

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo Sp.*)
PADA PAKAN TERHADAP TITER ANTIBODI DAN SR (*SURVIVAL RATE*)
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas
hydrophila***

SKRIPSI

Oleh:

**YOGA ARIS MINTIYA
NIM. 155080507111001**



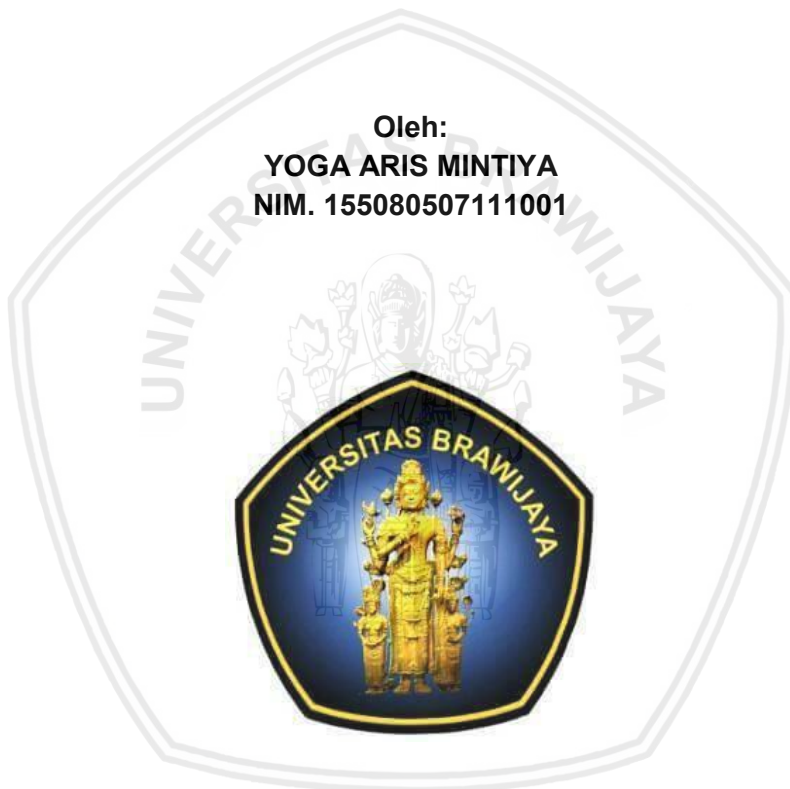
**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo Sp.*)
PADA PAKAN TERHADAP TITER ANTIBODI DAN SR (*SURVIVAL RATE*)
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas
hydrophila***

SKRIPSI

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

Oleh:
YOGA ARIS MINTIYA
NIM. 155080507111001



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

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo Sp.*)
PADA PAKAN TERHADAP TITER ANTIBODI DAN SR (*SURVIVAL RATE*)
IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh:
YOGA ARIS MINTIYA
NIM. 155080507111001

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 1

Dr. Ir. M. Fadjjar, M.Sc.
NIK. 196210141987011001
TANGGAL: 08 NOV 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2

Ir. Ellana Sanoesi, MP.
NIK. 196309241998032001
TANGGAL: 08 NOV 2019

Mengetahui,
Kaprodiem MSP



Dr. Ir. M. Firdaus, MP.
NIP.196809192005011001
TANGGAL: 08 NOV 2019



LEMBAR IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp.) PADA PAKAN TERHADAP TITER ANTIBODI DAN SR (*SURVIVAL RATE*) IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*.**

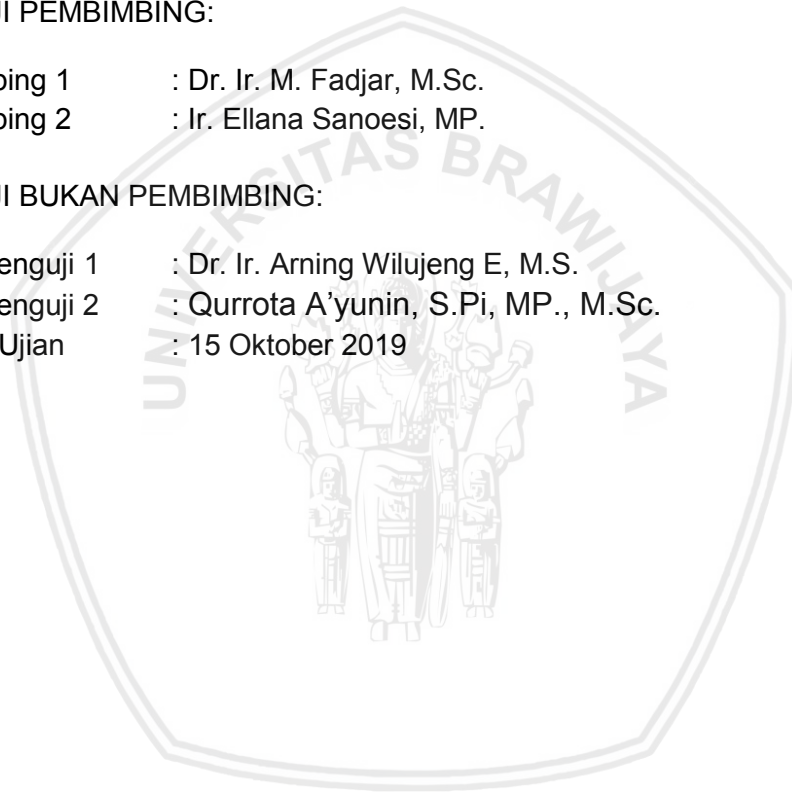
Nama Mahasiswa : YOGA ARIS MINTIYA
NIM : 155080507111001
Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.
Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, MP.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

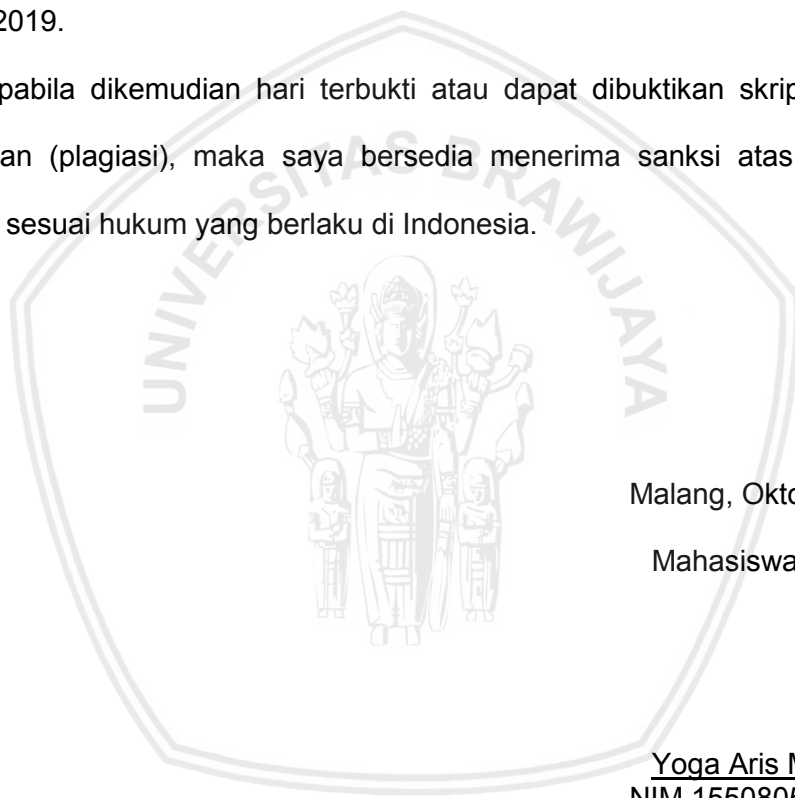
Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Arning Wilujeng E, M.S.
Dosen Penguji 2 : Qurrota A'yunin, S.Pi, MP., M.Sc.
Tanggal Ujian : 15 Oktober 2019



PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri di bawah payung penelitian Dr. Ir. Mohamad Fajar, M.Sc yang dibiayai oleh Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi, Sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor : 054/SP2H/LT/DRPM/2018, tanggal 12 April 2019.

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



Malang, Oktober 2019

Mahasiswa,

Yoga Aris Mintiya
NIM.155080507111001

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah, serta Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Dr. Ir. Fadjar, M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak memberikan motivasi, saran, bimbingan, arahan dan nasihat bagi penulis selama bimbingan.
3. Ir. Ellana Sanoesi, MP. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran dan arahan kepada penulis selama bimbingan.
4. Dr. Ir. Arning Wilujeng E, MS dan Qurrota A'yunin, S.Pi,MP., M.Sc. selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis.
5. Bapak, Ibu dan Adik yang selalu memberikan doa yang terbaik dan selalu menjadi penuntun yang baik.
6. Seluruh rekan - rekan tim serbuk cumi : Lukman Thalib, Indana , Novi dan Ibnu yang telah membantu berkerja sama satu tim hingga penelitian selesai.
7. Teruntuk Ella Kulawangsa kekasih tercinta yang sudah menemani dari awal kuliah hingga saat ini. Terimakasih telah memberikan kasih sayang, support, saran dan perhatian yang begitu besar sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.

RINGKASAN

YOGA ARIS MINTIYA. Pengaruh Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) pada pakan terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. dibawah bimbingan **Dr. Ir. Mohamad Fadjar M.Sc. dan Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang populer di kalangan masyarakat. Oleh karena kepopulerannya itu membuat ikan nila memiliki prospek usaha yang cukup menjanjikan. Apabila ditinjau dari segi pertumbuhan, ikan nila merupakan jenis ikan yang memiliki laju pertumbuhan yang cepat dan dapat mencapai bobot tubuh yang jauh lebih besar dengan tingkat produktifitas yang cukup tinggi. Ikan nila termasuk komoditas perairan darat yang banyak digemari oleh masyarakat, baik lokal maupun mancanegara. Tetapi, berhasilnya suatu usaha budidaya ikan tidak terlepas dari masalah penyakit, adapun organisme penyebab penyakit yang biasa menyerang ikan umumnya berasal dari golongan jamur, bakteri, virus dan parasit. Salah satu penyakit yang biasa timbul pada hewan budidaya adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri septisemia sehingga penyebaran bakteri di dalam tubuh inang terjadi sangat cepat.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan terhadap titer antibodi dan SR pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Parasit dan Penyakit Ikan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya pada tanggal 1 Januari hingga 25 Maret 2018.

Metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan dosis 52,5 ppm (A), 62,5 ppm (B), 72,5 ppm (C). Hubungan antara dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap titer antibodi adalah dosis tertentu akan menghasilkan nilai titer yang tinggi. Parameter utama dalam penelitian adalah mengetahui titer antibodi dan SR ikan nila (*Oreochromis niloticus*), sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air yang terdiri dari suhu, oksigen terlarut.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi berbeda sangat nyata terhadap titer antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Titer antibodi optimal terdapat pada perlakuan B = 62,5 ppm (26,67%) dan terendah pada perlakuan A = 52,5ppm (6,67%). Kelangsungan hidup relatif tertinggi dimiliki oleh perlakuan B (90,47%) dan kelangsungan hidup relatif terendah yaitu pada perlakuan A (85,71%).

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, berkah, karunia, hidayah serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang judul: "Pengaruh Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo Sp.*) Terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*". Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc. selaku dosen pembimbing 1, Ibu Ir. Ellana Sanoesi, M.P. selaku Dosen Pembimbing 2 dan semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

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

Malang, Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Kegunaan	3
1.6 Tempat dan Waktu	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila	7
2.1.4 Penyakit Pada Ikan Nila	7
2.1.5 Ikan Nila yang Terinfeksi <i>Aeromonas hydrophila</i>	8
2.2 Biologi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.2.2 Habitat dan penyebaran <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.2.3 Patogenesis <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.2.4 Infeksi bakteri	11
2.3 Kandungan tinta cumi – cumi (<i>Loligo Sp.</i>)	12
2.4 Antimikroba	13
2.5 Titer Antibodi	13
2.6 SR (<i>Survival Rate</i>)	14
2.7 Kualitas Air	15
2.7.1 Suhu	15
2.7.2 DO	15
2.7.3 pH	15
3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Materi Penelitian	17
3.1.1 Alat Penelitian	17
3.1.2 Bahan Penelitian	17
3.2 Metode Penelitian	17
3.3 Rancangan Penelitian	18
3.4 Prosedur penelitian	20
3.4.1 Persiapan Penelitian	20
3.4.2 Pelaksanaan penelitian	23



3.5 Parameter Uji.....	27
3.5.1 Parameter Utama.....	27
3.5.2 Parameter Penunjang	27
3.5.3 AnalisisData	28
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Pemberian bubuk ekstrak tinta cumisetelahpenginfeksian	29
4.2 Titer Antibodi	29
4.3 SR (Survival Rate).....	38
4.4 Parameter Penunjang.....	41
4.4.1 Gejala Klinis	41
4.4.2 Kualitas Air	42
5. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA.....	45
LAMPIRAN.....	48



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila	6
2. <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
3. Denah Penelitian.	19
4. Grafik Setelah Pemberian Serbuk Tinta Cumi Hari ke-7.	37
5. Grafik hubungan SR dengan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi.	40
6. Gejala klinis selama penelitian.....	42

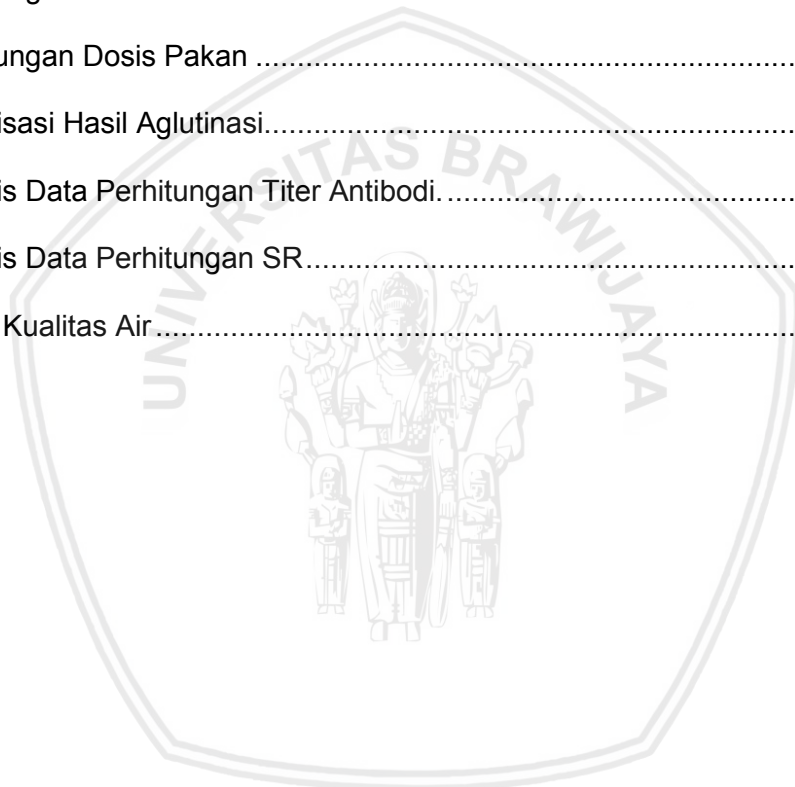


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Nilai Titer Antibodi Setelah hari ke-4	31
Tabel 2. Nilai Titer Antibodi Setelah hari ke-7	31
Tabel 3. Nilai Titer Antibodi sebelum Pemberian hari ke-1	32
Tabel 4. Nilai Titer Antibodi setelah hari ke-4	33
Tabel 5. Rerata Titer Antibodi setelah hari ke-4	33
Tabel 6. Sidik Ragam Produksi Titer Antibodi setelah hari ke-4	34
Tabel 7. Uji BNT Produksi Titer Antibodi Setelah hari ke-4	34
Tabel 8. Nilai Titer Antibodi setelah hari ke-7	35
Tabel 9. Rerata Titer Antibodi setelah hari ke-7	35
Tabel 10. Sidik Ragam Produksi Titer Antibodi Setelah Hari ke-7	36
Tabel 11. Uji BNT Produksi Titer Antibodi Setelah Hari ke-7	36
Tabel 12. Rerata Kelulushidupan (SR)	38
Tabel 13. Sidik Ragam Kelulushidupan (SR)	39
Tabel 14. Uji BNT Kelulushidupan (SR)	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian yang digunakan.....	48
2. Bahan penelitian yang digunakan.....	51
3. Hasil Uji Biokimia <i>Aeromonas hydrophila</i>	53
4. Skema Kerja Uji Aglutinasi.....	54
5. Perhitungan media TSB.....	55
6. Perhitungan Dosis Pakan	56
7. Visualisasi Hasil Aglutinasi.....	57
8. Analisis Data Perhitungan Titer Antibodi.....	60
9. Analisis Data Perhitungan SR.....	67
10. Data Kualitas Air.....	74



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia mempunyai potensi dan peluang di sektor perikanan dalam meraih devisa yang lebih besar dibandingkan sektor non migas. Sumber devisa yang dapat diandalkan adalah sektor perikanan budidaya, baik laut, payau, maupun tawar. Budidaya perikanan air tawar selangkah lebih maju dibandingkan dengan laut dan payau salah satunya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan air tawar yang selama ini telah berkembang pesat dan sangat populer di masyarakat. Ikan ini sangat terkenal mudah berkembang biak, cepat tumbuh (Zubaidah, 2013).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang digemari masyarakat dalam memenuhi kebutuhan protein hewani karena memiliki daging yang tebal serta rasa yang enak. Ikan nila juga merupakan ikan yang potensial untuk dibudidayakan karena mampu beradaptasi pada kondisi lingkungan dengan kisaran salinitas yang luas (Hadi et al., 2009).

