kulkas

## 2) Kultur Bakteri

Pembiakan bakteri pada media NB (*Nutrient Broth*) yang akan digunakan untuk kultur bakteri. Adapun proses pembiakan adalah sebagai berikut:

- Peralatan yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian disiapkan media NB.
- Jarum ose dipanaskan di atas bunsen hingga berwarna merah menyala kemudian didinginkan jarum ose dengan cara disentuh ke biakan murni *A. hydrophilla* kemudian dicelupkan ke NB dan di *vortex mixer*.
- Media NB dibiarkan 24 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.
- Setelah 24 jam dan media telah tampak keruh, media disimpan dalam kulkas.

### f. Penentuan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC)

MIC (*minimum inhibition concentration*) merupakan konsentrasi terendah bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan hasil yang dilihat dari pertumbuhan koloni pada agar atau kekeruhan pada pembiakan cair (Soleha, 2015). Penentuan MIC dapat digunakan untuk mengetahui konsentrasi terkecil bahan obat-obatan (ekstrak kasar daun api-api) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme bakteri (*A. hydrophilla*) secara makroskopis.

Pembuatan dosis ekstrak dilakukan dengan membuat larutan induk dengan dosis tertinggi yang dibutuhkan kemudian dilakukan pengenceran sesuai dosis yang ditentukan. Pembuatan larutan induk serta pengenceran dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar daun mangrove api-api (*A. marina*), DMSO 10% dan aquades. Adapun prosedur yang dilakukan untuk melakukan uji MIC adalah sebagai berikut:

- Siapkan NB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml.

- Ekstrak kasar daun api-api diberikan pada tabung reaksi yang berisi NB dengan dosis yang berbeda pada setiap tabungnya sebanyak 1 ml. Dosis yang digunakan pada uji Log ini adalah 0,01 ppm, 0,1 ppm, 0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm. Dalam uji Log ini menggunakan kontrol positif yaitu antibiotik *Chloramphenicol* dengan dosis 30 ppm dan kontrol negatif.
- Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 1 ml.
- Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam.
- Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.
- Dicatat nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer. Adapun skema dari uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 7.

**g. Persiapan Ikan Koi (*C. carpio*)**

Ikan uji yang digunakan adalah ikan koi (*C. carpio*) yang didapatkan dari pembudidaya ikan di daerah Gresik tepatnya di desa Sindujoyo Kecamatan Gresik Kabupaten Gresik, Jawa Timur. Ikan yang digunakan dalam penelitian berukuran 8–12 cm (panjang total) dan bobot ikan 3,60-8,84g dengan padat tebar ikan uji pada setiap akuarium sebanyak 1 ekor/2 liter. Ikan dipelihara di akuarium berukuran 200x60x80 cm<sup>2</sup> untuk pengadaptasian. Mengacu pada penelitian Anggraini, *et al.* (2014), bahwa padat tebar ikan uji yang digunakan pada setiap akuarium sebanyak 1 ekor/2 L. Masing–masing toples yang akan digunakan diisi 10 L air dan ikan uji sebanyak 5 ekor. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama 3 hari pada toples. Selama aklimatisasi ikan koi diberi pakan pellet secara adlibitum sebanyak 2 kali sehari, dan dilakukan penyiponan apabila air pemeliharaan sudah kotor.

**h. Uji LD<sub>50</sub>**

Pada uji LD<sub>50</sub> dosis yang digunakan berdasarkan dosis uji MIC yang sudah dilakukan. Dimana pada uji MIC diperoleh hasil pada konsentrasi 10 ppm sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Uji LD<sub>50</sub> mempunyai tujuan untuk mengetahui kematian 50% hewan percobaan sehingga perlu adanya dosis pembanding. Dosis yang digunakan untuk LD<sub>50</sub> yaitu 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm. Pada uji LD<sub>50</sub> menggunakan ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-12 cm dengan jumlah 25 ekor yang dibagi menjadi 5 perlakuan sehingga setiap perlakuan terdapat 5 ekor ikan koi (*C. carpio*). Sebelum dilakukan pemberian ekstrak, ikan diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi pakan 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 dan 15.00 WIB. Setelah itu ikan diletakkan ke dalam toples perlakuan dan diberi ekstrak kasar daun manruve api-api (*A. marina*) sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Selanjutnya ikan diamati selama 48 jam. Setelah 48 jam diperoleh hasil yaitu pada dosis 85 ppm ikan mengalami kematian sebesar 50%. Hal ini disebabkan karena pada dosis 85 ppm memiliki kadar ekstrak yang terlalu tinggi. Tingginya ekstrak menyebabkan toksik dimedia budidaya. Sehingga dosis yang digunakan kurang dari 85 ppm yaitu menggunakan dosis 10, 30, 50 dan 70 ppm.

### **3.4.2 Pelaksanaan Penelitian**

#### **a. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun mangruve Api-Api (*A. marina*)**

Proses pembuatan ekstrak kasar dimulai dengan menyiapkan daun api-api (*A. marina*). Daun mangruve api-api didapatkan dari Desa Beto yoguci Kecamatan Manyar Kabupaten Gresik Jawa Timur dan kemudian diambil daunnya sebanyak 3 kg. Selanjutnya daun api-api tersebut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan disuhu ruang  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  dan didapatkan berat daun sebanyak 1,245 g. Daun kemudian digiling hingga menjadi serbuk, hasil penggilingan ditimbang menggunakan timbangan digital dan didapatkan serbuk sebanyak 1,040 g dan didapatkan nilai

kadar air sebesar 41,5%, perhitungan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 8. Langkah selanjutnya yaitu melakukan proses maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:5 dimana serbuk daun api-api sebanyak 200 g dimaserasi menggunakan etanol PA 98% sebanyak 1000 ml ditaruh di toples kaca, setelah itu dibungkus alumunium foil dan *plastic wrap* selama 2 hari (dihomogenkan setiap 7 jam). Kemudian disiapkan wadah untuk penyaringan dan saring menggunakan kertas saring rangkap 2. Larutan hasil penyaringan dibungkus *alumunium foil* dan disimpan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari. Selanjutnya larutan hasil penyaringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga berbentuk pasta. Ekstrak yang didapatkan sebanyak 7,23 g dan didapatkan hasil perhitungan rendemen sebesar 3,62%. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 8. Ekstrak hasil evaporasi diletakkan dalam botol film dan dibungkus dengan *alumunium foil*, selanjutnya disimpan pada lemari pendingin.

#### **b. Penginfeksian Ikan Uji dengan Bakteri *A. hydrophilla***

Ikan uji diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* melalui perendaman pada masing-masing media pemeliharaan. Metode ini mengacu pada Rosidah dan Afizia (2012), bakteri *A. hydrophilla* dapat di berikan dengan metode perendaman pada ikan. Metode perendaman dilakukan agar bakteri uji dapat diserap dalam jumlah banyak oleh ikan, perendaman dilakukan dalam waktu 48 jam. Adapun jumlah kepadatan bakteri yang di gunakan untuk menginfeksi ikan yakni sebesar  $10^7$  sel/mL. Sesuai dengan pernyataan Nitimulyo *et al.* (2005), pemberian konsentrasi *A. hydrophilla* pada media budidaya ikan koi berkisar antara  $10^7$  sel/ml, dan apabila ikan dalam kondisi stres maka kemungkinan terjadinya kematian. Adapun hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophilla* disajikan pada Lampiran 5. Perendaman bakteri *A. hydrophilla* dilakukan di dalam toples plastik volume 12 L yang sudah dilengkapi aerasi.

Perendaman dilakukan menggunakan kapasitas air 10.000 ml dengan ketinggian air 17,5 cm. Sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

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

Keterangan :

$N_1$  : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)  
 $N_2$  : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)  
 $V_1$  : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan  
 $V_2$  : Volume yang diinginkan

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

$$V_1 \times (9 \times 10^8) = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{9 \times 10^8}$$

$$V_1 = 111 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 111 ml. Sedangkan air tawar yang digunakan adalah sebesar 9.889 ml. Kemudian bakteri direndam di dalam media yang telah dicampur dengan bakteri dan diamati gejala klinis ikan yang telah direndam. Sampel uji diinfeksi dengan cara perendaman di dalam bakteri selama 24 jam. Setelah itu ikan koi (*C. carpio*) yang telah dipelihara dipindahkan ke dalam toples pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

**c. Perendaman Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*A. marina*) pada Ikan Koi (*C. carpio*)**

Perendaman ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) di lakukan dengan cara toples diisi sebanyak 10 liter dan di tambahkan ekstrak kasar daun api-api sesuai dosis yang telah di tentukan (10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm). Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dilakukan dengan perendaman dengan cara

memasukkan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) ke dalam media pemeliharaan. Pertama disiapkan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) kemudian dilakukan perhitungan berdasarkan volume media pemeliharaan yang digunakan dan dosis ekstrak yang akan digunakan. Setelah didapatkan hasil selanjutnya dilakukan penimbangan ekstrak sesuai hasil yang didapat lalu dimasukkan kedalam akuarium perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda selama 48 jam. Setelah itu ikan dipindahkan ke dalam air segar selama 7 hari pemeliharaan. Selama pemeliharaan tersebut dilakukan pengukuran parameter penunjang diantaranya DO, pH dan suhu setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB.

### **3.5 Uji Histopatologi Ginjal**

#### **3.5.1 Pengambilan Jaringan**

Pengambilan jaringan ginjal dilakukan sebanyak 3 bagian yaitu pada ikan normal yang tidak diinfeksi, pada ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan pada ikan yang sudah diberi perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*). Dimana pada setiap perlakuan hanya diambil satu sampel ikan saja. Cara pengambilan ginjal pertama ikan dibedah dengan menggunakan *sectio set*. Kemudian diambil organ dalam, kemudian ginjal diambil dan dipisahkan dari organ lainnya dan diletakkan pada alas kaca. Setelah itu sampel organ ginjal dibersihkan dari kotoran menggunakan aquades, setelah itu ginjal dimasukkan ke dalam botol film dan diberi larutan formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilakukan pembuatan preparat untuk histopatologi.

#### **3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi**

Setelah masa adaptasi selesai dilakukan, ikan yang di uji kemudian diambil ginjalnya sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Sampel ginjal yang sudah

diambil dimasukkan ke dalam botol film yang sebelumnya sudah dibersihkan dan diberi formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilanjutkan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Adapun tahapan-tahapannya sebagai adalah:

- Tahap Fiksasi

Sampel ginjal yang akan diamati jaringannya diambil dengan cara membedah ikan. Kemudian jaringan tersebut direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan memasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol. Alkohol yang digunakan dengan seri naik. Dimana terdiri dari alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol *absolute* selama 2 jam.

- Tahap *Clearing*

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 1 jam.

- Tahap Impregnasi

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

- Tahap *Embedding* (Pengeblokan)

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan, langkah berikutnya adalah

memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 45°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*). Kemudian keringkan pada oven dengan suhu 45°C selama 24 jam.

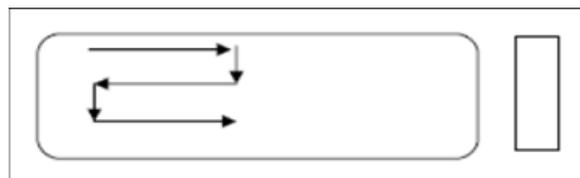
- Teknik Pewarnaan Jaringan dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)  
Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan *clearing*.

- Tahap *Mounting*

Tahap ini merupakan prosedur terakhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan *entelen new*. Kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 400x.

### 3.5.3 Skoring Histopatologi Ginjal Ikan Koi (*C. carpio*)

Skoring histopatologi dilakukan bertujuan untuk mengetahui kerusakan jaringan ginjal. Pada metode skoring preparat dibagi menjadi 5 bidang pandang pada sampel yang kita amati dengan gerakan zig zag. Menurut Siswandari (2005), pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi preparat) ke arah kepala. Kemudian diturunkan ke bawah, kemudian digeser ke arah ekor kembali (Gerak zig zag) seperti disajikan pada **Gambar 10**.



**Gambar 10.** Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Siswandari, 2005)

Kemudian setiap lapang pandang diamati tingkat kerusakan dan dipersentase dengan pemberian skor 1 sampai dengan 4. Persentase yang menunjukkan kerusakan setiap bidang pandang dihitung berdasarkan sel yang mengalami kerusakan.

