

**PENGARUH PERLUKAAAN DAN PENGINFEKSIAN *Aeromonas hydrophila*
SERTA PEMUASAAN TERHADAP GAMBARAN HEMATOLOGI
IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)**

**LAPORAN SKRIPSI
MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
BUDIDAYA PERAIRAN**

**a
Oleh :
QURROTA A'YUNIN
NIM. 0410850061**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2008**

**PENGARUH PERLUKAAN DAN PENGINFEKSIAN *Aeromonas hydrophila*
SERTA PEMUASAAN TERHADAP GAMBARAN HEMATOLOGI
IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)**

**Laporan Skripsi Ini Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Sarjana Perikanan Pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh :

QURROTA A'YUNIN

NIM. 0410850061

DOSEN PENGUJI I

(Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS.)

TANGGAL :

DOSEN PENGUJI II

(Ir. ELLANA SANOESI, MP.)

TANGGAL :

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

(Dr. Ir. MAFTUCH, M.Si.)

TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II

(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS.)

TANGGAL :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN**

(Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS.)

TANGGAL :

RINGKASAN

QURROTA A'YUNIN. Pengaruh Perlukaan dan Penginfeksi *Aeromonas hydrophilla* serta Pemuasaan Terhadap Gambaran Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. MAFTUCH, M.Si.** dan **Ir. MAHENO SRI WIDODO, MS.**).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 1 Maret – 30 April 2008.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perlukaan, penginfeksi *Aeromonas hydrophilla*, dan pemuasaan terhadap gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat, dilukai, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dan dipuasakan selama 1 minggu.

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi tentang gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dipuasakan pada periode tertentu dan dilukai, serta sebagai salah satu data yang dapat digunakan untuk menentukan interval acuan hematologi dalam diagnostik kesehatan ikan mas (*Cyprinus carpio*).

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Rancangannya menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 kali ulangan. Sebagai perlakuan adalah ikan mas yang dilukai, diinfeksi *Aeromonas hydrophilla*, dan yang dipuasakan. Ikan uji menggunakan ikan Mas berukuran 10 – 12 cm yang diperoleh dari petani ikan di Kabupaten Kediri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksi dan pemuasaan) memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah eritrosit, jumlah leukosit, jumlah neutrofil, dan jumlah leukosit. Sedangkan jumlah monosit menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Ini berarti menerima H1 dan menolak H0.

Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh nilai rata-rata kadar hemoglobin terendah adalah perlakuan T2 (penginfeksi) yaitu 4,99 g %, sedangkan nilai tertinggi adalah pada ikan kontrol (T0) yaitu 6,14 g %, untuk ikan yang dilukai (T1) rata-rata 5,33 g %, dan pada ikan yang dipuasakan (T3) sebesar 6,13 g %.

Nilai rata-rata hematokrit pada ikan mas terendah adalah pada ikan yang diinfeksi (T2) rata-rata sebesar 24,5 %, pada ikan yang dilukai (T1) rata-rata 25,3 % dan pada ikan yang dipuasakan (T3) rata-rata sebesar 26,99 %, sedangkan nilai tertinggi adalah pada ikan kontrol (T0) yaitu 27,23 %.

Jumlah eritrosit terendah adalah pada ikan mas diinfeksi (T2) rata-ratanya yaitu $101,33 \times 10^4$ sel/mm³, sedangkan nilai tertinggi adalah pada ikan kontrol (T0) yaitu 141×10^4 sel/mm³. Pada ikan yang dilukai (T1) jumlah rata-rata eritrositnya yaitu $109,67 \times 10^4$ sel/mm³ dan pada ikan yang dipuasakan yaitu $123,67 \times 10^4$ sel/mm³.

Jumlah leukosit terendah adalah pada ikan mas kontrol (T0) rata-ratanya yaitu 103386,67 sel/mm³ dan tertinggi adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 137040

sel/mm³, sedangkan untuk nilai ikan mas yang dilukai yaitu 121746,67 sel/mm³ dan ikan mas yang dipuasakan (T3) yaitu 109720 sel/mm³.

Persentase neutrofil tertinggi adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) rata-ratanya yaitu 21,75 % dan yang paling rendah adalah pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 12,01 %. Sedangkan pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 21,58 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 19,6 %.

Rata-rata persentase monosit tertinggi adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 11,39 % dan yang paling rendah adalah pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 8,03 %. Sedangkan pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 10,28 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 9,4 %.

Rata-rata persentase limfosit tertinggi adalah pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 74,93 % dan yang paling rendah adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 65,25 %. Sedangkan pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 65,86 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 68,10 %.

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*). Kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah eritrosit, dan persentase limfosit ikan mas setiap perlakuan mengalami penurunan dibandingkan ikan mas kontrol (T0), dimana nilai paling rendah adalah pada perlakuan T2 (penginfeksian) sedangkan persentase leukosit, neutrofil, dan monosit ikan mas setiap perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan ikan mas kontrol (T0), dimana nilai paling tinggi adalah pada perlakuan T2 (penginfeksian). Pada ikan kontrol ditemukan jumlah neutrofil (12,01%), nilai tersebut berada diatas kisaran normal (6-8%) yang mengindikasikan bahwa pada ikan mas kontrol telah terjadi infeksi.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan nikmat-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Perlukaan, Penginfeksi *Aeromonas hydrophilla*, dan Pemuasaan Terhadap Gambaran Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)”. Namun karena keterbatasan akal dan kemampuan penyusunlah tentunya, sehingga penyusunan tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penyusun berkeinginan menyampaikan ucapan terimakasih yang tiada terhingga kepada:

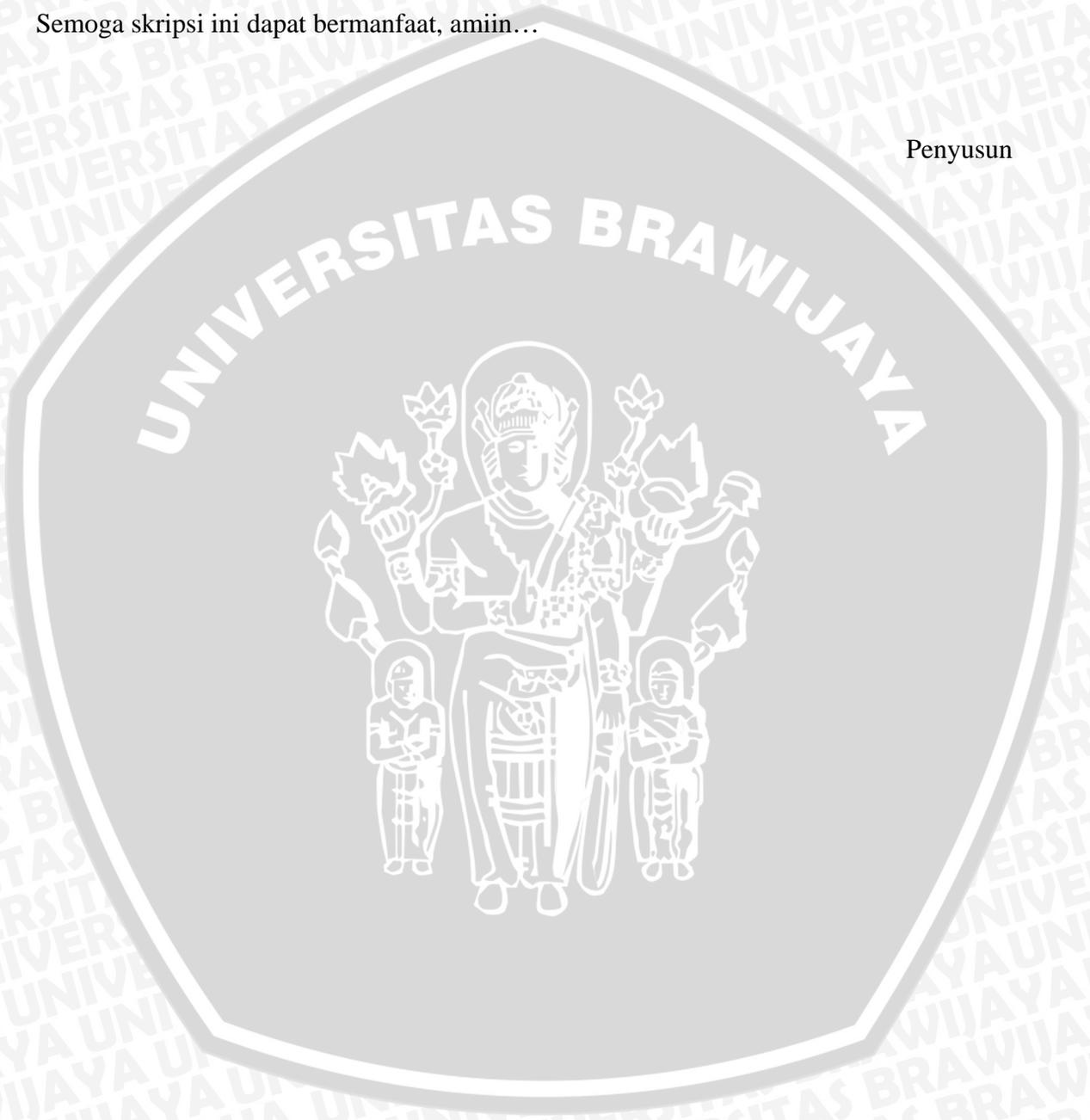
1. Dr. Ir. Maftuch, M.Si. dan Ir. Maheno Sri Widodo, MS., selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan banyak waktu dan memberikan saran serta bimbingan
2. Para dosen Fakultas Perikanan UB yang telah memberikan ilmunya
3. Seluruh staf TU dan laboran Fakultas Perikanan UB yang telah banyak membantu
4. Ayah ibundaku tercinta atas segala support, motivasi dan doanya
5. Kakak dan adik-adikku tersayang, mbak Mita, Dik Amru, Dik Zulfa dan Dik Icha, atas setiap canda tawa dan kebersamaan kita yang menjadikan hidup senantiasa lebih indah dan bermakna
6. Teman-teman seperjuangan angkatan 2004, Cherli, Destin, Budi, Dila, Tejo, adik-adik angkatan 2005, kakak-kakak angkatan 2003 dan mahasiswa S2 atas bantuan dan dukungannya
7. Lutfi Adi N. atas kasih sayang, motivasi, kritik dan saran serta hari-hari penuh warna yang mengiringi kebersamaan kita
8. Keluargaku di Kertosariro 68 atas kebersamaan kita, semoga persaudaraan kita kan senantiasa terjaga

9. Semua pihak yang tidak dapat penyusun sebutkan satu persatu, terimakasih

Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, saran dan kritik yang bersifat konstruktif sangat diharapkan.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat, amiiin...

Penyusun



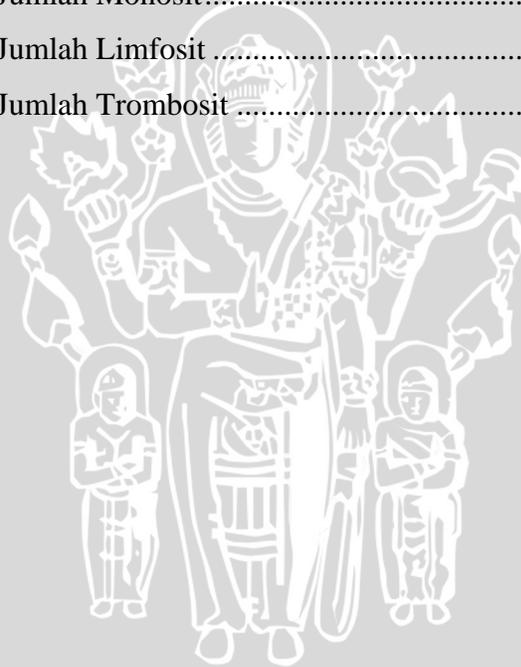
DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Kegunaan Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis.....	4
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Ikan Mas.....	6
2.1.3 Luka pada Ikan.....	7
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	8
2.2.3 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan.....	9
2.2.4 Infeksi dan Tanda-tanda Penyerangan	9
2.3 Darah Ikan.....	10
2.4 Hematologi.....	11
2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit).....	11
2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit).....	12
2.4.3 Diferensial Leukosit.....	13
2.4.4 Nilai Hematokrit (PVC).....	13
2.4.5 Hemoglobin (Hb)	13
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	15
3.1. Materi Penelitian.....	15
Bahan-bahan Penelitian	15

Alat-alat Penelitian.....	15
Metode dan Rancangan Penelitian.....	16
Metode Penelitian	16
Rancangan Penelitian.....	16
3.3 Prosedur Penelitian	17
3.3.1 Persiapan Wadah.....	17
3.3.2 Persiapan Ikan Uji.....	18
3.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan	18
3.3.4 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	19
3.3.5 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.4 Parameter Uji	21
3.4.1 Parameter Utama.....	21
3.4.2 Parameter Penunjang.....	24
3.5 Analisis Data.....	24
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Analisa Hematologi.....	25
4.1.1 Hemoglobin.....	25
4.1.2 Nilai Hematokrit	27
4.1.3 Jumlah Eritrosit	30
4.1.4 Jumlah Leukosit	33
4.1.5 Diferensial Leukosit.....	35
4.2 Patologi Klinis Ikan Mas.....	46
4.2.1 Ikan Mas yang Dilukai.....	46
4.2.2 Ikan Mas yang Diinfeksi	47
4.2.3 Ikan Mas yang Dipuaskan.....	47
4.3 Kualitas Air	48
4.4 Survival Rate (SR)	49
5. KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	6
2. Denah Percobaan	17
3. Diagram Kadar Hemoglobin.....	25
4. Diagram Persentase Hematokrit	28
5. Diagram Jumlah Eritrosit.....	30
6. Diagram Jumlah Leukosit.....	33
7. Diagram Persentase Jumlah Neutrofil	36
8. Diagram Persentase Jumlah Monosit.....	40
9. Diagram Persentase Jumlah Limfosit	43
10. Diagram Persentase Jumlah Trombosit	45



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Analisis Sidik Ragam Kadar Hemoglobin Ikan Mas.....	26
2. Uji BNT Kadar Hemoglobin Ikan Mas.....	27
3. Analisa Sidik Ragam Nilai Hematokrit Ikan Mas	29
4. Uji BNT Nilai Hematokrit Ikan Mas	29
5. Analisa Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Mas.....	32
6. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Mas.....	32
7. Analisa Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Mas	34
8. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Mas.....	35
9. Analisa Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Mas	37
10. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Mas	38
11. Analisa Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Mas.....	41
12. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Mas.....	41
13. Analisa Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Mas	44
14. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Mas	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Paparan Sel Bakteri	56
2. Skema Kerja Perhitungan Sel Darah Ikan	57
3. Data Perhitungan Kadar Hemoglobin Ikan Mas	59
4. Data Perhitungan Nilai Hematokrit Ikan Mas	62
5. Data Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Mas	65
6. Data Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Mas	68
7. Data Perhitungan Jumlah Neutrofil Ikan Mas	71
8. Data Perhitungan Jumlah Monosit Ikan Mas	74
9. Data Perhitungan Jumlah Limfosit Ikan Mas	77
10. Data Kualitas Air Ikan Mas	80
11. Data Survival Rate (SR)	81
12. Gambar Jenis-jenis Leukosit	83
13. Gambar Alat-Alat Yang Digunakan Dalam Penelitian	84



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan merupakan bahan pangan dari komoditas perikanan yang mempunyai kandungan protein tinggi, harga relatif murah, dan mudah dicerna oleh tubuh. Permintaan ikan di dalam negeri cenderung meningkat sebagai akibat pendapatan dan kesadaran masyarakat untuk mengkonsumsi makanan sehat sumber protein hewani yang meningkat. Selain itu maraknya isu virus flu burung yang berasal dari unggas juga telah menyebabkan pola konsumsi masyarakat yang biasa mengkonsumsi ayam berpindah ke ikan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani sehingga permintaan terhadap jenis ikan juga semakin meningkat. Di Indonesia terdapat berbagai jenis ikan air laut, ikan air payau, dan ikan air tawar, salah satu diantaranya adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*).

Ikan mas merupakan jenis ikan air tawar yang paling tinggi nilai produksinya dan sudah dibudidayakan di seluruh propinsi di Indonesia. Perkembangan budidaya ikan mas di Indonesia mengalami perkembangan yang pesat dengan sistem pembudidayaan yang bermacam-macam dari yang sederhana sampai dengan intensif. Karena itu ikan mas dilihat dari segi produksinya mempunyai beberapa kelebihan, yaitu mudah di pelihara, dapat menerima makanan yang beragam, baik makanan alami maupun buatan, dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap perubahan suhu lingkungan dan pertumbuhan yang cepat (Anonymous, 2006).

Usaha perikanan seperti juga usaha lainnya memiliki berbagai kendala dan resiko terutama karena adanya gangguan hama dan penyakit ikan. Penyebab penyakit pada ikan dapat berupa virus, bakteri, jamur, dan protozoa. Menurut Alifuddin (2003), berjangkitnya penyakit infeksi dalam proses produksi budidaya ikan pada pembenihan

maupun pada pembesaran mengakibatkan kerugian secara ekonomis. Hal ini signifikan dengan kegagalan panen yang dapat mencapai 100%.

Menurut Sutjiati (1990) timbulnya penyakit ikan dapat disebabkan oleh fisika, kimiawi, dan biologis. Penyakit yang timbul akibat penyebab fisik dan kimiawi pada umumnya tidak menular (non infeksi). Sedangkan penyakit yang ditimbulkan oleh penyebab biologis kebanyakan menular, baik secara horizontal (dari individu ke individu lain) maupun secara vertikal (dari satu jenis ikan ke jenis ikan lain). Sedangkan menurut Sachlan (1972) dalam Afrianto dan Liviawaty (1992), penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan terhadap ikan secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan terhadap ikan dapat disebabkan oleh patogen (bakteri) maupun lingkungan yang kurang menunjang kehidupan ikan. Ketidakseimbangan antara ikan, lingkungan, dan patogen akan menyebabkan serangan penyakit. Interaksi yang tidak serasi ini akan melemahkan mekanisme pertahanan tubuh ikan dan akhirnya ikan mudah terserang penyakit.

