

**PENGARUH PEMBERIAN BUBUK EKSTRAK TINTA CUMI-CUMI (*Loligo*
sp.) PADA PAKAN TERHADAP KEPADATAN BAKTERI PADA DARAH IKAN
NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas*
*hydrophila***

SKRIPSI

Oleh:

**LUKMANUL HAKIM
NIM. 155080507111043**



**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 KEPADATAN BAKTERI PADA DARAH DAN
KELULUSHIDUPAN 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:

**LUKMANUL HAKIM
NIM. 155080507111043**



**PROGRAM 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 KEPADATAN BAKTERI PADA DARAH DAN
KELULUSHIDUPAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh:
LUKMANUL HAKIM
NIM. 155080507111043

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 1

(Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc.)
NIP. 19621014 198701 1 001
TANGGAL : 08 NOV 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing 2

(Ir. Ellana Sanoesi, M.P.)
NIP. 19630924 199803 2 001
TANGGAL : 08 NOV 2019

Mengetahui,
Ketua Jurusan 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 KEPADATAN BAKTERI PADA DARAH IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*.**

Nama Mahasiswa : LUKMANUL HAKIM

NIM : 155080507111043

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : Dr. Ir. M. Fadjar, M. Sc.

Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, M.P.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Arning Wilujeng E, M.S.

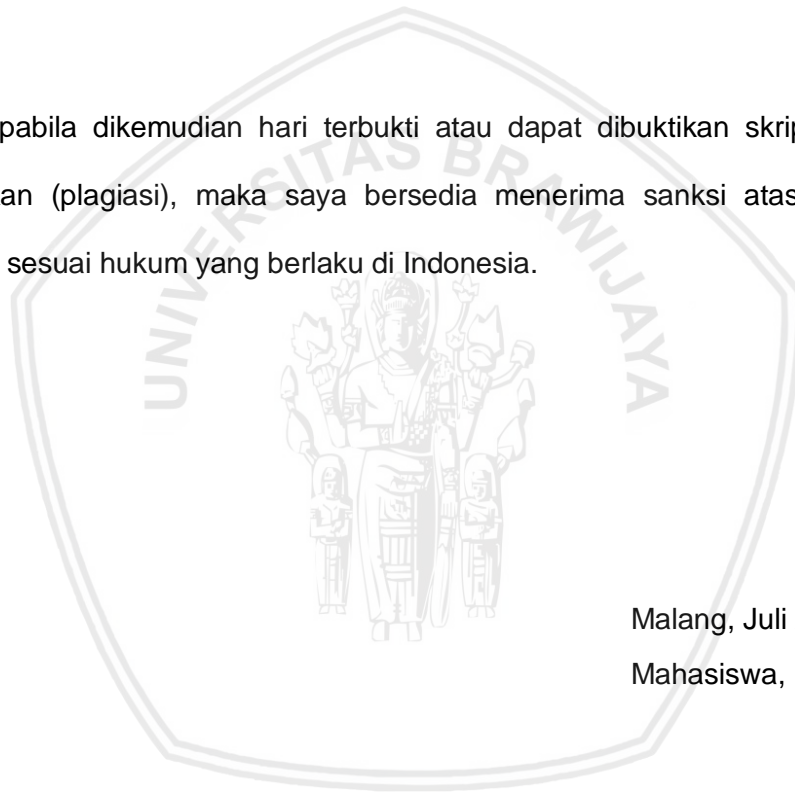
Dosen Penguji 2 : Qurrota A'yunin, S.Pi, M.P, M.Sc.

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 Fadjar, 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, Juli 2019

Mahasiswa,

Lukmanul Hakim

NIM.155080507111043

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan kelancaran melaksanakan Skripsi
2. Kepada Bapak Salim Amir dan Ibu Fatimah serta keluarga yang telah memberi dukungan dan motivasi bagi saya sehingga tetap semangat.
3. Bapak Dr.Ir.Mohammad Fadjar, M.Sc. dan Ir. Ellana Sanoesi, M.P. selaku dosen pembimbing yang telah memberi arahan dan bimbingan sehingga laporan ini terselesaikan dengan baik.
4. Dr. Ir. Arning Wilujeng E, M.S dan Qurrota A'yunin, S.Pi, M.P, M.Sc selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis.
5. Ibu Titin Yuniastutik, S.TP selaku laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, dan Ibu Rozika Hawa Ekayanti, S.P. selaku laboran Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan yang telah bersedia mewadahi selama penelitian
6. Yoga, Indana, Novi, dan Ibnu selaku teman-teman penelitian skripsi tinta cumi-cumi yang telah memberikan semangat dan bantuan dalam proses pelaksanaan penelitian hingga penyusunan laporan.
7. Teman-teman Budidaya Perairan 2015 yang telah memberikan semangat dan dukungannya sehingga proses pelaksanaan skripsi hingga penyusunan laporan skripsi dapat berjalan dengan lancar.

Malang, Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

LUKMANUL HAKIM. Pengaruh Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi (*Loligo* sp.) pada Pakan terhadap Kepadatan Bakteri pada Darah dan Kelulushidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* secara. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Mohamad Fadjar M. Sc. dan Ir. Ellana Sanoesi, M.P.**

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan komoditas budidaya air tawar yang dikenal luas di masyarakat dan telah menjadi komoditas andalan di beberapa kota untuk mendukung ketahanan pangan nasional dan peningkatan ekspor komoditas perikanan. Produksi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setiap tahunnya terus meningkat dengan nilai rata-rata kenaikan per tahun sebesar 45,81%. Namun tingginya nilai produksi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) masih memiliki kendala diantaranya berupa permasalahan penyakit yang sering menyerang pada proses pembudidayaan yang seringkali mengakibatkan kematian masal.

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) pada pakan terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen. Metode eksperimen merupakan langkah-langkah lengkap yang diambil sebelum eksperimen dilakukan agar data yang semestinya diperlukan dapat diperoleh sehingga analisis menjadi obyektif. Parameter utama untuk penelitian ini yaitu perhitungan kepadatan bakteri pada darah ikan nila. Sedangkan parameter penunjang pada penelitian ini yaitu pengamatan gejala klinis dan perhitungan nilai kualitas air.

Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi berpengaruh terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Adapun rata-rata kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* di akhir penelitian, perlakuan A (52,5 ppm) yaitu 296×10^3 cfu/mL, perlakuan B (62,5 ppm) yaitu 167×10^3 cfu/mL, perlakuan C (72,5 ppm) yaitu 284×10^3 cfu/mL. Kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang terendah yaitu pada perlakuan B (62,5 ppm). Hubungan antara dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* adalah dosis tertentu akan menghasilkan nilai kepadatan bakteri yang rendah. Hal tersebut dibuktikan dengan bentuk grafik kuadratik dengan persamaan $y = 0.0272x^2 - 3.1086x + 331.89$ dengan koefisien nilai determinasi R^2 sebesar 0,85.

Hasil pengamatan gejala klinis ikan nila yang terinfeksi memiliki tingkah laku berenang yang melemah dan ciri-ciri morfologi yang ditimbulkan berupa tubuh terdapat bercak merah dan ekor yang geripis. Pada pengamatan hari ketujuh bercak merah pada ikan nila yang diberi bubuk ekstrak tinta cumi-cumi sudah hampir tidak terlihat. Hasil pengamatan parameter kualitas air yang terdiri dari suhu, oksigen terlarut, dan derajat keasaman menunjukkan hasil yang terbilang optimal.

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat 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.*) pada pakan Terhadap Kepadatan Bakteri Pada Darah dan 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 satu, Ibu Ir. Ellana Sanoesi, M.P. selaku Dosen Pembimbing dua 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 skripsi selanjutnya, agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Demikian penulis sampaikan terimakasih.

Malang, Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	HALAMAN
RINGKASAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1.PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Kegunaan.....	4
1.6 Tempat dan Waktu	4
2.TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Biologi Cumi-Cumi (<i>Loligo sp.</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Kandungan Senyawa Aktif pada Tinta Cumi – Cumi (<i>Loligo sp.</i>)	6
2.2 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	6
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.2.2 Habitat Dan Penyebaran Ikan Nila	7
2.2.3 Kebiasaan Makan	8
2.3 Biologi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.3.2 Habitat dan Penyebaran <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
2.3.3 Penyakit MAS dan Gejala Terinfeksi Bakteri <i>A. Hydrophila</i> ..	11
2.4 Antimikroba	12
2.5 Kepadatan Bakteri	13
2.6 Kualitas air	14
2.6.1 Suhu	14
2.6.2 DO	14
2.6.3 pH.....	14

3 METODE PENELITIAN	15
3.1 Materi Penelitian.....	15
3.1.1 Alat-Alat Penelitian.....	15
3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian	16
3.2 Metode Penelitian.....	18
3.3 Pengambilan Data.....	18
3.4 Rancangan Penelitian	19
3.5 Prosedur Penelitian	21
3.5.1 Persiapan Penelitian	21
3.5.2 Pelaksanaan penelitian.....	25
3.6 Parameter Uji	27
3.6.1 Parameter Utama.....	27
3.6.2 Parameter Penunjang	29
3.7 Analisis Data	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Parameter Utama	31
4.1.1 Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-1 Setelah Penginfeksian dan Sebelum Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	32
4.1.2 Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4 Setelah Peng- infeksian dan Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi ...	32
4.1.3 Perhitungan Kepadatan Bakteri Hari Ke-7 Setelah Penginfeks- ian dan Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi	34
4.2. Parameter Penunjang.....	37
4.2.1 Gejala Klinis.....	37
4.2.2 Kualitas Air.....	38
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	41

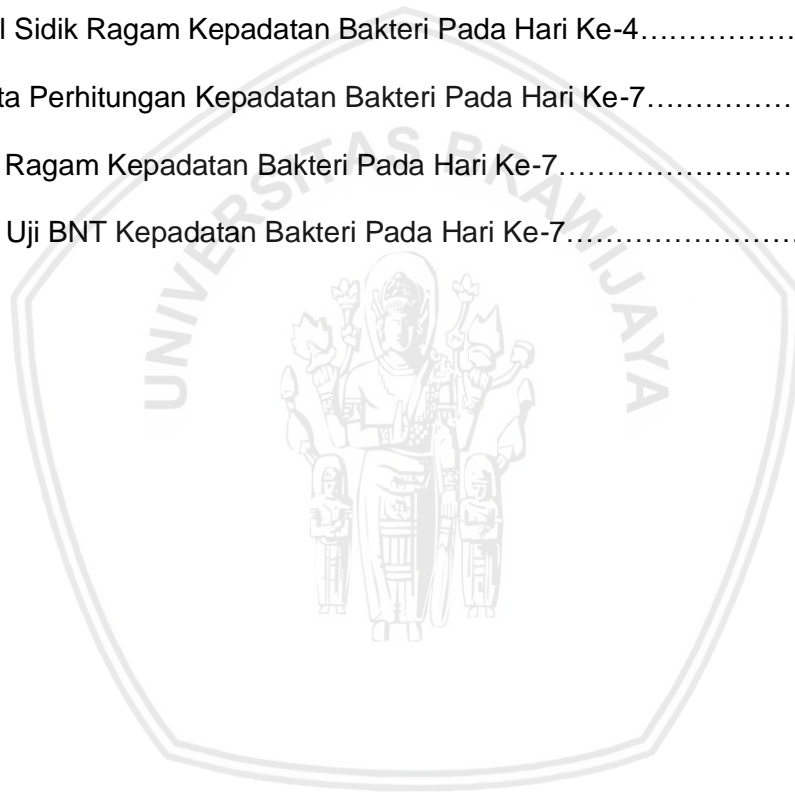
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Cumi-Cumi.....	5
2. Ikan Nila.....	7
3. <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
4. Denah Penelitian.....	20
5. Grafik Hubungan Antara Dosis Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi Terhadap Kepadatan Bakteri <i>A. Hydrophyla</i>	35
6. Gejala klinis setelah terinfeksi <i>Aeromonas hydrophila</i>	37
7. Ikan nila berenang dengan normal	38



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat Penelitian yang Digunakan.....	16
2. Bahan-bahan Penelitian yang Digunakan.....	18
3. Rerata Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-1.....	33
4. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4.....	34
5. Tabel Sidik Ragam Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4.....	34
6. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7.....	35
7. Sidik Ragam Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7.....	35
8. Hasil Uji BNT Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-alat Penelitian yang Digunakan.....	43
2. Bahan-bahan Penelitian yang Digunakan.....	47
3. Dokumentasi Penelitian.....	50
4. Proses Sterilisasi.....	51
5. Proses Pengambilan Media <i>Tryptic Soy Broth</i>	52
6. Proses pembuatan Media <i>Plate Count Agar</i>	53
7. Proses Kultur pada Media Cair.....	54
8. Proses Penanaman Bakteri.....	55
9. Proses Pengambilan darah ikan nila.....	56
10. Proses Perhitungan Kepadatan bakteri	57
11. Rerata Kepadatan Bakteri.....	58
12. Analisis Data Perhitungan Kepadatan Bakteri	59
13. Data Kualitas Air Selama Penelitian.....	70

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan komoditas budidaya air tawar yang dikenal luas di masyarakat dan telah menjadi komoditas andalan di beberapa kota untuk mendukung ketahanan pangan nasional dan peningkatan ekspor komoditas perikanan. Nilai produksi ikan nila setiap tahunnya terus meningkat dengan rata-rata kenaikan nilai produksi per tahun sebesar 45,81%. Namun tingginya nilai produksi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) masih memiliki kendala diantaranya berupa permasalahan penyakit yang sering menyerang pada proses pembudidayaan yang seringkali mengakibatkan kematian masal (KKP, 2014).

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. Meskipun jarang terjadi pada kolam-kolam yang terawat dengan baik, parasit yang menyerang ikan dapat menimbulkan kerugian besar bagi petani ikan (Munar *et al.*, 2016). Kegagalan produksi akibat terkena wabah penyakit ikan yang bersifat patogenik sering dialami oleh pembudidaya di Indonesia. Timbulnya penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat terjadinya gangguan keseimbangan dan interaksi antara ikan, lingkungan yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit ikan obligat yang ganas (virulen) meskipun kondisi lingkungannya relatif baik (Noerbaeti *et al.*, 2016).

