

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

Oleh :

**NIKITA YURINDA MITANINGRUM
NIM. 145080501111056**



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

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

Oleh :

**NIKITA YURINDA MITANINGRUM
NIM. 145080501111056**



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

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon aristatus*) TERHADAP HISTOPATOLOGI INSANG IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila***

Oleh :

**NIKITA YURINDA MITANINGRUM
NIM. 145080501111056**

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP. 19611106 198602 2 001
TANGGAL : 15 MAY 2019**

**(Ir. Heny Suprastyani, MS)
NIP. 19620904 198701 2 001
TANGGAL : 15 MAY 2019**



**(Dr. Ir. M. Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
TANGGAL : 15 MAY 2019**



IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN KUMIS
KUCING (*Orthosiphon aristatus*) TERHADAP
HISTOPATOLOGI INSANG IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG TERINFEKSI *Aeromonas hydrophila*

Nama Mahasiswa : NIKITA YURINDA MITANINGRUM

NIM : 145080501111056

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : PROF. DR. IR. SRI ANDAYANI, MS

Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASYANI, MS

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : DR. YUNITA MAIMUNAH, S.PI, M.Sc

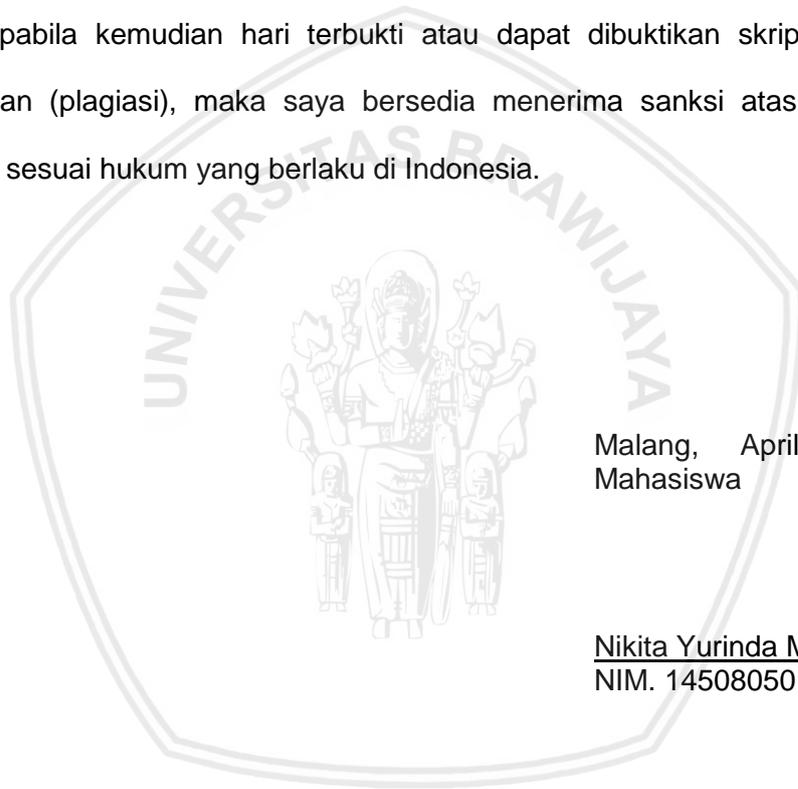
Dosen Penguji 2 : RANI YUWANITA, S.PI., MP

Tanggal Ujian : 12 April 2019

PERNYATAAN ORSINILITAS

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

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



Malang, April 2019
Mahasiswa

Nikita Yurinda Mitaningrum
NIM. 145080501111056

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan laporan skripsi dengan lancar.
2. Ayahanda Soekamto, Ibunda Sunarti, serta seluruh keluarga yang selalu memberi doa dan dukungan baik berupa materi maupun motivasi yang membangun.
3. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, ilmu serta dorongan kepada penulis untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc dan ibu Rani Yuwanita, S.Pi., MP selaku dosen penguji.
5. Bu Titin Yuniastutik selaku Laboran Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Pak Udin dan Pak Ribut selaku Laboran Laboratorium Ikan Divisi Reproduksi Ikan.
6. Tim kumis kucing (Bella, Tika, Desi, Lela) serta teman-teman Budidaya Perairan angkatan 2014 "Aquaforce" dan seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu yang telah membantu penulis hingga terselesaikannya laporan skripsi ini.

Malang, April 2019

Penulis

RINGKASAN

NIKITA YURINDA MITANINGRUM. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Histopatologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. (dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani dan Ir. Heny Suprastyani, MS.**)

Kegiatan Perikanan memiliki pengaruh besar terhadap perekonomian Negara. Salah satu produksi perikanan yang memiliki pengaruh besar adalah budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Namun dalam budidaya ikan nila mengalami masalah, salah satunya adalah timbulnya penyakit. Penyakit yang sering menginfeksi ikan nila adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Untuk mengatasi hal tersebut pembudidaya seringkali menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan dampak negatif antara lain dapat membuat antibiotik resisten dan dapat mencemari lingkungan perairan. Sehingga dibutuhkan alternatif untuk mengendalikan adanya *A. hydrophila* yang tidak menimbulkan efek negatif dan ramah lingkungan. Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan adalah daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2018 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Budidaya Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Pada penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan, 2 kontrol, dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) dengan dosis 9 ppm, 29 ppm, 49 ppm dan 69 ppm. Pengambilan jaringan insang dilakukan pada hari ke 5 setelah perlakuan. Analisa data menggunakan skoring.

Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) dilakukan dengan menggunakan berbagai macam dosis dari ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan menggunakan pelarut aquades yang bertujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat bakteri *A. hydrophila*. Hasil yang diperoleh dalam penelitian pendahuluan yaitu pada dosis ekstrak kasar daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) menunjukkan bahwa dosis 9 ppm dapat menghambat bakteri *A. hydrophila*, dengan dosis 9 ppm tersebut maka dilakukan uji MIC dengan range yang lebih kecil karena dimungkinkan dengan range yang lebih kecil dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* sehingga didapatkan dosis yaitu 9 ppm, 8 ppm, 7 ppm, 6 ppm, 5 ppm, 4 ppm, 3 ppm, dan 2 ppm.

Hasil perlakuan pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) memberikan pengaruh terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*). Kerusakan jaringan insang yang terjadi pada saat penelitian adalah hiperplasia dan fusi. Hasil penelitian menunjukkan kerusakan jaringan insang yang terendah adalah perlakuan D dengan dosis 69 ppm.

Perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah perlakuan D dengan dosis 69 ppm. Namun diperlukan adanya penelitian lebih tinggi dan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) untuk histopatologi ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi *A. hydrophila*.

Pengukuran suhu pada penelitian ini dilakukan 2 kali sehari, yaitu pagi pada pukul 08.00 WIB dan pada sore hari pukul 16.00 WIB. Hasil pengukuran suhu air pada media penelitian berkisar antara 23,7°C – 25,5°C. Hasil pengukuran pH yang dilakukan selama penelitian yaitu memiliki kisaran 6,95 – 7,50. Hasil pengukuran DO selama penelitian berkisar antara 5,50 mg/l – 7,90 mg/l.



KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkah dan karunia serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul: “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon aristatus*) Terhadap Histopatologi Insang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*”. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan yang ada pada laporan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang dapat membangun dalam proposal skripsi ini. Kritik konstruktif dari pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan laporan selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua, demikian penulis sampaikan terimakasih.

Malang, Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Fisiologi.....	7
2.1.3 Habitat	7
2.1.4 Makanan	8
2.2 Daun Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i>)	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Habitat	10
2.2.3 Kandungan Manfaat.....	11
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	11
2.3.2 Habitat	12
2.3.3 Infeksi dan Tanda Penyerangan.....	13
2.4 Histopatologi	14
2.4.1 Pengertian Insang	14
2.4.2 Fungsi Insang	14
2.4.3 Infeksi Pada Insang.....	15
3. METODE PENELITIAN.....	18
3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	18
3.1.1 Alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan Penelitian	18
3.2 Media Penelitian.....	19
3.3 Metode Penelitian.....	19
3.4 Rancangan Penelitian.....	20
3.5 Prosedur Penelitian	22
3.5.1 Persiapan penelitian	22
a. Pembuatan Ekstrak Daun Kumis Kucing (<i>Orthosiphon aristatus</i>)	22

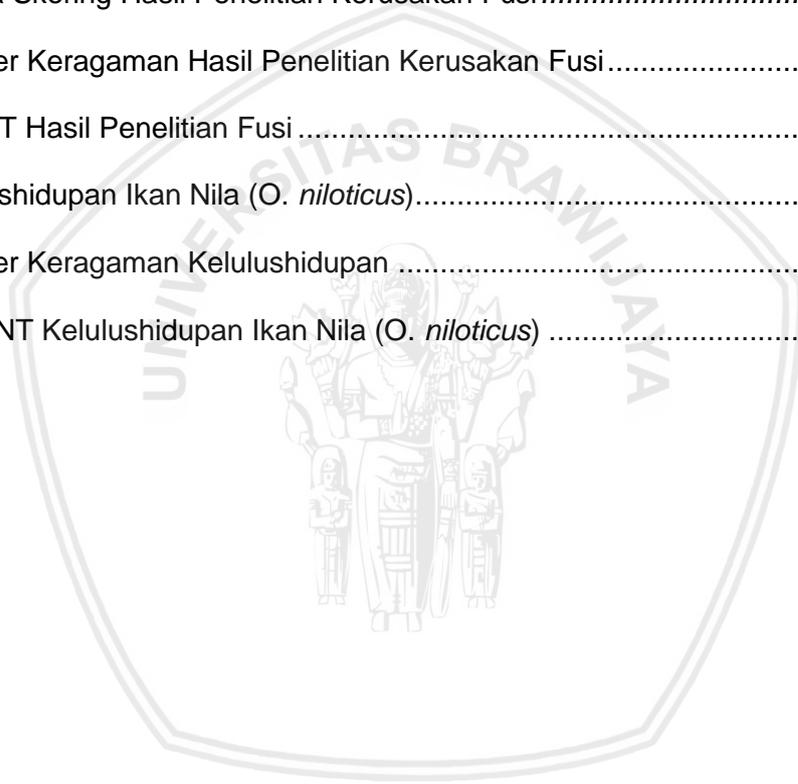
b. Persiapan ikan	23
c. Preparasi Alat dan Bahan Penelitian	24
d. Sterilisasi Alat dan Bahan	23
e. Pembuatan Media	24
f. Uji LD50	26
3.5.2 Pelaksanaan Penelitian	27
a. Penginfeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> Pada Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	27
b. Pemberian Ekstrak	29
c. Pengambilan Jaringan	29
d. Pembuatan Preparat Histopatologi	30
e. Skoring Histopatologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	31
3.6 Parameter Uji	32
3.6.1 Parameter Utama	32
3.6.2 Parameter Penunjang	32
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Uji MIC	34
4.2 Gambaran Histopatologi Insang	36
4.2.1 Histopatologi Insang Ikan Normal dan yang Terinfeksi Bakteri <i>A.</i> <i>hydrophila</i>	36
4.2.2 Gambaran Histopatologi Perlakuan Pada Insang	36
a. Hiperplasia	37
b. Fusi	41
4.3 Parameter Kualitas Air	44
4.3.1 Suhu	44
4.3.2 Derajat Keasaman (pH)	44
4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)	45
4.4 Gejala Klinis	45
4.5 Kelulushidupan Ikan (<i>O. niloticus</i>)	46
5. KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	7
2. Daun Kumis Kucing (<i>O. aristatus</i>).....	10
3. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	12
4. Insang Ikan Normal (Perbesaran 400 x).....	16
5. Hiperplasia Insang Pewarnaan HE (Perbesaran 400 x)	16
6. Fusi Pewarnaan HE (Perbesaran 400 x).....	17
7. Alur Perhitungan Skoring.....	31
8. Hasil Uji MIC.....	35
9. Histopatologi Insang Ikan Sehat dan Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> Pewarnaan HE (Perbesaran 400 x).....	36
10. Histopatologi Insang Ikan Perlakuan Pewarnaan HE (Perbesaran 400 x)	37
11. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Sel Insang yang Mengalami Kerusakan Hiperplasia.....	39
12. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Sel Insang yang Mengalami Kerusakan Fusi.....	43
13. Ikan Nila yang Terinfeksi <i>A. hydrophila</i>	46
13. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O.</i> <i>niloticus</i>)	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji MIC dengan Menggunakan Ekstrak Daun Kumis Kucing	21
2. Rerata Skoring Hasil Penelitian Kerusakan Hiperplasia	38
3. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Hiperplasia	38
4. Uji BNT Hasil Penelitian Hiperplasia	39
5. Rerata Skoring Hasil Penelitian Kerusakan Fusi	42
6. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Fusi	41
7. Uji BNT Hasil Penelitian Fusi	42
8. Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	47
9. Sumber Keragaman Kelulushidupan	47
10. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	47



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	55
2. Bahan Penelitian	58
3. Hasil Skoring Jaringan Insang Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	60
4. Perhitungan Kerusakan Jaringan Insang Ikan Nila.....	61
5. Data Kualitas Air	72
6. Normalitas Kelulushidupan Ikan.....	75



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang banyak digemari oleh masyarakat untuk tujuan konsumsi karena rasanya yang nikmat dengan harga yang relatif terjangkau. Selain itu juga, komoditi ini sering dibudidayakan karena mudah dalam pemeliharaannya, pertumbuhan yang cepat dan tahan terhadap perubahan kualitas air. Pembudidayaan ikan nila (*O. niloticus*), tidak terlepas dari adanya serangan hama dan penyakit yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomis, karena menyebabkan lamanya periode pemeliharaan, tingginya konversi pakan, tingkat padat tebar yang rendah, bahkan dapat mengakibatkan kematian. Langkah awal dalam penanganan penyakit pada ikan nila (*O. niloticus*), yaitu dengan mengidentifikasi sumber penyebab penyakit. Penyakit pada ikan nila (*O. niloticus*), diantaranya disebabkan oleh bakteri. Bakteri yang sering menyerang pada ikan adalah jenis *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal. Bakteri *A. hydrophila* dapat menunjukkan gejala klinis berupa luka di bagian tubuh ikan (Irmawati dan Dangeubun, 2014).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas air tawar yang paling banyak diminati oleh berbagai kalangan masyarakat. Produksi ikan nila mengalami fluktuasi produksi setiap tahunnya. Konsistensi peningkatan hasil produksi ikan nila dapat dilakukan melalui budidaya secara intensif dengan memperhatikan berbagai aspek keberlangsungan hidup ikan tersebut (Muqlan, *et*

al., 2017). Permasalahan pada budidaya ikan nila yang sering terjadi yaitu timbulnya penyakit. Penyakit adalah segala bentuk penyimpangan yang dapat menyebabkan ikan merasa terganggu kehidupannya. Penyakit dibedakan menjadi dua yaitu penyakit infeksi dan non infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh organisme hidup. Sedangkan penyakit non infeksi disebabkan oleh lingkungan, pakan, keturunan, dan penanganan. Organisme yang dapat menyebabkan penyakit disebut patogen. Organisme patogen yang dapat menyebabkan infeksi penyakit adalah parasit, bakteri, jamur dan virus (Supriyadi dan Tim Lentera, 2003).

Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* dapat dikendalikan dengan antibiotik. Namun antibiotik dapat menimbulkan dampak negatif, yaitu menjadikan bakteri *A. hydrophila* dan bakteri-bakteri di lingkungan menjadi resisten terhadap antibiotik, serta musnahnya bakteri menguntungkan yang sensitif. Selain itu, antibiotik dapat menimbulkan residu pada ikan dan akan membahayakan kesehatan konsumen apabila dikonsumsi. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif untuk mengendalikan adanya bakteri *A. hydrophila* yang efektif dan tidak menimbulkan efek negatif bagi pembudidaya dan konsumen, serta ramah lingkungan (Wahjuningrum *et al.*, 2010). Salah satu tanaman jenis herbal yang berkhasiat obat untuk mengendalikan adanya *A. hydrophila* adalah daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*).

Menurut Lukistyowati (2015), sehubungan dengan permasalahan yang ada pada para pembudidaya, maka diperlukan bahan alternatif yang aman dan dapat digunakan untuk pengendalian penyakit. Salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi serangan penyakit bakterial dengan antibiotik yang berbahan alami. Antibiotik berbahan alami dapat berasal dari tumbuhan, karena antibiotik alami memiliki keunggulan yaitu ramah lingkungan dan mudah didapat.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibiotik alami adalah daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*)

Daun Kumis kucing (*O. aristatus*) merupakan antibiotik alami yang banyak ditemukan di daerah Jawa. Menurut Rukmana dan Mulyowati (2015), selain itu daun kumis kucing juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*, karena pada daun kumis kucing terdapat senyawa fenol yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Salmonella thypi*. Menurut Himani, et al. (2013), ekstrak daun kumis kucing banyak mengandung senyawa bahan kimia secara alami yaitu flavonoid, polifenol, protein aktif, glikosida, minyak atsiri dan kalium serta senyawa terpenoid. Pendapat yang disampaikan oleh Himani, et al. (2013), hampir sama dengan pendapat yang dikemukakan oleh Wulandari (2011), bahwa kandungan bahan kimia yang terdapat pada daun kumis kucing terdiri dari saponin, flavonoid dan polifenol. Menurut Suteja, et al. (2016), flavonoid adalah senyawa kimia aktif pada tanaman yang berfungsi sebagai antibakteri yang dapat menghambat fungsi membran sitoplasma. Menurut pendapat dari Alshaws, et al. (2012), kumis kucing memiliki senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid dan saponin yang mempunyai fungsi sebagai daya hambat antibakteri. Sedangkan senyawa Alkaloid menurut Kurniawan dan Aryana (2015), memiliki kemampuan sebagai antibakteri, cara kerja alkaloid yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan akan menyebabkan kematian sel. Sehingga tumbuhan ini dapat digunakan untuk menyembuhkan dan mencegah penyakit dari serangan bakteri *A. hydrophila* pada ikan yang terinfeksi bakteri tersebut.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) berpengaruh terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*?
2. Berapakah dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*?

1.3. Tujuan

Penelitian ini memiliki beberapa tujuan yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*
2. Mengetahui dosis optimal pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*

1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H₀** : diduga pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) tidak berpengaruh terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*
- H₁** : diduga pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) berpengaruh terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*

1.5. Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui manfaat ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap histopatologi insang ikan nila (*O.niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A.hydrophila*.

1.6. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2018 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan nila menurut Saanin (1984), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Subkelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Subordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Species	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan spesies yang berasal dari kawasan sungai Nil dan danau-danau sekitarnya di Afrika. Ikan nila memiliki bentuk tubuh memanjang dan pipih ke samping. Tubuh ikan nila berwarna putih kehitaman. Ikan nila merupakan ikan air tawar yang banyak dibudidayakan setelah ikan mas (*Cyprinus carpio*) (Haqqawiy *et al.*, 2013).

Bentuk tubuh ikan nila pada umumnya adalah panjang dan ramping. Perbandingan antara panjang dan tinggi badan 3:1. Sisik-sisik dari ikan nila berukuran besar dan kasar, berbentuk stenoid dengan garis-garis (gurat-gurat) vertikal berwarna gelap pada siripnya. Warna tubuh ikan nila bervariasi tergantung pada strain atau jenisnya. Tetapi biasanya ikan nila berwarna hitam

keputih-putihan (Rukmana, 1997). Morfologi Ikan Nila (*O. niloticus*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (Djunaedi *et al.*, 2016)

2.1.2. Fisiologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

Kelompok ikan *Oreochromis* ini berbeda dengan kelompok tilapia. Secara umum, bentuk tubuh Ikan Nila panjang dan ramping, dengan sisik berukuran besar. Matanya besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus dibagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih ke bawah daripada letak garis yang memanjang diatas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggungnya berwarna hitam. Bagian pinggir punggung berwarna abu-abu dan hitam (Khairuman dan Amri, 2003).

Ikan golongan ini makanan utamanya berasal dari bahan-bahan nabati. Ikan tersebut tidak memiliki gigi rucing dan mempunyai tapis insang yang lembut dan dapat menyaring fitoplankton dalam air. Ikan ini memiliki sepasang sirip dada dan sirip perut yang berukuran kecil dan sirip anus yang hanya satu buah berbentuk agak panjang. Sementara itu, jumlah sirip ekornya hanya satu buah dengan berbentuk bulat (Burhanuddin, 2014).

2.1.3. Habitat dan Penyebaran Ikan Nila (*O. niloticus*)

Ikan Nila (*O. niloticus*) hidup diperairan tawar seperti kolam, sawah, sungai, waduk, rawa dan genangan air lainnya. Disamping itu, Ikan Nila (*O.*

niloticus) dapat beradaptasi diperairan payau dan laut terutama dengan teknik adaptasi bertahap. Lingkungan hidup (habitat) yang paling ideal untuk usaha budidaya Ikan Nila (*O. niloticus*) adalah perairan tawar yang memiliki suhu antara 14°C - 38°C atau suhu optimal 25°C - 30°C. Meskipun demikian, pada masa berpijah Ikan Nila (*O. niloticus*) membutuhkan suhu antara 22°C - 27°C (Rukmana 1997).

Secara alami Ikan Nila (*O. niloticus*) melakukan migrasi dari habitat aslinya, yakni di bagian hulu sungai Nil yang melewati Uganda ke arah selatan melewati danau Raft dan Tanganyika. Diketahui Ikan Nila (*O. niloticus*) juga terdapat di Afrika bagian Tengah dan Barat. Populasi terbanyak ditemukan di kolam-kolam ikan di Chad dan Nigeria. Dengan campur tangan manusia, saat ini ikan nila (*O. niloticus*) telah menyebar ke seluruh dunia, dari Benua Afrika, Amerika, Eropa, Asia sampai ke benua Australia (Khairuman dan Amri, 2003).

2.1.4. Makanan dan Kebiasaan Makan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Ikan Nila (*O. niloticus*) merupakan ikan pemakan segala (omnivor), karena hal tersebut, ikan ini mudah dalam pemeliharaannya. Pada stadia benih ikan ini dapat diberi pakan alami berupa zooplankton seperti : *Rotifer* sp., *Moina* sp., atau *Daphnia* sp. Selain zooplankton, ikan ini dapat diberi pakan berupa alga atau lumut. Pada stadia dewasa, ikan ini dapat diberi pakan tambahan berupa pellet (Khairuman dan Amri, 2007).

Beberapa contoh pakan yang dapat dimakan oleh Ikan Nila (*O. niloticus*) adalah fitoplankton, zooplankton, jentik-jentik serangga, klekap (organisme renik yang hidup di dasar perairan tambak), ganggang bentuk benang, ganggang sutera, *Hydrilla*, sisa-sisa dapur, serta daun-daun lunak yang jatuh dalam air. Bila persediaan pakan dalam habitat Ikan Nila (*O. niloticus*) sebanding dengan jumlah ikan maka Ikan Nila (*O. niloticus*) akan cepat tumbuh. Ikan Nila (*O.*

niloticus) yang diberi pakan berupa pellet dengan kadar protein 20-25% sudah dapat tumbuh pesat (Suyanto, 2003).

2.2. Daun Kumis Kucing

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi Daun Kumis Kucing (*O. aristatus*)

Klasifikasi kumis kucing menurut Budiman (2013), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Tubiflorae
Famili	: Laminaceae
Genus	: Orthosiphon
Spesies	: <i>Orthosiphon aristatus</i>
Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Spesies	: (<i>Orthosiphon aristatus</i>)

Kumis kucing (*O. aristatus*) adalah tumbuhan yang tumbuh tegak dan memiliki akar. Tingginya bisa mencapai 1-2 m, memiliki batang berbentuk segiempat dan agak beralur. Tanaman ini memiliki bulu pendek atau gundul, mempunyai daun tunggal, berbentuk bundar telur, lonjong, lanset atau belah ketupat, berbulu halus, tepi bergerigi kasar tidak teratur, dan kedua permukaan berbintik-bintik karena ada kelenjar minyak atsiri. Memiliki bunga berwarna ungu pucat atau putih. Benang sari lebih panjang dari pada tabung bunga. Buah dari tumbuhan kumis kucing berwarna coklat gelap (Utami, 2008).

Tumbuhan kumis kucing (*O. aristatus*) termasuk family Lamiceace. Tumbuhan kumis kucing ini memiliki batang basah dan lurus. Tinggi tumbuhan ini dapat mencapai 1,5 meter. Kumis kucing juga memiliki daun yang berbentuk

seperti telur taji dengan tepi bergerigi kasar dan tak beraturan. Bunganya memiliki bentuk seperti segitiga dan mempunyai sungut (Adi, 2006). Adapun gambar kumis kucing disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *O. aristatus* (Jusup, 2015)

2.2.2. Habitat Daun Kumis Kucing (*O. aristatus*)

Kumis kucing (*O. aristatus*) di Indonesia tumbuh baik di daerah dataran rendah. Menurut Kardinan dan Ruhnyat (2008), tanaman daun kumis kucing tumbuh sampai ketinggian tempat 1.000 m di atas permukaan laut (dpl). Tumbuhan ini dapat hidup pada iklim yang tropis dengan curah hujan rata-rata 3.000 mm/tahun, selain itu kumis kucing juga dapat tumbuh pada tempat terbuka dengan sinar matahari penuh.

Kumis kucing juga bisa ditemukan di daerah luar Indonesia sama seperti pendapat yang dikemukakan oleh Savitri (2016), tanaman kumis kucing (*O. aristatus*) diperkirakan berasal dari Afrika bagian selatan dan menyebar ke kawasan-kawasan lain di Asia dan bagian tropis Australia. Kumis kucing memiliki sifat yang mudah beradaptasi dengan iklim tropis.

2.2.3. Kandungan dan Manfaat Daun Kumis Kucing (*O. aristatus*)

Kumis Daun kumis kucing (*O. aristatus*) memiliki fungsi sebagai antibakteri (Yulianti *et al.*, 2015). Daun ini mengandung klorofil yang kandungannya sekitar 55,82 mg sampai dengan 60,94 mg. Variasi ini tergantung dari frekuensi pemberian air pada tanaman kumis kucing. Selain klorofil terdapat

juga kandungan flavonoid, minyak atsiri (0,5%), saponin seperti sapofonin dan ortosifonoid, asam-asam organik dan flavon lipofil (0,2%) (Ramayulis, 2015).

Daun kumis kucing (*O. aristatus*) memiliki kandungan senyawa aktif yang dapat memberikan manfaat. Daun tersebut mengandung minyak atsiri yang terdiri dari *sesquiterpene* dan juga mengandung nyawa fenolik. Selain itu daun kumis kucing (*O. aristatus*) juga mengandung flavonoid dengan kandungan utama sinentesin, eupatorin, *scutellarein*, *tetramethyl* eter, salvigenin, *rhamnazin*, dan glikosida flavonoid. Senyawa lain yang bermanfaat adalah *orthosiphon* glikosida, alkaloid zat samak, minyak lemak, saponin, dan *myoinositol* (Utami dan Puspaningtyas, 2013). Dimana kumis kucing mempunyai senyawa ikatan polar berupa flavonoid dan senyawa ikatan non polar berupa kandungan saponin yang mempunyai fungsi sebagai daya hambat antibakteri (Alshaws *et al.*, 2012).

2.3. Bakteri *A. hydrophila*

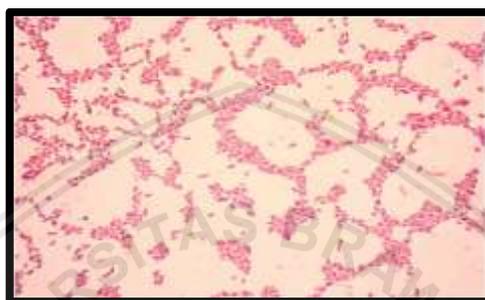
2.3.1. Klasifikasi dan Morfologi *A. hydrophila*

Klasifikasi *A. hydrophila* menurut Murwani *et al.* (2017), sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Aeromonadales
Family	: Aeromonadaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

Bakteri *A. hydrophila* termasuk dalam bakteri gram negatif. Bakteri *A. hydrophila* memiliki ciri-ciri yaitu berbentuk batang dan motil. Bakteri ini terdapat di perairan tawar dan oportunistik pada ikan yang mengalami stress atau pada pemeliharaan pada padat tebar tinggi. Bakteri ini dapat menyerang semua jenis ikan air tawar dan bersifat laten (Kurniawan, 2012).

Bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri gram negatif. *A. hydrophila* bersifat motil dan oportunistik yang dapat menyebabkan kematian pada ikan dalam waktu singkat. Hal ini dimungkinkan oleh adanya produk ekstraselluler toksin seperti *haemolysin*, *aerolysin*, *cytolysin*, *enterotoxin*, *amylase*, dan bahan toksin lainnya yang dikeluarkan (Lukistyowati dan Kurniasih, 2012). Adapun gambar bakteri *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *A. hydrophila* (Samsundari, 2006)

2.3.2. Habitat *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* banyak ditemukan di perairan tawar. Bakteri ini juga hidup di lingkungan yang kaya bahan organik. Bakteri *A. hydrophila* dapat hidup di pH antara 5-5,9. Bakteri ini juga dapat hidup di suhu antara 15-30°C. bakteri ini dapat menyerang ikan di perairan tawar seperti ikan mas, belut dan lele yang disebut *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) (Efendi, 2013).