### 3.6 Parameter Uji

#### 3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini yaitu histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*). Histopatologi ini dilakukan dengan melakukan pengamatan pada histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) agar mengetahui gambaran ginjal pada ikan diinfeksi tanpa pengobatan dan ginjal pada ikan yang diberi pengobatan dengan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*), kemudian dilakukan skoring kerusakan histopatologi ginjal. Menurut Raza'i (2008), perhitungan kerusakan dihitung dengan rumus:

$$\text{Presentase kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

Setelah itu, persentase yang telah didapat diberi skoring dari 1 sampai 4. Pada angka 1 (ringan) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 0-5%, angka 2 (sedang) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 6-25%, angka 3 (berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 26-50% dan angka 4 (sangat berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan lebih dari 50%.

#### 3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati pada saat penelitian dilakukan adalah meliputi :

- Suhu diukur dengan menggunakan thermometer

- Ph diukur dengan menggunakan pH meter
- Oksigen terlarut diukur dengan menggunakan DO meter
- Perhitungan Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) digunakan untuk menunjukkan tingkat kelulushidupan ikan yang diuji dengan membandingkan antara jumlah ikan yang diuji pada awal dengan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian. Besar kecilnya kelulushidupan dipengaruhi oleh faktor internal yang meliputi jenis kelamin, keturunan, umur, reproduksi, ketahanan terhadap penyakit dan faktor eksternal meliputi kualitas air dan padat penebaran. Kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus Simatupang, *et al.* (2017) sebagai berikut :

$$SR = \frac{Nt}{N0} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Kelulushidupan (%)

Nt = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (akhir)

N0 = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)

### 3.7 Analisis Data

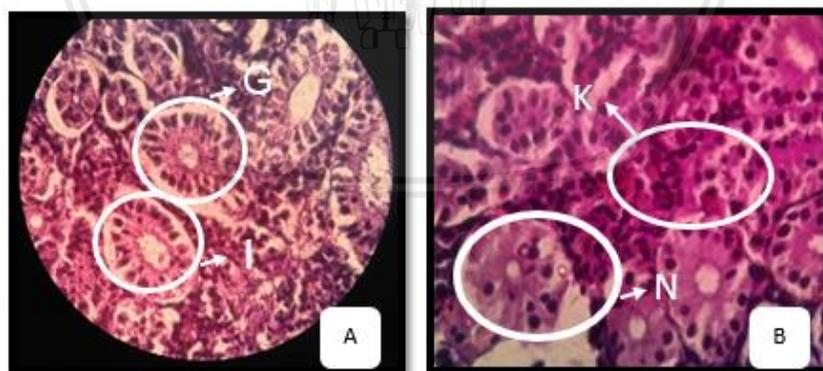
Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisis secara statistika dengan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) dengan metode yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) dan 99% ( $\alpha = 0,01$ ). Hal ini digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter ukur (uji F atau sidik ragam). Jika data sidik ragam memperlihatkan pengaruh berbeda nyata maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilakukan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar dua perlakuan, maka dilakukan uji polynomial orthogonal.

## 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Histopatologi Ginjal

#### 4.1.1 Gambar Ginjal Ikan yang Normal dan Terinfeksi Bakteri *A. hydrophilla*

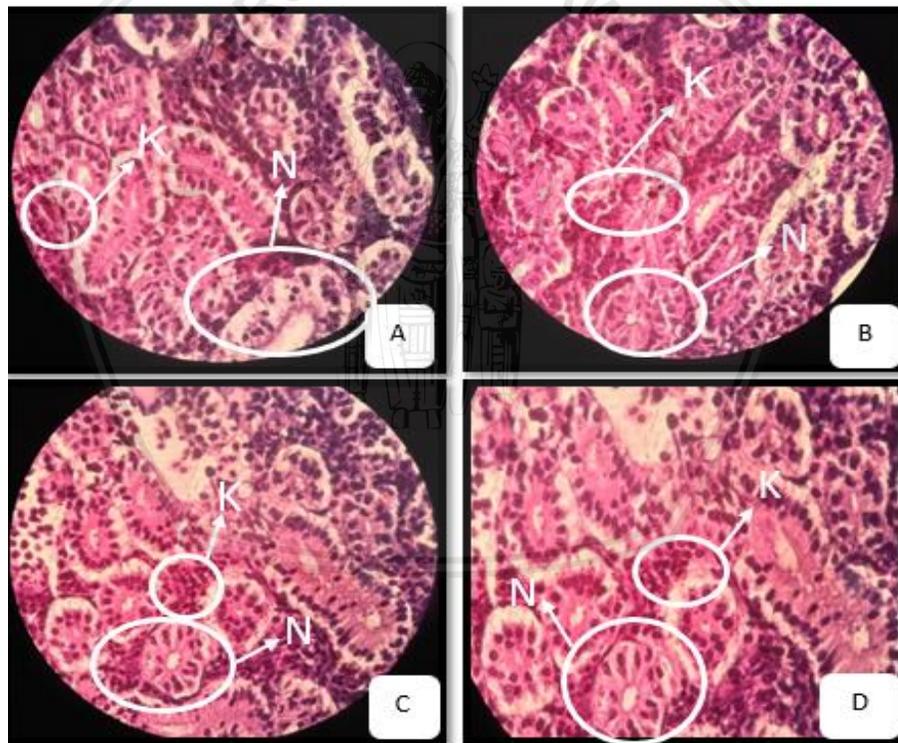
Hasil penelitian didapatkan gambar jaringan ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang sehat menunjukkan tidak ada kerusakan sebelum di infeksi bakteri *A. hydrophilla*, dengan ditandai *glomerulus* yang masih berbentuk sempurna serta inti sel yang masih ada, ginjal ikan yang sehat dapat di lihat pada Gambar 11 (A). Sedangkan jaringan ginjal ikan dengan perlakuan kontrol negatif yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan tanpa pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) terlihat adanya kerusakan pada jaringan ginjal berupa kongesti dan nekrosis, hal ini dilihat dari bentuk glomerulus yang tidak beraturan, inti sel menghilang serta terjadi pembengkakan pada sel jaringan. Ginjal ikan dengan perlakuan control negatif yang terinfeksi bakteri tanpa pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) dapat dilihat pada Gambar 11 (B).



**Gambar 11.** Gambar histopatologi ginjal ikan sehat dan ikan sakit , (A) Histopatologi ginjal ikan sehat (G) Glomerulus dan (I) Inti Sel, (B) Hisopatologi Ginjal yang Terinfeksi *A. hydrophilla*, (K) Kongesti dan (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan pembesaran 400x dengan pewarnaan HE.

#### 4.1.2 Gambaran Histopatologi Ginjal pada Sampel Perlakuan

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada perendaman ikan koi (*C. carpio*) dengan pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophilla* dengan pemberian dosis yang berbeda. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari 4 macam dosis perlakuan diantaranya, perlakuan A dengan pemberian dosis 10 ppm, perlakuan B dengan pemberian dosis 30 ppm, perlakuan C dengan pemberian dosis 50 ppm dan perlakuan D dengan pemberian dosis sebesar 70 ppm. Pemeliharaan dilakukan selama 7 hari. Gambar jaringan ginjal pada sampel perlakuan disajikan pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Hasil Histopatologi Ginjal, (A) Dosis 10 ppm, (B) Dosis 30 ppm, (C) Dosis 50 ppm dan (D) Dosis 70 ppm. Gejala kerusakan timbul (K) Kongesti dan (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan pembesarn 400x dengan pewarnaa HE.

Berdasarkan Gambar 12 perlakuan A, B, C, dan D dengan dosis ekstrak berturut-turut yakni 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm, rata-rata mengalami kerusakan ginjal yaitu kongesti dan nekrosis. Penambahan dosis ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) dapat ditunjukkan melalui nilai skoring kerusakan pada jaringan ginjal yang dapat dilihat pada Lampiran 11. Kemudian dilakukan Uji RAL (Rancangan Acak Lengkap) yang disajikan pada Lampiran 12.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) mengandung bahan aktif yang bersifat polar yaitu flavonoid dan tannin, salah satu zat yang terkandung dalam mangrove yang dapat menghambat perkembangan bakteri yaitu flavonoid. Mekanisme kerja senyawa-senyawa fenol termasuk flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel. Penghambat, perusakan dinding dan membran sel ini dapat dilakukan karena terbentuknya ikatan-ikatan hidrogen antara bahan aktif yang bersifat hidrofobik sehingga mengganggu integrasi dinding dan membran sel bakteri (Ibrahim, *et al.*, 2013). Saputra dan Anggraini *et al.* (2016) menyatakan, senyawa tannin merupakan senyawa turunan fenol yang secara umum mekanisme antimikrobanya dari senyawa fenol. Tannin merupakan *growth inhibitor*, sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh tannin. Tannin mempunyai target pada polipeptida dinding sel. Senyawa-senyawa yang terkandung merupakan zat kimia dalam tanaman yang memiliki kemampuan menghambat sintesis dinding sel bakteri dan sintesis protein sel kuman gram positif maupun gram negatif. Keaktifan dari golongan senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antiradikal bebas, anti bakteri ditentukan oleh adanya gugus fungsi –OH (hidroksi) bebas dan ikatan rangkap karbon-karbon, seperti flavon, flavonon, b-karoten dan vitamin c (Asih, *et al.*, 2010).

Analisis data kerusakan pada histopatologi jaringan ginjal yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* yang direndam dalam ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) adalah sebagai berikut:

a. Kongesti

Kongesti adalah kondisi adanya penggumpalan darah (eriterosit) pada organ tubuh. Kongesti juga terjadi pada ginjal yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi. Kongesti terjadi ditandai dengan munculnya warna merah pada sel, hal ini terjadi karena adanya peningkatan darah yang menggumpal didalam pembuluh darah (Parameswari, *et al.* 2013). Pada Gambar 12 pada perlakuan A dapat dilihat terjadi penggumpalan darah yang besar pada sel dan berjumlah banyak, kemudian pada perlakuan B penggumpalan darah lebih kecil dan jumlah gumpalan hampir sama dengan perlakuan A, untuk perlakuan C didapatkan bahwa gumpalan darah di sel lebih kecil dan jumlahnya lebih sedikit dibandingkan perlakuan A dan B. Sedangkan pada perlakuan D terlihat bahwa gumpalan merah yang ada di sel semakin mengecil dan jumlahnya jauh berkurang dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan diberikan ekstrak daun mangrove (*A. marina*) diperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat kongesti yang terjadi pada ginjal ikan koi (*C. carpio*) dengan data yang didapatkan saat skoring. Adapun hasil skoring kongesti disajikan pada Lampiran 11. Kemudian setelah skoring dilakukan data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data perhitungan kerusakan ginjal kongesti dapat dilihat pada Lampiran 12. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring kongesti disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Rerata Skoring Ginjal Penelitian Pengamatan Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	1.80	1.80	1.60	5.20	1.73	±0.06
B (30 ppm)	1.40	1.60	1.60	4.60	1.53	±0.06
C (50 ppm)	1.40	1.40	1.20	4.00	1.33	±0.06
D (70 ppm)	1.20	1.40	1.20	3.80	1.27	±0.06

Dosis yang digunakan ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap kongesti pada ginjal ikan koi (*C. carpio*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Ginjal

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0.40	0.1333	10.00*	4.07
Acak	8	0.11	0.0133		
Total	11	0.51			

Keterangan: (\*) = berbeda nyata

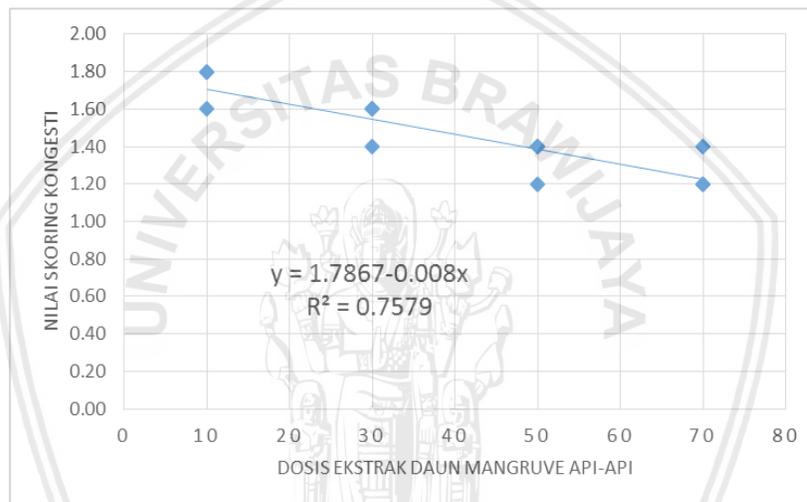
Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap kongesti pada histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Perbedaan setiap perlakuan dapat dilihat dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkencil) seperti yang disajikan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Uji BNT Kongesti Jaringan Ginjal