Penyakit merupakan salah satu kendala yang sering terjadi dalam usaha budidaya ikan. Bakteri *Aeromonas hydrophila* sebagai bakteri patogen, penyebab penyakit pada berbagai jenis ikan air tawar. Penyakit yang disebabkan bakteri ini dikenal dengan nama *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) atau penyakit bercak merah, bakteri ini dapat mematikan benih ikan dengan tingkat kematian mencapai 80% - 100% dalam waktu 1 -2 minggu (Cipriano, 2001).

Salah satu cara penanggulangan yang aman digunakan adalah dengan pengobatan alternatif yang digunakan untuk penyakit ikan adalah bubuk tinta dari cumi cumi *Loligo* sp. yang ada dilaut. Tinta cumi memiliki sifat *alkaloid*,

sehingga tidak disukai oleh predator, terutama ikan. *Alkaloid* merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa *alkaloid* telah dilaporkan memiliki manfaat dalam bidang pengobatan. Selama ini banyak masyarakat yang menganggap tinta cumi-cumi tidak bermanfaat sehingga jika mengolah cumi-cumi, cangkang dan kantong tintanya dibuang. Padahal tinta cumi memiliki banyak manfaat dan khasiat salah satunya untuk kesehatan (Sasaki *et al.*, 1997).

Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai pengobatan terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menginfeksi salah satu hewan budidaya akuatik yaitu ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Dengan menggunakan bubuk tinta cumi (*Loligo sp*) pada pakan terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan nila atau yang biasa kita sebut *survival rate*.

1.2 Perumusan Masalah

Menurut Camus *et al.* (1988), bakteri *Aeromonas* merupakan salah satu bakteri yang paling banyak ditemukan di lingkungan perairan tawar. Grandiosa (2010), menyatakan bahwa infeksi *Aeromonas* pada ikan ditandai dengan luka yang meluas pada kulit, nekrosis fokal pada liver, spleen, ginjal dan jaringan lain. Apabila tidak ditangani secara tepat maka dapat menyebabkan kematian masal dan dikenal juga secara umum sebagai MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*).

Pengendalian yang umumnya dilakukan untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bakteri masih menggunakan antibiotik yang berdampak buruk bagi ikan. Dampak buruk tersebut adalah munculnya residu yang mengendap dipencernaan ikan disebabkan oleh bahan kimia yang diberikan. Sehingga dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsi ikan tersebut. Salah satu alternative untuk mengatasi masalah ini adalah dengan menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) karna mengandung pigmen hitam atau melanin yang memiliki kemampuan sebagai antimikrobia.

Melanin ini mengikat protein melalui asam amino yang mengandung sulfur, misalnya sistein yang bisa mengikat sel darah putih dan berguna untuk mencegah antikanker.

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan permasalahan apakah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi sebagai pencegahan berpengaruh terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh bubuk ekstrak tinta cumi (*Loligo sp.*) pada pakan terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian yang digunakan adalah:

H0 : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan tidak berpengaruh terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H1 : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan berpengaruh terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini adalah menciptakan inovasi baru tentang upaya pengendalian serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan yang merupakan bahan alami di bidang perikanan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan 15 Januari – 5 Maret 2019.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Suyanto (2002), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichtyes
Subkelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Subordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Berdasarkan morfologinya, kelompok ikan *Oreochromis* memang berbeda dengan kelompok Tilapia. Secara umum, bentuk tubuh nila (Gambar 1) memanjang dan ramping dengan sisik berukuran besar berbentuk ctenoid. Bentuk matanya besar dan menonjol serta bagian tepi berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah tubuh kemudian berlanjut lagi, tetapi letaknya lebih ke bawah dibandingkan letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi 34 buah. Sirip punggung, sirip perut, dan sirip duburnya memiliki jari – jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggung dan sirip dada berwarna hitam, sedangkan pinggir punggung berwarna abu – abu atau hitam (Amri dan Khairuman, 2008).



Gambar 1. Ikan Nila (Suyanto, 2002)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Air merupakan media atau habitat yang paling vital bagi kehidupan ikan. Nila memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya, sehingga bisa dipelihara di dataran rendah yang berair payau hingga di dataran tinggi yang berair tawar. Habitat hidup ikan ini cukup beragam, bisa hidup di sungai, danau, waduk, rawa, sawah, kolam, atau tambak. Nila dapat tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14 - 38°C. Pertumbuhan nila biasanya akan terganggu jika suhu habitatnya lebih rendah dari 14°C atau pada suhu di atas 38°C. Nila akan mengalami kematian jika suhu habitatnya 6°C atau 42°C (Khairuman dan Amin, 2008).

Ikan Nila merupakan jenis ikan air tawar. Pada mulanya, ikan Nila berasal dari perairan tawar di Afrika. Di Asia penyebaran ikan Nila pada mulanya berpusat di beberapa negara seperti Filipina dan Cina. Dalam perkembangan selanjutnya, ikan Nila meluas dibudidayakan di berbagai negara, antara lain Taiwan, Thailand, Vietnam, Bangladesh, dan Indonesia. Pengembangan ikan Nila di perairan tawar di Indonesia dimulai tahun 1969. Jenis atau strain ikan Nila yang pertama kali didatangkan ke Indonesia adalah Nila hitam asal Taiwan. Tahun 1981 didatangkan lagi jenis atau strain ikan Nila merah hibrida. Kedua jenis ikan Nila ini telah meluas dibudidayakan di seluruh wilayah perairan nusantara (Rukmana, 1997).

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila

Ikan Nila sangat mudah dibudidayakan karena tergolong pemakan segala atau omnivora. Ketika masih benih, makanan yang disukai ikan Nila adalah zooplankton seperti *Rotifera sp*, *Monia sp* atau *Daphnia sp*. Selain itu, juga memakan alga atau lumut yang menempel pada benda-benda di habitat hidupnya. Ikan Nila dewasa ataupun induk pada umumnya mencari makanan di tempat yang dalam. Jenis makanan yang disukai ikan dewasa adalah fitoplankton, seperti alga berfilamen, tumbuh-tumbuhan air, dan organisme renik yang melayang-layang dalam air (Rukmana, 1997).

Menurut Elyana (2011), Ikan nila adalah ikan yang memenuhi kebutuhannya dengan cara memakan hewan dan tumbuhan, pemakan plankton, sampai pemakan aneka tumbuhan sehingga ikan ini diperkirakan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali gulma air. Selain itu, ikan ini mudah berkembang biak, peka terhadap lingkungan dan mampu mencerna secara efisien, pertumbuhannya cepat dan tahan terhadap serangan penyakit.

2.1.4 Penyakit Pada Ikan Nila

Penyakit dapat digolongkan menjadi dua bagian yaitu penyakit non parasiter dan penyakit parasiter. Penyakit non parasiter dapat disebabkan oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH, Oksigen terlarut. ketiga parameter ini selalu diukur setiap pagi, siang dan malam selama 3 bulan awal pemeliharaan (Suyanto, 2004).

Penyakit infeksi pada ikan dapat disebabkan oleh bakteri, parasit, jamur dan virus, salah satu bakteri patogen pada ikan adalah *Aeromonas hydrophila*, penyakit yang ditimbulkannya dikenal dengan MAS (*Motile Aromonas Septicemia*) dan merupakan penyakit bakterial terpenting pada budidaya ikan air tawar di Indonesia. Menurut Khairuman dan Amri (2002), penyakit MAS juga

terjadi pada ikan nila yang ditandai dengan gejala berenang sangat lemah, sering muncul ke permukaan air dan warna tubuhnya gelap.

2.1.5 Ikan Nila yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*

Ikan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki tanda-tanda seperti terjadinya inflamasi, peradangan di area sekitar insang, mata menonjol, perut kembung, ginjal membesar dan usus berisi mucus yang berwarna kekuningan. Ciri ikan yang terserang penyakit ini adalah warna ikan menjadi lebih gelap atau pucat, ikan tampak menyendiri, gerakan ikan tidak normal (berputar-putar) terdapat bercak peradangan pada kulit, sirip terkoyak-koyak, peradangan berdarah pada mulut dan organ dalam, keputihan dan eksudat (cairan radang) di dalam rongga perut serta ginjal mengalami pembengkakan yang disertai pendarahan (Prajitno, 2005).

Gejala Eksternal yang muncul akibat penyakit MAS adalah adanya ulser yaitu yang berbentuk bulat atau tidak teratur dan berwarna merah keabu-abuan. Inflamasi dan erosi di dalam rongga dan sekitar mulut, seperti *redmouth disease*. Selain itu terjadi hemoragik pada sirip serta mata membesar dan menonjol. Gejala internal dari penyakit MAS adalah pembengkakan ginjal, tetapi tidak lembek, petikiae (bintik merah) pada otot daging, usus tidak berisi makan, tetapi berisi cairan kuning. Gejala penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* dapat terlihat apabila ketahanan tubuh ikan melemah atau stress (Mulia, 2012).

2.2 Biologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Buchanan dan Gibbons (1974), Bakteri *Aeromonas hydrophila* diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum : Protophyta,

Kelas : Schizomycetes,

Ordo : Pseudomonodale,
Sub Ordo : Pseumodineae,
Famili : Vibrionaceae,
Genus : Aeromonas,
Species : *Aeromonas hydrophila*.

Secara morfologis bakteri *Aeromonas hydrophila* (Gambar 2) berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 μm dan lebar 15,7-15,8 μm , termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri penyebab penyakit *Haemorrhagic Septicaemia* yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37°C (Kabata, 1985). Bakteri *Aeromonas hydrophila* berbentuk batang sampai dengan kokus dengan ujung membulat, fakultatif anaerob, dan bersifat mesofilik dengan suhu optimum 20 - 30 °C Bakteri ini umumnya hidup di air tawar, terutama yang mengandung bahan organik tinggi (Afrianto dan Liviawaty, 2009).



Gambar 2. *Aeromonas hydrophila* (Afrianto dan Liviawaty, 2009).

2.2.2 Habitat dan penyebaran *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri yang secara normal ditemukan dalam air tawar. Infeksi *Aeromonas hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres, perubahan temperatur air yang

terkontaminasi dan ketika *host* (inang) tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder), oleh karena itu bakteri ini disebut dengan bakteri yang bersifat pathogen *oportunistik* (Dooley *et al.*, 1985 *dalam* Haryani *et al.*, 2012).). Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material – material seperti gelatin dan hemoglobin. *Aeromonas hydrophila* resisten terhadap *chlorine* serta suhu yang dingin (faktanya *Aeromonas hydrophila* dapat bertahan dalam temperature rendah $\pm 4^{\circ}\text{C}$), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan.

Austin dan Austin (1993) *dalam* Haryani *et al.* (2012) menambahkan bahwa sebagian besar isolat *Aeromonas hydrophila* mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Di samping itu bakteri *Aeromonas hydrophila* mampu tumbuh pada kisaran pH 4,7-11. Penularan bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat cepat melalui perantara air, kontak dengan tubuh ikan, atau melalui peralatan budidaya yang tercemar/terkontaminasi bakteri. Bakteri ini bersifat patogen, menyebar secara cepat pada penebaran yang tinggi dan dapat meningkatkan kematian benih sampai 100%.

2.2.3 Patogenesis *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistematis serta menyebabkan kematian pada ikan secara masal. Bakteri ini menyerang berbagai jenis ikan air tawar seperti lele dumbo, ikan mas, ikan gurami dan ikan nila. Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi 80 - 100% dalam waktu 1 – 2 minggu (Kamiso, 2004). Bakteri ini juga dapat dengan mudah menyerang ikan yang terinfeksi parasit atau ikan yang terdapat luka pada tubuhnya (Maharani, 2009).

Bakteri *Aeromonas hydrophila* menyerang hampir semua jenis ikan air tawar baik ikan hias maupun ikan konsumsi dengan gejala klinis berupa luka di bagian tubuh ikan dan bakteri ini menyerang semua umur dan hampir semua komoditas perikanan yang ada di Indonesia, di Jawa Barat bahkan menjadi wabah mematikan pada ikan air tawar dan menyebabkan kerugian sangat besar (Kamiso & Triyanto, 1993 dalam Haryani *et al.*, 2012).

2.2.4 Infeksi bakteri

Infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres, perubahan temperatur air yang terkontaminasi dan inang tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder), oleh karena itu bakteri *Aeromonas hydrophila* disebut dengan bakteri patogen oportunistik (Dooley *et al.*, 1985). Bakteri *Aeromonas hydrophila* menyebar secara cepat pada ikan dengan padat penebaran tinggi dan bisa mengakibatkan kematian benih hingga 90%. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar atau dengan pemindahan ikan yang telah terserang bakteri *Aeromonas hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Proses invasi bakteri patogen ke dalam tubuh diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit, dengan memanfaatkan pili, flagela dan kait untuk bergerak, dan melekat kuat pada lapisan terluar tubuh ikan yaitu sisik yang dilindungi oleh zat kitin. Selama proses invasi tersebut *Aeromonas hydrophila* memproduksi enzim kitinase yang juga berfungsi mendegradasi lapisan kitin sehingga mudah ditembus oleh bakteri. Selain memanfaatkan kitinase *Aeromonas hydrophila* juga mengeluarkan enzim lainnya seperti lesitinase dalam upaya masuk kedalam aliran darah (Wijaya, 2002).

2.3 Kandungan tinta cumi – cumi (*Loligo Sp.*)

Tinta cumi-cumi maupun tinta sotong mengandung melanin, protein, lemak dan glikosaminoglikan. Tinta cumi-cumi dapat berperan sebagai obat pelindung sel pada pengobatan kanker dengan cara kemoterapi, melalui peningkatan jumlah sel leukosit dan sel nucleat sumsum tulang, yang jumlahnya menurun akibat penggunaan obat pembunuh sel tumor tersebut. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dengan menghambat aktivitas plasmin untuk meningkatkan thromboxan dan meningkatkan sistem imun untuk membunuh sel kanker (Zhong et al. 2009). Melanin juga berperan sebagai antioksidan, anti-radiasi, dan anti-rotavirus. Hasil penelitian menyebutkan bahwa tinta sotong dan atau cumi-cumi memiliki aktivitas antibakteri (Nair et al. 2011).

Tinta cumi-cumi bersifat alkaloid, Alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa alkaloid dilaporkan ada yang memiliki manfaat dalam pengobatan . Tinta cumi mengandung pigmen hitam atau melanin. Melanin ini mengikat protein melalui asam amino yang mengandung sulfur, misalnya sistein yang bisa mengikat sel darah putih dan berguna untuk mencegah antikanker. Tinta cumi juga mempunyai cakupan yang luas dan mempunyai peranan biologis yaitu untuk menambah daya tahan tubuh yang bisa menghambat sel kanker (Zhong et al., 2009 dalam Agung et al, 2013).

Melanin merupakan tirosinase yang telah diidentifikasi terdapat di dalam tinta cumi-cumi .Kandungan melanin sebesar 15% dari berat total tinta dan protein berkisar 5-8%. Melanin merupakan pigmen alami yang umumnya terdapat pada hampir semua organisme dengan berbagai macam fungsi. Produksi melanin pada kantung tinta memiliki sejumlah bahan kimia penting termasuk tirosi, dopamine, dan enzim seperti tirosinase, peroksidase,

peptidoglikan. Tinta cumi memiliki kemampuan sebagai antimicrobial karena kandungan melaninnya (Derby, 2014).

2.4 Antimikroba

Antimikroba atau *anti-microbial* dapat diartikan sebagai suatu bahan yang dapat menghambat atau mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroba. Istilah lain seperti antibacterial atau antifungal menyatakan penghambatan pertumbuhan dan metabolisme pada kelompok –kelompok mikroorganisme khusus. Antimikroba dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri). Kerja antimikroba dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, jumlah mikroba, Suhu, Spesies mikroba, Adanya senyawa organik, keasaman atau kebasaaan pH (Pelzar dan Chan, 2005).

Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri diantaranya yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat ketuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Dwidjoseputro, 1980). Zat antimikroba adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau metabolisme mikroba. Berdasarkan aktivitasnya, zat antimikroba dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu yang memiliki aktivitas bakteriostatik atau menghambat pertumbuhan bakteri dan yang memiliki aktivitas bakterisidal atau membunuh bakteri.