Bakteri adalah organisme bersel satu yang mempunyai dinding sel dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop, bersifat motil berflagella, prokariotik, dan umumnya berkembang dengan cara membelah diri (Pelczar dan Chan, 1986). Bakteri yang sering menyerang ikan mas adalah *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini bersifat patogenik, umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan mengakibatkan kematian hingga 90% (Kabata, 1985).

Hematologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari komponen darah serta kelainan fungsional dari sel darah tersebut. Gambaran hematologi merupakan informasi

yang dapat digunakan sebagai acuan dalam mendiagnosa kondisi kesehatan ikan (Johnny, F., Zafran, D. Roza, dan K. Mahardika, 2003).

Ikan mas merupakan jenis ikan yang sudah banyak dibudidayakan di masyarakat, akan tetapi masih belum banyak laporan mengenai gambaran hematologinya. Sehingga sangat perlu dilakukan penelitian untuk menambah informasi tentang gambaran hematologi ikan mas, serta dapat menjadi penelitian pendahuluan untuk menetapkan interval acuan dalam diagnostik kesehatan ikan mas.

1.2. Perumusan Masalah

Fungsi darah dalam sirkulasi adalah sebagai media transportasi bahan dan sisa metabolisme, pengaturan suhu dan pemeliharaan keseimbangan asam dan basa, berperan dalam pembekuan darah saat terjadi luka, menjaga keseimbangan air, serta mengandung beberapa faktor penting untuk mempertahankan tubuh dari serangan penyakit (Jhonny *et al.*, 2003).

Hematologi sangat berhubungan dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran kondisi kesehatan ikan apakah ikan dalam keadaan sehat atau sakit. Untuk mengetahui gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*), maka perlu dilakukan pemeriksaan darah. Permasalahan dalam penelitian ini adalah mengenai bagaimanakah gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat, dilukai, diinfeksi *Aeromonas hydrophilla* dan yang dipuasakan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan data tentang gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat, dilukai, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dan dipuasakan.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi tentang gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*, dipuaskan pada periode tertentu dan dilukai, serta sebagai salah satu data yang dapat digunakan untuk menentukan interval acuan hematologi dalam diagnostik kesehatan ikan mas (*Cyprinus carpio*).

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga tidak ada perbedaan gambaran hematologi antara ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat dan yang diberi perlakuan.

H_1 : Diduga ada perbedaan gambaran hematologi antara ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sehat dan yang diberi perlakuan.

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasit dan Penyakit ikan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang pada bulan Maret - April 2008.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan mas (*Cyprinus carpio*) menurut Sterba (1989) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Sub Kingdom	: Metazoa
Phyllum	: Chordata
Sub Phyllum	: Vertebrata
Classis	: Pisces
Sub Classis	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysii
Sub Ordo	: Cyprinoidea
Familia	: Cyprinidae
Genus	: <i>Cyprinus</i>
Species	: <i>Cyprinus carpio</i>

Ciri-ciri ikan mas antara lain badan agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*), warna tubuhnya lebih gelap pada bagian punggung, mulut (bibir) besar dan menonjol yang terletak diujung tengah (terminal). Bagian anterior mulut terdapat 2 pasang sungut, sirip punggung terletak tepat diatas sirip perut, jari-jari sirip dubur yang pertama bergerigi. Linea lateralis (gurat sisi) terletak dipertengahan tubuh, melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor. Secara umum hampir seluruh tubuh ikan mas ditutupi oleh sisik. Sisik berukuran relatif besar, bertipe *cycloid*, sisik

bergaris lurus (*linea lateralis*) lengkap sampai pertengahan ujung batang ekor dan giginya (*pharyngeal teeth*) terdiri dari 3 baris (Anonymous, 2006).



Gambar 1. Ikan mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.2. Habitat dan Penyebaran Ikan Mas

Habitat asli ikan mas di alam bebas meliputi sungai berarus tenang sampai sedang dan di area dangkal danau. Menyukai perairan di daerah tropis dengan warna air yang agak keruh yang banyak menyediakan pakan alaminya. Ikan mas menyukai suatu tempat tertentu selain karena ketersediaan pakan alami tetapi juga adanya tanaman air yang berguna sebagai tempat pemijahan (Anonymous, 2007).

Menurut Santoso (1993), ikan mas dapat tumbuh normal, jika lokasi pemeliharaan berada pada ketinggian antara 150-1.000 meter di atas permukaan laut, suhu air 20-25 °C dan pH air antara 7-8.

Ikan mas sudah dipelihara sejak tahun 475 sebelum masehi di Cina kemudian menyebar ke Asia Timur, Asia Selatan dan Asia Tenggara sampai Eropa Barat sekitar abad pertengahan. Perkembangan ikan mas semakin pesat dari waktu ke waktu, terutama dalam teknik pemeliharaan dan perkembangbiakannya. Akibat perkembangannya yang pesat menjadikan ikan ini semakin populer dan memiliki banyak varietas. Di Indonesia

ikan mas mulai dipelihara sekitar tahun 1920. Hasil seleksi ikan mas di Indonesia menghasilkan ikan mas Punten dan Majalaya (Susanto dan Rochdianto, 2000)

2.1.3 Luka pada Ikan

Ikan yang memar atau luka merupakan sumber penyebab serangan penyakit. Ikan mengalami memar atau luka kebanyakan disebabkan karena ikan saling menggigit atau karena penanganan yang kurang baik. Penanganan ikan hidup selain dapat menyebabkan luka juga dapat menyebabkan stres pada ikan sehingga ikan akan dengan mudah terserang penyakit (Handajani dan Sri, 2005).

2.2. Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.2.1. Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menurut Buchanan dan Gibbons (1974) adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protohyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomadales
Sub Ordo	: Pseudomonadinae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Aeromonas berarti dapat memproduksi gas dan *hydrophila* berarti senang air. Genus *Aeromonas* berbentuk batang lurus, berdiameter 0,3-1,0 μm , dan panjang 1,0-3,5 μm , bersifat anaerob fakultatif, fakultatif aerobik fermentasi, dan bersifat motil dengan flagela polar (Holt, Krieg, Sneath, Staley, Williams., 1994). *Aeromonas hydrophila*

bersifat gram negatif, tidak membentuk kapsul, tanpa spora, koloni bulat, tepi rata, cembung, dan berwarna kuning keputih-putihan (krem) dengan diameter 2-3 mm pada inkubasi selama 48 jam dalam suhu 25⁰C (Saron, Kamiso, Lelono, Widodo, Thaib, Haryani, Haryanto, Triyanto, Ustadi, Kusumahati, Novianti, Wardani, Setaningsih., 1993).

Secara morfologis, bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0 – 1,5 µm dan lebar 15,7 – 15,8 µm, termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil dan bergerak dengan satu polar flagela, oksidatif fermentatif dan termasuk bakteri yang fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit *Haemorrhagic Septicaemia* yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah (Kabata, 1985).

2.2.2. Habitat dan Penyebaran

Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu spesies bakteri yang hidup di lingkungan perairan tawar dan perairan payau. Perairan yang mengandung bahan organik tinggi dan bersuhu 15 – 30 °C serta tingkat pH 5,5 – 9 menjadi tempat yang ideal bagi perkembangan dan pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Afrianto dan Liviawati, 1998).

Penyakit yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* ini banyak ditemukan pada daerah tropis dan subtropis. Penyakit *Haemorrhagic septicaemia* pada umumnya muncul pada musim kemarau (panas) karena pada musim tersebut kandungan bahan organik cukup tinggi. *Aeromonas* ini banyak ditemukan pada insang, kulit, hati, ginjal dan jantung (Kabata, 1985).

Aeromonas hydrophila tersebar luas di perairan umum dan mempunyai kemampuan untuk hidup serta berkembang dengan kisaran kondisi lingkungan yang

bervariasi. *A. hydrophila* menyerang hampir semua jenis hewan air seperti amfibi, ikan, moluska, dan reptil, bahkan menyerang juga organisme berdarah panas seperti sapi dan manusia. Padat penebaran ikan yang tinggi, luka oleh parasit eksternal, suhu yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, penanganan yang menimbulkan luka, dan hilangnya sisik juga menyebabkan timbulnya penyakit *A. hydrophila*, serta dapat menyebabkan penyakit bersama *Aeromonas* yang lain (Sarono *et al.*, 1993).

2.2.3. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen (Kabata, 1985) dan akan tumbuh tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair (Dwijoseputro, 1987). Dapat tumbuh pada kisaran suhu 15 - 30 °C dengan pH 5,5 – 9. Perkembangbiakannya secara aseksual dengan memanjangkan sel diikuti pembelahan satu sel menjadi dua sel selama lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1988).

2.2.4. Infeksi dan Tanda-tanda Penyerangan

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* bersifat oportunistis yaitu mampu berkembangbiak menjadi ganas pada keadaan optimum (Sutjiati, 1990). Penularan penyakit ini dapat melalui kontak langsung dengan ikan sakit, melalui alat, penanganan, bagian sisa-sisa tubuh ikan, hewan atau tumbuhan air serta aliran air bekas ikan yang terserang. Menurut White (2006), *Aeromonas hydrophila* akan menunjukkan tanda-tanda pada ikan yang terserang sebagai berikut :

- Warna tubuh berubah menjadi agak gelap
- Kulitnya menjadi kesat dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (*haemorrhagic*)

- Kemampuan berenangya menurun dan sering berenang di permukaan air karena insangnya rusak sehingga sulit bernafas.
- Sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal maupun limfa.
- Seluruh siripnya rusak dan insangnya berwarna keputih-putihan

Bakteri *Aeromonas hydrophila* relatif berbahaya apabila tidak segera ditangani dicegah penyebarannya secara dini. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini diantaranya adalah busung perut infeksius pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) dan penyakit peradangan umum (*Haemorrhagic septicaemia*) yang sering dijumpai pada rongga perut ikan air tawar dan menyebabkan kematian secara masal (Fadiah, 1997).

2.3 Darah Ikan

Darah adalah suatu fluida (plasma) tempat eritrosit, leukosit, dan beberapa substansi dari partikel dalam larutan koloid encer yang mengandung elektrolit. Darah dianggap sebagai jaringan khusus yang menjalani sirkulasi, terdiri atas berbagai macam sel darah (Johnny, *et al.*, 2003).

Perbedaan antara darah ikan dengan darah mamalia yaitu terletak pada eritrositnya. Eritrosit ikan tidak seperti mamalia, eritrosit ikan mempunyai inti yang berbentuk memanjang atau oval, elips, terletak di tengah sel dan dengan pewarnaan giemsa akan berwarna ungu kebiruan. Darah ikan bersifat sangat mudah membeku dan sel darahnya sangat mudah pecah (Fujaya, 2004).

Komponen utama yang berperan dalam pembentukan sel darah terdiri dari pembuluh darah, jantung, darah, dan limfa. Sistem peredaran darah ikan bersifat tunggal yaitu hanya memiliki satu jalur sirkulasi peredaran darah dari jantung menuju insang

untuk melakukan pertukaran gas kemudian didistribusikan keseluruh tubuh, setelah itu baru kembali ke jantung (Bijanti, 2005).

Fungsi darah dalam sirkulasi adalah sebagai media transportasi bahan dan sisa metabolisme, pengaturan suhu dan pemeliharaan keseimbangan asam dan basa, berperan dalam penggumpalan atau pembekuan darah sehingga dapat mencegah terjadinya kehilangan darah yang berlebihan saat luka, menjaga keseimbangan air, serta mengandung beberapa faktor penting untuk mempertahankan tubuh dari serangan penyakit (Jhonny *et al.*, 2003).

2.4 Hematologi

Hematologi berasal dari dua kata, hema (latin) yang berarti darah dan logi (logos, latin) yang berarti ilmu. Jadi hematologi adalah suatu ilmu tentang darah, didalamnya mempelajari tentang sel-sel darah termasuk pembentukannya, morfologi serta fungsinya, baik dalam keadaan normal maupun dalam keadaan tidak normal (Bakri dkk, 1989).

Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari tentang darah, diantaranya struktur komponen sel darah, fungsi, sifat, dan aliran darah. Hematologi sangat berhubungan dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran kondisi kesehatan ikan apakah ikan dalam keadaan sehat atau sakit (Jhonny *et al.*, 2003).

Maksud dari pemeriksaan hematologis adalah untuk mengetahui ada tidaknya kelainan-kelainan pada darah, baik mengenai morfologinya maupun mengenai jumlahnya dan sebagainya (Bakri dkk, 1989).

2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Ikan sebagaimana vertebrata lain, memiliki sel darah merah (*eritrosit*) berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Ada yang

berbentuk lonjong dan memiliki inti. Jumlah sel darah merah pada masing-masing spesies juga berbeda, tergantung aktivitas ikan tersebut (Fujaya, 2004).

Eritrosit pada ikan tidak sama halnya pada eritrosit mamalia, eritrosit ikan mempunyai inti yang berbentuk elips, terletak di tengah sel dan dengan pewarnaan giemsa berwarna kebiruan. Eritrosit merupakan jenis sel darah yang paling umum, sekitar 60% volume Eitrosit terdiri atas air dan sisanya 40% terdiri atas konjugasi protein. Eritrosit mempunyai peranan utama sebagai pengangkutan oksigen dalam tubuh (Jhonny *et al.*, 2003).

2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah mempunyai peranan penting dalam sistem kekebalan, terutama leukosit atau sel darah putih. Jenis-jenis leukosit mempunyai beberapa fungsi dalam melawan benda asing yang berhasil masuk ke dalam tubuh (Jhonny *et al.*, 2003).

Leukosit terbagi menjadi leukosit granular dan leukosit agranular berdasarkan ada tidaknya granul. Selanjutnya leukosit granula terdiri atas eosinofil, basofil, dan neutrofil, sedangkan leukosit agranular terdiri atas monosit, limfosit, dan trombosit. Dalam beberapa laporan leukosit yang lazim ditemukan pada ikan adalah neutrofil, monosit, limfosit, dan trombosit (Anderson, 1974).

Sistem leukosit dan sel-sel jaringan dari leukosit bekerja dengan dua cara untuk mencegah penyakit, yaitu dengan cara merusak bahan yang menyerbu melalui proses fagositosis (granulosit dan monosit) dan dengan cara membentuk antibodi (limfosit). Leukosit memasuki jaringan dengan cara diapedesis atau melalui pori-pori pembuluh darah, dengan cara amoeboid atau pergerakan sel yang berkaitan dengan lingkungan sekitarnya, dan dengan cara kemotaksis atau tertarik bahan kimia (Guyton, 1997).

2.4.3 Diferensial Leukosit

Neutrofil mempunyai bentuk agak lonjong atau bulat, protoplasma berwarna sedikit biru dan inti bersegmen kadang berlobus (Jhonny *et al.*, 2003). Neutrofil berhubungan dengan pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri serta proses peradangan kecil lainnya, serta biasanya juga memberikan tanggapan pertama terhadap infeksi bakteri, aktivitas dan matinya neutrofil dalam jumlah yang banyak menyebabkan adanya nanah. Eosinofil terutama berhubungan dengan infeksi parasit, maka dengan demikian meningkatnya eosinofil menandakan banyaknya parasit. Basofil terutama bertanggung jawab untuk memberi reaksi alergi dan antigen dengan jalan mengeluarkan histamin kimia yang menyebabkan peradangan (Anonymous, 2007).

2.4.4 Nilai Hematokrit (PCV)

Hematokrit adalah persentase bagian volume sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dengan volume darah seluruhnya. Nilai hematokrit pada setiap ikan bervariasi, tergantung dari kondisi fisiologi dan kesehatan serta aktivitas dari ikan yang diambil sampel darahnya. Pada ikan yang memiliki aktivitas tinggi seperti ikan predator blue marine (*Makaira nigricans*) mempunyai nilai hematokrit 43%, pada ikan *Pagothenia bermacchi* hanya 21% dan pada ikan *Salmo salar* 47% (Bijanti, 2005). Sedangkan menurut Bakri dkk (1989), hematokrit adalah volume eritrosit yang dipisahkan dari plasma dengan cara memutarnya dalam tabung khusus yang nilainya dinyatakan dalam %. Hematokrit merupakan salah satu metode yang paling teliti dan simpel daripada Hb dan HE di dalam deteksi dan mengukur derajat anemia.

2.4.5 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin terdapat pada eritrosit dan terdiri dari haem yang merupakan porfirin besi dan globin, dimana hemoglobin sendiri merupakan suatu protein molekul

besar yang terdiri dari 4 sub unit protein molekul kecil (2 rantai α dan 2 rantai β). Masing-masing rantai tersebut akan mengikat 1 molekul oksigen dan membentuk ikatan peptida yang selanjutnya akan terikat lagi dengan cincin haem yang ada pada bagian tengahnya terdapat atom Fe. Setiap atom Fe, satu protein globin hanya mengikat satu molekul haem dan satu molekul hemoglobin terdiri atas empat buah kompleks molekul globin dan haem, sehingga satu molekul hemoglobin mengandung empat atom Fe dan dapat mengangkut empat molekul oksigen (Bijanti, 2005).