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri patogen yang menyerang ikan dan dapat menyebabkan kematian ikan mencapai 80% hingga 100%. Bakteri ini memiliki kemampuan osmoregulasi yang tinggi sehingga mampu bertahan hidup pada perairan tawar, payau dan laut. Bakteri *A. hydrophila* termasuk bakteri gram negatif yang hidup pada kisaran suhu 25-30°C (Rahmaningsih, 2016).

2.3.3. Infeksi dan Tanda Penyerangan

Menurut Rahmaningsih (2016), gejala klinis infeksi bakteri *A. hydrophila* adalah bervariasi yaitu adanya luka di permukaan tubuh, insang, ulser, dan abses. Bakteri ini dapat menimbulkan kematian yang tinggi dalam waktu singkat.

Bakteri *A. hydrophila* menyerang ikan dengan cara bakteri melekat pada permukaan kulit lalu bakteri tersebut mengeluarkan racun yang berbahaya.

A. hydrophila termasuk ke dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Sebagai faktor-faktor virulensi, kitinase, lesitinase, dan hemolisin yang dihasilkan oleh *A. hydrophila*, bekerja dengan mendegradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang. Ikan-ikan yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* 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 (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

2.4. Histologi

2.4.1. Pengertian Insang

Insang merupakan organ respirasi utama pada ikan, bekerja dengan mekanisme difusi permukaan dari gas-gas respirasi (oksigen dan karbondioksida) antara darah dan air. Oksigen yang terlarut dalam air akan diabsorpsi ke dalam kapiler-kapiler insang dan difiksasi oleh hemoglobin untuk selanjutnya didistribusikan keseluruh tubuh. Karbondioksida dikeluarkan dari sel dan jaringan untuk dilepaskan ke air di sekitar insang (Pertiwi *et al.*, 2017).

Insang ikan merupakan organ respirasi utama yang bekerja dengan mekanisme difusi permukaan dari gas-gas respirasi (oksigen dan karbondioksida) antara darah dan air. Oksigen yang terlarut dalam air akan

diabsorpsi ke dalam kapilerkapiler insang dan difiksasi oleh hemoglobin untuk selanjutnya didistribusikan ke seluruh tubuh, sedangkan karbondioksida dikeluarkan dari sel dan jaringan untuk dilepaskan ke air disekitar insang. Oleh sebab itu, apapun perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan perairan akan secara langsung dan tidak langsung berdampak kepada struktur dan fungsi insang serta hemoglobinnya (Saputra *et al.*, 2013).

2.4.2. Fungsi Insang

Insang merupakan organ respirasi utama yang bekerja dengan mekanisme difusi permukaan dari gas-gas respirasi (oksigen dan karbondioksida). Perubahan histologi paling awal akan dialami oleh organ insang karena insang merupakan organ yang paling sering kontak dengan akibat logam sebagaimana fungsi organ insang sebagai organ pernafasan dengan mengambil oksigen dari lingkungan dan melepaskan karbondioksida (Kusumadewi *et al.*, 2015).

Menurut Susannah (2011), transport gas pernafasan dilakukan melalui epitel khusus yaitu filamen insang dan lamella yang disebut dengan epithelium respiratorik, yang biasanya tipis disesuaikan dengan kepentingan pertukaran gas. Pada ikan, filament insang tersusun dan pada permukaan atas dan bawahnya terdapat banyak lipatan-lipatan transversal sekunder yang disebut lamella sekunder. Lamella ini selain berfungsi dalam pertukaran gas respiratorik juga berfungsi dalam mengatur keseimbangan air dan elektrolit. Proses penyerapan oksigen dalam jaringan insang dilakukan oleh darah yang mengalir ke dalam filamen-filamen insang dan akibat adanya perbedaan tekanan gas antara darah dan filamen dengan air, maka akan terjadi difusi gas-gas. Insang sebagai alat pernafasan ikan merupakan organ pertama yang berhubungan langsung dengan bahan toksik di dalam perairan, dengan permukaan yang luas dan terbuka, maka mengakibatkan bagian ini menjadi sasaran utama bagi

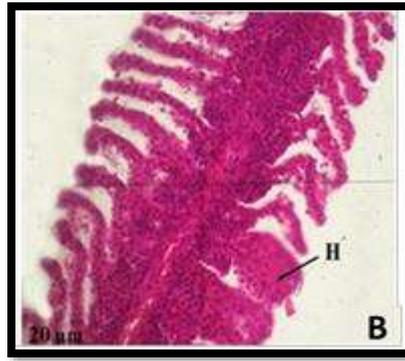
bahan toksik yang ada di dalam perairan insang selain sebagai alat pernafasan ikan, juga digunakan sebagai alat pengatur tekanan antara air dan cairan dalam tubuh ikan (*osmoregulasi*). Oleh sebab itu, insang merupakan organ yang penting pada ikan dan sangat peka terhadap pengaruh toksisitas logam. Faktor yang menyebabkan respon histopatologi ikan adalah adanya zat penyebab iritasi yang terus menerus masuk ke dalam sel atau jaringan dan kemudian dapat mempengaruhi kehidupan organisme. Hal ini disebabkan karena terjadi kerusakan pada lamela insang yang berpengaruh terhadap sirkulasi oksigen.

2.4.3. Infeksi Pada Insang

Menurut Jamin dan Erlangga (2016), kerusakan insang dapat berupa pembengkakan sel (*edema*), *hiperplasia*, *epitel* lepas dari jaringan di bawahnya, *fusi* (peleburan) *lamela* sekunder akibat hiperplasia epitelium insang. Kemudian lapisan epitel yang tipis dapat berhubungan langsung dengan lingkungan luar menyebabkan insang berpeluang besar terpapar oleh bahan pencemar yang ada di perairan. Kerusakan sekecil apapun dapat menyebabkan terganggunya fungsi insang sebagai pengatur osmose dan kesulitan bernafas. Adapun gambar kerusakan insang disajikan pada **Gambar 4 dan 5**.

- Hiperplasia

Hiperplasia pada insang diduga diakibatkan adanya bakteri. Infeksi tersebut mengakibatkan organ insang mengalami iritasi dan mengeluarkan mucus (lendir) sebagai perlindungan terhadap serangan bakteri. Akan tetapi mucus yang dihasilkan justru menutup permukaan lamela insang sehingga pertukaran O₂ dengan CO₂ terhambat. Akibatnya tidak ada pengikatan oksigen oleh hemoglobin darah. Hal ini menyebabkan transportasi oksigen ke seluruh tubuh tidak lancar.

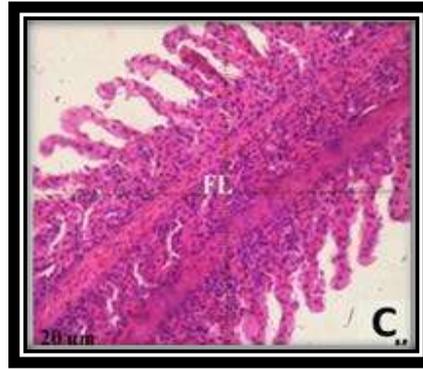


Gambar 4. Hiperplasia, Perbesaran 400x. Pewarnaan: HE (Indrayani *et al.*, 2014).

- Fusi

Fusi dua lamella (pencemaran tingkat awal). Fusi lamella diakibatkan oleh pembengkakan sel-sel insang. Akibat dari adanya fusi lamella sekunder adalah terganggunya fungsi lamella sekunder dalam proses pengambilan oksigen. Hal tersebut menyebabkan ikan sulit bernafas dan kandungan oksigen dalam darah berkurang. Akibatnya ikan mengalami hipoksia, merangsang organisme untuk mengikat sel darah merah, dan merangsang hematokrit dan hemoglobin untuk meningkatkan mekanisme transfer oksigen di dalam tubuh. Oleh karena itu, lamella sekunder menyatu sehingga struktur lamella sekunder secara keseluruhan nampak seperti “daun”.

Fusi adalah pendempetan sel antar lamella sekunder yang satu dengan yang lainnya. Fusi terjadi karena lamella mengalami pembengkakan sehingga proses pernapasan terganggu. Keadaan ini mengakibatkan ukuran rongga (kapiler lumen) mengalami penyempitan dan sel yang berada di tengah lamella sekunder bergeser ke ujung lamella sekunder lainnya sehingga terjadi pendempetan (Andayani *et al.*, 2017).



Gambar 5. Fusi, Perbesaran 400x. Pewarnaan: HE (Indrayani *et al.*, 2014).



3. METODE PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan Penelitian

3.1.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Kumis Kucing terhadap Histopatologi Insang Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* antara lain, dokumentasi disajikan pada Lampiran 1.

- Spektrofotometer
- Vortex Mixer
- Akuarium 60x30x30 cm
- Gelas Ukur
- Bunsen
- Sesar
- Mikroskop
- Timbangan Digital
- Jarum Ose
- Micropipet
- Spatula
- Autoclave
- Hotplate
- Timbangan Analitik
- Selang Aerasi
- Spayer
- Botol Sampel
- Tabung Reaksi
- Nampan
- Inkubator
- Erlenmeyer
- Corong
- Evaporator
- pH Meter
- DO Meter
- Section Set
- Beaker Glass
- Batu aerasi
- Gunting
- Cawan Petri
- Objek Glass
- LAF

3.1.2. Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah sebagai berikut, dokumentasi disajikan pada Lampiran 2.

- Daun kumis kucing (*O. aristatus*)
- Etanol 96 %
- dari *Materia Medica Batu*
- Kertas label
- Kertas saring
- Alkohol 70 %
- TSB (*Triptic Soy Broth*)
- Sampel insang
- Bakteri *A. Hydrophila*
- TSA (*Triptic Soy Agar*)
- Sarung tangan
- Aquades
- Plastic wrap
- Kapas
- Ikan nila (*O. niloticus*) ukuran 8-12 cm
- Tissue
- Tali kasur
- Benang kasur
- Masker
- Formalin 10 %
- Alumunium foil

3.2. Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah air tawar di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Keluatan, Universitas Brawijaya, Malang. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat selang menuju akuarium 60 x 30 x 30 cm sebanyak 18 buah dan diberi aerasi yang berfungsi suplai oksigen.

3.3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah metode yang bertujuan untuk meneliti kemungkinan

sebab-akibat. Hal tersebut dengan menggunakan satu atau lebih kondisi perlakuan, pada satu atau lebih kondisi kelompok eksperimen. Kemudian dibandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol (Isaac *et al.*, 1977).

3.4. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan rancangan acak lengkap. Menurut Sastrosupadi (1995), menyatakan bahwa rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang seragam atau homogen. Sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca, dan peternakan. Model RAL yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

Y = respon atau nilai pengamatan

μ = nilai tengah umum

T = pengaruh perlakuan

ε = pengaruh galat percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) dengan dosis A, B, C dan D. Pada penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol positif dan negatif. Kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan ikan nila (*O. niloticus*) sehat, sedangkan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol positif dan negatif sebagai pembanding. Metode pengujian MIC yang merupakan uji pendahuluan dilakukan dengan metode dilusi cair. Uji pendahuluan MIC dilakukan dengan menggunakan TSB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml. Kemudian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi TSB. Dalam uji pendahuluan MIC menggunakan 6

perlakuan yaitu dengan dosis 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm serta kontrol (+) dan kontrol (-). Selanjutnya setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 1 ml, lalu diinkubasi dengan suhu 32°C selama 24 jam. Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm dan nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer dicatat. Hasil uji pendahuluan MIC diperoleh bahwa ekstrak daun kumis kucing dengan dosis 10 ppm sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Setelah itu dilakukan uji pendahuluan MIC dengan dosis yang lebih kecil dari 10 ppm dan lebih besar dari 1 ppm, yaitu dengan dosis 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm dan 9 ppm. Adapun hasil uji MIC disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji MIC Menggunakan Spektrofotometer

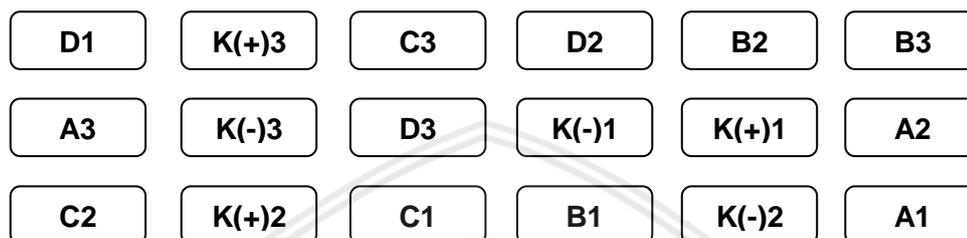
No	Dosis (ppm)	Absorbansi	Warna
1	1000 ppm	0.384	Keruh
2	100 ppm	0.376	Keruh
3	10 ppm	0.364	Bening
4	1 ppm	0.378	Bening
5	0.1 ppm	0.393	Bening
6	0.01 ppm	1.395	Bening
7	K (+)	0,366	Bening
8	K (-)	0,488	Keruh

Tabel diatas didapatkan hasil bahwa ekstrak daun kumis kucing yang efektif untuk menghambat bakteri pada dosis 9 ppm. Hal ini dikarenakan nilai absorbansinya mendekati kontrol (+) yaitu dengan nilai 0,692. Sehingga dari uji MIC dapat ditentukan dosis tiap perlakuan yaitu sebagai berikut :

- A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 9 ppm ekstrak kasar daun kumis kucing
- B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 29 ppm ekstrak kasar daun kumis kucing

- C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 49 ppm ekstrak kasar daun kumis kucing
- D : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 69 ppm ekstrak kasar daun kumis kucing
- K(-) : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa perendaman ekstrak daun kumis kucing
- K(+): Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan antibiotik chlorampenicol dengan dosis 5 ppm

Untuk denah penelitian disajikan pada gambar berikut:



Keterangan: A-D : perlakuan
 K(-) : kontrol negatif
 K(+): kontrol positif
 1-3 : ulangan

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah konsentrasi terendah dari antibiotika atau antimikrobal yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Nilai MIC adalah spesifik untuk tiap-tiap kombinasi dari antibiotika dan mikroba. MIC dari sebuah antibiotika terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai MIC dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar (Jawetz, 1996).