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.73	1.53	1.33	1.27	
A	1.73	-	-	-	-	a
B	1.53	0.20 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
C	1.33	0.40*	0.20 <sup>ns</sup>	-	-	ab
D	1.27	0.47*	0.27*	0.06 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 6 uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dapat diketahui perlakuan terbaik dari 4 perlakuan tersebut adalah perlakuan D. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan dengan dosis 70 ppm dengan notasi (b) diikuti dengan perlakuan C dengan dosis 50 ppm dengan notasi (ab) diikuti dengan perlakuan B dengan dosis 30 ppm dengan notasi (a) kemudian diikuti dengan perlakuan A dengan dosis 10 ppm dengan notasi (a). Adapun grafik hubungan dosis ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) dengan nilai skoring sel disajikan pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Mangrove dengan Nilai Skoring Kongesti pada Ginjal

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, sehinggah semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan hasil persamaan yaitu  $y=1.7867-0.008x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 75% sumbu y dipengaruhi sumbu x. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal.

b. Nekrosis

Nekrosis merupakan kerusakan sel yang terjadi dengan ditandai inti sel memudar, mengecil maupun menjadi besar serta bentuk selnya tidak beraturan. Perubahan histopatologi pada ginjal dapat mengganggu fungsi ginjal dalam pembersihan bahan kimia dalam darah (Supriyono, *et al.* 2013). Nekrosis merupakan kematian sel jaringan, perubahan inti sel, inti tampak lebih padat serta warna inti gelap (piknosis). Nekrosis yang terdapat pada penelitian ini berupa nekrosis koagulatif, di tandai dengan sel sel protoplasma yang padat dan terfiksasi dan masih bisa diamati menggunakan mikroskop (Adinata *et al.* 2012). Pada Gambar 10 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi nekrosis koagulatif terlihat banyak inti sel yang memudar dan ada juga bentuk sel yang tidak beraturan, sedangkan pada perlakuan B inti sel sudah mulai terlihat jelas dan bentuk sel mulai beraturan, pada perlakuan C inti sel dan bentuk sel terlihat normal dan perlakuan D inti sel dan bentuk sel juga terlihat normal seperti perlakuan C, lebih baik baik dibandingkan dengan perlakuan A dan B.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* dan diberikan ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat nekrosis yang terjadi pada ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang diperoleh dari data skoring. Adapun hasil skoring Nekrosis disajikan pada Lampiran 11. Setelah dilakukan skoring kemudian data diolah menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan nekrosis disajikan pada Lampiran 12. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring Nekrosis pada jaringan ginjal ikan koi (*C. carpio*) dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Rerata Nilai Skoring Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2.00	2.20	2.20	6.40	2.13	±0.06
B (30 ppm)	1.80	1.60	1.60	5.00	1.67	±0.06
C (50 ppm)	1.40	1.60	1.60	4.60	1.53	±0.06
D (70 ppm)	1.60	1.40	1.40	4.40	1.47	±0.06

Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh dosis pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) terhadap kongesti pada ginjal ikan koi (*C. carpio*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Nekrosis Jaringan Ginjal

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0.8133	0.2711	20.33*	4.07
Acak	8	0.1067	0.0133	-	-
Total	11	0.9200			

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

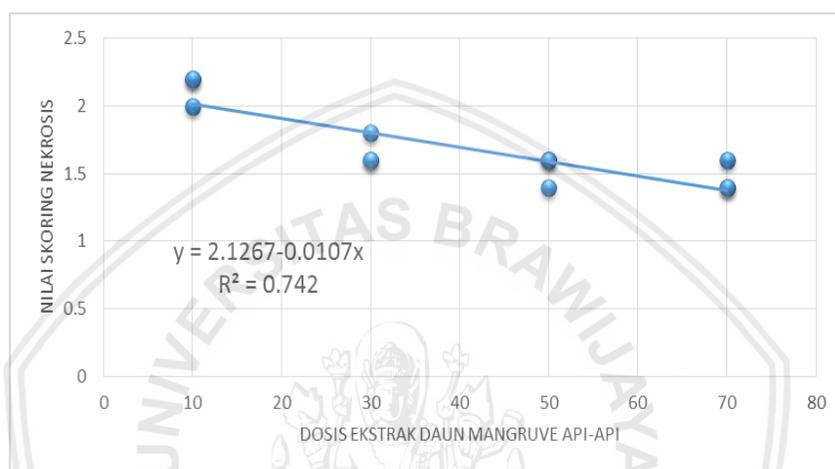
Pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa hasil uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap nekrosis pada histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Perbedaan setiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Uji BNT Hasil Penelitian Nekrosis Ginjal

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2.13	1.67	1.53	1.47	
A	2.13	-	-	-	-	a
B	1.67	0.46*	-	-	-	b
C	1.53	0.60*	0.14 <sup>ns</sup>	-	-	b
D	1.47	0.66*	0.20 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 9 didapatkan hasil uji bahwa perlakuan D dengan dosis 70 ppm dengan notasi (b) diikuti dengan perlakuan C dengan dosis 50 ppm dengan notasi (b) diikuti dengan perlakuan B dengan dosis 30 ppm dengan notasi (b) kemudian diikuti dengan perlakuan A dengan dosis 10 ppm dengan notasi (a). Adapun grafik hubungan dosis ekstrak daun mangrove api-api (*A. marina*) dengan nilai skoring sel disajikan pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Mangrove dengan Nilai Skoring Nekrosis pada Ginjal

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai skoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan hasil persamaan yaitu  $y=2.1267-0.0107x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 74% sumbu y dipengaruhi sumbu x. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal.

#### 4.2 Analisis Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Pada hasil penelitian diperoleh hasil kisaran kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yaitu 60% sampai dengan 100%. Setelah didapatkan data kelulushidupan

maka dilakukan uji normalitas yang disajikan pada Lampiran 14. Adapun perhitungan kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 15. Terjadinya kematian pada ikan koi (*C. carpio*) disebabkan karena bakteri *A. hydrophila* yang merupakan bakteri patogen. Menurut Taufik dan Saparinto (2008), *A. hydrophila* termasuk bakteri gram negatif. Bakteri *A. hydrophila* bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik sehingga mengakibatkan kematian pada ikan. Data kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) disajikan pada Tabel 10.

**Tabel 10.** Data Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Jumlah awal ikan uji (ekor)	Jumlah ikan mati (ekor)	Jumlah akhir ikan uji (ekor)	Kelulushidupan ikan (%)
A1	5	2	3	60
A2	5	2	3	60
A3	5	2	3	60
B1	5	1	4	80
B2	5	2	3	60
B3	5	1	4	80
C1	5	1	4	80
C2	5	0	5	100
C3	5	1	4	80
D1	5	0	5	100
D2	5	0	5	100
D3	5	1	4	80

Data kelulushidupan ikan yang didapat berada pada kisaran 60% sampai 100%, data yang didapatkan kemudian dihitung jumlah total, rerata dan nilai STD. Perhitungannya dapat dilihat pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
<b>A</b>	60	60	60	180	60.00	±0.00
<b>B</b>	80	60	80	220	73.33	±6.66
<b>C</b>	80	100	80	260	86.67	±6.66
<b>D</b>	100	100	80	280	93.33	±6.66

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 12.

**Tabel 12.** Sumber Keragaman Kelulushidupan

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966.667	655.555	6.555*	4.07
Acak	8	800	100		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>2766.667</b>			

Keterangan: (\*) = berbeda nyata

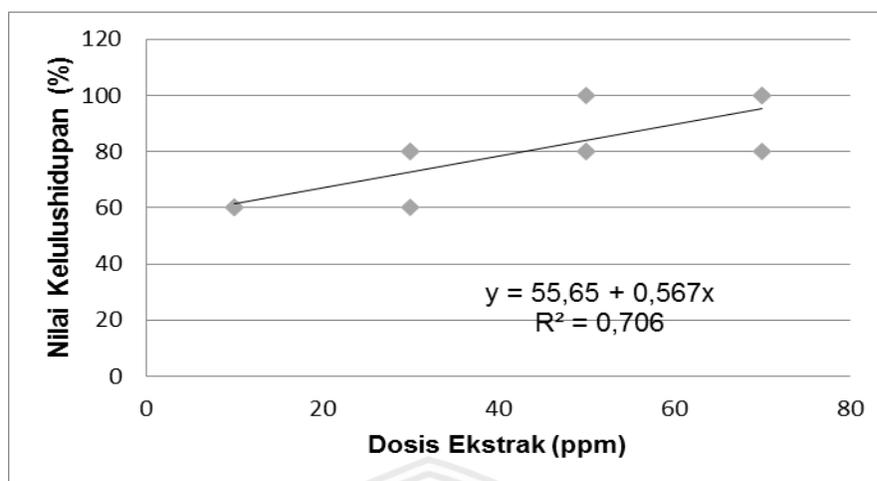
Pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap Kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*). Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada Tabel 13.

**Tabel 13.** Uji BNT Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		60.00	73.33	86.67	93.33	
A	60.00	-	-	-	-	a
B	73.33	13,33 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
C	86.67	26,67 <sup>*</sup>	13,34 <sup>ns</sup>	-	-	ab
D	93.33	33,33 <sup>*</sup>	20 <sup>*</sup>	6,66 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 13 menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 70 ppm dengan notasi b adalah perlakuan terbaik diikuti perlakuan C dengan dosis 50 ppm dengan notasi ab diikuti perlakuan B dan A dengan dosis 30 dan 10 ppm dengan notasi a. Adapun hubungan antara dosis ekstrak mangrove dan nilai kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) disajikan pada Gambar 15.



**Gambar 15.** Grafik Hubungan Dosis Ekstrak Mangrove dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Pada Grafik dimana didapatkan persamaan  $y = 55,65 + 0,567x$  dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0,706 menunjukkan bahwa dosis yang digunakan berpengaruh terhadap persentase kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) sebesar 69,64%. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal. Semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yang diberikan maka semakin tinggi nilai kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*). Dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan dapat mengurangi kematian ikan koi (*C. carpio*).

Hubungan antara kelulushidupan dengan histopatologi yaitu dimana semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi pula nilai kelulushidupannya. Menurut Roslizawaty *et al.* (2013), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri, maka semakin tinggi kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuan suatu bahan untuk membunuh bakteri semakin besar. Hal ini membuat bakteri tidak bias berkembangbiak dan mati.

### 4.3 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor penting yang diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Hal tersebut dikarenakan kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Beberapa kualitas air yang diukur dalam penelitian ini antara lain suhu, pH dan DO. Adapun hasil pengukuran kualitas air pada saat penelitian selama 7 hari disajikan pada Lampiran 13, sedangkan hasil kisaran pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 14.

**Tabel 14.** Kisaran Parameter Kualitas Air

No.	Parameter Kualitas Air	Hasil Pengamatan Kualitas Air	Kisaran Kualitas Air
1.	Oksigen Terlarut	5,70-10,90 ppm	>5 ppm ( Ulfiana, <i>et al.</i> 2012)
2.	Suhu	24,50-28,70°C	15-30 °C ( Sholicin, <i>et al.</i> , 2013)
3.	pH	6,26-8,50	6,5-8,5 (Sulmartiwi, <i>et al.</i> , 2013)

#### a. Oksigen Terlarut (DO)

Hasil penelitian kualitas air pada oksigen terlarut (DO) yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 10,90 ppm sedangkan hasil nilai terendah yaitu 5,70 ppm. Nilai oksigen terlarut (DO) di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai pernyataan Ulfiana, *et al.* (2012) bahwa oksigen terlarut di perairan kolam budidaya adalah >5 mg/l. Nilai oksigen terlarut tersebut dapat dikatakan jenuh karena nilai oksigen terlarut minimum yang bisa ditoleransi oleh ikan koi adalah 5 mg/l. lingkungan yang kadar DO lebih dari 5 mg/liter membuat ikan koi tumbuh optimal, sehingga apabila kurang dari 5 mg/liter maka pertumbuhan koi akan terhambat. DO dapat meningkat jika air mengalami difusi secara langsung dengan udara, DO juga dapat berkurang apabila tidak ada kontak langsung antara air dengan udara.

**b. Suhu**

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 28,70°C dan terendah yaitu 24,50°C. Nilai suhu di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai pernyataan Solichin, *et al.* (2013), menyatakan bahwa ikan koi dapat hidup pada kisaran suhu 15-30°C, oleh sebab itu ikan Koi dapat di pelihara di seluruh Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Suhu ideal untuk pertumbuhan ikan Koi adalah 25-30°C.