Fungsi hemoglobin yang mengikat oksigen berkaitan dengan kebutuhan ikan terhadap oksigen, dimana hal tersebut sangat dipengaruhi oleh umur, aktivitas, serta kondisi perairan (fujaya, 2004).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

- Ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan ukuran panjang total 10-13 cm
- Biakan murni bakteri *Aeromonas hydrophila*
- Hayem
- TSA (*Tryptic Soy Agar*)
- NB (*Nutrient Broth*)
- Kapas
- Tissue Lensa
- Akuades
- Pewarna Giemsa
- Alkohol
- Spirtus
- HCl 0,1N
- Metanol 95%
- Turks
- Minyak imersi
- Aluminium foil
- Kertas label
- Na-sitrat 3,8%
- Desinfektan
- Tissue
- Koran

3.1.2 Alat-alat Penelitian

- Tabung reaksi
- Jarum ose
- Aerator
- Thermometer
- Cover glass
- Petridisk
- Syringe
- Pipet Tetes
- Handtally counter
- Mikroskop
- Haemositometer
- Objeck glass
- pH meter
- DO meter

- Timbangan
- Pipet thoma
- Kamera digital
- Beaker glass
- Erlenmeyer
- Sahli meter
- Autoclave
- Kulkas
- Tabung hematokrit
- Sentrifuge
- Hot Plate
- evendorf
- Bunsen
- Inkubator
- Gelas ukur
- Aquarium

3.2 Metode Penelitian dan Rancangan Penelitian

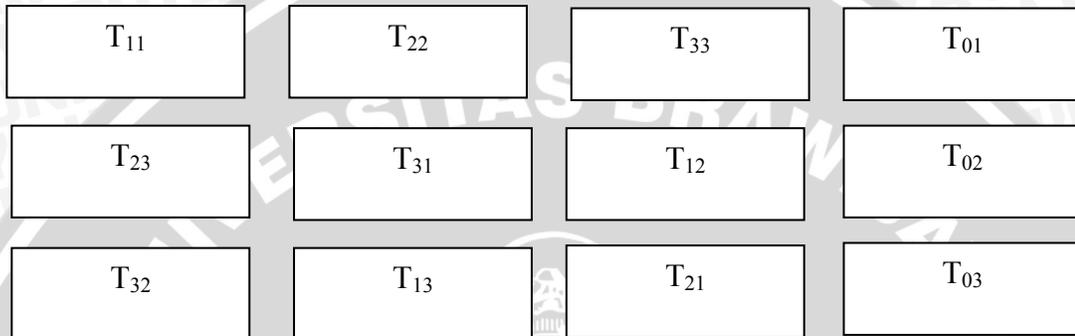
3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki. Tujuan eksperimen adalah untuk menemukan hubungan sebab dan akibat antara variabel. Hasil yang diperoleh menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel-variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut, dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atau dengan pengamatan secara langsung (Nazir, 1988).

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena media yang digunakan homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut terkecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanyalah perlakuan dan faktor kebetulan saja (Steel dan Torrie, 1993).

Penelitian ini terdiri dari 3 perlakuan dan 1 kontrol dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan dan kontrol. Sebagai perlakuan adalah perlakuan (T1), penginfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* (T2), dan pemuasaan selama 7 hari (T3). Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian sebagai berikut (Gambar 2) :



Gambar 2. Denah Percobaan

Keterangan :

- T1 = Perlakuan dilukai
- T2 = Perlakuan diinfeksi *Aeromonas hydrophilla*
- T3 = Perlakuan dipuasakan
- T0 = Kontrol
- 1, 2, 3 = Ulangan

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan berupa akuarium dengan kapasitas ± 90 liter air sebanyak 12 buah. Sebelum digunakan, wadah dicuci bersih, diberi desinfektan dan dikeringkan selama sehari. Kemudian diisi air bersih sebanyak ± 36 liter dan dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk menjaga ketersediaan oksigen.

3.3.2. Persiapan Ikan Uji

Ikan uji yang digunakan yaitu ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang berasal dari petani ikan di Pare-Kediri. Dipilih ikan mas yang sehat sebanyak 84 ekor dengan ukuran 10-13 cm, berat 30-55 gram dan umur \pm 2 bulan lalu dibagi masing-masing 7 ekor untuk tiap ulangan sebagai kontrol dan selebihnya diberi perlakuan sesuai dengan prosedur yang diujikan kepada 7 ekor pada masing-masing perlakuan dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan.

3.3.3. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum digunakan, alat dan bahan disterilisasi terlebih dahulu. Menurut Hadioetomo (1983), sterilisasi adalah suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat dalam suatu benda. Ada 3 cara yang umum dipakai dalam sterilisasi, yaitu dengan penggunaan panas, penggunaan bahan kimia dan penyaringan, pemilihan metode didasarkan pada sifat bahan yang akan disterilisasikan. Proses sterilisasi alat dan bahan adalah sebagai berikut:

- Alat dan bahan yang digunakan dibungkus dengan kertas koran kemudian diikat dengan benang,
- Air dituang secukupnya ke dalam autoclave, kemudian alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam autoclave dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang,
- Kompor pemanas dinyalakan kemudian beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan buka kran udara hingga manometer menunjukkan angka 1 atm kembali,
- Keadaan tekanan uap jenuh dapat terjadi berulang kali sampai 121 °C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit,

- Kompor dimatikan dan kran dibuka untuk mengurangi tekanan, tunggu beberapa saat sampai thermometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu buka penutup autoclave dengan zig-zag,
- Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil,
- Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

3.3.4. Pembuatan Suspensi Bakteri

a. Pembuatan Media

❖ TSA (*Tryptic Soy Agar*)

- Melarutkan 10 gram TSA dalam 250 ml aquades steril dalam erlenmeyer steril, diaduk rata kemudian dididihkan diatas hot plate sambil terus diaduk sampai berwarna bening.
- Larutan yang telah mendidih, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Kemudian larutan dituang ke dalam petri disc steril setinggi 3 mm, dan saat penuangan dilakukan di dekat bunsen, agar tidak terkontaminasi organisme lain. Tepi petri disc di panaskan dengan bunsen setelah dituang larutan.
- Media dibiarkan memadat kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 30 °C, dan dapat digunakan setelah 24 jam. Media yang tidak langsung digunakan, dapat disimpan dalam kulkas/lemari pendingin, dengan posisi tutup petri disc berada di bagian bawah untuk menghindari tetesan air kondensasi pada media.
- Media yang telah disimpan, jika akan digunakan, terlebih dahulu di letakkan dalam inkubator agar suhu media sama dengan suhu lingkungan.

❖ NB (*Nutrient Broth*)

- Melarutkan 6,5 gram NB dengan 500 ml aquadest steril dalam erlenmeyer, dan diaduk hingga larut sempurna dan berwarna bening.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian media disterilkan dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- Media dibiarkan mendingin hingga bersuhu 30 °C.
- Inokulasi bakteri dilakukan pada media yang dingin, karena bakteri akan mati jika terkena suhu yang panas.
- Media yang tidak langsung di pakai, dapat disimpan dalam kulkas/lemari pendingin agar bertahan lama.

b. Pembiakan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

- ✚ Pada media TSA. Bakteri dari biakan murni diambil dengan jarum ose yang sebelumnya dipijarkan dengan bunsen. Kemudian diinokulasi pada media dengan metode goresan secara zig-zag.
- ✚ Media yang telah diinokulasikan bakteri, diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.
- ✚ Pada media NB. Media dituangkan dalam tabung reaksi sebanyak 4 mm. Kemudian ditanamkan bakteri dari biakan murni sebanyak 5 ose dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

3.3.5 Pelaksanaan Penelitian

Ikan uji yang sehat yang telah dipersiapkan diambil sampel darahnya. Dari sampel darah tersebut kemudian diambil gambaran hematologinya melalui penetapan nilai hematokrit, penentuan kadar hemoglobin, penghitungan jumlah sel darah merah dan sel darah putih serta diferensial leukositnya.

Ikan uji yang dilukai dengan cara menyayat bagian tubuh secara vertikal, kemudian ikan dipelihara selama 6 jam, setelah itu dilakukan pengujian sampel darah seperti pengujian darah pada ikan mas yang sehat.

Ikan uji diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Penginfeksian dilakukan dengan cara perendaman selama 1 x 24 jam dan dilakukan pengamatan mortalitas dan patologi klinik serta pengujian sampel darah seperti pengujian darah pada ikan mas yang sehat.

Ikan uji yang dipuasakan selama 7 hari diamati mortalitas dan perubahan patologi klinik. Kemudian pada hari ke-8 dilakukan pengujian sampel darah seperti pengujian darah pada ikan mas yang sehat.

Selama perlakuan dilakukan pengamatan terhadap patologi klinis, mortalitas dan kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan kandungan oksigen terlarut dalam masing-masing wadah pemeliharaan.

3.4. Parameter Uji

3.4.1. Parameter Utama

- **Pengambilan darah**

Darah diambil dari pembuluh darah bagian caudal. Ikan disuntik dari bagian tengah tubuh dibelakang sirip anal sampai jarum menyentuh bagian belakang. Darah dihisap secara perlahan sejumlah yang dibutuhkan. Jarum syringe dilepas dan darah dipindahkan di dalam tube (Bijanti, 2005). Kemudian dilakukan pengamatan dan perhitungan penetapan nilai hematokrit, penentuan kadar hemoglobin, penghitungan jumlah sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit) serta diferensial leukositnya.

- **Penetapan Nilai Hematokrit (PCV)**

Nilai hematokrit diperoleh dengan cara mengambil darah sampai $\frac{3}{4}$ tabung mikrohematokrit yang telah dilapisi dengan anti koagulan, setelah itu ditutup bagian ujung mikrohematokrit dengan parafin. Kemudian tabung tersebut dimasukkan ke dalam sentrifuge darah dan diputar 12.000 rpm selama 5 menit, setelah itu hasil yang didapat dibaca dengan menggunakan reader hematokrit/alat pembaca khusus (Bijanti, 2005).

- **Penetapan Kadar Hemoglobin**

Penetapan kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan metode sahli, pertama larutan HCL 0,1 N dimasukkan ke dalam tabung haemometer sampai skala 2 g% yang terdapat pada tabung haemometer, darah yang sudah bercampur anti koagulan dihisap dengan pipet sahli sampai tanda 20 mm, kemudian darah dimasukkan ke dalam tabung haemometer dengan cara meniupnya dan harus menyentuh dasar tabung supaya tidak terjadi gelembung udara. Isi tabung dicampur/dihomogenkan dan ditunggu hingga 10 menit sampai terbentuk asam hematin, setelah itu diencerkan sedikit demi sedikit dengan aquadest sambil diaduk dan dibandingkan dengan warna standart. Setelah warna larutan sama dengan warna standart, tariklah garis lurus pada miniskus larutan dan bacalah skalanya (Dalimunthe, 2006).

- **Perhitungan Sel Darah Merah (Eritrosit)**

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma eritrosit sebanyak 0,5, kemudian diencerkan dengan larutan hayem hingga 101 (diencerkan 200 X) dan diaduk perlahan Sebelum dihitung 4 tetesan pertama pada pipet dibuang terlebih dahulu, dan disiapkan kamar hitung yang sudah difokuskan terlebih dahulu. Darah diamati/dihitung menggunakan kamar hitung atau haemocytometer dan

diamati pada 5 kotak yang kecil dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 200-400x dan dihitung dengan menggunakan hand toully counter (Dalimunte,2006). Sesudah didapatkan hasil kemudian jumlah eritrosit dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah eritrosit} = Nx \frac{1}{5 \text{ area} \times 1/250(\text{volume})} \times \text{faktor pengenceran} \quad (\text{Bijanti, 2005}).$$

- **Perhitungan Sel Darah Putih (Leukosit)**

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma leukosit sebanyak 0,5, kemudian diencerkan dengan larutan truks hingga 11 (diencerkan 20 X) dan digoyangkan perlahan. Sebelum dihitung 4 tetesan pertama pada pipet dibuang terlebih dahulu dan disiapkan kamar hitung yang sudah difokuskan terlebih dahulu. Darah diamati/dihitung menggunakan kamar hitung atau haemocytometer dan diamati pada 4 kotak besar dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 200-400x dan dihitung dengan menggunakan hand tally counter (Dalimunte, 2006). Sesudah didapatkan hasil kemudian jumlah leukosit dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah leukosit} = Nx \frac{1}{4 \text{ area} \times 0.1(\text{volume})} \times \text{faktor pengenceran} \quad (\text{Bijanti,2005})$$

- **Perhitungan Diferensial Leukosit**

Satu tetes darah yang telah diberi anti koagulan heparin diambil dan diletakkan pada slide yang kering dan bersih. Buatlah hapusan darah tipis, kemudian hapusan darah tersebut dikeringkan lalu fiksasi hapusan darah dengan menggunakan metanol 95% selama 1-2 menit. Lakukan pengecatan pada hapusan darah yang telah difiksasi dengan pengecatan giemsa, ditunggu selama \pm 15 menit setelah itu bilas slide dengan menggunakan air mengalir dan keringkan. Periksa hapusan darah di bawah mikroskop (Bijanti, 2005). Setelah preparat hematologi dibuat, kemudian diamati dengan

menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1.000x untuk menentukan persentase jenis leukosit yaitu neutrofil, monosit, dan limfosit. Perhitungan diferensial leukosit optimalnya adalah setiap 100 sel (Stoskopf, 1992).

$$\Sigma \text{ Leukosit total (\%)} = \frac{\text{komponen sel leukosit}}{100} \times 100\%$$

3.4.2. Parameter Penunjang

Dilakukan juga pengamatan terhadap mortalitas, gejala patologi klinis, dan pengukuran kualitas air yang digunakan sebagai media pemeliharaan ikan mas yang meliputi suhu, pH, dan DO (Oksigen terlarut).

3.5 Analisa Data

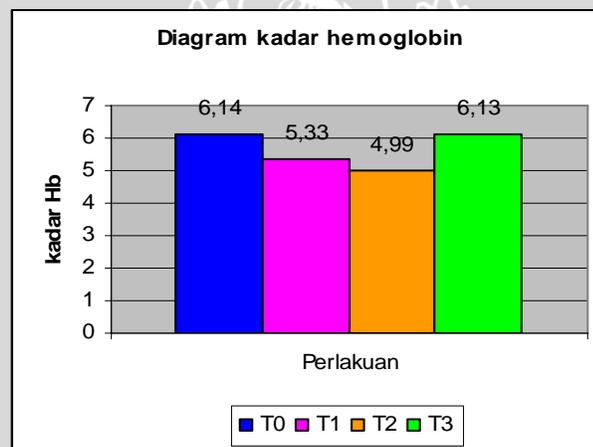
Data dianalisa secara statistik dengan menggunakan analisa keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan (RAL). Untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur dilakukan Analisis Sidik Ragam (Uji F). Apabila dari sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh beda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisa Hematologi

4.1.1 Hemoglobin

Nilai rata-rata kadar hemoglobin pada ikan mas kontrol (T0) sebesar 6,14 g %, sedangkan ikan yang dilukai (T1) 5,33 g %, pada ikan yang diinfeksi (T2) sebesar 4,99 g %, dan pada ikan yang dipuasakan (T3) sebesar 6,13 g %. Nilai hemoglobin pada ikan mas kontrol lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain, sebagaimana disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Kadar Hemoglobin

Rendahnya kadar haemoglobin pada ikan yang diinfeksi (T2) dan ikan yang dilukai (T1) berkaitan dengan menurunnya proses oksigenasi oleh sel darah merah akibat adanya infeksi bakteri dan pendarahan. Sedangkan kadar haemoglobin pada ikan yang dipuasakan (T3) meskipun mengalami penurunan akan tetapi nilainya masih mendekati ikan mas kontrol (T0). Menurunnya kadar hemoglobin pada ikan dipengaruhi oleh status kesehatan ikan dan rendahnya jumlah eritrosit karena fungsi utama dari eritrosit adalah mengangkut hemoglobin, sehingga apabila jumlah eritrosit turun maka

kadar hemoglobin dalam darah juga akan ikut turun. Menurut Fujaya (2004), semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah.

Kadar hemoglobin ikan sangat bervariasi jumlahnya tergantung dari jenis spesies ikan, pH darah, kondisi lingkungan dan tekanan parsial oksigen (PO_2). Apabila PO_2 meningkat seperti di dalam kapiler insang, maka O_2 akan berikatan dengan hemoglobin. Sebaliknya apabila PO_2 menurun seperti di dalam jaringan, maka O_2 akan dilepaskan oleh hemoglobin (Bijanti, 2005 dalam Anonymous, 2005).

Untuk mengetahui perbedaan kadar hemoglobin antar perlakuan, maka dilakukan analisa data menggunakan analisis sidik ragam (Tabel 1).

Tabel 1. Analisis Sidik Ragam Kadar Hemoglobin Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	3,028	1,009	10,967**	7,59	4,07
Galat	8	0,736	0,092			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam menunjukkan nilai F hitung = 10,967 nilai tersebut ternyata lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda (perlakuan, penginfeksi, dan pemuaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap kadar hemoglobin ikan mas. Oleh karena nilai F hitung lebih besar dari F tabel 1 %, maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap kadar hemoglobin ikan mas.