Aeromonas hydrophila merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat menyebabkan timbulnya penyakit pada ikan (Giyarti, 2000). Bakteri ini menginfeksi berbagai spesies ikan air tawar, salah satunya adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri oportunistis

yang menyerang pada saat rendahnya daya tahan tubuh pada ikan. Dalam mencegah penyebaran *A. hydrophilla*, dapat digunakan antibakteria yang mampu memutus komunikasi bakteri dengan inang. Namun, penggunaan antibakteria masih tergantung pada antibakteri sintesis yang terbuat dari bahan-bahan kimia.

Pengendalian penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) pada awalnya banyak menggunakan antibiotik. Hal tersebut mengakibatkan dampak negatif, yaitu menjadikan bakteri *A. hydrophilla* dan bakteri-bakteri di lingkungan menjadi resisten terhadap antibiotik, serta musnahnya bakteri menguntungkan yang sensitif. Selain itu, antibiotik dapat menimbulkan residu pada ikan dan akan membahayakan kesehatan konsumen apabila dikonsumsi. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif penanggulangan penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*) yang efektif dan tidak menimbulkan efek negatif bagi pembudidaya dan konsumen, serta ramah lingkungan (Wahjuningrum *et al.*, 2013)

Penanggulangan yang aman dan ramah lingkungan sangat dibutuhkan untuk permasalahan ini. Bubuk tinta cumi-cumi *Loligo sp* dapat dijadikan pengobatan alternatif. Cumi-cumi memiliki tinta yang tidak disukai oleh predator, terutama ikan. Pada tinta cumi-cumi terdapat senyawa *alkaloid*. *Alkaloid* merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder yang berat atom 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 ikan yang terinfeksi bakteri (Sasaki *et al.*, 1997). Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai pemberian bubuk tinta cumi-cumi terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.

1.2 Perumusan Masalah

Aeromonas hydrophila merupakan salah satu jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan penyakit pada ikan (Giyarti 2000). Bakteri ini menyerang berbagai spesies ikan air tawar, salah satunya adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Usaha penanganan penyakit akibat infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang cukup efisien antara lain dengan menggunakan bahan alami yang ada di lingkungan, salah satunya adalah penggunaan bubuk ekstrak tinta cumi yang memiliki sifat sebagai antibakteri.

Penggunaan obat-obatan dan antibiotik terhadap ikan dapat menyebabkan bakteri di lingkungan menjadi resisten terhadap bahan kimia yang digunakan. Maka diperlukan suatu alternatif pencegahan yaitu dengan penggunaan antibakteri yang bersifat alami serta efektif untuk membunuh dan menghambat pertumbuhan bakteri. Salah satu bahan alami yang digunakan yaitu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi, karena tinta cumi-cumi mengandung asam oleat. Menurut Fadjar *et al.* (2016), berdasarkan hasil uji GC-MS diketahui bahwa tinta cumi-cumi mengandung asam oleat. Dimana asam oleat yang ada di dalam tinta cumi-cumi dapat membunuh bakteri secara langsung. Asam oleat dalam tinta cumi dapat menempel pada membran bakteri yang kemudian merusak struktur dinding sel bakteri.

Berdasarkan permasalahan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan dapat mempengaruhi kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.4 Hipotesis

Hipotesis penelitian yang digunakan adalah:

H0 : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan tidak berpengaruh terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H1 : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada pakan berpengaruh terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini sebagai langkah awal dalam menciptakan inovasi baru tentang upaya pengendalian bakteri *Aeromonas hydrophila* menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi yang merupakan bahan alami di bidang perikanan. Sehingga dapat memberikan solusi bagi pengobatan dan pencegahan bagi penyakit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan bahan alami aktif dari bubuk ekstrak tinta cumi cumi (*Loligo sp.*).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan Divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang pada bulan 15 Januari – 05 Maret 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Cumi-Cumi (*Loligo* sp.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Saanin (1984) klasifikasi cumi-cumi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Moluska
Kelas	: Cephalopoda
Subkelas	: Coleoidea
Ordo	: Teuthoidea
Family	: Loligonidae
Genus	: <i>Loligo</i>
Spesies	: <i>Loligo</i> sp.

Cumi-cumi (Gambar 1) merupakan binatang lunak dengan tubuh berbentuk silindris. Sirip-siripnya berbentuk trianguler atau radar yang menjadi satu pada ujungnya. Pada kepalanya di sekitar lubang mulut terdapat 10 tentakel yang dilengkapi dengan alat penghisap (*sucker*). Tubuh terdiri dari isi rongga tubuh (*visceral mass*) dan mantel. Lapisan isi rongga tubuh berbentuk silinder dengan dinding sebelah dalam tipis dan halus. Mantel yang dimilikinya berukuran tebal, berotot, dan menutupi isi rongga tubuh pada seluruh isi serta mempunyai tepi yang disebut leher (Pelu, 1989).



Gambar 1. Cumi-cumi (Rodrigo *et al.*, 2016)

2.1.2 Kandungan Senyawa Aktif pada Tinta Cumi – Cumi (*Loligo sp.*)

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. Melanin alami adalah melanoprotein yang mengandung 10-15% protein, sehingga menjadi salah satu sumber protein yang baik (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).

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).

2.2 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Saanin (1984), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mempunyai klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichtyes
Subkelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Subordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: Oreochromis

Spesies : *Oreochromis niloticus*

Morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Gambar 2) menurut Saanin (1968), mempunyai ciri-ciri bentuk tubuh bulat pipih, punggung lebih tinggi, pada badan dan sirip ekor (*caudal fin*) ditemukan garis lurus (vertikal). Pada sirip punggung ditemukan garis lurus memanjang. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dapat hidup diperairan tawar dan mereka menggunakan ekor untuk bergerak, sirip perut, sirip dada dan penutup insang yang keras untuk mendukung badannya. Nila memiliki lima buah Sirip, yaitu sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fin*) sirip perut (*ventral fin*), sirip anal (*anal fin*), dan sirip ekor (*caudal fin*). Sirip punggungnya memanjang dari bagian atas tutup insang sampai bagian atas sirip ekor. Terdapat juga sepasang sirip dada dan sirip perut yang berukuran kecil dan sirip anus yang hanya satu buah berbentuk agak panjang. Sementara itu, jumlah sirip ekornya hanya satu buah dengan bentuk bulat.



Gambar 2. Ikan Nila (Suyanto, 2010)

2.2.2 Habitat Dan Penyebaran Ikan Nila

Ikan nila merupakan ikan konsumsi yang umum hidup di perairan tawar, terkadang ikan nila juga ditemukan hidup di perairan yang agak asin (payau). Ikan nila dikenal sebagai ikan yang bersifat euryhaline (dapat hidup pada kisaran salinitas yang lebar). Ikan nila mendiami berbagai habitat air tawar, termasuk

saluran air yang dangkal, kolam, sungai dan danau. Ikan nila dapat menjadi masalah sebagai spesies invasif pada habitat perairan hangat, tetapi sebaliknya pada daerah beriklim sedang karena ketidakmampuan ikan nila untuk bertahan hidup di perairan dingin, yang umumnya bersuhu di bawah 21 ° C (Harrysu, 2012).

Ikan nila mempunyai kemampuan tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14-38°C dengan suhu optimum bagi pertumbuhan dan perkembangannya yaitu 25-30°C. Pada suhu 14°C atau pada suhu tinggi 38°C pertumbuhan ikan nila akan terganggu. Pada suhu 6°C atau 42°C ikan nila akan mengalami kematian. Kandungan oksigen yang baik bagi pertumbuhan ikan nila minimal 4mg/L, kandungan karbondioksida kurang dari 5mg/L dengan derajat keasaman (pH) berkisar 5-9 (Amri, 2003).

2.2.3 Kebiasaan Makan

Ikan Nila tergolong ikan pemakan segala atau omnivora, karena itulah, ikan ini sangat mudah dibudidayakan. Ketika masih benih, makanan yang disukai ikan Nila adalah zooplankton (plankton hewani), 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 algae berfilamen, tumbuh-tumbuhan air, dan organisme renik yang melayang-layang dalam air (Rukmana, 1997)

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan ikan herbivora yaitu pemakan tumbuhan. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menyukai plankton terutama fitoplankton dari kelompok *Cyanophyceae*, *Desmidiaceae*, dan *Rotatoria*. Kesukaan ikan terhadap makanannya sangat relatif. Karena belum tentu melimpahnya suatu pakan alami dalam suatu perairan dapat dimanfaatkan oleh ikan dikarenakan beberapa faktor yaitu penyebaran organisme sebagai makanan ikan, ketersediaan

makanan, pilihan dari ikan, serta faktor-faktor fisik yang mempengaruhi perairan (Tresna *et al.*, 2012).

2.3 Biologi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *Aeromonas hydrophila* menurut Holt *et al.* (1998) adalah sebagai berikut:

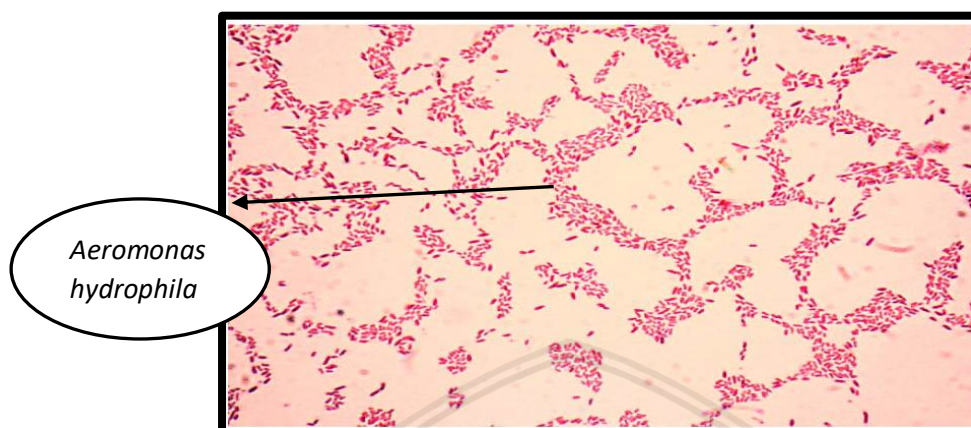
Phylum	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudononadeles
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Ada tiga spesies utama bakteri *Aeromonas*, antara lain *A. punctata*, *A. liquifacicus*, dan *Aeromonas hydrophila* (Afrianto dan Liviawaty, 2009). Bakteri *A. hydrophila* memiliki ciri utama yaitu berbentuk seperti batang yang berukuran 1 – 4 x 0,4 – 1 mikron, bersifat Gram negatif, fakultatif aerobik (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak mempunyai spora, dan bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel yang keluar dari salah satu kutubnya, serta hidup pada suhu 15 – 30°C (Kordi, 2004).

Bakteri ini juga resisten terhadap chlorine serta suhu yang dingin (faktanya *A. hydrophila* dapat bertahan hidup dalam temperatur rendah ± 4 °C), tetapi setidaknya hanya dalam waktu 1 bulan. Sebagian besar bakteri *Aeromonas hydrophila* mampu tumbuh dan berkembang biak pada suhu 37°C dan tetap motil pada suhu tersebut. Disamping itu, pada kisaran pH 4,7-11 bakteri ini masih dapat tumbuh. Perkembang biakan bakteri ini dapat dilakukan secara aseksual yaitu dengan memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan inti atau pembelahan biner.

repository.ub.ac.id

Waktu yang diperlukan untuk pembelahan satu sel menjadi dua sel bakteri ± 10 menit (Laili, 2007). *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. *Aeromonas hydrophila* (Samsundari, 2006)

2.3.2 Habitat dan Penyebaran *Aeromonas hydrophila*

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

Bakteri *Aeromonas hydrophila* akan tumbuh maksimal pada kisaran suhu 38°C - 41°C dan pertumbuhan minimal pada suhu 0°C - 5°C dengan kisaran Ph 5,5-9. Di daerah tropik dan subtropik penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* pada umumnya muncul pada musim kemarau pada saat kandungan bahan organik tinggi. Dikarenakan adanya bakteri *Aeromonas hydrophila* ini akan menimbulkan banyak kerugian yang sangat besar karena

menyebabkan kematian ikan secara massal, suhu yang tinggi dan bahan organik yang tinggi dapat menimbulkan stress pada ikan sehingga mudah terinfeksi bakteri (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

2.3.3 Penyakit MAS dan Gejala Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu bakteri oportunistis yang dapat menyebabkan penyakit bakterial. Penyakit bakterial yang disebabkan oleh bakteri tersebut adalah penyakit MAS (*Motil Aeromonas Septicemia*). Keberadaan bakteri ini sangat berpengaruh terhadap budidaya ikan air tawar karena sering menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi yaitu 80 -100% dalam kurun waktu yang relatif singkat (1-2 minggu) (Irianto, 2005).

Bakteri ini bersifat laten (berkepanjangan) sehingga jika terinfeksi bakteri ini tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stress yang disebabkan oleh penurunan kualitas air, kekurangan pakan, atau penanganan ikan yang kurang baik. Penularan bakteri ini dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang telah tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain (Kordi, 2004).

Ikan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* menunjukkan gejala-gejala berupa : warna tubuh ikan menjadi gelap, kemampuan berenang menurun, mata agak menonjol dan rusak, sisik terkuak, siripnya rusak, insang berwarna merah keputihan sehingga rusak, ikan terlihat mangap-mangap di permukaan air, kulit menjadi kasar dan timbul pendarahan yang diikuti luka borok, perut ikan kembung (dropsi), dan apabila dilakukan pembedahan maka akan terlihat pendarahan pada hati, ginjal, dan limpa (Kordi, 2004).

2.4 Antimikroba

Antimikroba adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, zat tersebut memiliki khasiat atau kemampuan untuk mematikan/menghambat pertumbuhan kuman sedangkan toksisitas terhadap manusia relative kecil. Menurut Waluyo (2004), antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh/dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut mempunyai daya penghambat aktifitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah sedikit. Pengertian antimikroba menurut Rostinawati (2009), antimikroba adalah zat kimia yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang mempunyai khasiat antimikroba.