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Persiapan Penelitian

a. Pembuatan ekstrak daun kumis kucing (*Othosiphon aristatus*)

Pembuatan Daun kumis kucing didapatkan dari lingkungan sekitar rumah, kemudian daun Kumis kucing yang didapatkan dikeringkan dibawah sinar matahari selama 7 hari. Daun kumis kucing yang digunakan memiliki berat basah 10 kg, berat kering 1,100 gram dan berat serbuk sebanyak 1 kg. Setelah itu, daun kumis kucing yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk. Serbuk daun kumis kucing dicampur dengan pelarut etanol 96%

dan dimasukkan kedalam toples, dihomogenkan dengan spatula dan direndam sebanyak 2 x 24 jam dengan perbandingan 1:3 artinya 100 gram serbuk kumis kucing dihomogenkan dengan etanol sebanyak 300 ml. Setelah itu toples ditutup dengan alumunium foil dan ditutup dengan plastic wrap agar etanol tidak menguap. Selanjutnya dilakukan proses evaporasi dan diperoleh berat pasta 40 gram dan rendemen sebesar 40%. Pemberian etanol 96% sesuai dengan pendapat Lestari *et al.* (2012), bahwa pembuatan ekstrak secara maserasi dengan cara merendam serbuk dalam campuran pelarut etanol 96% selama 24 jam dan disaring untuk mendapatkan maserat. Setelah proses selesai kemudian disaring dengan kertas saring.

b. Persiapan Ikan

Ikan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila (*O. niloticus*) yang diperoleh dari pembudidaya ikan di kota Malang. Ikan nila (*O. niloticus*) yang digunakan memiliki ukuran antara 8-12cm dan sebanyak 324 ekor dengan kepadatan 1 ekor/ 2 liter. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Alfia *et al.* (2013), bahwa padat tebar ikan nila yang memiliki ukuran antara 4-6 cm adalah 1 ekor/liter. Setelah itu ikan nila di aklimatisasi atau diadaptasikan dengan tempat yang baru. Proses aklimatisasi selama 3 hari dan selama proses tersebut diberi pakan pellet sebanyak 2 kali dalam satu hari. Pemberian pakan dilakukan pada pagi hari pukul 08.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain diberi pakan juga dilakukan penyiponan pada akuarium. Penyiponan dilakukan untuk membersihkan sisa pakan dan feses yang bertujuan untuk mencegah adanya zat racun.

c. Preparasi Alat dan Bahan Penelitian

Tujuan dilakukan preparasi alat dan bahan adalah untuk mempermudah proses penelitian. Kegiatan ini meliputi persiapan alat dan bahan yang akan

digunakan saat penelitian. Setelah alat dan bahan sudah siap maka dilakukan sterilisasi.

d. Sterilisasi Alat dan Bahan

Mekanisme sterilisasi alat dan bahan adalah sebagai berikut:

- Alat yang telah dicuci kemudian dikeringkan
- Setelah kering dibungkus dengan menggunakan koran dan diikat menggunakan karet gelang
- Setelah itu dimasukkan ke dalam keranjang *autoclave*
- Kemudian keranjang dimasukkan ke dalam *autoclave*
- Setelah itu *autoclave* ditutup, tuas ditutup secara diagonal agar seimbang.
- Tekan ON, kemudian tekan 15 menit setelah pemanasan sudah mencapai 1 atmosfer dan suhu mencapai 121⁰C.
- Tekan tombol off dan tunggu beberapa saat hingga suhu menunjukkan 0, kemudian kran uap dibuka dan penutup *autoclave* dibuka dengan cara simetris.
- Kemudian alat dan bahan yang telah disterilisasi dikeluarkan
- Alat yang telah steril disimpan di dalam oven sedangkan bahan yang telah steril disimpan di dalam lemari pendingin.

e. Pembuatan Media

- TSA (*Tryptic Soy Agar*) untuk agar miring

Media agar miring digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri.

Adapun proses pembuatan agar miring adalah sebagai berikut :

- 1) Media TSA (*Tryptic Soy Agar*) ditimbang 1,2 gram dengan menggunakan timbangan digital.
- 2) Media dimasukkan kedalam erlenmeyer 50 ml.
- 3) Media dilarutkan dengan aquades sebanyak 30 ml.

- 4) Media yang sudah dihomogenkan dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi dengan masing-masing berisi 10 ml yang sebelumnya sudah diberi tanda pada tabung yang digunakan.
- 5) Tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas dan alumunium foil dan dilapisi dengan plastik wrap.
- 6) Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121⁰ C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- 7) Tabung reaksi yang berisi media steril dimiringkan 30⁰ C
- 8) Media ditunggu hingga menjadi padat
- 9) Kemudian dilakukan strike secara zig-zag dalam keadaan steril.
 - TSB (*Tryptic Soy Broth*) untuk kultur bakteri

Media TSB adalah media cair yang digunakan untuk kultur bakteri. Adapun proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut :

- 1) Media TSB ditimbang sebanyak 2,16 gram.
- 2) Media dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml, kemudian dihomogenkan dengan aquadest sebanyak 72 ml.
- 3) Media yang sudah homongen, kemudian dipanaskan pad *hotplate* dan ditutup dengan kapas, alumunium foil pada bagian mulut erlenmeyer.
- 4) Media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121⁰ C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
 - TSB (*Tryptic Soy Broth*) untuk uji MIC

Media TSB digunakan sebagai media untuk uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*). Adapun prosedur dalam pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- 1) Media TSB ditimbang sebanyak 2,16 gram.
- 2) Media dimasukkan kedalam erlenmeyer 100 ml.

- 3) Kemudian dihomogenkan dengan aquadest sebanyak 72 ml.
- 4) Media yang sudah homogen, kemudian dihotplate dan ditutup dengan kapas, aluminium foil pada bagian mulut erlenmeyer.
- 5) Kemudian media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121^o C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

f. Uji LD50 (*Lethal Dose 50*)

Pada uji LD50 dosis yang digunakan berdasarkan dosis uji MIC yang sudah dilakukan. Pada uji MIC diperoleh hasil pada konsentrasi 9 ppm sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Uji LD50 mempunyai tujuan untuk mengetahui kematian 50% ikan nila sehingga perlu adanya dosis pembanding. Menurut Harmita dan Maksum (2010), menentukan dosis LD50 dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

Keterangan :
Y_N = Dosis ke-N
Y₁ = Dosis pertama
R = Faktor geometris (2)
N = Deret dosis

$$Y_N = Y_1 \times R^{N-1}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut didapatkan hasil pada dosis pertama yaitu 10 ppm, dosis kedua 20 ppm, dosis ketiga 60 ppm, dosis keempat 80 ppm. Pada uji LD50 menggunakan ikan nila (*O. niloticus*) dengan ukuran 8-12 cm dengan jumlah 108 ekor yang dibagi menjadi 4 perlakuan sehingga setiap perlakuan terdapat 18 ekor ikan nila. 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 dimasukkan di dalam aquarium perlakuan dan diberi ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Selanjutnya ikan diamati selama 48 jam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) dapat diaplikasikan pada ikan nila (*O. niloticus*) dengan dosis tersebut.

3.5.2. Pelaksanaan Penelitian

Ikan nila (*O. niloticus*) dipelihara selama 7 hari untuk proses adaptasi, kemudian ikan diberi bakteri *A. hydrophila* selama 1 jam, setelah itu diberi ekstrak daun kumis kucing dan dibiarkan selama 1x24 jam. Setelah 24 jam, air dibuang dan diganti dengan air baru dan dipelihara selama 4 hari. Setelah semua proses selesai ikan siap untuk dibedah untuk dilakukan histologi insang, dan dilihat insang ikan yang normal sebagai pembanding, kemudian dibedakan antara histologi insang ikan yang normal, sakit dan yang dilakukan perlakuan.

a. Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila* pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Penginfeksian bakteri dilakukan dengan perendaman langsung pada media pemeliharaan. Dengan kepadatan 1×10^6 sel/ml selama 90 menit. Kepadatan 1×10^6 sel/ml dipilih karena kepadatan tersebut sudah dapat menyebabkan ikan terinfeksi. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Mangunwardoyo, *et al* (2010), bahwa pengujian LC_{50} pada bakteri yang disuntikkan ke ikan dengan kepadatan bakteri $4,9 \times 10^6$ sudah dapat menyebabkan kematian ikan 50% dari ikan yang dilakukan uji. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Sari, *et al* (2013), menyatakan bahwa ikan nila yang diberi perlakuan perendaman selama 90 menit pada *A. hydrophila* dapat mengalami stress selama beberapa saat, seperti cara berenang menjadi tidak teratur dan frekuensi pernapasan menjadi sangat cepat. Pada awal perendaman, ikan nila berenang di tengah, kemudian ikan nila sering berenang ke permukaan untuk mencari oksigen (udara), selain itu ikan juga lebih banyak diam di dasar akuarium. Perendaman dilakukan di dalam akuarium $60 \times 30 \times 30$ cm yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman dilakukan menggunakan kapasitas air 36000 ml dengan ketinggian air 20 cm selama 30 menit, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam TSA yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

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

$$V_1 \times 12.10^8 = 36000 \times 10^6$$

$$V_1 = \frac{36000 \times 10}{12.10^8}$$

$$V_1 = 30 \text{ ml}$$

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa dibutuhkan bakteri masing-masing 30 ml dalam 36 L air. Selanjutnya dilakukan perendaman bakteri pada media dan diamati gejala klinisnya. Kemudian sampel ikan diinfeksi dengan cara merendam bakteri sekitar 90 menit. Setelah diinfeksi kemudian dipindahkan pada akuarium pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

b. Pemberian Ekstrak

Ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) dengan berat kering 11% dan rendemen 40% dimasukkan ke dalam media pemeliharaan. Langkah-langkahnya yaitu dengan menyiapkan ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) kemudian melakukan perhitungan berdasarkan volume media pemeliharaan dan dosis ekstrak yang digunakan menggunakan rumus pengenceran. Setelah itu menimbang ekstrak dan dimasukkan ke dalam akuarium dengan dosis yang berbeda-beda dan ditunggu sampai ikan gelisah pertama kali, perendaman dilakukan selama 24 jam. Kemudian ikan dipindahkan ke dalam aquarium yang berisi air segar selama 4 hari pemeliharaan. Selanjutnya, diamati parameter penunjang seperti DO, pH dan suhu setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB.

c. Pengambilan Jaringan

Pengambilan jaringan insang dilakukan sebanyak 3 kali. Pengambilan jaringan dimulai pada saat ikan normal sebelum diinfeksi, saat ikan sudah

diinfeksi dan saat ikan sudah diberi ekstrak kasar dengan daun kumis kucing (*O. aristatus*). Pengambilan insang dilakukan dengan menggunakan *sectio set*. Kemudian insang dibersihkan dengan aquades dan dimasukkan dalam botol film. Setelah itu diberi larutan formalin 10% sebagai pengawet dan kemudian dilakukan pembuatan preparat untuk histopatologi.

d. Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi ada beberapa tahapan. Adapun tahapan-tahapannya adalah sebagai berikut:

- Tahap Fiksasi

Sampel insang diambil untuk diamati jaringannya, kemudian direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan memasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol *absolute*.

- Tahap *Clearing*

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

- Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi dilakukan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). *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 bahan yang sudah diblok selesai, 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*)

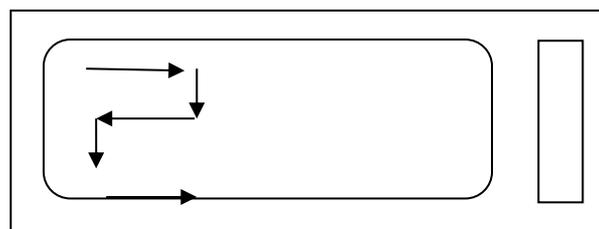
Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing.

- Tahap *Mounting*

Tahap ini merupakan prosedur terakhir dalam pembuatan preparat yang bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat direkatkan dengan menggunakan *entelen new*, lalu ditutup dengan *cover glass*. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 400x.

e. Skoring Histopatologi ikan nila (*O. niloticus*)

Pemberian *scoring* bertujuan untuk mengetahui kerusakan jaringan insang. Pada metode skoring preparat dibagi menjadi 5 bidang pandang pada sampel yang kita amati dengan gerakan zig-zag. Menurut Siswandari (2005), pembacaan dimulai dari kiri kearah kepala. Kemudian diturunkan ke bawah, kemudian digeser kearah ekor kembali seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Alur Perhitungan Skoring (gerak zig zag) (Siswandari, 2005)

Setiap lapang pandang diamati tingkat kerusakan dan dipersentase dengan pemberian skor 1 sampai dengan 4. Persentase kerusakan setiap bidang pandang dihitung berdasarkan sel yang mengalami kerusakan. Menurut Nurin, *et al* (2018), perhitungan kerusakan dihitung dengan rumus:

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

Persentase yang telah didapat diberi scoring dan 1 sampai 4. Pada angka 1 (ringan) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 0-5%, angka 2 (sedang) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan 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. Parameter Uji

3.6.1. Parameter Utama

Parameter utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*). Penelitian ini dilakukan dengan melakukan pengamatan pada histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*) agar mengetahui gambaran insang pada ikan diinfeksi tanpa pengobatan dan insang pada ikan yang diberi pengobatan dengan ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*).

3.6.2. Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati pada saat penelitian ini adalah sebagai berikut :

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

Kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) digunakan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan yang diuji dengan membandingkan antara jumlah ikan yang diuji pada awal dengan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian. Menurut Effendie (2002) Kelulushidupan (*Survival Rate*) dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

- SR = Kelulushidupan (%)
N_t = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (akhir)
N₀ = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)

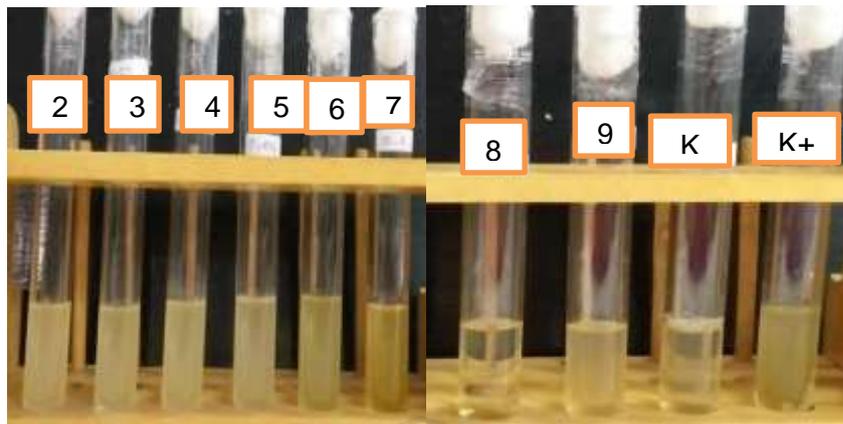
Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) dilakukan dengan menggunakan berbagai macam dosis dari ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan menggunakan pelarut aquades yang bertujuan untuk mengetahui dosis terkecil dalam menghambat bakteri *A. hydrophila*. Hasil yang diperoleh dalam penelitian pendahuluan yaitu pada dosis ekstrak kasar daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) menunjukkan bahwa dosis 9 ppm dapat menghambat bakteri *A. hydrophila*, dengan dosis 9 ppm tersebut maka dilakukan uji MIC dengan range yang lebih kecil karena dimungkinkan dengan range yang lebih kecil dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* sehingga didapatkan dosis yaitu 9 ppm, 8 ppm, 7 ppm, 6 ppm, 5 ppm, 4 ppm, 3 ppm, dan 2 ppm.