2.5 Titer Antibodi

Keberhasilan pemberian bubuk tinta cumi - cumi pada pakan ikan dalam pengobatan atau dalam pembentukan antibodi sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti suhu. Pada suhu rendah, induksi pembentukan antibodi membutuhkan waktu lebih lama dan titer antibodi yang dihasilkan lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena suhu dapat menimbulkan imunosupresi pada ikan.

Akibatnya, terjadi hambatan dan penekanan sintesis antibodi untuk melawan antigen yang masuk (Syawal *et al.*, 2016).

Uji titer antibodi dilakukan melalui pengenceran seri serum atau plasma darah pada sumur - sumur mikroplat, kemudian direaksikan dengan antigen dalam jumlah sama banyak. Titer antibodi dinyatakan pada pengenceran tertinggi yang setelah pengenceran itu tidak terjadi aglutinasi. Dengan titer antibodi yang tinggi diharapkan dapat memberikan proteksi yang tinggi pula. Pengukuran titer antibodi bertujuan untuk mengetahui efektivitas bubuk ekstrak tinta cumi - cumi atau respon antibodi terhadap antigen yang dimasukkan dalam tubuh ikan atau mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi - cumi terhadap jumlah antibodi dalam serum benih ikan. Respon antibodi ikan diekspresikan dengan adanya aglutinasi terhadap antigen terlarut (Alifuddin, 2002).

2.6 SR (Survival Rate)

Pengukuran tingkat kelangsungan hidup (SR) dilakukan terhadap ikan yang dihasilkan dari induk yang diberi pengobatan sebelumnya. Ujiantang dilakukan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan uji dengan membandingkan antara jumlah ikan uji pada awal penelitian dan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian (Nisaa *et al.*, 2011).

Kelulushidupan dihitung berdasarkan rumus Effendie (2002) sebagai berikut :

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

Keterangan:

SR = Kelulushidupan (%)

Nt = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (ekor)

No = Jumlah ikan pada awal penelitian (ekor)

2.7 Kualitas Air

Air merupakan sumber daya alam yang sangat penting bagi kelangsungan hidup ikan. Ikan membutuhkan air dengan kondisi yang baik agar dapat hidup sehat dan tumbuh secara optimal sehingga dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikannya. Ikan nila merupakan ikan air tawar yang memiliki nilai toleransi yang besar terhadap lingkungannya sehingga sangat diminati oleh petani ikan di Indonesia. Walaupun demikian, kualitas air kolam dari ikan nila tersebut harus diperhatikan karena berpengaruh untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhannya. Kualitas air diartikan sebagai kesesuaian air untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan yang dilihat antara lain pH dan *dissolved oxygen*/oksigen terlarut (DO). (Achmad, 2004)

2.7.1 Suhu

Kisaran suhu yang baik untuk pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah antara 29-37⁰ C dan faktor yang mempengaruhi suhu dalam perairan diantaranya karena kedalaman perairan, pengaruh cuaca, penetrasi cahaya yang masuk ke dalam perairan serta akibat perbedaan waktu pengukuran (Yuli dan Kusriani, 2005).

2.7.2 DO

Oksigen adalah salah satu unsur kimia yang sangat penting sebagai penunjang utama kehidupan berbagai organisme. Oksigen dimanfaatkan oleh organisme perairan untuk proses respirasi dan menguraikan zat organik menjadi zat anorganik oleh mikroorganisme (Nybakken, 1988).

2.7.3 pH

pH larutan adalah ukuran aktivitas ion hidrogen. Penting untuk diingat bahwa perubahan satu unit pH mewakili sepuluh kali lipat perubahan

konsentrasi ion hidrogen. Misalnya pH 6,0 memiliki sepuluh kali ion hidrogen pH 7,0 dan pH 5,0 memiliki seratus kali ion hidrogen pH 7,0. Karena itu, tidak selyaknya kita menghitung pH berarti kecuali jika kita menentukan konsentrasi hidrogen yang sebenarnya, menghitung rata - rata, dan kemudian menyatakan sebagai pH (Lind, 1934).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini adalah akuarium 30x30x30 cm, aerator set, autoklaf, kulkas, cawan petri, erlenmeyer 500 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 100 ml, bunsen, tabung reaksi, *hot plate*, timbangan digital, timbangan analitik, vortex mixer, mikropipet 10-100 μ l, nampan, spektrofotometer, washing bottle, sprayer, masker, sarung tangan, sentrifuge, LAF (*Laminary Air Flow*), inkubator, sendok bahan, oven, jarum ose, aerator set, seser, spuit 1 ml, mikroplate, yellowtip. Alat penelitian dapat dilihat di Lampiran 1.

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bubuk tinta cumi, ikan nila (*Oreochromis niloticus*), bakteri *Aeromonas hydrophila*, kertas label, larutan *turk*, alcohol 70 %, kapas, ethanol 70%, kertas saring, aquades, larutan hayem, anti koagulas(Na-sitrat 3,8 %), sampel darah ikan nila, aluminium foil, media *Trypic Soy Broth* (TSB), pakan komersil, klorin 30 ppm, Na-Thiosulfat 15 ppm, tali kasur, NaCl, spirtus, plastik warp, PBS (*Phosphat Buffer Saline*). Bahan penelitaian dapat dilihat di Lampiran 2.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu metode yang memungkinkan untuk memanipulasi variabel dengan menghubungkan sebab dan akibat dari obyek yang diteliti. Menurut Nursalam (2008), penelitian eksperimen adalah suatu rancangan penelitian yang digunakan untuk mencari hubungan sebabakibat dengan adanya keterlibatan penelitian dalam melakukan manipulasi terhadap variabel bebas. Tujuan penelitian eksperimen menurut

Hermawan (2005), adalah mengukur pengaruh dari variabel-variabel “*Explanatory*” atau variabel independen terhadap variabel dependen, dengan cara mengontrol variabel - variabel lain, untuk melakukan inferensi kausal secara lebih jelas dan agar dapat dipahami.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogeny, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium. Karena media homogen maka media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang diamati.

Model Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Sastrosupadi (2000) adalah sebagai berikut: $Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$

Keterangan:

Y_i = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

μ = Nilai tengah umum

T_i = Pengaruh perlakuan ke- i

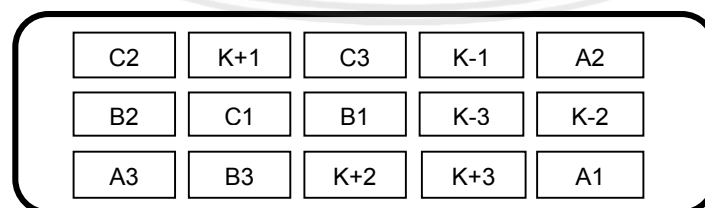
ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

Penelitian ini dilakukan menggunakan variable bebas berupa perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi dengan penggunaan dosis 52,5 ppm, 62,5 ppm dan 72,5 ppm, perhitungan dosis pada Lampiran 6. Pada penelitian ini juga menggunakan dua control yaitu control positif dan control negative. Kontrol negative merupakan perlakuan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi, untuk control positif yaitu penginfeksi bakteri tanpa pemberian bubuk tinta cumi dan pemberian antibiotik pada pakan. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Dari perlakuan tersebut

didapat 15 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 52,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- B : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 62,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- C : Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 72,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- K+ : Perlakuan ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dan hanya diberikan antibiotik *oxytetracycline* yang dicampur pada pakan.
- K- : Perlakuan ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan.

Denah Penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Denah Penelitian.

Keterangan Perlakuan :

- A , B, C = Perlakuan
 K+ = Kontrol Positif
 K- = Tanpa Perlakuan
 1, 2, 3 = Ulangan

3.4 Prosedur penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

1) Sterilisasi

Sterilisasi merupakan adalah pemusnahan semua jenis mikroorganisme, termasuk spora dan bakteri. Hal pertama yang dilakukan dalam sebuah penelitian adalah sterilisasi, tahapan dalam proses sterilisasi adalah :

- 1) Alat - alat yang akan digunakan dalam penelitian terlebih dahulu dibungkus menggunakan kertas koran lalu diikat menggunakan benang (khusus untuk tabung reaksi dan Erlenmeyer)
- 2) Setelah dibungkus dengan kertas Koran lalu alat tersebut dimasukkan kedalam keranjang autoklaf, pada autoklaf ditambahkan aquades secukupnya.
- 3) Autoklaf ditutup rapat secara diagonal
- 4) Saklar di sambungkan ke stop kontak lalu dinyalakan dengan menekan tombol power "on", tombol pada suhu diputar hingga pada suhu maksimal sampai lampu *heating* berwarna hijau.
- 5) Ditunggu hingga uap air keluar dari klep, lalu klep tersebut ditutup.
- 6) Ditunggu hingga suhu pada keadaan 121°C, kemudian suhu diturunkan hingga lampu *sterilizing* menyala kuning. Putar pengaturan hingga 15 menit
- 7) Ketika alarm berbunyi tombol power di "off" kan.
- 8) Klep dibuka secara perlahan-lahan hingga jarum menunjukkan angka 0.
- 9) Dibuka autoklaf secara diagonal, lalu diambil alat yang sudah steril.

Sterilisasi adalah pembebasan suatu material bahan ataupun alat dari berbagai mikroorganisme hidup atau stadium istirahatnya. Sel –sel vegetatif bakteri dan fungi dapat dimatikan pada suhu 60 °C dan dalam waktu 5 – 10

menit. Namun spora fungi dapat mati pada suhu di atas 80 °C dan spora bakteri baru mati di atas suhu 120 °C selama 15 menit. Sterilisasi dan pasteurisasi dapat di capai dengan cara pemanasan lembab, pemanasan kering, filtrasi, penyinaran, atau bahan kimia. Semakin tinggi tingkat kontaminasi mikroorganisme pada suatu alat ataupun bahan maka jumlah spora semakin banyak yang termos resisten sehingga di perlukan waktu pemanasan yang lebih lama.

2) Persiapan Alat dan Media

Hal pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan akuarium yang berukuran 30x30x30 cm³ sebanyak 15 buah, akuarium tersebut dibersihkan dengan menggunakan klorin 10% lalu dibilas dengan air tawar, setelah dibilas lalu dikeringkan dengan menggunakan serbet, lalu di set peralatan pendukung akuarium seperti aerator set , heater dan thermometer Hg dan sebagainya.

Setelah dibersihkan dan di akuarium sudah di *setting*, kemudian tahap selanjutnya adalah penambahan air pada akuarium, air didapat dari laboratorium nutrisi ikan. Akuarium yang berisi air tersebut dipasang aerator yang berguna untuk mensuplai oksigen pada ikan dan heater yang berguna untuk menyesuaikan suhu yang optimal bagi ikan nila.

3) Persiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan untuk uji ini adalah ikan nila yang didapat dari UPBAT Punten, Batu. Ukuran ikan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 7-13 cm, sesuai dengan Hartami *et al.*, 2015 berupa benih ikan nila yang berukuran 7 – 8 cm dapat digunakan untuk uji penelitian dan dengan berat rata-rata individu sebesar 13,22 g dengan akuarium berisi 10-15 ekor.

4) Penyediaan Bakteri

a. *Tryptic Soy Broth* (TSB)

Media TSB merupakan media cair yang digunakan untuk melakukan peremajaan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Rahmaningsih (2012), media TSB mampu menyediakan materi nutrisi yang dibutuhkan bakteri aerobik dan bakteri anaerobik fakultatif. Proses pembuatan media TSB adalah sebagai berikut:

- Media TSB ditimbang sebanyak 4,5 gram.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmayer 500 ml.
- Media dilarutkan dengan menggunakan akuades sebanyak 150 ml, kemudian dihomogenkan.
- Setelah homogen, media dipindahkan ke dalam tabung reaksi 10 ml menggunakan pipet volume sebanyak 9 ml pada masing-masing tabung
- Bagian mulut tabung reaksi ditutup dengan menggunakan kapas.
- Tabung reaksi diletakkan pada *beaker glass* sebagai tempat saat sterilisasi, kemudian ditutup bagian mulut *beaker glass* menggunakan aluminium foil.
- Media kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media siap untuk digunakan.

5) Kultur Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila* didapatkan dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara yang terdapat di media agar miring. Kultur bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Pengambilan biakan pada media agar miring menggunakan jarum ose sebanyak 1 gores.

- Jarum ose yang sudah terdapat bakteri dicelupkan pada media TSB yang sudah disiapkan.
- Media disimpan pada *incubator shaker* dengan suhu 33°C selama 2x24 jam.
- Semua kegiatan pengkulturan dilakukan secara steril.
- Kepadatan bakteri hasil kultur dicocokkan menggunakan metode standar *McFarland*.

6) Pengenceran Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Tahapan awal pada proses pengenceran bakteri *Aeromonas hydrophila* diawali dengan mempersiapkan larutan TSB steril pada tabung reaksi sebanyak 9 mL bakteri murni yang berasal dari BBPBAP Jepara mempunyai kepadatan 10^9 cfu/mL. Kepadatan yang diinginkan untuk bakteri *Aeromonas hydrophila* dalam proses penginfeksi yaitu 10^6 CFU/mL. Pengenceran dilakukan dengan mengambil bakteri sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet pada kepadatan 10^9 CFU/mL dan dipindahkan ke TSB steril 10^7 CFU/mL serta dihomogenkan dengan *vortex mixer*. Kegiatan pengenceran dilakukan sebanyak 3 kali sampai mendapatkan kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* 10^6 CFU/mL pada tabung reaksi yang terdapat media TSB (Lampiran 5).

3.4.2 Pelaksanaan penelitian

1) Penginfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Sebelum penginfeksi, akuarium berukuran 30 cm x 30 cm x 30 cm diisi dengan air tawar sebanyak 18 liter yang dilengkapi dengan aerasi dan *heater*. Kemudian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dimasukkan kedalam akuarium dengan kepadatan 15 ekor/akuarium dan dilakukan adaptasi selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan perhitungan jumlah kepadatan bakteri dalam darah ikan nila sebelum proses penginfeksi. Hal ini bertujuan untuk

mengetahui bahwa ikan nila sedang tidak terinfeksi oleh bakteri lain. Selanjutnya dilakukan penginfeksian menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan metode perendaman berdasarkan pada penelitian Kamiso *et al.* (1994) selama 60 menit yang berdasar dari penelitian Wahjuningrum *et al.* (2013), pada akuarium yang telah berisi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^6 cfu/ml (Olga, 2012). Setelah penginfeksian bakteri *Aeromonas hydrophila* selama 60 menit dilakukan perhitungan jumlah kepadatan bakteri dalam darah ikan nila sebelum diberi perlakuan dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* sebelum dan sesudah perendaman dengan ekstrak bubuk tinta cumi-cumi. Perhitungan jumlah kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan dengan penanaman pada media PCA dan dihitung jumlah koloni.

2) Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta cumi pada pakan

Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi yaitu dengan cara menimbang terlebih dahulu bubuknya sesuai dengan perlakuan yang diamati, perlakuan nya yaitu 52,5 ppm, 62,5 ppm dan 72,5 ppm perhitungan dosis dapat dilihat di Lampiran 6. Adapun tahapan pembuatan bubuk tinta cumi ini adalah sebagai berikut :

- Bubuk ekstrak tinta cumi sesuai dosis terlebih dahulu dicampur dengan perekat berupa progol (2-3 gr/ kg pakan) dalam satu wadah dan diaduk sampai merata.
- Kemudian, bubuk ekstrak tinta cumi yang telah diaduk merata dengan *progol* diberi air dengan dosis 150 ml/kg pakan.
- Selanjutnya, pakan (pelet) dituang ke dalam wadah bubuk ekstrak tinta cumi bersama *progol* yang telah dilarutkan dalam air.

- Lalu diaduk campuran tersebut, sampai seluruh bubuk ekstrak tinta cumi lengket merata pada pakan.
- Jika seluruh bubuk tinta cumi sudah lengket kemudian dikering anginkan campuran tersebut sampai kering selama 30 – 60 menit.
- Jika selama pengeringan terjadi perubahan warna dan bau maka pakan tersebut dibuang dan harus dibuat kembali.

3) Pengambilan Sampel Darah

Untuk mendapatkan perbandingan yang nyata maka diambil sampel darah ikan nila sebelum pemberian bakteri, setelah pemberian bakteri, setelah pemberian ekstrak tinta cumi-cumi yaitu 1 minggu setelah pemberian bakteri dan setelah diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila*. Untuk ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* sebagai kontrol positif, dan yang tidak diinfeksi sebagai kontrol negatif dihitung eritrosit, leukosit dan diferensial leukosit 18 jam, 36 jam dan 54 jam setelah pemeliharaan. Pengambilan darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dilakukan dengan menyuntik ikan menggunakan jarum suntik yang telah berisi Na-sitrat 3,8% di dalamnya pada daerah *caudalpeduncle*. Disuntik dengan posisi jarum 45⁰ dan ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit kemudian darah dipindahkan di dalam *ependorf* (Bijanti, 2005). Penggunaan spuit plastic sangat disarankan karena spuit kaca dapat mempercepat waktu koagulasi (Kori-Siakpere *et al*, 2009). Anti koagulan yang digunakan pada penelitian ini adalah Na sitrat 3,8%.