Beberapa sifat yang perlu dimiliki oleh zat antimikroba menurut Waluyo (2004) adalah sebagai berikut.

- Menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak hospes/inang, yaitu antimikroba dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan mikroba bahkan menghentikan pertumbuhan bakteri/membunuh namun tidak berpengaruh/merusak pada hospes.
- Bersifat bakterisida dan bukan bakteriostatik, yaitu antimikroba baiknya bersifat bakterisida atau bersifat menghentikan laju pertumbuhan/membunuh mikroba bukan bakteriostatik yang hanya menghambat laju pertumbuhan mikroba.
- Tidak menyebabkan resistensi pada kuman atau mikroba, yaitu antimikroba tidak akan menimbulkan kekebalan kepada mikroba sehingga antimikroba tidak dapat digunakan untuk menghentikan pertumbuhan mikroba patogen lagi.
- Berspektrum luas, yaitu antimikroba efektif digunakan untuk berbagai spesies bakteri, baik bakteri kokus, basil, dan spiral.

- Tidak menimbulkan alergenik atau menimbulkan efek samping bila digunakan dalam jangka waktu lama, yaitu antimikroba yang digunakan sebagai obat tidak menimbulkan efek samping kepada pemakai jika digunakan dalam jangka waktu lama.
- Zat antimikroba tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh atau eskudat, antimikroba yang berada dalam plasma atau cairan tubuh tetap bersifat aktif dan tidak dalam keadaan berhenti tumbuh atau dormansi.
- Zat antimikroba dapat larut dalam air dan stabil, antimikroba dapat larut dan menyatu dalam air.

2.5 Kepadatan Bakteri

Uji LC₅₀ digunakan untuk menentukan kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang akan digunakan dalam uji tahap penentuan dan pengujian dosis. Berdasarkan uji LC₅₀ ini didapatkan kepadatan bakteri yang mengakibatkan kematian sebesar 50% populasi ikan lele selama tujuh hari adalah bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan kepadatan 10⁴ cfu/mL. Uji yang dilakukan biasanya meliputi pewarnaan gram, uji motilitas, uji oksidasi, uji katalase, uji oksidase, dan uji gelatin. Karakterisasi yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni secara visual, meliputi warna, elevasi, dan tepian (Wahjuningrum *et al.*, 2013).

Uji LC₅₀ dilakukan untuk mengetahui kepadatan konsentrasi bakteri yang dapat mematikan 50% ikan uji. Hasil perhitungan LC₅₀ digunakan untuk uji utama yaitu uji virulensi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada ikan. Terjadinya kematian pada ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* membuktikan bahwa bakteri tersebut bersifat patogen dan sangat virulen pada ikan. Tingkat virulensi pada bakteri yang menginfeksi dapat dipengaruhi oleh dua faktor yaitu dari tingkat ketahanan ikan dan daya virulensi bakteri (Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

2.6 Kualitas air

Kualitas air adalah kondisi kalitatif air yang diukur dan atau di uji berdasarkan parameter-parameter tertentu dan metode tertentu berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku (Pasal 1 keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 115 tahun 2003). Kualitas air dapat dinyatakan dengan parameter kualitas air. Parameter ini meliputi parameter fisik, kimia, dan mikrobiologis (Masduqi,2009).

2.6.1 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).

2.6.2 DO

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

2.6.3 pH

pH larutan adalah ukuran aktivitsa 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-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) pada pakan terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Lampira1.

Tabel 1. Alat-alat Penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	Autoklaf	Sebagai alat untuk mensterilkan peralatan yang akan digunakan.
2	Kulkas	Sebagai tempat penyimpanan bahan pada suhu dingin.
3	Cawan Petri	Sebagai tempat untuk uji cakram dan menanam bakteri
4	Erlenmeyer 1000 ml, 500 ml dan 50 ml	Sebagai tempat pembuatan media dan masersi
5	Gelas ukur 100 ml	Sebagai alat mengukur larutan
6	Bunsen	Untuk mencegah adanya kontaminasi pada saat perlakuan
7	Tabung Reaksi	Sebagai tempat untuk peremajaan bakteri dan uji MIC
8	Hot Plate	Sebagai alat pemanas media
9	Timbangan digital	Sebagai alat penimbang dengan ketelitian 10^{-2} .
10	Timbangan Analitik	Sebagai alat penimbang bahan dengan ketelitian 10^{-3}
11	Vortex Mixer	Sebagai penghomogen larutan
12	Mikropipet 100-1000 μ	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
13	Mikropipet 10-100 μ	Sebagai alat untuk mengambil bahan yang berbentuk cairan
14	Nampan	Sebagai tempat meletakkan alat
16	Washing bottle	Sebagai tempat menyimpan akuades
17	Sprayer	Sebagai tempat menyimpan alkohol untuk sterilisasi
18	Masker	Sebagai pelindung mulut bagi peneliti
19	Sarung tangan	Sebagai alat mencegah kontaminasi
20	Inkubator	Sebagai alat menginkubasi

Tabel 1 (Lanjutan)

No	Alat	Kegunaan
21	Oven	Sebagai alat untuk mengeringkan cawan petri
22	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri saat akan dikultur
23	DO Meter	Untuk mengukur kadar oksigen dalam pemeliharaan ikan nila
24	pH Meter	Untuk mengukur kadar pH dalam pemeliharaan ikan nila
25	Thermometer Hg	Untuk mengukur suhu dalam pemeliharaan ikan nila
26	Seser	Untuk mempermudah saat pemindahan ikan nila
27	Heater Akuarium	Untuk memberikan suhu panas yang sesuai dengan pemeliharaan ikan nila
28	Batu Aerasi	Untuk memecah oksigen yang dihasilkan oleh aerator ke air
29	Selang Aerasi	Untuk menyalurkan oksigen dari aerator ke media pemeliharaan ikan nila
30	Aerator	Untuk suplai oksigen pada wadah pemeliharaan ikan nila
31	Pipet Volume	Untuk mengambil larutan sebanyak 1-10 ml
32	Bola Hisap	Untuk membantu mengambil larutan melalui pipet volume
33	Rak Tabung Reaksi	Untuk tempat tabung reaksi
34	Triangle	Untuk membantu dalam penanaman bakteri dengan metode tebar
35	Blue Tip	Untuk memindahkan sampel dengan bantuan mikropipet dengan volume maksimal 1000 μ l
36	Sendok Media	Untuk membantu mengambil bahan yang digunakan dalam pembuatan media
37	<i>Rotary Evaporator</i> 60 rpm	Untuk ekstraksi tinta cumi-cumi
38	<i>Freezer</i>	Untuk menyimpan sampel dalam kondisi dingin
39	<i>Spry Dryer</i>	Untuk alat pembentuk bubuk ekstrak tinta cumi-cumi

3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian pengaruh pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kepadatan bakteri pada media pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 2 dan Lampiran 2.

Tabel 2. Bahan-bahan

No	Bahan	Kegunaan
1	Serbuk tinta cumi	Sebagai bahan yang dijadikan ekstrak dalam bentuk bubuk
2	Aquades	Sebagai bahan untuk membantu proses evaporasi dan sterilisasi
3	Metanol	Sebagai bahan pelarut
4	Tisu	Sebagai bahan pembersih
5	Alumunium foil	Sebagai pembungkus semua bagian erlenmeyer saat di maserasi dan menutup lubang erlenmeyer ketika disterilisasi.
6	Alkohol 70%	Sebagai bahan untuk sterilisasi
7	Kapas	Sebagai bahan untuk menutupi alat pada saat sterilisasi
8	Kertas label	Sebagai bahan penanda
9	Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	Sebagai bakteri yang digunakan untuk perlakuan
10	TCBSA	Sebagai media untuk uji cakram
11	TSB	Sebagai media untuk kultur bakteri
12	Kertas koran	Sebagai bahan untuk membungkus peralatan yang akan disterilisasi
13	Tali Kasur	Sebagai bahan untuk mengikat peralatan yang disterilisasi
14	DMSO	Sebagai pelarut ekstrak
15	Spirtus	Sebagai bahan bakar untuk Bunsen
16	Plastik warp	Untuk membungkus cawan petri saat diinkubasi
17	Ekstrak Tinta Cumi-cumi	Sebagai objek yang diteliti
18	Blue Tip	Untuk membantu dalam pengambilan ekstrak ketika pembuatan dosis
19	Yellow Tip	Untuk membantu dalam pengambilan ekstrak ketika pembuatan dosis
20	Media <i>Plate Count Agar</i> (PCA)	Sebagai media perhitungan <i>total plate count</i> (TPC) bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>
21	Media <i>Tryptic Soy Broth</i> (TSB)	Sebagai media cair peremajaan bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>
22	Ikan Nila	Sebagai objek pengamatan
23	Maltodekstrin	Sebagai pelarut dalam proses <i>spry dry</i>
24	Pakan Komersil	Sebagai nutrisi pertumbuhan ikan nila
25	Kaporit	Sebagai bahan untuk membersihkan alat dari mikroorganisme
26	Na-Thiosulfat 15 ppm	Sebagai bahan untuk membersihkan sisa klorin

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang diterapkan adalah metode eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan metode yang paling kuat untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat. Menurut Solso dan MacLin (2002), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang di dalamnya ditemukan minimal satu variabel yang dimanipulasi untuk mempelajari hubungan sebab-akibat. Oleh karena itu, penelitian eksperimen erat kaitannya dalam menguji suatu hipotesis dalam rangka mencari pengaruh, hubungan, maupun perbedaan perubahan terhadap kelompok yang dikenakan perlakuan.

Menurut Latipun (2002) penelitian eksperimen merupakan penelitian yang dilakukan dengan melakukan manipulasi yang bertujuan untuk mengetahui akibat manipulasi terhadap perilaku individu yang diamati. Secara Umum Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian suatu treatment atau perlakuan terhadap subjek penelitian.

3.3 Pengambilan Data

Proses pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Khoifah dan Pasa (2016), teknik pengumpulan data dengan observasi merupakan cara yang dilakukan peneliti untuk mendapatkan data atau informasi dalam penelitiannya dengan pengamatan dan pencatatan secara sistematis terhadap gejala yang tampak pada objek penelitian. Pengumpulan data dalam penelitian ini yaitu dengan observasi terus terang atau tersamar. Dalam hal ini, peneliti dalam melakukan pengumpulan data menyatakan terus terang kepada sumber data, bahwa sedang melakukan penelitian. Jadi mereka yang diteliti mengetahui sejak awal sampai akhir tentang aktifitas peneliti.

Menurut (Ardianto, 2011), observasi dibagi menjadi dua bagian, yaitu observasi langsung (*Direct Observations*) dan tidak langsung (*Indirect*

Observations). Pada kegiatan observasi langsung. Peneliti langsung terjun ke lapangan sebagai sasaran penelitian untuk melihat keadaan atau fenomena yang terjadi disana. Dengan begitu, peneliti dapat lebih mengenal karakteristik lokasi, fenomena, dan juga subjek penelitian, dalam hal ini adalah masyarakat yang hendak diteliti. Observasi tidak langsung merupakan kegiatan pengamatan yang tidak dilakukan pada tempat atau lokasi yang telah ditentukan oleh peneliti. Peneliti dapat menggunakan media, seperti internet, media cetak, rekaman audio visual, dan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang memiliki latar permasalahan yang sama dengan yang akan diteliti.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian merupakan gambaran umum penelitian yang akan dilaksanakan untuk mencapai tujuan yang sudah disusun. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Prastito (2004), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan percobaan yang sederhana diantara rancangan percobaan standar lainnya. Beberapa keuntungan menggunakan rancangan acak lengkap yaitu denah perancangan percobaannya lebih mudah, analisa statistik terhadap objek percobaan sederhana, serta fleksibel dalam jumlah penggunaan, perlakuan dan ulangan.

Adapun model rancangan acak lengkap yang secara umum dinyatakan dalam bentuk model matematika adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

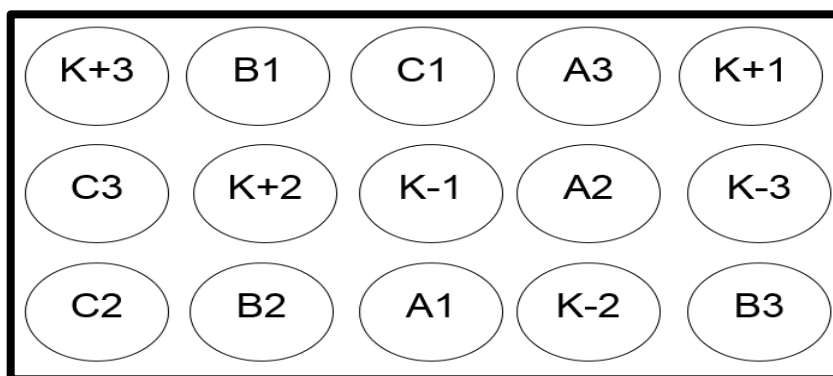
Keterangan:

- Y : Respon atau nilai pengamatan.
- μ : Nilai rerata harapan (mean).
- T : Pengaruh faktor perlakuan.
- ε : Pengaruh galat.

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. Pada penelitian ini juga menggunakan dua kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol negatif merupakan perlakuan tanpa penginfeksian bakteri dan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi, untuk kontrol positif yaitu penginfeksian bakteri dan tanpa pemberian bubuk tinta cumi. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Dari perlakuan tersebut didapat 15 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- A :Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 52,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- B : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 62,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- C : Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pakan dengan dosis 72,5 ppm terhadap ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila*.
- K+: Ikan nila yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan penambahan antibiotik *oxytetracline* 20 ppm yang dicampur pada pakan.
- k- : Ikan nila yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* dan tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang dicampur pada pakan.

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- A, B, C : Perlakuan A (52,5 ppm), perlakuan B (62,5 ppm), dan perlakuan C (72,5 ppm).
- K- : Kontrol Negatif, tanpa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi.
- K+ : Kontrol Positif, dan penambahan *oxytetracline* 20 ppm yang dicampur pada pakan.
- 1, 2, 3 : Ulangan.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi

Sterilisasi (Lampiran 4) dilakukan menggunakan autoklaf. Semua alat dan bahan yang disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Tujuan dari proses sterilisasi adalah untuk memastikan bahwa tidak terjadi pertumbuhan mikroba pada alat dan media bahan yang akan digunakan (Yuwono dan Ririn, 2011).