Pengamatan MIC tidak hanya dilakukan dengan menggunakan indikator absorbansi tapi juga dapat dilihat dari perubahan warna yang terjadi. Menurut Putri, *et al.* (2008), spektrofotometer tidak mampu membedakan kekeruhan warna ekstrak dengan kekeruhan bakteri oleh karena itu pengamatan bisa dibantu dengan melihat warna dan membandingkan dengan kontrol. Warna keruh dari hasil uji MIC menandakan bahwa bakteri yang terkandung dalam dosis tersebut masih banyak yang hidup akan tetapi yang memiliki warna bening artinya banyak bakteri yang mati. Hasil Uji MIC dapat dilihat pada Gambar 7.

Keterangan :

Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) dari dosis terendah pada tabung nomor 1 dengan dosis 2 ppm sampai dosis tertinggi yaitu 9 ppm pada tabung nomor 8, kemudian nomor 9 sebagai kontrol positif dan nomor 10

sebagai kontrol negatif.



Gambar 7. Hasil Uji MIC (Minimum Inhibition Concentration)

Hasil tersebut dikarenakan ekstrak kasar daun kumis kucing memiliki senyawa aktif sebagai antibakteri. Senyawa aktif yang terdapat pada daun kumis dapat menghambat kerja dari pertumbuhan bakteri. Menurut Yulianti, *et al.* (2015), banyak khasiat yang terkandung dalam tumbuhan kumis kucing, karena daun kumis kucing bersifat sebagai antibakteri. Senyawa aktif pada daun kumis kucing dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *A. hydrophila*. Menurut Suteja, *et al.* (2016), flavonoid adalah senyawa kimia aktif pada tanaman termasuk pada tumbuhan daun kumis kucing yang berfungsi sebagai antibakteri. Menurut Afifi dan Erlin (2017), flavonoid merupakan senyawa aktif yang berfungsi sebagai penyembuhan penyakit infeksi, selain itu flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri yang bekerja mengganggu fungsi dari membran sitoplasma. Sedangkan menurut pedapat Candrasari, *et al.* (2012), flavonoid juga berperan sebagai antivirus, antibakteri, antiradang dan antialergi.

4.2. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

4.2.1. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Nila Normal

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan gambaran jaringan insang ikan nila (*O. niloticus*) normal (tanpa ekstrak tanaman daun kumis kucing dan tanpa

ujiantang bakteri). Berikut adalah gambaran dari insang ikan nila dapat dilihat pada Gambar 8.

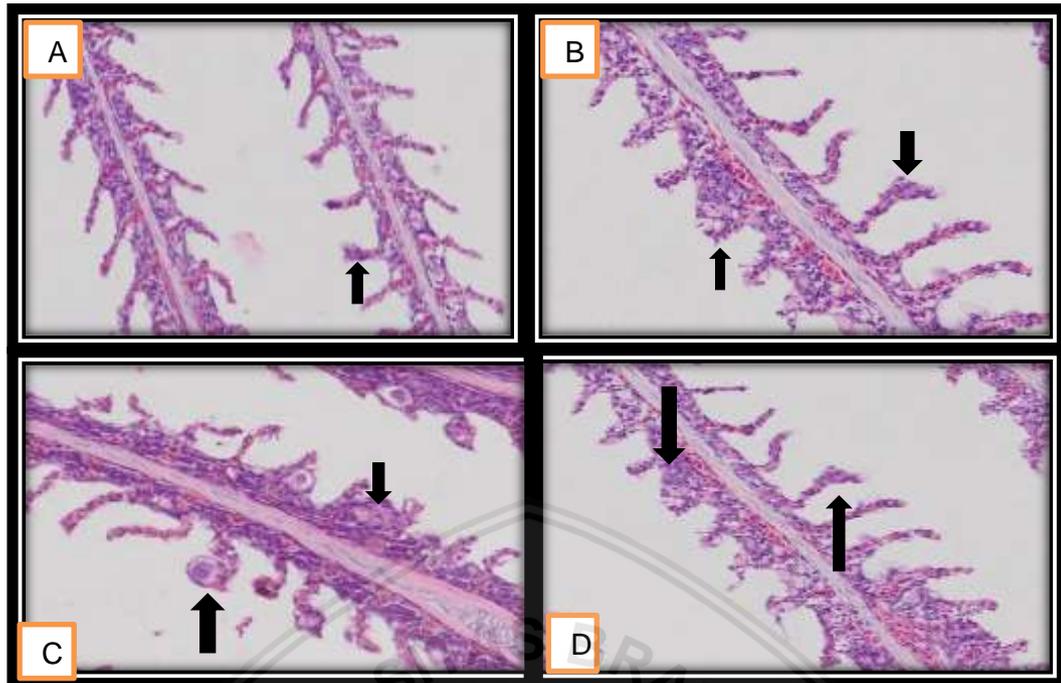


Gambar 8. Histologi Insang Normal, Perbesaran 400x

Pada Gambar 8 dapat dilihat jaringan insang ikan sehat menunjukkan tidak adanya kerusakan. Penampang jaringan insang pada lamella sekunder dalam kondisi normal.

4.2.2. Gambaran Histopatologi Perlakuan pada Insang

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi pada ikan nila (*O. niloticus*) yang direndam dengan ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*). Ekstrak kasar daun kumis kucing mengandung senyawa flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan patogen dengan dosis ekstrak yang berbeda serta diinfeksi bakteri *A. Hydrophila*. Dosis yang digunakan saat penelitian yaitu 9 ppm, 29 ppm, 49 ppm dan 69 ppm. Berikut ini penampang dari insang ikan nila (*O. niloticus*) yang dipelihara selama 4 hari setelah pengobatan.



Gambar 9. Gambar Histopatologi Insang, (A) Dosis 9 ppm, (B) Dosis 29 ppm, (C) Dosis 49 ppm, (D) Dosis 69 ppm, (panah atas) Hiperplasia (panah bawah) Fusi. Pengamatan dengan menggunakan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE.

Berdasarkan gambar di atas maka dapat dilihat jaringan insang yang mengalami kerusakan. Insang dengan penambahan dosis ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) dapat ditunjukkan melalui nilai skoring kerusakan pada jaringan insang yang disajikan pada Lampiran 3. Kemudian dilakukan perhitungan kerusakan jaringan insang yang disajikan pada Lampiran 4.

Analisis data yang terdapat pada kerusakan histopatologi jaringan insang yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) yang meliputi adanya kerusakan hiperplasia dan fusi sebagai berikut :

a. Hiperplasia

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan Nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) yang memberikan hasil rerata yang berbeda pada histopatologi insang ikan Nila (*O. niloticus*) yang dapat disajikan pada Tabel 2 dan perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 2. Rerata Skoring Kerusakan Hiperplasia pada Jaringan Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	±SD
	1	2	3			
A (9 ppm)	1,8	1,8	1,6	5,2	1,73	± 0,12
B (29 ppm)	1,6	1,6	1,4	4,6	1,53	± 0,12
C (49 ppm)	1,4	1,4	1,2	4	1,33	± 0,12
D (69 ppm)	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27	± 0,12

Berdasarkan Tabel 2 dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan hiperplasia pada jaringan insang ikan nila secara berurutan A (9 ppm), B (29 ppm), C (49 ppm) dan D (69 ppm) yaitu 1,73, 1,53, 1,33 dan 1,27. Rerata terendah diperoleh pada perlakuan D (69 ppm) hal tersebut dapat diduga karena dosis ekstrak kasar daun kumis kucing yang diberikan dapat mengobati ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap kerusakan hiperplasia pada jaringan insang dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Sidik Ragam Skoring Kerusakan Hiperplasia Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	0.4	0.133333	10,83	4.07	7.59
Acak	8	0.1067	0.013333	*		
Total	11					

Keterangan * : Berbeda Nyata

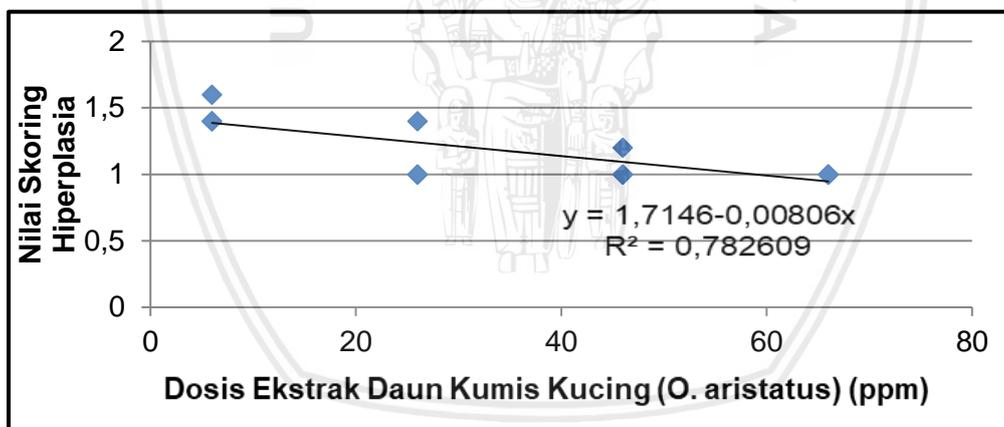
Berdasarkan Tabel 3 diperoleh F hitung > 5% dan F 1% yaitu sebesar 10, sehingga didapatkan bahwa pemberian ekstrak tanaman Kumis Kucing (*O. aristatus*) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hiperplasia pada jaringan insang ikan Nila (*O. niloticus*), perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 4. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji BNT Skoring Hiperplasia Jaringan Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.73	1.53	1.33	1.27	
A (9 ppm)	1.73					a
B (29 ppm)	1.53	0.20*				b
C (49 ppm)	1.33	0.40**	0.20 ^{ns}			bc
D (69 ppm)	1.27	0.47**	0.27*	0.07 ^{ns}		cd

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

Pada Tabel 4 terlihat bentuk kerusakan jaringan yang mengalami hiperplasia didapatkan notasi a, b, bc dan cd. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 69 ppm dengan notasi cd adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan C dengan dosis 49 ppm dengan notasi bc diikuti oleh perlakuan B dengan dosis 29 ppm dengan notasi b dan A dengan dosis 9 ppm dengan notasi a. Adapun Grafik hubungan antara dosis ekstrak dengan hasil skoring hemoragi disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Insang yang Mengalami Kerusakan Hiperplasia

Berdasarkan grafik di atas dapat disimpulkan bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai scoring kerusakan semakin rendah. Didapatkan persamaan $y = 1.7146 - 0.00806x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0.782609 menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun kumis kucing memiliki

nilai determinasi 78% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun kumis kucing berpengaruh terhadap kerusakan hiperplasia insang pada ikan. Menurut Roslizawaty *et al.* (2013), semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka semakin tinggi kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri. Hal tersebut menyebabkan kemampuan bahan untuk membunuh bakteri semakin besar. Daun kumis kucing (*O. aristatus*) mengandung bahan aktif flavonoid.

Adapun mekanisme kerja bahan aktif flavonoid dan alkaloid menurut Retnowati *et al.* (2011), kerjanya senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktivkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel, keadaan ini dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada kerusakan membran sitoplasma, ion H⁺ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

Hyperplasia abnormal pada insang diduga diakibatkan adanya bakteri. Infeksi tersebut mengakibatkan organ insang mengalami iritasi dan mengeluarkan mucus (lendir) sebagai perlindungan terhadap serangan bakteri. Akan tetapi mucus yang dihasilkan justru menutup permukaan lamela insang sehingga pertukaran O₂ dengan CO₂ terhambat. Akibatnya tidak ada pengikatan oksigen oleh hemoglobin darah. Hal ini menyebabkan transportasi oksigen ke seluruh tubuh tidak lancar.

b. Fusi

Adapun hasil perhitungan rerata skoring kerusakan fusi lamella pada jaringan insang ikan Nila (*O. niloticus*) dapat disajikan pada Tabel 5.

Table 5. Rerata Skoring Kerusakan Fusi pada Jaringan Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	±SD
	1	2	3			
A (9 ppm)	1,8	1,6	1,6	5	1,67	± 0,12
B (29 ppm)	1,4	1,6	1,4	4,4	1,47	± 0,12
C (49 ppm)	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27	± 0,12
D (69 ppm)	1	1,2	1,4	3,4	1,13	± 0,12

Berdasarkan dari data Tabel 5 dapat ditunjukkan bahwa rerata kerusakan fusi pada jaringan insang ikan Nila (*O. niloticus*) secara berurutan A (9 ppm), B (29 ppm), C (49 ppm) dan D (69 ppm) yaitu 1,67, 1,47, 1,27 dan 1,13. Rerata terendah diperoleh pada perlakuan D (69 ppm) hal tersebut dapat diduga karena dosis ekstrak daun Kumis Kucing (*O. aristatus*) yang diberikan dapat mengobati ikan Nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. Hydrophila*. Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak daun Kumis Kucing (*O. aristatus*) terhadap kerusakan fusi pada jaringan insang dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Skoring Kerusakan Fusi Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.49	0.163333	12.25	4.07	7.59
Acak	8	0.1067	0.013333	*		
Total	11					

Keterangan * : Berbeda Nyata

Pada Tabel 6 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5% dan F hitung < F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun Kumis Kucing (*O. aristatus*) berpengaruh nyata terhadap fusi pada histopatologi insang ikan Nila yang terinfeksi bakteri *A.*

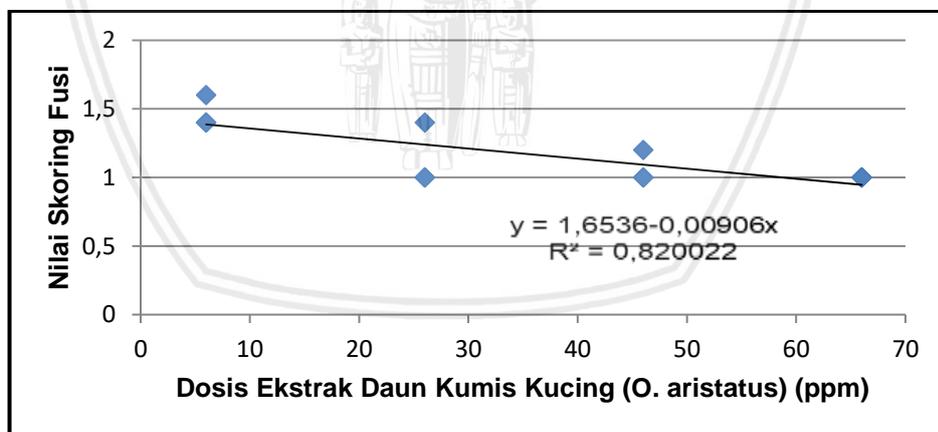
hydrophila. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada tabel 7.

