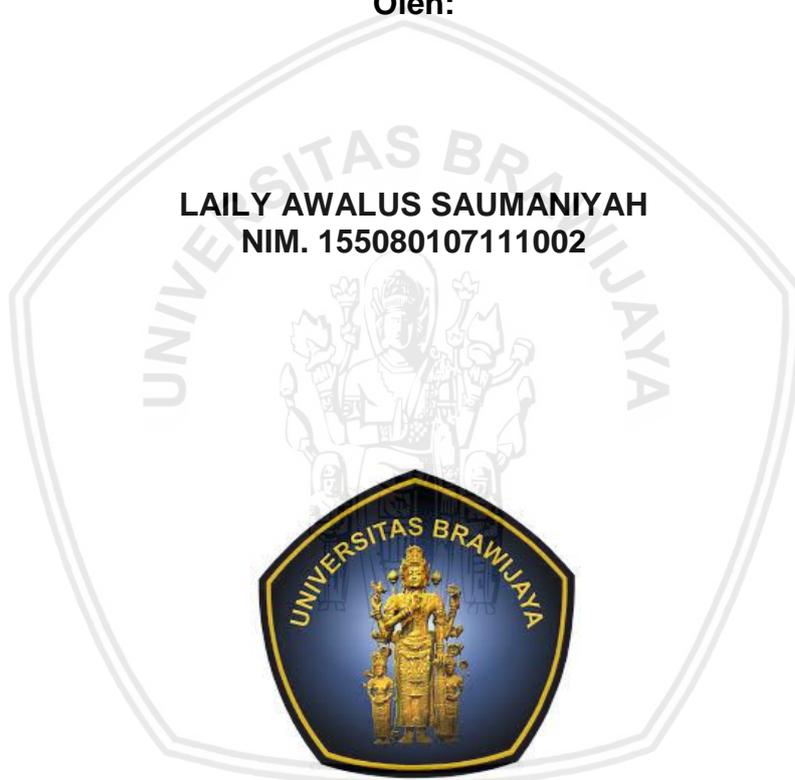


MANAJEMEN PENGENDALIAN *Myxobolus* sp. PADA IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) DENGAN PEMBERIAN PROTEIN LIQUID *Brachionus plicatilis* SECARA IN VIVO

SKRIPSI

Oleh:

**LAILY AWALUS SAUMANIYAH
NIM. 155080107111002**



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

MANAJEMEN PENGENDALIAN *Myxobolus* sp. PADA IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) DENGAN PEMBERIAN PROTEIN LIQUID *Brachionus plicatilis* SECARA IN VIVO

SKRIPSI

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

Oleh:

**LAILY AWALUS SAUMANIYAH
NIM. 155080107111002**



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

SKRIPSI

MANAJEMEN PENGENDALIAN *Myxobolus* sp. PADA IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) DENGAN PEMBERIAN PROTEIN LIQUID *Brachionus plicatilis* SECARA IN VIVO

Oleh:

LAILY AWALUS SAUMANIYAH
NIM. 155080107111002

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 14 Mei 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

Menyetujui,
Dosen Pembimbing




Dr. Ir. M. Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 23 MAY 2019


Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si.
NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal: 23 MAY 2019

HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI

**Judul :MANAJEMEN PENGENDALIAN *Myxobolus* sp. PADA IKAN KOI
(*Cyprinus carpio*) DENGAN PEMBERIAN PROTEIN LIQUID
Brachionus plicatilis SECARA IN VIVO**

Nama Mahasiswa : Laily Awalus Saumaniyah

NIM : 155080107111002

Program Studi : Manajemen Sumberdaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Muhammad Musa, MS

Dosen Penguji 2 : Andi Kurniawan, S.Pi., M.Eng., D.Sc

Tanggal Ujian : 14 Mei 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

Nama : Laily Awalus Saumaniyah
NIM : 155080107111002
Prodi : Manajemen Sumberdaya Perairan

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

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

Malang, 18 Mei 2019

Laily Awalus Saumaniyah

UCAPAN TERIMAKASIH

Disampaikan Terima Kasih Kepada :

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Brawijaya

Yang Telah Membiayai :

Skema Doktor Mengabdi

Melalui Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP) Universitas Brawijaya
Sesuai dengan Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Brawijaya
Nomor DIPA-042.01.2.400919/2018

Dengan Judul :

“Manajemen Pengendalian *Myxobolus* sp. Pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)
Dengan Pemberian Protein Liquid *Brachionus plicatilis* Secara In Vivo”

Sebagai Ketua Peneliti **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si**

Anggota Tim Peneliti :

1. Laily Awalus Saumaniyah
2. Sella Marlinda
3. Indra Kurniawan
4. Tri Afida

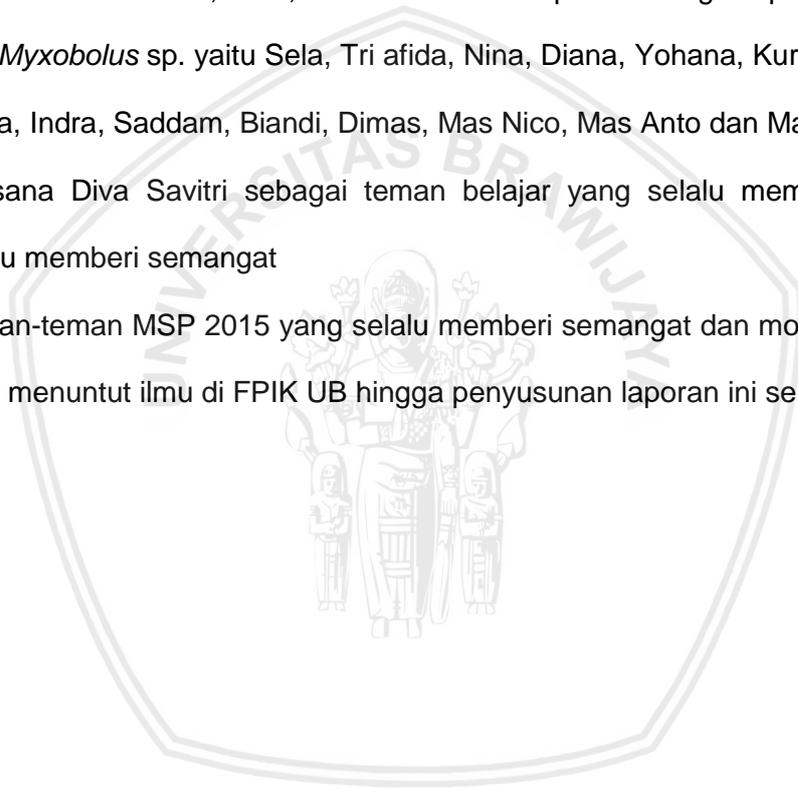
Ketua Tim Peneliti

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si
NIP. 19730404 200212 2 001

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesainya laporan Skripsi ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa
2. Kedua orang tua, adik dan saudara penulis yang senantiasa terus memberikan doa, motivasi dan dukungannya selama ini
3. Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing skripsi
4. Tim *Myxobolus* sp. yaitu Sela, Tri afida, Nina, Diana, Yohana, Kurnia, Nabila, Mega, Indra, Saddam, Biandi, Dimas, Mas Nico, Mas Anto dan Mas Feri
5. Yussana Diva Savitri sebagai teman belajar yang selalu membantu dan selalu memberi semangat
6. Teman-teman MSP 2015 yang selalu memberi semangat dan motivasi mulai awal menuntut ilmu di FPIK UB hingga penyusunan laporan ini selesai.



RINGKASAN

Laily Awalus Saumaniyah. Skripsi tentang Manajemen Pengendalian *Myxobolus* Sp. Pada Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) Dengan Pemberian Protein Liquid *Brachionus Plicatilis* Secara In Vivo (dibawah bimbingan **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si**)

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) adalah salah satu jenis ikan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan banyak dikembangkan. Ikan koi (*Cyprinus carpio*) memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan dan makanan yang tersedia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk Mengetahui pengaruh pemberian protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* dengan dosis yang berbeda terhadap status histopatologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Maret 2019, di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan cara pengambilan data meliputi, data primer dan data sekunder. Pengumpulan data dilakukan dengan cara wawancara, partisipasi aktif, observasi lapangan dan studi pustaka. Kegiatan-kegiatan yang dilakukan pada penelitian ini analisis protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* dengan metode SDS-PAGE, pengambilan sampel ikan dan air, uji in vivo terhadap ikan sehat maupun ikan yang terkena parasit *Myxobolus* sp. dan pembuatan preparat serta pengamatan preparat organ histopatologi yang meliputi insang, ginjal dan usus. Pada kegiatan penelitian ini juga dilakukan pengontrolan kualitas air selama tiga hari sekali yaitu meliputi suhu, pH, Oksigen Terklarut, Karbondioksida. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 8 perlakuan. Perlakuan kontrol dilakukan untuk mempermudah penganalisaan hasil. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 24 sampel. Data hasil pengamatan jaringan insang, ginjal dan usus dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan hasil pengamatan dengan gejala klinis yang sesuai dengan penyakit dan skoring. Semua analisa termasuk data hasil kerusakan jaringan akan diulang sebanyak tiga kali dari masing-masing perlakuan dan di uji secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) sesuai rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil kuantifikasi protein didapatkan hasil kandungan protein supernatan sebesar 24,92 mg/ml dengan nilai absorbansi 1,76 dan kuantifikasi protein untuk pellet *Brachionus plicatilis* sebesar 5,38 mg/ml dengan nilai absorbansi 1,36. Hasil dari analisis SDS-PAGE rofil protein supernatan *Brachionus plicatilis* terbentuk hasil pita sebanyak 3 dengan berat molekul sebesar 13,77 kDa ; 75,49 kDa dan 122,73 kDa. Kerusakan histopatologi pada jaringan insang didapatkan 3 jenis macam kerusakan yaitu edema, hiperplasia dan fusi lamella; pada jaringan ginjal didapatkan 2 jenis macam kerusakan yaitu edema dan hipertrofi dan pada jaringan usus didapatkan 2 jenis kerusakan yaitu kongesti dan hemoragi. Hasil kualitas air selama pemeliharaan termasuk optimal untuk kehidupan ikan koi pada setiap perlakuan yaitu suhu 24,5 – 24,5°C , pH 7– 8, DO 4,39 – 4,90 mg/l dan CO₂ 8,09 – 9,05 mg/l.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkah, karunia serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan Skripsi dengan judul **“Manajemen Pengendalian *Myxobolus* Sp. Pada Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) Dengan Pemberian Protein Liquid *Brachionus Plicatilis* Secara In Vivo”**. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si selaku dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan laporan ini.

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

Malang, April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	viii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	ix
RINGKASAN.....	ix
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat	8
2.1.3 Kebiasaan Makan	8
2.1.4 Kelangsungan Hidup.....	9
2.2 <i>Myxobolus</i> sp.....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	10
2.2.3 Siklus Hidup	11

2.2.4 Gejala Klinis	12
2.2.5 Dampak Infeksi <i>Myxobolus</i> sp.....	13
2.3 <i>Brachionus plicatilis</i>	14
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	14
2.3.2 Habitat	16
2.3.3 Reproduksi.....	17
2.3.5 Kandungan Gizi.....	18
2.4 Histopatologi	18
2.4.1 Organ Histopatologi	20
a. Insang.....	20
b. Ginjal.....	21
c. Usus.....	22
2.5 Kualitas Air.....	23
2.5.1 Parameter Fisika	23
2.5.2 Parameter Kimia	24
2.6 Analisis Protein	25
2.6.1 Pengertian, Struktur Protein dan Fungsi Protein.....	25
2.6.2 Pengertian, Struktur dan Jenis Asam Amino	27
2.6.3 NanoDrop ND-1000	29
2.6.4 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (<i>Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis</i>)	30
III. METODE PENELITIAN	32
3.1 Materi Penelitian	32
3.2. Alat dan Bahan	32
3.3 Metode Pengambilan Data.....	32
3.4 Teknik Pengumpulan Data.....	33
3.4.1 Data Primer.....	33
3.4.2 Data Sekunder	34
3.5 Kerangka Konseptual.....	35
3.6 Prosedur Penelitian.....	36
3.6.1 Kuantifikasi Protein Menggunakan NanoDrop ND-1000	36
3.6.2 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (<i>Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis</i>)	36
3.6.3 Pengambilan Sampel Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	40
3.6.4 Teknik Pengambilan Sampel Air	40
3.6.5 Uji In-vivo Protein Liquid <i>Brachionus plicatilis</i> pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	41

3.6.6	Pembuatan Preparat Histopatologi Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	42
3.6.7	Pengamatan Preparat Irisan Jaringan Insang, Ginjal dan Usus.....	44
3.7	Prosedur Analisa Kualitas Air.....	46
3.7.1	Parameter Fisika	46
3.7.2	Parameter Kimia	46
3.8	Analisis Data.....	47
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	50
4.1	Kuantifikasi Protein Menggunakan NanoDrop ND-1000.....	50
4.2	Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (<i>Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis</i>)	51
4.3	Gambaran Histopatologi Insang, Ginjal dan Usus	53
4.3.1	Insang	55
4.3.2	Ginjal.....	64
4.3.3	Usus.....	70
4.4	Analisa Kualitas Air	76
4.4.1.	Parameter Fisika	76
4.4.2	Parameter Kimia	77
V.	PENUTUP	80
5.1	Kesimpulan.....	80
5.2	Saran.....	80
	DAFTAR PUSTAKA.....	81
	LAMPIRAN.....	89

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	5
Tabel 2. Rancangan Perlakuan Penelitian.....	41
Tabel 3. Rancangan Perlakuan Pemberian Dosis Protein Liquid.....	48
Tabel 4. Tabel Hasil Kuantifikasi Protein <i>Brachionus plicatilis</i>	50
Tabel 5. Perhitungan Berat Molekul Band Pita Marker	52
Tabel 6. Perhitungan Berat Molekul Band Protein <i>Brachionus plicatilis</i>	53
Tabel 7. Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	57
Tabel 8. Uji Sidik Ragam Edema Jaringan Insang pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	58
Tabel 9. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Edema Jaringan Insang.....	58
Tabel 10. Rerata Skoring Kerusakan Hiperlasia pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	59
Tabel 11. Uji Sidik Ragam Hiperplasia Jaringan Insang pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	60
Tabel 12. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hiperplasia Jaringan Insang	61
Tabel 13. Rerata Skoring Kerusakan Fusi Lamella pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	62
Tabel 14. Uji Sidik Ragam Fusi Lamella Jaringan Insang pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	63
Tabel 15. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Fusi Lamella Jaringan Insang....	63
Tabel 16. Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>) ...	66
Tabel 17. Uji Sidik Ragam Edema Jaringan Ginjal pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	66
Tabel 18. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Edema Jaringan Ginjal	67
Tabel 19. Rerata Skoring Kerusakan Hipertrofi pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	68
Tabel 20. Uji Sidik Ragam Hipertrofi Jaringan Ginjal pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	69
Tabel 21. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hipertrofi Jaringan Ginjal	69
Tabel 22. Rerata Skoring Kerusakan Kongesti pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	72
Tabel 23. Uji Sidik Ragam Hipertrofi Jaringan Usus pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	72
Tabel 24. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Kongesti Jaringan Usus.....	73

Tabel 25. Rerata Skoring Kerusakan Hemoragi pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) 74

Tabel 26. Uji Sidik Ragam Hemoragi Jaringan Usus pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) 75

Tabel 27. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hemoragi Jaringan Usus 75



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	6
Gambar 2. Morfologi Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	7
Gambar 3. Myxobolus pada fase spora.....	10
Gambar 4. Siklus Hidup Myxobolus sp.....	12
Gambar 5. <i>Brachionus plicatilis</i>	15
Gambar 6. Anatomi dan morfologi <i>Brachionus plicatilis</i>	16
Gambar 7. Siklus Reproduksi <i>Brachionus plicatilis</i>	17
Gambar 8. Struktur Protein	26
Gambar 9. Struktur umum asam amino.....	28
Gambar 10. NanoDrop ND-1000.....	30
Gambar 11. Kerangka Konseptual Penelitian.....	35
Gambar 12. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zig-zag)	45
Gambar 13. Profil Protein SDS-PAGE.....	51
Gambar 14. Grafik linear pita protein marker <i>Brachionus plicatilis</i>	52
Gambar 15. Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	54
Gambar 16. Gambaran Hispatologi Insang Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	56
Gambar 17. Gambaran Hispatologi Ginjal Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	65
Gambar 18. Gambaran Hispatologi Usus Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	71
Gambar 19. Grafik Hasil Pengukuran Suhu.....	76
Gambar 20. Grafik Hasil Pengukuran pH	77
Gambar 21. Grafik Hasil Pengukuran DO	78
Gambar 22. Grafik Hasil Pengukuran Karbondioksida	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi Pengambilan Sampel..... 89
Lampiran 2. Alat dan Bahan Beserta Fungsinya 90
Lampiran 3. Perhitungan Pemberian Dosis Pelet dan Supernatan 93
Lampiran 4. Perhitungan Rf dan Berat Molekul Sampel..... 95
Lampiran 5. Perhitungan Skoring Kerusakan Jaringan 96
Lampiran 6. Data Kualitas Air 114
Lampiran 7. Dokumentasi..... 116



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki perairan tawar yang sangat luas dan berpotensi besar untuk usaha budidaya berbagai macam jenis ikan air tawar. Secara ekonomis, usaha budidaya ikan air tawar sangat menguntungkan karena ikan ini memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta sangat mendukung bagi pemenuhan gizi masyarakat dan iklim memungkinkan ikan hias tersebut dapat bereproduksi sepanjang tahun.. Selain itu, serapan pasar ikan air tawar tidak hanya terbatas di dalam negeri saja melainkan hingga pasar Internasional (Cahyono 2000).

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) adalah salah satu jenis ikan yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan banyak dikembangbiakkan dalam kolam air tawar. Ikan koi (*Cyprinus carpio*) memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan dan makanan yang tersedia. Selain itu juga memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan karena mudah untuk dipijahkan (Khairuman, 2013).

Masalah terbesar dalam manajemen lingkungan budidaya ikan koi, yang sering dianggap menjadi penghambat budidaya ikan koi adalah faktor lingkungan, pathogen dan serangan penyakit. Lingkungan meliputi parameter fisika, kimia dan biologi serta serangan penyakit meliputi parasit, virus dan spora yang disertai gangguan hama dapat menyebabkan pertumbuhan ikan menjadi sangat lambat, padat tebar sangat rendah, konversi ikan menjadi sangat tinggi, periode pemeliharaan menjadi sangat lama, dan ini berarti meningkatnya biaya produksi. Pada tahap lanjut serangan penyakit dan gangguan hama tidak hanya mengakibatkan kegagalan panen, berarti mengakibatkan kerugian ekonomi yang besar (Handajani, 2005).

Penyakit ikan biasanya timbul karena adanya ketidakseimbangan interaksi antara lingkungan, inang (ikan) dan organisme penyebab penyakit. Organisme penyebab penyakit salah satunya adalah parasit. Parasit adalah hewan atau tumbuhan yang hidup di dalam atau di luar tubuh organisme lain, yang memperoleh makanan dari inangnya tanpa ada kompensasi apapun (Ghufran dan Kordi, 2004). Parasit yang menyerang ikan dibedakan dalam dua kelompok yaitu endoparasit dan ectoparasit. Endoparasit adalah parasit yang hidupnya di dalam organ tubuh ikan seperti saluran pencernaan, hati, otot, dan darah, sedangkan ectoparasit adalah parasit yang hidupnya di bagian luar tubuh ikan seperti kulit, sirip, insang, mulut, mata dan anus (Aryani *et al.*, 2004).

Infeksi *Myxobolus* sp. pada ikan koi (*C. carpio*) dapat diketahui dengan gejala klinis yang khas yaitu pada insang ikan koi (*C. carpio*), dalam jumlah yang dapat menyebabkan ikan sulit bernafas yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian (Yuasa, 2003). Untuk itu perlu diketahui proses atau jalannya penyakit tersebut (patogenesis) agar dapat dideteksi secara dini, sehingga kematian dapat dicegah. Parasit *Myxobolus* sp. yang berkembang dengan cepat dapat mengakibatkan terjadinya perubahan genetik yang berpengaruh terhadap terjadinya mutasi terhadap sistem kekebalan tubuh inang. Faktor kemungkinan perubahan tersebut bisa disebabkan karena lingkungan, kualitas air, distribusi dan manajemen budidaya. Tingkat mutasi yang tinggi menghasilkan keragaman genetik yang tinggi pula. Sebagian besar mutasi bersifat merusak dan menyebabkan kerugian (Mahy dan Marc, 2010).

Upaya pencegahan penyakit ikan pada umumnya menggunakan vaksin dan antibiotik. Namun, vaksin bersifat spesifik terhadap patogen tertentu dan memerlukan biaya yang relative mahal. Sedangkan penggunaan antibiotik secara berkelanjutan dapat menyebabkan resistensi mikroorganisme patogen dan

menimbulkan pencemaran lingkungan. Oleh karena itu perlu dicari alternatif lain untuk mengganti antibiotik dengan bahan alami yang ramah lingkungan dan mudah terurai (Lingga *et al.*, 2016). Alternatif pengganti antibiotik disini yaitu menggunakan protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis*. Menurut Baharuddin (2011), *Brachionus plicatilis* mempunyai kandungan protein sekitar 36,06-42,50%; karbohidrat 16,65% dan lemak 8,32- 10,48%.

Menurut Setyowati *et al.* (2012), analisa hispatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, ginjal, usus dan sebagainya. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang manajemen pengendalian *Myxobolus sp.* pada pengelolaan kualitas air Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dengan pemberian protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* secara *in vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Myxobolus sp. terdiri dari beberapa spesies dan merupakan parasit umum pada berbagai jenis ikan air tawar dengan penyebaran hampir di seluruh dunia. *Myxobolus sp.* menginfeksi insang dari ikan *common carp* dan *golfish* dengan ciri-ciri terdapat nodul putih atau agak kemerahan atau bahkan berwarna merah pada jaringan insang. Parasit ini membentuk kista pada lembar insang ikan, sehingga akan menghalangi proses penyerapan oksigen (Paperna, 1992).

Pengendalian penyakit ini dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik dan desinfektan. Namun penggunaan antibiotik pada budidaya ikan mempunyai dampak negatif pada lingkungan akuatik dan residunya dapat membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsinya. Selain itu, penggunaan obat-obatan secara terus menerus merupakan faktor-faktor yang diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi. Pemanfaatan protein liquid dari bahan

alami *Brachionus plicatilis* lebih aman dibandingkan dengan penggunaan antibiotik. Dari uraian diatas maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

Bagaimana pengaruh pemberian protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* dengan dosis yang berbeda terhadap status hispatologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp?

1.3 Tujuan

Mengetahui pengaruh pemberian protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* dengan dosis yang berbeda terhadap status hispatologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp.

1.4 Kegunaan

Penelitian ini berguna untuk mengetahui manajemen pengendalian *Myxobolus* sp. pada pemeliharaan air Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dengan pemberian protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* secara in vivo.

1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai bulan Maret 2019, di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

Tabel 1. Jadwal Kegiatan Penelitian

Kegiatan	Januari				Februari				Maret				April				Mei			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Survey																				
Penyusunan Proposal																				
Persiapan Penelitian																				
Penelitian																				
Seminar dan Ujian																				



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Effendi (1993) Ikan koi berasal dari keturunan ikan karper hitam dan menghasilkan keturunan yang berwarna-warni. Ikan koi memiliki klasifikasi yang sama dengan ikan mas sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub filum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Ordo	: Cypriniformei
Familyi	: Cyprinidae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i>

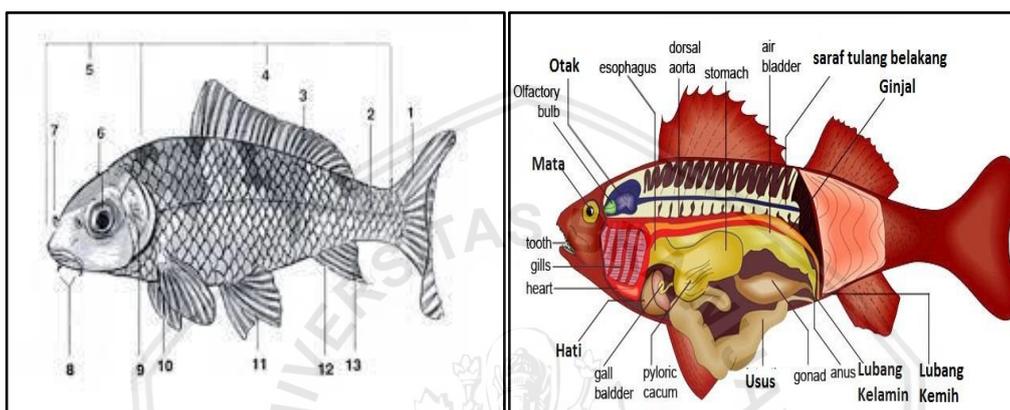
Adapun Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat dilihat pada **Gambar 1**.



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

Ikan Koi memiliki ciri-ciri umum yaitu badannya berbentuk memanjang dan sedikit pipih ke samping (*compresed*), mulutnya terletak di ujung tengah (terminal) dan di bagian mulut terdapat dua sungut yang salah satu pasangan diantaranya kurang sempurna dan warna badan beragam. Ikan koi digolongkan

dalam 3 bagian yaitu kepala, badan dan ekor. Pada kepala terdapat alat-alat seperti sepasang mata, sepasang hidung yang cekung dan tidak berhubungan dengan rongga mulut, celah-celah insang, sepasang tutup insang, alat pendengar dan keseimbangan yang tampak dari luar dan sirip untuk bergerak (Cahyono, 2000). Adapun morfologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat dilihat pada **Gambar 2.**



Gambar 2. Morfologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). 1. Sirip Caudal, 2. Linea Lateralis, 3. Sirip Dorsal, 4. Tubuh, 5. Kepala, 6. Mata, 7. Nostril, 8. Barbel, 9. Operkulum, 10. Sirip Pektoral, 11. Sirip Pelvik, 12. Lubang Anal, 13. Sirip Anal (Blasiola, 1995).

Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) memiliki mata yang berwarna merah, hitam dan terkadang sedikit keputih-putihan. Ikan koi memiliki bentuk mulut yang tidak terlalu lebar dan tidak memiliki gigi pada bagian rahang. Gigi yang digunakan untuk menghancurkan makanan terdapat pada bagian dalam kerongkongan. Hidung Ikan Koi berupa lekukan dan tidak berhubungan dengan alat pernapasan. Alat pernapasan berupa insang yang terdapat di kedua sisi kepala. Pada ujung bagian kepala Ikan Koi dilengkapi oleh sepasang *barbel*. *Barbel* ini merupakan alat indera yang berfungsi untuk mencari makan saat berada didalam lumpur (Bachtiar, 2002).

2.1.2 Habitat

Ikan koi merupakan hewan yang hidup di daerah beriklim sedang dan hidup pada daerah perairan air tawar. Ikan koi umumnya dapat hidup pada kisaran suhu 24-29°C dengan pH 6,8-7,4. Di daerah yang mempunyai musim dingin, ikan koi mampu bertahan hidup pada suhu 2-3°C. Ikan koi merupakan ikan yang tidak tahan terhadap perubahan suhu secara drastis. Penurunan suhu hingga 5°C dalam tempo singkat sudah dapat mengakibatkan ikan Koi stress (James, 2002).

Pertumbuhan ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang optimal pada ikan Koi dengan kadar oksigen terlarut 5-7 ppm, suhu 15-32°C dan derajat keasaman (pH) air antara 6,5-8,5. Penurunan suhu air pemeliharaan ikan Koi hingga 5°C dalam waktu singkat dapat menyebabkan ikan Koi stress dan mudah terserang hama penyakit maupun parasit (Soeprijanto dan Novianti, 2008).