**c. pH**

Hasil penelitian kualitas air pada pH yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 8,50 sedangkan hasil nilai terendah yaitu 6,26. Nilai pH di media pemeliharaan adalah normal untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai pendapat Sulmartiwi, *et al.* (2013), bahwa pH optimal untuk kehidupan ikan koi yaitu berkisar antara 6,5–8,5. pH ini termasuk bisa ditoleris oleh ikan koi, sehingga ikan tidak mati.

**4.4 Gejala Klinis pada Ikan Koi (*C. carpio*)**

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil pada saat ikan dilakukan perendaman ke dalam air toples yang berisi bakteri *A. hydrophilla* dengan kepadatan bakteri yaitu  $10^7$  sel/ml. Waktu penginfeksi dilakukan selama 24 jam, kemudian dilakukan dengan melakukan perendaman menggunakan ekstrak kasar *A. marina* selama 48 jam. Setelah proses perendaman dilakukan, selanjutnya dilakukan proses pemeliharaan selama 7 hari, dengan dilakukan pembedahan organ dalam ikan koi (*C. carpio*). Waktu dilakukan penginfeksi bakteri ke ikan, ikan terlihat gelisah yang selalu berada di atas permukaan air. Selain itu juga ikan berenang tidak beraturan yang sering menabrak dinding toples, perut membesar

dan insang memudar. Ikan juga terlihat mengalami kerusakan pada bagian ekor dan sisik tubuh yang mulai mengelupas seperti yang disajikan pada Gambar 16.



**Gambar 16.** Ikan koi (*C. carpio*) yang mengalami gejala klinis akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. (A) sisik yang mulai mengelupas, (B) insang yang mulai menghitam dan timbul bercak putih, (C) perut ikan mulai kembung.

Gejala klinis ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 15.

**Tabel 15.** Gejala Klinis Ikan Koi (*C. carpio*)

Jam	Gejala Klinis
0 jam	Gejala klinis belum terlihat
3 jam	Ikan mulai diam di dasar toples
10 jam	Ikan mulai gelisah dan berenang tidak beraturan
12 jam	Ikan diam didasar toples dan menyendiri
18 jam	Sisik ikan mulai mengelupas dan terlihat mengeluarkan lendir yang berlebihan
22 jam	Perut ikan mulai membesar
24 jam	Ikan terlihat lemah, berdiam dibawah toples.

Gejala yang muncul ketika ikan terkena bakteri *A. hydrophilla* yaitu tubuh menjadi gelap, kulit kasar dan timbul pendarahan yang akan menyebabkan borok (*hemorrhage*). Kemampuan berenang ikan juga mulai menurun. Ikan juga sering megap-megap di permukaan air karena insangnya rusak sehingga menyebabkan kesulitan bernafas. Terlihat juga bagian perut agak kembung atau membengkak. Jika sudah terlalu parah maka sirip dapat rusak dan insangnya berwarna keputihan. Bagian mata juga agak menonjol keluar yang menandai ikan terkena *A. hydrophilla*

(Mudlofar *et al.*, 2013). Cara mekanisme infeksi bakteri *A. hydrophilla* yaitu pertama bakteri menyerang insang, karena insang merupakan organ pertama yang melakukan penyaringan dari benda diluar tubuh, yang kemudian bakteri *A. hydrophilla* masuk ke darah sehingga menyebar keseluruh tubuh khususnya di organ ginjal, organ ginjal pertama yang terkena penyakit yaitu glomerulus, hal ini dikarenakan fungsi glomerulus yaitu sebagai penyaring zat-zat yang masuk ketubuh, yang kemudian bakteri akan menyerang tubulus distal, di tubulus distal bakteri akan berkembang banyak, hal ini dikarenakan di tubulus distal merupakan tempat penyaringan zat-zat makanan sebelum di distribusikan ke seluruh tubuh. Selanjutnya bagian yang terkena yaitu tubulus proksimal. Tubulus proksimal merupakan tempat pengabsorpsi urin serta garam sebelum di buang melalui eksresi.

Ikan yang terkena bakteri *A. hydrophilla* sering berada dipermukaan dan didekat aerasi. Ikan mudah terkejut,serta warna tubuh pucat. Ikan yang terkena penyakit menyebabkan tubuh dipenhi lender. Bagian perut membengkak, sirip anus terdapat bintik-bintik merah. Kemudian ikan akan senang bergerombol, dengan selalu bergerak didekat aerasi. Kemudian apabila ikan sudah parah maka dapat menyebabkan kematian (Sari, *et al.*, 2012).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh terhadap pengobatan ikan yang terserang *A. hydrophila* dengan dosis yang berbeda.
2. Pada penelitian belum didapatkan hasil dosis optimal, namun didapatkan dosis terbaik pada penelitian yaitu pada perlakuan D dengan dosis 70 ppm.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi ginjal ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* disarankan untuk melakukan pengobatan dengan dosis terbaik yaitu 70 ppm dibandingkan dosis 10 mppm, 30 ppm dan 50 ppm, namun belum didapatkan dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) untuk pengobatan ikan koi (*C. carpio*) tentang histopatologi ginjal yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, M., F. S. Mehdi, F. M. Abbasi, H. Ahmad, R. Masood, Inamullah, J. Alam, G. Jan, M. Islam, N. U. Amin, A. Majid, M. Fiaz and A. H. Shah. 2011. Efficacy of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. leaves extracts againsts some atmospheric fungi. *African Journal of Biotechnology*. **10**(52): 10790-10794.
- 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 *Edwardsiella tarda*. *Journal of Fisheries and Marine Science*. **1**(4): 31-38.
- Adinata, M. O., I. W. Sudira dan I. K. Berata. 2012. Efek ekstrak ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit (*Mus musculus*) jantan. *Buletin Veteriner Udayana*. **4**(2): 55-62.
- Anggraini, D., F. H. Taqwa dan Yulisman. 2014. Mortalitas benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) pada ketinggian dasar media gabus ampas tebu dan lama waktu pengangkutan yang berbeda. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **19**(1): 78-89.
- Asih. I. A. R. A., I. W. G. Gunawan dan N. M. D. Ariani. 2010. Isolasi dan identifikasi senyawa golongan triterpenoid dari ekstrak n-eksana daun kepuh (*Sterculia foetida* L.) serta uji aktivitas antiradikal bebas. *Jurnal Kimia*. **4**(2): 135-140.
- Budiharta, S. 2018. Surat keterangan identifikasi daun api-api (*A. marina*). Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Purwodadi.
- Cahyaningrum, D., Sarjito dan A. H. C. Haditomo. 2015. Pengaruh perendaman ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* [L.] Skeels) terhadap kelulushidupan dan histopatologi ginjal ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **4**(1): 40-46.
- Christina, Y., T. A. Tsalsabila, D. A. Ekawati, F. Amalia, R. D. Septiani dan Novitri. 2016. Analisis Statistik Efisiensi Energi Penggunaan Tungku Sekam Sebagai Bahan Bakar Alternatif Rumah Tangga. *J. Exp. Life. Science*. **5**(1): 1-5.
- Danata, R. H dan A. Yamindago. 2014. Analisis aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dari kabupaten Trenggalek dan kabupaten Pasuruan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan*. **7**(1): 12-19.
- Doyle, M. P. 1989. Foodborne Bacterial Pathogens. USA. Marcel Dekker. p 31.
- Elvin dan W. B. Priatna. 2018. Analisis pemasaran ikan koi (kasus di desa Babakan, kecamatan Ciseeng, kabupaten Bogor). *Forum Agribisnis*. **8**(1): 97-116.

- Esther, F dan H. Sipayung. 2010. Panduan Praktis Memelihara Koi. Kanisius: Yogyakarta.
- Halidah. 2014. *Avicennia marina* (Forssk.) vierh jenis mangrove yang kaya manfaat. *Info Teknis EBONI*. **11**(1): 37-44.
- Handayani, S. 2013. Kandungan Flavonoid kulit batang dan daun pohon api-api (*Avicennia marina* (Forks.)Vierh.) sebagai senyawa aktif antioksidan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor.
- Handayani, T. 2006. Biokumulasi logam berat dalam mangrove *Rhizophora mucronata* dan *Avicennia marina* di muara angke Jakarta. *J. Tek. Ling.* **7**(3): 266-270.
- Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun papaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.
- Hernawan, U.E. dan A.D Setyawan. 2003. Review: ellagitanin; biosintesis, isolasi, dan aktivitas biologi. *Biofarmasi*. **1**(1): 25-38.
- Ibrahim, A., Y. T. Adiputra, A. Setyawan dan S. Hudaidah. 2013. Potensi ekstrak kulit buah dan biji rambutan (*Nephelium lappaceum*) sebagai senyawa anti bakteri patogen pada ikan. *E- Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1**(2): 125-144.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Yogyakarta. Gajah Mada University Press. 256 hlm.
- Ismarani. 2012. Potensi senyawa tannin dalam menunjang produksi ramah lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. **3**(2): 46-55.
- Khatun, N., T. Rahman & R. Mahanta. 2016. Histopathological studies of chlorpyrifos toxicity in catfish. *Global Journal of Medical Research: Microbiology and Pathology*. **16**(3): 48-54.
- Kusriani, E., S. Cindelas dan A. B. Prasetyo. 2015. Pengembangan budidaya ikan hias Koi (*Cyprinus carpio*) lokal di balai penelitian dan pengembangan budidaya ikan hias Depok. *Media Akuakultur*. **10**(2): 71-78.
- Lestari, N. L. T. D. W., Murad dan A. Priyati. 2017. Uji performansi *rice transplanter* tipe walking Model PF48(2 ZS-4 A) di Desa Tanjung kecamatan Tanjung Kabupaten Lombok Utara-NTB. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*. **5**(2): 395-407.
- Lubis, Y. P. P., Y. Djayus, R. Leidonald. 2014. Jenis-jenis bakteri pada luka ikan Patin (*Pangasius djambal*). *Jurnal Aquacoastmarine*. **2**(1): 66-77.

- Lukistyowati, I dan Kurniasih. 2011. Kelangsunga hidup ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan di infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan*. **16**(1): 144-160.
- Lumbessy. M., J. Abidjulu, J. E. Paendong. 2013. Uji total flavonoid pada beberapa tanaman obat tradisional di desa waitina kecamatan magnolia timur kabupaten kepulauan sula provinsi Maluku utara. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. **2**(1): 50-55.
- Malinggas, F., D. H. C. Pangemanan dan N. W. Mariati. 2015. Uji daya hambat ekstrak buah mengkudu (*M. Citrifolia*, L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara *In vitro*. *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unsrat*. **4**(4): 2302-2493.
- Mandia, S., N. Marusin dan P. Santoso. 2013. Analisis histologis ginjal ikan asang (*Osteochilus hasseltii*) di Danau Maninjau dan Singkarak, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. **2**(3): 194-200.
- Mudlofar, F., E. Yurisinthae, A Santoso. 2013. Analisis usaha pembesaran ikan mas (*Cyprinus carpio*) pada keramba jaring apung di kelurahan parit mayor kecamatan pontianak timur. *Jurnal Eksos*. **9**(3): 153-175.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar dan M. U. Kurnia. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* pada ikan mas (*C. carpio*). *Jurnal Akuatika*. **4**(1): 1-9.
- Munir, T., M. Saddique, H. U. Rehman, N. Ahmad, R. U. Khan and I. Ahmad. 2016. Toxic metals analysis in zabi dam fishes collected from district Karak, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. **4**(3): 301-306.
- Nadhila, N. S. 2014. The Activity of Antibacterial Agent of Honey Againsts *Staphylococcus aureus*. *J. Majority*. **3**(7): 94-101.
- Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar Of Physics*. **2**: 76-83.
- Nitimulyo, K. H., A. Isnansetyo, Triyanto, M. Murdjani dan L. Sholichah. 2005. Efektivitas vaksin polivalen untuk pengendalian vibriosis pada kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan*. **7**(2): 95-100.
- Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophilla* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. **14**(1): 33-39.
- Papilion, U. M. dan M. Efendi. 2017. Ikan Koi. Penebar Swadaya. Jakarta. 9 Hlm.
- Parameswari, W., A. D. Sasanti dan Muslim. 2013. Populasi bakteri, histopatologi, kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan gabus (*Channa striata*)