Tabel 7. Uji BNT Skoring Fusi Jaringan Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.53	1.60	1.27	1.00	
A (9 ppm)	1.67					a
B (29 ppm)	1.47	0.20*				b
C (49 ppm)	1.27	0.53**	0.33**			c
D (69 ppm)	1.13	0.40**	0.20*	0.13 ^{ns}		cd

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

Pada tabel 7 terlihat bentuk kerusakan jaringan yang mengalami fusi didapatkan notasi a,b,c dan cd. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 69 ppm dengan notasi cd adalah perlakuan terbaik diikuti dengan perlakuan C dengan dosis 49 ppm dengan notasi c diikuti oleh perlakuan B dengan dosis berturut-turut 29 ppm dengan notasi b dan A dengan dosis 9 ppm dengan notasi a.



Gambar 11. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Skoring Insang yang Mengalami Kerusakan Fusi

Berdasarkan grafik diatas dapat diketahui bahwa dosis ekstrak berbanding terbalik dengan kerusakan jaringan, dimana apabila semakin tinggi dosis ekstrak maka nilai *scoring* kerusakan semakin rendah. Didapatkan persamaan $y = 1.6536 - 0.00906x$ yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni

0.820022 menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun kumis kucing memiliki nilai determinasi 82% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun kumis kucing berpengaruh terhadap presentase kerusakan jaringan. Menurut Lingga *et al.* (2015), semakin tinggi konsentrasi ekstrak ekstrak maka semakin banyak kandungan bahan aktif anti bakterinya. Hal tersebut menyebabkan kemampuan bahan untuk membunuh bakteri semakin besar. Daun kumis kucing (*O. aristatus*) mengandung bahan aktif flavonoid.

Mekanisme antibakteri flavonoid berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak, kestabilan dinding sel dan membran plasma terganggu kemudian pada akhirnya bakteri mengalami lisis (Salikin *et al.*, 2014).

Insang juga mengalami fusi lamela sekunder akibat adanya pembengkakan pada sel-sel insang (*edema*). Terjadinya fusi lamella sekunder mengakibatkan fungsi lamela sekunder terganggu dalam hal proses pengambilan oksigen. Hal tersebut menyebabkan ikan sulit bernafas dan kandungan oksigen dalam darah berkurang. Akibatnya ikan mengalami hipoksia, merangsang organisme untuk mengikat sel darah merah, dan merangsang hematokrit dan hemoglobin untuk meningkatkan mekanisme transfer oksigen di dalam tubuh. Oleh karena itu, lamela sekunder menyatu sehingga struktur lamela sekunder secara keseluruhan nampak seperti "daun".

4.3. Hasil Pengamatan Terhadap Kualitas Air Selama Penelitian

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.

4.3.1. Suhu

Pengukuran suhu pada penelitian ini dilakukan 2 kali sehari, yaitu pagi pada pukul 08.00 WIB dan pada sore hari pukul 16.00 WIB. Hasil pengukuran suhu air pada media penelitian berkisar antara 23,7°C – 25,5°C, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil pengukuran suhu tersebut masih dalam kisaran suhu untuk kehidupan ikan Nila (*O. niloticus*). Hal tersebut sesuai dengan pendapat Cahyono (2000), yang menyatakan bahwa ikan nila dapat menghendaki suhu air berkisar 15,5-30°C.

4.3.2. Derajat Keasaman (pH)

Hasil pengukuran pH yang dilakukan selama penelitian yaitu memiliki kisaran 6,95 – 7,50, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil pengukuran pH tersebut masih dikatakan dalam kisaran normal bagi kehidupan ikan Nila (*O. niloticus*). Menurut BSNI (2009), nilai pH untuk produksi ikan nila pada kolam air tenang berkisar 6,5-8,5, sedangkan Kordi K (2009), nilai pH air yang cocok untuk ikan nila (*O. niloticus*) adalah 6-8,5 dan nilai pH yang masih ditoleransi ikan nila adalah 5-11.

4.3.3. Oksigen Terlarut / Dissolved Oxygen (DO)

Hasil pengukuran DO selama penelitian berkisar antara 5,50 mg/l – 7,90 mg/l, data lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 5. Nilai DO tersebut masih dalam keadaan normal bagi kehidupan ikan Nila (*O. niloticus*) hal ini sesuai dengan pendapat Sucipto dan Prihartono (2007), bahwa untuk meningkatkan produktivitas ikan, kandungan oksigen terlarut dalam air sebaiknya dijaga pada level diatas 5 mg/liter, sementara jika kandungan oksigen terlarut berada dibawah 3mg/liter dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan ikan.

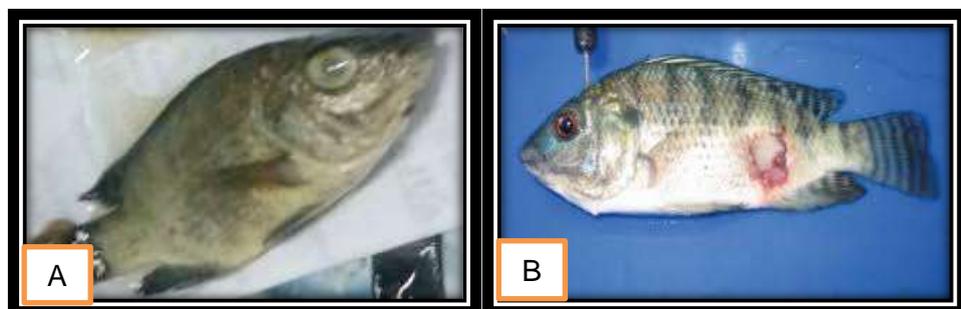
4.4. Pengamatan Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus*)

Pengamatan gejala klinis ikan Nila (*O. niloticus*) dilakukan selama 4 hari pemeliharaan setelah di uji tantang bakteri *A. Hydrophila* dengan kepadatan

bakteri yaitu 10^6 . Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa pada saat dilakukan perendaman bakteri reaksi ikan Nila (*O. niloticus*) yaitu pergerakan ikan sedikit pasif, ikan berenang dipermukaan air, warna tubuh menjadi sedikit gelap, sedangkan setelah direndam dengan ekstrak ikan terlihat kembali normal dan pergerakannya aktif. Pada saat dilakukan pembedahan siripnya terlihat geripis dan organ dalam terlihat pucat.

Menurut Khairuman dan Amri (2013), tanda-tanda umum ikan yang sakit yaitu laju pertumbuhan lambat, warna tubuh pucat, ikan sering berenang kepermukaan. Kemudian ikan mengalami kesulitan bernafas dan nafsu makan menurun. Selain itu, ikan akan mengeluarkan lendir berlebih bahkan bila parah dapat menyebabkan kematian.

Ada beberapa tanda ikan yang terinfeksi penyakit. Menurut Suwarno *et al.* (2014), gejala klinis yang ditunjukkan oleh ikan yang terinfeksi bakteri adalah nafsu makan berkurang, ikan cenderung tidak aktif, berenang tidak wajar, insang rusak, kadang-kadang terdapat bintik putih, berwarna pucat dan geripis. Sedangkan menurut Olga (2012), menyatakan bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* dapat menyebabkan gejala-gejala eksternal yaitu munculnya bercak-bercak putih pada tubuh ikan, mucus di seluruh tubuh berkurang, perut mengembung bengkak dan berwarna putih kekuningan. Berikut adalah gambaran kondisi ikan nila yang sakit dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Ikan nila (*O. niloticus*) yang Terinfeksi *A. hydrophila*, (A) Sirip geripis (B) Bercak merah

4.5. Analisis Kelulushidupan

Pada penelitian yang dilakukan kisaran kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang rendah mencapai 60% disebabkan oleh patogenitas bakteri *A. hydrophila*. Setelah didapatkan data kelulushidupan maka dilakukan uji normalitas yang disajikan pada Lampiran 7. Ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila* mengalami kematian karena bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian pada ikan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Taufik dan Saporinto (2008), bahwa *A. hydrophila* merupakan bakteri gram negatif. Dimana memiliki bentuk batang dan memiliki sifat motil. Bakteri *A. hydrophila* bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik sehingga mengakibatkan kematian pada ikan. Adapun kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	±SD
	1	2	3			
A	66,6	55,5	55,5	177,6	59,20	±6,41
B	83,3	61,1	61,1	205,5	68,50	± 12,82
C	83,3	77,7	72,2	233,2	77,73	± 5,55
D	88,8	83,3	83,3	255,4	85,13	± 3,18

Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O. aristatus*) terhadap insang pada ikan nila (*O. niloticus*) maka dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Sumber Keragaman Kelulushidupan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1139,396	379,7986	6,169652*	4,07	7,59
Acak	8	492,4733	61,55917			
Total	11					

Keterangan: (*) = berbeda nyata

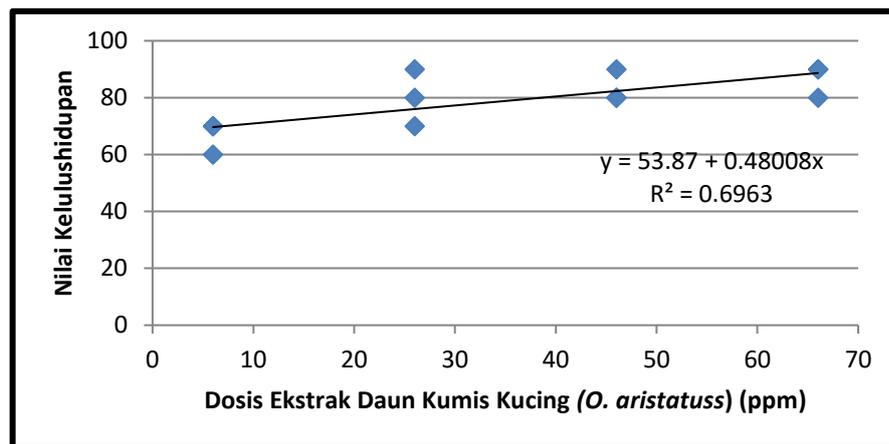
Pada Tabel 9 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F 5% dan F hitung < F 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun kumis kucing (*O.aristatus*) berpengaruh nyata terhadap Kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*). Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Uji BNT Kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		59,20	68,50	77,73	85,13	
A	59,20	-	-	-	-	a
B	68,50	9,30 ^{ns}	-	-	-	a
C	77,73	18,53*	9,23 ^{ns}	-	-	a
D	85,13	25,93**	16,63 ^{ns}	7,40 ^{ns}	-	a

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

Berdasarkan tabel 10, didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C, perlakuan C berbeda sangat nyata dengan perlakuan D. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 69 ppm dengan notasi bc adalah perlakuan terbaik diikuti perlakuan C dengan dosis 49 ppm dengan notasi ab diikuti perlakuan B dengan dosis 29 ppm dan A dengan dosis 9 ppm dengan notasi a. Adapun hubungan antara dosis ekstrak dan nilai kelulushidupan disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Hubungan antara Dosis dengan Nilai Kelulushidupan Ikan Nila (*O. niloticus*).

Dari grafik diatas didapatkan persamaan $y = 0.48008x + 53.87$ dan memiliki nilai koefisien determinasi yakni 0.6963 menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun kumis kucing memiliki nilai determinasi 69% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak daun kumis kucing (*O.aristatus*) yang digunakan berpengaruh terhadap presentase Kelulushidupan Ikan nila (*O. niloticus*). Semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan maka semakin tinggi nilai kelulushidupan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi ekstrak yang diberikan dapat mengurangi kematian ikan nila (*O. niloticus*). Hal tersebut dikarena ekstrak daun kumis kucing (*O.aristatus*) mengandung bahan antibakteri.

Kelulushidupan dengan histopatologi memiliki hubungan dimana semakin tinggi ekstrak yang diberikan maka semakin rendah nilai skoring histopatologi maka semakin tinggi pula nilai kelulushidupan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Roslizawaty *et al.* (2013), bahwa 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.

Kelulushidupan ikan dalam budidaya untuk mengetahui dalam proses budidaya dari awal ikan ditebar hingga akhir penelitian. Pada penelitian yang dilakukan kisaran kelulushidupan ikan nila (*O. niloticus*) yang rendah mencapai 60% disebabkan oleh patogenitas bakteri *A. hydrophila*. Terjadinya kematian pada ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* membuktikan bahwa bakteri tersebut bersifat patogen dan sangat virulen pada ikan.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

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

- Pemberian ekstrak daun kumis kucing (*O. aristatus*) berpengaruh terhadap pengobatan ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* dengan dosis yang berbeda
- Pemberian ekstrak melalui perendaman didapatkan dosis terbaik yaitu 69 ppm, dosis yang paling tinggi berpengaruh paling besar terhadap histopatologi insang ikan nila (*O. niloticus*)

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan hasil pada dosis 69 ppm mendapatkan hasil terbaik dibandingkan dosis 9 ppm, 29 ppm, dan 49 ppm, namun belum didapatkan dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis optimal dari pemberian ekstrak kasar daun Kumis Kucing (*O. aristatus*) untuk pengobatan ikan Nila (*O. niloticus*) tentang histopatologi insang yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adi, L. T. 2006. Tanaman obat dan Jus untuk Asam Urat dan Rematik. Agromedia Pustaka: Jakarta. 217 hlm.
- Alfia, A. R., Endang A dan Tita E. 2013. Pengaruh kepadatan yang berbeda terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada system resirkulasi dengan filter *bioball*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(3):86-93.
- Alshaws MA, Abdulla MA, Ismail S, Amin ZA, Qader SW, Hadi HA, Harmal NS. 2012. Antimicrobial and Immuno modulatory Activities of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Journal of Molecular medicine*. 17: 538-539
- Andayani, Sri., 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.
- Arifianti, L., R. D. Oktarina, dan I. Kusumawati. 2014. Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. 2(1):1-4.
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di budi daya pada jaring tancap di danau tondano. *Budidaya Perairan*. 2 (3): 24 – 30 hal.
- BSNI. 2009. SNI No.7550:2009 Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* *Bleeker*) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Budiman, E. D. 2013. Pengaruh ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap kontraktilitas otot polos vesika urinaria *Guinea pig in vitro*. *SKRIPSI*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatulloh.
- Burhanuddin, A. I. 2014. Ikhtiologi, Ikan dan Segala Aspek Kehidupannya. Deepublish. Yogyakarta. 421 hlm.
- Cahyono, B. 2000. Budi Daya Ikan Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. 113 hlm.
- Efendi, M. 2013. Beternak Cacing Sutera Cara Modern. Penebar Swadaya. Jakarta. 132 hlm.
- Effendie, M. I. 2002. Metodologi Biologi perikanan. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusantara. 109 hlm.
- Etriwati., D. Ratih., E. Handharyani dan S. Setyaningsih. 2017. Studi histopatologi limpa dan bursa fabricius ayam berpenyakit tetelo

(newcastle disease) pada kasus lapang. *Jurnal Veteriner*. 18 (4) : 510-515 hal.