2.1.3 Kebiasaan Makan

Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) termasuk jenis ikan pemakan segala (omnivora), baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang. Didalam air ikan Koi mampu mengenali pakannya dan mampu mencari makanan sampai ke dasar kolam, karena ikan Koi mempunyai organ penciuman yang sangat tajam berupa dua pasang *barbel* yang terletak di pinggir mulut. Pakan utama benih ikan Koi adalah udang renik seperti daphnia. Pakan ikan Koi akan mempengaruhi pembentukan zat warna tubuhnya (Natalist, 2003).

Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) memiliki kebiasaan makan dengan mengaduk-aduk lumpur pada dasar perairan. Biota yang terdapat pada lumpur yang termakan akan ikut tertelan. Biota yang terdapat pada lumpur adalah udang, jentik nyamuk, lumut dan ikan kecil (Susanto, 2008).

2.1.4 Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup adalah perbandingan jumlah ikan yang hidup padaakhir suatu periode dengan jumlah ikan yang hidup pada awal periode (Effendi,1979). Kelangsungan hidup dipengaruhi oleh dua faktor yaitu dari dalam ikan itu sendiri dan faktor dari lingkungan luar. Faktor dari dalam diantaranya umur ikan, ukuran, dan kemampuan ikan beradaptasi dengan lingkungan. Sedangkan faktor dari luar meliputi kondisi fisik-kimia dan media biologi, ketersediaan makanan, kompetisi antar ikan dalam mendapatkan makanan apabila jumlah makanan dalam media pemeliharaan kurang mencukupi, serta proses penanganan ikan yang kurang baik (Dobsikova *et al.*, 2009).

Kelangsungan hidup ikan koi sangat bergantung pada kondisi perairan tempat hidupnya. Mengingat besarnya potensi pencemaran perairan akibat racunyang ditimbulkan dari sisa pakan dan kotoran sisa metabolisme yang mengendap di dasar perairan (Alex, 2011).

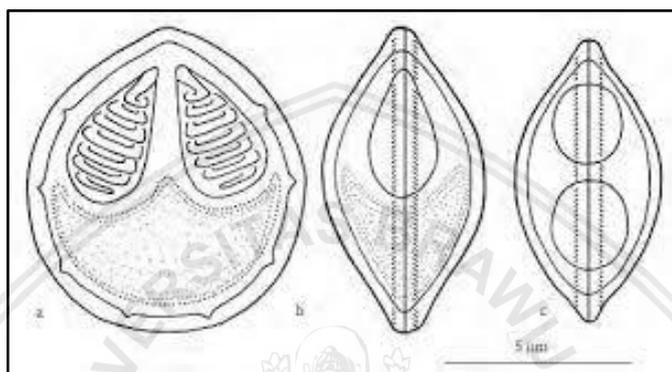
2.2 *Myxobolus* sp.

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Myxobolus merupakan salah satu protozoa yang termasuk ke dalam famili *Myxobolidae*. Parasit ini memiliki spora berbentuk elipsoidal, ovoid atau membulat yang terlihat di dalam valvula (Lom & Dykova, 1992). Adapun klasifikasi dari *Myxobolus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia	Family : Myxobolidae
Phylum : Protozoa	Genus : Myxobolus
Class : Myxosporia	Spesies : <i>Myxobolus</i> sp.
Order : Bivalvulida	

Myxobolus memiliki bentuk seperti buah pir atau biji semangka yang terbungkus dalam nodul yang berisi ribuan spora. Spora *Myxobolus* berbentuk oval atau membulat, mempunyai sporoplasma yang dihasilkan oleh *myxospora*. Sporoplasma *Myxobolus* memiliki dua inti (binukleat) dengan vakuola iodophilous yang terletak pada bagian posterior spora (Hoffman, 1999). Struktur spora *Myxobolus* dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. *Myxobolus* pada fase spora. (a) Sisi depan (*Valvular*), (b) Sisi samping (*Sutura*) dan (c) Sisi atas (*Ozak*, 2010).

Eiras et al., (2005) menyebutkan bahwa Spora *Myxobolus* koi berukuran $\pm 14-16 \times 8-9 \mu\text{m}$, sedangkan polar kapsul berukuran $\pm 8-9 \times 2.5-3 \mu\text{m}$. Anshary (2008) menyebutkan bagian yang paling menonjol dari struktur spora adalah adanya tabung polar yang membentang membentuk seperti putaran dari ujung anterior hingga pertengahan bagian posterior, yang berfungsi mirip dengan polar filamen pada myxosporea serta memiliki kait polar untuk melekat (*Anchoring disc*).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

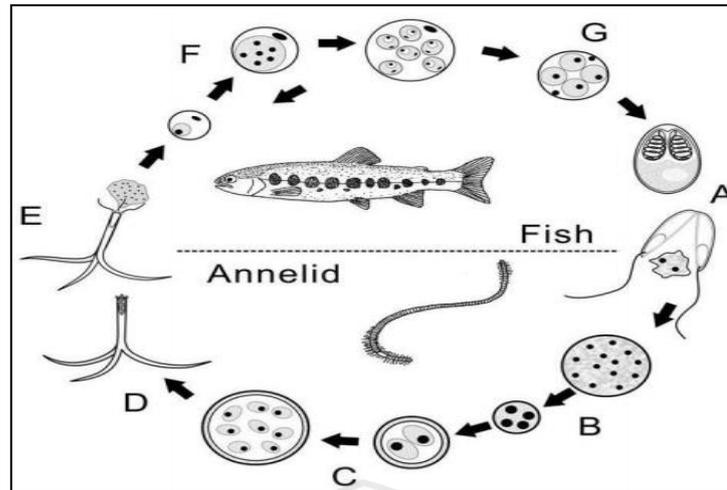
Woo (2006) menyatakan bahwa *Myxobolus* sp. adalah parasit yang umumnya menginfeksi ikan teleostei dan hewan invertebrata dengan sebagian kecil menginfeksi ikan elasmobranchi, amfibi, reptil dan lain-lain. Inang pada ikan terinfeksi pada stadia *actinosporea* (penginfeksiannya dengan cara penetrasi)

penetrasi yaitu *actinosporea* ke ikan atau ikan memakan inang kedalam stadia intermediate perubahan bentuk actinospora menjadi plasma dimana tumbuh dalam ikan. *Pansporoblast* mempunyai sel generative sebagaimana sel *nuclei* pada umumnya. Sel pada plasma kemudian berubah menjadi bentuk spora, bentukan pertama berupa *pansporoblast* yang mengandung 1 unit dengan 2 sel, *perysite* dan sebuah sel *sporogonic*. Sel ini kemudian membelah membentuk struktur berbeda-beda dari spora dewasa. Ketika spora dilepaskan ketika ikan mati, spora ditelan oleh inang intermediate dan *sporoplas* dikeluarkan oleh spora ini ialah perubahan bentuk menjadi actinospora.

Eriaset *al.* (2010) menyatakan bahwa *Myxosporea* adalah parasit umum ikan air tawar. Beberapa spesies sangat penting karena mereka dapat menginfeksi spesies ikan ekonomis penting dan menyebabkan angka kematian yang tinggi pada ikan ternak. Parasit *Myxobolus* sp. ialah genus yang paling umum, relative kecil ketika kontras dengan keanekaragaman ikan air tawar secara keseluruhan di benua ini, dengan lebih dari 8.000 spesies memberikan daftar semua. *Myxosporea* menginfeksi ikan termasuk spesies dari perairan Amerika Selatan dalam synopsis spesies *Myxobolus* sp.

2.2.3 Siklus Hidup

Myxobolus dapat menyebabkan nodul pada ikan dimana spora merupakan perkembangan struktur multiseluler. Jika nodul pecah maka spora yang ada didalamnya akan menyebar ke perairan seperti plankton sehingga tertelan oleh ikan akibat ukurannya yang relative kecil. Spora yang tertelan oleh ikan akan pecah menjadi dua bagian serta berubah menjadi dua flagel yang mampu menembus dinding sel usus ikan (Ruidischet *al.*, 1991). Adapun siklus hidup *Myxobolus* dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Siklus Hidup *Myxobolus* sp A. Spora keluar dari tubuh ikan, B. Spora berkembang menjadi spora multiseluler, D. Cacing Oligochaeta terinfeksi setelah menelan spora yang keluar dari tubuh ikan, E. Aktinospora keluar dari tubuh cacing Oligochaeta untuk menginfeksi ikan, F dan G. Perkembangan vegetative yang menghasilkan trophozoit yang berisi spora (Yokoyama, 1999)

Stoskopf (1993) menyatakan bahwa daur hidup *Myxobolus* tidak terjadi secara langsung, melainkan melibatkan invertebrata sebagai inang antara. Inang antara tersebut berasal dari kelas oligochaeta untuk menyelesaikan daur hidupnya. *Myxobolus* pada fase spora yang dikeluarkan oleh inang definitif akan menempati dasar perairan yang tenang. Spora akan termakan oleh cacing *Tubifex* dan dilepaskan ke perairan pada fase triactinomyxon.

2.2.4Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditimbulkan oleh parasit *Myxobolus* bergantung pada jenis ikan yang diserang, pada insang terdapat nodul atau bintil putih yang terdapat di daerah punggung. Nodul tersebut berisi ribuan spora (Mahasri dan Kismiyati, 2008). Bintil ini sering menyebabkan tutup insang ikan selalu terbuka. Pada insang ikan yang terserang terdapat benjolan menyerupai tumor, sehingga terjadi gangguan pada sirkulasi pernapasan, nekrosis, serta penurunan fungsi organ pernapasan (Ghufran, 2004).

Titiset *al.*(2009) menyatakan salah satu gejala klinis ikan yang terserang *Myxobolus* terlihat lemas. Hal ini disebabkan karena terganggunya proses pengambilan oksigen yang diakibatkan munculnya nodul pada insang ikan. Infeksi berat *Myxobolus* pada organ menyebabkan penurunan berat badan secara signifikan, warna kulit pucat dan mengganggu sistem saraf. *Myxobolus* diketahui dapat menginfeksi organ dalam antara lain hati ginjal, dan usus hingga menyebabkan kematian.

2.2.5 Dampak Infeksi *Myxobolus* sp.

Myxobolus merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Myxobolus* atau *Myxosoma*. Inang utama dari *Myxobolus* adalah ikan air tawar terutama pada ikan Cyprinidae. *Myxobolus* menginfeksi jaringan ikat tapis insang, tulang kartilago, otot, daging, dan beberapa organ dalam ikan (benih). Dampak dari infeksi *Myxobolus* atau *Myxosoma* tergantung pada tingkat infeksi dan lokasi dari kista. Infeksi besar yang terjadi pada inang menyebabkan *occlusion* pada sirkulasi branchia, kematian jaringan (*necrosis*) dan tidak berfungsinya pernafasan. Infeksi yang terjadi pada usus akan menyebabkan *myolitic* pada dinding usus. Secara umum, infeksi berat pada *sub-custaneous* dan insang menyebabkan penurunan berat badan, khususnya pada ikan muda, melemah, berenang didekat pematang, warna kulit mulai pucat dan terganggu sistem syarafnya. Apabila infeksi terjadi pada organ dalam, seperti hati, ginjal dan selaput usus cenderung lebih fatal (Sugianti, 2005).

Hasil penelitian Firmansyah *et al.* (2011), menunjukkan bahwa ikan Koi yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. memiliki gejala klinis yang dilihat secara langsung yaitu operculum yang tidak dapat menutup secara sempurna karena nodul pada insang. Hal ini disebabkan adanya nodul pada insang yang mengganggu proses pernafasan. Di samping itu, keberadaan nodul tersebut

membuat ikan kehilangan keseimbangan saat berenang sehingga ikan berenang secara spiral dari dasar perairan hingga ke permukaan. Ikan yang positif terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. tidak dapat dibudidayakan lebih lanjut karena ikan tersebut akan mengalami kematian. Kematian ikan yang disebabkan parasit *Myxobolus* sp. 50% dari populasi ikan pada kolam budidaya.

Pencegahan parasit ini merupakan solusi terbaik sebab pengobatannya masih sulit dilakukan karena parasit ini mempunyai kista yang mengelilingi spora. Pencegahan *Myxobolus* dapat dilakukan dengan menjaga kualitas air yang optimum untuk kehidupan ikan disertai pemberian pakan yang berkualitas. Selain itu, pencegahan *Myxobolus* dapat dilakukan melalui desinfeksi kolam, karantina ikan yang terinfeksi serta sterilisasi air masuk (Noga, 2010).

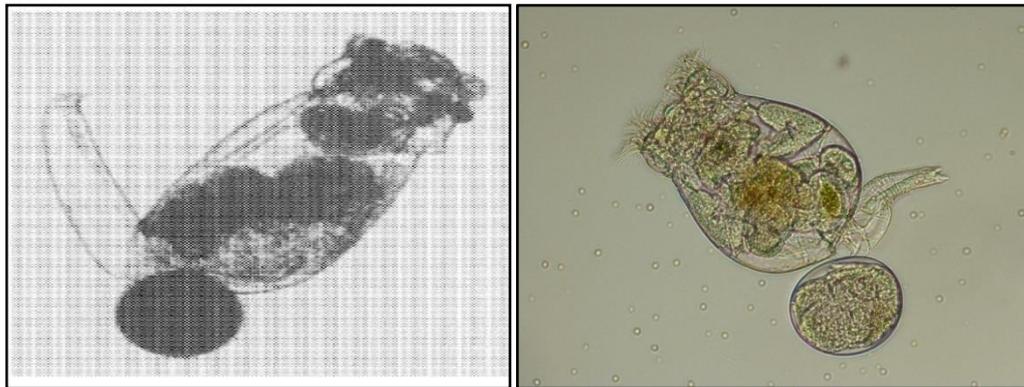
2.3 *Brachionus plicatilis*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Isnansetyo & Kurniastuty (1995), *Brachionus plicatilis* merupakan salah satu rotifera yang diklasifikasikan berdasarkan tingkat hirarkinya sebagai berikut:

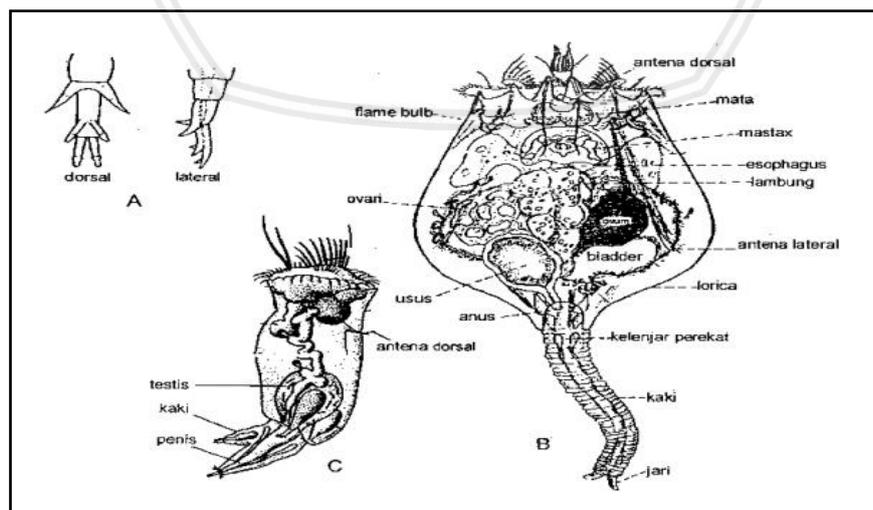
Filum	: Trochelmintes
Kelas	: Rotifera
Ordo	: Monogonata
Subordo	: Ploima
Genus	: <i>Brachionus</i>
Famili	: <i>Brachionidae</i>
Genus	: <i>Brachionus</i>
Spesies	: <i>Brachionus plicatilis</i>

Gambaran morfologi *Brachionus plicatilis* seperti **Gambar 5**.



Gambar 5. *Brachionus plicatilis* (Tucker, 1948)

Brachionus plicatilis merupakan organisme eukariot akuatik yang termasuk ke dalam zooplankton dan bersifat filter feeder, artinya mengambil makanan dengan cara menyaring partikel dari media tempat hidupnya. Tubuh umumnya tidak berwarna atau transparan, mempunyai indra seperti bintang mata. Ukuran tubuh genus *Brachionus* berkisar antara 50-300 mikron. Organisme yang jantan memiliki ukuran tubuh lebih kecil dari yang betina dengan bentuk tubuh agak meruncing ke bagian bawah atau berbentuk bilateral simetris, menyerupai piala (Djarajah, 1995). Untuk lebih jelasnya berikut gambaran morfologi *B. plicatilis* **Gambar 6**.



Gambar 6. Anatomi dan morfologi *Brachionus plicatilis*, A= Kaki dari dorsal dan lateral; B= Betina; C= Jantan (Barnes, 1978).

Tubuh terbagi menjadi tiga bagian yaitu kepala, badan dan kaki atau ekor. Pada bagian kepala terdapat enam buah duri dan diantaranya terdapat sepasang duri yang panjang yang terletak dibagian tengah. Ujung bagian depan dilengkapi dengan gelang-gelang silia seperti spiral yang disebut dengan korona, fungsinya adalah untuk memasukkan makanan ke dalam mulut (Isnansetyo & Kurniastuty, 1995). Selanjutnya Dahril (1996), menjelaskan bahwa duri yang disebut dengan occipital spine berdasarkan bentuk, ukuran dan jumlahnya dapat dijadikan sebagai indikator untuk mengenal jenis rotifera.

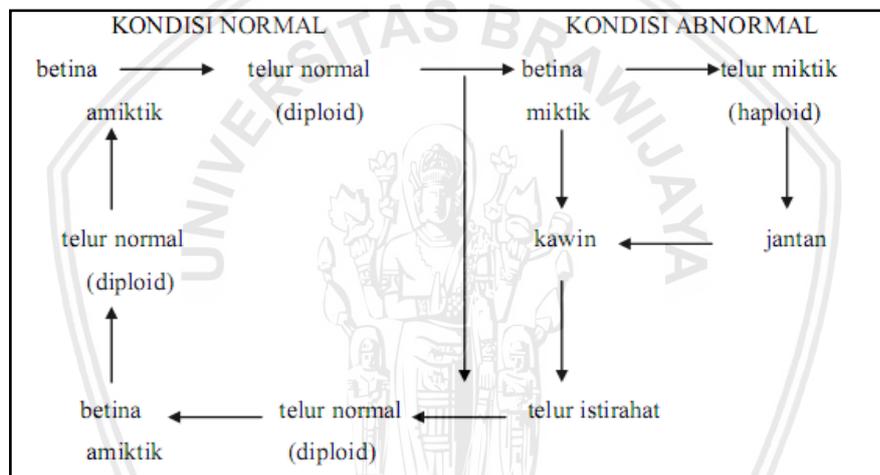
2.3.2 Habitat

Mudjiman (1998) menyatakan bahwa *Brachionus plicatilis* ditemukan di perairan tawar, payau, atau laut. Pertumbuhan populasi *Brachionus plicatilis* dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti suhu, pH, salinitas, konsentrasi oksigen terlarut, konsentrasi nitrit dan konsentrasi amonia. *Brachionus plicatilis* bersifat euthermal. Pada suhu 15°C *Brachionus plicatilis* masih dapat tumbuh, tetapi tidak dapat bereproduksi, sedangkan pada suhu di bawah 10°C akan terbentuk telur istirahat. Kenaikan suhu antara 15-35°C akan menaikkan laju reproduksinya. Kisaran suhu antara 22-30°C merupakan kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan dan reproduksi, disamping itu *Brachionus plicatilis* juga bersifat euryhalin.

Brachionus plicatilis betina dengan telurnya dapat bertahan hidup pada salinitas 98 ppt, sedangkan salinitas optimalnya adalah 10-35 ppt. Keasaman air turut mempengaruhi kehidupannya. Rotifera ini masih dapat bertahan hidup pada pH 5 dan pH 10, sedangkan pH optimum untuk pertumbuhan dan reproduksi berkisar antara 7,5-8,0 (Dahril, 1996).

2.3.3Reproduksi

Brachionus plicatilis merupakan organisme yang memiliki organ kelamin terpisah, dan dapat juga bereproduksi secara partenogenesis, yaitu menghasilkan telur tanpa terjadi pembuahan dan individu baru yang dihasilkan bersifat diploid. *Brachionus plicatilis* juga dapat bereproduksi secara seksual. *Brachionus plicatilis* betina memiliki organ reproduksi yang terdiri dari ovarium, yolk gland dan oviduct. Pada jantan terdiri dari satu testis yang dihubungkan oleh saluran sperma ke penis (Djuhanda, 1980). Adapun siklus reproduksi *Brachionus plicatilis* dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Siklus Reproduksi *Brachionus plicatilis* (Isnansetyo & Kurniastuty, 1995).

Isnansetyo & Kurniastuti (1995) dalam Wahyuni (2009), Pada mulanya betina miktik menghasilkan 1- 6 telur kecil. Betina miktik adalah betina yang dapat dibuahi. Telur yang dihasilkan oleh betina miktik akan menetas menjadi jantan. Jantan ini akan membuahi betina miktik dan menghasilkan 1-2 telur istirahat. Telur ini mengalami masa istirahat sebelum menetas menjadi betina amiktik. Betina amiktik adalah betina yang tidak dapat dibuahi. Dari betina amiktik yang terjadi ini maka reproduksi secara aseksual akan terjadi lagi. Betina miktik hanya akan menghasilkan telur miktik demikian pula sebaliknya.

2.3.5 Kandungan Gizi

Makanan merupakan salah satu faktor penunjang dalam perkembangan larva ikan, karena ikan membutuhkan energi untuk pertumbuhan, aktifitas dan reproduksi. Sebagian dari energi berasal dari makanan, demikian juga penambahan biomass ikan sangat tergantung dari energi yang tersedia pada ikan tersebut. Oleh karenanya untuk memenuhi kebutuhan energi perlu diberikan makanan yang berkualitas tinggi sehingga memenuhi kebutuhan nutrisi ikan. Nilai nutrisi makanan, pada umumnya dilihat dari komposisi gizinya seperti kandungan protein, lemak, kadar air, serat kasar dan abu. Kandungan gizi dari *Brachionus plicatilis* yaitu kadar air 85,70, protein: 8,60, lemak: 4,50, abu: 0,70 (Hariati, 1989).

Baharuddin (2011), *Brachionus plicatilis* merupakan pakan alami yang cocok diberikan pada pemeliharaan larva, karena selain ukurannya yang kecil juga memiliki nilai nutrisi yang cukup baik. *Brachionus plicatilis* mengandung asam-asam amino esensial dalam jumlah yang cukup. Hasil penelitian sebelumnya, diketahui bahwa *Brachionus plicatilis* mempunyai kandungan protein sekitar 36,06-42,50%; karbohidrat 16,65% dan lemak 8,32- 10,48%.

2.4 Histopatologi

Histopatologi merupakan biomarker dimana dapat digunakan untuk mendeteksi kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur pada organ-organ yang terakumulasi oleh bahan pencemar, organ-organ diantaranya insang, ginjal, usus dan lain sebagainya. Tidak hanya itu biomarker histopatologi dapat digunakan sebagai monitoring lingkungan, sehingga organ-organ yang terakumulasi oleh bahan pencemar dapat diagnose secepat mungkin dan dengan penanganan yang sesuai prosedur (Hadi dan Alwan, 2012).

Histopatologi merupakan penelusuran penyakit secara mikroskopik dimana dalam pengamatan hispatologi informasi yang diperoleh dalam bentuk gambaran perubahan organ atau jaringan. Informasi yang diperoleh juga dapat digunakan sebagai data untuk mengetahui ada atau tidak infeksi penyakit serta untuk meramalkan proses kejadian penyakit dan tingkat epidemik suatu penyakit infeksi suatu penyakit baik yang infeksius maupun non infeksius dapat di diagnosa dengan beberapa cara, diantara dengan diagnosa secara hispatologi yang bertujuan untuk mendapatkan berbagai informasi berbagai penyakit (Pazra, 2008).

Menurut Setyawati *et al.* (2011), analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. seperti insang, ginjal, usus, hati dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker hispatologi ini dapat digunakan untuk monitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme. Persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan specimen, refiksasi dan dekalsifikasi.

Persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan specimen, refiksasi dan dekalsifikasi. Selanjutnya, pengolahan jaringan dilakukan dengan tahap dehidrasi, penjernihan, penyusupan parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dalam bentuk blok yang akan dibuat irisan tipis jaringan dengan mikrotom sehingga menjadi preparat yang dapat diwarnai dengan beberapa jenis pewarna jaringan, seperti pewarnaan hematoksilin eosin, giemsa dan lain-lain (Panigoro *et al.*, 2007).

2.4.1 Organ Hispatologi

a. Insang

Insang adalah organ penting untuk respirasi, osmoregulasi, keseimbangan asam basa dan nitrogen limbah ekskresi. Hal ini dimungkinkan bahwa kerusakan insang bisa terjadi akibat langsung dari paparan garam, logam, pestisida, limbah dan pupuk yang dialirkan ke perairan. Insang langsung terpapar racun yang berasal dari lingkungan eksternal sehingga menyebabkan patologi pada ikan. Selain itu, insang juga merupakan organ yang paling rentan pada ikan teleostei karena letak insang langsung kontak dengan air (Hadi dan Alwan, 2012). Insang ikan terdiri dari lamela primer dan sekunder. Lamela sekunder dilapisi oleh sel-sel epitel. Antara lamela sekunder dan lamela primer dilapisi oleh epitel berlapis dan sel mukosa sedangkan sel-sel klorida CC tersebar didasar lamela dan di sekitar interlamel (Doaa, 2013).

Pada ikan, filamen insang tersusun dipermukaan atas sedangkan dibawahnya terdapat banyak lipatan-lipatan transversal sekunder yang disebut lamela sekunder. Lamela ini selain berfungsi sebagai tempat pertukaran gas respiratorik juga berfungsi dalam mengatur keseimbangan air dan elektrolit. Proses penyerapan oksigen dalam jaringan insang dilakukan oleh darah yang mengalir kedalam filamen-filamen insang dan akibat adanya perbedaan tekanan gas antara darah dan filamen dengan air, maka akan terjadi difusi gas (Susanah, 2011).

Kista parasit *Myxobolus* menginfestasi didalam dan diluar lamela sekunder pada insang. Parasit tersebut berbentuk oval dengan ujung yang runcing dengan satu atau dua inti dan berukuran panjang 5 sampai 7 pm serta lebar 3 sampai 4 pm. Sehingga perubahan nekrotik dan hiperlasia secara luas dapat diamati pada filamen insang. *Myxobolus* terlihat dalam kista dan jaringan ikat dengan kista

yang pecah di lamela sekunder insang. Permukaan yang pipih pada insang tertutupi oleh kista yang mengakibatkan nekrosis, sehingga pernafasan ikan terganggu (Chavda *et al.*, 2010).

b. Ginjal

Ginjal merupakan dua fungsi utama yaitu mengeksresikan sebagian besar produk akhir metabolisme tubuh dan mengatur konsentrasi cairan tubuh. Ginjal terdiri dari glomerulus dan tubulus. Glomerulus berfungsi untuk menyaring cairan, sedangkan tubulus mengubah cairan yang disaring menjadi urine, dengan demikian dapat membersihkan atau menjernihkan plasma darah dari zat-zat yang tidak dikehendaki ketika ia melalui ginjal (Fujaya, 2008).