- yang dipelihara dalam media dengan penambahan probiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. **1**(1): 76-89.
- Prasetya W, B. 2015. Panduan Praktis Pakan Ikan Konsumsi. Penebar Swadaya. Jakarta. 48 hlm.
- Raza'i, T. S. 2008. Analisis histopatologi organ insang dan usus ikan kerapu lumpur (*Epinephelus coloides*) yang diberi khamir laut (*Marine Yeast*) sebagai *Immunostimulan*. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rosidah dan W. M. Afizia. 2012. Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakterial Untuk menanggulangi serangan bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan gurame (*Osphronemus Gouramy lacepede*). *Jurnal Akuatika*. **3**(1): 19-27.
- Roslizawaty, N.Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan rebusan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. **7**(2): 91-94.
- Safratilofa. 2017. Histopatologi hati dan ginjal ikan patin (*Pangasionodon Hypopthalmus*) yang diinjeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*. *Jurnal Akuakultur Sungai dan Danau*. **2**(2): 83-88.
- Sastrosupadi, A. 1995. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. Surabaya. 224 hlm.
- Samsundari, S. 2012. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Gamma*. **1**(2): 71-83.
- Saputra, O., N. Anggraini. 2016 Khasiat belimbing wuluh (*A. bilimbi L.*) terhadap penyembuhan *Acne Vulgaris*. *Majority*. **5**(1): 76-80.
- Sari, A. H. W., Y. Risjani dan A. P. W. Marhendra. 2012. Histologi organ hepatopankreas kepiting bakau (*Scylla serata*) pada konsentrasi sublethal fenol sebagai peringatan dini (*Early warning*) toksisitas fenol di estuaria. *J.Exp. Life Sci*. **2**(1): 36-41.
- Sari., D. R, S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) terhadap kelulushidupan dan histologi ginjal ikan Lele (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri "*Edwardsiella tarda*". *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **3**(4): 126-133.
- Sari, N. P., L. Santoso Dan S. Hudaidah. 2012. Pengaruh penambahan tepung kepala udang dalam pakan terhadap pigmentasi ikan koi (*Cyprinus carpio*) jenis kohaku. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. **1**(1): 31-38.
- Sari, N. W., I. Lukistyowati, N. Aryani. 2012. Pengaruh pemberian temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus*

- carpio* L) setelah di infeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **17**(2): 43-59.
- Setyawan., A. D, K. Winarno, P. C. Purnama. 2003. Ekosistem Mangrove di Jawa: 1. Kondisi Terkini. *Biodiversitas*. **4**(2): 130-142.
- Simatupang, A., Subandiyono dan A. N. Ristiawan. 2017. Pengaruh HUFA (*High Unsaturated Fatty Acids*) pada pakan buatan dan suhu media pemeliharaan terhadap total konsumsi pakan serta pertumbuhan benih ikan Lele (*Clarias* sp.). *Journal Of Aquaculture Management And Technology*. **6**(4): 1-10.
- Siswandari, W. 2005. Nilai diagnostik pemeriksaan imunositokimia limfosit sedian apus darah tepi dibandingkan analisis kromosom pada penderita dengan dugaan sindroma fragile x. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Jurnal Biotek*. **5**(9): 119-123.
- Sholichin, A., N. Widyorini, D. S. M. Wijayanto. 2013. Pengaruh ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dengan dosis yang berbeda terhadaplepasnya suckers kutu Ikan (*Argulus* sp.) pada ikan koi (*Cyprinus carpio*). *Journal of Management of Aquatic Resources*. **2**(2): 46-53.
- Subamia, I. W., N. Meilisza dan A. Permana. 2013. Peningkatan kualitas warna kuning dan merah serta pertumbuhan benih ikan Koi melalui pengayaan tepung kepala Udang dalam pakan. *J. Ris. Akuakultur*. **8**(3): 429-438.
- Suhita, N. L. P. R. S., I. W. Sudira dan I. B. O. Winaya. 2013. Histopatologi ginjal tikus putih akibat pemberian ekstrak pegag (*Centella asiatica*) peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. **5**(1): 62-68.
- Sukardjo, S. 1984. Ekosistem mangrove. *J. Oseana*. **9**(4): 102-115.
- Sulmartiwi, L., S. Harweni, A. T. Mukti dan Rr. J. Triastuti. 2013. Pengaruh penggunaan larutan daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap kadar glukosa darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) pasca transportasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **5**(1): 73-76.
- Supriyono, E., Yosmaniar, K. Nirmala dan Sukenda. 2013. Toksisitas moluskisida niklosamida terhadap pertumbuhan dan kondisi histopatologi juwana ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Iktiologo Indonesia*. **13**(1): 77-84.
- Taufik A. dan S. Cahyo. 2008. Usaha pembesaran belut di kolam tembok, kolam jaring, kolam terpal, dan drum atau tong. Penebar Swadaya. Jakarta. 128 hlm.
- Ubaidilah, F., H. Boesono, dan Pramonowibowo. 2014. Perbedaan lama penarikan dan hasil tangkapan pada pengoperasian bubu rajungan (*Portunus* sp.) dengan rancang bangun alat penarik tali utama di Desa Betahwalang Kabupaten Demak. *Journal of Fisheries Resources Utilization Management and Technology*. **3**(2): 1-8.

- Udin dan M. Sitanggang. 2010. Merawat dan Menagkarkan Koi. Agromedia Pustaka. Jakarta. 168 hlm.
- Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat kejadian aeromonasis pada ikan koi (*Cyprinus carpio carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus koi* pada derajat infeksi yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4**(2): 169-174.
- Utama, I. A. N. S., A. A. A. Ciptojoyo dan N. N. Wiadnyana. 2014. Histopatologi insang ikan patin siam (*Pangasius hypophthalmus*) yang terinfestasi trematoda monogenea. *Media Akuakultur*. **12**(1): 35-43.
- Yuasa, K. N., M. B. Panigoro dan Kholidin. 2013. Panduan diagnosa penyakit ikan budidaya air tawar teknik diagnosa penyakit ikan budidaya air tawar di Indonesia. *International Cooperation Agency*. 75 hlm.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat Penelitian



Akuarium (200x60x80)cm<sup>2</sup>



Toples plastik 16L



Timbangan digital



Toples kaca 10L



Oven



Aerator Set



Nampan



Pipet Tetes



Bunsen



Rak Tabung Reaksi



Sprayer



Jarum Ose



Botol film



Lemari pendingin



Mikroskop



Gelas ukur



Rotary Evaporator



Spektrofotometer



Vortex mixer



Inkubator



Cover glas



Objek glass



Erlenmeyer



Seser ikan



Thermometer



Hotplate



DO meter



pH meter



Jangka Sorong



Tabung reaksi



Autoklaf



Spatula



Sectio set



Laminary Air Flow (LAF)



*Micropipet*



*Beaker glass*



*Mortal alu*



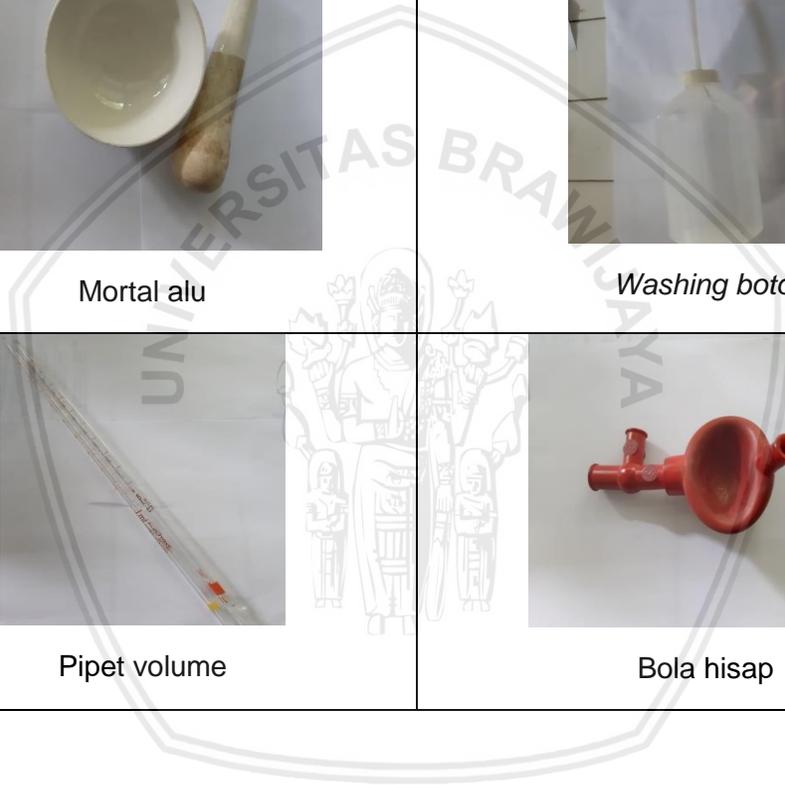
*Washing botol*



*Pipet volume*



*Bola hisap*



Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ikan koi (*C. carpio*) ukuran 8-10cm



Daun mangrove api-api (*A. marina*)



Alkohol 70%



Etanol PA



Latex



Akuades



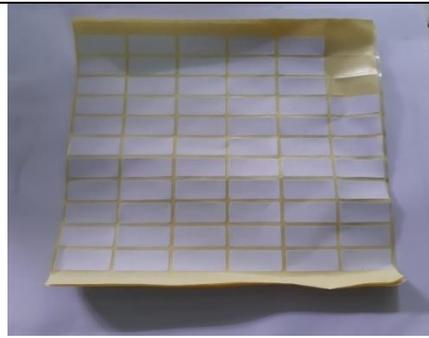
H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



Kapas



Spirtus



Kertas label



Plastic wrap



Kertas saring



Media



Bacl

Lampiran 3. Hasil Uji Identifikasi Daun Api-api (A. marina)



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)**  
**BALAI KONSERVASI TUMBUHAN**  
**KEBUN RAYA PURWODADI**  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

**No: 1499/IPH.06/HM/X/2018**

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Nyi Ageng Dwi Linggasari  
NIM : 155080507111027  
Instansi : Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya  
Tanggal material diterima : 9 Oktober 2018

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Asteridae  
Ordo : Scrophulariales  
Family : Acanthaceae  
Genus : *Avicennia*  
Species : *Avicennia marina* (Forsk) Vierh.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 614
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII
3. M.S.M.Sosef, L.T. Hong dan S.Pawirohatmodjo. 1998 (esd) PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 5 (3) ; Timber trees: Lesser-known timbers Hal.94

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 24 Oktober 2018

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



**Dr. Ageng Budiharta, M.Sc**

Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia Daun Api-Api (*A. marina*)



**DINAS KESEHATAN**  
**UPT MATERIA MEDICA BATU**  
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu  
**KOTA BATU**

65313

Nomor : 074 / 133D / 102.7 / 2018  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Program Studi
Dwi Ratih Sulistyorinie	155080507111033	Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Nyi Ageng Dwi Linggasari	155080507111027	
Hafizhah Rahmah	155080500111044	
Rendra Setiyo Agustian	155080501111049	

2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Mangrove  
Nama latin : -  
Bagian sampel : -  
Bentuk sampel : Ekstrak  
Pelarut : -  
Asal sampel : -  
Tanggal penerimaan : 05 Desember 2018  
Tanggal pemeriksaan : 06 Desember 2018

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Mangrove				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Mangrove			

Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophilla*



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU

LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA

Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418  
Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724

[www.bbpbapiepara.djpb.kkp.go.id](http://www.bbpbapiepara.djpb.kkp.go.id) ; Email: [bbpbajpr@gmail.com](mailto:bbpbajpr@gmail.com)

HASIL UJI BOKIMIA

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri  
Asal : Lab. Mikrobiologi  
Alamat : BBAPAP Jepara  
Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria  
Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H <sub>2</sub> S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab. Mikrobiologi BBPBAP Jepara

Penyelia



Sri Murni Astuti, SP.

## Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak pada Uji MIC

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu Aquades steril dan DMSO sebanyak 10%, adapun dosis yang digunakan dan perhitungannya adalah sebagai berikut:

- Perhitungan Stok Awal Ekstrak Daun *A. marina*

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= \frac{0,01 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \end{aligned}$$

Larutan stok terbuat dari 0,01 g ekstrak *A. marina* yang dilarutkan dalam 10 ml DMSO dan 90 ml aquades steril. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis ekstrak yang diinginkan.