Tabel 2. Uji BNT Kadar Hemoglobin Ikan Mas

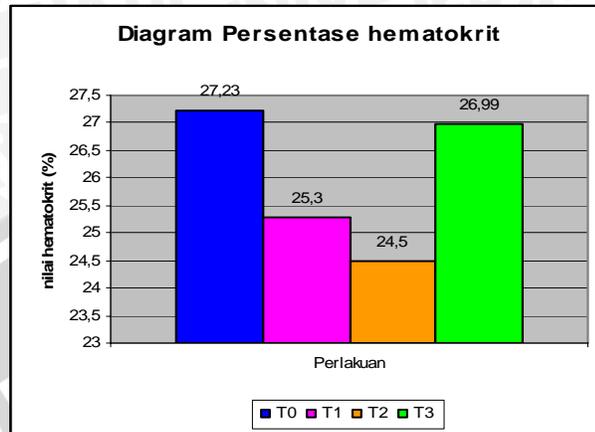
Rata-rata Perlakuan	(T2) 4,99	(T1) 5,33	(T3) 6,13	(T0) 6,14	Notasi
(T2) 4,99	0				a
(T1) 5,33	0,3333 ^{ns}	0			a
(T3) 6,13	1,14**	0,8067*	0		b
(T0) 6,14	1,1467**	0,8133*	0,0067 ^{ns}	0	b

Hasil uji BNT (Tabel 2) menunjukkan bahwa perlakuan T2 tidak menunjukkan hasil yang berbeda dengan T1 dan perlakuan T3 juga tidak menunjukkan hasil yang berbeda dengan T0, tetapi perlakuan T2 dan T1 berbeda nyata dengan perlakuan T3 dan T0. perlakuan T2 dan T1 tidak berbeda nyata karena pada perlakuan T2 dan T1 kadar hemoglobin sama-sama turun akibat adanya infeksi dan pendarahan, hal tersebut sesuai dengan pernyataan Fujaya (2004), bahwa semakin rendah jumlah sel-sel darah merah, maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah. Perlakuan T3 dan T0 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata, meskipun pada perlakuan T3 kadar hemoglobinnnya mengalami penurunan, hal ini diduga karena kondisi ikan pada perlakuan T3 masih cukup kuat (memiliki pertahanan tubuh yang cukup bagus) dan kondisinya hampir sama dengan ikan T0 sehingga penurunan kadar hemoglobinnnya tidak terlalu tinggi.

4.1.2 Nilai Hematokrit

Nilai rata-rata hematokrit pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 27,23 % sedangkan ikan yang dilukai (T1) 25,3 %, pada ikan yang diinfeksi (T2) sebesar 24,5 %, dan pada ikan yang dipuaskan (T3) sebesar 26,99 %. Nilai hematokrit pada ikan mas yang

kontrol (T2) lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 4. Diagram Persentase Hematokrit

Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai hematokrit pada ikan yang diinfeksi (T2) paling rendah daripada perlakuan yang lain. Hal ini berkaitan dengan semakin turunnya jumlah eritrosit akibat adanya infeksi sehingga tubuh ikan banyak memproduksi leukosit sebagai sistem pertahanan tubuh. Penurunan jumlah eritrosit ini mengakibatkan jumlah hematokrit juga semakin rendah. Penurunan nilai hematokrit juga terjadi pada ikan yang dilukai (T1) dan yang dipuasakan (T3) akibat semakin turunnya jumlah eritrosit sehingga jumlah sel darah merah yang mengendap dan hematokritnya juga turun. Sedangkan pada ikan kontrol (T0) nilai hematokrit masih tinggi, hal ini berkaitan dengan masih tingginya jumlah eritrosit sehingga semakin tinggi pula sel darah merah (eritrosit) yang mengendap dan menyebabkan nilai hematokrit menjadi tinggi.

Nilai hematokrit sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain; lingkungan, jenis kelamin, spesies, dan umur ikan yang diambil darahnya (Wahyuni, 2005 dalam Lilia, 2007).

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam Nilai Hematokrit Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	15,7	5,23	8,05**	7,59	4,07
Galat	8	0,33	0,65			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 3) menunjukkan nilai F hitung = 8,05 lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda (perlakuan, penginfeksi, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap nilai hematokrit ikan mas. Perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap hematokrit ikan mas. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 4 berikut ini.

Tabel 4. Uji BNT Nilai Hematokrit Ikan Mas

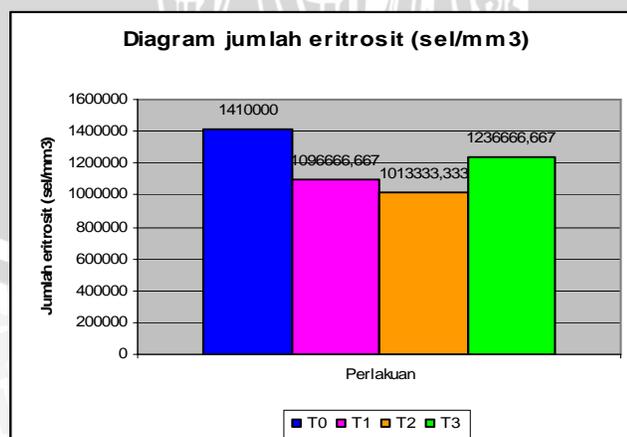
Rata-rata Perlakuan	T2 (24,5)	T1 (25,3)	T3 (26,99)	T0 (27,23)	Notasi
T2 (24,5)	0				a
T1 (25,3)	0,8 ^{ns}	0			a
T3 (26,99)	2,49**	1,69*	0		b
T0 (27,23)	2,73**	1,93*	0,24 ^{ns}	0	b

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan T2 tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan T1 dan perlakuan T3 juga tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan T0, tetapi antara perlakuan T2 dan T1 berbeda nyata dengan perlakuan T3 dan T0. Perlakuan T2 dan T1 tidak berbeda nyata karena pada T2 ikan mengalami

infeksi sehingga tubuh banyak memproduksi leukosit yang menyebabkan jumlah sel darah merah menurun. Sedangkan pada perlakuan (T1) ikan mengalami pendarahan akibat perlukaan sehingga ikan banyak kehilangan darah dan menyebabkan jumlah eritrosit juga turun, selain itu akibat perlukaan ikan mengalami stres sehingga produksi eritrosit terganggu dan menyebabkan jumlah eritrosit turun. Penurunan eritrosit tersebut menyebabkan nilai hematokrit juga turun pada perlakuan T2 dan T1. Perlakuan T3 juga mengalami penurunan nilai hematokrit tetapi nilai tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dengan T0, hal ini diduga karena kondisi ikan pada perlakuan T3 masih lebih stabil dan kondisinya hampir sama dengan ikan T0 sehingga meskipun nilai hematokritnya mengalami penurunan, akan tetapi nilainya tidak berbeda nyata dengan T0.

4.1.3 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan hasil penelitian rata-rata jumlah eritrosit ikan mas kontrol (T0) yaitu 141×10^4 sel/mm³, ikan mas yang dilukai (T1) sebesar $109,67 \times 10^4$ sel/mm³, pada ikan yang diinfeksi (T2) yaitu $101,33 \times 10^4$ sel/mm³, dan pada ikan yang dipuasakan (T3) sebesar $123,67 \times 10^4$ sel/mm³, sebagaimana disajikan pada gambar 5.



Gambar 5. Diagram Jumlah Eritrosit

Tingginya eritrosit pada ikan kontrol (T0) disebabkan karena kondisi lingkungan sesuai untuk kehidupan ikan dan tidak adanya faktor stres, sedangkan pada ikan yang diberi perlakuan jumlah eritrositnya cenderung menurun. Pada ikan yang diinfeksi (T2), jumlah eritrositnya paling rendah disebabkan karena adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuhnya sehingga jumlah eritrositnya berkurang karena tubuh harus berusaha melawan benda asing tersebut dan sel darah yang lebih banyak diproduksi adalah sel darah putih. Pada ikan yang dilukai (T1) jumlah eritrositnya menurun karena ikan mengalami pendarahan dan stress sehingga produksi sel darah merahnya menjadi lambat. Sedangkan pada ikan yang dipuaskan (T3) jumlah eritrositnya juga mengalami penurunan karena metabolisme ikan terganggu akibat kurangnya asupan nutrisi pada tubuh ikan sehingga produksi eritrosit menjadi lambat. Menurut Fujaya (2004), jumlah eritrosit setiap jenis ikan bervariasi tergantung pada spesies ikan, kondisi lingkungan, keadaan stress dan temperatur.

Sel eritrosit mempunyai komponen penyusun yang sangat banyak. Apabila tiap komponen ini mengalami gangguan, maka akan menyebabkan kerusakan dan sel eritrosit tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Tingkat kerusakan dapat terjadi pada tingkat membran dari sel itu sendiri. Keberadaan patogen ternyata juga mampu merusak membrane sel eritrosit dalam kondisi akut (Sadikin, 2002). Sedangkan menurut Guyton (1997), kurangnya darah atau anemia dapat disebabkan oleh hilangnya darah yang terlalu cepat atau terlalu lambatnya produksi sel darah merah. Pendarahan menyebabkan tubuh menggantikan cairan plasma sehingga konsentrasi sel darah merah menjadi rendah.

Dari hasil pengamatan hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrosit terlihat adanya hubungan antara ketiganya. Meningkatnya nilai hematokrit dan hemoglobin juga

diikuti dengan peningkatan jumlah eritrosit, hal ini terjadi pada ikan kontrol. Sedangkan pada ikan yang diinfeksi, nilai hemoglobin, hematokrit dan jumlah eritrositnya menurun.

Tabel 5. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Mas

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	$2,715 \times 10^{11}$	$9,050 \times 10^{10}$	157,391**	7,59	4,07
Galat	8	46×10^8	$5,75 \times 10^8$			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 5) menunjukkan nilai F hitung = 157,391 lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda (perlakuan, penginfeksian, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit ikan mas. Perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan mas. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 6 berikut ini.

Tabel 6. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Mas

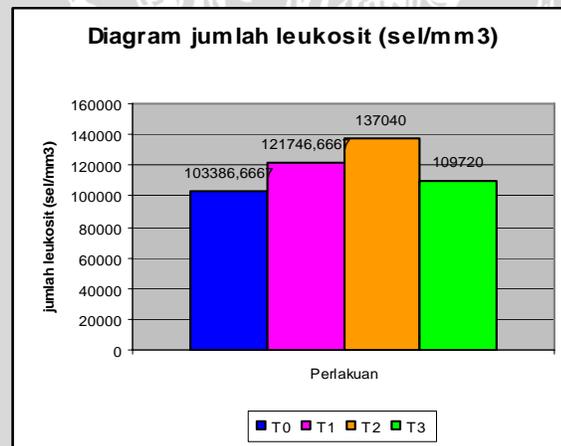
Rata-rata Perlakuan	T2 (1013333,333)	T1 (1096666,667)	T3 (1236666,667)	T0 (1410000)	Notasi
T2 (1013333,333)	0				a
T1 (1096666,667)	83333,34 ^{ns}	0			a
T3 (1236666,667)	223333,34**	140000**	0		b
T0 (1410000)	396666,67**	313333,33**	173333,33*	0	c

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan T2 tidak menunjukkan hasil yang berbeda dengan T1, tetapi perlakuan T2 dan T1 menunjukkan hasil yang berbeda nyata

dengan perlakuan T3 dan T0. Jumlah eritrosit pada perlakuan T2 dan T1 tidak berbeda karena pada T2 ikan mengalami infeksi sehingga tubuh banyak memproduksi leukosit yang menyebabkan jumlah sel darah merah menurun. Pada perlakuan T1 ikan mengalami pandarahan akibat perlakuan dan ikan mengalami stres sehingga jumlah eritrosit juga menurun. Jumlah eritrosit pada perlakuan T3 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan T2, T1 dan T0 karena diduga pada T3 ikan kurang mendapatkan nutrisi yang cukup sehingga menyebabkan jumlah eritrositnya menurun.

4.1.4 Jumlah Leukosit

Berdasarkan hasil penelitian rata-rata jumlah leukosit pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 103386,67 sel/mm³, pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 121746,67 sel/mm³, pada ikan yang diinfeksi (T2) yaitu 137040 sel/mm³, dan pada ikan yang dipuasakan (T3) sebesar 109720 sel/mm³.



Gambar 6. Diagram Jumlah Leukosit

Dari Gambar 6 diatas terlihat bahwa leukosit yang merupakan sistem pertahanan seluler meningkat selama perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Jumlah leukosit paling tinggi adalah pada ikan yang diinfeksi, karena leukosit akan merespon setiap

benda asing yang masuk ke dalam tubuh dan meningkatkannya dalam mempertahankan tubuh terhadap serangan benda asing tersebut.

Leukosit merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh. Setelah dibentuk, leukosit kebanyakan ditranspor secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius, menyediakan pertahanan yang cepat dan kuat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada (Guyton, 1997). Sedangkan menurut Tizard (1987), leukosit merupakan salah satu jenis sel darah yang mempunyai peranan sangat penting dalam sistem tanggap kebal ikan dan akan meningkat secara pesat apabila terjadi suatu infeksi.

Tabel 7. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Mas

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	$1,976 \times 10^9$	$6,587 \times 10^8$	135,118**	7,59	4,07
Galat	8	$3,9 \times 10^7$	$4,875 \times 10^6$			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 7) menunjukkan nilai F hitung = 135,118. Nilai tersebut lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksian, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah leukosit ikan mas. Oleh karena F hitung lebih besar daripada F tabel 1 % , maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah leukosit ikan mas. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 8 berikut ini.

Tabel 8. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Mas

Rata-rata Perlakuan	T0 (103386,667)	T3 (109720)	T1 (121746,667)	T2 (137040)	Notasi
T0 (103386,67)	0				a
T3 (109720)	6333,33**	0			b
T1 (121746,67)	18360**	12026**	0		c
T2 (137040)	33653,33**	27320**	15293,33**	0	d

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa semua perlakuan (perlukaan, penginfeksi dan pemuasaan) memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah leukosit ikan mas, karena masing-masing perlakuan memberikan respon yang berbeda terhadap sistem tanggap kebal tubuh yang merupakan fungsi utama dari leukosit. Kebanyakan leukosit ditranspor ke daerah khusus yang terinfeksi dan mengalami peradangan serius dan menyediakan pertahanan yang kuat serta cepat terhadap setiap bahan infeksius yang mungkin ada. Akan tetapi pengaruh tertinggi ditunjukkan pada perlakuan T2 (penginfeksi).

4.1.5 Diferensial Leukosit

Perhitungan diferensial leukosit bertujuan untuk mengetahui perbedaan persentase komponen sel leukosit masing-masing perlakuan (dilukai, diinfeksi, dan dipuasakan). Leukosit terbagi menjadi leukosit granular dan leukosit agranular berdasarkan ada tidaknya granul. Selanjutnya leukosit granular terdiri atas eosinofil, basofil, dan neutrofil, sedangkan leukosit agranular terdiri atas monosit, limfosit, dan trombosit. Dalam beberapa laporan leukosit yang lazim ditemukan pada ikan adalah neutrofil, monosit, limfosit, dan trombosit (Anderson, 1974).

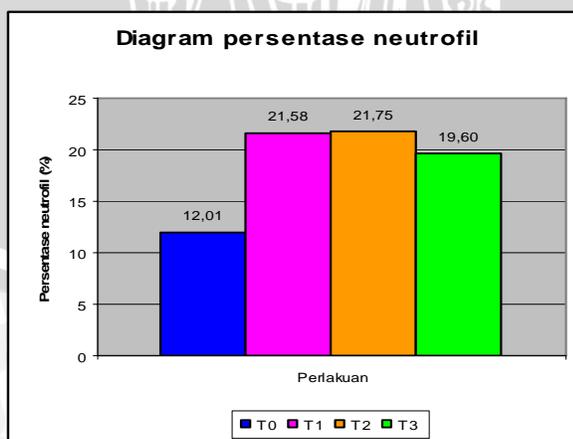
Perhitungan diferensial leukosit didapatkan dengan menggunakan rumus jumlah komponen sel leukosit per seratus sel leukosit total dikalikan seratus persen :

$$\Sigma \text{Leukosit total (\%)} = \frac{\text{komponen sel leukosit}}{100} \times 100\% \quad (\text{Stoskopf, 1992}).$$

a. Neutrofil

Neutrofil mempunyai granula di dalam sitoplasmanya. Granula neutrofil berwarna merah jambu atau biru dan dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna merah jambu muda (Price dan Wilson, 1984). Sebagaimana hasil pengamatan yang ditunjukkan pada gambar dalam Lampiran 12.

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui rata-rata persentase neutrofil pada ikan mas kontrol (T0) 12,01 %, pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 21,58 %, sedangkan pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 21,75 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 19,6 %. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa jumlah persentase neutrofil tertinggi adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 21,75 % dan yang paling rendah adalah pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 12,01 %. Perbedaan hasil tersebut dapat terlihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram Persentase Jumlah Neutrofil

Pada ikan kontrol ditemukan neutrofil sebesar 12,01 %, meskipun nilai tersebut paling rendah diantara perlakuan yang lain akan tetapi hal tersebut sudah dapat menunjukkan bahwa pada ikan kontrol telah terjadi infeksi karena persentase neutrofil ikan normal menurut Anderson (1974) berkisar antara 6-8%.

Penyerbuan neutrofil ke tempat yang mengalami peradangan atau infeksi merupakan garis pertahanan awal dari sel leukosit. Umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi kasus penyerangan oleh bakteri karena neutrofil keluar dari pembuluh darah menuju daerah infeksi. Cara kerja neutrofil, mula-mula neutrofil menuju tempat yang mengalami peradangan dan mulai menginvasi area tersebut. Setelah itu bahan infeksius difagositosis dengan dicerna oleh enzim proteolitik dan lisosom yang akan mencerna bakteri (Guyton, 1997).

Menurut Bijanti (2005), neutrofil merupakan fagosit kuat, yang dilakukan dengan cara mendekati partikel asing dan mengeluarkan pseudopodi ke segala arah sekitar partikel. Satu neutrofil dapat memfagosit 5-20 bakteri sebelum kemudian tidak aktif. Meningkatnya jumlah neutrofil dapat diindikasikan adanya infeksi bakteri atau dapat juga adanya infeksi viral.