Hidayat *et al.* (2012) menyatakan bahwa fungsi ginjal pada ikan adalah menyaring atau menetralsir bahan yang masuk kedalam tubuh dari sisa-sisa proses metabolisme untuk dibuang dan zat-zat yang diperlukan tubuh diedarkan kembali melalui darah serta mengatur kekentalan urine yang dibuang untuk menjaga keseimbangan tekanan osmotik cairan pada tubuh. Kelainan pada ginjal berupa kongesti, nekrosis, edema dan degenerasi. Jika ginjal mengalami kerusakan secara berangsur-angsur maka ginjal akan mengalami kerusakan.

Menurut Maryadi (2009), pada beberapa kasus infeksi terdapat gangguan yang terjadi pada organ organisme. Gangguan yang terjadi dapat berupa: a) kenaikan jumlah darah didalam pembuluh darah (kongesti), b) keluarnya darah dari pembuluh darah keluar tubuh maupun kedalam jaringan tubuh (hemoragi), c) penimbunan cairan berlebih di ruang interseluler organ atau rongga tubuh (edema) dan d) ditandai adanya akumulasi interseluler dengan cirri mikroskopik yaitu, banyak sel yang letaknya berdesakan, sel-sel membengkak dan warna lebih pucat (degenerasi).

c. Usus

Usus merupakan segmen yang terpanjang dari saluran pencernaan. Pada bagian depan usus terdapat dua saluran yang masuk ke dalamnya, yaitu saluran yang berasal dari kantung empedu (*ductus choledochus*) dan yang berasal dari pankreas. Pada ikan-ikan yang pankreasnya menyebar pada organ hati (hepatopankreas) hanya terdapat satu saluran yaitu *ductus choledochus*. Lapisan mukosa usus tersusun oleh selapis sel epitelium dengan bentuk prismatic. Pada lapisan ini terdapat tonjoloan-tonjolan (villi) membentuk seperti sarang tawon pada usus bagian depan dan lebih beraturan pada usus bagian belakang (Fujaya, 2004).

Fungsi usus sebagai organ untuk mencerna makanan, juga sebagai tempat penyerapan makanan. Efektivitas penyerapan meningkat dengan semakin luasnya area penyerapan. Pada usus penyerapan meningkat dengan semakin luasnya area penyerapan. Pada usus luas daerah penyerapan ini berkaitan panjang usus, banyak lipatan usus, jumlah mikrovilli dan keberadaan pilorik kaeka. Panjang usus seringkali berkaitan dengan makanannya. Ikan-ikan herbivora umumnya mempunyai panjang usus beberapa kali lebih besar daripada panjang tubuhnya (Rahardjo *et al.*, 2011).

Menurut Hibiya (1995) dalam Susanto (2008), perubahan degeneratif yang sering terjadi pada saluran pencernaan ikan terutama usus yaitu atrofi sel-sel epitel mukosa, nekrosis sel-sel epitel mukosa dan deskuamasi sel epitel yang disertai infiltrasi sel limfosit ke lapisan lamina propria dan sub mukosa. Selain itu, dapat juga terjadi dilatasi lumen usus, pendarahan dan kongesti atau pembendungan pembuluh darah.

Menurut Robert (2001), pada kondisi toksik akut yang disebabkan oleh toksin bakteri, virus, parasit, zat kimia atau alga, mukosa usus dapat terangkat seluruhnya. Sel-sel epitel mukosa usus individu dapat menggulung yang disertai penebalan kromatin dan sitoplasma eosinofil yang dapat terjadi akibat kelaparan dan kondisi kaheksia. Pada bentuk khusus lebih seperti apoptosis atau pelepasan mukosa kedalam lumen, kadang-kadang disertai hemoragi dan edema submukosa.

2.5 Kualitas Air

2.5.1 Parameter Fisika

a. Suhu

Suhu merupakan variabel penting untuk organisme akuatik rentang toleransi serta suhu optimum kultur berbeda untuk setiap jenis / spesies ikan. Disamping itu juga dapat mempengaruhi aktivitas makan. Peningkatan suhu mengakibatkan peningkatan aktivitas metabolisme dan menurunkan gas (oksigen) terlarut, efek pada proses reproduksi ikan dan kematian (Kordi, 2005). Metabolisme optimal akan terjadi pada suhu yang optimal. Setiap jenis ikan mempunyai batas toleran yang berbeda-beda. Effendie (2003), mengatakan bahwa ikan Koi dapat hidup pada kisaran suhu 28°C -30°C, oleh sebab itu ikan Koi dapat di pelihara di seluruh Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Suhu ideal untuk pertumbuhan ikan Koi adalah 15°C -25°C.

Menurut Liviawaty (1990), Suhu air merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi nafsu makan dan pertumbuhan ikan, metabolisme ikan serta mempengaruhi kadar oksigen yang terlarut dalam air. Suhu media yang ideal untuk transportasi sistem kering tidak lebih dari 20°C. Ikan koi dapat hidup pada suhu yang berkisar antara 25° – 30°C.

2.5.2 Parameter Kimia

a. pH

Derajat keasaman (pH) air dapat berpengaruh terhadap meningkat tidaknya daya racun amonia dan hydrogen sulfide pada perairan. Pada pH tinggi lebih banyak ditemukan senyawa amonia dan bersifat toksik. Hal ini disebabkan karena amonia lebih mudah terserap kedalam tubuh ikan. Apabila pH semakin meningkat pada kadar tertentu, maka akan mengakibatkan daya racun amonia semakin meningkat (Effendi, 1997).

Derajat keasaman (pH) juga menentukan bagipertumbuhan ikan. Derajat keasaman (pH) menunjukkan keadaan air pada kondisi asam atau basa. Kisaran pH yang baik untuk pemeliharaan ikan koi yaitu 6,5 - 8,5 (Khairuman dan Amri, 2000).

b. *Dissolved Oxygen (DO)*

Menurut Susanto (2000), kadar oksigen yang rendah akan mempengaruhi nafsu makan ikan dan apabila jumlah oksigen terlarut diperairan hanya 1,5 mg/l, nafsu makan ikan akan berkurang dan jika kurang dari 1,5 mg /l ikan akan berhenti makan. Apabila oksigen dalam jumlah banyak ikan-kan jarang mati, tetapi dalam keadaan tertentu dapat mematikan ikan, sebab didalam pembuluh – pembuluh darah terjadi emboli gas yang mengakibatkan tertutupnya pembuluh – pembuluh rambut dalam daun – daun insang.

Kebutuhan ikan terhadap oksigen tergantung pada jenis, ukuran, aktivitas, suhu dan kualitas pakan. Ikan kecil masih bertahan pada DO 1,0-3,0 mg/L, namun akan mati pada DO 0,0-0,3 mg/L. Bila DO air berada pada kisaran 1,0-5,0 mg/liter, ikan akan mengalami pertumbuhan yang lambat tetapi pada DO > 5 mg/liter maka ikan akan tumbuh secara optimal. Kisaran DO yang optimal bagi pertumbuhan ikan Koi yaitu 5-8 mg/L (Effendi,2003).

c. Karbondioksida (CO₂)

Karbondioksida (CO₂) merupakan hasil buangan dari semua jasad pada proses pernapasan. Dalam jumlah tertentu, gas ini dapat meracuni ikan. Biasanya ikan yang mempunyai naluri kuat akan menghindari daerah atau habitat yang kadar karbondioksidanya tinggi. Hal ini dapat diperhatikan dari tingkah laku ikan yang seolah-olah ingin keluar dari habitat yang kadar karbondioksidanya tinggi. Kandungan karbondioksida (CO₂) yang maksimal untuk kehidupan ikan koi sebesar 10 ppm (Tiana, 2002).

Menurut Wardoyo (1975), bahwa kadar CO₂ bebas yang dikehendaki oleh ikan tidak lebih dari 12 ppm, karena pada kadar tersebut dapat bersifat racun yang dapat menyebabkan kematian bagi ikan peliharaan. Kadar karbondioksida ini pun mempengaruhi pH air menjadi asam.

2.6 Analisis Protein

2.6.1 Pengertian, Struktur Protein dan Fungsi Protein

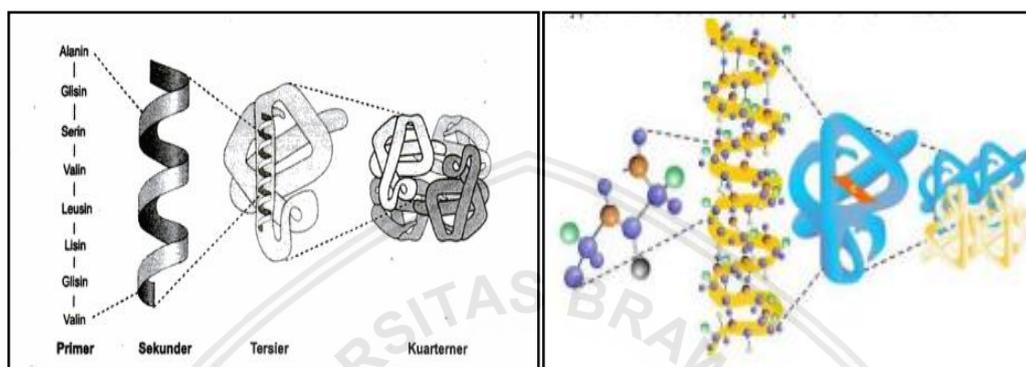
Protein adalah suatu polipeptida yang mempunyai bobot molekul yang sangat bervariasi, dari 5000 hingga lebih dari satu juta. Disamping berat molekul yang berbeda-beda, protein mempunyai sifat yang berbeda-beda pula. Protein memegang peranan yang sangat penting pada organisme yaitu struktur, fungsi dan reproduksi (Sumardjo, 2009).

Bintang (2010) menyatakan bahwa berdasarkan strukturnya, protein dibentuk oleh :

1. Struktur primer, dibentuk oleh ikatan peptide antar asam amino. Struktur ini mengacu pada jumlah, jenis serta urutan asam amino yang membentuk rantai polipeptida.
2. Struktur sekunder, dibentuk oleh ikatan hydrogen intramolekular yang terjadi di antara oksigen karbonil dan nitrogen amida pada perangkat peptida

3. Struktur tersier, merupakan rangkaian molekular yang menggambarkan bentuk keseluruhan dari protein
4. Struktur kuartener dibentuk oleh beberapa polipeptida yang berikatan satu sama lain tidak secara kovalen. Adapun struktur protein dapat dilihat pada

Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Protein (Marks *et al.*, 2000)

Zhang dan Smith (1993) menyatakan bahwa protein memegang peranan penting dalam hampir semua proses biologi. Peran dan aktivitas protein terlihat dalam contoh berikut ini:

1. Katalis enzimatik

Hampir semua reaksi kimia dalam system biologi dikatalis oleh makromolekul spesifik yang disebut enzim. Enzim mempunyai daya katalik yang besar, umumnya meningkatkan kecepatan reaksi sampai jutaan kali. Fakta menunjukkan bahwa hampir semua enzim yang dikenal adalah protein. Jadi protein merupakan pusat dalam menetapkan pola transformasi kimia dalam sistem biologis.

2. Transport dan Penyimpanan

Berbagai molekul kecil dan ion ditransport oleh protein spesifik

3. Koordinasi Gerak

Protein merupakan komponen utama dalam otot. Kontraksi otot berlangsung akibat pergeseran dua jenis filament protein

4. Penunjang Mekanis

Keterangan kulit dan tulang disebabkan oleh kolagen yang merupakan protein fibrosa

5. Protein Imun

Antibodi merupakan protein yang sangat spesifik dan dapat mengenal serta berkombinasi dengan benda asing seperti virus, bakteri dan sel yang berasal dari organisme lain

6. Membangkitkan dan Menghantar Impuls Saraf

Respons sel saraf terhadap rangsang spesifik diperantai oleh protein reseptor

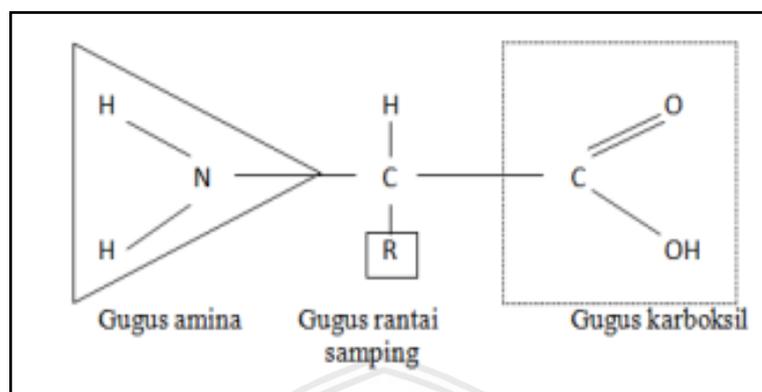
7. Pengaturan Pertumbuhan dan Diferensiasi

Pengaturan urutan ekspresi informasi genetik sangat penting bagi pertumbuhan yang beraturan serta diferensiasi sel.

2.6.2 Pengertian, Struktur dan Jenis Asam Amino

Asam amino merupakan komponen penyusun protein yang dihubungkan oleh ikatan peptide. Awal pembentukan protein hanya tersusun dari 20 asam amino yang dikenal sebagai asam amino dasar atau asam amino baku. Struktur asam amino secara umum adalah satuan atom C yang mengikat empat gugus, yaitu gugus amina (NH_2), gugus karboksil (COOH), atom hidrogen (H) dan satu gugus sisa (R dari residu) atau disebut juga gugus rantai samping yang membedakan satu asam amino dengan asam amino lain (Winarno 2008). Asam amino memiliki atom C pusat yang mengikat empat gugus yang berbeda, maka asam amino memiliki dua konfigurasi yaitu konfigurasi D dan konfigurasi L. Molekul asam amino mempunyai konfigurasi L apabila gugus $-\text{NH}_2$ terdapat

disebelah kiri atom karbon alfa dan bila posisi gugus NH₂ disebelah kanan (Lehninger 1982). Struktur asam amino dapat dilihat pada **Gambar 9**.



Gambar 9. Struktur umum asam amino(Winarno 2008)

Berdasarkan polaritas gugus R, asam amino dibedakan menjadi 4 golongan yaitu (1) asam amino dengan gugus-R yang bersifat non polar, seperti alanin, leusin, isoleusin, valin, prolin, fenilalanin, triptopan dan metionin (2) asam amino dengan gugus-R polar tidak bermuatan, seperti serin, treonin, tirosin, aspargin, glutamine, sistein dan glisin, (3) asam amino dengan gugus-R bermuatan positif, seperti lisin, arginin, histidin dan (4) asam amino dengan gugus-R bermuatan negatif, seperti asam aspartat dan asam glutamat (Sumarno *et al.*, 2002).

Asam amino biasanya larut dalam air dan tidak larut dalam pelarut organik non polar yaitu eter, aseton dan kloroform. Berdasarkan sifat kimia rantai sampingnya, asam amino dapat dibedakan menjadi empat kelompok, yaitu asam amino yang bersifat basa lemah, asam lemah, hidrofilik jika polar dan hidrofobik jika nonpolar (Almatsier 2006).

Terdapat tiga jenis asam amino yang menyusun protein yaitu asam amino esensial, semi esensial dan non-esensial. Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat disintesa oleh tubuh sehingga harus dimasukkan dari luar tubuh manusia (Suryaningrum *et al.*, 2010). Asam amino jenis ini yaitu

leusin, isoleusin, metionin, fenilalanin, treonin, triptofan, lisin, dan valin (DGKM *et al.*, 2009). Asam amino semi esensial yaitu asam amino yang dapat menjamin proses kehidupan jaringan orang dewasa, tetapi tidak mencukupi untuk masa pertumbuhan anak-anak. Terdapat 6 asam amino semi esensial yaitu arginin, histidin, tirosin, sistin, glisin dan serin (Kartasapoetra dan Marsetyo, 2008). Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat disintesa oleh tubuh manusia dengan bahan baku asam amino lainnya. Asam amino jenis ini adalah alanin, asparagin, asam aspartat, sistin, asam glutamat, glutamin, glisin, hidroksi prolin, prolin, serin, dan tirosin (DGKM *et al.*, 2009).

2.6.3 NanoDrop ND-1000

NanoDrop ND-1000 merupakan salah satu alat spektrofotometer yang biasa digunakan untuk menghitung kuantitas asam nukleat, konsentrasi larutan dalam sel, kemurnian DNA dan protein. Alat ini berbeda dengan alat lainnya karena hanya membutuhkan volume sampel yang sedikit. Prinsip pengoperasian instrument ini didasarkan pada prinsip umum spektrofotometer berdasarkan hukum Lambert-Beer. Rentang panjang gelombang antara 220-750 nm, sedangkan absorbansi setiap sampel terukur pada dua panjang yang berbeda (0,2 mm dan 1,0 mm). Rentang absorbansi yang dapat dibaca antara 2-3700 ng/ μ L tanpa pengenceran (Cheng dan Zhang, 2010). Adapun gambar NanoDrop ND-1000 dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10. NanoDrop ND-1000 (Dokumentasi Pribadi, 2019).

Kadar protein dapat diukur pada panjang gelombang 260 sampai 280 nm. Abrobansi pada panjang gelombang tersebut juga dapat digunakan untuk mengukur kemurnian asam nukleat. Absorbansi juga dapat dilihat pada panjang 230 nm untuk mengetahui kontaminasi. Oleh karena itu rasio A260 atau A230 juga sering dianalisis. Panjang gelombang yang biasa digunakan adalah 260 atau 280 menunjukkan sampel terkontaminasi oleh protein atau reagen seperti fenol (ThermoScientific, 2011).

2.6.4 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (*Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis*)

Pemisahan protein merupakan tahap yang harus dilakukan untuk mempelajari struktur dan fungsi protein. Protein dapat dipisahkan dari protein jenis lain atau dari molekul lain berdasarkan ukuran, kelarutan, muatan dan afinitas ikatan. Salah satu teknis yang digunakan untuk melihat profil protein dan menentukan bobot molekulnya menggunakan SDS-PAGE (Nelson, 2004).

Pemisahan degan metode SDS-PAGE bertujuan untuk memisahkan protein dalam sampel berdasarkan berat molekul. Prinsip dasar SDS-PAGE ini adalah denaturasi protein oleh sodium dedosil sulfat yang dilanjutkan dengan

pemisahan molekul berdasarkan berat molekulnya dengan metode elektroforesis yang menggunakan gel, dalam hal ini yang digunakan adalah poliakrilamid (Janson dan Ryden, 1998).

Prinsip dasar penggunaan metode gel poliakrilamid ini adalah migrasi komponen akrilamid dengan N.N' bisakrilamida. Kisi-kisi tersebut berfungsi sebagai saringan molekul sehingga konsentrasi atau rasio akrilamid dengan bisakrilamid dapat diatur untuk mengoptimalkan kondisi migrasi komponen protein. Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein disamping untuk memonitor pemurnian protein (Wilson dan Walker, 2000).

Elektroforesis adalah suatu cara untuk memisahkan fraksi suatu campuran berdasarkan atas pergerakan partikel koloid yang bermuatan dibawah pengaruh medan listrik. Cara elektroforesis telah digunakan untuk analisa virus, asam nukleat, enzim dan protein serta molekul-molekul organik dengan berat molekul rendah seperti asam amino (Westemier, 2004).

Kegunaan elektroforesis antara lain, (1) menentukan berat molekul, (2) dapat mendeteksi terjadinya pemalsuan bahan, (3) dapat mendeteksi terjadinya kerusakan bahan seperti protein dalam pengolahan dan penyimpanan, (4) untuk memisahkan spesies molekul yang berbeda secara kualitatif maupun kuantitatif, yang selanjutnya masing-masing spesies dapat dianalisis, (5) menetapkan titik isoelektrik protein (Yuwono, 2005).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini adalah mengenai parasit *Myxobolus* sp. yang menginfeksi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang diberi perlakuan atau treatment protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* dengan dosis yang berbeda. Parameter kualitas air yang diukur meliputi parameter fisika yaitu suhu dan parameter kimia meliputi pH, *Dissolved Oxygen* (DO) dan Karbondioksida (CO₂).

3.2. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam kegiatan penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3 Metode Pengambilan Data

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Jaedun (2011), metode eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti dengan cara memberikan treatment atau perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan sesuatu kejadian atau keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya. Metode ini bertujuan untuk menilai pengaruh dari berbagai perlakuan.

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan hipotesis mengenai potensi protein liquid mikroalga *Brachionus plicatilis* untuk mengedalikan parasit *Myxobolus* sp. yang menginfeksi pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dengan dosis yang berbeda.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan 2 macam data yaitu data primer dan data sekunder.

3.4.1 Data Primer

Data primer adalah data yang dikumpulkan dan diolah sendiri oleh organisasi atau perorangan langsung dari objeknya. Data primer ini di dapat dari sumber informan yaitu individu atau perorangan seperti hasil wawancara yang dilakukan oleh peneliti (Ong, 2013). Terdapat 3 macam metode dalam pengumpulan data primer, yaitu:

1) Observasi

Observasi adalah teknik pengumpulan data yang dilakukan melalui suatu pengamatan, dengan disertai pencatatan-pencatatan terhadap keadaan atau perilaku objek sasaran (Abdurahmat, 2006). Kegiatan pengamatan dan pencatatan dilakukan secara sistematis. Kegiatan observasi ini dilakukan pada saat melakukan pengukuran parameter kualitas air dan perhitungan kelimpahan sel.

2) Wawancara

Wawancara merupakan metode untuk mencari dan mengumpulkan data dengan cara mengajukan pertanyaan terhadap narasumber.melalui media telekomunikasi. Pada hakikatnya wawancara merupakan kegiatan untuk memperoleh informasi secara mendalam tentang sebuah isu atau tema yang diangkat dalam penelitian (Priyadna dan Priasti, 2013).Oleh karena itu dalam melakukan wawancara, pengumpul data telah menyiapkan instrumen penelitian berupa pertanyaan-pertanyaan.

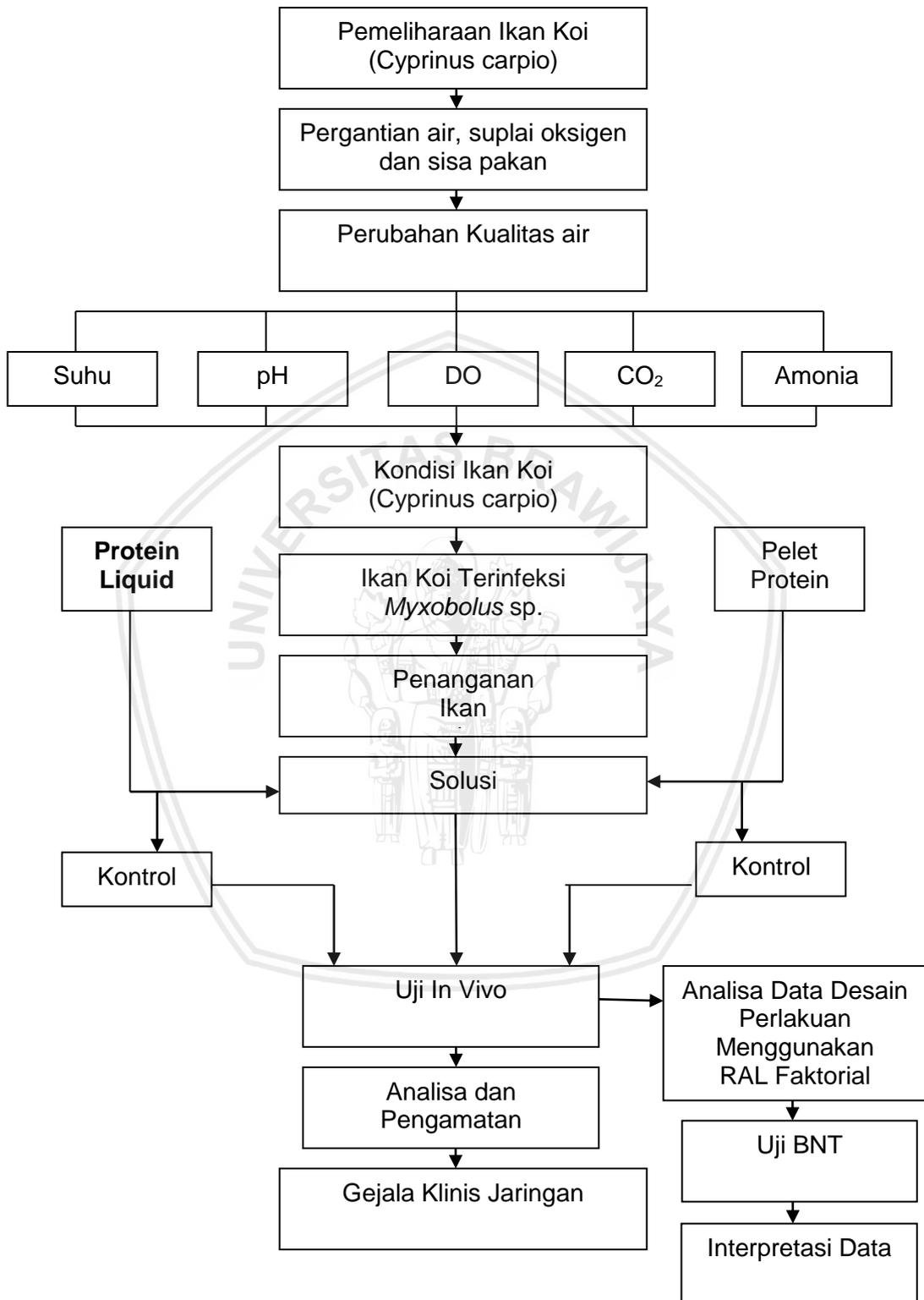
3) Partisipasi Aktif

Partisipasi aktif adalah mengikuti pelaksanaan kegiatan sebagaimana kegiatan yang dilakukan di lokasi (Putra, 2013). Pada penelitian ini, kegiatan partisipasi aktif yang diikuti secara langsung adalah pembuatan protein liquidmikroalga *Brachionus plicatilis* serta pengaplikasian protein liquidmikroalga tersebut pada ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terkena parasit *Myxobolus* sp.

3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang telah diolah lebih lanjut menjadi bentuk-bentuk seperti tabel, gambar dan lain-lain. Selain itu ada data yang diperoleh melalui data dokumen, kepustakaan dan sumber tertulis lainnya berupa literatur dan peraturan yang memiliki hubungan dengan pokok bahasan yang diteliti (Winerungan, 2013). Data sekunder diperoleh peneliti melalui pihak lain yang mengetahui informasi mengenai objek penelitian, data berupa catatan, studi jurnal penelitian terdahulu dan laporan yang telah tersusun. Data sekunder yang digunakan berguna sebagai pembandingan daripada data primer yang diperoleh.

3.5 Kerangka Konseptual



Gambar 11. Kerangka Konseptual Penelitian

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Kuantifikasi Protein Menggunakan NanoDrop ND-1000

Adapun langkah-langkah kuantifikasi protein menggunakan NanoDrop ND-1000 adalah sebagai berikut:

1. Permukaan nanodrop dibersihkan dengan meneteskan 1-2 μ deionized water pada permukaan optik bawah lalu ditutup kemudian di keringkan menggunakan kain steril
2. Program nanodrop dibuka dan dipilih model protein
3. Spectrophotometer dimulai dengan diteteskan 1 μ air bersih ke permukaan optik bawah lalu ditutup dan dipilih "initialize" pada program nanodrop setelah 10 detik permukaan optik dibersihkan kembali menggunakan kain steril
4. Pengukuran blanko menggunakan deionized water sebanyak 1 μ dan memilih "blank" pada program nanodrop lalu dibersihkan kembali menggunakan kain steril.
5. Sampel hasil ekstraksi diteteskan ke permukaan optik sebanyak 1 μ lalu dipilih "measure" pada program nanodrop dan dibersihkan kembali menggunakan kain steril.