- Spuit ditancapkan hingga terasa menyentuh *vertebrae* dan perlahan ditarik sedikit ke arah luar.
- Alat penghisap spuit ditarik mengikuti irama pernafasan ikan hingga diperoleh darah sesuai dengan volume yang diinginkan.

- S spuit ditarik keluar dan digerak-gerakkan. Hal ini bertujuan untuk menghomogenkan darah dengan larutan anti-koagulan.
- Kemudian darah dipindahkan ke *ependorf*.

4) Pengukuran Titer Antibodi

Pengambilan sampel darah untuk uji titer antibodi dilakukan satu hari setelah pemberian bakteri *Aeromonas hydrophila*, empat dan tujuh hari setelah pemberian ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo Sp.*). Langkah-langkah pengukuran titer antibodi adalah sebagai berikut :

- Darah ikan diambil dengan spuit 1 ml dan dimasukkan ke *ependorf*.
- Darah disentrifugasi dengan kecepatan 5.000 rpm untuk memisahkan antara serum dan sel darah merah, kemudian disimpan dalam refrigerator pada suhu 40⁰C selama 18-24 jam.
- Serum darah yang terbentuk pada lapisan atas diambil sebanyak 25 µl dan dimasukkan pada sumur ke 1 dan ke 2.
- PBS sebanyak 25 µl dimasukkan ke sumuran ke-2 sampai dengan sumur ke-12.
- Serial pengenceran dilakukan dengan cara mengambil 25 µl larutan dengan menggunakan mikropipet dari sumur ke-2 sampai ke-11.
- Sumur ke-1 sampai ke-12 ditambahkan 25 µl antigen *Aeromonas hydrophila*.
- Lempeng mikroplate ditutup kemudian digoyang-goyangkan secara perlahan selama 3 menit dengan gerakan memutar. Kemudian didiamkan pada suhu kamar selama 18-24 jam.
- Cara menghitung titer antibodi : 12 sumur pada mikrotiter plate diamati. Sumur paling kiri adalah kontrol positif, sedangkan sumur yang paling kanan adalah kontrol negatif. Terbentuknya titer antibodi ditandai dengan terjadinya aglutinasi antara antigen dengan antibodi yang tampak dari munculnya

lapisan keruh seperti awan dalam sumur mikroplate, sedangkan pada sumur yang tidak terbentuk antibodi ditandai dengan dot pada dasar sumur yang menunjukkan adanya antigen yang mengendap (tidak terjadi aglutinasi).

- Perhitungan titer antibodi dimulai dari pengenceran pertama (1) sampai 10 (dari sumur ke-2 sampai 11). Nilai titer antibodi merupakan kebalikan dari seri pengenceran. Sebagai contoh apabila terjadi aglutinasi sampai sumur ke-6 (pengenceran 32), maka titer antibodi yang terbentuk adalah 32. Tujuan dilakukan pengenceran yaitu untuk mengetahui kemampuan antibodi spesifik mengikat antigen yang terlarut, sehingga diketahui kemampuan tersebut merupakan nilai titer antibodi.

5) Perhitungan SR (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan digunakan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan uji dengan membandingkan antara jumlah ikan uji pada awal penelitian dan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian oksigen terlarut dan pH. Menurut Maftuch *et al.*, (2014), nilai tingkat kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

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

Keterangan :

SR = Kelulushidupan (%)

N_t = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (akhir)

N₀ = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah Pengukuran Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*).

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang adalah kualitas air dan gejala klinis. Parameter kualitas air yang diukur yaitu suhu, pH dan DO yang diukur 2 kali sehari selama penelitian berlangsung yaitu pagi pukul 08.00 WIB dan sore pukul 16.00 WIB. Suhu diukur dengan menggunakan thermometer Hg, pH menggunakan pH meter dan DO menggunakan DO meter. Dalam budidaya ikan, kondisi kualitas air harus diperhatikan dan disesuaikan dengan kebutuhan optimal bagi pertumbuhan ikan yang dipelihara. Parameter kualitas air maupun parameter fisika, kimia, dan biologi. Ketiga sifat yaitu sifat fisik, kimia, dan biologi saling mempengaruhi dan bahkan saling berinteraksi (Handajani, 2010).

3.5.3 Analisis Data

Data yang diperoleh pada saat penelitian dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa sesuai dengan rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Selanjutnya dianalisis secara statistic dengan menggunakan analisi keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (signifikan) atau dengan hasil berbeda sangat nyata (*highly significant*) ($F_{hitung} > F_{table}$) maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) setelah penginfeksi

Tinta cumi-cumi maupun tinta sotong mengandung melanin, protein, lemak dan glikosaminoglikan. Tinta cumi-cumi dapat berperan sebagai obat pelindung sel pada pengobatan kanker dengan cara kemoterapi, melalui peningkatan jumlah sel leukosit dan sel nucleat sumsum tulang, yang jumlahnya menurun akibat penggunaan obat pembunuh sel tumor tersebut. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dengan menghambat aktivitas plasmin untuk meningkatkan thromboxan dan meningkatkan sistem imun untuk membunuh sel kanker (Zhong *et al.*, 2009). Tinta sotong atau cumi-cumi memiliki aktivitas antibakteri dan tinta cumi-cumi mengandung melanin yang berperan sebagai antioksidan, anti-radiasi, dan anti-rotavirus (Fitrial dan Khotimah, 2017). Aktivitas melanin penting dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang potensi melanin jika akan dikembangkan sebagai pengawet alami untuk produk perikanan sebagai antibakteri belum banyak diungkap. Pengujian aktivitas antibakteri hanya terhadap ekstrak dari tinta sotong dan atau cumi-cumi.

Nithya *et al.*, (2011) bahwa aktivitas antibakteri ekstrak heksan tinta sotong (*Sepia pharaonis*) yang dipurifikasi dengan dietileter. Hasil ekstrak tersebut memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* dan *E.coli*.

4.2 Titer Antibodi

Interaksi antara antigen dan antibodi dapat menimbulkan berbagai akibat. Salah satunya yaitu aglutinasi. Hasil uji aglutinasi digunakan untuk mengetahui kemampuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan dalam meningkatkan titer antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Aglutinasi terjadi

ditandai dengan terbentuknya gumpalan berbentuk awan pada mikroplate. Gumpalan terbentuk karena adanya ikatan antara antigen dan antibodi spesifik pada serum darah. Antigen dan antibodi dapat berikatan karena pada antibodi terdapat reseptor, sedangkan pada antigen terdapat epitop. Keduanya dapat berikatan karena dipengaruhi oleh gaya hidrofobik, ionik dan hydrogen (Sadikin, 2002). Skema kerja Uji aglutinasi dapat dilihat pada Lampiran 7.

Uji aglutinasi yang dilakukan terhadap antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) menjelaskan terjadi peningkatan titer antibodi setelah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dan mengalami penurunan nilai titer antibodi setelah ujiantang. Titer antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum dilakukan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan tidak dapat dihitung karena tidak terjadi aglutinasi pada sampel serum darah ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Aglutinasi tidak terbentuk pada semua perlakuan sehingga nilai titer antibodi 0. Hal ini karena tidak terbentuknya antibodi spesifik pada sampel darah yang diambil. Titer antibodi mencerminkan kemampuan pertahanan tubuh ikan terhadap infeksi bakteri melalui respon imun spesifik. Semakin tinggi nilai titer, maka diharapkan kemampuan perlindungan terhadap infeksi juga semakin tinggi. Antibodi yang beredar dalam darah akan menetralkan molekul toksik yang diproduksi oleh bakteri (Purwaningsih, 2013). Hasil uji aglutinasi titer antibodi yang terjadi pada sampel setelah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi sampai ke uji hari ke-7 dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2 data nilai titer per perlakuan disajikan pada Lampiran 7.

Tabel 1. Nilai Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Pemberian Serbuk Tinta Cumi hari ke-4

Perlakuan	Ulangan	Uji Aglutinasi (hari ke-4)
A	I	8
	II	8
	III	4
B	I	32
	II	32
	III	16
C	I	16
	II	16
	III	16
K+	I	64
	II	32
	III	32
K-	I	4
	II	8
	III	4
Total		292

Tabel 2. Nilai Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi hari ke-7).

Perlakuan	Ulangan	Uji Aglutinasi ke-7
A	I	8
	II	8
	III	2
B	I	16
	II	16
	III	8
C	I	8
	II	8
	III	8
K+	I	32
	II	16
	III	32
K-	I	2
	II	4
	III	2
Total		170

Titer antibodi pada ikan yang tidak diberi perlakuan serbuk tinta cumi tidak terjadi peningkatan dikarenakan antigen tidak dapat berikatan dengan serum ikan kontrol. Serum ikan diduga tidak terdapat antibodi spesifik karena belum ada rangsangan oleh antigen sejenis, sehingga antigen yang ditetaskan ke dalam serum tidak mampu mengikat molekul yang terdapat pada serum tersebut. Berdasarkan pengamatan terhadap sumuran aglutinasi, tidak terjadi penggumpalan pada perlakuan, namun antigen mengendap di dasar sumur mikroplate dan membentuk titik (Tabel 3).

Tabel 3. Nilai Titer Antibodi Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebelum Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi hari ke-1

perlakuan	Pengenceran ke-1									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan - = tidak terjadi reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi spesifik.

Peningkatan titer antibodi ikan nila terjadi secara signifikan melalui metode injeksi pada intramuskular (Mulia *et al.* 2013). Antibodi spesifik dapat terbentuk setelah pemberian bubuk tinta cumi-cumi dapat dilihat dengan terjadi aglutinasi antara antibodi spesifik dan antigennya melalui uji aglutinasi seperti yang dapat dilihat pada Tabel 4 berikut:

Tabel 4. Nilai Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi hari ke-4.

perlakuan	Pengenceran ke-									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
A1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
B1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
C1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
C2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
C3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
K+1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
K+2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
K+3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
K-1	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
K-2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
K-3	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan - = tidak terjadi reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi spesifik, + = terjadi aglutinasi antara antigen dan antibodi.

Berdasarkan Tabel 4, nilai titer antibodi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah pemberian serbuk tinta cumimengalami peningkatan dari sebelum dilakukan perlakuan pemberian serbuk tinta cumi. Titer antibodi merupakan kebalikan dari nilai pengenceran pada sumuran terakhir terjadinya aglutinasi. Adapun hasil perhitungan rerata titer antibodi yang dihasilkan setelah pemberian serbuk tinta cumi tersaji dalam Tabel 5 berikut:

Tabel 5. Rerata Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi hari ke-4.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm Stdv
	1	2	3		
A (52,5 ppm)	8	8	4	20	6,67 \pm 2,31
B (62,5ppm)	32	32	16	80	26,67 \pm 9,24
C (72,5 ppm)	16	16	16	48	16,00 \pm 0,00
K+	64	32	32	128	42,67 \pm 18,48
K-	4	8	4	16	5,33 \pm 2,31
Total				292	

Nilai rerata produksi titer antibodi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah pemberian serbuk tinta cumi terendah terdapat pada perlakuan K- yaitu sebesar 5,33, kemudian diikuti dengan perlakuan A sebesar 6,67, perlakuan C sebesar 16,00, perlakuan B sebesar 26,67 dan perlakuan K+ sebesar 42,67. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi, maka dilakukan uji sidik ragam pada Tabel 6 berikut:

Tabel 6. Sidik Ragam Produksi Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi hari ke-4.

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
perlakuan	4	2745,33	686,33	6,17**	3,48	5,99
acak	10	1112,67	111,27			
Total	14	3858,0				

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

Tabel 6 sidik ragam menunjukkan bahwa nilai $F_{5\%} < F_{hitung} > F_{1\%}$, yaitu sebesar 6,17 sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap produksi titer antibodi ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti pada Tabel 7 berikut:

Tabel 7. Uji BNT Produksi Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi hari ke-4.

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	B	K+	Notasi
		5,33	6,67	16,00	26,33	42,67	
K-	5,33	0,00					a
A	6,67	1,34 ^{ns}					a
C	16,00	10,67 ^{ns}	9,33 ^{ns}				a
B	26,33	21,00*	19,66*	10,33 ^{ns}			ab
K+	42,67	37,34**	36,00**	26,67*	16,34 ^{ns}		bc

Berdasarkan Tabel 7 dapat terlihat perbedaan rerata produksi titer antibodi dengan notasi A, B, dan C. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan K- sedangkan berbeda nyata pada perlakuan B dan K+.

Tabel 8. Nilai Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Hari ke-7

perlakuan	Pengenceran ke-									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
A1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
A3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
B1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
B2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
B3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C2	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
C3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
K+1	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
K+2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
K+3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
K-1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
K-2	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
K-3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan - = tidak terjadi reaksi aglutinasi antara antigen dan antibodi spesifik,
+ = terjadi aglutinasi antara antigen dan antibodi.

Tabel 9. Rerata Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Hari ke-7

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata \pm Stdv
	1	2	3		
A (52,5 ppm)	8	8	2	18	6,00 \pm 3,46
B (62,5ppm)	16	16	8	40	13,00 \pm 4,62
C (72,5 ppm)	8	8	8	24	8,00 \pm 0,00
K+	32	16	32	80	26,67 \pm 9,24
K-	2	4	2	8	2,67 \pm 1,15
Total				170	

Nilai rerata produksi titer antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) setelah hari ke-7 jam ke-18 terendah terdapat pada perlakuan K- yaitu sebesar 2,67, perlakuan A sebesar 6,00, perlakuan C 8,00, perlakuan B sebesar 13,00

dan K+ 26,67. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi, maka dilakukan uji sidik ragam pada Tabel 10 berikut:

Tabel 10. Sidik Ragam Produksi Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Hari ke-7

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
perlakuan	4	1032,00	258,00	9,56**	3,48	5,99
acak	10	270,00	27,00			
Total	14	1302,0				

Keterangan : * = Berbeda Sangat Nyata

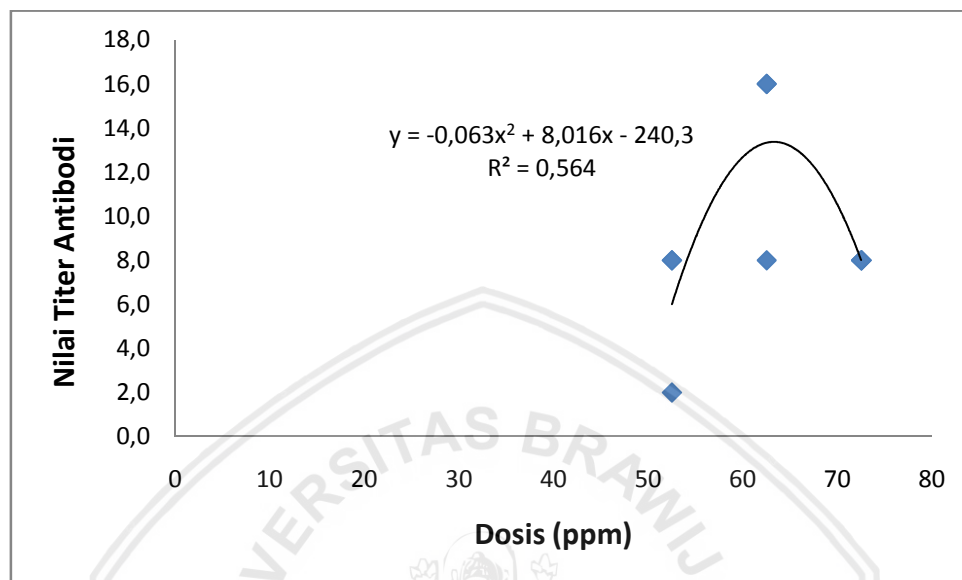
Tabel 10 menunjukkan bahwa nilai $F 5\% < F \text{ hitung} > F 1\%$, yaitu sebesar 9,56 sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap produksi titer antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 8. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti pada Tabel 11 berikut:

Tabel 11. Uji BNT Produksi Titer Antibodi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Setelah Hari ke-7

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	B	K+	Notasi
		2,67	6,00	8,00	13,00	26,67	
K-	2,67	0,00					a
A	6,00	3,33 ^{ns}					a
C	8,00	5,33 ^{ns}	2,00 ^{ns}				ab
B	13,00	10,33*	7,00 ^{ns}	5,00 ^{ns}			b
K+	26,67	24,00**	20,67**	18,67**	13,67**		bc

Berdasarkan Tabel 11 dapat terlihat perbedaan rerata produksi titer antibodi dengan notasi A, B dan C. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan K- sedangkan perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan K+. Selanjutnya untuk

mengetahui regresi pemberian bubuk ekstrak tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi dilakukan uji polynomial orthogonal (Gambar 5).



Gambar 4. Grafik Hubungan Pengaruh Setelah Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi dengan Dosis yang Berbeda pada Hari ke-7.

Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap titer antibodi ikan nila menghasilkan grafik kuadrat yang menunjukkan bahwa pada dosis tertentu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat bekerja sebagai antibakteri yang ditunjukkan dengan kenaikan pada nilai titer antibodi ikan nila pada perlakuan B (62,5 ppm), namun apabila dosis dinaikkan nilai titer antibodi ikan nila akan kembali menurun yang disebabkan oleh dimanfaatkannya alkaloid untuk proses pertumbuhan bakteri. Hubungan atau grafik yang dihasilkan adalah kuadrat yang dibuktikan dengan persamaan $y = -0,063x^2 + 8,016x - 240,3$ dengan koefisien determinasi R^2 sebesar 0,56. Perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan hasil terbaik terdapat pada perlakuan B dengan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi 62,5 ppm (Perhitungan pada Lampiran 8).

Menurut Fitrial dan Khotimah, (2017), Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dengan menghambat aktivitas plasmin untuk meningkatkan thromboxan dan meningkatkan sistem imun untuk membunuh sel kanker (Zhong *et al.* 2009). Melanin juga berperan sebagai antioksidan, anti-radiasi, dan anti-rotavirus. Tinta sotong dan atau cumi-cumi memiliki aktivitas antibakteri.

4.3 SR (Survival Rate)

Pengamatan terhadap kelangsungan hidup ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dilakukan pada saat penebaran pertama setelah diinfeksi hingga akhir penelitian hari ke-7. Selama penginfeksian, tidak terjadi kematian pada ikan sehingga nilai kelangsungan hidupnya 100% pada semua perlakuan. Tabel 19 menunjukkan bahwa nilai kelangsungan hidup relatif yang bervariasi pada setiap perlakuan (data selengkapnya pada Lampiran 9).

Tabel 12. Rerata Kelulushidupan (SR) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (%).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
K+	100,0	95,6	84,7	280,2	93,40	7,90
K-	28,6	50,0	42,86	121,43	40,48	10,91
A	50	70,0	65,0	185	61,67	10,41
B	100,0	92,9	90,0	282,85	94,28	5,15
C	80,0	75,0	65,0	220	73,33	7,64
Total				1089,48		

Berdasarkan Tabel 12, perlakuan dengan pemberian serbuk tinta cumi-cumi yang memiliki nilai kelulushidupan tertinggi yaitu pada perlakuan B (62,5 ppm) dengan rerata kelulushidupan sebesar 94,28% dan perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi cumi yang memiliki nilai kelulushidupan yang rendah ada pada perlakuan A (52,5 ppm) dengan rerata kelulushidupan sebesar 61,67%. Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui pengaruh bubuk ekstrak cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap

parameter pendukung yaitu kelulushidupan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Hasil perhitungan sidik ragam kelulushidupan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Sidik Ragam Kelulushidupan (SR) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (%).

Sidik ragam	Db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
perlakuan	4	6164,36	1541,09	20,57**	3,48	5,99
acak	10	749,30	74,93			
Total	14	6913,7				

ket : * = berbeda sangat nyata

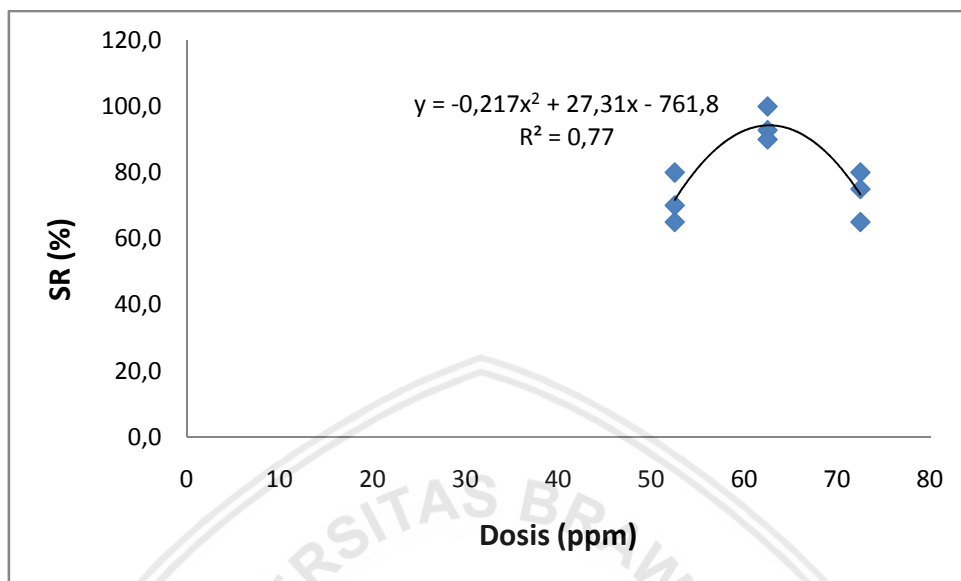
Berdasarkan Tabel 13, pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan berpengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan nila. Hal ini ditunjukkan oleh hasil F hitung yang lebih besar daripada F 5% dan F 1%. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil. Tujuan dari Uji BNT ini yaitu untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil uji BNT berdasarkan perhitungan yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Uji BNT Kelulushidupan (SR) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (%).

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	K+	B	Notasi
		40,48	71,67	73,33	93,40	94,28	
K-	40,48	0,00					a
A	71,67	31,19**					b
C	73,33	32,85**	1,66 ^{ns}				b
K+	93,40	52,92**	21,73*	20,07*			c
B	94,28	53,80**	22,61**	20,95*	0,88 ^{ns}		c

Berdasarkan Tabel 14 dapat dijelaskan pada perlakuan A (52,5 ppm) tidak berbeda nyata dengan B dan C. Perlakuan A tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, Sedangkan perlakuan C tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A dan berbeda nyata pada perlakuan B dan K+. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap kelulushidupan ikan nila yang diinfeksi

bakteri *Aeromonas Hydrophila* dilakukan perhitungan polynomial orthogonal. Hasil dari perhitungan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 5. Grafik hubungan SR dengan pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap nilai titer antibodi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*).

Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap *Survival Rate* (SR) menunjukkan bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan memberikan pengaruh sebesar 77% terhadap kelulushidupan ikan nila. Berdasarkan hasil yang diperoleh nilai kelulushidupan ikan nila yaitu pada perlakuan B (62,5ppm). Pelezar dan Chan (1986) berpendapat bahwa semakin tinggi konsentrasi antimikroba yang digunakan maka semakin cepat dalam membunuh bakteri, akan tetapi penggunaan konsentrasi yang terlalu tinggi kurang efektif dalam pengobatan karena dapat membunuh ikan dan juga kurang ekonomis dalam pemanfaatannya.

Tinta cumi bersifat alkaloid, alkaloid merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang beratom nitrogen dan bersifat basa, beberapa alkaloid memiliki manfaat dalam proses pengobatan. Tinta cumi mengandung butir-butir melanin atau pigmen hitam yang secara alami terdapat dalam bentuk

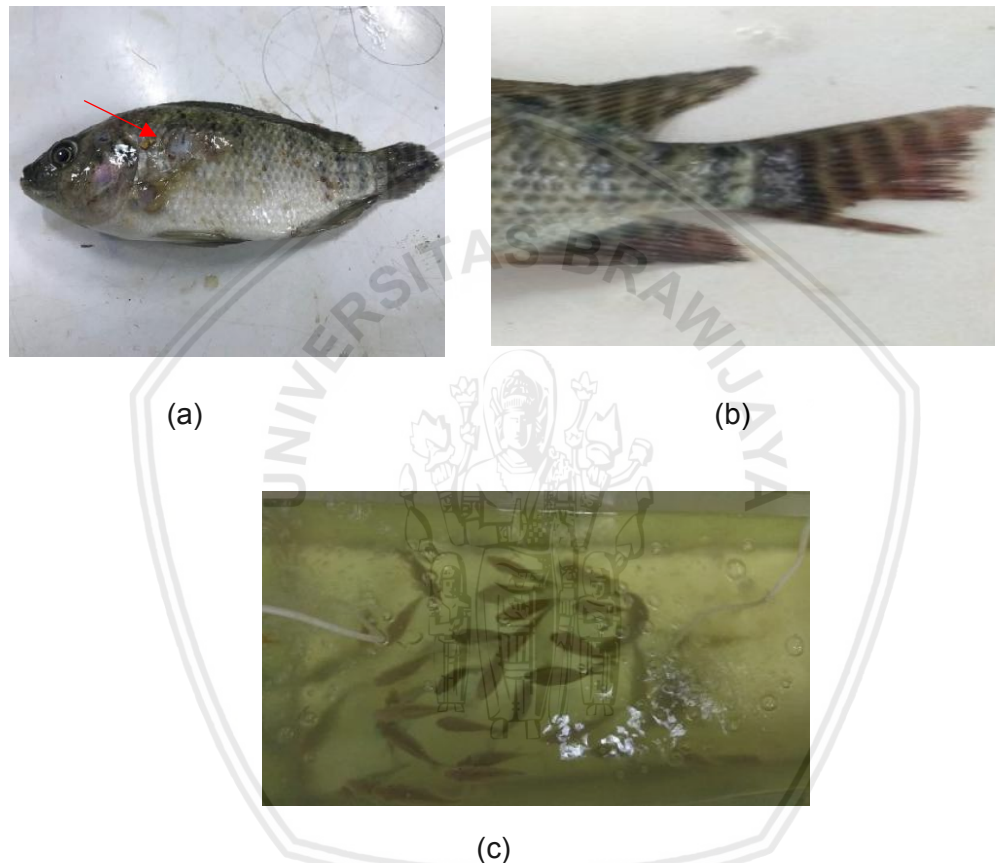
melanoprotein dengan kandungan melanin 90%, protein 5,8% dan karbohidrat 0,8% (Agusandi *et al.* 2013). Selain itu tinta cumi mengandung pula lemak dan glikosaminoglikan. Melanin dari tinta cumi-cumi mempunyai aktivitas anti-tumor dan aktivitas antibakteri (Fitrial dan Khotimah, 2017). Fadjar *et al.* (2016) juga menambahkan bahwa dari hasil uji GC-MS diketahui bahwa ekstrak tinta cumi cumi mengandung senyawa asam oleat. Kandungan asam oleat dalam ekstrak tinta cumi-cumi dapat membunuh bakteri secara langsung. Asam oleat dalam tinta cumi dapat menempel pada membran bakteri (misalnya, ceragenin dan lipopeptida), yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri. Penghambatan dapat terjadi setelah 24 jam inkubasi. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa tinta yang ada pada cumi-cumi (*Loligo sp.*) dapat berperan sebagai antibakteri jika konsentrasi yang diberikan tinggi.

4.4 Parameter Penunjang

4.4.1 Gejala Klinis

Pengamatan dilakukan secara visual untuk mengetahui perbedaan tingkah laku dan perubahan morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) selama penelitian. Berdasarkan hasil yang didapatkan ikan nila terlihat berenang tidak normal yang ditandai dengan berenang berkerumun dan berenang mendekati titikaerasi. Pada saat dilakukan pengecekan morfologi sirip ekor terlihat gripis dan terdapat bercak kemerahan dibagian bawah sirip pectoral dibeberapa ikan. Selanjutnya dari pengamatan yang dilakukan saat penelitian, nafsu makan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* menurun dan mengalami kematian. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahmaningsih (2012) yang menyatakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* mengalami pergerakan yang tidak normal yang ditandai dengan pergerakan renang yang lamban, cenderung diam didasar akuarium atau mengambil oksigen dipermukaan air dan tidak mau

makan. Selain itu, dilihat dari morfologinya, sirip ekor dan punggung ikan uji terlihat geripis. Pada hari ke-7 pengamatan tingkah laku ikan nila pada perlakuan B (62,5 ppm) mulai membaik, sudah dapat berenang dengan normal dan tidak berkumpul pada titik aerasi. Gejala klinis pada ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* sampai tingkah laku hari ke-7 dan dilihat pada Gambar 8



Gambar 6. Gejala klinis selama diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi berupa (a) kulit yang melupas pada tubuh ikan nila dan (b) sirip ekor geripis. (c) Ikan nila setelah hari ke-7

4.4.2 Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diamati yakni suhu, pH dan DO (*Dissolved Oxygen*). Pengukuran kualitas air harian dilakukan 2 kali sehari pada pukul 08.00 WIB dan pukul 16.00 WIB. Hasil kualitas air selama penelitian dengan pemeliharaan 7 hari dapat dilihat pada Lampiran 10.

a. Suhu

Hasil kualitas air yang diperoleh selama penelitian pada parameter suhu didapatkan hasil suhu berkisar 26-28,3°C. Hasil kualitas air yang diperoleh pada parameter suhu masih berada dalam kondisi optimal. Menurut Khairuman dan Amri (2011), yang menyatakan suhu optimal untuk ikan nila yaitu berkisar 24–32°C. pertumbuhan ikan nila biasanya akan terganggu apabila suhu habitatnya lebih rendah dari 14°C atau pada suhu tinggi 38°C. ikan nila akan mengalami kematian pada suhu 6°C atau 42°C.

b. pH

Hasil kualitas air yang diperoleh selama penelitian pada parameter pH didapatkan hasil pH berkisar 6,36-7,31. Hasil kualitas air yang diperoleh pada parameter pH masih berada dalam kondisi optimal. Menurut Arie (1998), yang menyatakan bahwa derajat keasaman yang baik untuk pertumbuhan ikan nila ada pada kisaran 6,5-9. Jika derajat keasaman yang tidak optimal dapat menyebabkan ikan stres, mudah terserang penyakit, produktifitas dan pertumbuhan akan rendah. Oleh karena itu berdasarkan nilai kisaran derajat keasaman selama penelitian dapat dikatakan optimum untuk pemeliharaan ikan nila.

c. DO (*Dissolved Oxygen*)

Hasil kualitas air yang diperoleh selama penelitian pada parameter DO (*Dissolved Oxygen*) didapatkan hasil DO (*Dissolved Oxygen*) berkisar 4,52-6,1 ppm. Hasil kualitas air yang diperoleh pada parameter DO (*Dissolved Oxygen*) masih berada dalam kondisi optimal. Menurut Sucipto dan Prihartono (2007), untuk meningkatkan produktifitas ikan, kandungan oksigen terlarut dalam air sebaiknya dijaga pada level diatas 5 ppm, sementara jika kandungan oksigen terlarut berada dibawah 3 ppm akan menyebabkan penurunan laju pertumbuhan ikan.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*) Terhadap Titer Antibodi dan SR (*Survival Rate*) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat disimpulkan bahwa bubuk ekstrak tinta cumi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap titer antibodi dan RS (*Survival Rate*) pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Titer antibodi terbaik terdapat pada perlakuan B dengan dosis 62,5 ppm (26,67%) dan terendah pada perlakuan A dengan 52,5ppm (6,67%). Kelangsungan hidup relatif tertinggi dimiliki oleh perlakuan B dengan 62,5 ppm (90,47%) dan kelangsungan hidup relatif terendah yaitu pada perlakuan A 52,5 ppm (84,71%).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, disarankan untuk menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi di dengan dosis 62,5 ppm dalam penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila. Sehingga dapat mengurangi resiko kematian massal dan kerugian materi yang tinggi.

Selain itu, perlu dilakukannya penelitian lanjutan skala lapang mengenai penentuan dosis optimal dalam penggunaan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) terhadap titer antibodi dan sr pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad R. 2004. Kimia Lingkungan. Jakarta: Yogyakarta. 60 hlm.
- Afrianto, E dan Liviawaty, E. 1992. Pengendalian hama dan penyakit ikan. Penerbit Kanisius: Yogyakarta. 70-82 hlm.
- Alifuddin, M. 2002. Immunostimulasi pada hewan akuatik. Jurnal Akuakultur Indonesia. **1** (2) : 87-92.
- Amri, K. dan Khairuman. 2008. Budidaya ikan nila secara intensif. Jakarta:Agromedia Pustaka.58 hlm.
- Amri, K. dan Khairuman. 2002. Membuat pakan ikan konsumsi. Agro Media Pustaka. Jakarta.60 hlm.
- Bijanti, R. 2005. Hematologi ikan teknik pengambilan darah dan pemeriksaan hematologi ikan. Bagian ilmu kedokteran dasar veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya. 31 hlm.
- Buchanan,RE. and Gibbons,NE. 1974. Bergey's Manual of Determinative.1 (2:87-92.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and Motile Aeromonad Septicemias of Fish. *Disease Leaflet 68*. Washingron DC. 20p.
- Derby CD. 2014. Cephalopod ink : production, chemistry, functions and applications. *Marine drugs*. 12:2700-2730.
- Dwidjoseputro, D. 1980. Pengantar *fisiologi tumbuhan*. Gramedia, Jakarta. 90 hlm.
- Effendi, I. 2002. Biologi Perikanan. Yayasan pustaka nusatama. Yogyakarta. 80 hlm.
- Elyana, P. 2011. Pengaruh penambahan ampas kelapa hasil fermentasi *Aspergillus oryzae* dalam pakan komersial terhadap pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. 77 hlm.
- Hadi, M., Agustono dan Y. Cahyoko. 2009. Pemberian tepung limbah udang yang difermentasi dalam ransum pakan buatan terhadap laju pertumbuhan, rasio konversi pakan dan kelangsungan hidup benih ikan nila. Universitas Airlangga. **1** (2) : 35-50.
- Haryani, A., R. Grandiosa., I.D. Buwono dan A.Santika. 2012. Uji Efektifitas Daun Pepaya Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Mas Koki. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-2120.