Proses sterilisasi dilakukan dengan metode sebagai berikut:

- Alat-alat yang disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang (untuk tabung reaksi dan erlenmeyer bagian atas diberi kapas).
- Akuades dituang secukupnya dalam autoklaf.
- Alat yang telah dibungkus kertas koran dimasukkan ke dalam keranjang autoklaf dan dimasukkan.

- Autoklaf ditutup rapat secara diagonal.
- Saklar dinyalakan dan power di “on” kan. Tombol suhu diputar pada posisi maksimal hingga lampu *heating* menyala hijau.
- Ditunggu hingga uap air keluar dari klep. Kemudian klep ditutup.
- Ditunggu suhu mencapai 121°C kemudian suhu diturunkan hingga lampu *sterilizing* menyala kuning. Putar pengaturan alarm hingga 15 menit.
- Ketika alarm berbunyi tombol power di “off” kan.
- Klep dibuka secara perlahan-lahan hingga jarum menunjukkan angka 0.
- Lalu dibuka autoklaf secara diagonal.
- Diambil alat yang sudah disterilisasi.

b. Persiapan Alat dan Media Pemeliharaan

Hal pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan akuarium yang berukuran 30x30x30 cm³ sebanyak 15 buah, akuarium tersebut dibersihkan dengan menggunakan klorin 10% lalu akuarium dibiarkan selama 30 menit setelah itu akuarium dibilas dengan air tawar, setelah dibilas lalu dikeringkan dengan menggunakan kain kering, 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.

c. 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 $\pm 13,22$ g dengan akuarium berisi 10-15 ekor.

d. *Tryptic Soy Broth (TSB)*

Media TSB merupakan media cair yang digunakan untuk melakukan peremajaan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Rahmaningsih (2016), media TSB mampu menyediakan materi nutrisi yang dibutuhkan bakteri aerobik dan bakteri anaerobik fakultatif. Proses pembuatan media TSB (Lampiran 11) 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 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.
- Media siap untuk digunakan.

e. 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 dan dapat dilihat pada Lampiran 11 :

- Biakan pada media agar miring diambil dengan 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*.

f. 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 penginfeksian yaitu 10^7 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 *A. hydrophila* 10^7 CFU/mL pada tabung reaksi yang terdapat media TSB.

g. Pembuatan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Tinta cumi yang digunakan dalam penelitian ini sudah dalam bentuk ekstrak. Metode yang digunakan dalam pembuatan bubuk ekstra tinta cumi-cumi ialah metode *Spray Drying*. Prosedur dalam pembuatan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi adalah sebagai berikut :

- Tahap pertama, pasta ekstrak tinta cumi-cumi dan bahan pelapis yaitu meltodekstrin ditimbang dengan perbandingan 1 : 4.

- Kedua, semua bahan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 mL dan ditambahkan 200 mL aquades lalu dipanaskan diatas *hot plate* hingga mencapai suhu 97°C.
- Ketiga, larutan bahan tersebut diangkat dari *hot plate stirrer* dan suhunya diturunkan hingga 40°C-45°C dan diaduk agar tidak cepat menjadi gel.
- Keempat, mesin *spray dryer* dinyalakan dengan suhu inlet 90°C dan suhu outlet menyesuaikan bahan karena alat *spray dryer* akan otomatis menyesuaikan.
- Kelima, bahan tersebut diletakkan pada *magnetic stirrer* dengan kecepatan 500 rpm agar tidak cepat menjadi gel
- Langkah terakhir yaitu selang *spray drying* dimasukkan ke dalam larutan bahan. Kemudian ditunggu hingga proses *spray drying* dengan suhu inlet 90°C dan suhu outlet 50°C-60°C selama 45 menit hingga dihasilkan bubuk kering

3.5.2 Pelaksanaan penelitian

a. Penginfeksian Bakteri *Aeromonas Hydrophila*

Hal pertama yang harus dilakukan dalam proses penginfeksian bakteri adalah mempersiapkan akuarium berukuran 30 cm x 30 cm x 30 cm sebanyak 15 akuarium diisi dengan air tawar sebanyak 21 liter yang dilengkapi dengan aerasi dan *heater*. Kemudian ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dimasukkan ke dalam akuarium dengan kepadatan 15 ekor/akuarium dan dilakukan adaptasi selama 24 jam. Selanjutnya, dilakukan perhitungan jumlah kepadatan bakteri dalam darah ikan nila sebelum proses penginfeksian. 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 10^7 cfu/ml (Olga, 2012). Setelah penginfeksi 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 *A. hydrophilla* dilakukan dengan penanaman pada media PCA dan dihitung jumlah koloni.

b. Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi pada Pakan

Pemberian bubuk ekstrak tinta cumi pada pakan yaitu dengan metode sprayer (Kaemudin, *et al.*, 2016). Langkah-langkah yang harus dilakukan yaitu pertama bubuk ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan perlakuan yang diamati. Kemudian ditambahkan pelarut berupa aquades sebanyak 10 ml pada masing-masing perlakuan, lalu di *vortex* yang bertujuan agar bubuk tercampur. Kemudian dimasukkan ke dalam *sprayer* dan disemprot ke pakan sesuai dengan perlakuan. Setelah itu pakan dikeringkan selama 30-60 menit. Pemberian pakan yang telah dicampur dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dilakukan sebanyak tiga kali dalam sehari yaitu pukul 08.00, 12.00, 16.00. Pemberian pakan sesuai FR (*Feeding Rate*) yaitu 5% dari total biomassa/hari dan dipelihara selama tujuh hari.

c. Perlakuan Pemberian Pakan yang Telah Dicampur dengan Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp.*)

Pemberian pakan yang telah dicampur dengan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) dilakukan sebanyak tiga kali dalam sehari yaitu pukul 08.00, 12.00, 16.00. Pemberian pakan sesuai FR (*Feeding Rate*) yaitu 5% dari total biomassa/hari. Pakan dimasukan ke dalam wadah pemeliharaan dan dipelihara selama tujuh hari dan diamati gejala klinis ikan yang telah diberi terapi melalui

pak. Selain pengamatan gejala klinis hal yang dilakukan selanjutnya ialah pengukuran kualitas air pada wadah pemeliharaan yang meliputi suhu, pH, DO setiap hari pada pagi dan sore hari. Pengamatan gejala klinis dan pengukuran kualitas air merupakan parameter penunjang dalam penelitian ini.

3.6 Parameter Uji

3.6.1 Parameter Utama

Parameter Utama dalam penelitian ini adalah perhitungan kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Media *Plate Count Agar* atau PCA digunakan sebagai media untuk penanaman bakteri. Adapun proses pembuatan media PCA adalah sebagai berikut:

- Media PCA (*Plate Count Agar*) ditimbang 21,375 gr dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1.000 ml.
- Media dilarutkan dengan akuades sebanyak 1.000 ml dan dihomogenkan.
- Media PCA cair dapat digunakan untuk penanaman bakteri *Aeromonas hydrophila* dicawan petri.
- Media yang sudah dihomogenkan didalam erlenmeyer ditutup dengan kapas dan alumunium foil.
- Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.
- Media ditunggu hingga sedikit hangat dan berbentuk cair.

Perhitungan kepadatan bakteri dihitung melalui darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Sebelum perhitungan kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* dilakukan, diperlukan pengambilan darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan penanaman bakteri dengan tahapan sebagai berikut:

- Disiapkan alat berupa spuit 1 ml yang sudah steril, nampan, kain basah dan bahan berupa Na Sitrat dan ikan nila uji (*Oreochromis niloticus*).
- Diambil Na Sitrat menggunakan spuit sebanyak 0,1 ml agar saat pengambilan darah, darah tidak menggumpal.
- Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dikondisikan menggunakan kain basah agar tidak stres.
- Diambil darah menggunakan spuit yang sudah berisi larutan Na Sitrat melalui sirip ekor sebanyak 1 ml.
- Darah yang sudah didapatkan pada setiap perlakuan diencerkan menggunakan NaFis dari 10^{-1} - 10^{-5} .
- Darah yang sudah diencerkan ditanam di atas cawan petri steril sebanyak 1 ml
- Darah yang ditanam adalah darah yang memiliki pengenceran 10^{-3} - 10^{-5} .
- Darah pada cawan petri diberi media *Plate Count Agar* yang masih cair dan sudah steril hingga menutup cawan petri.
- Dihomogenkan dan diberi plastik wrap.
- Diinkubasi selama 24 hingga 48 jam.

Pada proses perhitungan kepadatan bakteri, bakteri yang tumbuh dihitung dengan *coloni counter*. Syarat bakteri dapat dihitung yaitu memiliki range 30-300. Hal ini sesuai dengan pendapat (Mubarak, *et al.*, 2016), yang menyatakan syarat perhitungan koloni bakteri adalah memilih cawan yang ditumbuhi koloni dengan jumlah 30-300 koloni/cawan. Hal ini dimaksudkan agar hasil perhitungan lebih akurat. Kemudian dilakukan perhitungan jumlah koloni menggunakan metode standar lokal yaitu sesuai SNI 01-2332.3-2006 tentang pengujian angka lempeng total atau *total plate counter*. Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times (d)}$$

Keterangan:

- N : Jumlah koloni produk dinyatakan dalam koloni per ml
 ΣC : Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
n1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung
n2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung
d : pengenceran pertama yang dihitung

3.6.2 Parameter Penunjang

a. Gejala Klinis

Pengamatan terhadap gejala klinis dilakukan secara visual untuk mengamati tingkah laku dan perubahan morfologi yang terjadi pada ikan nila uji. Pengamatan gejala klinis dilakukan setelah ikan nila diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada media pemeliharaan yang diamati setiap 24 jam selama 1 minggu.

b. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur pada penelitian ini adalah tingkat oksigen terlarut atau *Dissolved Oxygen* (DO), suhu air pada media pemeliharaan, dan derajat keasaman (pH). Pengukuran suhu, oksigen terlarut, dan derajat keasaman dilakukan dua kali sehari yaitu pagi hari pada pukul 08.00 WIB dan sore hari pada pukul 16.00 WIB.

Pengukuran oksigen terlarut menggunakan DO meter dengan cara pengoperasian menekan tombol "ON". Lalu dilakukan kalibrasi menggunakan akuades agar angka stabil. Selanjutnya elektrode DO meter dimasukkan ke dalam air sampel wadah pemeliharaan dan ditunggu hingga alat memunculkan tulisan "READY" atau angka konstan, dan dicatat hasilnya.

Pengukuran derajat keasaman menggunakan pH meter dengan cara yang sama dengan cara pengukuran DO meter yaitu dengan menekan tomo "ON". Lalu dilakukan kalibrasi dengan akuades agar angka stabil. Selanjutnya elektrode pH meter dimasukkan kedalam air sampel wadah pemeliharaan dan ditunggu

hingga alat memunculkan tulisan “*READY*” atau angka konstan, dan dicatat hasilnya. Pengukuran suhu dilakukan dengan melihat hasil yang muncul pada alat pH meter dikarenakan pH meter juga dapat mengukur suhu yang ada dalam wadah pemeliharaan.

3.7 Analisa Data

Data yang diperoleh akan dilakukan analisa secara statistik menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Tekecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik dan dilanjutkan dengan polynomial orthogonal untuk mengetahui uji responnya. Data yang diperoleh pada penelitian merupakan hasil perhitungan kepadatan bakteri.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Parameter Utama

4.1.1. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-1 Setelah Penginfeksi dan Sebelum Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Perhitungan kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu parameter utama pada penelitian ini. Hasil perhitungan kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setiap perlakuan sebelum dilakukan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dapat dilihat pada Tabel 3 dan Lampiran 12.

Tabel 3. Rerata Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-1 (10^3 cfu/mL)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	±STDEV
	1	2	3			
A	264	255	254	773	258	5.50
B	230	265	247	741	247	17.50
C	268	230	240	737	246	19.69
K+	330	220	250	800	267	56.86
K-	226	270	308	805	268	41.03
Total	1.318	1.240	1.299	3.856		

Berdasarkan Tabel 3, kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang telah diinfeksi menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* namun belum diberikan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi didapatkan kepadatan bakteri tertinggi pada perlakuan K- yaitu dengan rerata kepadatan 268×10^3 cfu/mL dan kepadatan bakteri terendah ada pada perlakuan C (72,5 ppm) dengan rerata kepadatan bakteri 246×10^3 cfu/mL.

4.1.2 Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4 Setelah Penginfeksi dan Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Pada hari keempat masa pemeliharaan, darah ikan nila dari masing-masing perlakuan diambil kembali untuk dihitung kepadatan bakterinya dengan melakukan pengenceran hingga 5 kali dan diambil 3 pengenceran terakhir. Hasil

perhitungan rerata kepadatan bakteri dalam darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) dengan perlakuan dosis yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 4 dan Lampiran 11.

Tabel 4. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4 (10^3 cfu/mL)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	±STDEV
	1	2	3			
A (52,5 ppm)	239	259	271	769	256.33	± 16.17
B (62,5ppm)	212	269	150	631	210.33	± 59.52
C (72,5 ppm)	331	245	261	837	279.00	± 45.74
K+	308	291	217	816	272.00	± 48.39
K-	323	304	256	883	294.33	± 34.53
Total	1.413	1.368	1.155	3936		

Berdasarkan Tabel 4, dapat dilihat hasil rerata perhitungan kepadatan bakteri dipertengahan sesudah pemberian perlakuan. Perlakuan dengan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi cumi yang memiliki kepadatan bakteri tertinggi ada pada perlakuan K- dengan rerata kepadatan bakteri 294×10^3 cfu/mL dan kepadatan bakteri terendah ada pada perlakuan B (62,5 ppm) dengan rerata kepadatan bakteri 211×10^3 cfu/mL. Setelah itu dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada darah ikan nila. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 5 dan lampiran 12.