3.6.2 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (Sodium Dodesil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis)

Langkah-langkah isolasi protein *Brachionus plicatilis* adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan *Brachionus plicatilis* segar didalam falcon 15 ml
2. Memindahkan *Brachionus plicatilis* segar kedalam eppendorf 1,5 ml
3. Mensentrifuge pada 3500 rpm selama 10 menit
4. Membuang supernatan dan mengambil endapan *Brachionus plicatilis* untuk ditimbang sebanyak 2 gr

5. Menghaluskan endapan *Brachionus plicatilis* dengan ditambah larutan buffer lisis sebanyak 1 ml
6. Memindahkan endapan *Brachionus plicatilis* yang sudah dihaluskan kedalam eppendorf 1,5 ml
7. Mensentrifuge pada 6000 rpm selama 10 menit
8. Memisahkan supernatan dan endapan *Brachionus plicatilis* (masing-masing dipindahkan kedalam eppendorf 1,5 ml)
9. Menyimpan hasil kedalam suhu kulkas

Fatchiyah *et al.*,(2011), menyatakan prosedur Elektroforesis protein dengan SDS-PAGE adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan sampel

- Tambahkan sampel bufer ke dalam sampel protein (perbandingan 1 : 1) dalam tabung Eppendorf.
- Panaskan sampel pada suhu 100°C selama 5 menit.
- Setelah dingin, simpan pada suhu 20°C bila sampel tidak langsung dipakai

2. Pembuatan Media/Gel Elektroforesis SDS

Adapun langkah-langkah dalam pembuatan media/gel untuk elektroforesis SDS- PAGE adalah sebagai berikut:

- Disusun plate pembentuk gel.
- Dibuat separating gel 12,5%. Dengan cara:
 - Disiapkan tabung polipropilen 50ml.
 - Dimasukkan 3,125 ml stok akrilamida dalam tabung.
 - Dimasukkan 2,75 ml 1M Tris pH 8,8. Tabung di tutup, lalu tabung digoyang secara perlahan.

- Dimasukkan aquabides 1,505 ml. Tabung ditutup, lalu tabung digoyang secara perlahan.
 - Dimasukkan 75 μ l SDS 10%. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.
 - Dimasukkan 75 μ l APS 10%. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.
 - Dimasukkan 6,25 μ l TEMED. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.
 - Dituangkan larutan kedalam plate pembentuk gel menggunakan mikropipet 1 ml (jaga jangan sampai terbentuk gelembung udara) sampai batas yang terdapat pada plate.
 - Secara perlahan, tambahkan aquades di atas larutan gel dalam plate agar permukaan gel tidak bergelombang.
 - Lalu biarkan gel memadat selama kurang lebih 30 menit (ditandai dengan terbentuknya garis transparan diantara batas air dan gel yang terbentuk). Setelah itu buang air yang menutup separating gel.
 - Sesudah separating gel memadat siap untuk digunakan,
- Menyiapkan stacking gel 3% dengan cara:
- Disiapkan tabung polipropilen 50ml.
 - Dimasukkan 0,45 ml stok akrilamida dalam tabung.
 - Dimasukkan 0,38 ml 1M Tris pH 6,8. Tabung di tutup, lalu tabung digoyang secara perlahan.
 - Dimasukkan aquabides 2,11 ml. Tabung ditutup, lalu tabung digoyang secara perlahan.

- Dimasukkan 30 μ l SDS 10%. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.
- Dimasukkan 30 μ l APS 10%. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.
- Dimasukkan 5 μ l TEMED. Tabung ditutup, lalu digoyang secara perlahan.

3. Running Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Tahapan proses SDS-PAGE ini, diantaranya:

- Dimasukkan plate yang sudah berisi gel ke dalam chamber elektroforesis.
- Dituang running buffer sampai bagian atas dan bawah gel terendam.
- Bila terbentuk gelembung udara pada dasar gel atau diantara sumur sampel, maka gelembung tersebut harus dihilangkan.
- Dimasukkan sampel sebanyak 10-20 μ l (yang kandungan proteinnya minimal 0,1 g dan maksimal 20-40 g) secara hati-hati ke dalam dasar sumur gel menggunakan *Syringe Hamilton*.
- Bilas syringe sampai 3x dengan air atau dengan running buffer sebelum dipakai untuk memasukkan sampel yang berbeda pada sumur gel berikutnya.

4. Running sampel

Tahapan dalam proses running sampel ini, antara lain :

- Untuk memulai running, hubungkan perangkat elektroforesis dengan sumber listrik.
- Lakukan running pada arus konstan 20 mA selama kurang lebih 40-50 menit atau sampai tracking dye mencapai jarak 0,5 cm dari dasar gel.

- Setelah selesai, tuang running buffer dan ambil gel dari plate.

3.6.3 Pengambilan Sampel Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Berdasarkan penelitian ini sampel ikan yang digunakan diambil secara langsung dari petakan kolam ikan koi di kelompok pembudidaya ikan di Desa Nglegok Kabupaten Blitar, kemudian ditempatkan pada plastik untuk dianalisis kerusakan jaringan insang, ginjal dan usus ikan koi. Pengambilan sampel ikan dilakukan berdasarkan pertimbangan bahwa ikan koi termasuk kedalam kriteria ikan yang terindikasi parasit *Myxobolus* sp. ikan koi yang diduga terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. akan menunjukkan adanya gejala klinis seperti insang berwarna pucat, produksi lendir yang berlebih, terdapat *hemorage* (pendarahan) disekitar pangkal dan ujung sirip dan permukaan tubuh lainnya, serta kulit melepuh. Pengambilan sampel ikan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan pada kolam pemeliharaan ikan koi dengan selang waktu satu minggu sekali. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kondisi untuk mengetahui kondisi histopatologi ikan koi pada selang waktu yang berbeda.

3.6.4 Teknik Pengambilan Sampel Air

Pada penelitian ini pengambilan sampel air dilakukan berdasarkan pertimbangan. Menurut Sugiyono (2009), metode *purposive sampling* yaitu teknik pengambilan sampel sumber data dengan pertimbangan tertentu. Metode ini mempertimbangkan pemilihan sekelompok subyek berdasarkan ciri atau sifat yang memiliki hubungan erat dengan ciri-ciri atau sifat-sifat yang sudah diketahui sebelumnya.

Pengambilan sampel air dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dengan selang waktu tiga hari sekali. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas air pada bak pemeliharaan ikan koi (*Cyprinus carpio*) dalam selang

waktu yang berbeda dan untuk mengetahui kisaran kualitas air bagi pertumbuhan ikan koi yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp.

3.6.5 Uji In-vivo Protein Liquid *Brachionus plicatilis* pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Ikan sampel ukuran 7-12 cm kemudian dimasukkan ke dalam 24 bak. Perlakuan ini menggunakan ikan sampel sebanyak 288 ekor ikan dengan masing-masing perlakuan menggunakan 12 ekor ikan. Pada tahap pertama ikan dilakukan aklimatisasi pada bak perlakuan. Aklimatisasi dilakukan dengan cara memasukkan kantong plastik berisi ikan kedalam calon media pemeliharaan. Kantong dibiarkan mengapung selama 10-15 menit, setelah itu ikatannya dibuka dan ikan dibiarkan keluar dari plastik dengan cara menenggelamkan setengah mulut plastik sehingga ikan keluar dengan sendirinya.

Setelah ikan dilakukan aklimatisasi kemudian dilakukan perlakuan pada ikan. Perlakuan pada ikan menggunakan metode penyondean pada ikan dengan protein liquid *Brachionus plicatilis*. Pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* pada ikandengan menggunakan dosis A 33µl, B 66µl dan C 132 µl. Penyondeandilakukan selama tiga hari sekali pada ikan perlakuan. Adapun perlakuan yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rancangan Perlakuan Penelitian

	Pengulangan		
	1	2	3
Perlakuan	K (+)	K (+)	K (+)
	K (-)	K (-)	K (-)
	PL(a)	PL(a)	PL(a)
	PL(b)	PL(b)	PL(b)
	PL(c)	PL(c)	PL(c)
	PL(d)	PL(d)	PL(d)

	PL(e)	PL(e)	PL(e)
	PL(f)	PL(f)	PL(f)

Keterangan :

1, 2 dan 3 : Pengulangan (r)

K+, K-, PL(a), PL(b), PL(c), PL(d), PL(e), PL(f) : Perlakuan (t)

K+ : Kontrol Positif

K- : Kontrol Negatif

PL(a) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 33 µl /ekor)

PL(b) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 66 µl /ekor)

PL(c) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 132 µl /ekor)

PL(d) : Ikan sehat + Protein Liquid (Dosis 33 µl /ekor)

PL(e) : Ikan sehat + Protein Liquid (Dosis 66 µl /ekor)

PL(f) : Ikan sehat+ Protein Liquid (Dosis 132 µl /ekor)

3.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Setelah masa pemeliharaan selesai, insang, ginjal dan usus ikan koi diambil sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Ikan sampel yang akan diamati jaringan organ insang, ginjal dan usunya adalah ikan koi normal tanpa perlakuan (kontrol netral), ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dan diberi perlakuan protein liquid *Brachionus plicatilis* dan ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. (kontrol negatif).

Ikan koi setelah dilakukan uji diambil organ insang, ginjal dan usus dari masing-masing perlakuan. Caranya yaitu ikan dimatikan terlebih dahulu dengan ditusuk medula oblongata menggunakan *sectio set*. Organ insang diambil dengan cara dibuka operculum dan dipotong organ insang menggunakan gunting, pengambilan organ insang dilakukan dengan bantuan pinset, organ

insang didapatkan lalu diletakkan di botol film yang sudah berisi formalin 10%. Organ ginjal diambil dengan cara ikan dibedah mulai dari anus dilanjutkan ke bagian perut mengarah ke dorsal kemudian perut di buka menggunakan pinset untuk memudahkan pengambilan sampel, organ ginjal yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam botol film yang sudah berisi formalin 10%. Organ usus diambil dengan cara ikan dibedah mulai dari anus dilanjutkan ke bagian perut kemudian perut di buka menggunakan pinset untuk memudahkan pengambilan sampel, organ usus yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam botol film yang sudah berisi formalin 10% kemudian dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil hispatologi. Tahap-tahapannya hispatologi adalah sebagai berikut:

- **Tahap Fiksasi**

Sampel insang, ginjal dan usus yang akan diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut direndam dalam larutan formalin selama 24 jam.

- **Tahap Dehidrasi**

Tahap dehidrasi dilakukan dengan penarikan air secara bertahap menggunakan alat *auto technicon* selama 20 jam. Tabung *auto technicon* terdiri atas alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 90% selama 2 jam, alkohol 96% selama 2 jam, alkohol *absolute*1 selama 2 jam dan alkohol *absolute* 2 selama 2 jam.

- **Tahap Clearing**

Tahap clearing untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan kedalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

- **Tahap Impregnasi**

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan mencelupkan bahan ke

parafin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali kedalam parafin 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 kedalam waterbath (suhu 40°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass harus diolesi dengan perekat polyisin. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50-60°C kurang lebih selama 30 menit.

- **Tahap Pewarnaan Jaringan Menggunakan HE (*Hemotocyn Eosin*)**

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

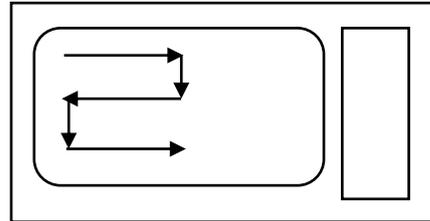
- **Tahap *Mounting***

Tahapan ini merupakan prosedur akhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh Haematoksilin yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh eosin yang bersifat asam.

3.6.7 Pengamatan Preparat Irisan Jaringan Insang, Ginjal dan Usus

Tingkat kerusakan jaringan insang, ginjal dan usus ikan yang telah diberi perlakuan protein liquid dapat diketahui dengan analisis statistik pemberian skoring. Dengan metode semi kualitatif menurut Kakkilaya (2002), yang digunakan untuk menghitung jumlah area yang berwarna dan dilakukan secara

manual dengan menghitung persentasenya. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ekor preparat) ke arah kepala kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ekor kembali (gerak zig zag) dapat dilihat pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Alur Perhitungan Skoring (Gerak Zig-zag) (Siswandari, 2005)

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari 5 luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan jaringan. Setiap lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya dengan kriteria hiperplasia, fusi, dan nekrosis (kerusakan sel), kemudian di presentase dengan pemberian skor dari angka 1 – 4. Presentase kerusakan setiap luas bidang lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan. Menurut Raza'i (2008) dengan rumus :

$$\text{Presentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Kemudian presentase yang telah didapatkan diberi skoring dari angka 1 sampai 4. Angka 1 (ringan) mempunyai tingkat presentase kerusakan jaringan 0 – 5% , angka 2 (sedang) tingkat presentase kerusakan jaringan 6 – 25%, angka 3 (berat) tingkat presentase kerusakan jaringan 26 – 50%, dan angka 4 (sangat berat) tingkat presentase kerusakan jaringan lebih dari >50%.

3.7 Prosedur Analisa Kualitas Air

3.7.1 Parameter Fisika

a. Suhu

Alat yang digunakan untuk mengukur suhu yaitu thermometer Hg. Menurut Badan Standar Nasional (2005), pengukuran suhu diawali dengan memasukkan thermometer Hg ke dalam kolam dengan cara dipegang pada bagian tali pengikatnya serta membelakangi sinar matahari. Cara ini dilakukan agar suhu tubuh tidak mempengaruhi hasil pengukuran suhu di perairan. ditunggu 2 sampai 5 menit sampai skala pada thermometer Hg menunjukkan angka suhu dan stabil pada angka tersebut. Hasil yang diperoleh kemudian dicatat.

3.7.2 Parameter Kimia

a. pH

Alat yang digunakan untuk mengukur pH adalah pH meter. Menurut Badan Standar Nasional (2004), pengukuran pH dengan menggunakan pH meter diawali dengan mengkalibrasi pH meter. Kalibrasi ini dilakukan dengan menggunakan larutan buffer dan bilas sensor dengan aquades. Selanjutnya masukkan pH meter ke dalam air sampel, lalu tunggu hingga display pH meter menunjukkan angka yang stabil. Kemudian hasil yang diperoleh dicatat.

b. Dissolved Oxygen (DO)

Menurut Saputri (2014), pengukuran oksigen terlarut dilakukan dengan menggunakan DO meter. Adapun prosedur pengukurannya adalah dengan menyiapkan DO meter dan mengkalibrasi DO meter dengan menggunakan akuades. Kemudian mencelupkan DO meter ke dalam air sampel selama kurang lebih 1 sampai 2 menit. Selanjutnya menekan tombol ON dan menunggu angka yang tertera pada layar stabil. Apabila angka telah stabil maka menekan tombol

HOLD. Kemudian melihat secara teliti skala yang tertera pada DO meter dan kemudian mencatat nilai DO yang diperoleh.

c. Karbondioksida (CO₂)

Menurut Hariyadi et.al (1992), untuk mengukur karbondioksida dalam suatu perairan dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- 1) Air sampel kolam diambil sebanyak 25 ml, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer
- 2) Air sampel ditambahkan 3-4 tetes indicator PP, apabila air berwarna merah muda (pink) berate air tersebut tidak mengandung CO₂ bebas
- 3) Apabila air tidak berwarna, maka segera dititrasi dengan menambahkan Na₂CO₃ 0,0454 N sampai warna menjadi merah muda (pink) pertama kali. Nilai CO₂ dihitung dengan menggunakan rumus:

$$CO_2 \text{ bebas (mg/l)} = \frac{v (\text{titran}) \times N (\text{titran}) \times 22 \times 1000}{ml \text{ air sampel}}$$

Keterangan:

V : ml larutan Na₂CO₃ yang digunakan untuk titrasi

N : Normalitas larutan Na₂CO₃ yaitu 0,0454 N

22 : Setengah dari MR karbondioksida

1000 : Konversi dari ml ke L

3.8 Analisis Data

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan

pengaruh pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).Rumus untuk RAL adalah sebagai berikut.

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \epsilon_{(ij)k}$$

Keterangan :

Y_{ijk} =respon perlakuan ke-I serta ulangan ke-j

I = perlakuan

J = Ulangan

μ = nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh dari perlakuan ke-i

$\epsilon_{(ij)k}$ = galat atau kesalahan percobaan untuk perlakuan ke-i

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 8 perlakuan. Perlakuan kontrol dilakukan untuk mempermudah penganalisaan hasil. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 24 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut seperti pada **Tabel 3**.

Tabel 3.Rancangan Perlakuan Pemberian Dosis Protein Liquid

	Pengulangan		
	1	2	3
Perlakuan	K (+)	K (+)	K (+)
	K (-)	K (-)	K (-)
	PL(a)	PL(a)	PL(a)
	PL(b)	PL(b)	PL(b)
	PL(c)	PL(c)	PL(c)
	PL(d)	PL(d)	PL(d)
	PL(e)	PL(e)	PL(e)

	PL(f)	PL(f)	PL(f)
--	-------	-------	-------

Keterangan :

1, 2 dan 3 : Pengulangan (r)

K+, K-, PL(a) PL(b), PL(c), PL(d), PL(e), PL(f) : Perlakuan (t)

K+ : Kontrol Positif

K- : Kontrol Negatif

PL(a) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 33 µl /ekor)

PL(b) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 66 µl /ekor)

PL(c) : Ikan *Myxobolus* + Protein Liquid (Dosis 132 µl/ekor)

PL(d) : Ikan sehat + Protein Liquid (Dosis 33 µl/ekor)

PL(e) : Ikan sehat + Protein Liquid (Dosis 66 µl/ekor)

PL(f) : Ikan sehat+ Protein Liquid (Dosis 132 µl/ekor)

Data hasil pengamatan jaringan insang, ginjal dan usus dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan hasil pengamatan dengan gejala klinis yang sesuai dengan penyakit dan skoring. Semua analisa termasuk data hasil kerusakan jaringan akan diulang sebanyak tiga kali dari masing-masing perlakuan dan di uji secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) sesuai rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisis digunakan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil), yaitu untuk mengetahui perbedaan masing-masing perlakuan.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kuantifikasi Protein Menggunakan NanoDrop ND-1000

Kuantifikasi protein dilakukan menggunakan Nanodrop Spectrophotometer ND-1000. Sampel protein diambil sebanyak 1 μ L dibaca pada panjang gelombang 260 sampai 280 nm. Kuantifikasi protein didapat dari perbandingan absorbansi 260/280. Hasil kuantifikasi protein dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Tabel Hasil Kuantifikasi Protein *Brachionus plicatilis*

Sam P le ID	Us er ID	Da T e	T I me	mg/ ml	260 / 280	A280 Mm	E 1 %	Ext Coef f x 10e3	Mol Wt kDa	Cur sor Pos	Curso r abs
Super natan	Def ault	3/6 /19	11. 07 AM	24.92	1.76	24.921	10 00	NaN	NaN	280	24.921
Pellet	Def ault	3/6 /19	11. 08 AM	5.38	1.36	5.380	10 00	NaN	NaN	280	5.380

Kuantifikasi protein untuk supernatan *Brachionus plicatilis* sebesar 24,92 mg/ml dengan nilai absorbansi 1,76 dan kuantifikasi protein untuk pellet *Brachionus plicatilis* sebesar 5,38 mg/ml dengan nilai absorbansi 1,36. Hasil kuantifikasi protein ini nantinya digunakan sebagai acuan perhitungan dosis yang digunakan dalam penelitian ini. Perhitungan dosis dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

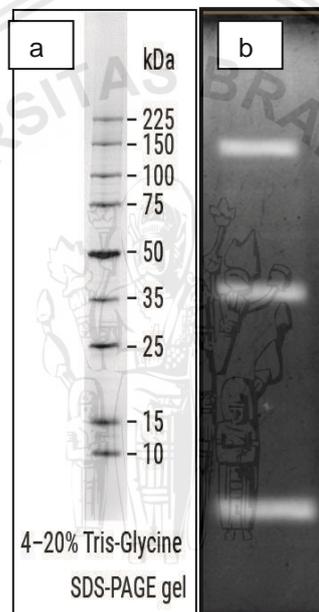
Panjang gelombang yang biasa digunakan adalah 260/280 nm menunjukkan sampel terkontaminasi oleh protein atau reagen. Kemurnian protein dapat diukur dengan menghitung nilai absorbansi panjang gelombang 260 dibagi dengan nilai absorbansi panjang gelombang 280 nm (ThermoScientific, 2011). Hastings dan Kirby (1966) melaporkan bahwa larutan yang mengandung campuran DNA, glikogen, dan protein dengan kadar protein 0,2% memiliki nilai absorbansi rasio 260 nm dan 280 nm sebesar 1,92. Nedel *et al.* (2009)

repository.ub.ac.id

melaporkan bahwa larutan protein dengan rasio nilai absorbansi pada 260 nm dan 280 nm sebesar 1,7-2,0 digolongkan sebagai protein yang baik.

4.2 Analisis Protein dengan Metode SDS-PAGE (*Sodium Dedosil Sulfat Poliakrilamid Gel Elektroforesis*)

Untuk melihat profil fragmen pigmen *Brachionus plicatilis* digunakan metode SDS-PAGE. Metode ini merupakan salah satu metode yang banyak digunakan dalam mendeteksi protein. Hasil analisa protein menggunakan metode SDS-PAGE dapat dilihat pada **Gambar 13**.



Gambar 13. Profil Protein SDS-PAGE. (a) Protein Marker, (b) Protein Supernatan *Brachionus plicatilis*

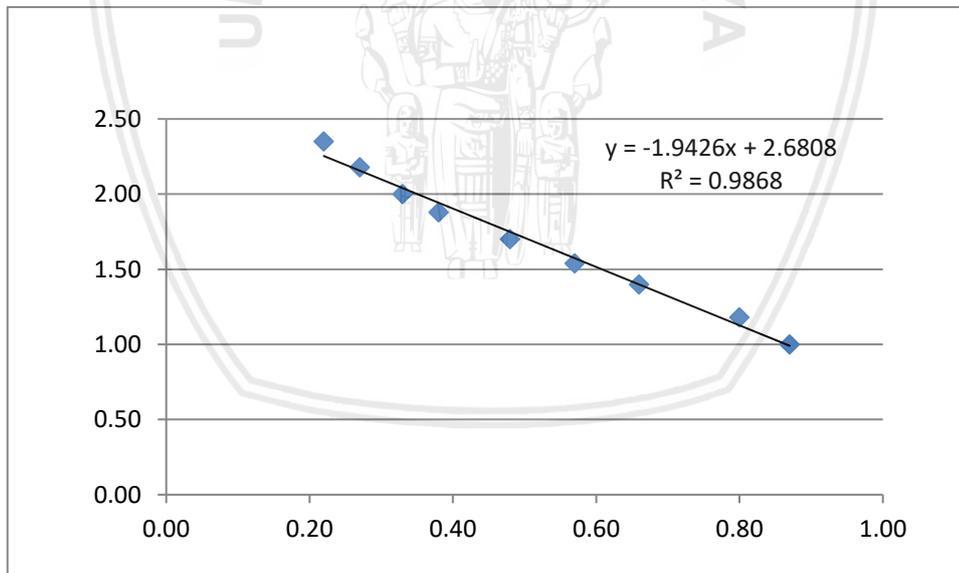
Hasil analisa pada gambar 13 diatas menunjukkan terdapat band protein yang terlihat. Untuk mengetahui berat molekul band protein perlu dilakukan perhitungan. Pertama dilakukan perhitungan untuk mencari rumus linear band protein marker yang digunakan. Data hasil perhitungan padat dilihat pada **Tabel**

5.

Tabel 5. Perhitungan Berat Molekul Band Pita Marker

BM	Log BM (y)	A (mm)	B (mm)	Rf (x)
225	2.35	20	92	0.22
150	2.18	25	92	0.27
100	2.00	30	92	0.33
75	1.88	35	92	0.38
50	1.70	44	92	0.48
35	1.54	52	92	0.57
25	1.40	61	92	0.66
15	1.18	74	92	0.80
10	1.00	80	92	0.87

Setelah didapatkan hasil perhitungan berat molekul pada pita band protein marker, selanjutnya adalah menghitung persamaan linear dari hasil diatas dengan menggunakan Microsoft excel. Hasil perhitungan grafik linear dapat dilihat pada **Gambar 14.**

**Gambar 14.** Grafik linear pita protein marker *Brachionus plicatilis*

Dari grafik diatas didapatkan hasil persamaan linear pada pita protein marker yaitu $y = -1,942x + 2,680$. Setelah didapatkan rumus linear tersebut dilakukan perhitungan berat molekul band protein *Brachionus plicatilis*. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada **Tabel 6**.

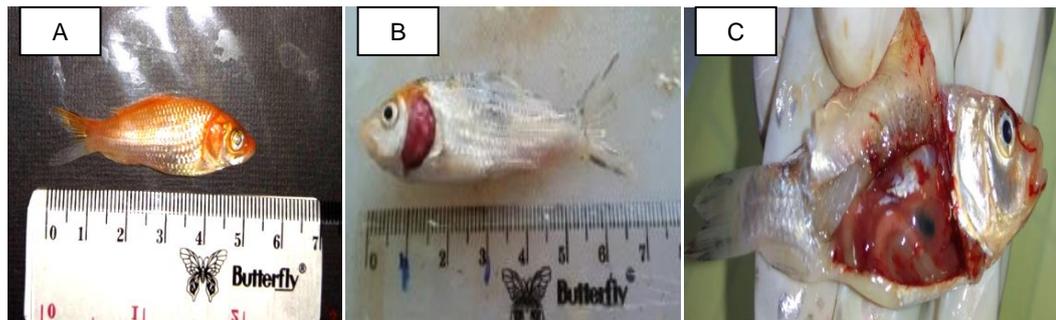
Tabel 6. Perhitungan Berat Molekul Band Protein *Brachionus plicatilis*

A (mm)	B (mm)	Rf (x)	$y = -1.942x + 2.680$	BM Sampel
28	92	0.30	2.08896	122.73
38	92	0.41	1.87787	75.49
73	92	0.79	1.13907	13.77

Setelah hasil perhitungan berat molekul band protein, ditemukan bahwa fragmen pigmen protein *Brachionus plicatilis* terdapat 3 band protein yaitu dengan berat molekul 122,73 kDa, 75,49 kDa dan 13,77 kDa. Berdasarkan hasil berat molekul yang tampak, dapat diindikasikan bahwa fragmen pigmen protein dari *Brachionus plicatilis* yaitu jenis peridinin, apyrase dan threonine. Menurut Weis *et al.* (2002), yang menyebutkan bahwa peridinin memiliki dua bentuk yaitu satu sebagai homodimer (bentuk pendek) dengan berat molekul berkisar 13-16 kDa dan yang lain sebagai monomer (bentuk panjang) dengan berat molekul berkisar antara 30-35 kDa. Jenis protein apyrase biasanya sering muncul pada berat molekul berkisar antara 65-86 kDa. Sedangkan jenis threonin biasanya sering muncul pada berat molekul berkisar antara 119-125 kDa.

4.3 Gambaran Histopatologi Insang, Ginjal dan Usus

Pengambilan sampel Ikan Koi berasal dari Desa Nglepok, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Dari hasil pengamatan ditemukan Ikan Koi yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. Ikan Koi yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. dapat dilihat pada **Gambar 15**.



Gambar 15. Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) (Dokumentasi pribadi, 2019)

Gambar A diatas dapat diketahui bahwa Ikan Koi sehat tidak terdapat kerusakan fisik. Selain itu ikan yang sehat ini berenang aktif dan berwarna cerah.