- Kori-Siakpere, O., O.M Gbemi and R.B Ikomi. 2009. Hematological respons of the African Catfish to sublethal concentration of pottasium permanganad. *Scientific Reseachr And Essay*. 4(5): 457-466.
- Maharani D. 2009. Potensi Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) untuk pencegahan dan pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp. Bogor: Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 90 hlm.
- Mulia, D. S. 2012. Vaksinasi Lele Dumbo. Pustaka pelajar, Yogyakarta. 92 hlm.
- Nair JR, Pillai D, Joseph SM, Gomathi P, Senan PV, and Sherief PM. 2011. Cephalopod research and bioactive substances. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 40(1):13-27.
- Nisaa, K., Sukenda., M.Z. Junior., A.M. Lusiastuti dan S. Nuryati. 2011. Benih keturunan induk ikan nila yang divaksinasi pada tingkat kematangan gonad-2 lebih tahan terhadap infeksi *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Veteriner*. 17(3) : 45-48.
- Nursalam. 2008. Konsep dan penerapan metodologi penelitian ilmu keperawatan, pedoman skripsi, tesis, dan instrumen penelitian keperawatan. Penerbit Salemba Medika. Jakarta. 120 hlm.
- Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophilla* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. 14 (1): 33-39.
- Pelczar, M. J. dan E.C.S. Chan. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. UI Press, Jakarta. 89 hlm.
- Pramleonita, M., N. Yuliani, R. Arizal, dan S.E. Wardoyo. 2018. Parameter fisika dan kimia air kolam ikan nila hitam (*Oreochromis niloticus*). *J. Sains Nat*. 8, 24–34.
- Rahmaningsih, S. 2012. Pengaruh ekstrak sidawayah dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengatasi infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*. 1 (1): 1-8.
- Rukmana, Rahmat. 1997. Budidaya dan aspek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta. 92 hlm.
- Sasaki, J., K. Ishita, K. Takaya, Y. Uchisawa, and H. Matsue. 1997. Anti - tumor activity of squid ink. *J. Nutrition Science Vitaminology*. 43 :45 - 60.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan percobaan praktis bidang pertanian edisi revisi. Kanisius. Yogyakarta. 87 hlm.
- Suyanto. R. 2004. Nila. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. 150 hlm.
- Syawal, H., N. Kusumorini., W. Manalu dan R. Affandi. 2016. Pemberian vaksin *Ichthyophthirius multifiliis* untuk mencegah *Ichthyophthiriasis* pada Ikan Mas. *Jurnal Veteriner*. 17(1) : 96-101.

- Wijaya, S. 2002. Isolasi kitinase dari *Scleroderma columnare* dan *Trichoderma harzianum*. J. Ilmu Dasar Biologi. 3(1): 30–35.
- Zhong JP, Wang G, Shang JH, Pan JQ, Li K, Huang Y, and Liu HZ. 2009. Protective effects of squid ink extract towards hemopoieticinjuries induced by cyclophosphamine. Marine Drugs. 7: 9-18.
- Zubaidah, Siti. 2013. Vaksinasi ikan koi menggunakan vaksin DNA Anti-KHV dengan dosis berbeda. Skripsi. IPB : Bogor. 120 hlm.



LAMPIRAN

lampiran 1.Alat Penelitian yang digunakan.



Kulkas



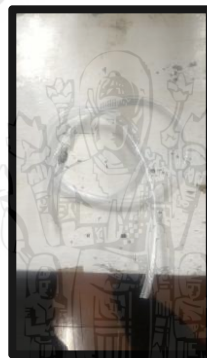
Autoklaf



Blower



Batu Aerasi



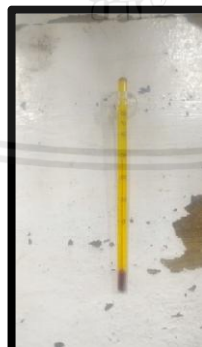
Selang aerasi



Stopper



Akuarium



Thermometer



Heater

Lampiran 1. (Lanjutan)



Seser



Nampan



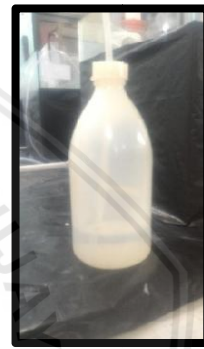
Kabel Roll



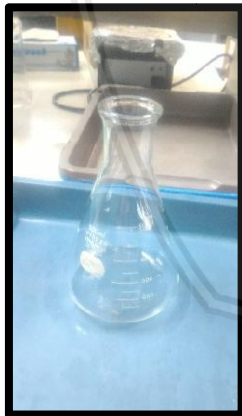
Mikropipet



Rak Tabung Reaksi



Washing Botol



Erlenmeyer



tube dan rak



bunsen



Sprayer



gelas ukur



Laminary Air Flow

Lampiran 1. (Lanjutan)



Sentrifuge



Oven

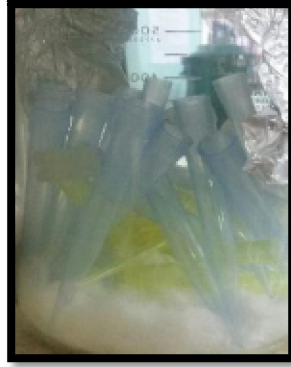


Mikroplate



Lampiran 2. Bahan penelitian yang digunakan.

Clorin



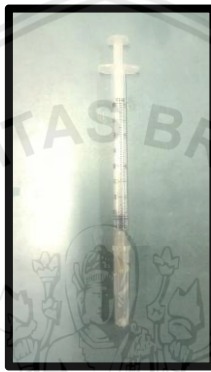
bluetip



tube



Aquades



sprit



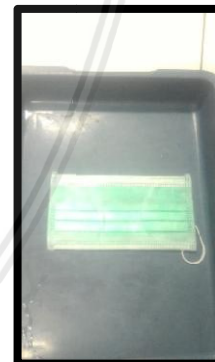
spritus



Alkohol 70%



tisu



masker



Benang kasar



kapas



aluminiumfoil

Lampiran 2. (Lanjutan)



Plastik warp



Kasa



kertas



EDTA



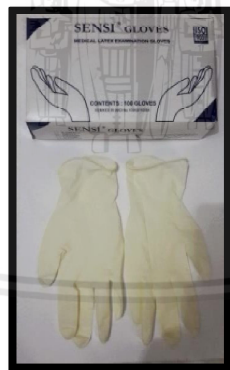
Sampel Darah



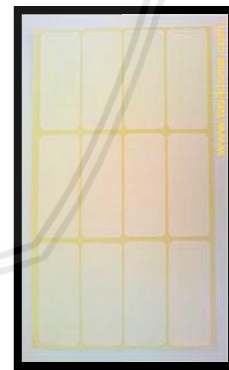
Pakan Ikan



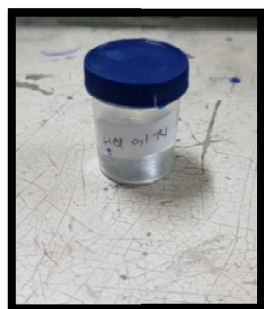
Bubuk tinta cumi



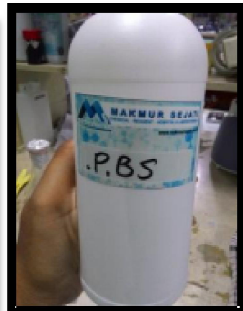
lateks



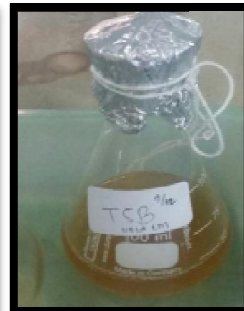
kertas label



HCL 0,1 N




(Phospat Buffer Salin)



TSB

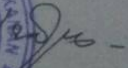

Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia *Aeromonas hydrophila*.

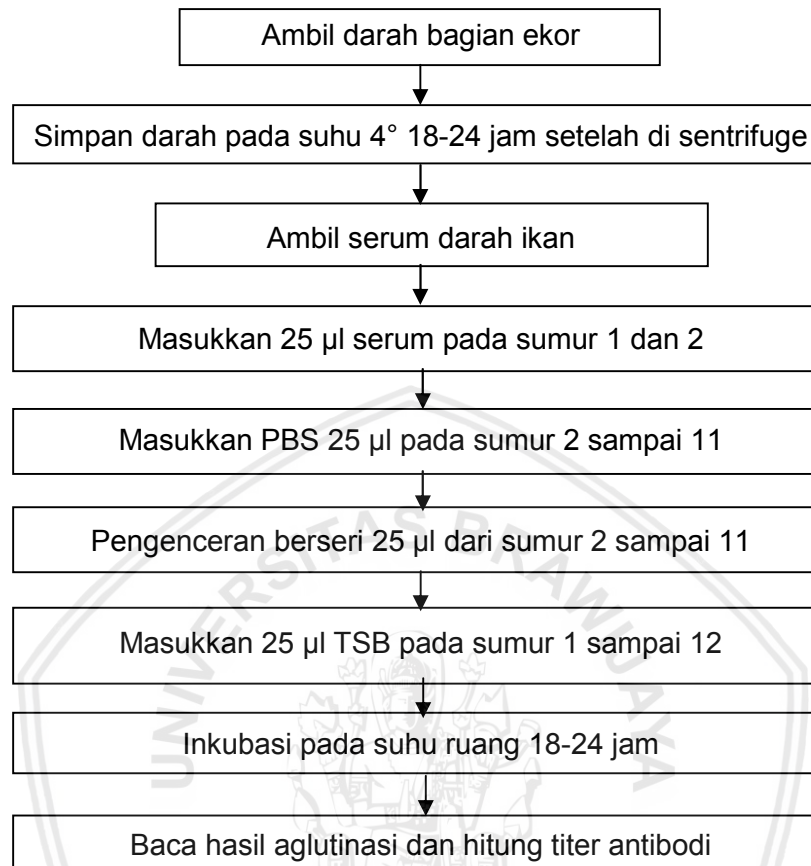

KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU
LABORATORIUM UJI BBPBAP JEPARA
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara, Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724
www.bbpbapjepara.dipb.kkp.go.id ; Email: bbpbapjpr@gmail.com

HASIL UJI BIOKIMIA

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

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

Lab Mikrobiologi BBPBAP Jepara
 Peneliti


 Sri Murti Astuti, SP.

Lampiran 4. Skema Kerja Uji Aglutinasi.

Lampiran 5. Perhitungan media TSB.

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Keterangan :

V_1 : Volume media TSB (Tryptic Soy broth)

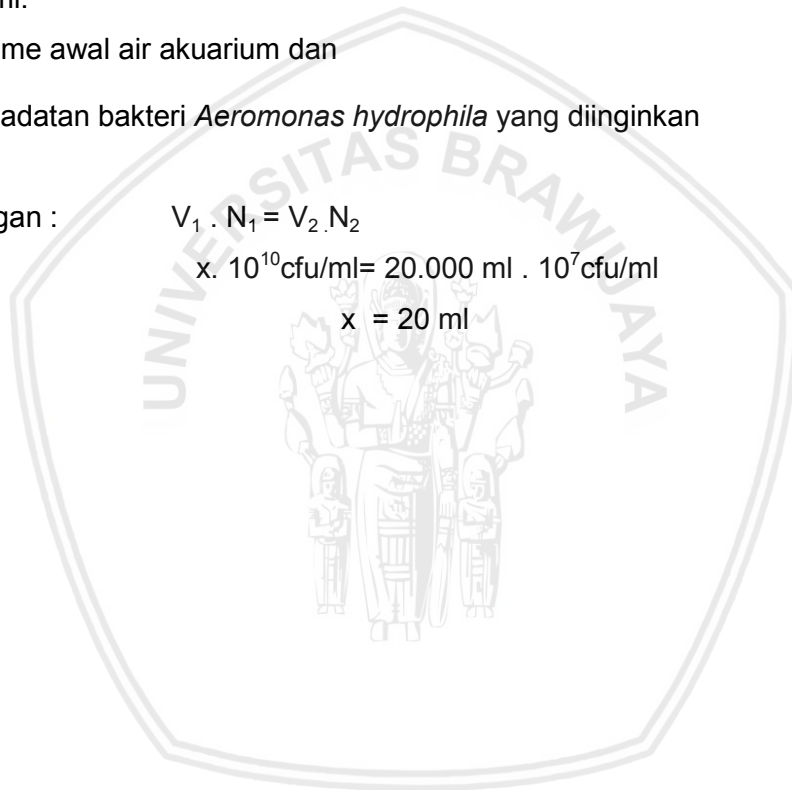
N_1 : Kepadatan awal bakteri *Aeromonas hydrophila* yang sudah diketahui yaitu 10^{10} cfu/ml.

V_2 : Volume awal air akuarium dan

N_2 : Kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang diinginkan

Perhitungan :

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ x \cdot 10^{10} \text{cfu/ml} &= 20.000 \text{ ml} \cdot 10^7 \text{cfu/ml} \\ x &= 20 \text{ ml} \end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan Dosis Pakan

$$1. \text{ A (52.5 ppm)} = \frac{52.5 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 0.525 \text{ mg}$$

$$2. \text{ B (62.5 ppm)} = \frac{62.5 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 0.625 \text{ mg}$$

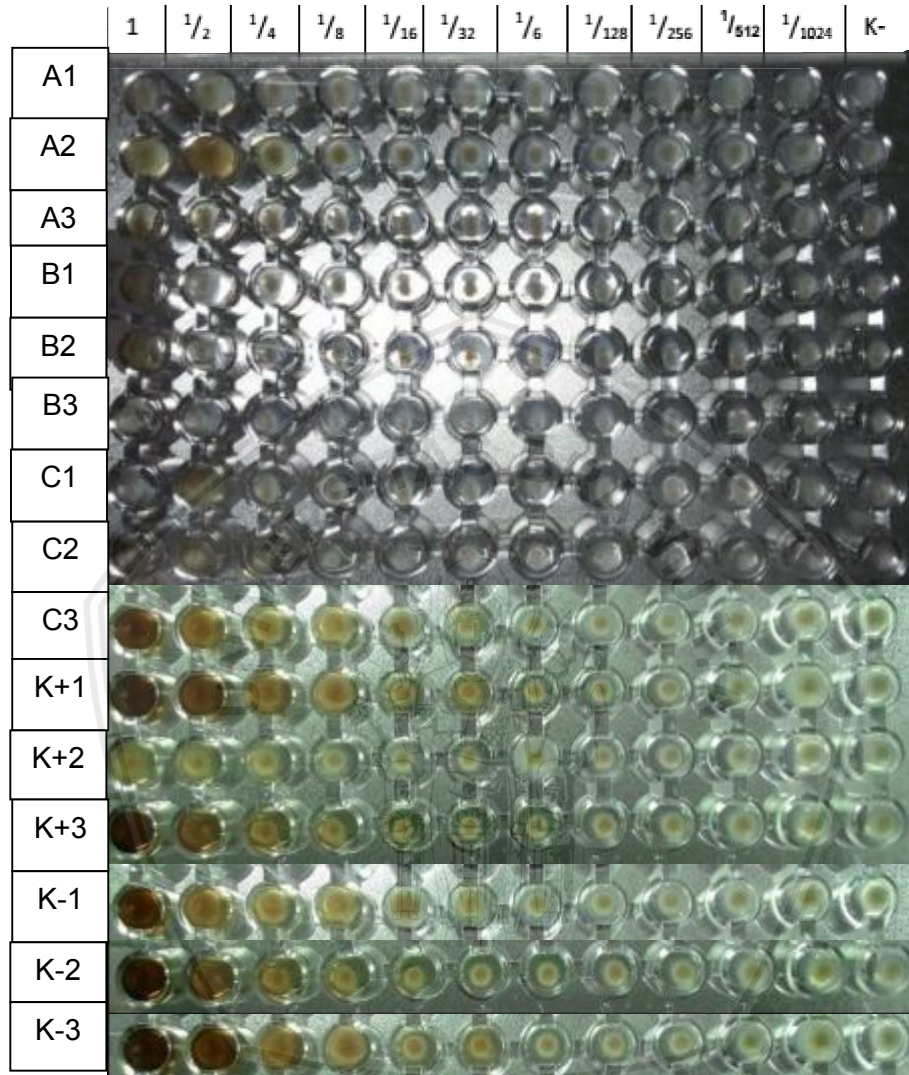
$$3. \text{ C (72.5 ppm)} = \frac{72.5 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 0.725 \text{ mg}$$



Lampiran 7. Visualisasi Hasil Aglutinasi.