Tabel 5. Tabel Sidik Ragam Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	12.405,60	3.101,60	1,64 ^{ns}	3,48	5,99
Acak	10	18.858,00	1.885,80			
Total	14	31.263,60				

Keterangan : ns) Tidak Berbeda Nyata

Berdasarkan Tabel 5 terlihat bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Hal ini ditunjukkan oleh hasil F hitung yang lebih rendah daripada F 5% dan F 1%.

Peningkatan jumlah kepadatan bakteri di hari ke-4 pada darah ikan nila diduga karena daya tahan tubuh yang kurang bagus dari ikan nila dan penggunaan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo sp.*) yang belum dapat dimaksimalkan oleh ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Hal ini sesuai dengan pernyataan Triyanto (1988) melaporkan bahwa rerata waktu kematian pada jenis ikan yang diinfeksi dengan *A. hydrophila* secara rendaman selama 60 menit adalah 5 – 10 hari. Selain disebabkan patogenisitas, serotype dan biotype maupun metode infeksi, kecepatan rerata waktu kematian juga tergantung dari daya tahan tubuh masing-masing individu ikan dan juga spesies ikan yang terinfeksi.

4.1.3 Perhitungan Kepadatan Bakteri Hari Ke-7 Setelah Penginfeksian dan Pemberian Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi

Pada hari ketujuh adalah masa pemeliharaan hari terakhir, dihari ketujuh ini darah ikan nila diambil kembali dari masing-masing perlakuan diambil untuk dihitung kepadatan bakterinya dengan melakukan pengenceran hingga 5 kali dan diambil 3 pengenceran terakhir. Hasil perhitungan rerata kepadatan bakteri dalam darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada tiap perlakuan setelah pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan perlakuan dosis yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Tabel 6 dan Lampiran 11.

Tabel 6. Rerata Perhitungan Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7 (10^3 cfu/mL)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	\pm STDEV
	1	2	3			
A (52,5 ppm)	278	290	291	859	286.33	\pm 7.24
B (62,5ppm)	171	214	114	499	166.33	\pm 50.17
C (72,5 ppm)	352	251	250	853	284.33	\pm 58.61
K+	323	250	279	852	284.00	\pm 36.76
K-	377	267	341	985	328.33	\pm 56.09
Total	1.501	1.272	1.275	4048		

Berdasarkan Tabel 6 dapat dilihat hasil rerata perhitungan kepadatan bakteri diakhir masa pemeliharaan sesudah pemberian perlakuan. Perlakuan dengan pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) yang memiliki kepadatan bakteri tertinggi ada pada perlakuan K- dengan rerata kepadatan bakteri 329×10^3 cfu/mL dan yang memiliki bakteri terendah ada pada perlakuan B (62,5 ppm) dengan rerata kepadatan bakteri 167×10^3 cfu/mL. Setelah itu dilakukan perhitungan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada darah ikan nila. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 7 dan Lampiran 12.

Tabel 7. Sidik Ragam Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	44.453,07	11.113,27	5,29*	3,48	5,99
Acak	10	20.998,67	2.099,87			
Total	14	65.451,73				

Keterangan : *) Berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 7 terlihat bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Hal ini ditunjukkan oleh hasil F hitung yang lebih besar daripada F 5% dan lebih kecil dibandingkan F 1%. Selanjutnya dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan pengaruh setiap perlakuan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi

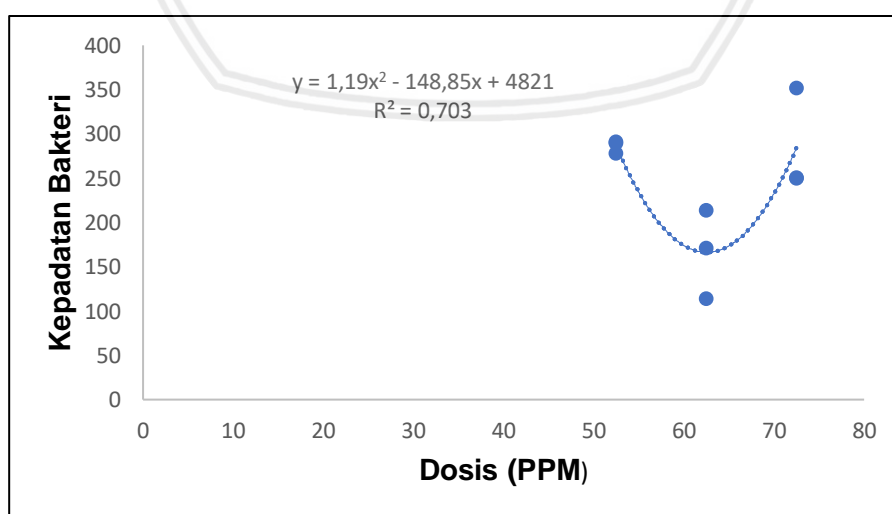
(*Loligo* sp.) yang diberikan terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Hasil uji beda nyata terkecil berdasarkan perhitungan dapat dilihat pada Tabel 8 dan Lampiran 12.

Tabel 8. Hasil Uji BNT Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7

Perlakuan	Rata rata	B	K+	Perlakuan C	A	K-	Notasi
		166,33	284,0	284,33	286,33	328,3	
B	166,33	0,00					a
K+	284,00	117,67*					ab
C	284,33	118,00*	0,33 ^{ns}				b
A	286,33	120,00*	2,33 ^{ns}	2,00 ^{ns}			b
K-	328,33	162,00**	44,33 ^{ns}	44,00 ^{ns}	42,00 ^{ns}		b

Keterangan : ns) Tidak berbeda nyata, *) Berbeda nyata, **)Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan Tabel 8, perlakuan B (62,5 ppm) memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan C (72,5 ppm) dan perlakuan A (52,5 ppm). Lalu hubungan antara perlakuan A (52,5 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (72,5 ppm). Selanjutnya untuk mengetahui bentuk hubungan antara pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada darah ikan nila dilakukan perhitungan polinomial orthogonal dan hasilnya dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Hubungan Antara Dosis Bubuk Ekstrak Tinta Cumi-Cumi Terhadap Kepadatan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Hubungan antara perbedaan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) terhadap kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* dipertengahan perhitungan menghasilkan hubungan atau grafik secara kuadratik dengan persamaan $y = 1.19x^2 - 148.85x + 4821$ dan koefisien determinasi R^2 sebesar 0,71. Nilai determinasi R^2 sebesar 0,71 dapat diartikan bahwa pemberian bubuk ekstrak tinta cumi-cumi berpengaruh sebesar 71% terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila. Kepadatan bakteri di akhir perhitungan yang dihasilkan berupa grafik kuadratik yang memiliki arti bahwa pada dosis tertentu bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dapat bekerja sebagai antibakteri yang ditandai dengan menurunnya kepadatan bakteri pada perlakuan B (62,5 ppm) tetapi jika dosis dinaikkan maka kepadatan bakteri akan kembali naik yang disebabkan oleh dimanfaatkannya alkaloid untuk proses pertumbuhan bakteri. Dari ketiga perlakuan tersebut didapatkan hasil terbaik dan efisien yaitu perlakuan B dengan dosis bubuk ekstrak tinta cumi-cumi 62,5 ppm karena diakhir penelitian perlakuan B memiliki rata-rata kepadatan bakteri yang lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu sebesar 167×10^3 cfu/mL. Menurut Sahu *et al.* (2011), patogenisitas dari bakteri *Aeromonas* dapat disebabkan oleh banyak faktor. Produk ekstraseluler dari kedua bakteri diduga sebagai salah satu faktor virulensi yang mengandung beberapa enzim dan hemosilin yang menyebabkan sitotoksik, sitolitik, hemolitik dan enterotoksik pada ikan yang terinfeksi.

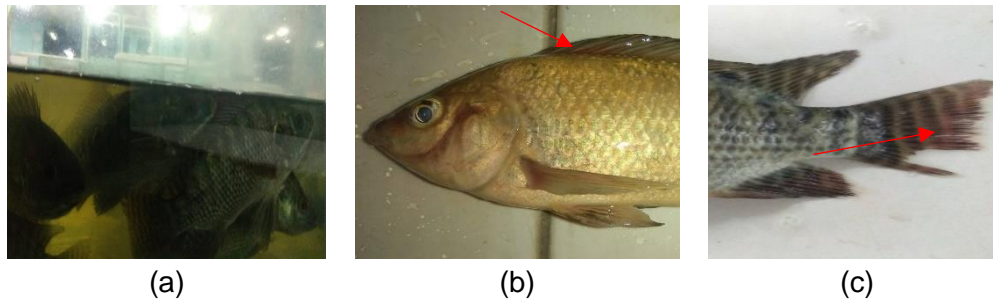
Hal ini sesuai dengan pendapat Radji dan Biomed (2011) yang menyebutkan bahwa nutrisi yang dibutuhkan oleh pertumbuhan mikroorganisme yaitu karbon, nitrogen, unsur non logam, unsur logam, vitamin dan air. Bakteri membutuhkan sumber-sumber makanan yang mengandung C, H, O dan N yang berguna untuk menyusun protoplasma. Karbon merupakan unsur utama bagi metabolisme bakteri, sehingga dapat dijadikan sebagai sumber nutrisi bakteri. Sumber karbon dapat diperoleh dari karbohidrat, protein dan lemak. Berdasarkan pendapat diatas,

dapat disimpulkan bahwa kandungan protein yang terdapat pada bubuk ekstrak tinta cumi-cumi pada dosis yang tinggi dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi oleh bakteri, sehingga menyebabkan pertumbuhannya semakin meningkat.

4.2. Parameter Penunjang

4.2.1 Gejala Klinis

Pengamatan dilakukan secara visual untuk mengetahui perbedaan tingkah laku dan perubahan morfologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) setelah penginfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* selama 1 hingga 6 jam. Berdasarkan hasil yang didapatkan pada saat perendaman bakteri, ikan nila terlihat berenang tidak normal yang ditandai dengan berenang berkerumun dan berenang mendekati titik aerasi. Pada saat dilakukan pengecekan morfologi sirip ekor terlihat gripis dan terdapat bercak kemerahan dibagian bawah sirip pectoral di beberapa 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 gripis. Gejala klinis pada ikan nila yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Gejala klinis setelah infeksi *Aeromonas hydrophila* berupa perubahan tingkah laku ikan nila (a), terdapat bercak kemerahan pada tubuh ikan nila (b) dan sirip ekor geripis (c).

Pada hari ke-7 pengamatan tingkah laku ikan pada perlakuan B (62,5 ppm) mulai membaik. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sudah dapat berenang dengan normal dan tidak mengumpul pada titik aerasi lagi. Keadaan tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) sudah dapat berenang dengan normal

4.2.2 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 13.

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 penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa penggunaan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi (*Loligo* sp.) berpengaruh terhadap kepadatan bakteri pada darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan dosis terbaik yaitu sebesar 62,5 ppm (Perlakuan B) yang dapat menurunkan kepadatan bakteri *Aeromonas hydrophila* menjadi 167×10^3 cfu/ml.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, disarankan untuk menggunakan bubuk ekstrak tinta cumi-cumi dengan dosis 62,5 ppm dalam penanggulangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* pada tambak 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 kepadatan bakteri pada darah ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto., E dan E. Liviawaty. 2009. Pengendalian hama dan penyakit ikan. Yogyakarta. Kanasius. 92 hlm
- Arie, U. 1998. Pembenihan dan Pembesaran Nila Gift. Penebar Swadaya. Jakarta. 128 hlm.
- Fadjar, M., Andajani, S., and Zaelani, K. 2016. Squid (*Loligo edulis*) ink raw extract as an anti-vibriosis substance in grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) juvenile culture infected by *Vibrio alginolyticus*. *AACL Bioflux*. 9(2) : 422–428.
- Fitrial, Y., dan Khotimah, I. K. 2017. Aktivitas antibakteri dari melanin tinta sotong dan cumi-cumi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20 (2) : 266–274.
- Derby, C. D. 2014. Cephalopod ink: Production, chemistry, functions and applications. *Marine Drugs*. 12(5) : 2700–2730.
- Dontriska ., A. D. Sasanti, dan Yulisman.2014. Efektivitas tepung jintan hitam (*nigella sativa*) untuk mencegah infeksi *aeromonas hydrophila* pada ikan patin. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*. 2(2) :188-201
- Hardi, E. H., C. A Pebrianto, T. Hidayanti dan R. T Handayani. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* melalui jalur yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan-Indonesian Journal of Veterinary Sciences*. 8 (2): 25-52.
- Holt, J. G., N. R. Kreig, P.H.A. Sneath, J. T. Staley, dan S. T. Williams. 1998. *Bergey's Manual of Determinative Microbiology*. 9th ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimore. 787 p.
- Kaemudin, A. Erlina dan A. Taslihan. 2016. Aplikasi ekstrak allisin untuk pengendalian penyakit kotoran putih pada udang vanamei (*Litopenaus vanamei*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. *Prosiding Seminar Nasional Tahun Ke-V Hasil-Hasil Penelitian Perikanan Dan Kelautan*. Hlm. 257-262.
- Kamiso, H. N., Triyanto, dan S. Hartati. 1994. Karakteristik *Aeromonas hydrophilla* pada ikan lele (*Clarias* sp.) di daerah istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah Selatan. *Agricultural Science*. 5 (4): 741-750.
- Khairuman dan Amri.2002. Aktivitas Bakteriosin Dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pada Berbagai Media.Makara Kesehatan. 6(1): 1-7.
- Khairuman dan K. Amri. 2011. 2,5 Bulan Panen Ikan Nila. Agromedia Pustaka. Jakarta. 202 hlm.