Gambar B diatas dapat diketahui bahwa Ikan Koi yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. menunjukkan gejala klinis yang dilihat secara langsung yaitu terdapatnya kista (benjolan) yang berwarna kemerah-kemarahan. Kista tersebut berisi ribuan spora yang menutupi insang ikan sehingga tutup insang tampak terbuka dan membuat ikan koi sulit bernafas.

Gambar C diatas, dapat diketahui bahwa organ bagian dalam ikan seperti usus dan ginjal berwarna pucat dan terdapat kista berwarna putih. Hal ini akan berakibat fatal bagi kelangsungan hidup Ikan Koi karena sudah menyebar ke bagian dalam organ ikan. Parasit *Myxobolus* sp. yang telah menginfeksi ke organ dalam ikan bisa menimbulkan kerusakan organ.

Sesuai dengan pendapat Kordi (2004), penyakit Myxosporeasis disebabkan oleh beberapa jenis parasit seperti *Myxobolus* sp. Ikan yang terinfeksi parasit ini menunjukkan gejala-gejala timbulnya bintil kemerah-merahan yang merupakan kumpulan dari ribuan spora. Bintil ini menyebabkan tutup insang selalu terbuka sehingga terjadi gangguan pada sirkulasi pernafasan.

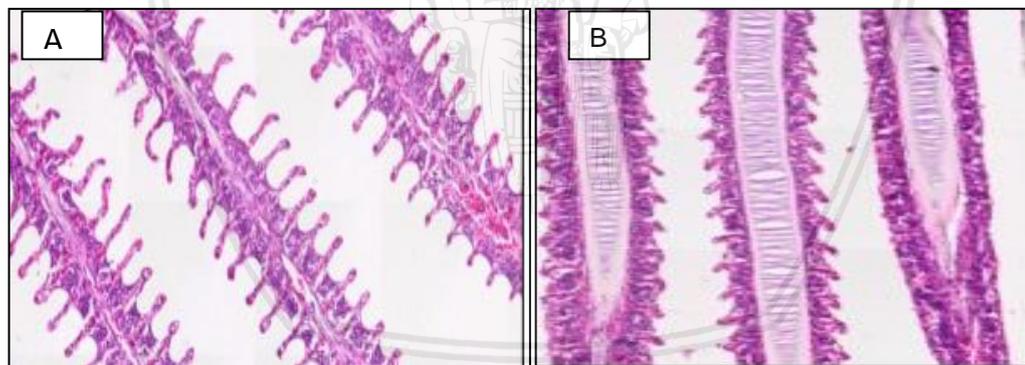
Firmansyah *et al.* (2011), menunjukkan bahwa Ikan Koi yang terinfestasi parasit *Myxobolus* sp. memiliki gejala klinis yang dilihat secara langsung yaitu operculum yang tidak dapat menutup secara sempurna karena nodul pada

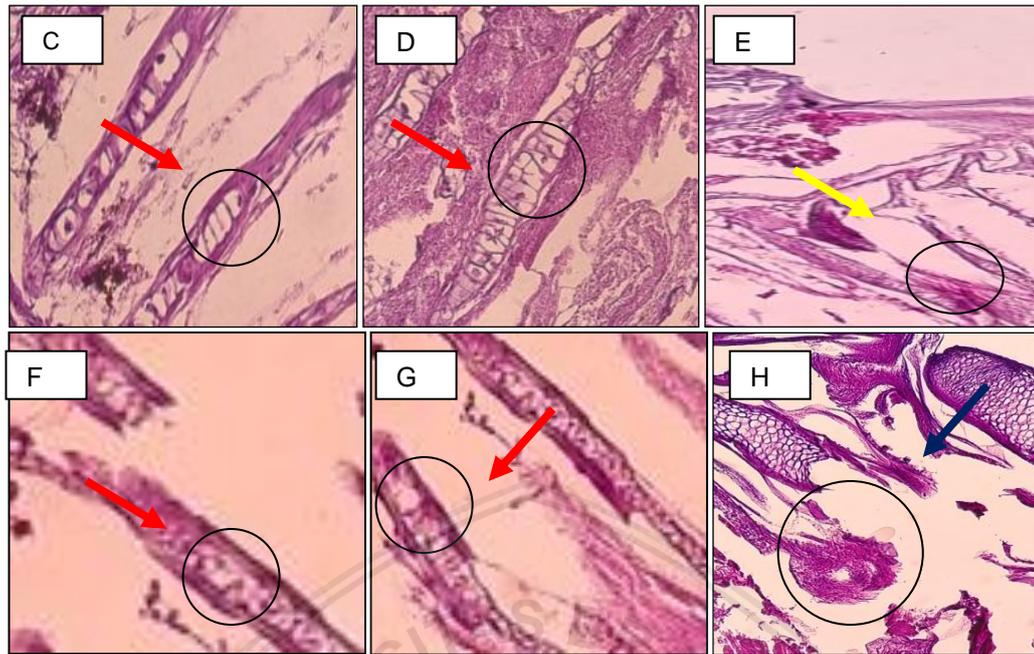
insang. Hal ini disebabkan adanya nodul pada insang yang mengganggu proses pernafasan. Di samping itu, keberadaan nodul tersebut membuat ikan kehilangan keseimbangan saat berenang sehingga ikan berenang secara spiral dari dasar perairan hingga ke permukaan.

Nedi *et al.* (2015), secara umum infeksi berat pada insang akan menyebabkan penurunan berat badan, khususnya pada ikan muda melemah, berenang di dekat pematang, warna kulit mulai pucat dan terganggu sistem syarafnya. Apabila infeksi terjadi pada organ dalam seperti ginjal dan usus cenderung lebih fatal.

4.3.1 Insang

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) normal dan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. dapat dilihat pada **Gambar 16**.





Gambar 16. Gambaran Histologi Insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). (A) Insang Ikan Koi Kontrol (-), (B) Insang Ikan Koi Kontrol (+), (C) lamella Insang Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 33 μ l, (D) Irisan Insang Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 66 μ l, (E) lamella Insang Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 132 μ l, (F) lamella Insang Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 33 μ l, (G) lamella Insang Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 66 μ l, (H) lamella Insang Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 132 μ l.

Edema , → Fusi Lamella dan → Hiperplasia. →

Kondisi insang Ikan Koi normal dengan penampakan filamen dan lamela yang sehat, sedangkan pada insang yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. terlihat banyak kerusakan pada lamela yang ditunjukkan pada gambar 16 dengan terjadi pembengkakan atau sel-sel yang membesar dan perubahan struktur lamela.

Berikut kerusakan jaringan insang yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. :

a) Edema

Edema merupakan suatu kondisi dimana meningkatnya jumlah cairan dalam kompartemen jaringan interseluler. Penyebab dari edema adalah meningkatnya tekanan hidrostatik intra vaskula menimbulkan perembesan cairan plasma darah keluar dan masuk ke dalam ruang interstisium. Kondisi

peningkatan tekanan hidrostatik sering ditemukan pada pembendungan pada vena (Ersa, 2008).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata edema yang berbeda pada histopatologi insang Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.4	0.2	0.6	1.2	0.4	0.2
K(+)	3	2.6	3.4	9	3.0	0.4
PL (a)	0.4	0.6	0.6	1.6	0.5	0.1
PL (b)	1	0.8	1	2.8	0.9	0.1
PL ©	1.4	1.2	1	3.6	1.2	0.2
PL (d)	1.4	1.6	1.4	4.4	1.5	0.1
PL(e)	1.4	2.2	2.2	5.8	1.9	0.5
PL(f)	2.2	1.8	2.2	6.2	2.1	0.2

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 7 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan insang pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan insang Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan edema pada

jaringan insang dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Uji Sidik Ragam Edema Jaringan Insang pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	15.87	2.27	33.28**	2.66	4.03
A	3	1.79	0.60	8.76**	3.24	5.29
B	1	10.94	10.94	160.59**	4.49	8.53
AB	3	14.06	4.69	68.80**	3.24	5.29
Galat	16	1.09	0.07			
Total	23	43.75				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 8 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, $F_{hitung} > F_{5\%} < F_{1\%}$ sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan edema pada hasil histopatologi insang Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 9**.

Tabel 9. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Edema Jaringan Insang

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.4	0.5	0.9	1.2	1.5	1.9	2.1	3	
K(-)	0.4	TN								a
PL (a)	0.5	0.1 ^{TN}	TN							ab
PL (b)	0.9	0.5*	0.4 ^{TN}	TN						bc
PL (c)	1.2	0.8	0.7*	0.3 ^{TN}	TN					cd
PL (d)	1.5	1.1	1	0.6*	0.3 ^{TN}	TN				de
PL (e)	1.9	1.5	1.4	1	0.7*	0.4 ^{TN}	TN			ef
PL (f)	2.1	1.7	1.6	1.2	0.9	0.6*	0.2 ^{TN}	TN		f
K(+)	3	2.6	2.5	2.1	1.8	1.5	1.1*	0.9*	TN	g

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 9 diperoleh bentuk kerusakan jaringan insang mengalami edema didapatkan notasi a, b, c, d, e, f dan g. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a tidak berbedanya dengan perlakuan PL (a) yang ditandai dengan notasi ab. Sedangkan pada perlakuan K (-) dengan notasi a berbeda sangat nyata dengan perlakuan PL (b), PL (c), PL (d), PL (e), PL (f) dan Kontrol positif yang ditandai dengan notasi berturut-turut bc, cd, de, ef, f dan g. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan insang.

b) Hiperplasia

Hiperplasia merupakan penambahan dari suatu bagian tubuh atau organ karena adanya peningkatan jumlah sel-sel baru. Hiperplasia terjadi pada tingkat iritasi yang lebih rendah dan apabila sel mukus yang berada di dasar lamela meningkat jumlahnya, akan mengakibatkan fusi pada lamella (Rennika *et al.*, 2013).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata hiperplasia yang berbeda pada histopatologi insang Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Rerata Skoring Kerusakan Hiperplasia pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.4	0.6	1.6	0.5	0.1
K(+)	2.6	2.4	3	8	2.7	0.3
PL (a)	0.6	0.6	0.6	1.8	0.6	0
PL (b)	1	1.2	1.2	3.4	1.1	0.1
PL (c)	1.6	1.6	1.4	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.6	1.8	1.6	5	1.7	0.1
PL(e)	1.8	2.2	2.2	6.2	2.1	0.2
PL(f)	2.4	2	2.2	6.6	2.2	0.2

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 10 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan insang pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan insang Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan hiperplasia pada jaringan insang dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 11**.

Tabel 11. Uji Sidik Ragam Hiperplasia Jaringan Insang pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	12.18	1.74	55.68**	2.66	4.03
A	3	1.67	0.56	17.81**	3.24	5.29
B	1	8.64	8.64	276.48**	4.49	8.53
AB	3	1.87	0.62	19.95**	3.24	5.29
Galat	16	0.5	0.03			
Total	23	24.86				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 11 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, F hitung > F 5% < 1% sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hiperplasia pada hasil histopatologi insang Ikan Koi yang terinfeksi

Myxobolus sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 12**.

Tabel 12. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hiperplasia Jaringan Insang

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.5	0.6	1.1	1.5	1.7	2.1	2.2	2.7	
K(-)	0.5	TN								a
PL (a)	0.6	0.1 ^{TN}	TN							a
PL (b)	1.1	0.6	0.5*	TN						b
PL (c)	1.5	1	0.9	0.4*	TN					b
PL (d)	1.7	1.2	1.1	0.6*	0.2 ^{TN}	TN				bc
PL (e)	2.1	1.6	1.5	1	0.6	0.4*	TN			d
PL (f)	2.2	1.7	1.6	1.1	0.7	0.5*	0.1 ^{TN}	TN		de
K(+)	2.7	2.2	2.1	1.6	1.2	1	0.6	0.5*	TN	f

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 12 diperoleh bentuk kerusakan jaringan insang mengalami hiperplasia didapatkan notasi a, b, c, d, e dan f. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a tidak berbeda nyata dengan perlakuan PL (a) yang ditandai dengan notasi a. Sedangkan pada perlakuan Kontrol negatif dengan notasi a berbeda nyata dengan perlakuan PL (b), PL (c), PL (d) dan PL (e), PL (f) dan Kontrol Positif yang ditandai dengan notasi berturut-turut yaitu b, b, bc, d, de dan f. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan insang.

c) Fusi Lamella

Sipatuhar *et al.* (2013), fusi lamella terjadi akibat peningkatan patologi hiperplasia secara terus menerus dan menyebabkan terisinya ruang antar lamella sekunder oleh sel-sel baru yang kemudian memicu terjadinya pelekatan pada kedua sisi lamella. Fusi ditandai dengan adanya lamella sekunder insang yang terlihat menempel satu sama lain. Hal ini dikarenakan adanya

peleburanantara lamella sekunder sehingga lamella sekunder terlihat menempel dan menyatu.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata fusi lamella yang berbeda pada histopatologi insang Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 13**.

Tabel 13.Rerata Skoring Kerusakan Fusi Lamella pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.4	0.6	1.6	0.5	0.1
K(+)	2.4	2.2	3	7.6	2.5	0.4
PL (a)	1	0.6	0.6	2.2	0.7	0.2
PL (b)	1.2	1.2	1.4	3.8	1.3	0.1
PL ©	1.6	1.4	1.6	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.8	2	1.8	5.6	1.9	0.1
PL(e)	1.6	2.2	2.4	6.2	2.1	0.4
PL(f)	2.4	2.4	2.2	7	2.3	0.1

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4)= terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 13 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan insang pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan insang Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan fusi lamella



pada jaringan insang dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 14**.

Tabel 14. Uji Sidik Ragam Fusi Lamella Jaringan Insang pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.11	1.59	27.31**	2.66	4.03
A	3	1.26	0.42	7.23**	3.24	5.29
B	1	8.4	8.40	144.52**	4.49	8.53
AB	3	1.44	0.48	8.26**	3.24	5.29
Galat	16	0.93	0.06			
Total	23	23.14				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 14 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, F hitung > F 5% < 1% sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan fusi lamella pada hasil histopatologi insang Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 15**.

Tabel 15. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Fusi Lamella Jaringan Insang

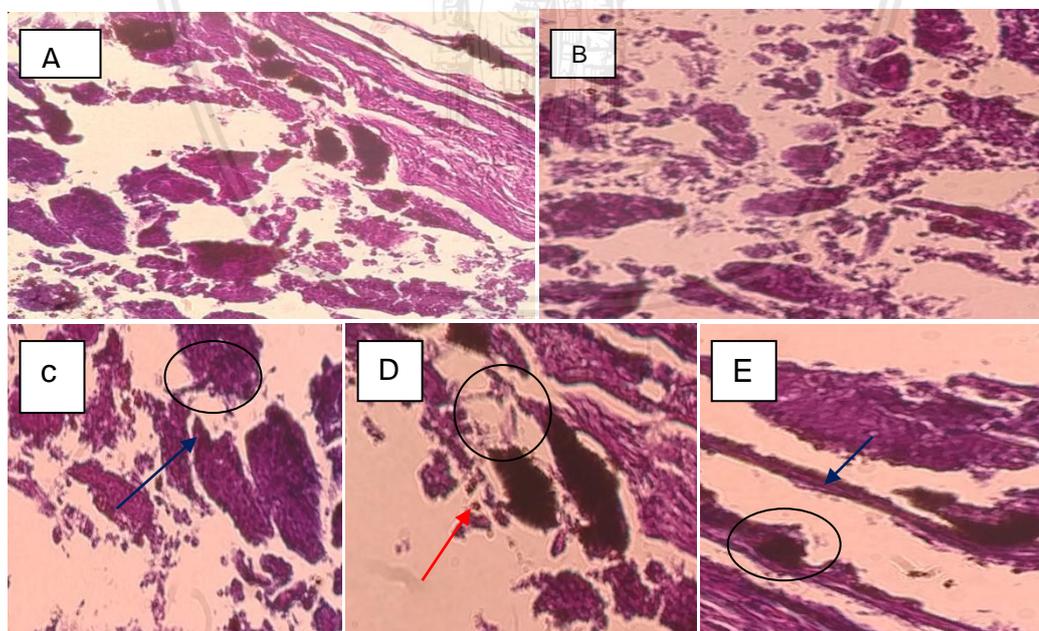
Perlakuan	Rata-rata	PL	PL	PL	PL	PL	PL	K(+)	Nota	
		K(-)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)			(f)
K(-)	0.5	0.5	0.7	1.3	1.5	1.9	2.1	2.3	2.5	a
PL (a)	0.7	TN 0.2 ^T N	TN 0.6							a
PL (b)	1.3	0.8	* 0.8	TN 0.2 ^T N						b
PL (c)	1.5	1	*		TN 0.4 ^T N					bc
PL (d)	1.9	1.4	1.2	0.6*		TN 0.2 ^T N				cd
PL (e)	2.1	1.6	1.4	0.8	0.6*		TN 0.2 ^T N			de
PL (f)	2.3	1.8	1.6	1	0.8		0.4 ^T N	0.2 ^T N		e
K(+)	2.5	2	1.8	1.2	1	0.6	0.4 ^T N	0.2 ^T N	TN	e

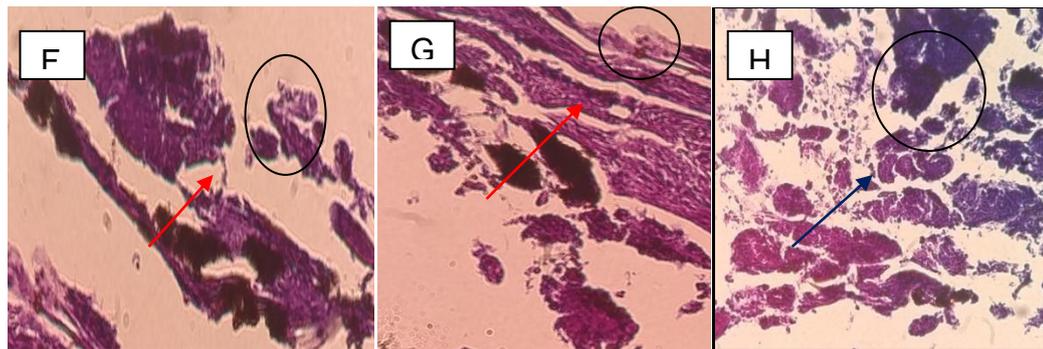
Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 15 diperoleh bentuk kerusakan jaringan insang mengalami fusi lamella didapatkan notasi a, b, c, d dan e. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a tidak berbedanya dengan perlakuan PL (a) yang ditandai dengan notasi a. Sedangkan pada perlakuan Kontrol negatif berbeda nyata dengan perlakuan PL (b), PL (c), PL (d), PL (e), PL (f) dan Kontrol positif yang ditandai dengan notasi berturut-turut yaitu b, bc, cd, de dan e. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan insang.

4.3.2 Ginjal

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan ginjal Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) normal dan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. dapat dilihat pada **Gambar 17**.





Gambar 17. Gambaran Histopatologi Ginjal Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). (A) Ginjal Ikan Koi Kontrol (-), (B) Ginjal Ikan Koi Kontrol (+), (C) Ginjal Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 33 μ l, (D) Ginjal Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 66 μ l, (E) Ginjal Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 132 μ l, (F) Ginjal Ikan Koi Myxobolus + Supernatan dosis 33 μ l, (G) Ginjal Ikan Koi Myxobolus + Supernatan dosis 66 μ l, (H) Ginjal Ikan Koi Myxobolus + Supernatan dosis 132 μ l.

Edema , → Hipertrofi. →

Kondisi ginjal Ikan Koi normal dengan penampakan jaringan yang sehat, sedangkan pada ginjal yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. terlihat banyak kerusakan pada jaringan yang ditunjukkan pada gambar 17 dengan terjadinya pembengkakan atau sel-sel yang membesar dan penambahan volume sel.

Berikut kerusakan jaringan ginjal yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. :

a) Edema

Edema adalah pembengkakan sel atau penimbunan cairan secara berlebihan di dalam jaringan tubuh. Penimbunan cairan tersebut mengakibatkan sel bersifat iritatif yang menyebabkan sel akan membesar. Edema menandakan adanya kebocoran cairan tubuh melalui dinding pembuluh darah (Amelia dan Prayitno, 21012).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata edema yang berbeda pada histopatologi ginjal Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 16**.

Tabel 16. Rerata Skoring Kerusakan Edema pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.8	2	0.7	0.1
K(+)	2.6	2.6	3.2	8.4	2.8	0.3
PL (a)	1.2	1	1	3.2	1.1	0.1
PL (b)	1.2	1.2	1.6	4	1.3	0.2
PL (c)	1.6	1.6	1.8	5	1.7	0.1
PL (d)	2	2.2	2.2	6.4	2.1	0.1
PL (e)	2	2.4	2.6	7	2.3	0.3
PL (f)	2.4	2.6	2.4	7.4	2.5	0.1

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 16 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan ginjal pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan ginjal Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan edema pada jaringan ginjal dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 17.

Tabel 17. Uji Sidik Ragam Edema Jaringan Ginjal pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.69	1.67	39.88**	2.66	4.03
A	3	0.7	0.23	5.57**	3.24	5.29
B	1	9.38	9.38	224.00**	4.49	8.53
AB	3	1.62	0.54	12.90**	3.24	5.29

Galat	16	0.67	0.04
Total	23	24.06	

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 17 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, F hitung > F 5% < 1% sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan edema pada hasil histopatologi ginjal Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 18**.

Tabel 18. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Edema Jaringan Ginjal

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.7	1.1	1.3	1.7	2.1	2.3	2.5	2.8	
K(-)	0.7	TN								a
PL (a)	1.1	0.4*	TN							b
PL (b)	1.3	0.6*	0.2 ^{TN}	TN						bc
PL (c)	1.7	1	0.6	0.4*	TN					d
PL (d)	2.1	1.4	1	0.8	0.4*	TN				d
PL (e)	2.3	1.6	1.2	1	0.6*	0.2 ^{TN}	TN			de
PL (f)	2.5	1.8	1.4	1.2	0.8	0.4*	0.2 ^{TN}	TN		ef
K(+)	2.8	2.1	1.7	1.5	1.1	0.7	0.5*	0.3 ^{TN}	TN	fg

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 18 diperoleh bentuk kerusakan jaringan ginjal mengalami edema didapatkan notasi a, b, c, d, e, f dan g. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a berbeda nyata dengan perlakuan PL (a), PL (b), PL (c), PL (d), PL (e), PL (f) dan Kontrol positif yang ditandai dengan notasi berturut-turut yaitu b, c, d, e, f dan g. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan ginjal.

b) Hipertrofi

Hipertrofi, yaitu bertambahnya volume sel (pembesaran sel) karena infeksi suatu penyakit namun dalam hipertrofi tidak diikuti dengan penambahan jumlah sel. Hipertrofi yakni kerusakan jaringan yang ditandai dengan penambahan ukuran organ akibat bertambahnya ukuran sel sehingga sel yang satu dengan yang lainnya saling lepas (Putri *et al.*, 2013).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata hipertrofi yang berbeda pada histopatologi ginjal Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 19**.

Tabel 19. Rerata Skoring Kerusakan Hipertrofi pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.8	2	0.7	0.1
K(+)	2.4	2.4	2.6	7.4	2.5	0.1
PL (a)	1.2	0.8	1	3	1.0	0.2
PL (b)	1.2	1.2	1.4	3.8	1.3	0.1
PL ©	1.4	1.6	1.6	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.6	2	2	5.6	1.9	0.2
PL(e)	1.8	2.2	2.4	6.4	2.1	0.3
PL(f)	2.2	2.2	2.2	6.6	2.2	0.0

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 19 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan ginjal pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid

Brachionus plicatilis sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan ginjal Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan hipertrofi pada jaringan ginjal dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 20**.

Tabel 20. Uji Sidik Ragam Hipertrofi Jaringan Ginjal pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	8.4	1.20	40.00**	2.66	4.03
A	3	0.62	0.21	6.89**	3.24	5.29
B	1	6.62	6.62	220.67**	4.49	8.53
AB	3	1.16	0.39	12.89**	3.24	5.29
Galat	16	0.48	0.03			
Total	23	17.28				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 20 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, F hitung > F 5% < 1% sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hipertrofi pada hasil histopatologi ginjal Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 21**.

Tabel 21. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hipertrofi Jaringan Ginjal

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL	PL	PL	PL	PL	PL	K(+)	Notasi
			(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)		
	0.7	0.7	1	1.3	1.5	1.9	2.1	2.2	2.5	
K(-)	0.7	TN								a
PL (a)	1	0.3*	TN							b
PL (b)	1.3	0.6	0.3*	TN						b
PL (c)	1.5	0.8	0.5*	0.2 ^{TN}	TN					bc
PL (d)	1.9	1.2	0.9	0.6	0.4*	TN				d



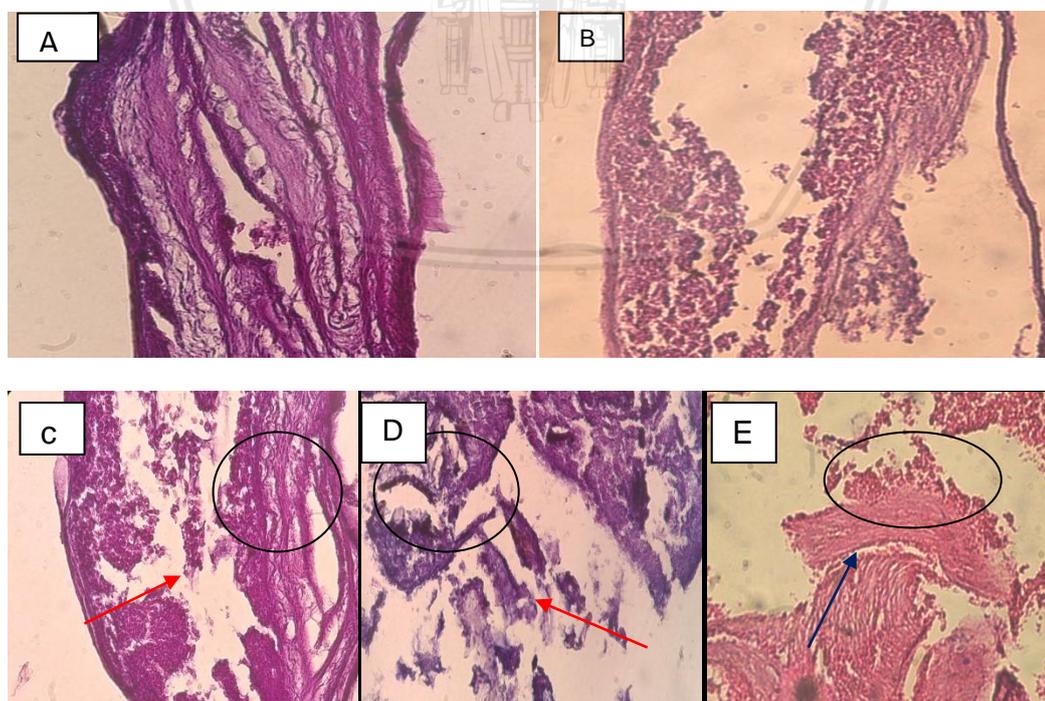
PL (e)	2.1	1.4	1.1	0.8	0.6*	0.2 ^{TN}	TN			de
PL (f)	2.2	1.5	1.2	0.9	0.7	0.3*	0.1 ^{TN}	TN		ef
K(+)	2.5	1.8	1.5	1.2	1	0.6	0.4	0.3*	TN	g

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 21 diperoleh bentuk kerusakan jaringan ginjal mengalami hipertrofi didapatkan notasi a, b, c, d, e, f dan g. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a berbeda nyata dengan perlakuan PL (a), PL (b), PL (c), PL (d) dan PL (e), PL (f) dan kontrol positif yang ditandai dengan notasi berurutan-turut yaitu b, b, bc, d, de, ef dan g. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan ginjal.