Tabel 9. Analisis Sidik Ragam Persentase Jumlah Neutrofil Ikan Mas

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	189,283	63,094	156,226**	7,59	4,07
Galat	8	3,231	0,404			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 9) menunjukkan nilai F hitung = 156,226 lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian

perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksi, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah neutrofil ikan mas. Perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT (Tabel 10).

Tabel 10. Uji BNT Persentase Jumlah Neutrofil Ikan Mas

Rata-rata Perlakuan	T0 (12,01)	T3 (19,6)	T1 (21,58)	T2 (21,75)	Notasi
T0 (12,01)	0				a
T3 (19,6)	7,59**	0			b
T1 (21,58)	9,57**	1,98**	0		c
T2(21,75)	9,74**	2,15**	0,17 ^{ns}	0	c

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa persentase jumlah neutrofil perlakuan T1 tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan T2, tetapi perlakuan T1 dan T2 berbeda nyata dengan perlakuan T3 dan T0. Perlakuan T3 menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan perlakuan T1, T2 dan T0. Perlakuan T1 dan T2 hasilnya tidak berbeda nyata, karena diduga pada T1 dan T2 kondisi ikan sama lemahnya dan terinfeksi sehingga tubuh banyak memproduksi neutrofil. Perlakuan T0, T3, dan T1 memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah neutrofil ikan mas, karena diduga ikan mengalami infeksi akibat kondisi kesehatan ikan menurun karena adanya perlukaan dan pemuasaan sehingga tubuh banyak memproduksi neutrofil yang merupakan pertahanan awal dari sel leukosit.

b. Basofil

Basofil memiliki ciri-ciri warnanya kehitaman karena dapat menyerap basa dengan baik, granulanya besar dan menutupi inti, serta warnanya lebih terang daripada

granula yang jenis lain. Basofil jarang sekali didapatkan. Cenderung tidak tampak dengan pengecatan giemsa/ May Grunwald (Bijanti, 2005).

Hasil pengamatan yang dilakukan tidak ditemukan adanya basofil. Menurut Anonymous (2005), basofil merupakan jenis leukosit yang paling jarang dijumpai dalam susunan darah, bahkan pada ikan salmon tidak ditemukan adanya basofil.

c. Eosinofil

Eosinofil memiliki ciri-ciri berwarna jingga karena menyerap eosin dengan baik, granulanya besar tetapi tidak menutupi inti, plasmanya penuh dengan granula besar dan berwarna merah, dan nukleusnya sering menyatu dalam satu titik (Bijanti, 2005).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa tidak ditemukan adanya eosinofil, baik pada kontrol maupun perlakuan yang lain. Menurut Guyton (1997), hal ini dikarenakan eosinofil merupakan sel fagosit yang lemah, apabila dibandingkan dengan neutrofil maka eosinofil masih diragukan apakah cukup bermakna dalam pertahanan tubuh terhadap tipe infeksi yang umum.

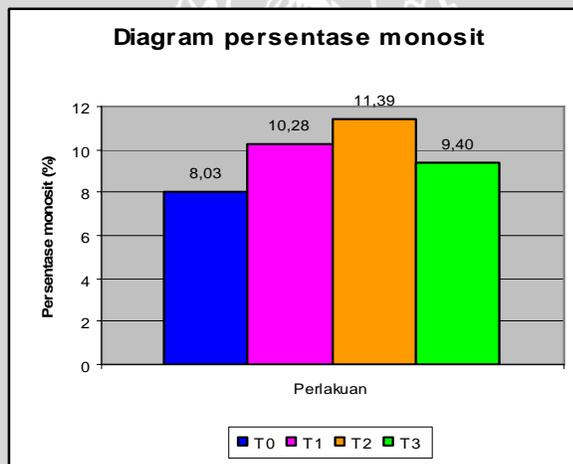
Pada ikan mas (*Cyprinus carpio*), gambaran granulosit yang paling sering ditemui adalah neutrofil, sedangkan eosinofil dan basofil jumlahnya hanya 1%. Fungsi eosinofil adalah sebagai mekanisme pertahanan. Granulosit eosinofil dapat bergerak aktif dan sedikit fagositosis, jadi hanya memiliki sedikit peran dalam sistem pertahanan terhadap infeksi mikroorganisme. Dengan tidak adanya eosinofil maka fungsi fagositosisnya dilakukan oleh neutrofil dan monosit sebagai pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Geneser, 1994 dalam Rahmawati 2007).

d. Monosit

Monosit memiliki ukuran sel yang besar (lebih besar dari neutrofil bahkan eritrosit), bentuk tidak teratur, nukleusnya besar dan padat, intinya berlipat seperti

lipatan otak, sitoplasmanya kelihatan melimpah dan berwarna biru keputihan (Bijanti, 2005). Sebagaimana hasil pengamatan yang ditunjukkan pada gambar dalam Lampiran 12.

Berdasarkan diagram monosit (Gambar 8) diketahui rata-rata persentase monosit pada ikan mas kontrol (T0) 8,03 %, ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 10,28 %, sedangkan ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 11,39 %, dan ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 9,4 %. Berdasarkan data diatas diketahui jumlah persentase monosit tertinggi adalah pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 11,39 % dan jumlah monosit terendah adalah pada ikan kontrol (T0) yaitu 8,03 %.



Gambar 8. Diagram Persentase Jumlah Monosit

Persentase monosit normal pada ikan adalah sebesar 0,1-3%. Proporsi monosit termasuk rendah dalam populasi leukosit, akan tetapi dapat meningkat sekitar 38% dalam waktu yang singkat apabila terjadi infeksi (Anderson, 1974 dalam Johny, et.al., 2003).

Jumlah monosit yang meningkat disebabkan adanya infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan neutrofil sebagai pertahanan pertama tidak mampu bertahan lebih lama sehingga fagositosisnya diteruskan oleh monosit. Menurut Fujaya (2004), monosit lebih

kuat dibanding dengan neutrofil karena monosit mampu memfagosit partikel dalam jumlah yang lebih besar. Monosit mampu memfagosit 100 bakteri atau bahan asing, sedangkan neutrofil hanya mampu memfagosit 5-20 bakteri atau bahan asing.

Tabel 11. Analisis Sidik Ragam Persentase Jumlah Monosit Ikan Mas

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	18,119	6,040	4,797*	7,59	4,07
Galat	8	10,072	1,259			
Total	11					

Keterangan : * = berbeda nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 11) menunjukkan nilai F hitung = 4,797 lebih besar dari nilai F tabel 5% (4,07) tetapi lebih kecil dari F tabel 1 % (7,59) atau $5\% < F \text{ hitung} < F 1\%$. Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda (perlakuan, penginfeksi, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah monosit ikan mas. Oleh karena nilai F hitung = 4,797 lebih besar dari nilai F tabel 5% (4,07), maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah monosit ikan mas. Hasil uji BNT disajikan pada Tabel 12 berikut ini.

Tabel 12. Uji BNT Persentase Jumlah Monosit Ikan Mas

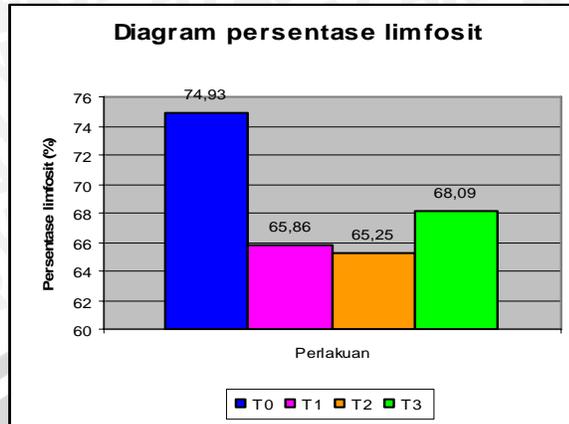
Rata-rata Perlakuan	T0 (8,03)	T3 (9,40)	T1 (10,28)	T2 (11,39)	Notasi
T0 (8,03)	0				a
T3 (9,40)	1,363333 ^{ns}	0			ab
T1 (10,28)	2,246667*	0,883333 ^{ns}	0		b
T2 (11,39)	3,356667**	1,993333 ^{ns}	1,11 ^{ns}	0	b

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan T3 berbeda nyata dengan T0 yang berarti antara ikan yang dipuasakan dan ikan kontrol persentase monositnya berbeda nyata atau perlakuan tersebut memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah monosit ikan mas, hal ini diduga karena pada ikan yang dipuasakan juga mengalami infeksi tetapi tidak terlalu parah sehingga monosit yang bekerja tidak terlalu banyak karena dapat diatasi oleh neutrofil. Sedangkan pada perlakuan T1 dan T2 menunjukkan perbedaan terhadap T0 yang berarti perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah monosit ikan mas, karena diduga terjadi peningkatan infeksi sehingga neutrofil sebagai pertahanan pertama tidak mampu bertahan lama sehingga fagositosisnya diteruskan oleh monosit.

e. Limfosit

Limfosit memiliki ciri-ciri bentuk sel bulat, inti sel besar berbentuk bulat, berwarna merah total, berukuran kecil (lebih kecil daripada monosit dan neutrofil), dengan pengecatan giemsa inti akan berwarna merah tua / violet, sementara sitoplasma hanya berupa cincin berwarna biru tua atau tidak terlihat (Bijanti, 2005). Sebagaimana hasil pengamatan yang ditunjukkan pada gambar dalam Lampiran 12.

Rata-rata persentase limfosit pada ikan mas kontrol (T0) 74,93 %, pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 65,86 %, sedangkan pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 65,25 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 68,10 %. Berdasarkan Gambar 9 diketahui bahwa jumlah persentase limfosit tertinggi adalah pada ikan mas kontrol (T0) yaitu 74,93 % dan yang paling rendah adalah pada ikan mas yang dilukai (T2) yaitu 65,25 %, sebagaimana terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram Persentase Jumlah Limfosit

Persentase limfosit pada semua perlakuan (perlakuan, penginfeksi, dan pemuaan) mengalami penurunan. Persentase limfosit terendah adalah pada ikan yang diinfeksi (T2) kegiatannya dalam menyediakan zat kebal terganggu oleh masuknya benda asing atau bakteri yang masuk ke dalam tubuh. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Stoskopf (1992) dalam Rahmawati (2007), bahwa penyakit infeksi atau stres akan mengakibatkan *lymphopenia* (penurunan jumlah limfosit).

Limfosit tidak bersifat fagosit tetapi memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi. Kekurangan limfosit dapat menurunkan antibodi dan menyebabkan meningkatnya serangan penyakit. Limfosit terbagi menjadi limfosit T dan limfosit B. Limfosit T berasal dari kelenjar timus dan berperan mengatur kekebalan melalui sel, sedangkan limfosit B diduga berasal dari ginjal dan berperan dalam pembantuan antibodi dalam sirkulasi. Suatu antigen (senyawa kimia atau zat asing atau mikroba yang tidak dikehendaki oleh tubuh karena berbahaya dan mampu membangkitkan respon kekebalan) merangsang limfosit T untuk memunculkan sel-sel efektor respon kekebalan yang diperantarai sel. Sel-sel efektor ini berpartisipasi didalam penyingkiran bahan asing atau mikroorganisme penyerbu. Disamping itu, sel T dapat

memperoleh bantuan makrofag didalam menghancurkan patogen atau merangsang sel B untuk meningkatkan produksi antibodi. Limfosit B berdiferensiasi menjadi sel plasma yang membuat dan mengeluarkan antibodi spesifik untuk menstimulasi antigen (Fujaya, 2004).

Tabel 13. Analisis Sidik Ragam Persentase Jumlah Limfosit Ikan Mas

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	177,039	59,013	66,757**	7,59	4,07
Galat	8	7,072	0,884			
Total	11					

Keterangan : ** = berbeda sangat nyata

Perhitungan analisis sidik ragam (Tabel 13) menunjukkan nilai F hitung = 66,757 lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59). Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksi, dan pemuasaan) pada ikan mas memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap persentase limfosit ikan mas. Oleh karena nilai F hitung = 66,757 lebih besar dari nilai F tabel 1 % (7,59), maka perhitungan kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah limfosit ikan mas.

Tabel 14. Uji BNT Persentase Jumlah Limfosit Ikan Mas

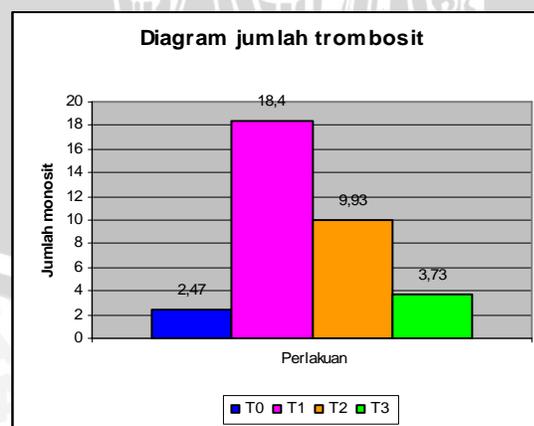
Rata-rata	T2	T1	T3	T0	Notasi
Perlakuan	(65,25)	(65,86)	(68,10)	(74,93)	
T2 (65,25)	0				a
T1 (65,86)	0,607 ^{ns}	0			a
T3 (68,10)	2,843**	2,237*	0		b
T0 (74,93)	9,677**	9,07**	6,833**	0	c

Hasil uji BNT (Tabel 14) menunjukkan bahwa perlakuan T2 tidak menunjukkan perbedaan dengan T1, akan tetapi perlakuan T2 dan T1 berbeda nyata dengan T0. Perlakuan T3 juga menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan T0. Perbedaan notasi tersebut disebabkan karena adanya penurunan jumlah limfosit. Penurunan jumlah limfosit tersebut diduga karena kegiatan limfosit dalam menyediakan zat kebal terganggu oleh masuknya benda asing atau bakteri yang masuk ke dalam tubuh.

f. Trombosit

Trombosit adalah pecahan sitoplasma megakariosit yang berukuran 1-4 μm . Terdiri dari 2 bagian yaitu kromomer yang bergranula terletak ditengah, tidak bergranula dan berwarna lebih muda (Wirawan *et al.*, 2000). Menurut Bijanti (2005), bentuk sel trombosit bermacam-macam (bulat, oval, spindel, fragmented), cenderung bergerombol, dengan pengecatan giemsa inti akan berwarna ungu tua. Sebagaimana hasil pengamatan yang ditunjukkan pada gambar dalam Lampiran 12.

Berdasarkan pengamatan jumlah trombosit didapatkan nilai rata-rata trombosit pada ikan mas kontrol (T0) 2,47; ikan mas yang dilukai (T1) 18,4; ikan mas yang diinfeksi (T2) 9,93; dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) 3,73.



Gambar 10. Diagram Persentase Jumlah Trombosit

Dari Gambar 10 diatas terlihat bahwa jumlah trombosit ikan yang diberi perlakuan (perlukaan, peninfeksian dan pemuasaan) mengalami peningkatan apabila dibandingkan dengan kontrol. Jumlah trombosit paling tinggi adalah pada ikan yang dilukai (T1). Hal ini karena trombosit berperan dalam hemostasis. Menurut Guyton (1997), fungsi trombosit terutama mengaktifkan mekanisme pembekuan darah.

4.2 Patologi Klinik Ikan Mas

4.2.1 Ikan Mas yang Dilukai

Patologi klinik yang tampak pada ikan mas yang dilukai (Gambar 11) antara lain terjadi perubahan pada warna tubuh menjadi lebih pucat, pergerakan yang tidak teratur dan tidak seimbang pada waktu awal perlukaan, produksi lendir berlebihan pada permukaan tubuh ikan, operculum terbuka lebih lama, mulut membuka dan menutup dengan cepat, ikan terlihat stres. Ikan yang dilukai tingkah lakunya mulai stabil 3-4 jam setelah perlukaan. Menurut Handajani dan Sri (2005), stres dapat disebabkan oleh kepadatan yang terlalu tinggi, adanya luka, suhu terlalu rendah/tinggi, penanganan, dan adanya bahan kimia pada konsentrasi sub lethal. Ikan yang mengalami stres menunjukkan tingkah laku yang tidak normal.



Gambar 11. Ikan Mas yang Dilukai, dimana anak panah menunjukkan area perlukaan

4.2.2 Ikan Mas yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*

Patologi klinik yang tampak pada ikan mas yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila* (Gambar 12) antara lain perubahan warna tubuh ikan menjadi lebih pucat, produksi lendir yang berlebih di permukaan tubuh ikan, tutup insang merah, bercak merah pada rahang bawah, gerakannya lamban dan tidak seimbang, ikan sering terlihat berdiam dipermukaan karena kekurangan oksigen. Menurut Kordi (2004), ketika terjadi serangan bakteri, insang ikan mengalami kerusakan sehingga sulit bernafas dan ikan sering terlihat dipermukaan.



Gambar 12. Ikan Mas yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophila*, dimana anak panah menunjukkan tanda-tanda penginfeksi

4.2.3 Ikan Mas yang Dipuaskan

Patologi klinik yang tampak pada ikan mas yang dipuaskan (Gambar 13) antara lain warna tubuh menjadi pucat, kurus, perut mengempis dan lembek, pergerakan lambat, dan ikan cenderung diam. Hal ini sesuai dengan pernyataan Handajani dan Sri (2005) yang menyatakan bahwa, pemberian makanan yang cukup akan membentuk ikan yang sehat dan kurangnya jumlah makanan dapat menyebabkan ketahanan tubuh ikan menurun dan pada akhirnya menyebabkan ikan tersebut mati kelaparan.



Gambar 13. Ikan Mas yang Dipuasakan

4.3 Kualitas Air

Kualitas air memegang peranan yang sangat penting dan harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan karena dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan itu sendiri. Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air selama penelitian adalah suhu, derajat keasaman (pH), dan oksigen terlarut (DO).