### a. Dosis 10 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 1 \text{ ml} = 9 \text{ ml} \end{aligned}$$

### b. Dosis 30 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 30 \text{ ppm} \\ V_1 &= 3 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 3 \text{ ml} = 7 \text{ ml} \end{aligned}$$

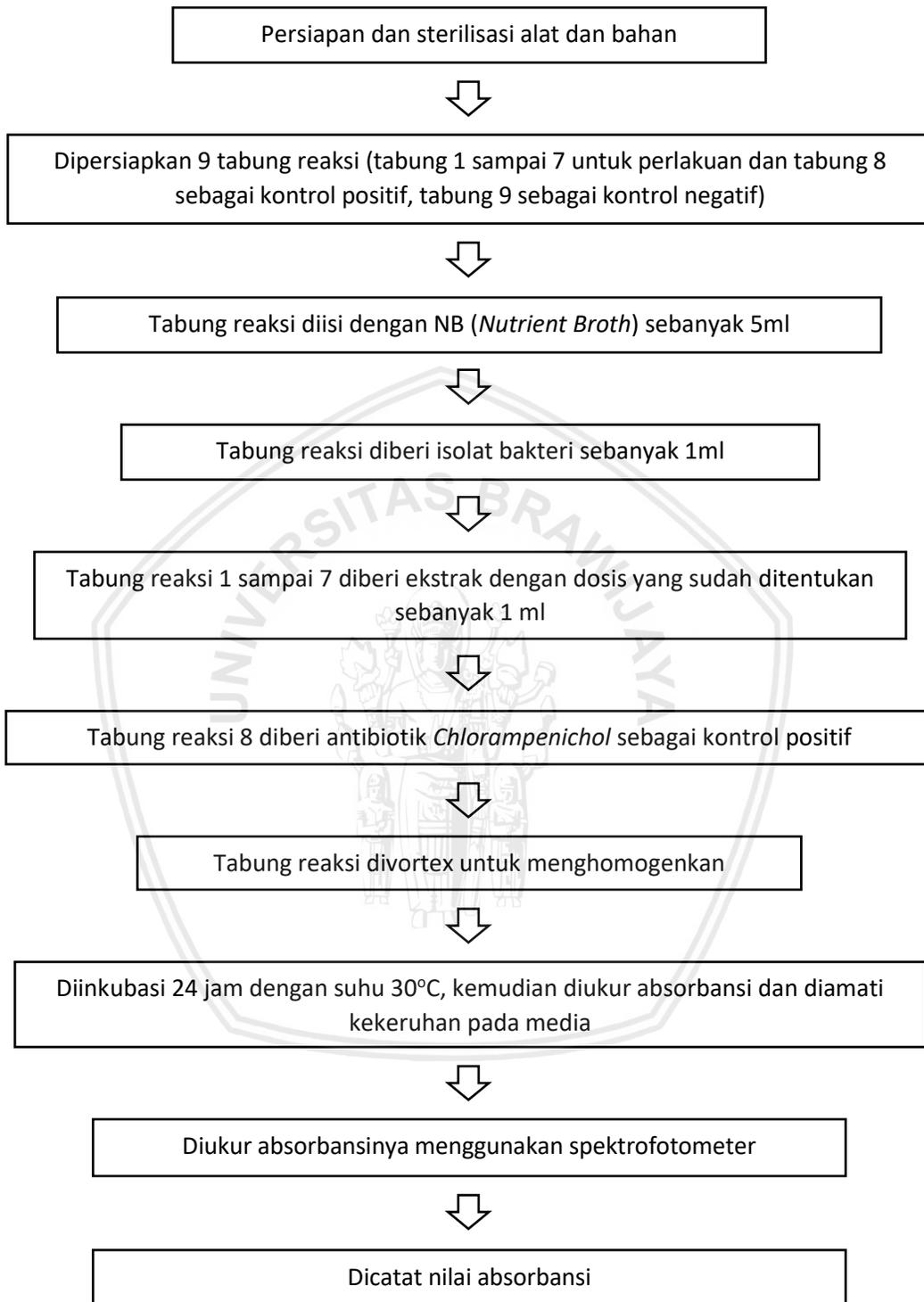
### c. Dosis 50 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm} \\ V_1 &= 5 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 5 \text{ ml} = 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

### d. Dosis 70 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 70 \text{ ppm} \\ V_1 &= 7 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 7 \text{ ml} = 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran 7. Skema Uji MIC (Minimum Inhibition Concentration)



**Lampiran 8.** Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*A. marina*)

- Kadar air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat basah}}{\text{Berat kering}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{3.000}{1.245} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = 41,5 \%$$

- Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang diperoleh}}{\text{jumlah bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{7,23}{200} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 3,615 \%$$



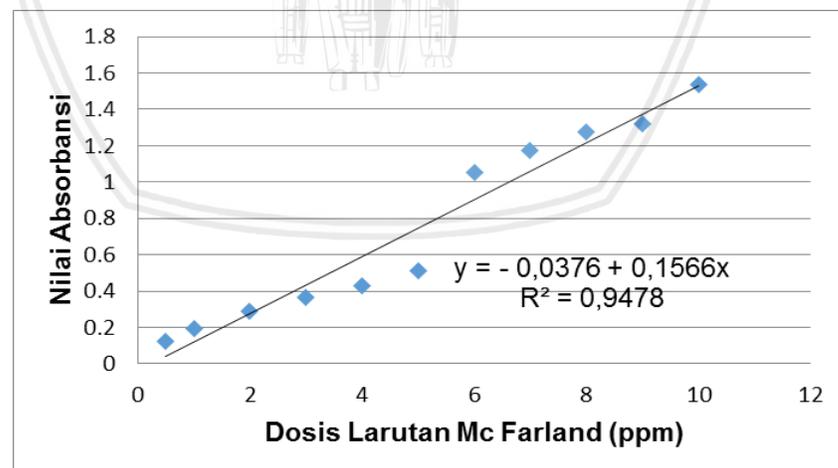
### Lampiran 9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan Mc Farland

#### a. Perhitngan kepadatan Bakteri Awal menggunakan metode Mc Farland

- Didapatkan nilai absorbansi dari larutan standar Mc Farland adalah sebagai berikut:

Mc Farland	
ppm	Absorbansi
0,5	0,123
1	0,196
2	0,290
3	0,363
4	0,427
5	0,511
6	1,055
7	1,174
8	1,277
9	1,322
10	1,538

- Kemudian data tersebut dimasukkan kedalam grafik regresi dan didapatkan rumus perhitungan yang digunakan untuk menghitung kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla*.



- Dari rumus diatas, dapat dihitung kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla*. Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

## Lampiran 9. (Lanjutan)

$$y = 0,0376 + 0,1566x$$

Uji log(ppm)	Absorbansi (y)	Mc Farland (x)	sel/ml
1000	0,400	4	$12 \times 10^8$
100	0,414	4	$12 \times 10^8$
<b>10</b>	<b>0,418</b>	<b>3</b>	<b><math>9 \times 10^8</math></b>
1	0,358	3	$9 \times 10^8$
0	0,389	4	$12 \times 10^8$
0,1	0,404	4	$12 \times 10^8$
0,01	0,467	4	$12 \times 10^8$
+	0,431	4	$12 \times 10^8$
-	0,408	4	$12 \times 10^8$

- Setelah perhitungan nilai Mc Farland diketahui, dilakukan penyetaraan suspensi bakteri dengan larutan standar Mc Farland, didapatkan hasil jumlah kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla* (sel/ml).
- Kepadatan bakteri awal yaitu disesuaikan dengan nilai dosis yang digunakan sebagai dosis minimum yang dapat menghambat bakteri, diperoleh nilai Uji log adalah 10 ppm, sehingga diketahui kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla* adalah  $12 \times 10^8$  sel/ml.

**b. Kepadatan Bakteri  $10^7$  sel/ml**

- Kepadatan bakteri yang digunakan untuk penginfeksi adalah  $10^7$ .
- Untuk mendapatkan kepadatan  $10^7$ , dilakukan pembuatan bakteri induk dengan cara menanam bakteri pada media NB dengan volume 1000 ml, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam, kemudian bakteri induk dihitung nilai absorbansi dengan menggunakan *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.

- Hasil absorbansi kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan pada grafik untuk mendapatkan jumlah kepadatan bakteri induk.
- Didapatkan hasil kepadatan awal bakteri induk adalah  $9 \times 10^8$  sel/ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan rumus :

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

Keterangan :

$N_1$  : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)  
 $N_2$  : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)  
 $V_1$  : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan  
 $V_2$  : Volume yang diinginkan

- Perhitungan untuk mendapatkan kepadatan bakteri  $10^7$  adalah sebagai berikut:

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

$$V_1 \times 9 \times 10^8 = 10000 \times 10^7$$

$$9 \times 10^8 V_1 = 1 \times 10^{11}$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{9 \times 10^8}$$

$$V_1 = 111 \text{ ml}$$

- Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 111 ml tiap toples perlakuan.

**Lampiran 10.** Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Mangrove Api-Api (*A. marina*) untuk Pengobatan Ikan Koi (*C. carpio*)

Volume toples yang digunakan adalah 10.000 ml, adapun perhitungan dosis ekstrak *A. marina* adalah sebagai berikut:

a. Dosis 10 ppm

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 10 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

b. Dosis 30 ppm

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 30 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

c. Dosis 50 ppm

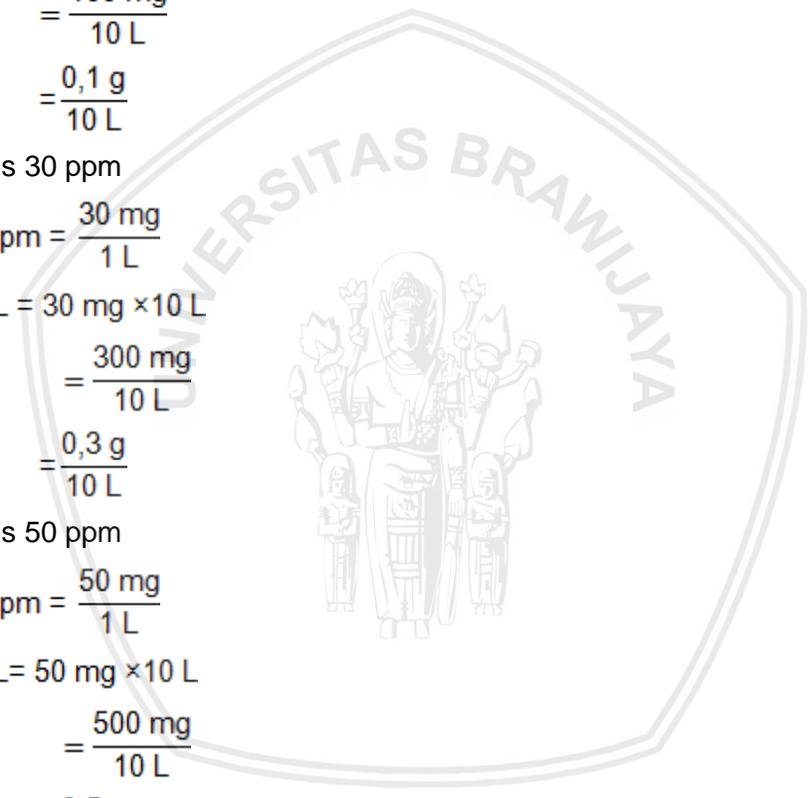
$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 50 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{500 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,5 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

d. Dosis 70 ppm

$$70 \text{ ppm} = \frac{70 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 70 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{700 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$



**Lampiran 10.** Lanjutan

$$= \frac{0,7 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

e. Dosis antibiotik *Chloramphenicol* 30 ppm (Kontrol positif)

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

– 10 L = 30 mg × 10 L

$$= \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

**Lampiran 11.** Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Koi (*C. carpio*)

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Kongesti	A (10 ppm)	1	1	2	1	2	3	1.80	1.73
		2	1	2	3	1	2	1.80	
		3	1	2	2	1	2	1.60	
	B (30 ppm)	1	2	1	1	2	1	1.40	1.53
		2	1	3	2	1	1	1.60	
		3	2	2	1	2	1	1.60	
	C (50 ppm)	1	1	2	2	1	1	1.40	1.33
		2	1	2	1	2	1	1.40	
		3	1	1	2	1	1	1.20	
	D (70 ppm)	1	1	2	1	2	1	1.20	1.27
		2	1	1	1	2	2	1.40	
		3	1	2	1	1	1	1.20	

Lampiran 11. (Lanjutan)

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
Nekrosis	A (10 ppm)	1	2	1	2	2	3	2.00	2.13
		2	3	2	3	1	2	2.20	
		3	2	3	2	2	2	2.20	
	B (30 ppm)	1	2	1	2	3	1	1.80	1.67
		2	3	2	1	1	1	1.60	
		3	2	1	2	1	2	1.60	
	C (50 ppm)	1	2	2	1	1	1	1.40	1.53
		2	2	2	1	2	1	1.60	
		3	2	2	2	1	1	1.60	
	D (70 ppm)	1	2	2	2	1	1	1.60	1.47
		2	2	1	1	1	2	1.40	
		3	1	2	2	1	1	1.40	