4.3.3 Usus

Berdasarkan hasil penelitian, gambaran jaringan ususkan Koi (*Cyprinus carpio*) normal dan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. dapat dilihat pada **Gambar 18**.





Gambar 18. Gambaran Histopatologi Usus Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). Gambaran Histopatologi Usus Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). (A) Usus Ikan Koi Kontrol (-), (B) Usus Ikan Koi Kontrol (+), (C) Usus Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 33 μ l, (D) Usus Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 66 μ l, (E) Usus Ikan Koi Sehat + Supernatan dosis 132 μ l, (F) Usus Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 33 μ l, (G) Usus Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 66 μ l, (H) Usus Ikan Koi *Myxobolus* + Supernatan dosis 132 μ l.

Kongesti, → Hemoragi. →

Kondisi usus Ikan Koi normal dengan penampakan jaringan yang sehat, sedangkan pada usus yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. terlihat banyak kerusakan pada jaringan yang ditunjukkan pada gambar 18 dengan terjadinya pembengkakan atau sel-sel yang membesar.

Berikut kerusakan jaringan usus yang terinfeksi parasit *Myxobolus* sp. :

a) Kongesti

Kongesti adalah kenaikan jumlah darah didalam pembuluh darah yang secara mikroskopik terlihat bahwa kapiler darah tampak melebar terisi eritrosit. Kongesti ditandai dengan kapiler darah melebar yang berwarna lebih merah dan berukuran lebih lebar dibandingkan dengan kapiler normal (Lukostyowati dan Kurniasih, 2011).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata kongesti yang berbeda pada histopatologi usus Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 22**.

Tabel 22. Rerata Skoring Kerusakan Kongesti pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.6	1.8	0.6	0.0
K(+)	2.6	2.6	2.8	8	2.7	0.1
PL (a)	1.2	0.8	0.8	2.8	0.9	0.2
PL (b)	1.4	1.2	1.4	4	1.3	0.1
PL (c)	1.6	1.6	1.6	4.8	1.6	0.0
PL (d)	1.6	2.2	2	5.8	1.9	0.3
PL(e)	2.2	2.4	2.4	7	2.3	0.1
PL(f)	2.2	2.6	2.6	7.4	2.5	0.2

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 22 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan usus pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan usus Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan kongesti pada jaringan usus dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 23**.

Tabel 23. Uji Sidik Ragam Hipertrofi Jaringan Usus pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.73	1.68	55.86**	2.66	4.03
A	3	1.2	0.40	13.33**	3.24	5.29
B	1	9.13	9.13	304.33**	4.49	8.53
AB	3	1.41	0.47	15.67**	3.24	5.29



Galat	16	0.48	0.03
Total	23	23.95	

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 23 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, $F_{hitung} > F_{5\%} < 1\%$ sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan kongesti pada hasil histopatologi usus Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 24**.

Tabel 24. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Kongesti Jaringan Usus

Perlakuan	Rata-rata	K	PL	PL	PL	PL	PL	PL	K	Notasi
		(-)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(+)	
		0.6	0.9	1.3	1.6	1.9	2.3	2.5	2.7	
K(-)	0.6	TN								a
PL (a)	0.9	0.3*	TN							b
PL (b)	1.3	0.7	0.4*	TN						b
PL (c)	1.6	1	0.7	0.3*	TN					b
PL (d)	1.9	1.3	1	0.6	0.3*	TN				b
PL (e)	2.3	1.7	1.4	1	0.7	0.4*	TN			b
PL (f)	2.5	1.9	1.6	1.2	0.9	0.6*	0.2 ^{TN}	TN		bc
K(+)	2.7	2.1	1.8	1.4	1.1	0.8	0.4*	0.2 ^{TN}	TN	cd

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Pada Tabel 24 diperoleh bentuk kerusakan jaringan usus mengalami kongesti didapatkan notasi a, b, c dan d. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a berbeda nyata dengan perlakuan PL (a), PL (b), PL (c), PL (d), PL (e), PL (f) dan Kontrol positif yang ditandai dengan notasi berurutan-turut yaitu b, b, b, b, b, bc dan cd. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan usus.

b) Hemoragi

Hemoragi (perdarahan) dapat dikenali dengan adanya titikdarah dengan spot kecil maupun besar. Hemoragi terdiri dari dua jenis, yaitu hemoragi kecil dan besar. Hemoragi kecil dapat ditandai dengan adanya pendarahan berbentuk titik darah dan tidak lebih besar dari ujung peniti yang disebut *ptechiae*, sedangkan hemoragi dengan spot yang agak besar di permukaan tubuh atau di jaringan disebut ekimosis (Hadi dan Alwan, 2012).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi oleh parasit *Myxobolus* sp. dengan pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* memberikan hasil rerata hemoragi yang berbeda pada histopatologi usus Ikan Koi yang disajikan pada **Tabel 25**.

Tabel 25. Rerata Skoring Kerusakan Hemoragi pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.8	0.6	0.8	2.2	0.7	0.1
K(+)	2.8	2.6	2.6	8	2.7	0.1
PL (a)	1.2	1	1	3.2	1.1	0.1
PL (b)	1.4	1.4	1.6	4.4	1.5	0.1
PL (c)	1.6	1.8	1.8	5.2	1.7	0.1
PL (d)	1.6	2.2	2.2	6	2.0	0.3
PL(e)	2.4	2.2	2.2	6.8	2.3	0.1
PL(f)	2.6	2	2.6	7.2	2.4	0.3

Keterangan :

- (0) = tidak terjadi perubahan mikroanatomi (0%)
- (1) = terjadi sedikit perubahan struktur mikroanatomi (1%-25%)
- (2) = terjadi sedang perubahan struktur mikroanatomi (26%-50%)
- (3) = terjadi banyak perubahan struktur mikroanatomi (51%-75%)
- (4) = terjadi sangat banyak perubahan struktur mikroanatomi (76%-100%)

Berdasarkan Tabel 25 diketahui nilai rata-rata kerusakan jaringan usus pada Ikan Koi dengan kondisi sehat dan Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian dosis protein liquid *Brachionus plicatilis* sebesar 33 µl memiliki kerusakan yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian dosis protein liquid

Brachionus plicatilis sebesar 66 µl dan 132 µl. Hal ini menunjukkan bahwa pada dosis 33 µl pada Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. maupun sehat menunjukkan pengaruh bagi tingkat kerusakan usus Ikan Koi. Pengaruh pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* terhadap kerusakan hemoragi pada jaringan usus dapat diketahui dengan melakukan uji sidik ragam yang disajikan pada **Tabel 26**.

Tabel 26. Uji Sidik Ragam Hemoragi Jaringan Usus pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	10.12	1.45	36.14**	2.66	4.03
A	3	0.94	0.31	7.83**	3.24	5.29
B	1	7.04	7.04	176.00**	4.49	8.53
AB	3	1.5	0.50	12.50**	3.24	5.29
Galat	16	0.64	0.04			
Total	23	20.24				

Keterangan: (*) = Berbeda Nyata, (**)= Berbeda Sangat Nyata, (TN)= Tidak Nyata

Berdasarkan Tabel 26 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, F hitung > F 5% < 1% sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian liquid protein *Brachionus plicatilis* dengan dosis berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan hemoragi pada hasil histopatologi usus Ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada **Tabel 27**.

Tabel 27. Uji BNT Hasil Penelitian Kerusakan Hemoragi Jaringan Usus

Perlakuan	Rata-rata	K	PL	PL	PL	PL	PL	PL	K	Notasi
		(-)	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(+)	
	2.2	2.2	3.2	4.4	5.2	6	6.8	7.2	8	
K(-)	2.2	TN								a
PL (a)	3.2	1*	TN							b
PL (b)	4.4	2.2	1.2*	TN						b
PL (c)	5.2	3	2	0.8*	TN					b
PL (d)	6	3.8	2.8	1.6	0.8*	TN				b
PL (e)	6.8	4.6	3.6	2.4	1.6	0.8*	TN			b

PL (f)	7.2	5	4	2.8	2	1.2	0.4*	TN	b
K(+)	8	5.8	4.8	3.6	2.8	2	1.2	0.8*	TN

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

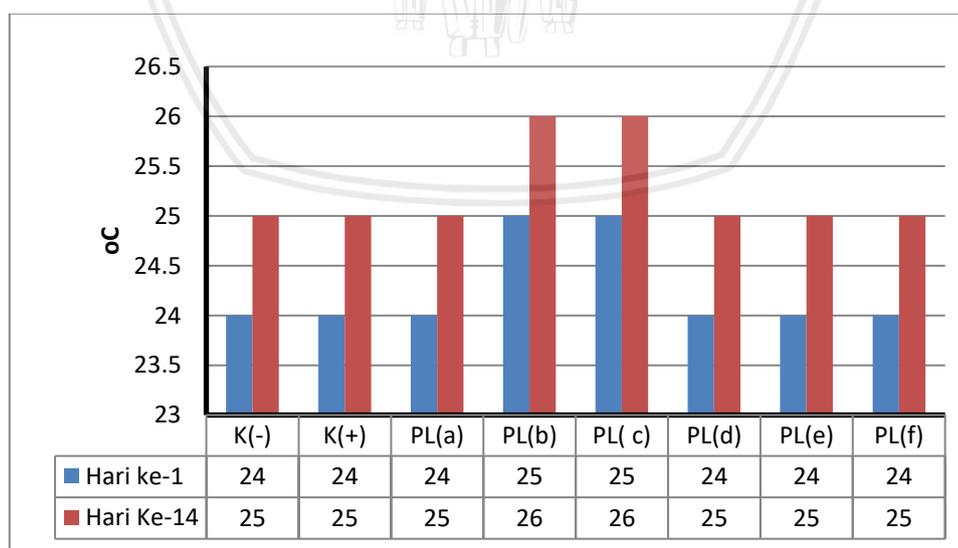
Pada Tabel 27 diperoleh bentuk kerusakan jaringan usus mengalami hemoragi didapatkan notasi a dan b. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol negatif dengan notasi a berbeda nyata dengan perlakuan PL (a), PL (b), PL (c), PL (d), PL (e), PL (f) dan Kontrol positif yang ditandai dengan notasi b. Dapat disimpulkan bahwa setiap pemberian protein liquid dengan dosis yang berbeda pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dapat memberikan pengaruh yang berbeda terhadap tingkat kerusakan jaringan usus.

4.4 Analisa Kualitas Air

4.4.1. Parameter Fisika

a. Suhu

Pada pengukuran Suhu di bak pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dilakukan dua kali pengambilan yaitu pada hari ke-1 (pertama) dan hari ke-14 (terakhir). Adapun data yang diperoleh dari hasil pengukuran suhu dapat dilihat pada **Gambar 19**.



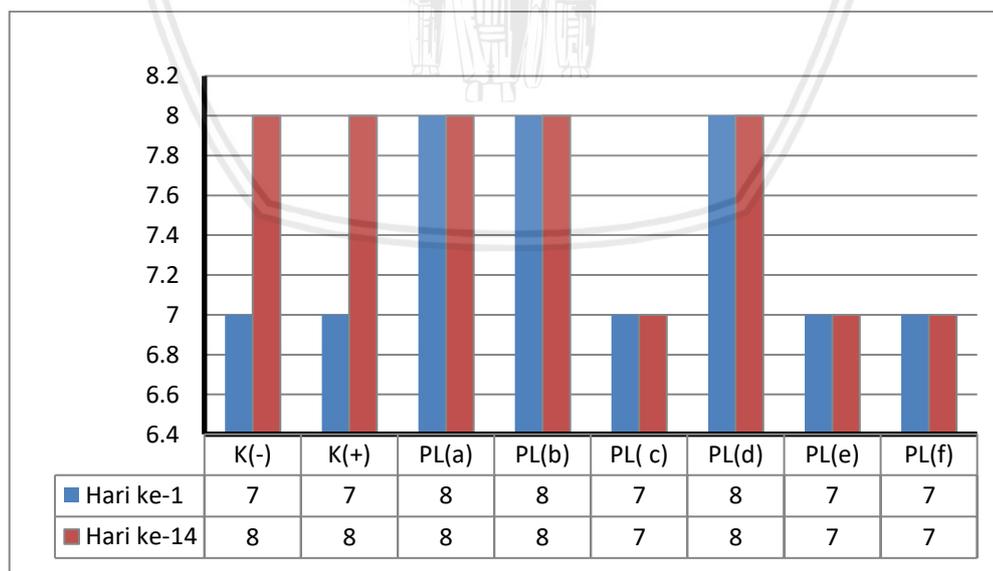
Gambar 19. Grafik Hasil Pengukuran Suhu

Dari hasil pengukuran yang telah dilakukan bahwa pada hari ke-1 diperoleh kisaran suhu antara 24-25°C sedangkan pada hari ke-14 diperoleh kisaran suhu antara 25-26°C. ikan. Menurut Tiana dan Murhananto (2002), kondisi suhu optimum dalam budidaya ikan koi berkisar antara 25-30°C. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan ikan dan udang. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu sampai batas tertentu yang dapat menekan kehidupan ikan dan bahkan dapat menyebabkan kematian. Bila suhu rendah, ikan akan kehilangan nafsu makan sehingga pertumbuhan terhambat.

4.4.2 Parameter Kimia

a. pH

Pada pengukuran pH di bak pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dilakukan dua kali pengambilan yaitu pada hari ke-1 (pertama) dan hari ke-14 (terakhir). Adapun data yang diperoleh dari hasil pengukuran pH dapat dilihat pada **Gambar 20**.

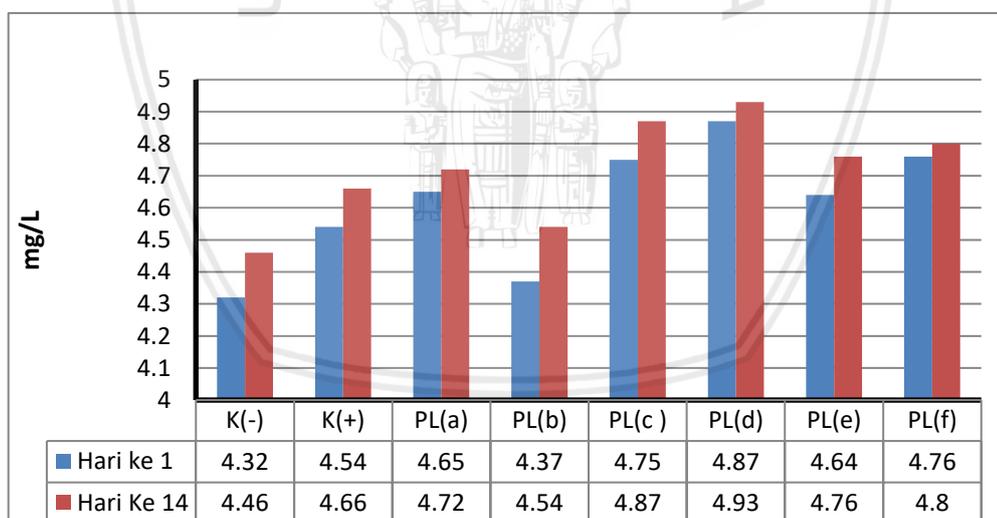


Gambar 20. Grafik Hasil Pengukuran pH

Dari hasil pengukuran yang telah dilakukan bahwa pada hari ke-1 dan hari ke-14 diperoleh kisaran pH antara 7-8. Menurut Dahlia (2014) bahwa pH ideal untuk koi agar dapat tumbuh sehat adalah 6,5-8,5. Derajat keasaman air yang rendah atau sangat asam dapat menyebabkan kematian ikan dengan gejala gerakanya tidak teratur, tutup insang tidak bergerak aktif, dan berenang sangat cepat dipermukaan air. Keadaan air yang sangat basa juga adapt menyebabkan pertumbuhan ikan terhambat. Selain itu perairan yang asam juga berpengaruh terhadap nafsu makan ikan (selera makan ikan berkurang).

b. Dissolved Oxygen (DO)

Pada pengukuran DO di bak pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dilakukan dua kali pengambilan yaitu pada hari ke-1 (pertama) dan hari ke-14 (terakhir). Adapun data yang diperoleh dari hasil pengukuran DO dapat dilihat pada **Gambar 21**.



Gambar 21. Grafik Hasil Pengukuran DO

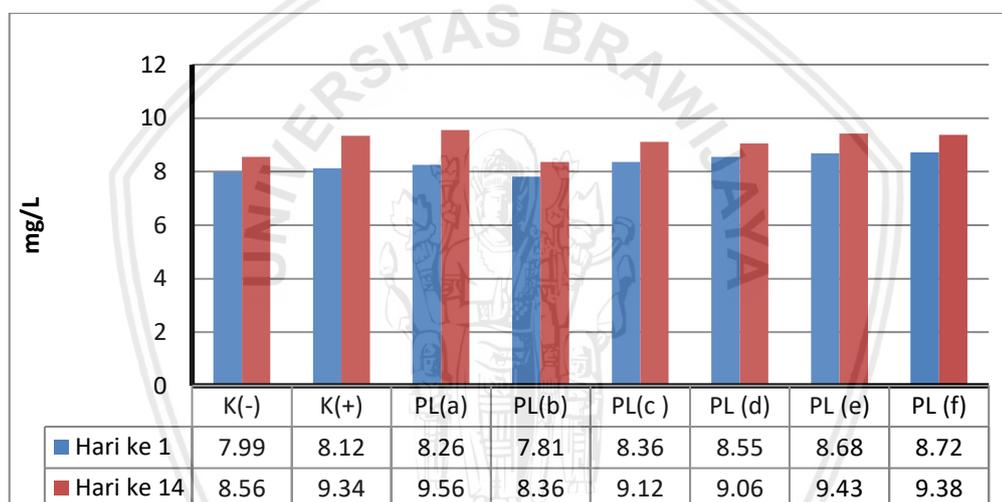
Dari hasil pengukuran yang telah dilakukan bahwa pada hari ke-1 diperoleh kisaran oksigen terlarut antara 4,32 – 4,87 mg/l sedangkan pada hari ke-14 diperoleh kisaran oksigen terlarut antara 4,46 – 4,93 mg/l. Kondisi oksigen terlarut ini juga cukup mendukung kehidupan ikan koi selama penelitian.



Menurut Kelabora (2010), bahwa untuk kehidupan ikan koi kandungan oksigen terlarut antara 3 – 6 ppm. Karena kandungan oksigen sangat penting untuk kehidupan ikan dan hewan lainnya untuk bernafas dan melakukan proses metabolisme tubuh.

c. Karbondioksida (CO₂)

Pada pengukuran Karbondioksida di bak pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dilakukan dua kali pengambilan yaitu pada hari ke-1 (pertama) dan hari ke-14 (terakhir). Adapun data yang diperoleh dari hasil pengukuran karbondioksida dapat dilihat pada **Gambar 22**.



Gambar 22. Grafik Hasil Pengukuran Karbondioksida

Dari hasil pengukuran yang telah dilakukan bahwa pada hari ke-1 diperoleh kisaran karbondioksida (CO₂) antara 7,81 – 8,72 mg/l sedangkan pada hari ke-14 diperoleh kisaran karbondioksida (CO₂) antara 8,36 – 9,56 mg/l. Kondisi karbondioksida (CO₂) ini juga cukup mendukung kehidupan ikan koi selama penelitian. Menurut Ulfiana *et al.* (2012), bahwa kadar CO₂ bebas yang dikehendaki oleh ikan tidak lebih dari 12 ppm, karena pada kadar tersebut dapat bersifat racun yang dapat menyebabkan kematian bagi ikan peliharaan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian protein liquid *Brachionus plicatilis* berpengaruh terhadap tingkat kerusakan jaringan yang disebabkan oleh *Myxobolus* sp. Berdasarkan analisa sidik ragam dosis yang optimal yaitu pada dosis 33 μ l/mg yang dibuktikan dengan menurunnya kerusakan pada jaringan insang dengan kerusakan edema, hiperplasia dan fusi lamella; jaringan ginjal dengan kerusakan edema dan hipertrofi serta jaringan usus dengan kerusakan kongesti dan hemoragi.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, penulis menyarankan perlunya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang manfaat protein liquid *Brachionus plicatilis* sebagai bahan alami untuk pengobatan serangan parasit *Myxobolus* sp. pada ikan koi (*Cyprinus carpio*). Sehingga dapat diharapkan mengurangi kematian pada ikan koi akibat terserang parasit *Myxobolus* sp. dan kondisi kesehatan ikan akan lebih terkontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alex. 2011. *Budidaya Ikan Koi Eksotis Yang Menguntungkan*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.
- Almatsier S. 2006. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Aryani N., Syawal, H., Lukistyowati, I., dan Riauaty, M, 2004. *Penanggulangan Penyakit Ikan*. Rineka Cipta: Jakarta. 45 hal.
- Bachtiar, Y. 2002. *Mencemerlangkan Warna Koi*. Agromedia Pustaka. Bogor. Hal 72.
- Badan Standar Nasional . 2004. *Air dan Air Limbah-Bagian 11: Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dengan Menggunakan Alat pH Meter*. SNI 06-6989. 11-2004.
- Badan Standar Nasional . 2005. *Air dan Air Limbah-Bagian 23: Cara Suhu dengan Termometer*. SNI 06-6989. 23-2005.
- Badan Standar Nasional. 2005. *Air dan Air Limbah-Bagian 30: Cara Uji Kadar Amonia dengan Spektrofotometer secara fenat*. SNI 06-6989. 30-2005.
- Baikal. 2010. *Zoological Excursions Annelid Worms (Annelida)*. Baikal.ru Accessed at www.baikal.ru.
- Baharuddin. 2011. *Perbandingan Pakan Alami Artemia salina Terhadap Sintasan Larva Rajungan (Portunus pelagicus) Stadia Megalopa*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Mahammadiyah. Makassar. 48 hal.
- Barnes, A.J . 1978. *Stable Molecules in Matrices*. *Ber Bunsenges Phys Chem*. 82: 41-44.
- Bintang, Maria. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Erlangga. Jakarta: 99-106.
- Blasiola, G.C. 1995. *Koi: Everything About Selection, Care, Nutrition, Diseases, Breeding, Pond Design and Maintenance and Popular Aquatic Plant*. Barron's Educational Series, Inc. Hauppauge, NY: 9-12.
- Buwono, I. D. 2000. *Kebutuhan Asam Amino Essensial dalam Ransum Ikan*. Kanisius. Yogyakarta.
- Cahyono, B. 2000. *Budidaya Ikan Air Tawar*. Ikan Gurami, Nila, Mas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 113 hal.
- Chavda, D., Bhatt, S., Sreepada, R dan A. Andsheth. 2010. *Pathogenicity of Myxobolus Infection and Effect on Protein Expression in Catla Catla in Central Gujarat Region*. *Journal of Cell and Tissue Research*. 10(1): 2157-2164.

- Cheng, L dan Zhang, D, Y. 2010. Molecular genetic pathology. *Springer*.
- Chumaidi dan Suprpto. 1986. Pengaruh Berbagai Takaran Pupuk Kotoran Ayam Terhadap Perkembangan Populasi *Tubifex* sp. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Depok, Bogor.
- Dahlia. 2014. Pengaruh Pigmen Dalam Pakan Terhadap Konsentrasi Dan Distribusi Kromatofor Pada Jaringan Kulit Juvenil Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Galung Tropika*. 3 (3): 179-185
- Dahril, T. 1996. Biologi Rotifera Dan Pemanfaatannya. UNRI Press: Pekan Baru.
- David, G. W., 2005, Analisis Farmasi, Edisi kedua, EGC, Jakarta
- [DGKM] Departemen Gizi dan Kesehatan Masyarakat. 2009. Gizi dan Kesehatan Masyarakat. Jakarta: Rajawali Press.
- Djarajah, A.S, (1995). Pakan Alami. Yogyakarta : Kanisius.
- Djuhanda, T. 1980. Dunia Ikan. Armico. Bandung. 191 hlm.
- Doaa., M. Mokhtar dan H. Abd-Elhafeez. 2013. Histological Changes in Selected Organ of *Oreochromis niloticus* Exposed to Doses of Lead Acetate. *Journal Science and Biomedicine*. 3(3): 256-263.
- Dobsikova, R., Z. Svobodova., J. Blahova., H. Modra dan J. Velisek. 2009. The Effect of Transport on Biochemical and Haematological Indices of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.). *Czech J. Anim. Sci.*, 54 (11): 510-518.
- Drozd, J., 1985, Chemical Derivatization in Gas Chromatography, *Journal of Chromatography Library*, 19
- Effendi, H. 1993. *Mengenal Beberapa Jenis Koi*. Kanisius. Yogyakarta.
- Effendie, Ml. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara Yogyakarta. 157 hlm.
- Effendie, Hefny. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan. Kanisius. Yogyakarta.
- Eiras, J. C., K. Molnar dan Y. S. Lu. 2005. Synopsis of the Species of *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa : Myxosporidia : Myxobolidae). *Syst Parasitol*, 61: 1-46.
- Erias, J.C., C.M. Monterio dan M.C. Brasil. 2010. *Myxobolus franciscoi* sp. nov. (Myxozoa: Myxosporidia: Myxobolidae), a parasite of *Prochilodus argenteus* (Actinopterygii: Prochilodontidae) from the Upper Sao Francisco River, Brazil, with a revision of *Myxobolus* spp. From South America. *Journal of Zoologia*. 27(1): 131-137.

- Fadholi, M.R. 2010. Kajian Ekologis Cacing Rambut (*Tubifex* Sp.) dalam upaya mengorbitkannya sebagai indikator biologis pencemaran bahan organik di perairan. <http://library.um.ac.id/majalah/printmajalah/php/352/html/> 12 Jan 2019. 1 hal.
- Fariedah, F. 2010. Pengaruh Immunostimulan Outer Membrane Protein (OMP) *Vibrio alginolyticus* dan Infeksi *Vibrio herveyi* Terhadap DNA Mitokondria Udang Windu *Panaeus monodon* Fab. Tesis. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya: Malang.
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas S., Widyarti, & Rahayu, S. 2011. Biologi molekuler prinsip dasar analisis. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Firmansyah., G. Mahasri dan Kismiyati. 2011. Prevalensi dan Jumlah Nodul Pada Insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi *Myxobolus* di Sentra Budidaya Ikan Koi Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Fernando, A. A., V. P. E. Phang and S. Y. Chan. 1991. Diets and Feeding Regimes of Poeciliid Fishes in Singapore. *Asian Fisheries Science* 4 (1991): 99-107.
- Fowles, Ian A., 1998. Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning. John Wiley & Sons Ltd: Chichester.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Rineka Cipta. Jakarta. 120 hlm.
- Fujaya, Y. 2008. Fisiologi Ikan. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 197 hlm.
- Ghufran, M. dan H. Kordi. K, 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Rineka Cipta : Yogyakarta.
- Ginting, M.K. 2012. Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa AsamTrans, Trans-Mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-Metil Hippurat, Asam 3-MetilHippurat, Asam 4-Metil Hippurat dalam Urin sebagai Biomarker Paparan Benzena, Toluena, dan Xilena. Skripsi. Jakarta: Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia Depok.
- Hadi, A. A dan S. F. Alwan. 2012. Histopathological changes in gills, liver and kidney of fresh water fish, *Tilapia zillii*, exposed to aluminium. *IJPLS*. 3 (11): 2071-2081.
- Handajani, H. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Hariyadi, S., Suryadiputra dan B. Widigdo. 1992. Limnologi Metode Kualitas Air. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Hastings JRB and Kirby KS. 1966. The nucleic acids of *Drosophila melanogaster*. *Biochemical Journal* 100(2):532-539.
- Hendayana, S., Kadarohmah, A., Sumarna, A. A., dan Supriatna, A. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. Edisi Kesatu. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Hidayat, Windarti dan R. M Putra. 2012. Histological Structure Gill and of The Kidney *Kryptopterus Limpok* at Kampar River and An River Siak Riau Provice. Faculty of Fisheries and Marine Science. University of Riau. 1-16.
- Hoffman, G.L. 1999. *Parasites of North American Freshwater Fishes*. Cornell University Press. New York. Pp 21-61.
- Isnansetyo, A Dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Fitoplankton Dan zooplankton*. Kanisius. Yogyakarta.116 hal.
- Jaedun, Amat. 2011. *Metodologi Penelitian Eksperimen, Pelatihan, Penulisan Artikel Ilmiah LPMP Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta*.
- James, Barry. 2002. *Guide Koi*. Inggris: Interpet Publising.
- Janson, J.C dan Ryden, L. 1998. *Protein Purification: Principles, High Resolution methods and Applications*, 2nd edition. A john willey & Sons Inc. Pub. Hal 464-484.
- Kartasapoetra G, Marsetyo H. 2008. *Ilmu Gizi (Korelasi Gizi, Kesehatan, dan Produktivitas Kerja*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Kelabora, Domingga. 2010. Pengaruh Suhu Terhadap Kelangsungan Hidup Dan Pertumbuhan Larva Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*). *Berkala Perikanan Terubuk*.38(1): 71-81
- Khairuman, H. 2013. *Budidaya Ikan Mas*. Jakarta : AgroMedia Pustaka. 17 hal.
- Khairuman dan Amri, 2000. *Budidaya Ikan Mas Secara Intensif*. Agromedia Pustaka.Subang.
- Khairuman, Amri K, dan Sihombing T. 2008. *Peluang Usaha Budidaya CacingSutra*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka
- Kordi, K.M.G.H, 2005. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Rineka Cipta, Jakarta.
- Kusrini, E., S. Cindelaras dan A. B. Prasetyo. 2015. Pengembangan Budidaya Ikan Hias Koi (*Cyprinus Carpio*) Lokal di Balai Penelitian Dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias Depok. *Media Akuakultur*. 10(2): 71-78.
- Lehninger A. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Penerjemah: Maggy T. Jakarta: Erlangga.