- Haqqawiy, E. J., Winaruddin., D. Aliza, dan H. Budiman. 2013. Pengaruh kepadatan populasi terhadap gambaran patologi anatomi dan histopatologi insang ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(1):25-26.
- Indrayani, Dwi., Yusfiati, R. Elvyra. 2014. Struktur Insang Ikan *Ompok Hypophthalmus* (Bleeker 1846) Dari Perairan Sungai Siak Kota Pekanbaru. *Jom Fmipa*. 1(2) : 402-408 hlm.
- Irmawati, Y dan J. L. Dangeubun. 2014. Bakteri pada saluran pencernaan ikan nila (*O. niloticus*). *Jurnal Ilmiah agribisnis dan Perikanan*. 7(2) : 36-38 hal.
- Isaac, Stephen dan W. B. Michael. 1977. Handdbook in Research an Evaluation. Ediths Publisher: San Diego, California.
- Jawetz. 1996. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 20. EGC. Jakarta. 20 hlm.
- Jusup, I. 2015. 100 Resep Sehat Lezat dari Tanaman Herbal dari Tanaman Herbal dan Bumbu Dapur. Gramedia Pustaka Utama:Jakarta. 120 hlm.
- Kardinan, A., dan A. Ruhnayat. 2008. Budi Daya Tanaman Obat Secara Organik. Agromedia Pustaka:Jakarta. 87 hlm.
- Khairuman dan K. Amri. 2013. Budi Daya Ikan Nila. Agro Media Pustaka. 108 hlm.
- Khairuman, A dan Khairul Amri. 2003. Budidaya Ikan Nila Secara Intensif. Agromedia Pustaka. 357 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2009. Budi Daya Perairan Buku Kesatu. Citra Aditya Bakti. Bandung. 444 hlm.
- Kurniawan, A. 2012. Penyakit Akuatik. UBB Press. Pangkal Pinang. 225 hlm.
- Kusumadewi, M. R., I. W. B. Suyasa., I. K. Berata. 2015. Tingkat Biokonsentrasi Logam Berat Dan Gambaran Histopatologi Ikan Mujair (*Oreochromis Mossambicus*) Yang Hidup Di Perairan Tukad Badung Kota Denpasar. *Ecotrophic*. 9(1) : 25-34 hlm.
- Lestari, A. B. S., Susanti, L. U dan Dwiatmaka, Y. 2012. Optimasi pelarut etanol-air dalam proses ekstraksi herba pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) pada suhu terukur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik*. 14(2):87-93.
- Lingga, A.R., U. Pato dan E. Rossi. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2 (2): 1-15.
- Lukistyowati, I., dan Kurniasih. 2012. Pelacakan gen aerolysin dari *Aeromonas hydrophyla* pada ikan mas yang diberi pakan ekstrak bawang putih. *Jurnal veterinal*. 13(1):3-50.

- Mangunwardoyo, W., R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *a. hydrophila* stanier pada ikan nila (*O. niloticus* lin.) Melalui postulat koch. *J. Ris. Akuakultur*. 5(2): 245-255 hal.
- Muqlan, M., S. A. E. Rahimi, dan I. Dewiyanti. 2017. Pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan nila gesit (*Oreochromis niloticus*) pada sistem akuaponik dengan jenis tanamanyang berbeda. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsiyah*. 2(1):183-193.
- Murwani, S., D. Qosimah., dan I. A. Amri. 2017. Penyakit bakterial pada ternak hewan besar dan unggas. Universitas Brawijaya. 306 hlm.
- Nurin, W., D. Aliza, dan H. Budiman. 2018. Pengaruh kepadatan populasi terhadap gambaran patologi anatomi dan histopatologi insang ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(1):25-26.
- Olga. 2012. Patogenisitas Bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada Ikan Gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. 14 (1): 33-39.
- Proteggente, A.R., Evans, C.A.R., Wiseman, S., VandePut, F.H.M.M., The Relationship Between the Phenolic Composition and the Antioxidant Activity of Fruits and Vegetables dalam Evans, C.A.R and Parker, L. (Eds). 2003. *Flavonoids in Health and Disease*, 71, Marcel Dekker, Inc., Los Angeles, California.
- Rahmaningsih, S. 2016. Hama dan Penyakit Ikan. Deepublish. Yogyakarta. 352 hlm.
- Ramayulis, R. 2015. Green Smoothie. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 168 hlm.
- Retnowati, Y., N. Bialangi dan N. W. Posangi. 2011. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada media yang diekspos dengan infus daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). *SAINTEK*. 6 (2): 1-9.
- 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.
- Rukmana, H. R. 1997. Ikan Nila Budidaya dan Prospek Agribisnis. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 90 hlm.
- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Binacipta:Jakarta. 508 hlm.
- Salikin, R. Q., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap mortalitas dan histologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas caviae*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (3): 43-50.
- Samsundari, S. 2006. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*). *GAMMA*. 2(1): 71-83.

- Saputra, H. M., N. Marusin dan P. Santoso. 2013. Struktur Histologis Insang dan Kadar Hemoglobin Ikan Asang (*Osteochilus hasseltii* C.V) di Danau Singkarak dan Maninjau, Sumatera Barat. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2(2) : 138-144.
- Sari, D. S. 2013. Pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*O. niloticus*) dengan pemberian ekstrak etil asetat rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sastrosupadi, A. 1995. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Kanisius. 224 hlm.
- Savitri, A. 2016. Tanaman Ajaib, Basmi Penyakit dengan Toga. Bibit Publisher:Jakarta. 200 hlm.
- Siswandari, W. 2005. Nilai diagnostic pemeriksaan imunositokimia limfosit sediaan apus darah tepi dibandingkan analisis kromosom pada penderita dengan dugaan sindroma fragile x. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Sucipto dan Prihartono. 2007. Pembesaran Nila Hitam Bangkok di Karamba Jaring Apung, Kolam Air Deras, Kolam Air Tenang dan Karamba. Penebar Swadaya. Jakarta. 25-40 hlm.
- Supriyadi, H. dan Tim Lentera. 2003. Mewaspada dan Menanggulangi Penyakit Pada Louhan. Agromedia Pustaka. Jakarta. 55 hlm.
- Suwarno, Y. F., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Sensitifitas bakteri yang berasosiasi dengan penyakit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) terhadap berbagai macam obat ikan yang beredar di kabupaten Pati. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (4) :134-141.
- Suyanto, R. 2010. Pembenihan dan Pembesaran Nila. Penebar Swadaya. Jakarta. 124 hlm.
- Suyanto. 2003. Pembenihan dan Pembesaran Nila. Penebar Swadaya. Jakarta. 124 hlm.
- Taufik, A. dan C. Saparinto. 2008. Usaha Pembesaran Belut, Penebar Swadaya. Jakarta. 99 hlm.
- Utami, P. dan D. E. Puspaningtyas. 2013. The Miracle of Herbs. Agro Media:Jakarta. 216 hlm.
- Utami, P. 2008. Buku Pintar Tanaman Obat, 431 jenis tanaman penggempur aneka penyakit. Agromedia Pustaka. Jakarta. 336 hlm.
- Wahjuningrum, D., E. H. Solikhah., T. Budiardi, dan M. Setiawati. 2010. Pengendalian infeksi *Aeromonas hydrophil* pada ikan lele dumbo (*Clarias sp.*) dengan campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan bawang putih (*Allium sativum*) dalam pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9(2):93-103.

Yulianti, R., D. A. Nugraha, dan L. Nurdianti. 2015. Formulasi sediaan sabun mandi cair ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* (Bi) Miq). *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(2):1-11 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian

		
Spektrofotometer	Vortex Mixer	Aquarium
		
Gelas Ukur	Bunsen	Seser
		
Mikroskop	Timbangan Digital	Jarum Ose

		
Mikropipet	Lemari Pendingin	Rak Tabung Reaksi

		
Objek Glass	LAF	Timbangan Analitik
		
Hotplate	Beaker Glass	Spatula



Botol Sampel



Tabung Reaksi



Nampan



Inkubator



Erlenmeyer



Corong



Evaporator



PH Meter



DO Meter



Sectio Set



Lap Basah



Sprayer



Cawan Petri



Gunting



Selang Aerasi



Batu Aerasi

Lampiran 2. Bahan Penelitian

 <p>Ethanol 70%</p>	 <p>Latex</p>	 <p>Masker</p>
 <p>Formalin 10%</p>	 <p>Daun Kumis Kucing</p>	 <p>Kertas Label</p>
 <p>Spirtus</p>	 <p>Alumunium Foil</p>	 <p>Tissue</p>

		
Akuades	Korek	Serbuk Daun Kumis Kucing

		
Benang Kasur	Isolat Bakteri A. Hydrophila	Kapas
		
Kertas Saring	Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	Insang Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)



Lampiran 3. Hasil Skoring Jaringan Insang Ikan Nila (*O. niloticus*)

Organ	Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang					Rerata LP	Rerata Sampel	
				1	2	3	4	5			
Hiperplasia	A	1	1	2	2	1	1	3	1,80	1,67	
			2	1	3	1	1	2	1,60		
			3	2	2	2	1	1	1,60		
		B	1	3	2	1	2	1	1,80		1,73
			2	1	1	2	2	2	1,60		
			3	2	1	2	2	1	1,80		
		C	1	2	2	1	2	2	1,80		1,53
			2	2	2	1	1	1	1,40		
			3	1	1	2	2	1	1,40		
	D	1	2	1	1	2	1	1,40	1,40		
		2	2	1	2	2	1	1,60			
		3	1	2	1	1	1	1,20			
	K(-)	1	3	2	3	3	2	2,60	2,33		
		2	2	2	3	2	3	2,40			
		3	2	2	2	2	2	2			
	K(+)	1	1	1	1	1	2	1	1,00		
		2	1	1	1	1	1	1			
		3	1	1	1	1	1	1			
Insang	A	1	1	2	1	3	2	1	1,80	1,80	
			2	2	3	2	1	1	1,80		
			3	1	1	3	2	2	1,80		
		B	1	2	2	3	2	1	2		1,86
			2	1	2	2	3	3	2,20		
			3	1	1	2	2	1	1,40		
	C	1	2	2	1	2	2	1,80	1,80		
		2	1	2	2	2	2	1,80			
		3	2	2	2	2	1	1,80			
	D	1	1	1	1	3	1	1,40	1,73		
		2	2	2	3	3	2	2,40			
	Fusi	A	1	1	2	1	3	2	1	1,80	1,80
2				2	3	2	1	1	1,80		
3				1	1	3	2	2	1,80		
B		1	2	2	3	2	1	2	1,86		
		2	1	2	2	3	3	2,20			
		3	1	1	2	2	1	1,40			
C	1	2	2	1	2	2	1,80	1,80			
	2	1	2	2	2	2	1,80				
	3	2	2	2	2	1	1,80				
D	1	1	1	1	3	1	1,40	1,73			
	2	2	2	3	3	2	2,40				

	3	1	3	1	1	1	1,40	
K(-)	1	3	2	2	2	2	2,20	
	2	2	2	2	3	3	2,40	2,26
	3	1	3	3	2	2	2,20	
K(+)	1	1	1	1	1	1	1	
	2	1	1	1	1	1	1	1,00
	3	1	1	1	1	1	1	



Lampiran 4. Perhitungan Kerusakan Jaringan Insang Ikan Nila

a) Hiperplasia

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A (9 ppm)	1,8	1,8	1,6	5,2	1,73	± 0,12
B (29 ppm)	1,6	1,6	1,4	4,6	1,53	± 0,12
C (49 ppm)	1,4	1,4	1,2	4	1,33	± 0,12
D (69 ppm)	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27	± 0,12
Total	4,8	6	5,4	17,6	5,86	0,48

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (17,6)^2 / 12 \\ &= 309,76 / 12 \\ &= 25,81 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - \text{FK} \\ &= (1,8)^2 + (1,8)^2 + (1,6)^2 + (1,6)^2 + \dots + (1,2)^2 - \text{FK} \\ &= 0,51 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{4,8^2 + 6^2 + 5,4^2}{3} - 25,81 \\ &= 3,59 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,51 - 0,40 \\ &= 0,11 \end{aligned}$$

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

$$\text{Db Perlakuan} = (t) - 1 = (4) - 1 = 3$$

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} = \frac{0,40}{3} = 0,13$$

$$\text{KT Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{0,10}{8} = 0,012$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Acak}} = \frac{0,13}{0,012} = 10,83$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	0,4	0.133333	10	4.07	7.59

Acak	8	0.1067	0.013333	*
Total	11			

Keterangan * : Berbeda Nyata



Lampiran 4. (Lanjutan)

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2} \text{ KT acak/r} = \sqrt{2} \times 0,012 / 3 = 0,15 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,306 / 0,15 = 0,36 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,355 / 0,15 = 0,52 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.73	1.53	1.33	1.27	
A (9 ppm)	1.73					a
B (29 ppm)	1.53	0.20*				b
C (49 ppm)	1.33	0.40**	0.20 ^{ns}			bc
D (69 ppm)	1.27	0.47**	0.27*	0.07 ^{ns}		cd

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

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	5,2	-3	1	-1
B	4,6	-1	-1	3
C	4	1	-1	-3
D	3,8	3	1	1
Q= Σci*Ti		-4,8	-0,40	-0,4
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci²)*r		60	12	60
JK=Q²/Kr		0,384	0,013333	0,002667

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 0,384 + 0,013333 + 0,002667 \\ &= 0,4 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,4			3,48	5,99
Linier	1	0,384	0,384	28,8**		
Kuadratik	1	0,013333	0,013333	1 ^{ns}		
Kubik	1	0,002667	0,002667	0,2 ^{ns}		
Acak	8	0,1067	0,036667			
Total	11	0,906667				

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

Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,384}{0,384 + 0,1067} = 0,782533$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 1,7146 - 0,008067x$
 dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	xy	X ²
A1	9	1,8	16,2	81
A2	9	1,8	16,2	81
A3	9	1,6	14,4	81
B1	29	1,6	46,4	841
B2	29	1,6	46,4	841
B3	29	1,4	40,6	841
C1	49	1,4	68,6	2401
C2	49	1,4	68,6	2401
C3	49	1,2	58,8	2401
D1	69	1,4	96,6	4761
D2	69	1,2	82,8	4761
D3	69	1,2	82,8	4761
Total	$\sum x = 468$	$\sum y = 17,6$	$\sum xy = 638$	$\sum x^2 = 24252$