4.3.1 Suhu

Suhu mempengaruhi aktifitas metabolisme organisme, karena itu penyebaran organisme baik di lautan maupun perairan tawar dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan ikan. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (Kordi, 2004).

Berdasarkan hasil pengukuran selama perlakuan didapatkan nilai rata-rata suhu pada media pemeliharaan sebesar 23,4°C. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal karena menurut Anonymous (2007), suhu ideal bagi ikan mas adalah 20-25 °C.

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Tolak ukur yang digunakan untuk menentukan kondisi perairan asam atau basa biasa disebut pH. Perairan dengan pH terlalu asam atau basa dapat mengakibatkan

aktifitas tubuh menurun, ikan menjadi lemah, lebih mudah terkena infeksi dan dapat menyebabkan kematian (Sudjiharno dan Winanto, 1999 dalam Rahmawati, 2007).

Derajat keasaman (pH) untuk ikan mas berkisar antara 6,5-8 (Lingga, 1990). Berdasarkan hasil pengukuran selama perlakuan didapatkan nilai rata-rata pH pada media pemeliharaan sebesar 7,1.

4.3.3 Oksigen Terlarut atau DO (*Disolved oxygen*)

Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas, sehingga bila ketersediaannya di dalam air tidak mencukupi kebutuhan ikan budidaya, maka segala aktifitas ikan akan terhambat (Kordi, 2004).

Oksigen terlarut dalam air sebanyak 4-7 mg/L merupakan jumlah yang ideal untuk tumbuh dan berkembangnya ikan dalam kolam air tawar (Anonymous, 2007). Berdasarkan hasil pengukuran selama perlakuan didapatkan nilai rata-rata oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan sebesar 7,15 mg/L.

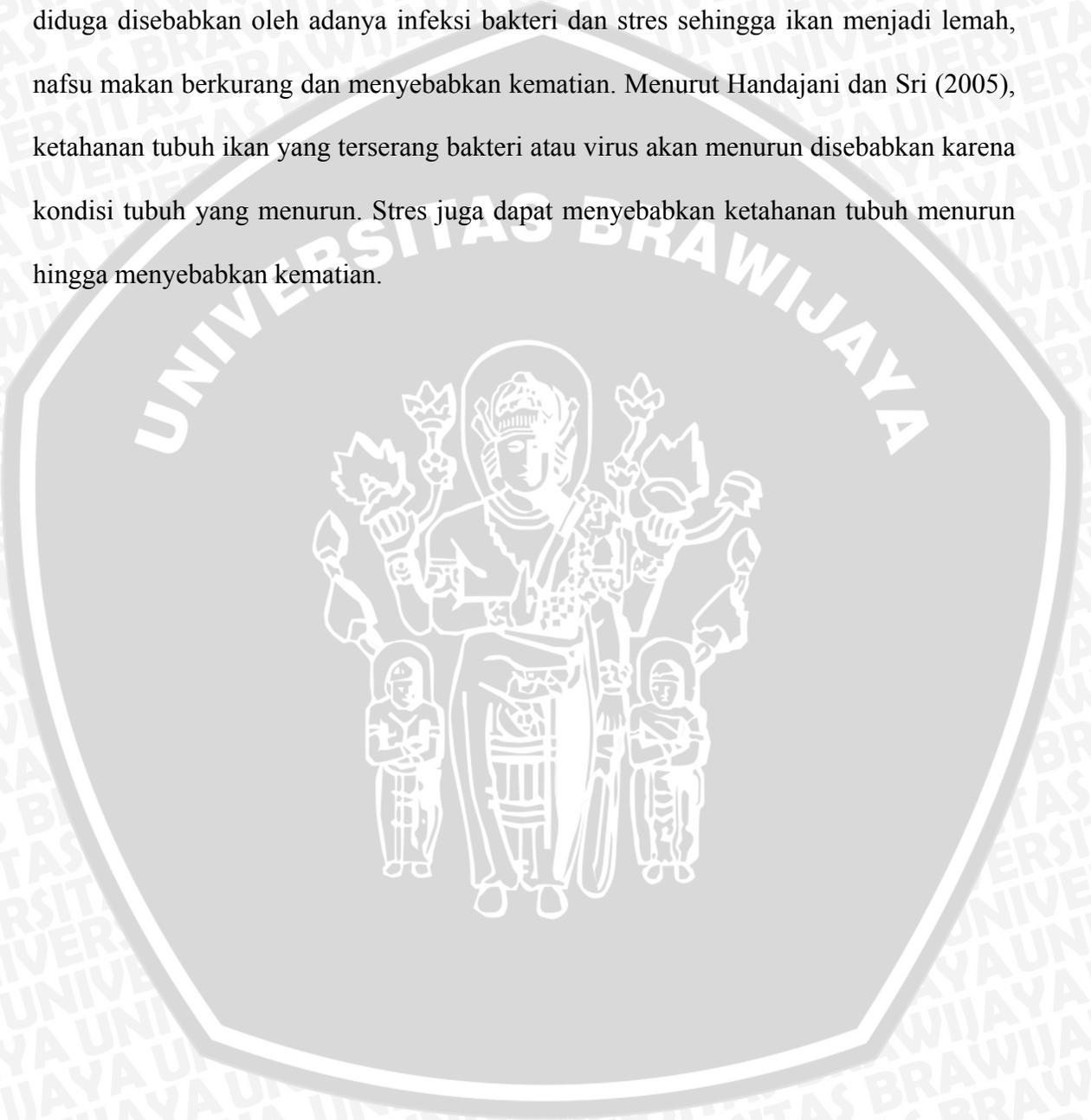
4.4 Survival Rate (SR)

Kelulus hidupan atau *Survival Rate (SR)* pada ikan mas yang dilukai, diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*, dan dipuaskan yang dinyatakan dalam persentase (%) menunjukkan seberapa besar ketahanan tubuh ikan terhadap perlakuan tersebut. Persentase *Survival Rate (SR)* yang diperoleh setelah dilakukan normalisasi data dengan menggunakan transformasi Arcsin pada ikan kontrol (T0) 90 %, pada ikan dilukai (T1) 90 %, pada ikan diinfeksi (T2) 75,19 %, dan pada ikan yang dipuaskan (T3) 79,23 %.

Setelah dilakukan perhitungan terhadap nilai F hitung, diperoleh nilai F hitung = 4,01. Nilai tersebut kurang dari F tabel 5% (4,07), hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksian, dan pemuasaan) pada

ikan mas tidak memberikan hasil yang berbeda terhadap jumlah survival rate ikan mas sehingga perhitungan tidak perlu dilanjutkan ke uji BNT.

Rendahnya persentase *Survival Rate (SR)* pada ikan yang dilukai dan diinfeksi diduga disebabkan oleh adanya infeksi bakteri dan stres sehingga ikan menjadi lemah, nafsu makan berkurang dan menyebabkan kematian. Menurut Handajani dan Sri (2005), ketahanan tubuh ikan yang terserang bakteri atau virus akan menurun disebabkan karena kondisi tubuh yang menurun. Stres juga dapat menyebabkan ketahanan tubuh menurun hingga menyebabkan kematian.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- ◆ Perlakuan yang berbeda (perlukaan, penginfeksi dan pemuasaan) memberikan pengaruh yang nyata terhadap gambaran hematologi ikan mas (*Cyprinus carpio*).
- ◆ Nilai rata-rata kadar hemoglobin pada ikan mas kontrol (T0) = 6,14 g %, ikan yang dilukai (T1) = 5,33 g %, ikan yang diinfeksi (T2) = 4,99 g %, dan ikan yang dipuasakan (T3) = 6,13 g %.
- ◆ Nilai hematokrit rata-rata pada ikan mas kontrol (T0) = 27,23 %, ikan yang dilukai (T1) = 25,3 %, ikan yang diinfeksi (T2) = 24,5 %, dan ikan yang dipuasakan (T3) = 26,99 %.
- ◆ Rata-rata jumlah eritrosit ikan mas kontrol (T0) yaitu 141×10^4 sel/mm³, pada ikan mas yang dilukai (T1) = $109,67 \times 10^4$ sel/mm³, sedangkan ikan yang diinfeksi (T2) = $101,33 \times 10^4$ sel/mm³, dan pada ikan yang dipuasakan (T3) yaitu $123,67 \times 10^4$ sel/mm³.
- ◆ Rata-rata jumlah leukosit pada ikan mas kontrol (T0) = 103386,67 sel/mm³, ikan mas yang dilukai (T1) = 121746,67 sel/mm³, ikan yang diinfeksi (T2) = 137040 sel/mm³, dan ikan yang dipuasakan (T3) = 109720 sel/mm³.
- ◆ Rata-rata persentase neutrofil pada ikan mas kontrol (T0) = 12,01 %, ikan mas yang dilukai (T1) = 21,58 %, ikan mas yang diinfeksi (T2) = 21,75 %, dan ikan mas yang dipuasakan (T3) = 19,6 %.

- ◆ Rata-rata persentase monosit pada ikan mas kontrol (T0) = 8,03 %, ikan mas yang dilukai (T1) = 10,28 %, ikan mas yang diinfeksi (T2) = 11,39 %, dan ikan mas yang dipuasakan (T3) = 9,4 %.
- ◆ Rata-rata persentase limfosit pada ikan mas kontrol (T0) 74,93 %, pada ikan mas yang dilukai (T1) sebesar 65,86 %, sedangkan pada ikan mas yang diinfeksi (T2) yaitu 65,25 %, dan pada ikan mas yang dipuasakan (T3) sebesar 68,10 %.
- ◆ Kadar hemoglobin, nilai hematokrit, jumlah eritrosit, dan persentase limfosit ikan mas setiap perlakuan mengalami penurunan dibandingkan ikan mas kontrol (T0), dimana nilai paling rendah adalah pada perlakuan T2 (penginfeksian).
- ◆ Jumlah leukosit, persentase neutrofil, dan monosit ikan mas setiap perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan ikan mas kontrol (T0), dimana nilai paling tinggi adalah pada perlakuan T2 (penginfeksian).
- ◆ Pada ikan kontrol ditemukan jumlah neutrofil diatas kisaran normal (6-8%) yang mengindikasikan bahwa pada ikan mas kontrol telah terjadi infeksi.

5.2 Saran

Sehubungan dengan ditemukannya infeksi pada ikan kontrol, maka untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan analisa hematologi terlebih dahulu sebelum perlakuan untuk melihat kondisi kesehatan ikan, dan perlu adanya stok ikan mas yang benar-benar sehat dan bebas dari infeksi untuk digunakan dalam penelitian-penelitian selanjutnya. Selain itu, disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai leukocrit, laju endap darah dan parameter hematologi lain yang nantinya dapat digunakan sebagai sumber informasi/acuan untuk pemeriksaan hematologis.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2006. *Cyprinus carpio*. <http://www.caspianenvironment.org>. 10 hal. [14 Desember 2006]
- _____. 2007. *Cyprinus carpio*. <http://www.mancing.info/biologi.htm#top>[2 Februari 2007]
- _____. 2007. **Sel Darah Putih**. Ensiklopedia Bebas Berbahasa Indonesia. http://id.wikipedia.org/wiki/sel_darah_putih [2 Februari 2007]
- Afrianto, E dan E. Liviawati. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta.
- _____. 1998. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius. Yogyakarta.
- Alifuddin, M. 2003. **Pencegahan Dan Pengobatan Penyakit Ikan**. Jurusan Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB. Bogor.
- Anderson, D. 1974. **Fish Immunologi**. TFH Publications USA.
- Bakri, S., Kalma, Rix R., Asrori A. 1989. **Hematologi**. Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Bijanti, R. 2005. **Hematologi Ikan : Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan**. Bagian Ilmu Kedokteran Hewan Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Buchanan, R.E., dan N.E. Gibbons. 1974. **Gram negative Facultatively Anaerobic Rods**. In: **Shewan, J.M., and M. Veron. Bergey's Manual Determinative Bacteriology**. William and Wilkins Baltimore. USA. Page 290-350.
- Dalimunthe, S. 2006. **Penuntun Praktikum Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Dwidjoseputro, D. 1987. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Djambatan. Malang. 215 hal.
- Fadiah, S. 1997. **Studi Penggunaan Bahan Aktif Kurkuriem dari Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestika*) dengan Dosis yang Berbeda Terhadap Bakteri *Aeromonas spp* Secara in-vitro**. Skripsi. Fakultas perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 61 hal.
- Fujaya, Y. 2004. **Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan**. Rineka Cipta. Jakarta.

- Guyton, A.C., dan John E.H. 1997. **Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Alih Bahasa: Irawati S., LMA Ken A.T., dan Alex S.** Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 543-553.
- Hadioetomo. 1983. **Petunjuk Praktikum Biologi Dasar.** PT Gramedia. Jakarta.
- Handajani, H. dan Sri S. 2005. **Parasit dan Penyakit Ikan.** Penerbit Universitas Muhammadiyah Malang.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath., J. T. Staley, & S. T. Williams. 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Edition.** A. Waverly Company Williams and Wilkins. Baltimore. 787 hal.
- Johnny, F., Zafran, D. Roza, dan K. Mahardika. 2003. **Hematologi Beberapa Spesies Ikan Laut Budidaya dalam Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Edisi Aquakultur.** Badan Riset Kelautan Perikanan dan Departemen Kelautan dan Perikanan.
- Kabata, Z. 1985. **Parasites and Disease of Fish Cultured in the Tropics.** Taylor and Frandhis Ltd. London. 318p.
- Kordi, K.M.G.H. 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan.** Rineka Cipta. Jakarta.
- Lilia, W. 2007. **Penggunaan Sampel Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio koi*) Yang Terinfeksi KHV (*Koi Herpesvirus*) Dalam Pengujian PCR (Polymerase Chain Reaction) Dan Analisa Heematologinya.** Tesis. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.
- Nabib, R. dan F. H. Pasaribu. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan.** Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 hal.
- Nazir, M. 1988. **Metode Penelitian.** Ghalia Indonesia. Jakarta Timur. 622 hal.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi II.** Alih Bahasa: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 997 hal.
- Price, S. A. dan L. M. Wilson. 1984. **Patofisiologi Konsep dan Klinik Proses-Proses Penyakit Bagian I.** Alih Bahasa: Adji Dharma. EGC Kedokteran. Jakarta. 357 hal.
- Rahmawati, A. 2007. **Pengaruh Paparan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Kepadatan Yang Berbeda Terhadap Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus Carpio L.*).** Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang.

- Santoso, B. 1993. **Petunjuk Praktis Budidaya Ikan Mas**. Kanisius. Yogyakarta. 83 hal.
- Sarono, A., Kamiso H. N., I. Y. B. Lelono, Widodo, N. Thaib, E.B.S. Haryani, S. Haryanto, Triyanto, Ustadi, A. N. Kusumahati, W. Novianti, S. Wardani & Setaningsih. 1993. **Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri**. Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dengan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 91 hal.
- Stopkopf, M. 1992. **Fish Medicine**. W.B. Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich, Inc. Philadelphia.
- Susanto, H dan A. Rochdianto. 2000. **Kiat Budidaya Ikan Mas di Lahan Kritis**. Penebar Swadaya. Jakarta. 132 hal.
- Sutjiati, M. 1990. **Diktat Kuliah Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 183 hal.
- Steel, R. G. D. And J. H. Torrie. 1993. **Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik**. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 748 hal.
- Sterba, G. 1989. **Freshwater Fishes of The World**. Cosmo Publication.
- Svobodova, Z. Dan B. Vykusova. 1991. **Diagnostic, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxycation**. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodňany, Czechoslovakia. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AC160E/AC160E00.htm#TOC>.
- Tizard, I. 1987. **Pengantar Immunologi Veteriner**. Erlangga. Jakarta.
- Volk, W. A. And M. F. Wheeler. 1988. **Mikrobiologi Dasar**. Alih Bahasa : Markham. Edisi V. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- White, R. 2006. **Diagnosis of *Areomonas hydrophila* Infection in Fish**. <http://www.addl.purdue.edu/newsletters/1991/aeromonas.html>. Diakses 1 Agustus 2006.
- Wirawan, R., R. Setiabudi, F.S. Satyawirawan, E. Silwan, T. Loho, I. Pitono. 2000. **Pemeriksaan Laboratorium Hematologi Sederhana**. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Volume Paparan Sel Bakteri yang Digunakan

Perhitungan volume paparan sel bakteri yang dibutuhkan dihitung dengan menggunakan rumus $N1.V1 = N2.V2$, dan diketahui :

1 Akuarium besar berisi 36 L air, jadi $36 \text{ L} = 36000 \text{ ml}$ ($V2$)

Stok bakteri ($N1$) = $5,2 \cdot 10^8$ sel/ml

Volume paparan bakteri yang dibutuhkan pada penginfeksian 10^6 sel/ml :

$$N1.V1 = N2.V2$$

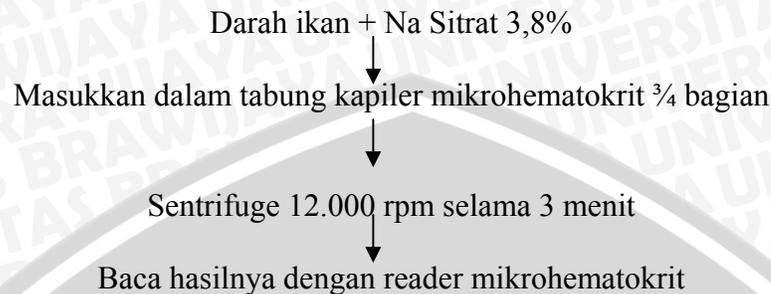
$$5,2 \cdot 10^8 \text{ sel/ml} \cdot V1 = 10^6 \text{ sel/ml} \cdot 36000 \text{ ml}$$

$$V1 = 69,23 \text{ ml}$$

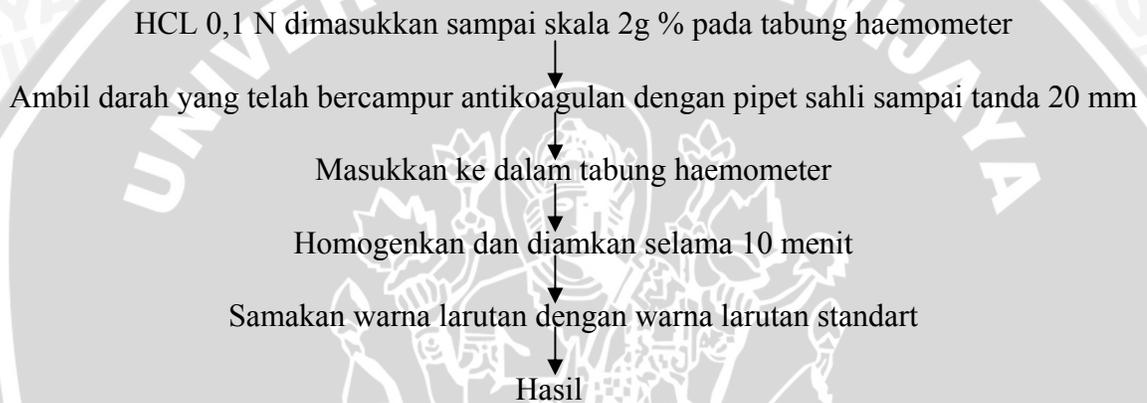
Jadi volume bakteri yang dibutuhkan untuk masing-masing aquarium pada perlakuan penginfeksian adalah 69,23 ml.