Lampiran 12. Perhitungan Kerusakan Jaringan Ginjal Ikan Koi (*C. carpio*)

a. Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	1.80	1.80	1.60	5.20	1.73	±0.06
B (30 ppm)	1.40	1.60	1.60	4.60	1.53	±0.06
C (50 ppm)	1.40	1.40	1.20	4.00	1.33	±0.06
D (70 ppm)	1.20	1.40	1.20	3.80	1.27	±0.06
				17.60		

• Perhitungan Sidik Ragam

– Faktor Koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{17,60^2}{12}$$

$$= 25.81$$

– JK Total =  $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$

$$= (1.80^2 + 1.80^2 + \dots + 1.20^2) - 25.81$$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

$$= 26.32 - 25.81$$

$$= 0.51$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)}{r} - FK \\ &= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK \\ &= \frac{5.20^2 + 4.60^2 + 4.00^2 + 3.80^2}{3} - 25.81 \\ &= 0.40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0.51 - 0.40 \\ &= 0.11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (n \times r) - 1 \\ &= (4 \times 3) - 1 \\ &= 11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Perlakuan} &= n - 1 \\ &= 4 - 1 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Acak} &= n \times (r - 1) \\ &= 4 \times (3 - 1) \\ &= 8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{0.40}{3} \\ &= 0.1333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Acak (KTA)} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\ &= \frac{0.11}{8} \\ &= 0.0133 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{0.1333}{0.0133} \\ &= 10.00 \end{aligned}$$

**Lampiran 12. Lanjutan**

• **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0.40	0.13	10.00**	4.07
Acak	8	0.11	0.01		
Total	11	0.51			

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

Karena nilai F hitung > F 5%, maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

• **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0.01}{3}} \\
 &= 0.0943
 \end{aligned}$$

– BNT 5% = T tabel 5% (dB Acak) x SED

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= 2,306 \times 0.0943 \\
 &= 0.22
 \end{aligned}$$

• **Tabel BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.73	1.53	1.33	1.27	
A	1.73	-	-	-	-	a
B	1.53	0.20 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
C	1.33	0.40*	0.20 <sup>ns</sup>	-	-	ab
D	1.27	0.47*	0.27*	0.06 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C kemudian diikuti oleh perlakuan B dan A.

Lampiran 12. Lanjutan

• Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	5.2	-3	1	-1
B	4.6	-1	-1	3
C	4.0	1	-1	-3
D	3.8	3	1	1
<b>Q= Σ(ci*Ti)</b>		-4.8	0.4	0.4
<b>Hasil Kuadrat Kr= (Σci^2)*r</b>		20	4	20
<b>JK=Q^2/Kr</b>		60	12	60
		0.38400	0.01333	0.00267

– JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik + JK Kubik

$$= 0.38400 + 0.01333 + 0.00267$$

$$= 0.40000$$

• Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0.4000	0.1333	10.00*	4.07
Linier	1	0.3840	0.3840	28.80*	
Kuadratik	1	0.0133	0.0133	1.0 <sup>ns</sup>	
Kubik	1	0.0027	0.0027	0.20 <sup>ns</sup>	
Acak	8	0.1067	0.0133		
Total	11	0.5067			

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung R<sup>2</sup> masing-masing regresi tersebut:

– 
$$R^2 \text{ linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}}$$

## Lampiran 12. Lanjutan

$$= \frac{0.3840}{0.3840+0,1067}$$

$$= 0.7826$$

$$- R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0.0133}{0.0133+0,1067}$$

$$= 0.1111$$

$$- R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0.0027}{0.0027+0,1067}$$

$$= 0.0244$$

Hasil perhitungan  $R^2$  diatas menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadrat dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata skoring sebagai sumbu y.

Tabel Sumbu x dan y

Perlakuan	X	Y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	10	1.80	18	100
A2	10	1.80	18	100
A3	10	1.60	16	100
B1	30	1.40	42	900
B2	30	1.60	48	900
B3	30	1.60	48	900
C1	50	1.40	70	2500
C2	50	1.40	70	2500
C3	50	1.20	60	2500
D1	70	1.20	84	4900
D2	70	1.40	98	4900
D3	70	1.20	84	4900
Total	480	17.60	656	25200

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n})} = -0.0008$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \frac{\sum x}{n}) = 1.7867$$

Berdasarkan perhitungan b0 dan b1, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 1.7867 - 0.0008x$

**b. Nekrosis**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2.00	2.20	2.20	6.40	2.13	±0.06
B (30 ppm)	1.80	1.60	1.60	5.00	1.67	±0.06
C (50 ppm)	1.40	1.60	1.60	4.60	1.53	±0.06
D (70 ppm)	1.60	1.40	1.40	4.40	1.47	±0.06
				20.40		

• **Perhitungan Sidik Ragam**

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

$$= \frac{20.40^2}{12}$$

$$= 34.68$$

$$- \quad \text{JK Total} = (A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - \text{FK}$$

$$= (2.00^2 + 2.20^2 + \dots + 1.40^2) - 34.68$$

$$= 35.60 - 34.68$$

$$= 0.92$$

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

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

$$= \frac{6.40^2 + 5.00^2 + 4.60^2 + 4.40^2}{3} - 34.68$$

$$= 0.8133$$

$$- \quad \text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 0.92 - 0.8133$$

$$= 0.1067$$

**Lampiran 12. Lanjutan**

- Derajat Bebas (dB) Total =  $(n \times r) - 1$   
 $= (4 \times 3) - 1$   
 $= 11$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$   
 $= 4 - 1$   
 $= 3$
- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$   
 $= 4 \times (3 - 1)$   
 $= 8$
- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) =  $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$   
 $= \frac{0.8133}{3}$   
 $= 0.2711$
- Kuadrat Tengah Acak (KTA) =  $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$   
 $= \frac{0.1067}{8}$   
 $= 0.0133$
- F Hitung =  $\frac{KTP}{KTA}$   
 $= \frac{0.2711}{0.0133}$   
 $= 20.33$

• **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0.81	0.27	20.33*	4.07
Acak	8	0.11	0.01		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>0.92</b>			

Keterangan : ( \*) = Berbeda nyata

Karena nilai F hitung > F 5%, maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

Lampiran 12. Lanjutan

Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0.01}{3}} \\
 &= 0.0943
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT } 5\% &= T \text{ tabel } 5\% (\text{dB Acak}) \times \text{ SED} \\
 &= 2.306 \times 0.0943 \\
 &= 0.2174
 \end{aligned}$$

• **Tabel BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2.13	1.67	1.53	1.47	
A	2.13	-	-	-	-	a
B	1.67	0.46*	-	-	-	b
C	1.53	0.60*	0.14 <sup>ns</sup>	-	-	b
D	1.47	0.66*	0.20 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
 (\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan C diikuti oleh perlakuan B kemudian diikuti oleh perlakuan A.

**Lampiran 12. Lanjutan**

• **Tabel *Polynomial Orthogonal***

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6.40	-3	1	-1
B	5.00	-1	-1	3
C	4.60	1	-1	-3
D	4.40	3	1	1
Q= $\sum(c_i \cdot T_i)$		-6.4	1.2	-0.8
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK= $Q^2 / Kr$		0.68	0.12	0.01

– JK Regresi Total = JK Linier + JK Kuadratik + JK Kubik  
 $= 0.68 + 0.12 + 0.01$   
 $= 0.81$

• **Analisis Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F 5%
<b>Perlakuan</b>	3	0.8133	0.2711	20.33*	4.07
<b>Linier</b>	1	0.6827	0.6827	51.2000*	
<b>Kuadratik</b>	1	0.1200	0.1200	9.0000*	
<b>Kubik</b>	1	0.0107	0.0107	0.8000 <sup>ns</sup>	
<b>Acak</b>	8	0.1067	0.0133		
<b>Total</b>	11	0.9200			

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
 (\*) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung  $R^2$  masing-masing regresi tersebut:

–  $R^2 \text{ linier} = \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}}$

**Lampiran 12. Lanjutan**

$$= \frac{0.6827}{0.6827 + 0.1067}$$

$$= 0.8649$$

$$- R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0.1200}{0.1200 + 0.1067}$$

$$= 0.5294$$

$$- R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}}$$

$$= \frac{0.0107}{0.0107 + 0.1067}$$

$$= 0.0909$$

Hasil perhitungan  $R^2$  menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadrat dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan sebagai sumbu x dan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y.

**Tabel Sumbu x dan y**

Perlakuan	X	Y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	10	2.0	20	100
A2	10	2.2	22	100
A3	10	2.2	22	100
B1	30	1.8	54	900
B2	30	1.6	48	900
B3	30	1.6	48	900
C1	50	1.4	70	2500
C2	50	1.6	80	2500
C3	50	1.6	80	2500
D1	70	1.6	112	4900
D2	70	1.4	98	4900
D3	70	1.4	98	4900
Total	480	20.4	752	25200

**Lampiran 12. Lanjutan**

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2) - \left(\frac{(\sum x)^2}{n}\right)} = -0.0107$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right) = 2.1267$$

Berdasarkan perhitungan  $b_0$  dan  $b_1$ , maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 2.1267 - 0.0107x$



Lampiran 13. Hasil Pengamatan Data Kualitas Air

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu		DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Rabu, 30 Januari 2019	A <sub>1</sub>	27,0	27,0	9,7	9,7	6,54	7,75
	A <sub>2</sub>	26,0	26,0	10,2	9,0	6,58	7,91
	A <sub>3</sub>	27,0	27,0	10,1	9,1	6,60	7,95
	B <sub>1</sub>	26,0	26,0	10,1	9,4	6,61	7,99
	B <sub>2</sub>	27,0	27,0	9,9	9,0	7,07	7,96
	B <sub>3</sub>	27,0	28,0	9,7	9,2	6,56	7,91
	C <sub>1</sub>	27,0	27,0	9,1	9,7	7,60	7,91
	C <sub>2</sub>	27,0	27,0	10,2	8,9	6,62	7,89
	C <sub>3</sub>	26,0	26,0	10,5	9,6	6,66	8,67
	D <sub>1</sub>	26,0	26,0	10,5	8,9	6,57	7,70
	D <sub>2</sub>	27,0	26,0	10,7	9,7	6,62	7,90
	D <sub>3</sub>	26,0	26,0	10,1	9,4	7,60	7,91
	K+ <sub>1</sub>	27,0	27,0	10,1	9,4	6,59	7,83
	K+ <sub>2</sub>	26,0	27,0	10,1	9,4	6,67	7,98
	K+ <sub>3</sub>	26,0	27,0	10,1	9,2	7,05	7,91
	K- <sub>1</sub>	27,0	27,0	9,9	8,7	6,73	7,92
K- <sub>2</sub>	27,0	26,0	9,9	9,5	6,81	8,00	
K- <sub>3</sub>	27,0	27,0	10,1	9,8	6,26	8,00	
Kamis, 31 Januari 2019	A <sub>1</sub>	25,2	25,9	9,3	8,9	7,80	7,87
	A <sub>2</sub>	25,0	25,8	10,0	9,7	7,90	7,90
	A <sub>3</sub>	25,0	25,8	9,1	9,3	7,70	7,90
	B <sub>1</sub>	25,0	26,0	9,7	10,0	7,90	8,00
	B <sub>2</sub>	25,0	25,9	9,7	10,1	7,80	7,90
	B <sub>3</sub>	25,0	25,9	9,7	9,0	7,80	7,90
	C <sub>1</sub>	25,2	25,8	10,0	9,8	7,80	7,70
	C <sub>2</sub>	25,0	25,9	9,8	9,7	8,00	8,00
	C <sub>3</sub>	24,9	26,1	10,5	10,6	7,80	7,91
	D <sub>1</sub>	25,0	25,9	9,5	9,2	7,70	8,00
	D <sub>2</sub>	25,0	26,1	10,0	10,1	7,90	7,95
	D <sub>3</sub>	25,2	25,8	10,1	10,1	7,90	7,90
	K+ <sub>1</sub>	24,9	25,8	8,3	10,3	7,90	7,70
	K+ <sub>2</sub>	24,9	26,0	10,4	9,7	7,90	8,00
	K+ <sub>3</sub>	25,0	25,9	8,9	10,6	7,90	8,00
	K- <sub>1</sub>	25,0	26,1	8,9	9,9	7,80	7,99
K- <sub>2</sub>	25,0	25,8	9,8	10,1	8,00	8,10	
K- <sub>3</sub>	25,0	26,0	10,7	9,7	7,90	8,00	
Jumat, 1 Februari 2019	A <sub>1</sub>	24,5	25,9	8,5	7,7	7,80	7,41
	A <sub>2</sub>	24,7	25,5	8,6	7,3	7,80	7,80
	A <sub>3</sub>	24,7	26,0	8,6	6,8	7,9	7,85
	B <sub>1</sub>	24,5	26,4	8,5	7,4	8,00	7,94
	B <sub>2</sub>	24,7	25,8	9,3	7,2	7,80	7,69
	B <sub>3</sub>	24,6	25,5	8,1	6,8	7,80	7,63