Mencari b1

$$\begin{aligned} b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\ &= \frac{638 - \frac{8436}{12}}{24252 - \frac{219024}{12}} \\ &= -\frac{48,4}{6000} \\ &= -0,008067 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} b_0 &= \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n}) \\ &= \frac{17,6}{12} - (-0,008067 \cdot \frac{468}{12}) \\ &= 1,4 + 0,3146 \\ &= 1,7146 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 1,87146 - 0,008067x$

b) Fusi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A (9 ppm)	1,8	1,6	1,6	5	1,67	± 0,12
B (29 ppm)	1,4	1,6	1,4	4,4	1,47	± 0,12
C (49 ppm)	1,4	1,2	1,2	3,8	1,27	± 0,12
D (69 ppm)	1	1,2	1,4	3,4	1,13	± 0,12
Total	5,6	5,6	5,6	16,6	5,54	0,48

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi} &= \text{Total}^2 / n.r \\ &= (16,6)^2 / 12 \\ &= 22,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= (A1)^2+(A2)^2+(A3)^2+(B1)^2+.....+(D3)^2\text{-FK} \\ &= (1,8)^2+(1,6)^2+(1,6)^2+(1,4)^2+.....+(1,4)^2\text{-FK} \\ &= 1,12 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - \text{FK} \\ &= \frac{5,6^2 + 5,6^2 + 5,6^2}{3} - 22,96 \\ &= 8,96 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Acak} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 1,12 - 0,38 \\ &= 0,16 \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t)\text{-1} = (4)\text{-1} = 3 \\ \text{Db Acak} &= \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8 \end{aligned}$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,49}{3} = 0,163$$

$$\text{KT Acak} = \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{0,1067}{8} = 0,013$$

$$\text{F Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{0,163}{0,013} = 12,53$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.49	0.163333	12,25*	4,07	7,59
Acak	8	0.1067	0.013333			
Total	11					

Keterangan*:Berbeda Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2} \text{ KT acak/r} = \sqrt{2} \times 0,02 / 3 = 0,11 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = 2,306 / 0,11 = 0,266 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = 3,355 / 0,11 = 0,387 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1.53	1.60	1.27	1.00	
A (9 ppm)	1.67					a
B (29 ppm)	1.47	0.20*				B
C (49 ppm)	1.27	0.53**	0.33**			c
D (69 ppm)	1.13	0.40**	0.20*	0.13 ^{ns}		cd

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

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	5	-3	1	-1
B	4,4	-1	-1	3
C	3,8	1	-1	-3
D	3,4	3	1	1
Q= $\sum Ci \cdot Ti$		-5,4	0,2	0,2
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum Ci^2) \cdot r$		60	12	60
JK= Q^2 / Kr		0,486	0,003333	0,000667

$$\begin{aligned} \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 0,486 + 0,003333 \\ &= 0,489333 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0,49			3,48	5,99
Linier	1	0,486	0,486	36,45**		
Kuadratik	1	0,003333	0,003333	0,25 ^{ns}		
Kubik	1	0,000667	0,000667	0,05 ^{ns}		
Acak	8	0,1067	0,013333			
Total	11	1,086667				

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

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,486}{0,486 + 0,1067} = 0,819976$$

Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 1.6536 - 0.009067x$ dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	xy	X ²
A1	9	1,8	16,2	81
A2	9	1,6	14,4	81
A3	9	1,6	14,4	81
B1	29	1,4	40,6	841
B2	29	1,6	46,4	841
B3	29	1,4	40,6	841
C1	49	1,4	68,6	2401
C2	49	1,2	58,8	2401
C3	49	1,2	58,8	2401
D1	69	1	69	4761
D2	69	1,2	82,8	4761
D3	69	1,2	82,8	4761
Total	$\sum x = 468$	$\sum y = 16,6$	$\sum xy = 593$	$\sum x^2 = 24252$

Mencari b1

$$\begin{aligned}
 b_1 &= \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} \\
 &= \frac{593 - \frac{16,6 \cdot 468}{12}}{24252 - \frac{468^2}{12}} \\
 &= \frac{54,4}{6000} \\
 &= -0,009
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 b_0 &= \frac{\sum y}{n} - (b_1 \cdot \frac{\sum x}{n}) \\
 &= \frac{16,6}{12} - (-0,009 \cdot \frac{468}{12}) \\
 &= 1,3 + 0,3536 \\
 &= 1,6536
 \end{aligned}$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 1.6536 - 0,009067x$

c) **SR**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A (9 ppm)	66,6	66,6	55,5	177.6	59.20	±6,41
B (29 ppm)	83.3	61,1	61,1	205.5	68.50	±12,82
C (49 ppm)	83,3	77,7	72,2	233.2	77.73	±5,55



D (69 ppm)	88,8	83,3	83,3	255.4	85.13	±3,18
Total	322	277.6	272.1	871,7	290.57	27.95

Faktor Koreksi = $\frac{\text{Total}^2}{n \cdot r}$
 = $\frac{(871,7)^2}{12}$
 = 63321,74

Jumlah Kuadrat (JK) Total = $(A1)^2 + (A2)^2 + (A3)^2 + (B1)^2 + \dots + (D3)^2 - FK$
 = $(66,6)^2 + (66,6)^2 + (55,5)^2 + (83,3)^2 + \dots + (83,3)^2 - FK$
 = 1631,82

Jumlah Kuadrat Perlakuan = $\frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2}{r} - FK$
 = $\frac{322^2 + 277,6^2 + 272,1^2}{3} - 63321,74$
 = 1139,39

Jumlah Kuadrat Acak = JK Total – JK Perlakuan
 = 1631,82 – 1139,39
 = 492,47

Derajat Bebas (db) Total = $(t) \cdot (r) - 1$
 = $(4) \cdot (3) - 1$
 = 11

Db Perlakuan = $(t) - 1 = (4) - 1 = 3$
 Db Acak = db Total – db Acak = 11 – 3 = 8

Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{1139,39}{3} = 379,79$

KT Acak = $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{492,47}{8} = 61,55$

F Hitung = $\frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} = \frac{379,79}{61,55} = 6,16$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	1139.39	379.798	6.169652	4,07	7,59
Acak	8	492.473	61.5591	*		
Total	11					

Keterangan * : Berbeda Nyata

Karena didapatkan nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1%, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai BNT

SED = $\sqrt{2} \text{ KT acak} / r$ = $\sqrt{2} \times 61,55 / 3 = 6,40$
 BNT 5% = t tabel 5% x SED = 2,306 / 6,40 = 14,77
 BNT 1% = t table 1% x SED = 3,355 / 6,40 = 21,49



Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		59.20	68.50	77.73	85.13	
A (9 ppm)	59.20					a
B (29 ppm)	68.50	9.30 ^{ns}				a
C (49 ppm)	77.73	18.53*	9.23 ^{ns}			a
D (69 ppm)	85.13	25.93**	16.63*	7.40 ^{ns}		a

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

Perhitungan Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	177.6	-3	1	-1
B	205.5	-1	-1	3
C	233.2	1	-1	-3
D	255.4	3	1	1
Q= Σci*Ti		261.1	-5.7	-5.3
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= (Σci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		1136.22	2.7075	0,468167

JK Regresi Total = JK Linear + JK Kuadratik + JK Kubik
 = 1136.22 + 2,7075 + 0,468167
 = 1139.395833

Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1139.39				
Linier	1	1136.22	1136.22	18.45737*		
Kuadratik	1	2.7075	2.7075	0.043982 ^{ns}		
Kubik	1	0.46816	0.46816	0,007605 ^{ns}		
Acak	8	492.473	61.5591			
Total	11	2771.26				

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

Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{JK \text{ Linear} + JK \text{ Acak}} = \frac{1136,22}{1136,22 + 492,4733} = 0.697626758$$



Persamaan regresi linear yang diperoleh adalah $y = 53.87 + (0.48008x)$

dengan perhitungan sebagai berikut:

Perlakuan	X	Y	Xy	X ²
A1	9	66.6	599.4	81
A2	9	55.5	499.5	81
A3	9	55.5	499.5	81
B1	29	83.3	2415.7	841
B2	29	61.1	1771.9	841
B3	29	61.1	1771.9	841
C1	49	83.3	4081.7	2401
C2	49	77.7	3807.3	2401
C3	49	72.2	3807.3	2401
D1	69	88.8	6127.2	4761
D2	69	83.3	5747.7	4761
D3	69	83.3	5747.7	4761
Total	$\sum x = 468$	$\sum y = 871.7$	$\sum xy = 36876.8$	$\sum x^2 = 24252$

Mencari b1

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

$$= 0.48008$$

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

$$= 53.87$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1 \cdot x$ sehingga didapatkan persamaan $y = 53.87 + 0.48008x$

Lampiran 5. Data Kualitas Air

a) Suhu

Kode	Sabtu		Minggu		Senin		Selasa	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
A1	25,2	24,7	25,3	24,6	24,5	24,2	24,6	24,7
A2	25,5	24,7	25,3	25,1	24,2	25,1	24,7	23,9
A3	25,5	24,8	24,6	25,3	25,3	24,9	24,9	23,9
B1	24,8	25,1	24,1	25,1	24,6	24,7	24,2	24,6
B2	25,1	25,1	24,1	24,7	24,7	25,3	24,2	24,6
B3	23,7	25,2	24,7	25,2	25,3	24,2	25,2	25,2
C1	23,7	23,8	25,2	25,3	24,1	25,2	25,1	23,7
C2	24,9	23,9	23,7	24,6	25,1	23,9	25,1	25,3
C3	24,8	25,3	24,3	24,8	23,9	25,3	24,6	25,2
D1	23,8	25,3	25,1	23,7	23,7	24,5	24,7	24,8
D2	23,7	25,2	24,3	24,9	24,7	24,5	24,9	24,9
D3	24,8	24,9	24,7	24,5	24,8	23,7	24,5	25,3
K+1	24,1	24,8	24,8	24,2	24,9	25,1	23,7	25,3
K+2	24,2	23,7	25,3	24,7	25,2	23,9	25,1	24,8
K+3	25,2	23,7	24,5	24,7	25,2	24,6	25,3	24,9
K-1	25,2	24,9	24,5	24,4	25,1	23,7	25,3	25,1
K-2	24,8	24,8	24,9	24,4	24,9	24,6	24,1	24,3
K-3	23,8	24,9	25,1	25,1	24,8	25,3	24,1	24,6

Kisaran suhu selama penelitian adalah 23,7 sampai dengan 25,5

Lampiran 5. (Lanjutan)**b) pH**

Kode	Sabtu		Minggu		Senin		Selasa	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
A1	7,15	7,33	7,11	7,21	7,41	6,96	7,13	7,33
A2	7,20	7,23	6,96	7,17	7,37	7,10	7,20	6,96
A3	7,12	7,26	7,04	7,24	7,40	7,20	6,95	7,40
B1	7,30	7,14	7,11	7,50	7,35	7,23	7,25	6,96
B2	7,25	7,18	6,95	7,22	7,30	7,05	6,98	7,18
B3	6,95	6,96	7,01	6,99	7,25	7,22	7,16	6,97
C1	7,16	7,35	6,98	7,02	7,22	7,16	7,18	7,22
C2	7,05	7,26	7,13	7,32	7,48	7,30	7,13	7,25
C3	6,95	7,09	6,98	7,03	7,28	7,40	6,96	7,13
D1	7,10	7,17	6,95	7,30	7,19	6,96	7,11	7,41
D2	7,15	7,12	7,40	7,21	7,06	7,12	6,96	7,30
D3	7,20	7,20	7,05	7,13	7,32	6,98	7,30	7,40
K+1	7,20	7,09	7,05	7,18	7,38	7,11	7,23	7,06
K+2	7,25	6,97	6,95	7,13	7,36	7,10	7,23	6,96
K+3	7,30	7,37	7,24	7,48	7,40	7,17	7,15	7,25
K-1	6,95	7,01	7,10	7,13	7,41	7,04	6,98	7,05
K-2	7,12	6,96	7,15	7,10	7,30	7,24	7,17	6,95
K-3	7,17	6,96	6,97	6,98	7,32	7,05	7,06	7,12

Kisaran pH selama penelitian adalah 6,95 sampai 7,50

Lampiran 5 (Lanjutan)

c) Oksigen Terlarut

Kode	Sabtu		Minggu		Senin		Selasa	
	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
A1	6,63	6,37	7,90	7,30	7,72	6,58	6,25	7,35
A2	5,77	7,30	5,63	7,25	7,12	7,87	7,45	7,87
A3	6,99	6,50	6,37	5,63	6,25	6,96	7,45	6,96
B1	6,58	5,50	6,20	7,34	7,35	7,34	5,78	5,85
B2	6,20	5,63	7,90	7,20	6,90	7,72	5,78	5,99
B3	6,99	6,10	6,96	7,20	5,78	7,90	6,83	5,63
C1	5,50	7,75	6,11	7,05	5,77	5,50	6,25	5,63
C2	5,77	7,65	7,30	6,99	6,83	6,25	6,25	6,83
C3	7,30	7,72	5,77	6,99	7,70	7,90	5,57	6,96
D1	7,72	7,12	6,11	7,35	7,65	7,80	7,70	6,11
D2	7,45	7,35	7,14	7,35	7,34	6,25	7,72	7,75
D3	7,90	5,57	7,10	6,11	6,10	6,37	5,77	7,35
K+1	7,30	6,25	7,25	6,58	6,10	6,58	6,50	7,75
K+2	6,58	6,20	7,34	7,34	6,37	5,57	5,50	7,35
K+3	6,10	5,50	6,37	7,80	6,90	5,99	7,12	7,14
K-1	6,25	7,05	6,83	7,50	5,78	6,96	7,25	7,20
K-2	7,65	5,99	7,15	7,15	7,45	5,99	7,87	7,87
K-3	7,87	5,57	7,25	6,83	7,34	6,25	7,45	7,90

Kisaran oksigen terlarut selama penelitian adalah 5,50 sampai dengan 7,90

Lampiran 6. Normalitas Kelulushidupan Ikan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan	Ulangan	Hasil
N		12	12	12
Normal Parameters ^a	Mean	2.50	2.00	72.6417
	Std. Deviation	1.168	.853	1.2180E1
Most Extreme Differences	Absolute	.166	.213	.226
	Positive	.166	.213	.162
	Negative	-.166	-.213	-.226
Kolmogorov-Smirnov Z		.574	.737	.783
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897	.648	.573

a. Test distribution is Normal.