a. Hasil aglutinasi sebelum pemberian bubuk tinta cumi-cumi



Keterangan :

A , B, C = Perlakuan

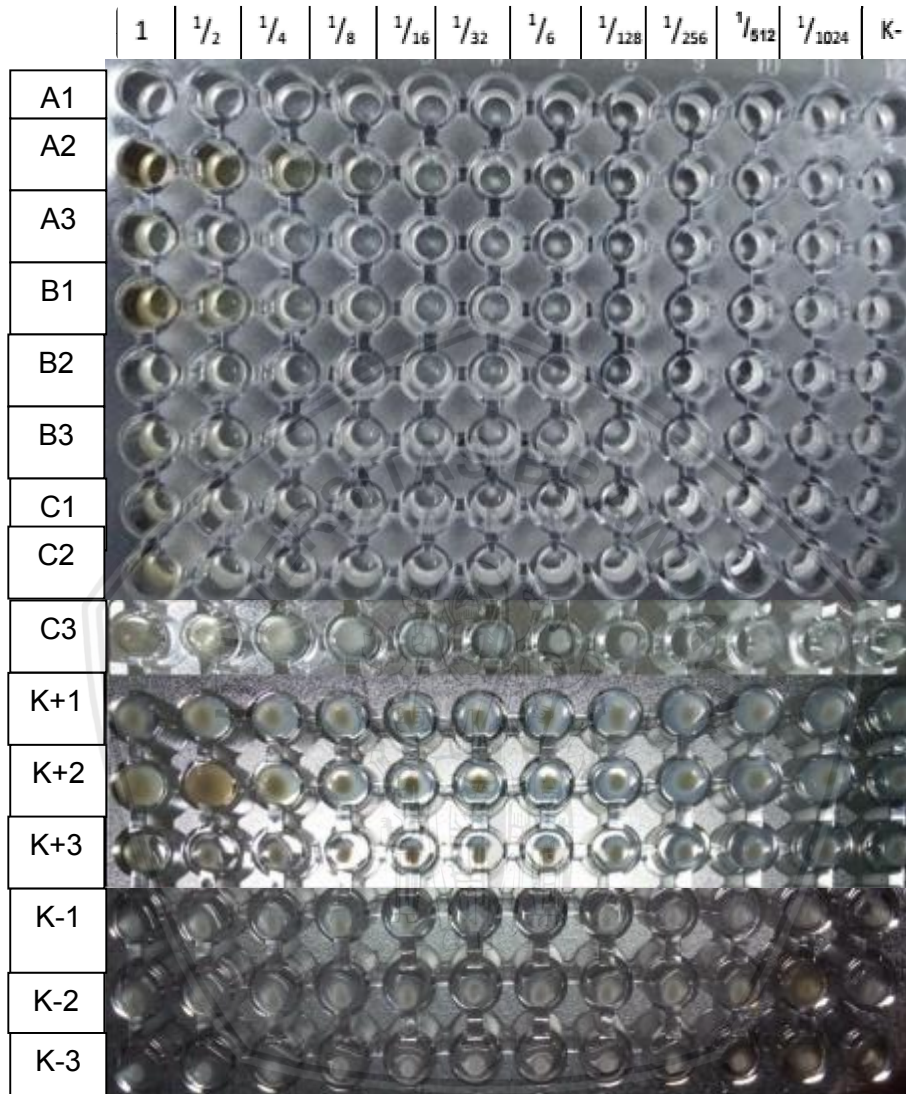
K+ = Kontrol Positif

K- = Tanpa Perlakuan

1, 2, 3 = Ulangan

Lampiran 7. (Lanjutan)

b. Hasil aglutinasi setelah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi hari ke-4



Keterangan :

A , B, C = Perlakuan

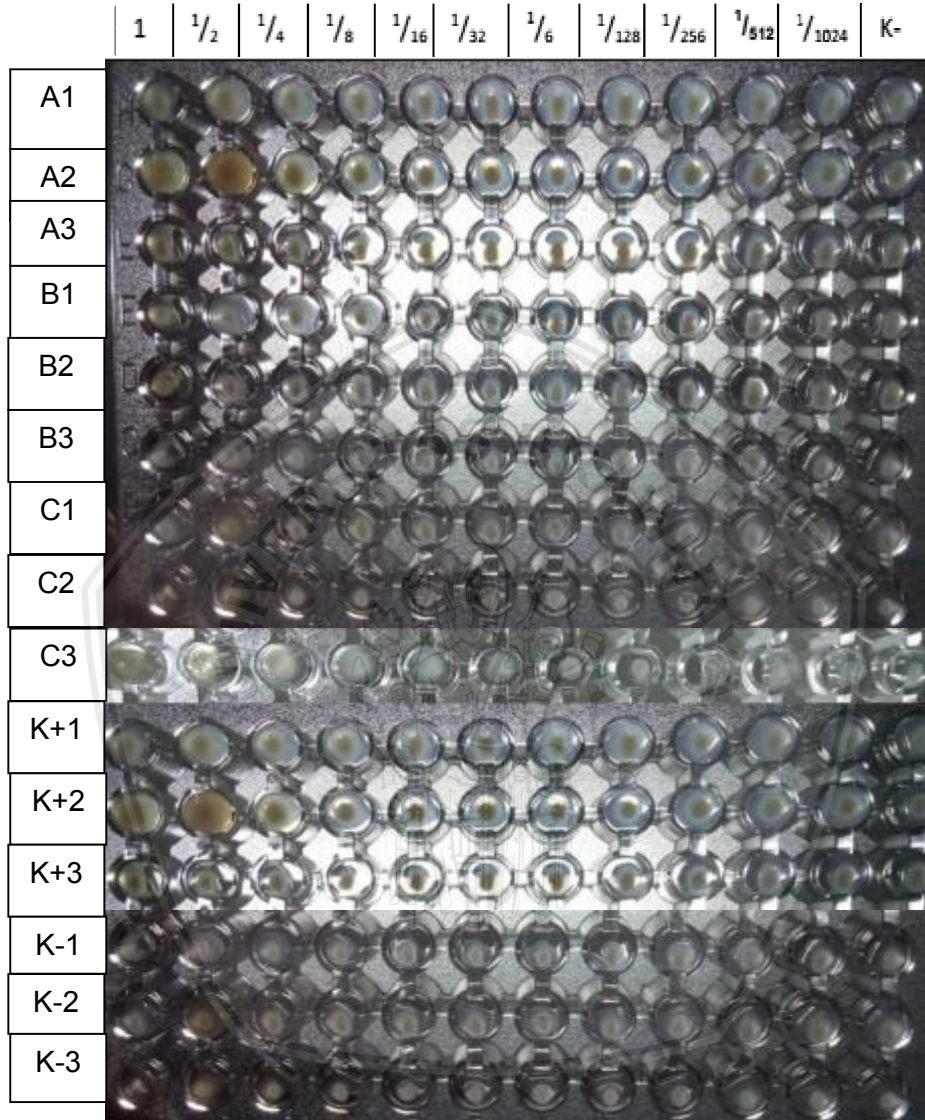
K+ = Kontrol Positif

K- = Tanpa Perlakuan

1, 2, 3 = Ulangan

Lampiran 7. (Lanjutan)

c. Hasil aglutinasi setelah hari ke-7



Keterangan :

A , B, C = Perlakuan

K+ = Kontrol Positif

K- = Tanpa Perlakuan

1, 2, 3 = Ulangan

Lampiran 8. Analisis Data Perhitungan Titer Antibodi.

a. Rerata titer antibodi setelah pemberian serbuk tinta cumi hari ke-4

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A (52,5 ppm)	8	8	4	20	6.67
B (62,5ppm)	16	16	16	48	16.00
C (72,5 ppm)	32	32	16	80	26.67
K+	64	32	32	128	42.67
K-	4	8	4	16	5.33
Total				255	

Perhitungan

- Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum G)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(255)^2}{5 \times 3}$$

$$= 4.335$$
- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$= \sum X_{ij}^2 - FK$$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK$$

$$= (8)^2 + (8)^2 + (4)^2 + \dots + (16)^2 - 4.335$$

$$= 3.858$$
- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$= \frac{(\sum X_i)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum d)^2 + (\sum e)^2}{3} - FK$$

$$= \frac{(20)^2 + (48)^2 + (80)^2 + (128)^2 + (16)^2}{3} - 4.335$$

$$= 2.745$$
- Jumlah Kuadrat Acak (JKA)

$$= JKT - JKP$$

$$= 3.858 - 2.745$$

$$= 1.113$$
- db Total

$$= (n \times r) - 1$$

$$= (5 \times 3) - 1 = 14$$
- db Perlakuan

$$= n - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$
- db Acak

$$= n (r - 1)$$

$$= 5 (3 - 1)$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 &= 10 \\
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{2.745}{4} \\
 &= 686,25 \\
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{1113}{10} \\
 &= 111,3 \\
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{686,25}{111,3} \\
 &= 6,17
 \end{aligned}$$

Analisa sidik ragam titer antibodi hari ke-4

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
perlakuan	4	2745,33	686,33	6,17	3,48	5,99
acak	10	1112,7	111,3			
Total	14	3858,0				

ket **: = berbeda sangat nyata

perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2xKTA}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2x111,3}{3}} = 8,61
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) x SED} \\
 &= 2,22 \times 8,61 \\
 &= 19,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) x SED} \\
 &= 3,16 \times 8,61 \\
 &= 27,30
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

Hasil uji BNT Titer Antibodi hari ke-4

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	B	K+	Notasi
		5,33	6,67	16,00	26,33	42,67	
K-	5,33	0,00					a
A	6,67	1,34 ^{ns}					a
C	16,00	10,67 ^{ns}	9,33 ^{ns}				a
B	26,33	21,00*	19,66*	10,33 ^{ns}			ab
K+	42,67	37,34**	36,00**	26,67*	16,34 ^{ns}		c

Berdasarkan Tabel 7 dapat terlihat perbedaan rerata produksi titer antibodi dengan notasi A, B, dan C. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan berbeda sangat nyata pada perlakuan B. Perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan A dan perlakuan B. Selanjutnya untuk mengetahui regresi pemberian serbuk tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi dilakukan uji polinomial orthogonal.

b. Rerata titer antibodi setelah pemberian serbuk tinta cumi hari ke-7

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
K+	31,0	16	31	78	26,00	8,66
K-	2,0	4	2	8	2,67	1,15
A	4	8	2	14	4,67	3,06
B	2	16	8	26	8,67	7,02
C	8	8	8	24	8,00	0,00
Total				150		

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi} &= \frac{(\sum G)^2}{n \times r} \\
 &= \frac{(150)^2}{10 \times 3} = 1500
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= \sum X_{ij}^2 - FK \\
 &= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK \\
 &= (8)^2 + (8)^2 + (2)^2 + \dots + (40)^2 - 747,11 \\
 &= 1.302
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)} &= \frac{(\sum Xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum d)^2 + (\sum e)^2}{3} - FK \\
 &= \frac{(18)^2 + (24)^2 + (40)^2 + (80)^2 + (8)^2}{3} - 747,11 \\
 &= 1032 \\
 4. \text{ Jumlah Kuadrat Acak (JKA)} &= JKT - JKP \\
 &= 1.302 - 1032 \\
 &= 270 \\
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 = 14 \\
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4 \\
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 10 \\
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{1032}{4} \\
 &= 258 \\
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{270}{10} \\
 &= 27 \\
 10. \quad F \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{258}{27} \\
 &= 9,56
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

Sidik ragam titer antibodi hari ke-7

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
perlakuan	4	1032,00	258,00	9,56	3,48	5,99
acak	10	270,00	27,00			
Total	14	1302,0				

ket : ** = berbeda sangat nyata

perhitungan

$$11. \quad SED = \sqrt{\frac{2 \times KTA}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 27}{3}} = 4,24$$

$$12. \quad BNT 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times SED$$

$$= 2,22 \times 4,24$$

$$= 9,45$$

$$13. \quad BNT 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times SED$$

$$= 3,17 \times 4,24$$

$$= 13,45$$

Hasil uji BNT titer antibodi hari ke-7

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	B	K+	Notasi
		2,67	6,00	8,00	13,00	26,67	
K-	2,67	0,00					a
A	6,00	3,33 ^{ns}					a
C	8,00	5,33 ^{ns}	2,00 ^{ns}				a
B	13,00	10,33*	7,00 ^{ns}	5,00 ^{ns}			ab
K+	26,67	24,00**	20,67**	18,67**	13,67**		c

ket : * = berbeda nyata. ^{ns} : tidak berbeda nyata

Berdasarkan Tabel di atas dapat terlihat perbedaan rerata produksi titer antibodi dengan notasi a, b, dan c. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan berbeda nyata dengan perlakuan

Lampiran 8. (Lanjutan)

B sedangkan perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan B dan A. Selanjutnya untuk mengetahui regresi pemberian bubuk ekstrak tinta cumi dengan dosis yang berbeda terhadap produksi titer antibodi dilakukan uji polynomial orthogonal.

Tabel Uji Polinomial orthogonal titer antibodi hari ke-7

Perlakuan	Total	Perbandingan	
		Linier	Kuadratik
A	18	-1	1
B	40	0	-2
C	24	1	1
Q= $\sum C_i \cdot T_i$		6	-38
Hasil Kuadratik		2	6
Kr= $(\sum C_i^2) \cdot r$		6	18
JK=Q²/Kr		6	80,22
JK Regresi	86,22		

Perhitungan:

14. Q Linier = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (-1 \times 18) + (0 \times 40) + (1 \times 24) +$
 $= 6$
15. Q Kuadratik = $\sum (C_i \times T_i)$
 $= (1 \times 18) + (-2 \times 40) + (1 \times 24)$
 $= -38$
16. Hasil Kuadrat Ci Linier = $(-2)^2 + (1)^2 + (0)^2$
 $= 2$
17. Hasil Kuadrat Ci Kuadratik = $(2)^2 + (-1)^2 + (-2)^2$
 $= 6$
18. KR Linier = $(\sum C_i)^2 \times r$
 $= 2 \times 3$
 $= 6$
19. KR Kuadratik = $(\sum C_i)^2 \times r$
 $= 6 \times 3$
 $= 18$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 20. \quad \text{JK Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{6^2}{6} \\
 &= 6 \\
 21. \quad \text{JK Kuadrat} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-38^2}{18} \\
 &= 80,22 \\
 22. \quad \text{Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} \\
 &= 6 + 80,22 \\
 &= 86,22
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal titer antibodipada Hari Ke-7

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	86,2	43,1	0,5	5,14	10,92
Linier	1	6,0	6,0	0,54		
Kuadrat	1	80,2	80,2	7,22		
Acak	6	66,7	11,1			
Total	8	152,89				

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 23. \quad R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{6}{6 + 66,7} \\
 &= 0,083 \\
 24. \quad R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{80,2}{80,2 + 66,7} \\
 &= 0,54
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 kuadrat lebih besar dibandingkan dengan nilai R^2 linier, yaitu sebesar 0,54. Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah

Lampiran 8. (Lanjutan)

kurva kuadratik. Langkah selanjutnya yaitu mencari persamaan regresi kuadratik

no	dosis (x)	titer antibodi (y)	Xy	X ²
1	52,5	8	420	2756,25
2	52,5	8	420	2756,25
3	52,5	2	105	2756,25
4	62,5	16	1000	3906,25
5	62,5	16	1000	3906,25
6	62,5	8	500	3906,25
7	72,5	8	580	5256,25
8	72,5	8	580	5256,25
9	72,5	8	580	5256,25
total	562,5	82	5185	35756,25
Rata-rata	62,5	9,11	576,11	3972,917

Perhitungan :

Dengan rumus sebagai berikut

$$y = b_2 \cdot x^2 + b_1 \cdot x + b_0$$

dari data diatas dapat diambil persamaan sebagai berikut :

$$6 = b_2 \cdot 2756,25 + b_1 \cdot 52,5 + b_0$$

$$13,3 = b_2 \cdot 3906,25 + b_1 \cdot 62,5 + b_0$$

$$8 = b_2 \cdot 5256,25 + b_1 \cdot 72,5 + b_0$$

Kemudian substitusikan untuk mencari persamaan 1 :

$$6 = b_2 \cdot 2756,25 + b_1 \cdot 52,5 + b_0$$

$$13,3 = b_2 \cdot 3906,25 + b_1 \cdot 62,5 + b_0$$

$$\hline -73 = -1150 b_2 - 10 b_1 + b_0$$

Persamaan 1

Selanjutnya di substitusikan persamaan 2 :

$$6 = b_2 \cdot 2756,25 + b_1 \cdot 52,5 + b_0$$

$$8 = b_2 \cdot 5256,25 + b_1 \cdot 72,5 + b_0$$

$$\hline -2 = -2500 b_2 - 20 b_1 - b_0$$

Persamaan 2

Lampiran 8. (Lanjutan)