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu		DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
	C <sub>1</sub>	24,7	26,1	9,7	9,0	7,90	7,90
	C <sub>2</sub>	24,5	26,0	8,5	7,8	8,08	7,93
	C <sub>3</sub>	24,5	25,4	10,2	10,8	8,17	8,00
	D <sub>1</sub>	24,7	25,5	9,0	6,8	7,80	7,56
	D <sub>2</sub>	24,5	25,7	6,3	7,5	7,70	7,50
	D <sub>3</sub>	24,5	25,6	9,3	9,4	8,00	7,94
	K+ <sub>1</sub>	24,6	25,7	10,7	6,8	7,90	7,68
	K+ <sub>2</sub>	24,6	25,3	9,1	9,4	8,05	7,94
	K+ <sub>3</sub>	24,6	26,2	9,4	6,9	8,00	7,91
	K- <sub>1</sub>	24,7	25,8	8,4	6,9	7,70	7,69
	K- <sub>2</sub>	24,6	26,4	10,0	6,5	8,00	7,91
	K- <sub>3</sub>	24,6	25,4	9,0	8,3	7,80	7,90
	Sabtu, 2 Februari 2019	A <sub>1</sub>	25,9	26,0	6,9	9,1	7,40
A <sub>2</sub>		25,4	27,0	9,8	10,2	7,30	7,90
A <sub>3</sub>		26,3	27,0	6,9	10,0	7,40	7,93
B <sub>1</sub>		25,8	27,0	7,5	9,9	7,40	7,93
B <sub>2</sub>		25,9	27,0	9,5	10,1	7,30	7,93
B <sub>3</sub>		25,9	26,0	7,2	10,5	7,30	7,93
C <sub>1</sub>		25,4	27,0	8,8	9,7	7,40	7,93
C <sub>2</sub>		25,5	27,0	7,1	10,1	7,50	7,94
C <sub>3</sub>		25,5	28,0	7,7	10,6	7,30	7,93
D <sub>1</sub>		26,1	27,0	7,3	10,7	7,50	7,93
D <sub>2</sub>		25,6	27,0	7,2	10,6	7,40	7,40
D <sub>3</sub>		25,6	27,0	7,3	10,1	7,20	7,20
K+ <sub>1</sub>		25,8	28,0	7,3	10,6	7,50	7,30
K+ <sub>2</sub>		25,6	27,0	8,2	10,4	7,30	7,30
K+ <sub>3</sub>		26,3	27,0	7,4	10,2	7,40	7,30
K- <sub>1</sub>		25,8	28,0	7,7	10,1	7,40	7,30
K- <sub>2</sub>		25,9	27,0	7,7	10,1	7,30	7,40
K- <sub>3</sub>	26,1	28,0	6,0	10,5	7,30	7,30	
Minggu, 3 Februari 2019	A <sub>1</sub>	25,8	27,0	6,9	9,2	7,50	7,50
	A <sub>2</sub>	26,0	28,0	7,1	9,5	7,30	7,30
	A <sub>3</sub>	25,7	27,0	7,3	9,7	7,40	7,30
	B <sub>1</sub>	25,6	27,0	7,5	9,9	7,30	7,40
	B <sub>2</sub>	25,5	27,5	7,6	10,2	7,40	7,40
	B <sub>3</sub>	26,1	28,0	7,7	10,3	7,30	7,30
	C <sub>1</sub>	26,3	28,0	7,6	10,1	7,50	7,40
	C <sub>2</sub>	25,8	28,0	7,2	10,1	7,40	7,90
	C <sub>3</sub>	25,8	27,6	7,5	10,3	7,40	7,95
	D <sub>1</sub>	26,2	27,0	7,4	10,7	7,40	7,80
	D <sub>2</sub>	26,1	27,0	6,9	10,2	7,20	7,73
	D <sub>3</sub>	25,7	27,0	6,6	10,3	7,30	7,70
	K+ <sub>1</sub>	26,2	28,5	7,6	10,1	7,40	7,73
	K+ <sub>2</sub>	25,8	28,0	7,5	10,3	7,20	7,20

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu		DO		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
	K+3	25,9	28,0	7,1	10,5	7,40	7,40
	K-1	25,8	28,0	6,7	10,2	7,30	7,30
	K-2	26,0	28,0	7,1	10,8	7,40	7,30
	K-3	26,0	27,0	7,2	9,9	7,30	7,40
Senin, 4 Februari 2019	A <sub>1</sub>	26,0	27,6	7,1	8,7	7,50	7,40
	A <sub>2</sub>	27,0	27,6	7,2	8,5	7,30	7,50
	A <sub>3</sub>	27,0	27,8	7,0	9,2	7,20	7,50
	B <sub>1</sub>	27,0	27,6	6,5	8,7	7,40	7,50
	B <sub>2</sub>	28,0	28,7	5,9	9,2	7,40	7,50
	B <sub>3</sub>	27,1	27,5	5,7	10,2	7,30	7,80
	C <sub>1</sub>	26,7	27,7	6,1	9,2	7,40	7,50
	C <sub>2</sub>	26,8	27,7	6,7	8,8	7,40	7,50
	C <sub>3</sub>	27,2	27,6	7,0	8,4	7,40	7,50
	D <sub>1</sub>	26,8	27,5	7,1	10,4	7,50	7,70
	D <sub>2</sub>	26,9	27,6	7,1	8,3	7,20	7,50
	D <sub>3</sub>	27,0	27,7	7,2	9,0	7,20	7,30
	K+1	26,7	27,6	7,5	9,3	7,50	7,40
	K+2	26,6	27,6	7,6	9,6	7,00	7,50
	K+3	26,5	27,6	7,2	9,2	7,30	7,60
	K-1	27,0	27,6	7,1	8,6	7,30	7,40
K-2	26,8	27,7	7,1	9,1	7,30	7,20	
K-3	27,0	27,7	7,4	10,5	7,40	7,40	
Selasa, 5 Februari 2019	A <sub>1</sub>	27,1	27,0	6,9	10,6	7,50	7,30
	A <sub>2</sub>	27,0	28,0	6,2	10,2	7,30	7,10
	A <sub>3</sub>	27,5	28,0	6,5	10,3	7,30	7,90
	B <sub>1</sub>	27,1	28,5	6,3	10,9	7,30	7,90
	B <sub>2</sub>	27,1	27,5	7,1	10,0	7,50	7,92
	B <sub>3</sub>	27,1	27,0	6,5	10,3	7,40	7,80
	C <sub>1</sub>	27,4	28,0	6,7	10,8	7,30	7,90
	C <sub>2</sub>	27,4	28,0	6,9	10,4	7,20	7,90
	C <sub>3</sub>	26,5	28,0	8,1	10,1	7,40	7,80
	D <sub>1</sub>	27,1	28,0	6,6	10,0	7,40	7,90
	D <sub>2</sub>	26,9	27,5	6,7	10,0	7,20	7,90
	D <sub>3</sub>	27,5	28,0	5,8	9,7	7,20	7,90
	K+1	26,9	28,0	7,0	9,2	7,40	7,80
	K+2	27,2	28,0	7,2	9,4	7,10	7,80
	K+3	27,3	27,0	6,9	9,2	7,40	7,90
	K-1	27,1	28,0	6,2	9,8	7,10	7,90
K-2	27,6	28,0	7,0	9,9	7,40	7,90	
K-3	27,3	27,0	7,0	9,7	7,30	7,70	

Lampiran 14. Uji Normalitas Kelulushidupan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.73862898
Most Extreme Differences	Absolute	.157
	Positive	.144
	Negative	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		.544
Asymp. Sig. (2-tailed)		.929

a. Test distribution is Normal.



**Lampiran 15. Perhitungan Kelulushidupan**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	60	60	60	180	60.00	±0.00
B	80	60	80	220	73.33	±6.66
C	80	100	80	260	86.67	±6.66
D	100	100	80	280	93.33	±6.66

• **Perhitungan Sidik Ragam**

- Faktor Koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{N}$   
 $= \frac{940^2}{12}$   
 $= 73633$
- JK Total =  $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$   
 $= (60^2 + 60^2 + \dots + 80^2) - 73633$   
 $= 76400 - 73633$   
 $= 2766,667$
- JK Perlakuan =  $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$   
 $= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2}{r} - FK$   
 $= \frac{180^2 + 220^2 + 260^2 + 280^2}{3} - 73633$   
 $= 1996,667$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan  
 $= 2766,67 - 1996,67$   
 $= 800$
- Derajat Bebas (db) Total =  $(n \times r) - 1$   
 $= (4 \times 3) - 1 = 13$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$   
 $= 4 - 1$   
 $= 3$
- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$   
 $= 4 \times (3 - 1) = 8$

**Lampiran 15. (Lanjutan)**

- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = JKP/db Perlakuan  
= 1996,67/3  
= 655,555
- Kuadrat Tengah (KT) Acak = JKA/db Acak  
= 800/8  
= 100
- F.Hitung = KTP/KTA  
= 655,56/100  
= 6,555

• **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966.667	655.555	6.555*	4.07
Acak	8	800	100		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>2766.667</b>			

Keterangan: (\*) berbeda nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% dan lebih kecil dari F 1% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

• **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- $$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0100}{3}} = 8,165$$
- BNT 5% = T tabel 5% (db acak) x SED  
= 2,31 x 8,164  
= 18,828

Lampiran 15. (Lanjutan)

• Tabel BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		60	73.33	86.67	93.33	
A	60	-	-	-	-	a
B	73.33	13,33 ns	-	-	-	a
C	86.67	26,67 *	13,34 ns	-	-	ab
D	93.33	33,33 *	20 *	6,66 ns	-	bc

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata  
 (\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D diikuti oleh perlakuan C kemudian diikuti oleh perlakuan A dan B

• Tabel Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadrat	Kubik
A	180	-3	1	-1
B	220	-1	-1	3
C	260	1	-1	-3
D	280	3	1	1
<b>Q= Σ(ci*Ti)</b>		<b>340</b>	<b>-20</b>	<b>-20</b>
<b>Hasil Kuadrat</b>		<b>20</b>	<b>4</b>	<b>20</b>
<b>Kr= (Σci^2)*r</b>		<b>60</b>	<b>12</b>	<b>60</b>
<b>JK=Q^2/Kr</b>		<b>1926.67</b>	<b>33.33</b>	<b>6.67</b>

$$\begin{aligned}
 \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} \\
 &= 1926,67 + 33,33 + 6,67 \\
 &= 1966,667
 \end{aligned}$$

Lampiran 15. (Lanjutan)

• Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966.667	655.55	6.56*	4.07
Linier	1	1926.667	1926.667	19.27*	-
Kuadratik	1	33.33	33.33	0.333 <sup>ns</sup>	-
Kubik	1	6.67	6.67	0.0667 <sup>ns</sup>	-
Acak	8	800	100	-	-
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>4733.33</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

Keterangan: (ns) = tidak berbeda nyata  
 ( \*) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung R<sup>2</sup> masing-masing regresi tersebut:

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{1926,667}{1926,667 + 800} \\
 &= 0,706
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{33,33}{33,33 + 800} \\
 &= 0,039
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{6,67}{6,67 + 800} \\
 &= 0,007
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan R<sup>2</sup> diatas menunjukkan bahwa nilai R<sup>2</sup> linier lebih besar dari nilai R<sup>2</sup> kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang

**Lampiran 15.** (Lanjutan)

digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

Perlakuan	x	y	xy	x <sup>2</sup>
A1	10	60	600	100
A2	10	60	600	100
A3	10	60	600	100
B1	30	80	2400	900
B2	30	60	1800	900
B3	30	80	2400	900
C1	50	80	4000	2500
C2	50	100	5000	2500
C3	50	80	4000	2500
D1	70	100	7000	4900
D2	70	100	7000	4900
D3	70	80	5600	4900
<b>Total</b>	<b>480</b>	<b>940</b>	<b>41000</b>	<b>25200</b>

$$b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2) - \left(\frac{(\sum x)^2}{n}\right)}$$

$$b_1 = \frac{(41000) - \left(\frac{480 \times 940}{12}\right)}{(25200) - \left(\frac{480^2}{12}\right)}$$

$$b_1 = 0,567$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right)$$

$$b_0 = \frac{940}{12} - \left(0,567 \times \frac{480}{12}\right)$$

$$b_0 = 55,65$$

Berdasarkan perhitungan b0 dan b1, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 55,65 + 0,567x$