- Liviawaty, Evi. 1990. Mas Koki Budidaya dan Pemasarannya. Kanisius. Yogyakarta.
- Lom, J and I. Dykova. 1992. Protozoan Parasites of Fishes. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. 26: 315 p.
- Mahasri, G. dan Kismiyati. 2008. Buku Ajar Parasit dan Penyakit Ikan (Ilmu Penyakit Protozoa Ikan dan Udang). Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. Hal 14-24.
- Mahy., Brian, W.J.and Marc, H.V van Regenmortel. 2010. Desk Encyclopedia of General Virologi. Published by Academic Press Elsevier Ltd. Malole, M.B., 1988 Virology. Pusat Antar Universitas. IPB.p 113.
- Marks, Dawn., A. D Marks dan C.M. Smith.2000. Biokimia Kedokteran Dasar. Jakarta: EGC.
- Maryadi, H. 2009. Studi perkembangan Gejala Klinis dan Patologi pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang diinfeksi dengan *Streptococcus iniae*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 99 hlm.
- Michael, Vogeser dan C. Segar. 2008. A decade of HPLC-MS in the routine clinical laboratory-goals for futher development. *Clinical Biochemistry Rev*. 41: 649-662.
- Mudjiman, A. 1998. Makan Ikan. Jakarta : Penerbit PT. Penebar. Swadaya, hlm 14-17, 49-51.
- Natalist. 2003. Pengaruh Pemberian Tepung Wortel (*Daucus carota* L.) dalam Pakan Buatan Terhadap Warna Ikan Mas Koi (*Cyprinus carpio*). Skripsi. Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta. 43 hal.
- Nelson, D.L dan Michael M. Cox. 2004. Lehninger Principles of Biochemistry . 4th Edition. New York: W.H. Freeman & Company.
- Noga, E. J. 2010. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. ISBN 978-0-8138-0697-6.
- Özak, A. Demirkale, I. Cengizler, I. 2010. Two nes records of *Myxobolus butshcli*, 1992 (Myxozoa, Myxospores, Myxobolidae) Species from turkey. Department of aquaculture and fish desease, faculty of fisheries, unicersity of Cukuroca – Turkey.
- Panigoro, A., I. Astuti., M. Bahnan., Prayudha dan Salfira. 2007. Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-Dasar Histopatologi Ikan. BBAT Jambi: Jambi. 77 hlm.
- Paperna, I. 1992. Diseases Caused by Parasites in The Aquaculture of Warm Water Fish. Annual Reviewof Fish Diseases 1. 155-194.

- Pazra, DB. 2008. Gambaran histopatologi insang, otot dan usus Pada ikan lele (clarias spp.) Asal dari Daerah bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hal.
- Pennak, R.W. 1978. Freshwater Invertebrates of United States. A Wiles Intescience Publication. John Wiley and Sons. New York.
- Pursetyo, K.T. 2007. Pengaruh Pemupukan Ulang Kotoran Ayam Kering Terhadap Populasi Cacing Tubifex tubifex. Skripsi. Universitas Airlangga. Surabaya. 5-10 hal.
- Rahardjo, M.F., D.S. Sjafei., R. Affandi dan Sulistiono. 2011. Ictiology. CV. Lubuk Agung: Bandung. 100 hlm.
- Rennika, Aunurohim, dan N. Abdulgani. 2013. Konsentrasi dan Lama Pemaparan Senyawa Organik dan Inorganik pada Jaringan Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) pada Kondisi Sub Lethal. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(2): 2337-3520.
- Robert, R.J. 2001. *Fish Pathology*. W.B. Saunders, USA. 95 hlm.
- Rosmini. 2007. Kultur pakan alami. [Http://www.scribd.com/doc.32697287/kultur-pakan-alami](http://www.scribd.com/doc/32697287/kultur-pakan-alami). 12 Jan 2019. 37 hal.
- Royce, W.F. 1972. Introduction to the Fishery Sciences. Academic Press. Inc. New York. 315 hlm.
- Ruidisch, S., M. El-Matbouli and R.W. Hoffman. 1991. The Role of Tubificid Worms as an Intermediete host in Life Cycle of *Myxobolus pavlovskii*. Institute of Zoology and Hydrobiology. Universitas of Munich. Pp. 663-667.
- Sani, R.N., F.C. Nisa, R.D. Andriani, J.M. Maligan. 2014. Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2 (2) p.121-126.
- Sapri, A. Fitriani, R.Nurulita. 2104. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Terhadap Rendemen Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Dengan Metode Maserasi. Prosiding Seminar Nasional Kimia ISBN: 978-602-19421-0-9.
- Saputri, E. A. F. 2014. Karakteristik Histopatologi Gonad Ikan Gelodok (Periophthalmus Chrysospilos) pada Kawasan Ekosistem Mangrove Pantai Kedawang Mlaten dan Penanggung Kabupaten Pasuruan Jawa Timur. PKL. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Buku. Kanisius. Malang. 267 Hlm.

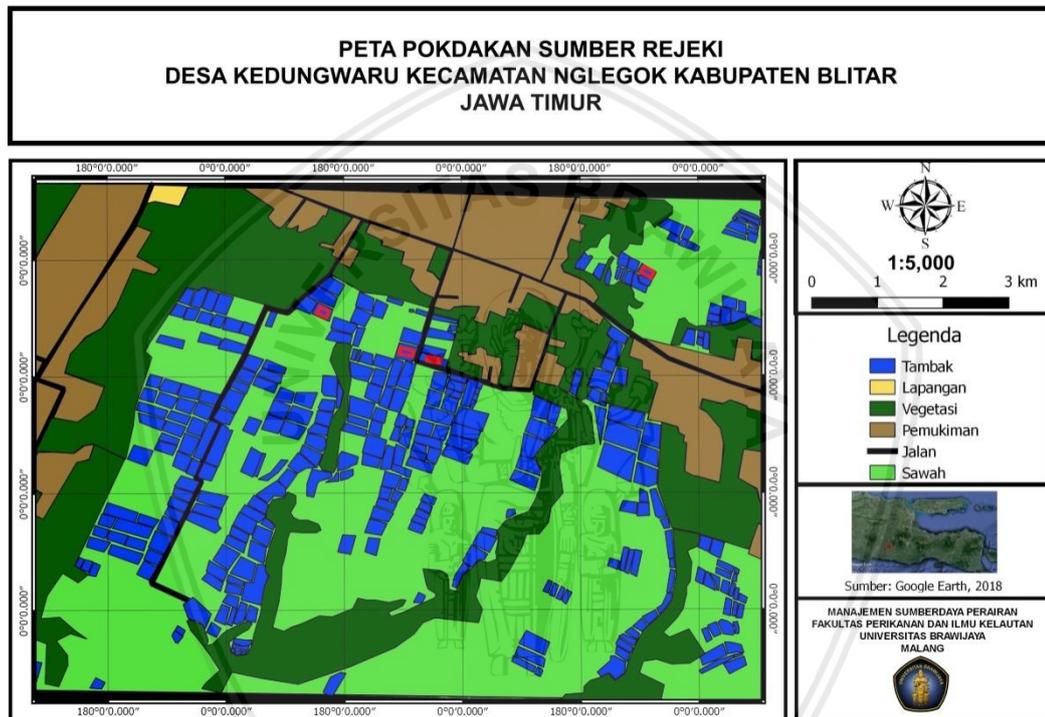
- Senja, R.Y., E. Issusilaningyas, A.K. Nugroho, E.P. Setyowati. 2014. The Comparison Of Extraction Method And Solvent Variation On Yield And Antioxidant Activity Of *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra Extract. *Traditional Medicine Journal*, 19(1),p 43-48.
- Soeprijanto, A dan Noviati. 2008. Pengaruh Perbedaan Temperatur pada Perlakuan Thermal Shock (TS) Terhadap Laju Pertumbuhan Benih Ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Penelitian Perikanan Vol II No 2* : 192-197.
- Sparkman, O.D., Penton, Z., Fulton, G., 2011, Gas chromatography and mass spectrometry : a practical guide, ElsevierStoskopf, M.K. 1993. Fish Medicine. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Sugianti, B. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional dalam Pengendalian Penyakit Ikan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 10 hal.
- Sugiyono. 2009. Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. CV.Afabeta: Bandung.
- Sumardjo, Damin. 2009. Pengantar Kimia. Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Sastra I Fakultas Bioeksakta. Kedokteran EGC: Jakarta. Hal 161-172.
- Sumarno., Noegrohati, S., Narsito dan Falah. 2002. Estimasi kadar protein dalam bahan pangan melalui analisis nitrogen total dan analisis asam amino. *Majalah Farmasi Indonesia*. 13(1):34-43.
- Suryaningrum TD, Muljanah I, Tahapari E. 2010. Profil sensori dan nilai gizi beberapa jenis ikan patin dan hybrid nasutus. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol 5 (2): 153-164.
- Susanah, U.A. 2011. Struktur Mikroanatomi Insang Ikan Bandeng di Tambak Wilayah Tapak Kelurahan Tugurejo Kecamatan Tugu Semarang. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang: Semarang.
- Susanto,Heru.2000. Budidaya ikan di pekarangan. Penebar Swadaya.Jakarta.
- Susanto, H. 2008. Panduan Memelihara Koi. Penebar Swadaya. Jakarta. 107 hal.
- Susanto, D. 2008. Gambaran Hispatologi Organ Insang, Otot dan Usus Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) di Desa Cibanteng. Institut Pertanian Bogor: Bogor.

- ThermoScientific. 2011. NanoDrop: Assessment of Nucleic Acid Purity. *Protocols and Product Manuals*. 1-2.
- Tiana, O.A dan Murhananto. 2002. *Budidaya Koi*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Titis, C.D., W.S.D. Nugroho, D. Daenuri, H. Nurul and Sumayani. 2009. Laporan Uji Coba Identifikasi dan Penentuan Derajat Kerusakan Akibat Infeksi *Myxobolus* sp. pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Balai karantina ikan kelas II Tanjung Emas Semarang. 66 hal.
- Tucker, Jhon W. 1948. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers. Florida.
- Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat Kejadian Aeromonosis Pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Terinfeksi *Myxobolus* Koi Pada Derajat Infeksi Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 4(2): 169-174.
- Vogeser, M dan C. Seger. 2008. A decade of HPLC-MS/MS in the routine clinical laboratory-goals for futher development. *Clinical Biochemistry*. 41: 649-662.
- Wahyuni, S.H. 2009. Perbandingan laju pertumbuhan populasi (*B. plicatilis*) setelah diberikan penambahan makanan pada media perlakuan. Skripsi. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Wardoyo, S.T.H. 1975. *Pengelolaan Kualitas Air*. Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Westermeier. 2004. *Electrophoresis in Practice: A Guide to Theory and Practice*. New-Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Wilmoth, J. H. 1967. *Biology of Invertebrate*. Prenticehall, Inc. Englewood Cliffs. New Yersey. 465 hal.
- Wilson K dan Walker J. 2000. *Principles and Techniques of Practical Biochemistry Fifth Edition*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Winarno FG. 2008. *Kimia Pangan dan Gizi*. Bogor: MBrio Press. Windarti dan A. H. Simarmata. 2013. *Buku Ajar Histologi*. UR Press. 31 hal.
- Woo, P.T.K. 2006. *Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infection*. CABI. 198 hlm.
- Yuasa, K. 2003. *Panduan Diagnosa Penyakit Ikan*. Balai Budidaya Air Tawar Jambi. Ditjen Perikanan Budidaya, DKP dan JICA.
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.

Zhang, Z dan D.L. Smith. 1993. Determination of amide hydrogen exchange by mass spectrometry: a new tool for protein structure elucidation. Protein Sci 2: 522-531.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi Pengambilan Sampel



Lampiran 2. Alat dan Bahan Beserta Fungsinya

a) Alat Beserta Fungsinya

No	Alat	Fungsi
1.	Ember 30 L	Sebagai tempat ikan koi untuk perlakuan
2.	Jaring	Sebagai alat untuk pengambilan ikan koi
3.	Aerator set	Sebagai alat untuk menyuplai oksigen
4.	Erlenmeyer	Sebagai wadah untuk larutan
5.	Gelas ukur	Sebagai alat untuk mengukur volume larutan
6.	Pipet tetes	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala kecil
7.	Washing bottle	Sebagai wadah aquades
8.	Timbangan digital	Sebagai alat untuk menimbang sampel <i>Brachionus plicatilis</i>
9.	Mikroskop	Sebagai alat untuk membantu pengamatan preparat jaringan
10.	Objek glass	Sebagai tempat sampel saat pengamatan
11.	Cover glass	Sebagai tutup dari objek glass
12.	pH meter	Sebagai alat untuk mengukur asam basa perairan
13.	DO meter	Sebagai alat untuk mengukur suhu dan Oksigen Oksigen terlarut di perairan
14.	Sentrifuge	Sebagai alat untuk memisahkan endapan dan supernatan <i>Brachionus plicatilis</i>
15.	Mikropipet	Sebagai alat untuk mengambil larutan dalam skala mikro

16.	Botol Film	Sebagai wadah untuk organ hispatologi
17.	Sectio Set	Sebagai alat untuk proses pembedahan ikan
18.	Chamber elektroforesis	Sebagai alat elektroforesis
19.	Nannometer	Sebagai alat untuk mengukur kadar protein
20.	Falcon	Sebagai wadah sampel <i>Brachionus plicatilis</i>
21.	Appendorf	Sebagai wadah sampel <i>Brachionus plicatilis</i>



b) Bahan Beserta Fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1.	Ikan Koi	Sebagai objek pengamatan
2.	Brachionus plicatilis	Sebagai bahan dasar protein liquid segar
3.	Air tawar	Sebagai media tempat pemeliharaan ikan
4.	Pakan Ikan	Sebagai makanan ikan
5.	Buffer lisis	Sebagai pelarut untuk pengenceran
6.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis
7.	Tisu	Sebagai bahan untuk membersihkan alat yang telah digunakan
8.	Akuades	Sebagai bahan untuk mencuci alat yang telah digunakan
9.	Sampel Organ	Sebagai sampel histopatologi yang diamati
10.	Kertas Label	Sebagai penanda
11.	Lateks	Sebagai bahan untuk menghindari kontaminasi

Lampiran 3. Perhitungan Pemberian Dosis Pelet dan Supernatan

Stok Protein Supernatan = 24 mg/mL

Stok Protein Pellet = 5,38 mg/mL

Konsentrasi = 33 µg/mL, 66 µg/mL, 132 µg/mL

30 kg = 500 mg/kg

$$\frac{30.000.000}{500} = 3000 \text{ mg}$$

300.000 x = 15.000 mg

x = 0.05 mg/L

0.05 mg/ 1000 mL

- $0.0005 \text{ mg/mL} \times 10^6 = 50 \text{ µg/mL}$
- Stok Protein 24 mg/mL = supernatan
- 24 mg/mL = 33 µg/mL

$$\frac{24}{1000} / 1000 = \frac{33}{1000.000} / 1000$$

$$24 = \frac{33}{1000x}$$

$$727,27 = x$$

- 50 µL diencerkan 727,27 µL

→ H₂O

- 50 µL add 728 µL H₂O
- 50 µL stok protein + 678 H₂O

Konsentrasi

33 µL = 50 µL stock + 678 µL

66 µL = 100 µL stock + 1356 µL

132 µL = 200 µL stock + 2712 µL

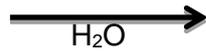
- Stok Protein 5.38 mg/mL = pellet

$$\frac{5.38}{24} \times 50 = \frac{33}{1000.000} / 1000$$

$$5.38 = \frac{33}{1000x}$$

$$163 = x$$

- 11 µL diencerkan 163 µL



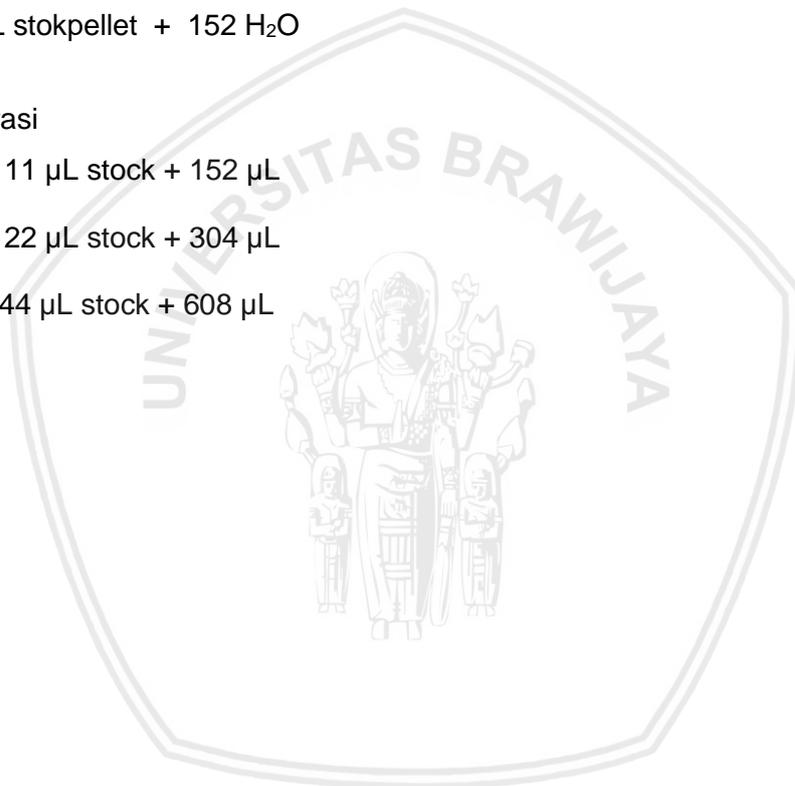
- 11 µL add 163 µL H₂O
- 11 µL stokpellet + 152 H₂O

Konsentrasi

$$33 \mu\text{L} = 11 \mu\text{L stock} + 152 \mu\text{L}$$

$$66 \mu\text{L} = 22 \mu\text{L stock} + 304 \mu\text{L}$$

$$132 \mu\text{L} = 44 \mu\text{L stock} + 608 \mu\text{L}$$



Lampiran 4. Perhitungan Rf dan Berat Molekul Sampel

BM	Log BM (y)	A (mm)	B (mm)	Rf (x)
225	2.35	20	92	0.22
150	2.18	25	92	0.27
100	2.00	30	92	0.33
75	1.88	35	92	0.38
50	1.70	44	92	0.48
35	1.54	52	92	0.57
25	1.40	61	92	0.66
15	1.18	74	92	0.80
10	1.00	80	92	0.87

Keterangan:

Rf = Hasil pembagian dari A (mm) / B(mm)

A (mm)	B (mm)	Rf (x)	y= -1.942x + 2.680	BM Sampel
28	92	0.30	2.08896	122.73
38	92	0.41	1.87787	75.49
73	92	0.79	1.13907	13.77

Keterangan :

BM Sampel = antilog dari hasil y

Lampiran 5. Perhitungan Skoring Kerusakan Jaringan

1. Insang

- Edema

Rerata Skoring Hasil Penelitian Kerusakan Edema Jaringan Insang

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.4	0.2	0.6	1.2	0.4	0.2
K(+)	3	2.6	3.4	9	3.0	0.4
PL (a)	0.4	0.6	0.6	1.6	0.5	0.1
PL (b)	1	0.8	1	2.8	0.9	0.1
PL ©	1.4	1.2	1	3.6	1.2	0.2
PL (d)	1.4	1.6	1.4	4.4	1.5	0.1
PL(e)	1.4	2.2	2.2	5.8	1.9	0.5
PL(f)	2.2	1.8	2.2	6.2	2.1	0.2

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(34,6)^2}{8 \times 3}$$

$$= 49,88$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total} = (K-1)^2 + (K-2)^2 + (K-3)^2 + \dots + (PL(f)3)^2 - FK$$

$$= (0,4)^2 + (0,2)^2 + (0,6)^2 + \dots + (2,2)^2 - 49,88$$

$$= 16,98$$

$$\text{JKP} = \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma PL(a)^2 + PL(b)^2 + PL(c)^2 + PL(d)^2 + PL(e)^2 + PL(f)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{1,2^2 + 9^2 + 1,6^2 + 2,8^2 + 3,6^2 + 4,4^2 + 5,8^2 + 6,2^2}{3} - 49,88$$

$$= 15,87$$

$$\text{JKG} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 16,96 - 15,87$$

$$= 1,09$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (t) \times (r) - 1$$

$$= 8 \times 3 - 1$$

$$= 23$$

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 \\ &= 8 - 1 \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 23 - 7 \\ &= 16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{15,87}{7} \\ &= 2,27 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{1,09}{16} \\ &= 0,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\ &= \frac{2,27}{0,07} \\ &= 33,28 \end{aligned}$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	15.87	2.27	33.28**	2.66	4.03
A	3	1.79	0.60	8.76**	3.24	5.29
B	1	10.94	10.94	160.59**	4.49	8.53
AB	3	14.06	4.69	68.80**	3.24	5.29
Galat	16	1.09	0.07			
Total	23	43.75				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\text{SED} = \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}}$$

$$= \frac{\sqrt{2 \times 0,07}}{\sqrt{3}}$$

$$= 0,216$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,12 \times 0,216$$

$$= 0,457$$

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.4	0.5	0.9	1.2	1.5	1.9	2.1	3	
K(-)	0.4	TN								a
PL (a)	0.5	0.1 ^{TN}	TN							ab
PL (b)	0.9	0.5*	0.4 ^{TN}	TN						bc
PL (c)	1.2	0.8	0.7*	0.3 ^{TN}	TN					cd
PL (d)	1.5	1.1	1	0.6*	0.3 ^{TN}	TN				de
PL (e)	1.9	1.5	1.4	1	0.7*	0.4 ^{TN}	TN			ef
PL (f)	2.1	1.7	1.6	1.2	0.9	0.6*	0.2 ^{TN}	TN		f
K(+)	3	2.6	2.5	2.1	1.8	1.5	1.1	0.9*	TN	g

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

- Hiperlasia

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.4	0.6	1.6	0.5	0.1
K(+)	2.6	2.4	3	8	2.7	0.3
PL (a)	0.6	0.6	0.6	1.8	0.6	0
PL (b)	1	1.2	1.2	3.4	1.1	0.1
PL (c)	1.6	1.6	1.4	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.6	1.8	1.6	5	1.7	0.1
PL(e)	1.8	2.2	2.2	6.2	2.1	0.2
PL(f)	2.4	2	2.2	6.6	2.2	0.2

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(37,2)^2}{8 \times 3}$$

$$= 57,66$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (K-1)^2 + (K-2)^2 + (K-3)^2 + \dots + (PL(f)3)^2 - FK \\ &= (0,6)^2 + (0,4)^2 + (0,6)^2 + \dots + (2,2)^2 - 57,66 \\ &= 12,7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma PL(a)^2 + PL(b)^2 + PL(c)^2 + PL(d)^2 + PL(e)^2 + PL(f)^2}{3} - FK \\ &= \frac{1,6^2 + 8^2 + 1,8^2 + 3,4^2 + 4,6^2 + 5^2 + 6,2^2 + 6,6^2}{3} - 57,66 \end{aligned}$$

$$= 12,18$$

$$\begin{aligned} \text{JKG} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 12,7 - 12,18 \\ &= 0,5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \times (r) - 1 \\ &= 8 \times 3 - 1 \\ &= 23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 \\ &= 8 - 1 \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 23 - 7 \\ &= 16 \end{aligned}$$

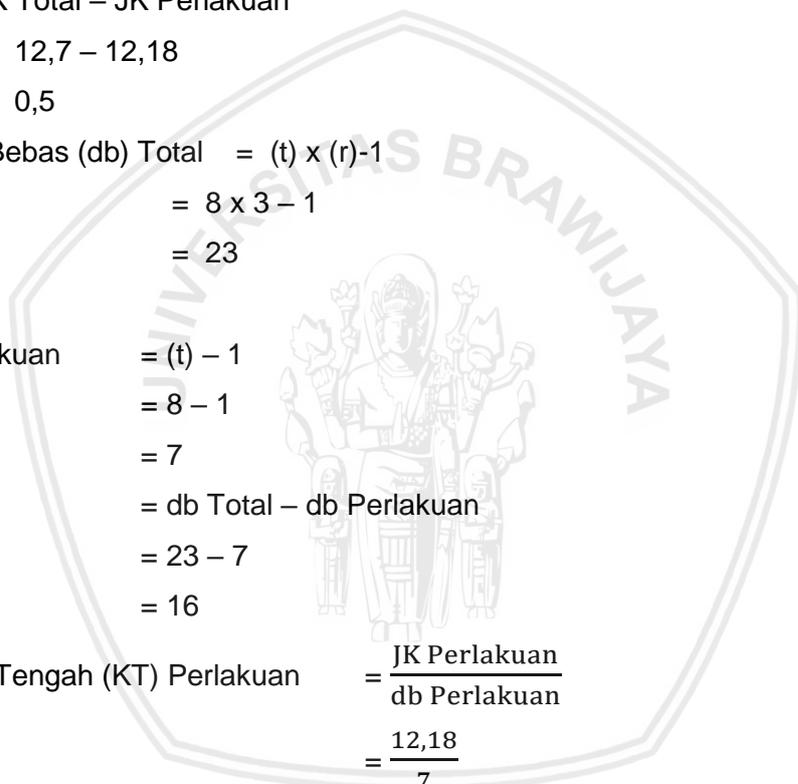
$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{12,18}{7} \end{aligned}$$

$$= 1,74$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{0,5}{16} \end{aligned}$$

$$= 0,03$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\ &= \frac{1,74}{0,03} \end{aligned}$$