- Khoifah R E dan H. M. Pasa. 2016. Peran dinas peternakan dan perikanan dalam mengembangkan usaha perikanan budidaya di Kecamatan Tlogosari Kabupaten Bondowoso. *Politico*. **16**(2):11-23.
- KKP. 2014. *Ministry of Marine Affairs and Fisheries of the Republic of Indonesia*. 214 hlm.
- Kordi. 2014. Do the intestinal microbiotas differ between paddlefish (*Polyodon spathala*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) reared in the same pond?. *Journal of Applied Microbiology*.117(5): 1245-1252.
- Lestari, A. N., W. Abdulkadir dan H. Hasan. 2015. Uji efek sitotoksik tinta cumi-cumi (*Loligo sumatrensis*) terhadap larva udang (*Artemia salina* L) menggunakan metode BSLT (*Bhrine Shrimp Lethaly Test*). *Jurnal Farmasi*. **3** (3): 1-11.
- Lukistyowati, Isje. 2012. Studi Efektifitas Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Untuk Mencegah Penyakit Edwardsiellosis Pada Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*). *Jurnal berkala Perikanan Terubuk*. **40** (2): 56 – 74.
- Mubarak, Z., Chrismirina, S., & Daulay, H. H. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami Dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, **1**(2), 175–186.
- Munar, S., D. Aliza, dan I. I. Arisa. 2016. Identifikasi dan prevalensi endoparasit pada usus ikan bawal air tawar (*Colossoma macropomum*) kolam budidaya di desa nya, Kecamatan Simpang Tiga, Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa dan Perikanan Unsyiah*. **1** (2): 236-242.
- Noerbaeti, E., H. Pattah, dan W. Nuraini. 2016. Potensi ekstrak daun gamal *Gliricidia sepium* antibakteri *Vibrio* sp. dan *flexibacter maritimum*. *Jurnal Teknologi Budidaya Laut*. **6** (1): 43-49.
- Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* asb01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. **14** (1): 33 – 39.
- Prastito, A. 2004. Cara Mudah Mengatasi Masalah Statistik dan Rancangan Percobaan dengan SPSS 12. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta. 283 hlm.
- Radji, M. dan M. Biomed. 2011. Buku Ajar Mikrobiologi. Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran. EGC. Jakarta. 320 hlm.
- 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.
- Rahmaningsih, S. 2016. Hama dan Penyakit Ikan. Deepublisher. Yogyakarta. 352 hlm.
- Rodrigo, K. 2016. Memproduksi Kompos dan Mikro Organisme Lokal (MOL). Bibit Publisher. Jakarta Timur.130 hlm.

- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan Jilid I. Binacipta. Bandung. 245 hlm.
- Sahu, I., B. K. Das, N. Marhual, M. Samanta, B.K. Mishra, and A. E. Eknath. 2011. Toxicity of crude extracellular product of *Aeromonas hydrophila* on Rohu, *Labeo Rohita* (Ham.). *Indian J. Microbiol.* **51** (4): 515-520.
- Samsundari, S dan G. A. Wirawan. 2013. Analisis Penerapan Biofilter dalam Sistem Resirkulasi terhadap Mutu Kualitas Air Budidaya Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*). *Jurnal Gamma.* 8(2): 86 – 97.
- Solso, R. L MacLin, M. K, O. H. 2005. *Cognitive Psychologi.* New York. 113p
- Sasaki, J., K. Ishita, K. Takaya, Y. Uchisawa, H. Matsue. 1997. Anti-tumor activity of squid ink. *Journal Nutrition Science Vitaminology.* **43** (1): 455-461.
- Sucipto, A dan R. E. Prihartono. 2007. Pembesaran Nila Merah Bangkok. Penebar Swadaya. Jakarta. 156 hlm.
- Suyanto, M. J dan E. C. S. Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 443 hlm.
- Tresna, L. K., Y. Dhahiyat, dan T. Herawati. 2012. Kebiasaan makan dan luas relung ikan di hulu sungai Cimanuk Kabupaten Garut, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan.* **3** (3): 163-173.
- Trisna, D. E., A. D. Sasanti dan Muslim. Populasi bakteri, kualitas air media pemeliharaan dan histologi benih ikan gabus (*Channa striata*) yang diberi pakan berprobiotik. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia.* **1**(1): 90-102
- Wahjuningrum, D., Astrini, R., & Setiawati, M. 2013. Pencegahan *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele menggunakan bawang putih dan meniran Prevention of *Aeromonas hydrophila* on catfish juvenile using garlic and shatterstone herb. *Jurnal Akuakultur Indonesia.* **12**(1): 86–94.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat -Alat Penelitian yang Digunakan



Kulkas



Autoklaf



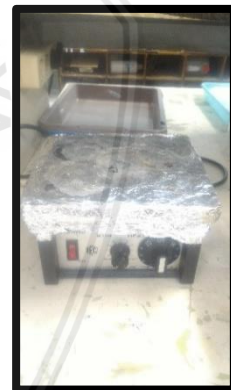
Destruktor



Inkubator



Oven



Hotplate



Timbangan Analitik



Total Plate Count



Blower

Lampiran 1. (Lanjutan)



Batu Aerasi



Selang Aerasi



Stoper



Akuarium



Thermometer Hg



Heater



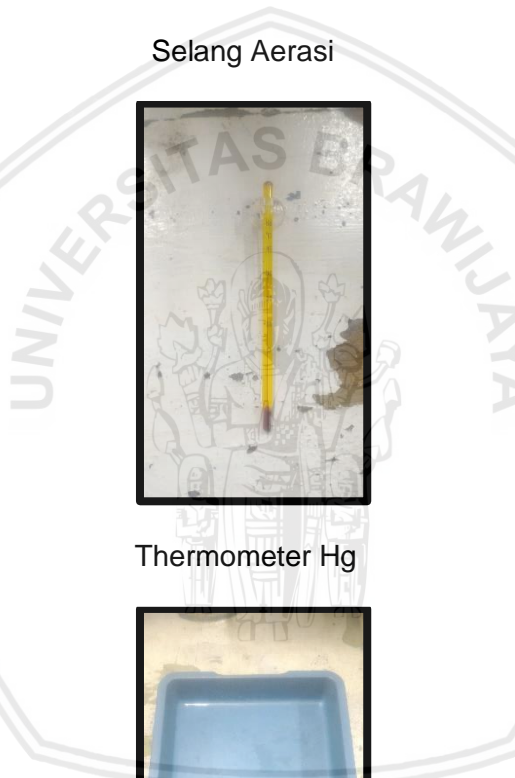
Seser



Nampan



Kabel Roll



Lampiran 1. (Lanjutan)



Mikropipet



Rak Tabung Reaksi



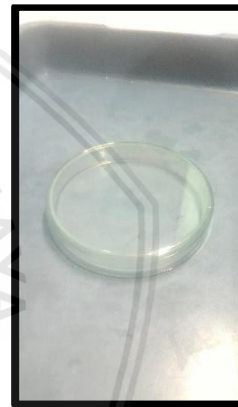
Washing Bottle



Tabung Reaksi



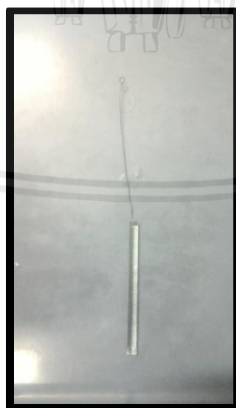
Erlenmeyer



Cawan Petri



Spatula



Jarum Ose



Bunsen



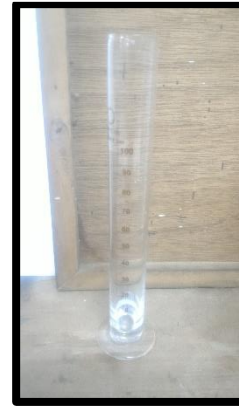
Lampiran 1. (Lanjutan)



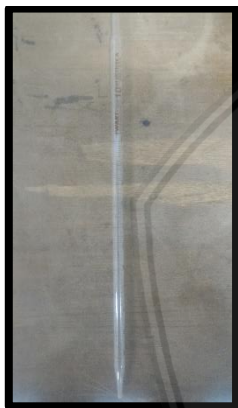
Bola Hisap



Sprayer



Gelas Ukur



Pipet Volume



Laminary Air Flow



Vortex Mixer



Lampiran 2. Bahan-Bahan Penelitian yang Digunakan



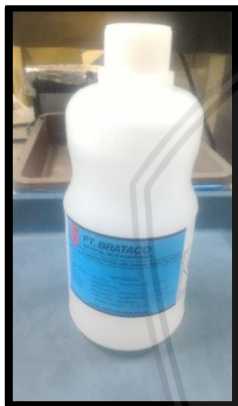
Chlorin



Plate Count Agar



Bluetip



Methanol



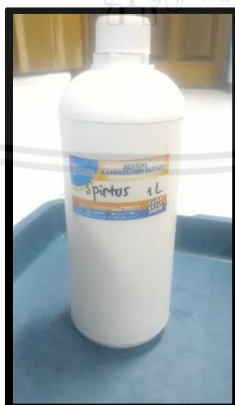
Aquades



Tube



Sprit 1 ml



Spiritus



Alkohol 70%

Lampiran 2. (Lanjutan)



Tisu



Masker



Benang Kasur



Kapas



Alumunium Foil



NaCL



Kasa



Plastik Warp



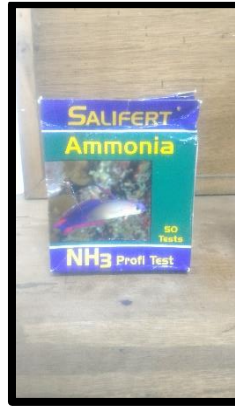
Kertas



Lampiran 2. (Lanjutan)



Pakan Ikan



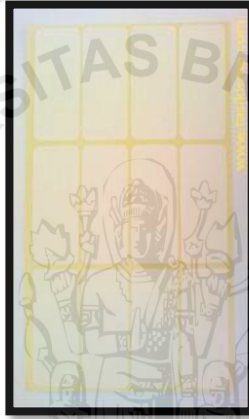
TestKit Ammonia



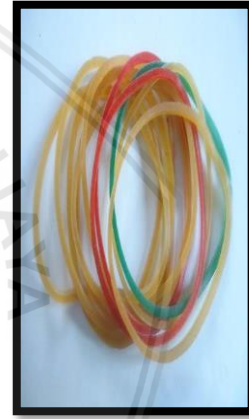
Bubuk Ekstrak



Sarung Tangan



Kertas Label



Karet Gelang



Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Ikan nila yang mati terinfeksi
A. hydrophila