Lampiran 2. Skema Kerja Perhitungan Sel Darah Ikan

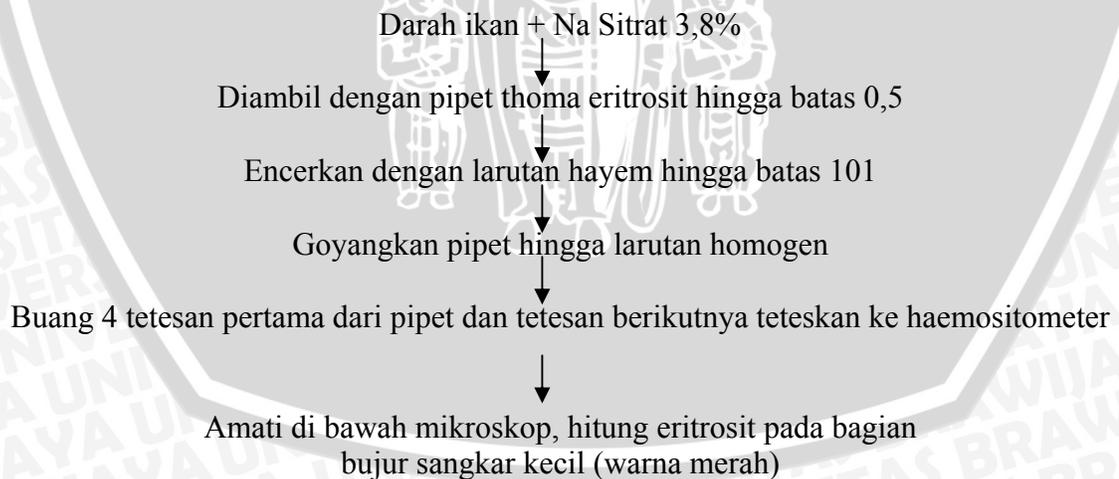
a. Nilai Hematokrit



b. Nilai Haemoglobin



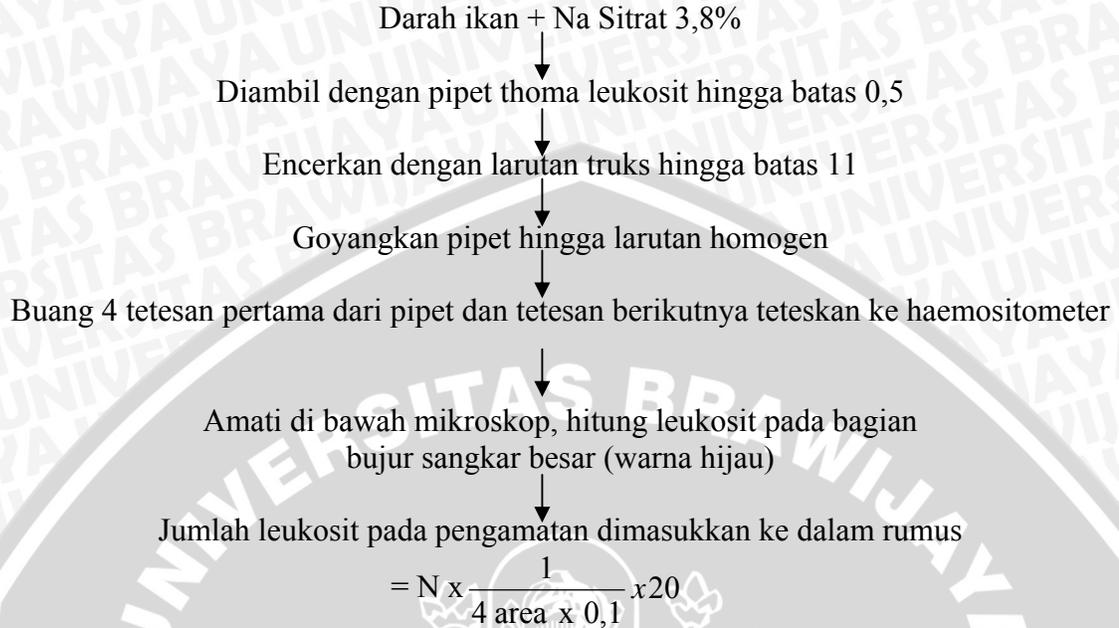
c. Jumlah Eritrosit



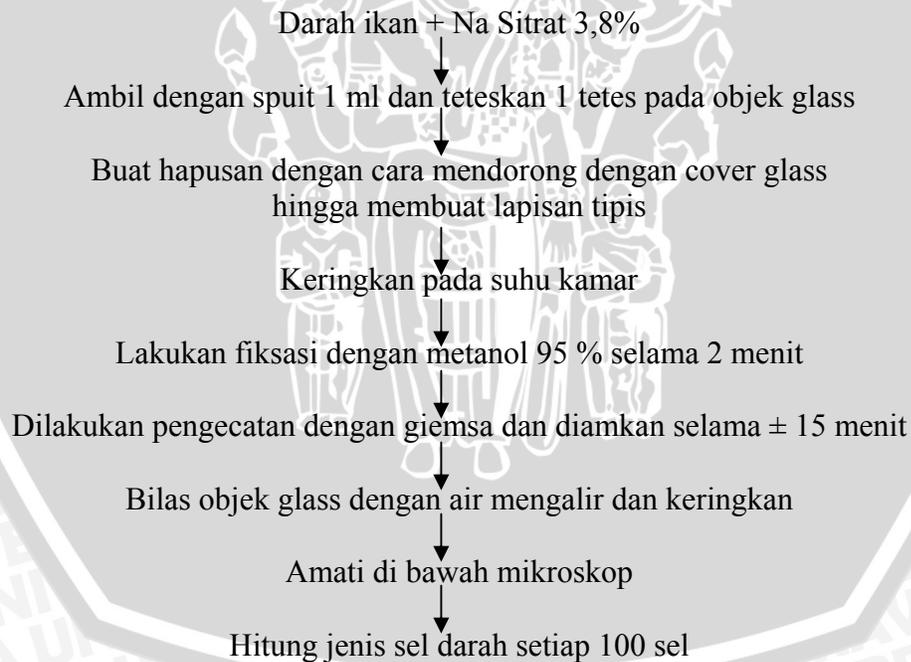
Jumlah eritrosit pada pengamatan dimasukkan ke dalam rumus

$$= N \times \frac{1}{5 \text{ area} \times 1/250} \times 200$$

d. Jumlah Leukosit



e. Deferensial Leukosit



Lampiran 3. Data Perhitungan Kadar Hemoglobin Ikan Mas

Tabel Nilai Kadar Hemoglobin (g%)

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	6,04	4,76	4,66	6,14	
2	6,18	5,74	5,04	6,2	
3	6,2	5,48	5,28	6,06	
Jumlah	18,42	15,98	14,98	18,4	67,78
Rata-rata	6,14	5,33	4,99	6,13	

Perhitungan

$$FK = \frac{(Y)^2}{n}$$

$$= \frac{(67,78)^2}{12}$$

$$= 382,844$$

$$JK \text{ Total} = \sum Xi^2 - FK$$

$$= (6,04^2 + 6,18^2 + \dots + 6,06^2) - 382,844$$

$$= 3,764$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{\sum Ti^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(18,42^2 + 15,98^2 + 14,98^2 + 18,4^2)}{3} - 382,844$$

$$= 3,028$$

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

$$= 3,764 - 3,028$$

$$= 0,736$$

$$\text{KT Perlakuan} = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}}$$

$$= \frac{3,028}{3}$$

$$= 1,009$$

$$\text{KT Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}}$$

$$= \frac{0,736}{8}$$

$$= 0,092$$

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

$$= \frac{1,009}{0,092}$$

$$= 10,967$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	3,028	1,009	10,967**	7,59	4,07
Galat	8	0,736	0,092			
Total	11					

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2\text{KTG}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,092}{3}}$$

$$= 0,25$$

$$\text{BNT}_{0,05} = t_{5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,306 \times 0,25$$

$$= 0,57$$

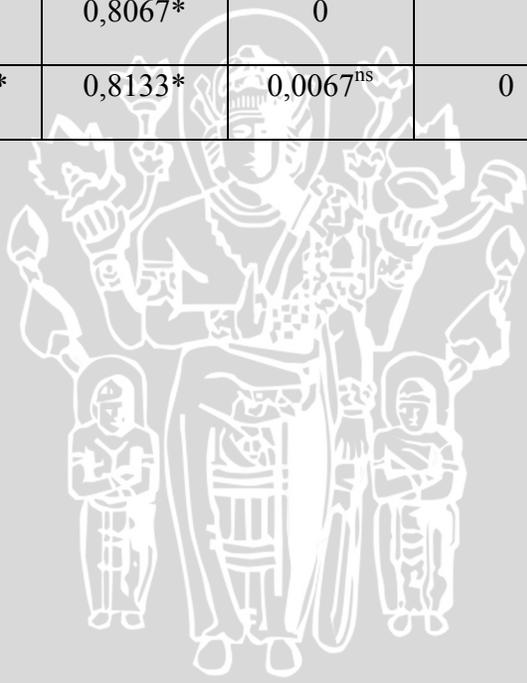
$$\text{BNT}_{0,01} = t 1 \% \times \text{SED}$$

$$= 3,355 \times 0,25$$

$$= 0,83$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	(T2) 4,99	(T1) 5,33	(T3) 6,13	(T0) 6,14	Notasi
(T2) 4,99	0				a
(T1) 5,33	0,3333 ^{ns}	0			a
(T3) 6,13	1,14**	0,8067*	0		b
(T0) 6,14	1,1467**	0,8133*	0,0067 ^{ns}	0	b



Lampiran 4. Data Perhitungan Nilai Hematokrit

Tabel Nilai Hematokrit (%)

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	21,2	18	17,4	20,8	
2	21	18,4	17,4	20,4	
3	20,6	18,4	16,8	20,6	
Jumlah	62,8	54,8	51,6	61,8	231
rata-rata	20,933333	18,266667	17,2	20,6	

Data transformasi Arcsin

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	27,42	25,1	24,65	27,13	
2	27,28	25,4	24,65	26,85	
3	26,99	25,4	24,2	26,99	
Jumlah	81,69	75,9	73,5	80,97	312,06
Rata-rata	27,23	25,3	24,5	26,99	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(312,06)^2}{12} \\
 &= 8115,12
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (27,42^2 + 27,28^2 + \dots + 26,99^2) - 8115,12 \\
 &= 16,03
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(81,69^2 + 75,9^2 + 76,5^2 + 80,97^2)}{3} - 8115,12 \\
 &= 15,7
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 16,03 - 15,7 \\
 &= 0,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{15,7}{3} \\
 &= 5,23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Galat} &= \frac{JK \text{ Galat}}{db \text{ Galat}} \\
 &= \frac{0,33}{8} \\
 &= 0,65
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} \\
 &= \frac{5,23}{0,65} \\
 &= 8,05
 \end{aligned}$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	15,7	5,23	8,05**	7,59	4,07
Galat	8	0,33	0,65			
Total	11					



Uji (BNT) Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,65}{3}} \\ &= 0,66 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,66 \\ &= 1,53 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,01} &= t_{1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,66 \\ &= 2,22 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T2 (24,5)	T1 (25,3)	T3 (26,99)	T0 (27,23)	Notasi
T2 (24,5)	0				a
T1 (25,3)	0,8 ^{ns}	0			a
T3 (26,99)	2,49**	1,69*	0		b
T0 (27,23)	2,73**	1,93*	0,24 ^{ns}	0	b

Lampiran 5. Data Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Mas

Tabel Data Jumlah Eritrosit (sel/mm³)

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	1430000	1090000	1000000	1200000	
2	1380000	1110000	1030000	1240000	
3	1420000	1090000	1010000	1270000	
Jumlah	4230000	3290000	3040000	3710000	14270000
Rata-rata	1410000	1096666,667	1013333,333	1236666,667	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(14270000)^2}{12} \\
 &= 1,697 \times 10^{13} \\
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (1430000^2 + 1380000^2 + \dots + 1270000^2) - 1,697 \times 10^{13} \\
 &= 2,761 \times 10^{11} \\
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(4230000^2 + 3290000^2 + 3040000^2 + 3710000^2)}{3} - 1,697 \times 10^{13} \\
 &= 2,715 \times 10^{11} \\
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 2,761 \times 10^{11} - 2,715 \times 10^{11} \\
 &= 46 \times 10^8 \\
 KT \text{ Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}
 \end{aligned}$$

$$= \frac{2,715 \times 10^{11}}{3}$$

$$= 9,050 \times 10^{10}$$

$$\text{KT Galat} = \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}}$$

$$= \frac{46 \times 10^8}{8}$$

$$= 5,75 \times 10^8$$

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

$$= \frac{9,050 \times 10^{10}}{5,75 \times 10^8}$$

$$= 157,391$$

Analisa sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	$2,715 \times 10^{11}$	$9,050 \times 10^{10}$	157,391**	7,59	4,07
Galat	8	46×10^8	$5,75 \times 10^8$			
Total	11					

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2\text{KTG}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times (46 \times 10^8)}{3}}$$

$$= 55380,5$$

$$\text{BNT}_{0,05} = t_{5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,306 \times 55380,5$$

$$= 127707,4$$

$$\text{BNT}_{0,01} = t_{1\%} \times \text{SED}$$



$$= 3,355 \times 55380,5$$

$$= 185801,6$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T2 (1013333,33)	T1 (1096666,67)	T3 (1236666,67)	T0 (1410000)	Notasi
T2 (1013333,33)	0				a
T1 (1096666,67)	83333,34 ^{ns}	0			a
T3 (1236666,67)	223333,34**	140000**	0		b
T0 (1410000)	396666,67**	313333,33**	173333,33*	0	c



Lampiran 6. Data Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Mas

Tabel Data Jumlah Leukosit (sel/mm³)

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	100400	123120	138680	110960	
2	107480	120400	136080	110080	
3	102280	121720	136360	108120	
Jumlah	310160	365240	411120	329160	1415680
rata-rata	103386,67	121746,67	137040	109720	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(1415680)^2}{12} \\
 &= 1,67 \times 10^{11} \\
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (100400^2 + 107480^2 + \dots + 108120^2) - 1,67 \times 10^{11} \\
 &= 2,015 \times 10^9 \\
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(310160^2 + 365240^2 + 411120^2 + 329160^2)}{3} - 1,67 \times 10^{11} \\
 &= 1,976 \times 10^9 \\
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 2,015 \times 10^9 - 1,976 \times 10^9 \\
 &= 3,9 \times 10^7
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{1,976 \times 10^9}{3} \end{aligned}$$

$$= 6,587 \times 10^8$$

$$\begin{aligned} \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\ &= \frac{3,9 \times 10^7}{8} \end{aligned}$$

$$= 4,875 \times 10^6$$

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

$$= \frac{6,587 \times 10^8}{4,875 \times 10^6}$$

$$= 135,118$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	1,976x10 ⁹	6,587x10 ⁸	135,118**	7,59	4,07
Galat	8	3,9x10 ⁷	4,875x10 ⁶			
Total	11					

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2\text{KTG}}{r}}$$

$$= \sqrt{\frac{2 \times 4,875 \times 10^6}{3}}$$

$$= 1802,8$$

$$\text{BNT}_{0,05} = t_{5\%} \times \text{SED}$$

$$= 2,306 \times 1802,8$$

$$= 4157,3$$

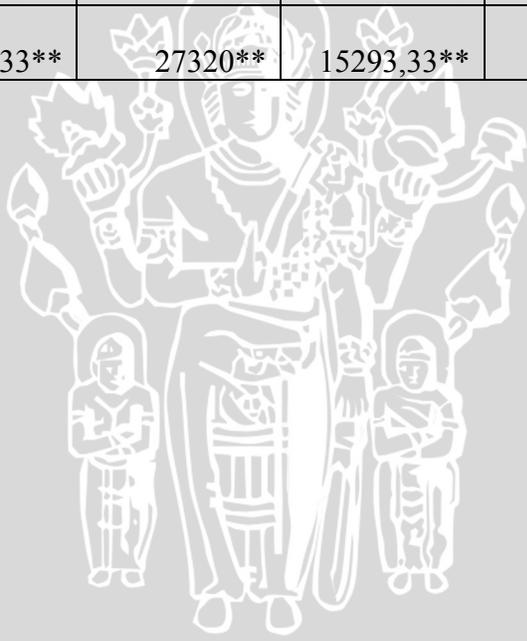
$$\text{BNT}_{0,01} = t 1\% \times \text{SED}$$

$$= 3,355 \times 1802,8$$

$$= 6048,4$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T0 (103386,667)	T3 (109720)	T1 (121746,667)	T2 (137040)	Notasi
T0 (103386,67)	0				a
T3 (109720)	6333,33**	0			b
T1 (121746,67)	18360**	12026**	0		c
T2 (137040)	33653,33**	27320**	15293,33**	0	d