= 55,68

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	12.18	1.74	55.68	2.66	4.03
A	3	1.67	0.56	17.81	3.24	5.29
B	1	8.64	8.64	276.48	4.49	8.53
AB	3	1.87	0.62	19.95	3.24	5.29
Galat	16	0.5	0.03			
Total	23	24.86				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$SED = \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}}$$

$$= \frac{\sqrt{2 \times 0,03}}{\sqrt{3}}$$

$$= 0,141$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% \times SED$$

$$= 2,12 \times 0,141$$

$$= 0,298$$

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.5	0.6	1.1	1.5	1.7	2.1	2.2	2.7	
K(-)	0.5	TN								a
PL (a)	0.6	0.1 ^{TN}	TN							a
PL (b)	1.1	0.6	0.5*	TN						b
PL (c)	1.5	1	0.9	0.4*	TN					b
PL (d)	1.7	1.2	1.1	0.6*	0.2 ^{TN}	TN				bc
PL (e)	2.1	1.6	1.5	1	0.6	0.4*	TN			d
PL (f)	2.2	1.7	1.6	1.1	0.7	0.5*	0.1 ^{TN}	TN		de
K(+)	2.7	2.2	2.1	1.6	1.2	1	0.6	0.5*	TN	f

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata



- Fusi Lamella

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.4	0.6	1.6	0.5	0.1
K(+)	2.4	2.2	3	7.6	2.5	0.4
PL (a)	1	0.6	0.6	2.2	0.7	0.2
PL (b)	1.2	1.2	1.4	3.8	1.3	0.1
PL ©	1.6	1.4	1.6	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.8	2	1.8	5.6	1.9	0.1
PL(e)	1.6	2.2	2.4	6.2	2.1	0.4
PL(f)	2.4	2.4	2.2	7	2.3	0.1

$$\begin{aligned} \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r} \\ &= \frac{(38,6)^2}{8 \times 3} \\ &= 62,08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (K- 1)^2 + (K- 2)^2 + (K- 3)^2 + \dots + (PL(f) 3)^2 - \text{FK} \\ &= (0,6)^2 + (0,4)^2 + (0,6)^2 + \dots + (2,2)^2 - 62,08 \\ &= 12,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKP} &= \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma PL(a)^2 + PL(b)^2 + PL(c)^2 + PL(d)^2 + PL(e)^2 + PL(f)^2}{3} - \text{FK} \\ &= \frac{1,6^2 + 7,6^2 + 2,2^2 + 3,8^2 + 4,6^2 + 5,6^2 + 6,2^2 + 7^2}{3} - 62,08 \\ &= 11,11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKG} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 12,04 - 11,11 \\ &= 0,93 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \times (r) - 1 \\ &= 8 \times 3 - 1 \\ &= 23 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 \\ &= 8 - 1 \\ &= 7 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{Db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 23 - 7 \\ &= 16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{11,11}{7} \\ &= 1,59 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{0,93}{16} \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\ &= \frac{1,59}{0,06} \\ &= 27,31 \end{aligned}$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.11	1.59	27.31**	2.66	4.03
A	3	1.26	0.42	7.23**	3.24	5.29
B	1	8.4	8.40	144.52**	4.49	8.53
AB	3	1.44	0.48	8.26**	3.24	5.29
Galat	16	0.93	0.06			
Total	23	23.14				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,06}}{\sqrt{3}} \\ &= 0,2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,12 \times 0,2 \end{aligned}$$

= 0,424

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Nota si
		0.5	0.7	1.3	1.5	1.9	2.1	2.3	2.5	
K(-)	0.5	TN 0.2 ^T _N								a
PL (a)	0.7		TN 0.6							a
PL(b)	1.3	0.8	*	TN 0.2 ^T _N						b
PL (c)	1.5	1	0.8		TN 0.4 ^T _N					bc
PL (d)	1.9	1.4	1.2	0.6		TN 0.2 ^T _N				cd
PL (e)	2.1	1.6	1.4	0.8	0.6		TN 0.2 ^T _N			de
PL (f)	2.3	1.8	1.6	1	0.8	0.4		TN 0.2 ^T _N		e
K(+)	2.5	2	1.8	1.2	1	0.6	0.4		TN	e

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

2. Ginjal

- Edema

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.8	2	0.7	0.1
K(+)	2.6	2.6	3.2	8.4	2.8	0.3
PL (a)	1.2	1	1	3.2	1.1	0.1
PL (b)	1.2	1.2	1.6	4	1.3	0.2
PL (c)	1.6	1.6	1.8	5	1.7	0.1
PL (d)	2	2.2	2.2	6.4	2.1	0.1
PL(e)	2	2.4	2.6	7	2.3	0.3
PL(f)	2.4	2.6	2.4	7.4	2.5	0.1

Faktor Koreksi = $\frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r}$

= $\frac{(43,4)^2}{8 \times 3}$

= 78,48

Jumlah Kuadrat Total = (K- 1)² + (K- 2)² + (K- 3)²+..... + (PL(f) 3)² – FK
 = (0,6)² + (0,6)²+(0,8)² +.....+(2,4)² – 78,48
 = 12,36



$$JKP = \frac{\sum K^{-2} + \sum K^{+2} + \sum PL(a)^2 + PL(b)^2 + PL(c)^2 + PL(d)^2 + PL(e)^2 + PL(f)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{2^2 + 8,4^2 + 3,2^2 + 4^2 + 5^2 + 6,4^2 + 7^2 + 7,4^2}{3} - 78,48$$

$$= 11,69$$

$$JKG = JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan}$$

$$= 12,36 - 11,69$$

$$= 0,67$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (t) \times (r) - 1$$

$$= 8 \times 3 - 1$$

$$= 23$$

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

$$= 8 - 1$$

$$= 7$$

$$\text{Db Galat} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan}$$

$$= 23 - 7$$

$$= 16$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{JK \text{ Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}}$$

$$= \frac{11,69}{7}$$

$$= 1,67$$

$$\text{Kuadrat Tengah Galat} = \frac{JK \text{ Galat}}{\text{db Galat}}$$

$$= \frac{0,67}{16}$$

$$= 0,04$$

$$F \text{ Hitung} = \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}}$$

$$= \frac{1,67}{0,04}$$

$$= 39,88$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.69	1.67	39.88**	2.66	4.03
A	3	0.7	0.23	5.57**	3.24	5.29
B	1	9.38	9.38	224.00**	4.49	8.53
AB	3	1.62	0.54	12.90**	3.24	5.29
Galat	16	0.67	0.04			
Total	23	24.06				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,04}}{\sqrt{3}} \\
 &= 0,163
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,12 \times 0,2 \\
 &= 0,345
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.7	1.1	1.3	1.7	2.1	2.3	2.5	2.8	
K(-)	0.7	TN								a
PL (a)	1.1	0.4*	TN							b
PL (b)	1.3	0.6	0.2*	TN						bc
PL (c)	1.7	1	0.6	0.4*	TN					d
PL (d)	2.1	1.4	1	0.8	0.4*	TN				d
PL (e)	2.3	1.6	1.2	1	0.6	0.2*	TN			de
PL (f)	2.5	1.8	1.4	1.2	0.8	0.4	0.2*	TN		ef
K(+)	2.8	2.1	1.7	1.5	1.1	0.7	0.5	0.3*	TN	fg

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

- **Hipertrofi**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.8	2	0.7	0.1
K(+)	2.4	2.4	2.6	7.4	2.5	0.1
PL (a)	1.2	0.8	1	3	1.0	0.2
PL (b)	1.2	1.2	1.4	3.8	1.3	0.1
PL ©	1.4	1.6	1.6	4.6	1.5	0.1
PL (d)	1.6	2	2	5.6	1.9	0.2
PL(e)	1.8	2.2	2.4	6.4	2.1	0.3
PL(f)	2.2	2.2	2.2	6.6	2.2	0.0

Faktor Koreksi

$$= \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(39,4)^2}{8 \times 3}$$

$$= 64,68$$

Jumlah Kuadrat Total

$$= (K- 1)^2 + (K- 2)^2 + (K- 3)^2 + \dots + (PL(f) 3)^2 - FK$$

$$= (0,6)^2 + (0,6)^2 + (0,8)^2 + \dots + (2,2)^2 - 64,68$$

$$= 8,88$$

$$JKP = \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma PL(a)^2 + PL(b)^2 + PL(c)^2 + PL(d)^2 + PL(e)^2 + PL(f)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{2^2 + 7,4^2 + 3^2 + 3,8^2 + 4,6^2 + 5,6^2 + 6,4^2 + 6,6^2}{3} - 64,68$$

$$= 8,40$$

JKG= JK Total – JK Perlakuan

$$= 8,88 - 8,40$$

$$= 0,48$$

Derajat Bebas (db) Total = (t) x (r)-1

$$= 8 \times 3 - 1$$

$$= 23$$



$$\begin{aligned} \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 \\ &= 8 - 1 \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\ &= 23 - 7 \\ &= 16 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{8,40}{7} \\ &= 1,20 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{0,48}{16} \\ &= 0,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\ &= \frac{1,20}{0,03} \\ &= 40,00 \end{aligned}$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	8.4	1.20	40.00**	2.66	4.03
A	3	0.62	0.21	6.89**	3.24	5.29
B	1	6.62	6.62	220.67**	4.49	8.53
AB	3	1.16	0.39	12.89**	3.24	5.29
Galat	16	0.48	0.03			
Total	23	17.28				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,03}}{\sqrt{3}} \end{aligned}$$



$$= 0,141$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% \times \text{SED}$$

$$= 2,12 \times 0,2$$

$$= 0,298$$

Perlakuan	Rata-rata	K(-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K(+)	Notasi
		0.7	1	1.3	1.5	1.9	2.1	2.2	2.5	
K(-)	0.7	TN								a
PL (a)	1	0.3*	TN							b
PL(b)	1.3	0.6	0.3*	TN						b
PL (c)	1.5	0.8	0.5	0.2	TN					bc
PL (d)	1.9	1.2	0.9	0.6	0.4*	TN				d
PL (e)	2.1	1.4	1.1	0.8	0.6	0.2	TN			de
PL (f)	2.2	1.5	1.2	0.9	0.7	0.3*	0.1 ^{TN}	TN		ef
K(+)	2.5	1.8	1.5	1.2	1	0.6	0.4	0.3*	TN	g

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

3. Usus

- Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.6	0.6	0.6	1.8	0.6	0.0
K(+)	2.6	2.6	2.8	8	2.7	0.1
PL (a)	1.2	0.8	0.8	2.8	0.9	0.2
PL (b)	1.4	1.2	1.4	4	1.3	0.1
PL (c)	1.6	1.6	1.6	4.8	1.6	0.0
PL (d)	1.6	2.2	2	5.8	1.9	0.3
PL(e)	2.2	2.4	2.4	7	2.3	0.1
PL(f)	2.2	2.6	2.6	7.4	2.5	0.2

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(41,6)^2}{8 \times 3}$$

$$= 72,11$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total} = (K- 1)^2 + (K- 2)^2 + (K- 3)^2 + \dots + (\text{PL}(f) 3)^2 - \text{FK}$$

$$= (0,6)^2 + (0,6)^2 + (0,6)^2 + \dots + (2,2)^2 - 72,11$$

$$= 12,21$$

$$\text{JKP} = \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma \text{PL}(a)^2 + \text{PL}(b)^2 + \text{PL}(c)^2 + \text{PL}(d)^2 + \text{PL}(e)^2 + \text{PL}(f)^2}{3} - \text{FK}$$



$$= \frac{1,8^2+8^2+2,8^2+4^2+4,8^2+5,8^2+7^2+7,4^2}{3} - 72,11$$

$$= 11,73$$

$$\text{JKG} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 12,21 - 11,73$$

$$= 0,48$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = (t) \times (r) - 1$$

$$= 8 \times 3 - 1$$

$$= 23$$

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

$$= 8 - 1$$

$$= 7$$

$$\text{Db Galat} = \text{db Total} - \text{db Perlakuan}$$

$$= 23 - 7$$

$$= 16$$

$$\text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}}$$

$$= \frac{11,73}{7}$$

$$= 1,68$$

$$\text{Kuadrat Tengah Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}}$$

$$= \frac{0,48}{16}$$

$$= 0,03$$

$$\text{F Hitung} = \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}}$$

$$= \frac{1,68}{0,03}$$

$$= 55,86$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	11.73	1.68	55.86**	2.66	4.03
A	3	1.2	0.40	13.33**	3.24	5.29



B	1	9.13	9.13	304.33**	4.49	8.53
AB	3	1.41	0.47	15.67**	3.24	5.29
Galat	16	0.48	0.03			
Total	23	23.95				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned}
 SED &= \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 0,03}}{\sqrt{3}} \\
 &= 0,141
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times SED \\
 &= 2,12 \times 0,141 \\
 &= 0,298
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	K (-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K (+)	Notasi
		0.6	0.9	1.3	1.6	1.9	2.3	2.5	2.7	
K(-)	0.6	TN								a
PL (a)	0.9	0.3*	TN							b
PL (b)	1.3	0.7	0.4*	TN						b
PL (c)	1.6	1	0.7	0.3*	TN					b
PL (d)	1.9	1.3	1	0.6	0.3*	TN				b
PL (e)	2.3	1.7	1.4	1	0.7	0.4*	TN			b
PL (f)	2.5	1.9	1.6	1.2	0.9	0.6	0.2*	TN		bc
K(+)	2.7	2.1	1.8	1.4	1.1	0.8	0.4	0.2*	TN	cd

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata

- Hemoragi

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata	SD
	1	2	3			
K(-)	0.8	0.6	0.8	2.2	0.7	0.1
K(+)	2.8	2.6	2.6	8	2.7	0.1
PL (a)	1.2	1	1	3.2	1.1	0.1
PL (b)	1.4	1.4	1.6	4.4	1.5	0.1
PL (c)	1.6	1.8	1.8	5.2	1.7	0.1
PL (d)	1.6	2.2	2.2	6	2.0	0.3
PL (e)	2.4	2.2	2.2	6.8	2.3	0.1
PL (f)	2.6	2	2.6	7.2	2.4	0.3



$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{n \times r} \\
 &= \frac{(43)^2}{8 \times 3} \\
 &= 77,04 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (K-1)^2 + (K-2)^2 + (K-3)^2 + \dots + (\text{PL}(f) 3)^2 - \text{FK} \\
 &= (0,8)^2 + (0,6)^2 + (0,8)^2 + \dots + (2,6)^2 - 77,04 \\
 &= 10,12 \\
 \text{JKP} &= \frac{\Sigma K^{-2} + \Sigma K^{+2} + \Sigma \text{PL}(a)^2 + \text{PL}(b)^2 + \text{PL}(c)^2 + \text{PL}(d)^2 + \text{PL}(e)^2 + \text{PL}(f)^2}{3} - \text{FK} \\
 &= \frac{2,2^2 + 8^2 + 3,2^2 + 4,4^2 + 5,2^2 + 6^2 + 6,8^2 + 7,2^2}{3} - 77,04 \\
 &= 9,48 \\
 \text{JKG} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 10,12 - 9,48 \\
 &= 0,64 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= (t) \times (r) - 1 \\
 &= 8 \times 3 - 1 \\
 &= 23 \\
 \text{Db Perlakuan} &= (t) - 1 \\
 &= 8 - 1 \\
 &= 7 \\
 \text{Db Galat} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 23 - 7 \\
 &= 16 \\
 \text{Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{9,48}{7} \\
 &= 1,35
 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{0,64}{16} \\ &= 0,04 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\ &= \frac{1,35}{0,04} \\ &= 33,86 \end{aligned}$$

Sb Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	7	10.12	1.45	36.14**	2.66	4.03
A	3	0.94	0.31	7.83**	3.24	5.29
B	1	7.04	7.04	176.00**	4.49	8.53
AB	3	1.5	0.50	12.50**	3.24	5.29
Galat	16	0.64	0.04			
Total	23	20.24				

Keterangan: (**) Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Menghitung Nilai BNT

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \frac{\sqrt{2 \text{ KT Galat}}}{\sqrt{r}} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0,04}}{\sqrt{3}} \\ &= 0,163 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,12 \times 0,163 \\ &= 0,345 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	K (-)	PL (a)	PL (b)	PL (c)	PL (d)	PL (e)	PL (f)	K (+)	Notasi
		2.2	3.2	4.4	5.2	6	6.8	7.2	8	
K(-)	2.2	TN								a
PL (a)	3.2	1*	TN							b
PL(b)	4.4	2.2	1.2*	TN						b
PL (c)	5.2	3	2	0.8*	TN					b
PL (d)	6	3.8	2.8	1.6	0.8*	TN				b

PL (e)	6.8	4.6	3.6	2.4	1.6	0.8*	TN			b
PL (f)	7.2	5	4	2.8	2	1.2	0.4*	TN		b
K(+)	8	5.8	4.8	3.6	2.8	2	1.2	0.8*	TN	b

Keterangan: (*)= Berbeda Nyata, (TN)= Tidak Nyata



Lampiran 6. Data Kualitas Air

1. Suhu

Perlakuan	Suhu	
	Hari ke-1	Hari Ke-14
K(-)	24 °C	25 °C
K(+)	24 °C	25 °C
PL(a)	24 °C	25 °C
PL(b)	25 °C	26 °C
PL(c)	25 °C	26 °C
PL(d)	24 °C	25 °C
PL(e)	24 °C	25 °C
PL(f)	24 °C	25 °C

2. pH

Perlakuan	pH	
	Hari ke-1	Hari ke-14
K(-)	7	8
K(+)	7	8
PL(a)	8	8
PL(b)	8	8
PL(c)	7	7
PL(d)	8	8
PL(e)	7	7
PL(f)	7	7

3. DO (*Dissolved Oxygen*)

Perlakuan	DO	
	Hari ke 1	Hari Ke 14
K(-)	4.32 mg/l	4.46 mg/l
K(+)	4.54 mg/l	4.66 mg/l
PL(a)	4.65 mg/l	4.72 mg/l
PL(b)	4.37 mg/l	4.54 mg/l
PL(c)	4.75 mg/l	4.87 mg/l
PL(d)	4.87 mg/l	4.93 mg/l
PL(e)	4.64 mg/l	4.76 mg/l
PL(f)	4.76 mg/l	4.8 mg/l

4. CO₂ (Karbon-dioksida)

Perlakuan	CO ₂	
	Hari ke 1	Hari ke 14
K(-)	7.99 mg/l	8.56 mg/l
K(+)	8.12 mg/l	9.34 mg/l
PL(a)	8.26 mg/l	9.56 mg/l
PL(b)	7.81 mg/l	8.36 mg/l
PL(c)	8.36 mg/l	9.12 mg/l
PL (d)	8.55 mg/l	9.06 mg/l
PL (e)	8.68 mg/l	9.43 mg/l
PL (f)	8.72 mg/l	9.38 mg/l

Lampiran 7. Dokumentasi

A. *Brachionus plicatilis* Segar



Bibit *Brachionus plicatilis* segar



Kultur *Brachionus plicatilis* diberi aerasi



Proses penyaringan *Brachionus plicatilis*



Proses penyaringan *Brachionus plicatilis*



Hasil Penyaringan *Brachionus plicatilis* disimpan dalam falcon 15m

B. Isolasi Protein *Brachionusplicatilis*



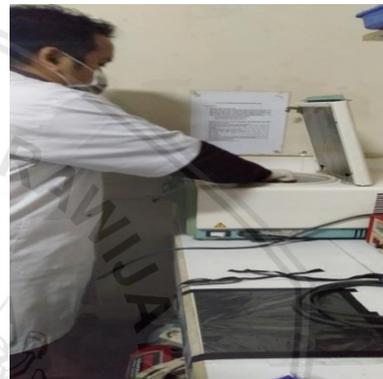
Brachionus plicatilis segar di isolasi



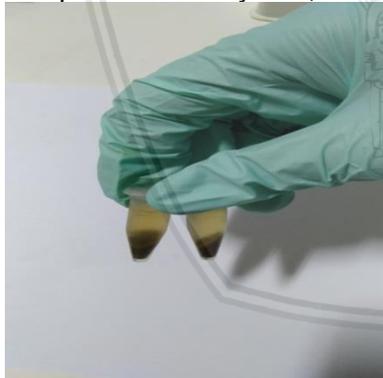
Apendof kosong ditimbang terlebih dahulu



Brachionus plicatilis segar dipindahkan ke apendof sebanyak 1,25 ml



Brachionus plicatilis segar di sentrifuge 3500 rpm selama 10 menit



Hasil *Brachionus* segar setelah di sentrifuge 3500 rpm selama 10 menit



Hasil supernatan dibuang



Hasil endapan ditimbang



Endapan ditambah larutan buffer lisis 1 ml

Endapan dihaluskan



Endapan ditambahkan larutan buffer lisis 1 ml



Disentrifuge 6000 rpm selama 10 menit



Dipisahkan supernatan dan pellet protein



Hasil Pellet protein



Hasil Supernatan

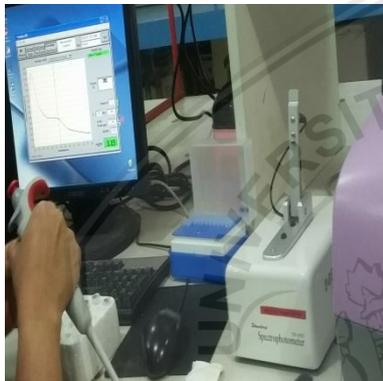
Kuantifikasi Protein Menggunakan Nanodrop



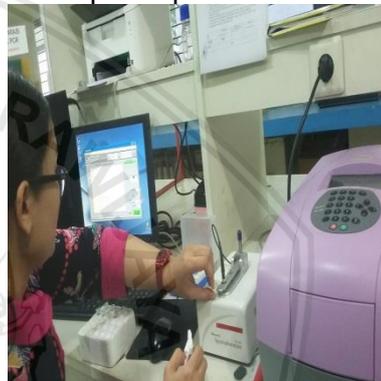
Alat nanodrop spectrophotometer



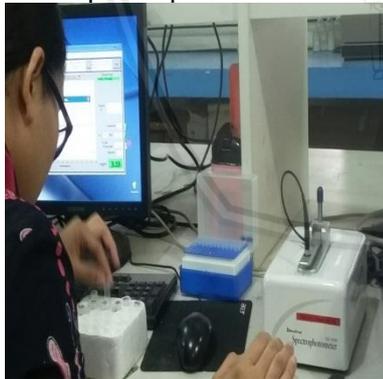
Proses pengecekan hasil menggunakan nanodrop spectrophotometer



Proses pengecekan hasil menggunakan nanodrop spectrophotometer



Proses pengecekan hasil menggunakan nanodrop spectrophotometer



Proses pengecekan hasil menggunakan nanodrop spectrophotometer

Report: Protein 202210 Test Type: Protein A-200 Date/Time: 202210/11/10 AM Page: 1

Sample ID	User	Date	Time	mg/ml	280nm	A280	E	Ext	Wavelength	Cuvette	Concn
					1%	10nm	1%	10nm	Wavelength	Concn	
Substrat	Debit	202210	11:07 AM	24.92	1.76	24.921	10.00	NaN	NaN	200	24.921
Substrat + buffer	Debit	202210	11:08 AM	5.00	1.05	5.000	10.00	NaN	NaN	200	5.000

Hasil Kuantifikasi Protein Menggunakan Nanodrop

C. Pembuatan Dosis Protein Liquid *Brachionus plicatilis* dan Penyondean



Supernatan dipindahkan kebotol IPI



Supernatan diencerkan dengan water injection sesuai dengan perhitungan dosis



Pellet dipindahkan kebotol IPI



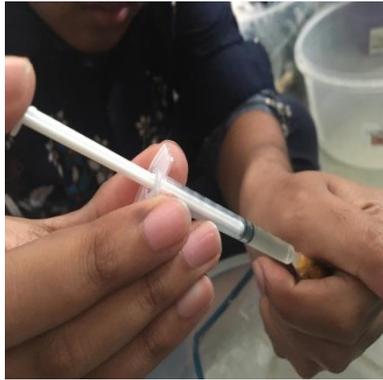
Pellet diencerkan dengan water injection sesuai dengan perhitungan dosis



Bak perlakuan pada ikan koi (*Cyprinus carpio*)



Setelah dilakukan pembuatan dosis protein liquid, dilakukan penyondean pada ikan koi.



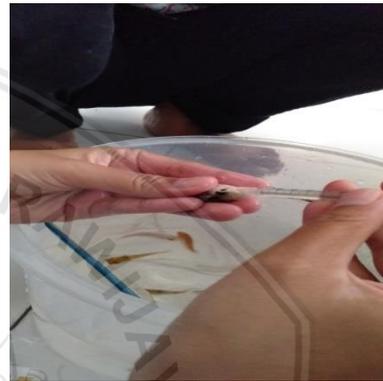
Proses penyondean dilakukan sesuai dosis perlakuan



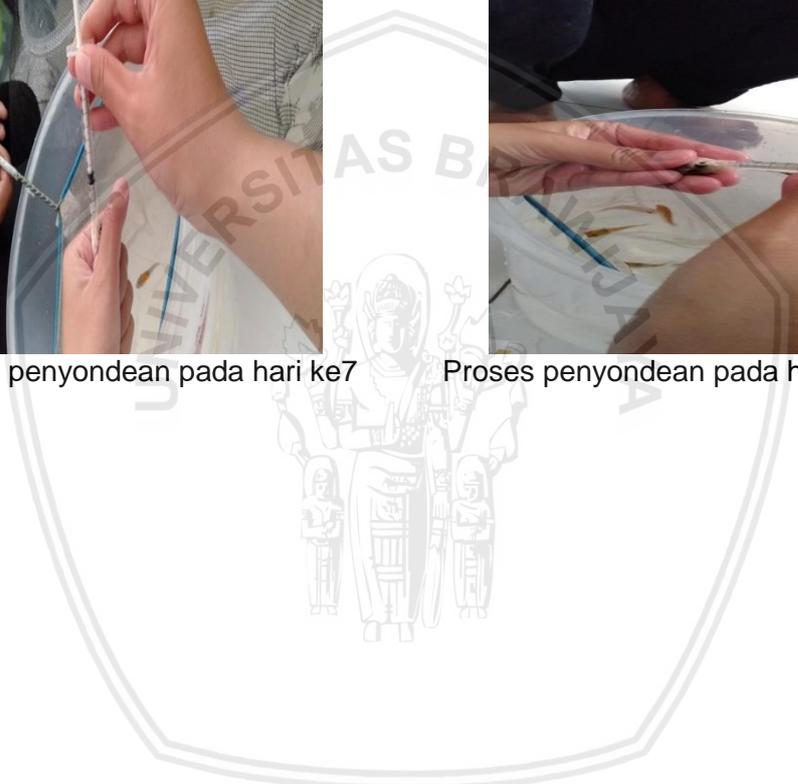
Proses penyondean pada hari ke3



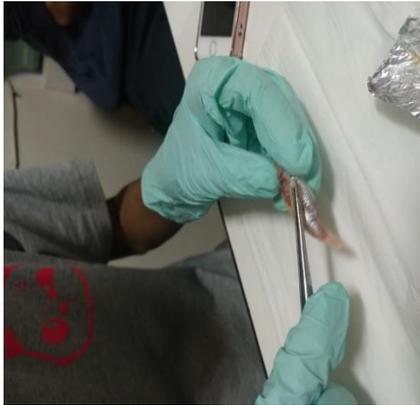
Proses penyondean pada hari ke7



Proses penyondean pada hari ke 10



D. Pembedahan Ikan yang Telah diberi Perlakuan



Pengambilan Organ Ikan



Pengambilan Organ Ikan



Ginjal Ikan



Usus Ikan



Insang Ikan