Bakteri pada Media PCA

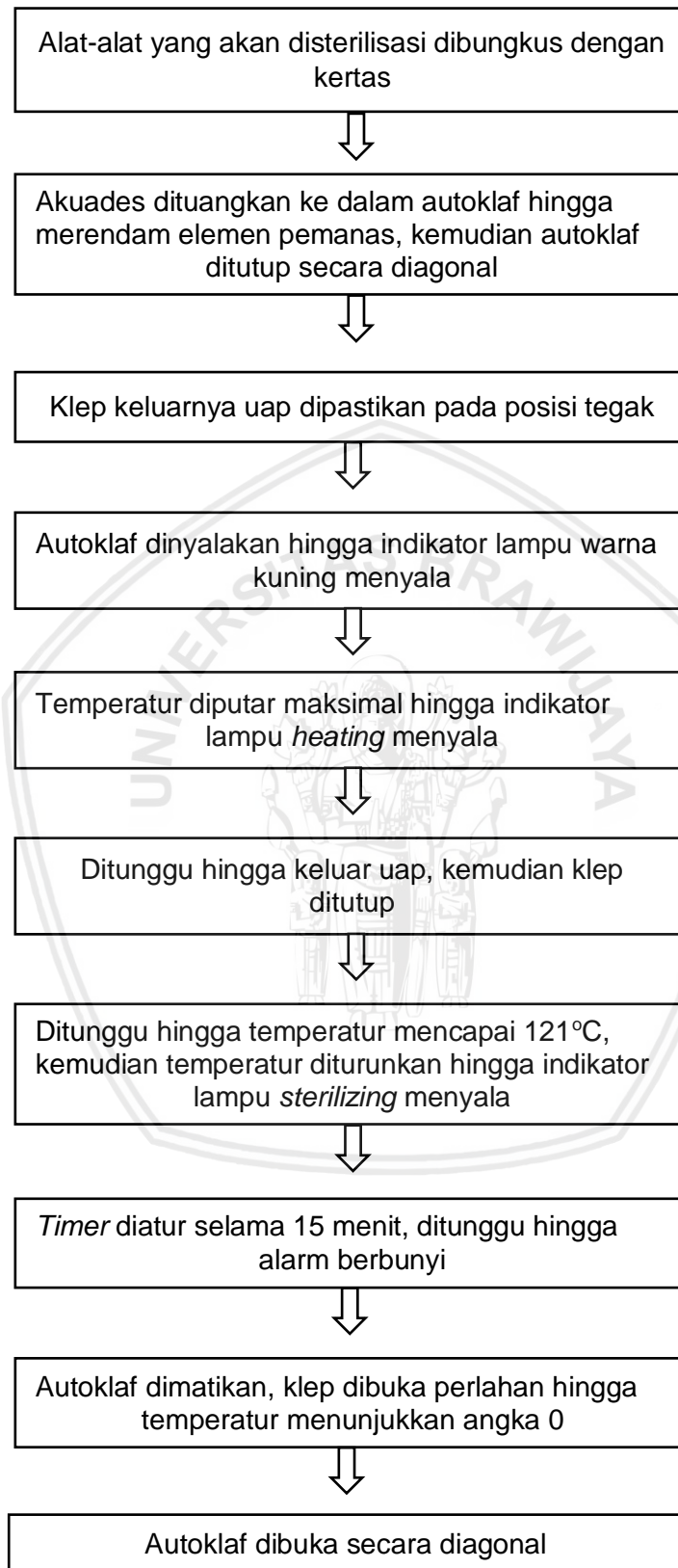


Sterilisasi

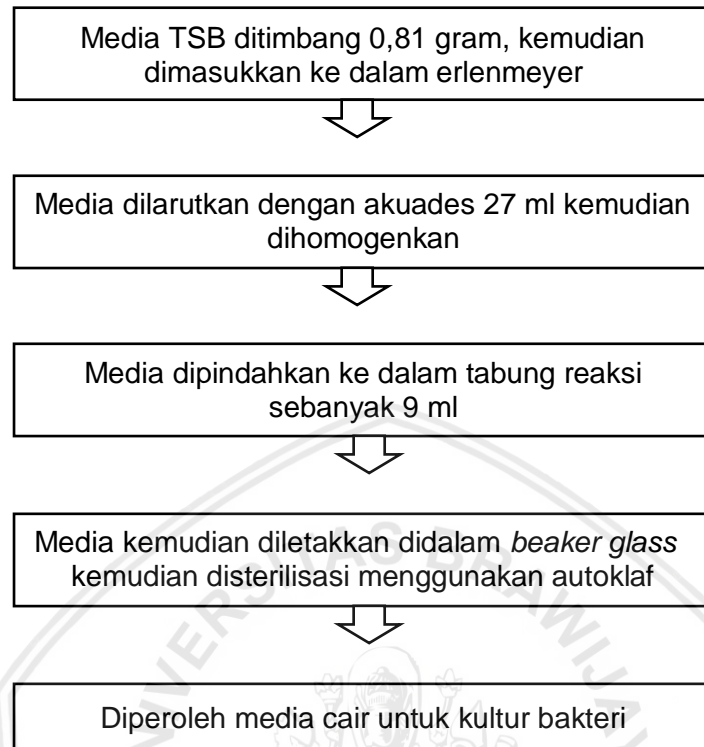


Penyifonan

Lampiran 4. Proses Sterilisasi



Lampiran 5. Proses Pembuatan Media *Tryptic Soy Broth*

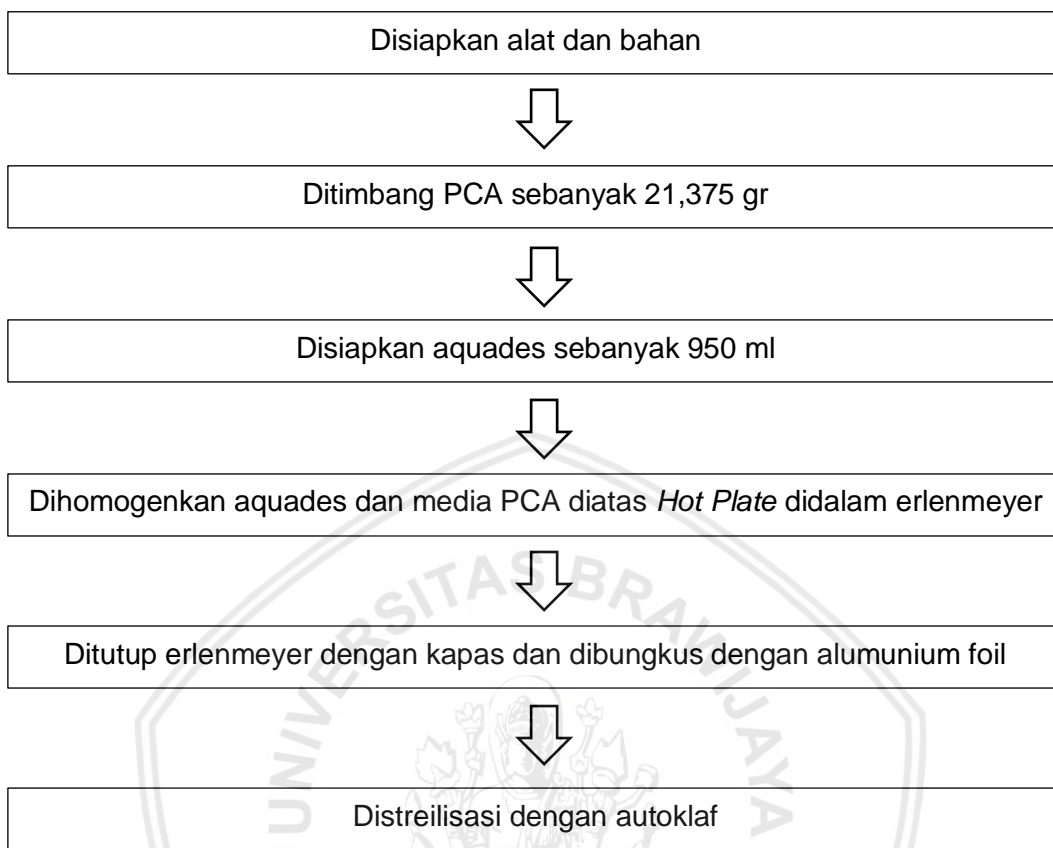


- Pembuatan Media TSB (*Tryptic Soy Broth*)

Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan media TSB (*Tryptic Soy Broth*) tertera pembuatan media cair TSB dalam 1 liter menggunakan 30 gram. Media yang diinginkan 150 ml. Jadi, perhitungannya sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{TSB} &= \frac{30}{1000} = \frac{x}{150 \text{ ml}} \\ &= 4,5 \text{ gram} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Proses Pembuatan Media *Plate Count Agar*



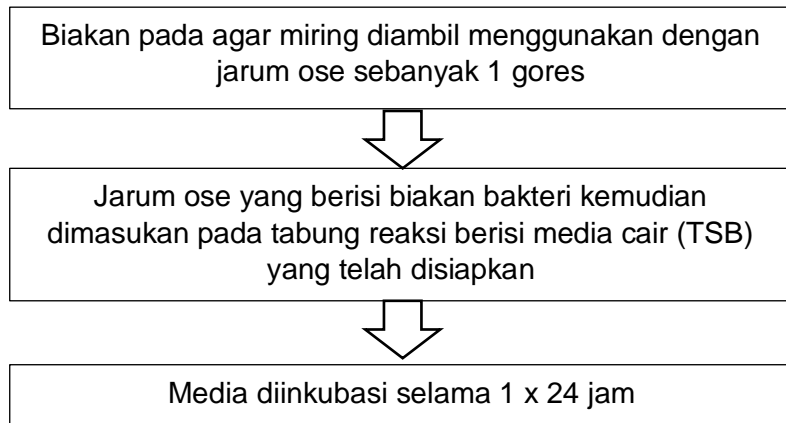
- Pembuatan Media PCA (*Plate Count Agar*)

Berdasarkan petunjuk penggunaan pada kemasan media PCA (*Plate Count Agar*) tertera pembuatan media agar PCA dalam 1 liter menggunakan 22,5 gram. Media yang diinginkan adalah 500 ml. Jadi, perhitungannya sebagai berikut:

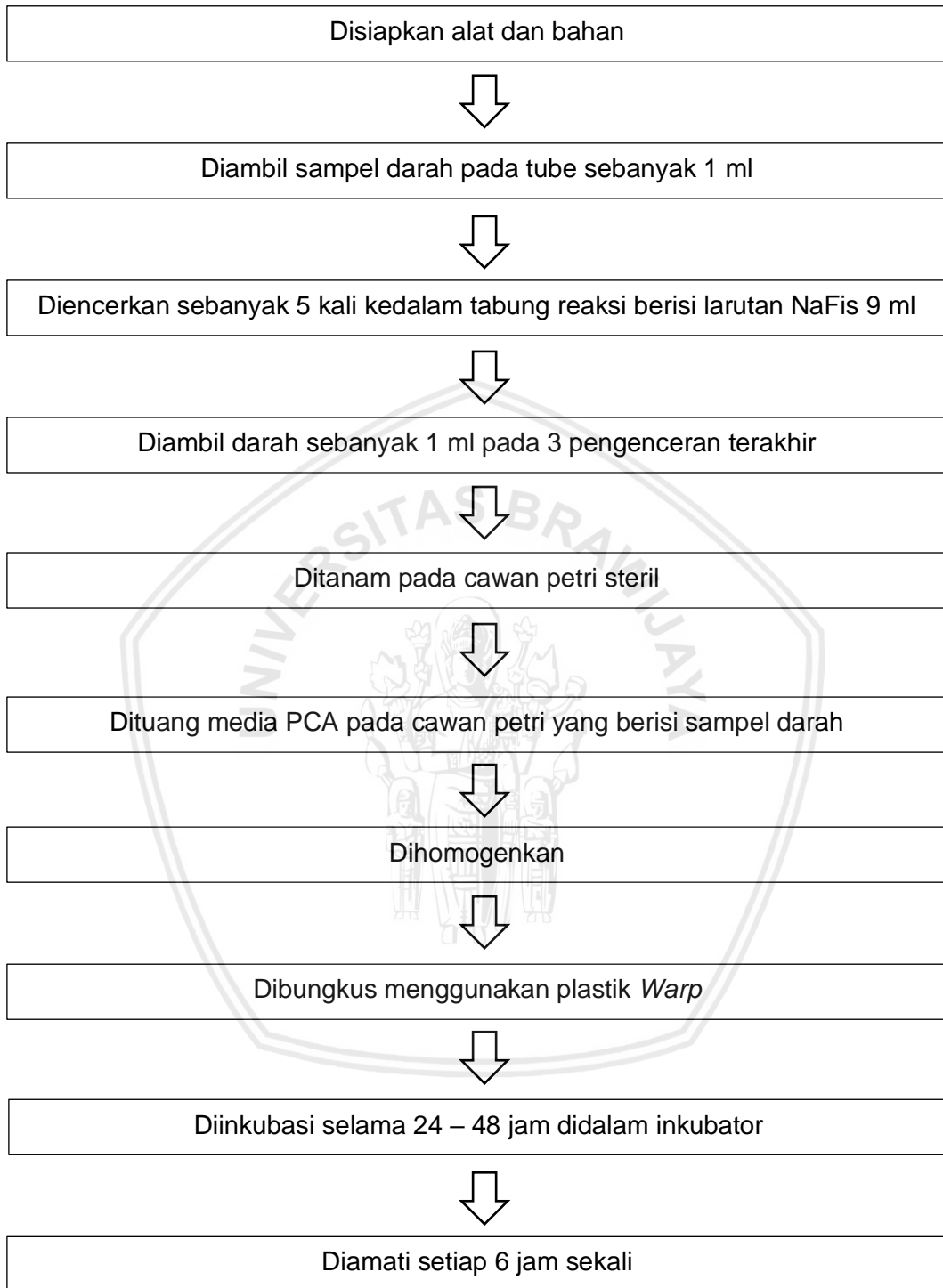
$$\begin{aligned} \text{PCA} &= \frac{22,5}{1000} = \frac{x}{950} \\ &= 21,375 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{NaCl} &= \frac{0,9}{100} \times (9 \text{ ml} \times 75 \text{ tabung reaksi}) \\ &= 6,075 \text{ gram} \end{aligned}$$

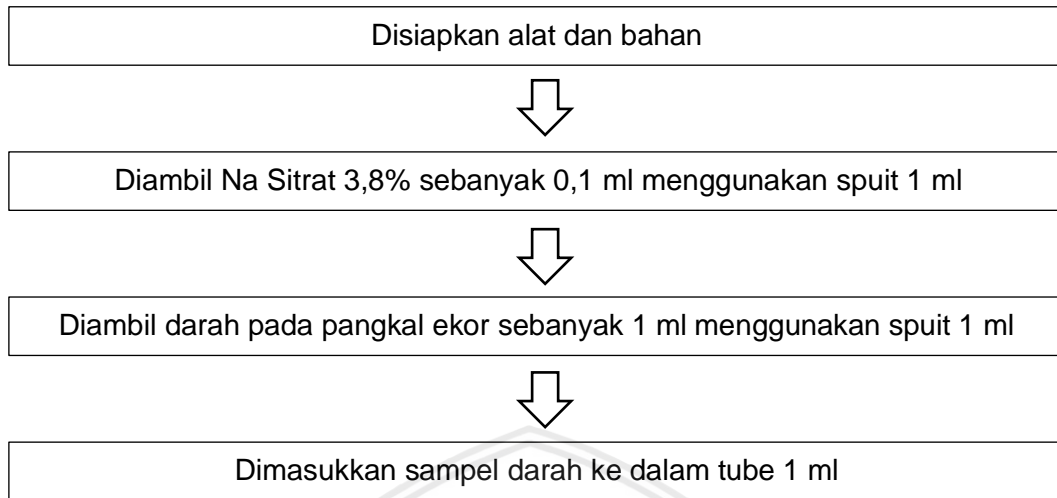
Lampiran 7. Proses Kulltur pada Media Cair



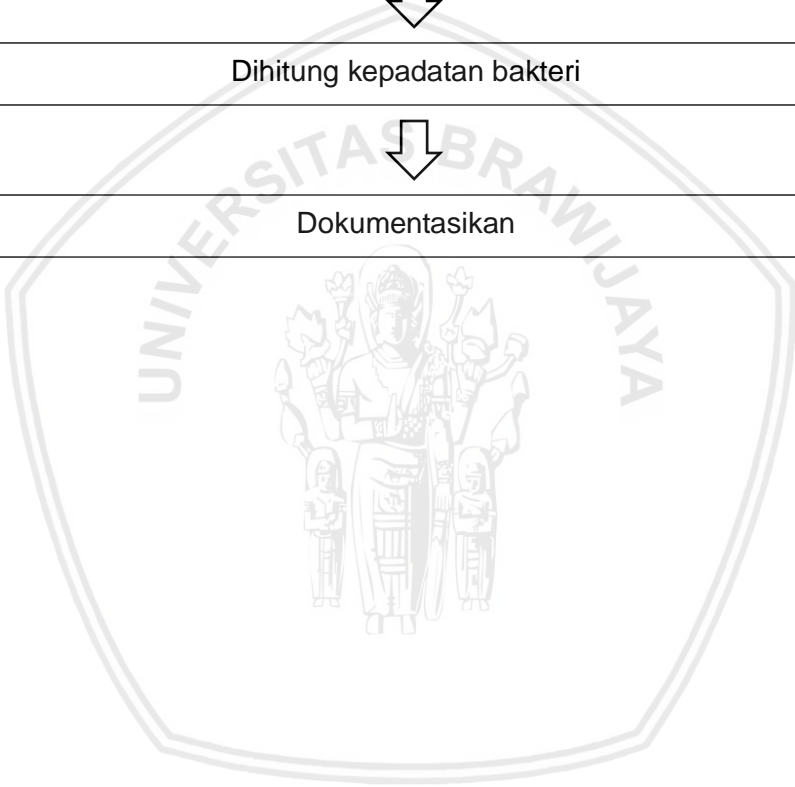
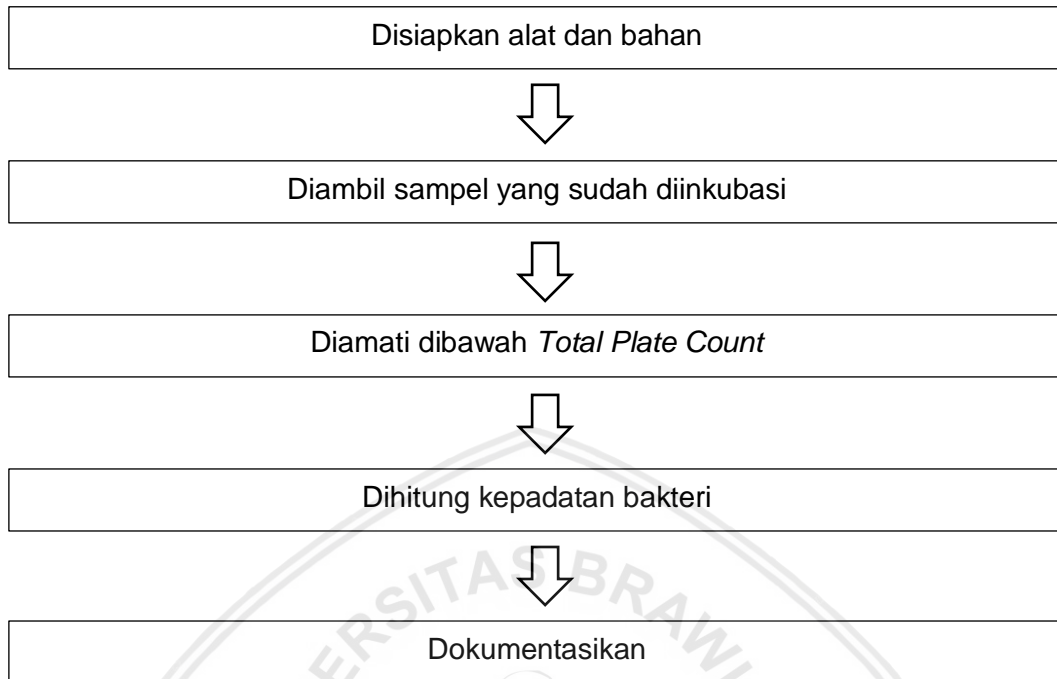
Lampiran 8. Proses Penanaman Bakteri