Lampiran 7. Data Perhitungan Persentase Jumlah Neutrofil Ikan Mas

Tabel Data Persentase Jumlah Neutrofil

Uji statistik persentase neutrofil ikan mas					
Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	4,4	13	14	10,2	
2	4	14,4	13,6	12,4	
3	4,6	13,2	13,6	11,2	
Jumlah	13	40,6	41,2	33,8	128,6
rata-rata	4,33	13,53	13,73	11,28	

Data transformasi Arcsine

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	12,11	21,13	21,97	18,63	
2	11,54	22,3	21,64	20,62	
3	12,39	21,3	21,64	19,55	
Jumlah	36,04	64,73	65,25	58,8	224,82
rata-rata	12,01	21,58	21,75	19,6	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(224,82)^2}{12} \\
 &= 4212,003
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (12,11^2 + 11,54^2 + \dots + 19,55^2) - 4212,003 \\
 &= 192,514
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(36,04^2 + 64,73^2 + 65,25^2 + 58,8^2)}{3} - 4212,003 \\
 &= 189,283
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 192,514 - 189,283 \\
 &= 3,231
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{189,283}{3} \\
 &= 63,094
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{3,231}{8} \\
 &= 0,404
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung} &= \frac{\text{KT Perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{63,094}{0,404} \\
 &= 156,226
 \end{aligned}$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	189,283	63,094	156,226**	7,59	4,07
Galat	8	3,231	0,404			
Total	11					



Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,404}{3}} \\
 &= 0,52
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,05} &= t_{5\%} \times SED \\
 &= 2,306 \times 0,52 \\
 &= 1,20
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,01} &= t_{1\%} \times SED \\
 &= 3,355 \times 0,52 \\
 &= 1,75
 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T0 (12,01)	T3 (19,6)	T1 (21,58)	T2 (21,75)	Notasi
T0 (12,01)	0				a
T3 (19,6)	7,59**	0			b
T1 (21,58)	9,57**	1,98**	0		c
T2(21,75)	9,74**	2,15**	0,17 ^{ns}	0	c



Lampiran 8. Data Perhitungan Persentase Jumlah Monosit Ikan Mas

Tabel Data Jumlah Monosit

Uji statistik persentase monosit ikan mas					
Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	1,2	3,8	5	2,6	
2	2,6	2,8	3,2	2,8	
3	2,2	3	3,6	2,6	
jumlah	6	9,6	11,8	8	35,4
rata-rata	2	3,2	3,93	2,67	

Data transformasi Arcsine

Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	6,29	11,24	12,92	9,28	
2	9,28	9,63	10,31	9,63	
3	8,53	9,97	10,94	9,28	
jumlah	24,1	30,84	34,17	28,19	117,3
rata-rata	8,03	10,28	11,39	9,4	

Perhitungan

$$FK = \frac{(Y)^2}{n}$$

$$= \frac{(117,3)^2}{12}$$

$$= 1146,608$$

$$JK \text{ Total} = \sum Xi^2 - FK$$

$$= (6,29^2 + 9,28^2 + \dots + 9,28^2) - 1146,608$$

$$= 28,191$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(24,1^2 + 30,84^2 + 34,17^2 + 28,19^2)}{3} - 1146,608 \\
 &= 18,119
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 28,191 - 18,119 \\
 &= 10,072
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{18,119}{3} \\
 &= 6,040
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Galat} &= \frac{JK \text{ Galat}}{db \text{ Galat}} \\
 &= \frac{10,072}{8} \\
 &= 1,259
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} \\
 &= \frac{6,040}{1,259} \\
 &= 4,797
 \end{aligned}$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	18,119	6,040	4,797*	7,59	4,07
Galat	8	10,072	1,259			
Total	11					



Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 1,259}{3}} \\ &= 0,916139 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,05} &= t_{5\%} \times \text{SED} \\ &= 2,306 \times 0,916139 \\ &= 2,112617 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT}_{0,01} &= t_{1\%} \times \text{SED} \\ &= 3,355 \times 0,916139 \\ &= 3,073647 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T0 (8,03)	T3 (9,40)	T1 (10,28)	T2 (11,39)	Notasi
T0 (8,03)	0				a
T3 (9,40)	1,363333 ^{ns}	0			ab
T1 (10,28)	2,246667*	0,883333 ^{ns}	0		b
T2 (11,39)	3,356667**	1,993333 ^{ns}	1,11 ^{ns}	0	b

Lampiran 9. Data Perhitungan Persentase Jumlah Limfosit Ikan Mas

Tabel Data Persentase Jumlah Limfosit

Uji statistik persentase limfosit ikan mas					
Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	94,4	83,2	81,8	87,2	
2	93,4	82,8	82,8	84,8	
3	91,8	83,8	82,8	86,2	
jumlah	279,6	249,8	247,4	258,2	1035
rata-rata	93,2	83,267	82,467	86,067	

Data transformasi Arcsine					
Ulangan	Perlakuan				Jumlah
	T0	T1	T2	T3	
1	76,31	65,8	64,75	69,04	
2	75,11	65,5	65,5	67,05	
3	73,36	66,27	65,5	68,19	
jumlah	224,78	197,57	195,75	204,28	822,38
rata-rata	74,927	65,857	65,25	68,093	

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(822,38)^2}{12} \\
 &= 56359,072
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (76,31^2 + 75,11^2 + \dots + 68,19^2) - 56359,072 \\
 &= 184,111
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Perlakuan} &= \frac{\sum Ti^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(224,78^2 + 197,57^2 + 195,75^2 + 204,28^2)}{3} - 56359,072 \\
 &= 177,039
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Galat} &= JK \text{ Total} - JK \text{ Perlakuan} \\
 &= 184,111 - 177,039 \\
 &= 7,072
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Perlakuan} &= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{177,039}{3} \\
 &= 59,013
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 KT \text{ Galat} &= \frac{JK \text{ Galat}}{db \text{ Galat}} \\
 &= \frac{7,072}{8} \\
 &= 0,884
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung} &= \frac{KT \text{ Perlakuan}}{KT \text{ Galat}} \\
 &= \frac{59,013}{0,884} \\
 &= 66,757
 \end{aligned}$$

Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	177,039	59,013	66,757**	7,59	4,07
Galat	8	7,072	0,884			
Total	11					



Uji BNT (Beda Nyata Terkecil)

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,884}{3}} \\
 &= 0,768
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,05} &= t_{5\%} \times SED \\
 &= 2,306 \times 0,768 \\
 &= 1,770
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT_{0,01} &= t_{1\%} \times SED \\
 &= 3,355 \times 0,768 \\
 &= 2,576
 \end{aligned}$$

Tabel Uji BNT

Rata-rata Perlakuan	T2 (65,25)	T1 (65,86)	T3 (68,10)	T0 (74,93)	Notasi
T2 (65,25)	0				a
T1 (65,86)	0,607 ^{ns}	0			a
T3 (68,10)	2,843**	2,237*	0		b
T0 (74,93)	9,677**	9,07**	6,833**	0	c



Lampiran 10. Data Kualitas Air Ikan Mas

Tabel Data Kualitas Air

Perlakuan	Parameter Uji				Rata-rata		
	Ulangan	Suhu (0C)	DO (mg/L)	pH	Suhu	DO	pH
T0	1	23,5	7,17	6,82	23,453	7,113	7,18
	2	23,42	7,04	7,27			
	3	23,44	7,13	7,45			
T1	1	23,26	7,06	7,26	23,293	7,05	7,397
	2	23,3	7,06	7,45			
	3	23,32	7,03	7,48			
T2	1	23,33	6,88	6,76	23,293	6,98	6,817
	2	23,27	6,95	6,48			
	3	23,28	7,11	7,21			
T3	1	23,36	7,45	7,02	23,363	7,463	7
	2	23,33	7,51	6,76			
	3	23,4	7,43	7,22			



Lampiran 11. Data Survival Rate (SR)

Tabel Data Survival Rate (SR)

Survival Rate (SR)				
Ulangan	T0	T1	T2	T3
1	100	100	85,71	100
2	100	100	85,71	100
3	100	100	100	71,43
Jumlah	300	300	271,4	271,4
rata-rata	100	100	90,48	90,48

Data Transformasi Arcsine

Survival Rate (SR)				
Ulangan	T0	T1	T2	T3
1	90	90	67,79	90
2	90	90	67,79	90
3	90	90	90	57,69
Jumlah	270	270	225,6	237,7
rata-rata	90	90	75,19	79,23

Perhitungan

$$\begin{aligned}
 FK &= \frac{(Y)^2}{n} \\
 &= \frac{(1003,3)^2}{12} \\
 &= 83884,24
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum Xi^2 - FK \\
 &= (90^2 + 90^2 + \dots + 57,6^2) - 83884,24 \\
 &= 1534,86
 \end{aligned}$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{\sum Ti^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(270^2 + 270^2 + 225,6^2 + 237,7^2)}{3} - 1534,86$$

$$= 514,64$$

JK Galat = JK Total – JK Perlakuan

$$= 1534,86 - 514,64$$

$$= 1020,22$$

KT Perlakuan = $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$

$$= \frac{514,64}{3}$$

$$= 511,61$$

KT Galat = $\frac{JK \text{ Galat}}{db \text{ Galat}}$

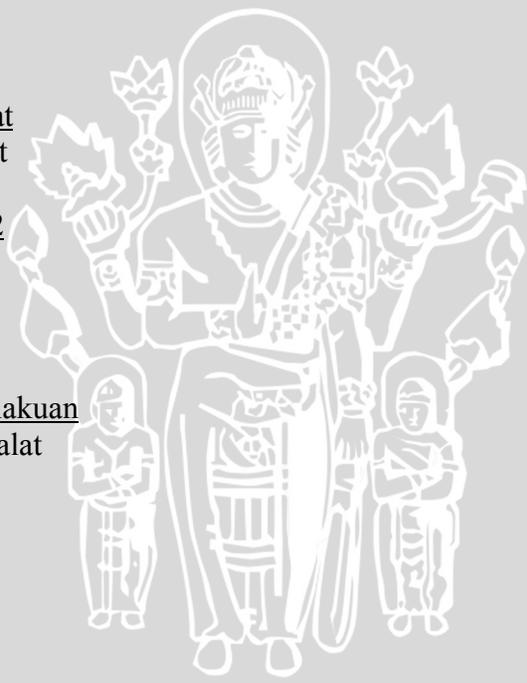
$$= \frac{1020,22}{8}$$

$$= 127,53$$

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

$$= \frac{511,61}{127,53}$$

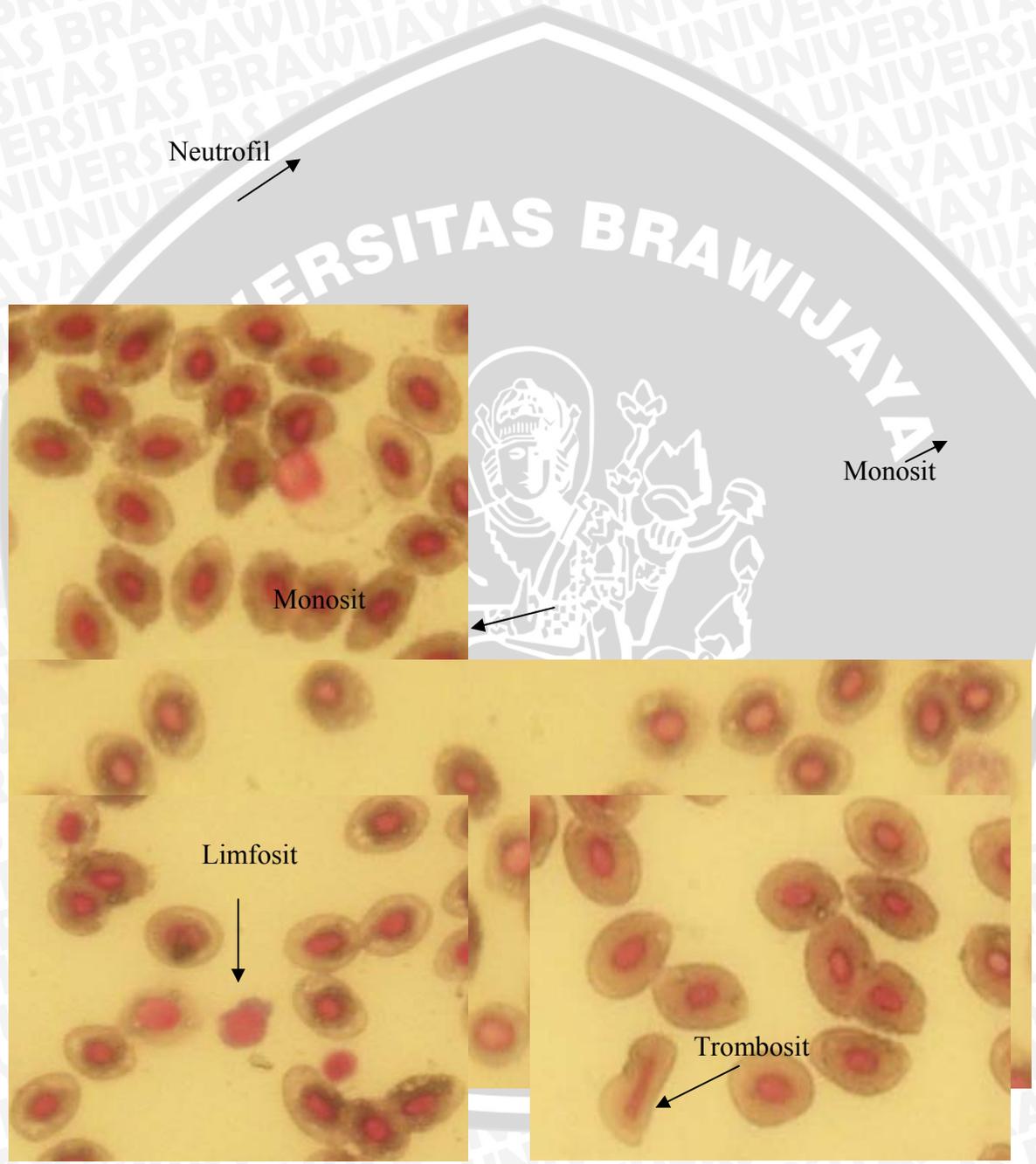
$$= 4,01$$



Tabel sidik ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 1%	F 5%
Perlakuan	3	514,64	511,61	4,01 ^{ns}	7,59	4,07
Galat	8	1020,22	127,53			
Total	11					

Lampiran 12. Gambar Jenis-jenis Leukosit



Keterangan : Gambar diambil dengan menggunakan fotomikroskop perbesaran 400x merek olympus DP20



Lampiran 13. Gambar Alat dan Bahan yang Digunakan Dalam Penelitian



Akuarium



- Keterangan :
- | | | | |
|---|---------------------|---|----------------------|
| A | : Rak tabung reaksi | G | : Triangle |
| B | : Gelas ukur | H | : Pipet tetes |
| C | : Cawan petri | I | : Bunsen |
| D | : Erlenmeyer | J | : Pipet volume 1 ml |
| E | : Tabung reaksi | K | : Pipet volume 10 ml |



Autoklaf



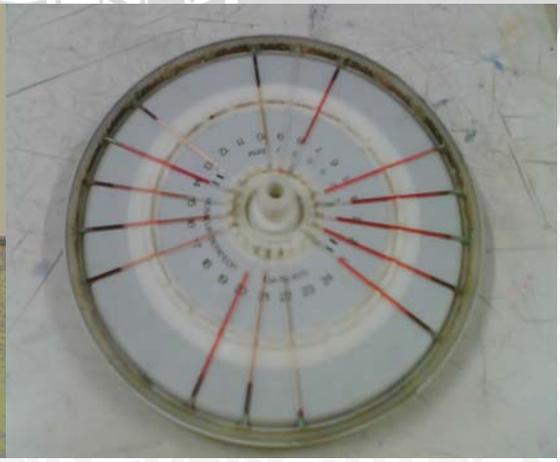
Hot plate



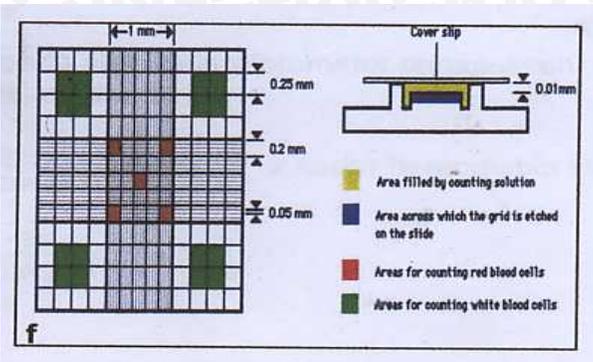
Alat dan bahan perhitungan eritrosit, leukosit dan deferensial leukosit



Alat Pengukuran kualitas air



Sentrifuge darah (haemofuge), reader hematokrit dan lempeng haemofuge



Skema kamar hitung Improved Neubauer



Timbangan analitik



Sahlimeter



Haemocytometer