Tahap selanjutnya untuk mendapatkan b_2

$$-73 = -1150 b_2 - 10 b_1 + b_0$$

$$-2 = -2500 b_2 - 20 b_1 - b_0$$

$$-12,6 = 200 b_2$$

$$b_2 = -0,063$$

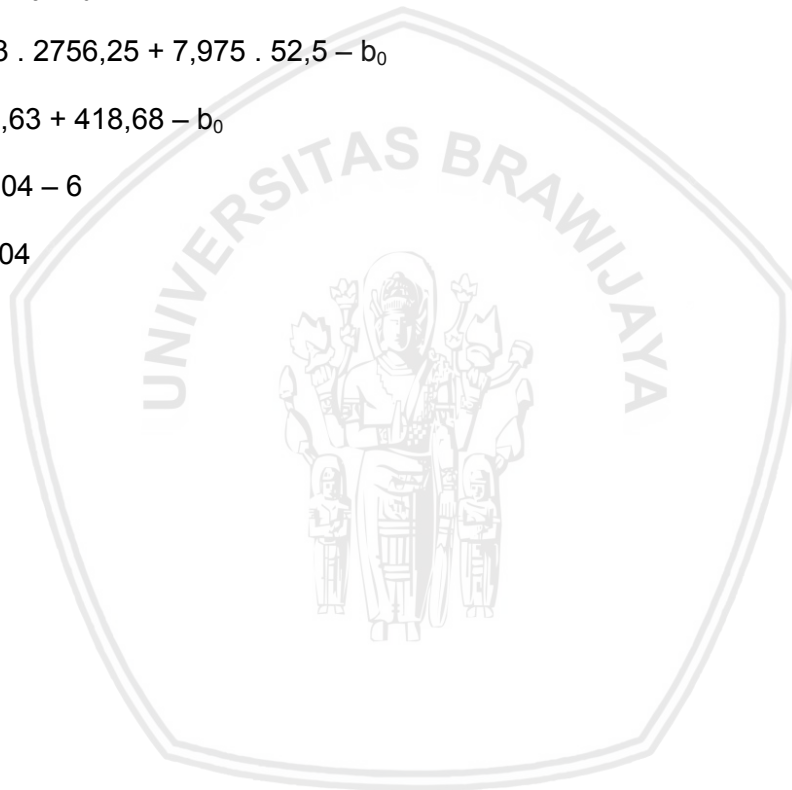
tahap selanjutnya untuk mendapatkan b_0

$$6 = -0,63 \cdot 2756,25 + 7,975 \cdot 52,5 - b_0$$

$$6 = -173,63 + 418,68 - b_0$$

$$b_0 = 245,04 - 6$$

$$b_0 = 239,04$$



Lampiran 9. Analisis Data Perhitungan SR

a. Rerata Kelulshhidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STDEV
	1	2	3			
K+	100,0	95,6	84,7	280,2	93,40	7,90
K-	28,6	50,0	42,86	121,43	40,48	10,91
A	50	70,0	65,0	185	61,67	10,41
B	100,0	92,9	90,0	282,85	94,28	5,15
C	80,0	75,0	65,0	220	73,33	7,64
Total				1089,48		

Perhitungan

- Faktor Koreksi

$$= \frac{(\sum G)^2}{n \times r}$$

$$= \frac{(1089,48)^2}{5 \times 3}$$

$$= 7.9131,11$$
- Jumlah Kuadrat Total (JKT) = $\sum X_{ij}^2 - FK$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (C_3)^2 - FK$$

$$= 84,46^2 + 76,92^2 + 76,92^2 + \dots + 264,27^2 - 7.9131,11$$

$$= 6.914$$
- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP) = $\frac{(\sum Xi)^2}{r} - FK$

$$= \frac{(\sum A)^2 + (\sum B)^2 + (\sum C)^2 + (\sum k+) + (\sum k-)}{3} - FK$$

$$= \frac{(79,43)^2 + (89,49)^2 + (81,95)^2 + (92,15)^2 + (753,84)}{3} - 79131,11$$

$$= 6164$$
- Jumlah Kuadrat Acak (JKA) = JKT - JKP

$$= 6.914 - 6.164$$

$$= 749,30$$
- db Total = $(n \times r) - 1$

$$= (5 \times 3) - 1$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 &= 14 \\
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4 \\
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 10 \\
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{6164}{4} \\
 &= 1541,09 \\
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{749,30}{10} \\
 &= 74,93 \\
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{1541,09}{74,93} \\
 &= 20,57
 \end{aligned}$$

b. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	6164,36	1541,09	20,57	3,48	5,99
Acak	10	749,30	74,93			
Total	14	6913,7				

***) Berbeda sangat nyata

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times KT \times A}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 74,93}{3}} \\
 &= 7,07 \\
 2. \text{ BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) } \times \text{ SED} \\
 &= 15,75
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$3. \text{ BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{ SED}$$

$$= 22,40$$

c. Hasil Uji BNT Nekrosis Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Perlakuan	Rerata	K-	A	C	K+	B	Notasi
		40,48	71,67	73,33	93,40	94,28	
K-	40,48	0,00	0	0	0	0	a
A	71,67	31,19	0,00	0	0	0	a
C	73,33	32,85	1,66	0,00	0	0	ab
K+	93,40	52,92	21,73	20,07	0,00	0	b
B	94,28	53,80	22,61	20,95	0,88	0,00	bc

*) Berbeda nyata **) Berbeda sangat nyata

Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan perlakuan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap hemoragi usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan perhitungan polinomial orthogonal

d. Tabel Uji Polinomial Orthogonal Nekrosis Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Perlakuan	Total Data	linier	kuadratik	kubik	kuartik
K+	280,2	-2	2	-1	1
K-	121,4	-1	-1	2	-4
A	185,0	0	-2	0	6
B	282,9	1	-1	-2	-4
C	220	2	2	1	1
Q = $\sum CiTi$		41,02	226,12	-383,04	-6,92
Kr=($\sum Ci^2$)r		30	42	30	210
JK regresi		56,09	1217,39	4890,65	0,23
Tota JK regresi		6164,36			

Perhitungan:

- Q Linier

$$= \sum (Ci \times Ti)$$

$$= (-2 \times 215) + (-1 \times 282,85) + (0 \times 220)$$

$$= 41,02$$
- Q Kuadratik

$$= \sum (Ci \times Ti)$$

$$= (2 \times 215) + (-1 \times 282,85) + (-2 \times 220)$$

$$= 226,12$$
- Hasil Kuadrat Ci Linier

$$= (-2)^2 + (-1)^2 + (0)^2$$

$$= 10$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 4. \text{ Hasil Kuadrat Ci Kuadratik} &= (2)^2 + (-1)^2 + (-2)^2 \\
 &= 14 \\
 5. \text{ KR Linier} &= (\sum Ci)^2 \times r \\
 &= 10 \times 3 \\
 &= 30 \\
 6. \text{ KR Kuadratik} &= (\sum Ci)^2 \times r \\
 &= 14 \times 3 \\
 &= 42 \\
 7. \text{ JK Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{41,02^2}{30} \\
 &= 56,09 \\
 8. \text{ JK Kuadratik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{226,12^2}{42} \\
 &= 1217,39 \\
 9. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= 56,09 + 1217,39 + 4890,65 + 0,23 \\
 &= 6164,36
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kelulushidupan Usus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Sidik ragam	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	6164,36	1541,09		3,48	5,99
Linier	1	56,09	56,09	0,75		
Kuadratik	1	1217,39	1217,39	16,25		
Kubik	1	4890,65	4890,65	65,27		
kuartik	1	0,23	0,23	0,00		
Acak	10	749,30	74,93			
Total	14	6913,66				

***) Berbeda sangat nyata
Perhitungan:

$$\begin{aligned}
 1. R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{56,09}{56,09 + 749,30} = 0,07
 \end{aligned}$$

Lampiran 9. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} 2. R^2 \text{ Kuadrat} &= \frac{JK \text{ Kuadrat}}{JK \text{ Kuadrat} + JK \text{ Acak}} \\ &= \frac{1217,39}{1217,39 + 749,30} \\ &= 0,62 \end{aligned}$$



Lampiran 10. Data Kualitas Air

a. Suhu (Pagi °C)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	25,5	26	27	26,5	26	26	26
	2	26	27,2	29	28	28	26,5	28
	3	27	28	25.5	27	27	27	29
Rata-Rata		26,16	27,06	27,1	27,16	27	26,5	27,66
B (62,5 ppm)	1	25,5	26	26	25	26	26	26
	2	28	28	29	26	27	27	29
	3	26,5	27	27	29	26,5	28	26,5
Rata-Rata		26,66	27	27,33	26,66	26,5	27	27,16
C (72,5 ppm)	1	27	28	28	28	28	28	28
	2	26	26	27	26	26	28	26
	3	27	27	26	26.5	27	26	27
Rata-Rata		26,66	27	27	26,83	27	27,33	27
K+	1	26	29	27	26	26	26	26
	2	28	27	29	28	27	27	29
	3	26	26	26	26	28	29	28
Rata-Rata		26,66	27,33	27,33	26,66	27	27.3	27,66
K-	1	29	28	27	26	26.5	26	26
	2	26	27	28	27	26	26	27
	3	26,5	26,5	28	29	27	28	28
Rata-Rata		27,16	27,16	27,66	27,33	26,5	26,66	27

Lampiran 10. (Lanjutan)

b. Suhu (Sore °C)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	26	27	26	27	28	26	27
	2	28	26	26	26	29,8	27	26
	3	25,5	27	26	27	27	27	28
Rata-Rata		26,5	26,66	26	26,66	28,26	26,6	27
B (62,5 ppm)	1	26	26	26	27	26	26	25
	2	28	26	27	26	25,5	27	26
	3	25	26	28	27	29	26	28
Rata-Rata		26,33	26	27	26,66	26,8	26,3	26,33
C (72,5 ppm)	1	25	26	26	26	26	26,5	25
	2	27	26	27	27	27	26	26
	3	26	27	26	26	28	27	28
Rata-Rata		26	26,33	26,33	26,3	27	26,5	26,33
K+	1	27	26	27	27	26	26,5	27
	2	29	27	26	28	26	26	28
	3	26	26	27	27	28	27	27
Rata-Rata		27,33	26,33	26,6	27,3	26,66	26,5	27,33
K-	1	26	27	26	26	26,5	27	27
	2	28	26	27	27	26	26	28
	3	27	28	26	26	27	25	29
Rata-Rata		27	27	26,33	26,33	26,5	26	28

Lampiran 10. (Lanjutan)

c. Oksigen Terlarut (Pagi ppm)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	4,52	4,65	5,41	4,56	5,64	5,67	6,2
	2	5,32	5,51	5,01	5,64	4,56	5,66	6,4
	3	4,54	4,21	4,34	4,65	5,45	5,76	3,5
Rata-Rata		4,79	4,79	4,92	4,95	5,2	5,69	5,36
B (62,5 ppm)	1	4,54	5,52	4,53	4,65	4,55	5,55	2,5
	2	4,63	4,56	5,43	5,64	4,45	5,45	4,5
	3	5,44	6,01	3,9	4,5	4,65	5,6	4,5
Rata-Rata		4,87	5,36	4,62	4,93	4,55	5,53	3,83
C (72,5 ppm)	1	4,56	5,41	5,43	4,65	4,65	5,55	4
	2	4,77	5,45	4,56	5,04	4,56	4,67	2,5
	3	5,7	5,43	5,53	5,67	4,35	5,78	5,6
Rata-Rata		5,01	5,43	5,17	5,12	4,52	5,33	4,0
K+	1	5,33	5,34	5,4	4,56	5	5,67	4,67
	2	5,45	5,53	5,6	5,67	5,67	5,66	5,64
	3	5,64	5,45	5,45	5,42	5,63	5,6	6,45
Rata-Rata		5,47	5,44	5,48	5,21	5,43	5,64	5,58
K-	1	5,44	5,65	4,56	4,5	5,67	5,67	5,64
	2	4,44	5,45	4,66	5,1	5,61	5,5	4,65
	3	4,53	4,35	4,34	5,56	5,67	5,76	4,76
Rata-Rata		4,80	5,15	4,52	5,053333	5,65	5,64	5,01

Lampiran 10. (Lanjutan)

d. Oksigen Terlarut (Sore ppm)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	5.42	5.65	5.67	5.65	5.67	5.67	5.67
	2	5.45	5.45	5.76	5.55	5.66	5.66	5.8
	3	5.66	5.43	5.66	4.56	5.67	4.56	6.7
	Rata-Rata	5.51	5.51	5.69	5.25	5.66	5.29	6.07
B (62,5 ppm)	1	5.45	5.65	6.54	5.67	5.66	5.55	7
	2	5.67	5.67	5.67	6.78	5.46	5.45	7
	3	4.44	6.01	6.54	5.67	5.64	5.6	6.88
	Rata-Rata	5.18	5.77	6.25	6.04	5.58	5.53	6.96
C (72,5 ppm)	1	4.56	5.41	5.44	5.67	5.66	5.55	5.7
	2	4.6	5.67	5.45	5.04	5.44	4.67	5.8
	3	4.51	5.43	5.55	4.56	5.43	5.78	6.78
	Rata-Rata	4.55	5.50	5.48	5.09	5.51	5.33	6.03
K+	1	5.67	5.67	5.7	5.6	4.56	5.67	6.78
	2	5.54	5.53	6.45	5.76	5.76	5.66	5.67
	3	5.41	5	4.65	5.76	5.66	5	5.66
	Rata-Rata	5.54	5.4	5.6	5.70	5.32	5.44	6.67
K-	1	5.64	5.67	4.76	5.64	5.67	5.67	5.76
	2	5.46	5.66	5.76	5.67	5.61	5.66	5.67
	3	4.56	4.35	5.66	5.67	5.67	5.67	5.55
	Rata-Rata	5.22	5.22	5.39	5.66	5.65	5.6	5.66

Lampiran 10. (Lanjutan)

e. pH (Pagi)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	6.5	6.78	7.12	6.78	6.98	6.68	6.2
	2	6.76	6.67	7.42	6.88	7.01	6.7	6.4
	3	7.43	6.66	7.22	6.78	7.02	6.76	6.87
Rata-Rata		6.89	6.70	7.25	6.81	7.00	6.71	6.49
B (62,5 ppm)	1	6.44	6.78	7.39	6.89	7.4	6.83	6.75
	2	6.55	6.99	7.21	6.87	7.81	6.8	7
	3	6.09	7.21	7.48	6.77	6.01	6.83	6.56
Rata-Rata		6.36	6.99	7.36	6.84	7.07	6.82	6.77
C (72,5 ppm)	1	6.77	6.55	7.24	6.56	6.44	6.75	6.78
	2	7.22	6.74	7.23	6.87	6.56	6.7	6.55
	3	6.78	6.45	7.25	6.86	6.98	6.72	6
Rata-Rata		6.92	6.58	7.24	6.76	6.66	6.72	6.44
K+	1	6.77	6.77	7.34	7.01	7.01	6.75	6.87
	2	6.45	7.01	7.21	7.02	6.89	6.78	6.77
	3	6.88	7.78	7.33	7.34	6.72	6.71	6.99
Rata-Rata		6.7	7.18	7.29	7.1	6.87	6.74	6.87
K-	1	6.8	6.67	7.39	6.91	6.89	6.7	6.88
	2	6.9	6.87	7.48	6.87	6.93	6.79	7.88
	3	6.56	6.33	7.22	6.71	6.99	6.87	6.98
Rata-Rata		6.75	6.63	7.33	6.83	6.93	6.77	7.27

Lampiran 10. (Lanjutan)

f. pH (Sore)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5 ppm)	1	6.77	6.45	7.01	7.01	6.37	6.52	6.55
	2	5.89	6.65	6.89	7.52	6.44	6.62	6.45
	3	6.78	7.2	6.77	7.42	6.4	6.67	6.76
Rata-Rata		6.48	6.76	6.89	7.31	6.40	6.6	6.57
B (62,5 ppm)	1	6.77	7.21	6.78	7.5	6.7	6.69	7.21
	2	6.89	5.67	6.84	7.42	6.6	6.73	6.89
	3	6.09	5.66	6.55	7.31	6.78	6.88	7.09
Rata-Rata		6.58	6.18	6.72	7.41	6.69	6.76	7.03
C (72,5 ppm)	1	6	6.55	6.78	6.98	6.58	6.61	6.78
	2	7	6.45	6.78	7.24	6.54	6.54	6.89
	3	6.6	6.54	7.01	6.78	6.4	6.21	7.01
Rata-Rata		6.53	6.51	6.85	7	6.50	6.45	6.83
K+	1	6.87	6.54	5.87	7.45	6.45	6.51	6.78
	2	6.43	6.45	6.7	7.5	6.33	6.42	7.01
	3	7.42	6.45	7.21	7.38	6.4	6.38	7.02
Rata-Rata		6.90	6.48	6.59	7.44	6.39	6.43	6.66
K-	1	6.78	6.54	6.78	6.27	6.27	6.33	6.78
	2	7.43	6.33	5.9	6.55	6.55	6.48	6.88
	3	6.78	7.01	7.88	6.68	6.68	6.71	6.99
Rata-Rata		6.99	6.62	6.8	6.5	6.5	6.50	6.88