Lampiran 9. Proses Pengambilan Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)



Lampiran 10. Proses Perhitungan Kepadatan Bakteri



Lampiran 11. Rerata Kepadatan Bakteri**a. Rerata Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-1 (10^3 cfu/ml)**

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	264	255	254	773	258
B	230	265	247	741	247
C	268	230	240	737	246
K+	330	220	250	800	267
K-	226	270	308	805	268
Total				3.856	

b. Rerata Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-4 (10^3 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	239	259	271	768	256
B	212	269	150	632	211
C	331	245	261	837	279
K+	308	291	217	816	272
K-	323	304	256	883	294
Total				3.936	

c. Rerata Kepadatan Bakteri Pada Hari Ke-7 (10^3 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	278	290	291	859	286
B	171	214	114	500	167
C	352	251	250	854	284
K+	323	250	279	852	284
K-	377	267	341	986	329
Total				4.051	

Lampiran 12. Analisis Data Perhitungan Kepadatan Bakteri

a) Analisis Data Perhitungan Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-4

Rerata Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-4 (10^3 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	239	259	271	768	256
B	212	269	150	632	211
C	331	245	261	837	279
K+	308	291	217	816	272
K-	323	304	256	883	294
Total				3.936	

Perhitungan

- Faktor Koreksi

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

$$= \frac{(2.237)^2}{3 \times 5}$$

$$= 1.032.806,4$$
- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

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

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

$$= (239)^2 + (259)^2 + (271)^2 + \dots + (261)^2 - 1.032.806,4$$

$$= 31.263,6$$
- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

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

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

$$= \frac{(768)^2 + (632)^2 + (837)^2}{3} - 1.032.806,4$$

$$= 12.405,6$$
- Jumlah Kuadrat Acak (JKA)

$$= JKT - JKP$$

$$= 31.263,6 - 12.405,6$$

$$= 18.858$$
- db Total

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

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



Lampiran 12. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{12.405,60}{4} \\
 &= 3.101,4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{18.885}{10} \\
 &= 1.885,8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{3.101,4}{1.885,5} \\
 &= 1,64
 \end{aligned}$$

Analisa Sidik Ragam Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-4

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	12.405,60	3.101,60	1,64 ^{ns}	3,48	5,99
Acak	10	18.858,00	1.885,80			
Total	14	31.263,60				

ns) Tidak Berbeda Nyata

Lampiran 12. (Lanjutan)

b) Analisis Data Perhitungan Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7

Rerata Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7 (10^3 cfu/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata
	1	2	3		
A	278	290	291	859	286
B	171	214	114	500	167
C	352	251	250	854	284
K+	323	250	279	852	284
K-	377	267	341	986	329
Total				4.051	

Perhitungan

- Faktor Koreksi

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

$$= \frac{(4.051)^2}{5 \times 3}$$

$$= 1.092.420,27$$
- Jumlah Kuadrat Total (JKT) = $\sum X_{ij}^2 - FK$

$$= (A_1)^2 + (A_2)^2 + (A_3)^2 + \dots + (K_3)^2 - FK$$

$$= (278)^2 + (290)^2 + (291)^2 + \dots + (341)^2 - 1.092.420,27$$

$$= 65.451,733$$
- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP) = $\frac{(\sum X_i)^2}{r} - FK$

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

$$= \frac{(859)^2 + (500)^2 + \dots + (986)^2}{3} - 1.092.420,27$$

$$= 44.453,067$$
- Jumlah Kuadrat Acak (JKA) = JKT - JKP

$$= 65.451,73 - 44.453,067$$

$$= 20.998,68$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Total} &= (n \times r) - 1 \\
 &= (5 \times 3) - 1 \\
 &= 14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 5 - 1 \\
 &= 4
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Acak} &= n (r - 1) \\
 &= 5 (3 - 1) \\
 &= 14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db} \\
 &= \frac{44.453,067}{4} \\
 &= 11.113,27
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ Kuadrat Tengah Acak} &= \frac{JKA}{db} \\
 &= \frac{20.998,68}{10} \\
 &= 2.099,8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Acak}} \\
 &= \frac{11.113,27}{2.099,87} \\
 &= 5,29
 \end{aligned}$$

Analisa Sidik Ragam Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F. Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	4	44.453,07	11.113,27	5,29*	3,48	5,99
Acak	10	20.998,67	2.099,87			
Total	14	65.451,73				

*) Berbeda Nyata

Perhitungan

Lampiran 12. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} 1. \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2xKTA}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2x2.099,87}{3}} = 37,42 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 2. \text{ BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\% (db acak) x SED} \\ &= 2,23 \times 37,42 \\ &= 83,377 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 3. \text{ BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\% (db acak) x SED} \\ &= 3,17 \times 37,42 \\ &= 118,594 \end{aligned}$$

Hasil Uji BNT Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7

Perlakuan	Rata rata	B	K+	Perlakuan C	A	K-	Notasi
		166,33	284,0	284,33	286,33	328,3	
B	166,33	0,00					a
K+	284,00	117,67*					ab
C	284,33	118,00*	0,33 ^{ns}				b
A	286,33	120,00*	2,33 ^{ns}	2,00 ^{ns}			b
K-	328,33	162,00**	44,33 ^{ns}	44,00 ^{ns}	42,00 ^{ns}		b

ns) Tidak berbeda nyata **) Berbeda sangat nyata *)Berbeda Nyata

Berdasarkan Tabel uji BNT, perlakuan B (62,5 ppm) memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan C (72,5 ppm) dan perlakuan A (52,5 ppm). Lalu hubungan antara perlakuan A (52,5 ppm) tidak berbeda nyata dengan perlakuan C (72,5 ppm).

Lampiran 12 (Lanjutan)

Tabel Uji Polinomial Orthogonal Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7

Perlakuan	Total	Perbandingan	
		Linier	Kuadratik
A	859	-1	1
B	499	0	-2
C	853	1	1
Q= $\sum C_i \cdot T_i$		-6	714
Hasil Kuadratik		2	6
Kr= $(\sum C_i^2) \cdot r$		6	18
JK= Q^2 / Kr		6	28.322
JK Regresi			28.328

Perhitungan:

- Q Linier

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (-1 \times 859) + (0 \times 499) + (1 \times 853)$$

$$= -6$$
- Q Kuadratik

$$= \sum (C_i \times T_i)$$

$$= (1 \times 859) + (-2 \times 499) + (1 \times 853)$$

$$= 714$$
- Hasil Kuadrat Ci Linier

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

$$= 2$$
- Hasil Kuadrat Ci Kuadratik

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

$$= 6$$
- KR Linier

$$= (\sum C_i)^2 \times r$$

$$= 2 \times 3$$

$$= 6$$
- KR Kuadratik

$$= (\sum C_i)^2 \times r$$

$$= 6 \times 3$$

$$= 18$$



Lampiran 12. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 7. \text{ JK Linier} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{-6^2}{6} \\
 &= 6
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ JK Kuadratik} &= \frac{Q^2}{KR} \\
 &= \frac{714^2}{18} \\
 &= 28.322
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ Total JK Regresi} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} \\
 &= 6 + 28.322 \\
 &= 28.328
 \end{aligned}$$

Tabel Sidik Ragam Regresi Polinomial Orthogonal Kepadatan Bakteri pada Hari Ke-7

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F. Hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	28.328	14.164	0,5	5,14	10,92
Linier	1	6	6	0,003		
Kuadratik	1	28.322	28.322	14,16		
Acak	6	12.006	2.001			
Total	10	40.334				

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 1. R^2 \text{ Linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{6}{6 + 12.006} \\
 &= 0,005
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{28.322}{28.322 + 12.006} \\
 &= 0,71
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

Hasil perhitungan R^2 diatas menunjukkan bahwa nilai R^2 kuadratik lebih besar dibandingkan dengan nilai R^2 linier, yaitu sebesar 0,71. Berdasarkan hasil tersebut, maka arah laju kurva yang digunakan adalah kurva kuadratik. Langkah selanjutnya yaitu mencari persamaan regresi kuadratik.

NO	Dosis (x)	Kepadatan Bakteri (y)	xy	X^2
1	52,5	278	14.595	2.756,25
2	52,5	290	15.225	2.756,25
3	52,5	291	15.277,5	2.756,25
4	62,5	171	10.687,5	3.906,25
5	62,5	214	13.375	3.906,25
6	62,5	114	7.125	3.906,25
7	72,5	352	25.520	5.256,25
8	72,5	251	18.197,5	5.256,25
9	72,5	250	18.125	5.256,25
Total	562,5	2.211	138.127,5	35.756,25
Rata-rata	62,5	245,67	15.347,5	3.972,917

- Persamaan polynomial orthogonal : $y = b_2.X^2 + b_1.x + b_0$

Dari data yang diatas data dapat ditarik persamaan sebagai berikut :

1. $286,28 = b_2. (2.756,25) + b_1 (52,5) + b_0$
2. $166,33 = b_2. (3.906,25) + b_1 (62,5) + b_0$
3. $289,33 = b_2. (5.256,25) + b_1 (72,5) + b_0$

- Mencari b_2, b_1 , dan b_0 menggunakan persamaan

- Mencari b_2

- ❖ $286,28 = b_2. (2.756,25) + b_1 (52,5) + b_0$

- $166,33 = b_2. (3.906,25) + b_1 (62,5) + b_0$

- $119,95 = -1.150 b_2 + 10 b_1 \dots\dots (Persamaan 1)$

$$\diamond 286,28 = b_2 \cdot (2.756,25) + b_1 (62,5) + b_0$$

$$284,33 = b_2 \cdot (5.256,25) + b_1 (72,5) + b_0$$

$$1,98 = -2.500 b_2 + 20 b_1 \dots\dots \text{(Persamaan 2)}$$

❖ Mengurangi persamaan 1 dan 2

$$119,95 = -1.150 b_2 + 20 b_1 \quad (\times 2)$$

$$1,98 = -2.500 b_2 + 20 b_1 \quad (\times 1)$$

$$237,92 = 200 b_2$$

$$b_2 = 1,19$$

• Mencari b1

$$\diamond 1,98 = -2.500 b_2 + 20 b_1$$

$$1,98 = -2.500 (1,19) + 20 b_1$$

$$-20 b_1 = -2.975 - 1,98$$

$$b_1 = -148,85$$

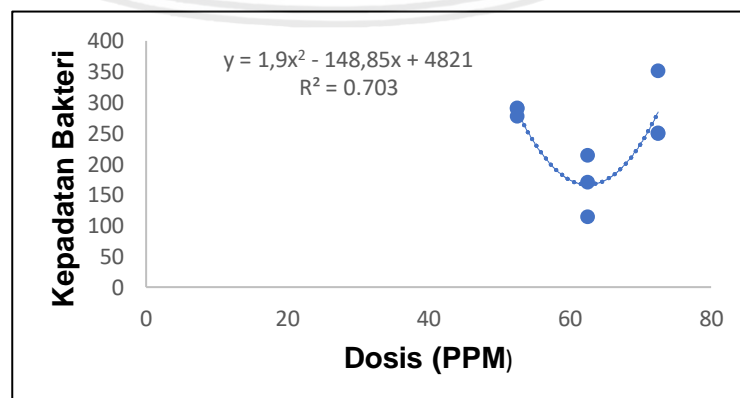
• Mencari b0

$$\diamond 286,28 = b_2 \cdot (2.756,25) + b_1 (52,5) + b_0$$

$$286,28 = 1,19 (2.756,25) + (-148,85) (52,5) + b_0$$

$$-b_0 = 3.279,93 - 7.814,25 - 286,28$$

$$b_0 = 4.820,97$$



Lampiran 13. Data Kualitas Air

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 13. (Lanjutan)

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 13. (Lanjutan)

Oksigen Terlarut (Pagi ppm)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52,5ppm)	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 13. (Lanjutan)

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 13. (Lanjutan)

pH (Pagi)

Perlakuan	Ulangan	Pengukuran hari ke-						
		1	2	3	4	5	6	7
A (52, 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 13. (Lanjutan)

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

