

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN BAKTERIN PADA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio* L) PASCA UJI TANTANG TERHADAP DAYA
HAMBAT BAKTERI *Aeromonas salmonicida***

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Oleh :
AGUNG AZHAR KURNIAWAN
NIM. 0810852009



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2011**

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN BAKTERIN PADA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio* L) PASCA UJI TANTANG TERHADAP DAYA
HAMBAT BAKTERI *Aeromonas salmonicida***

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

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

Oleh :

AGUNG AZHAR KURNIAWAN

NIM. 0810852009



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2011

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN BAKTERIN PADA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio* L) PASCA UJI TANTANG TERHADAP DAYA
HAMBAT BAKTERI *Aeromonas salmonicida*

Oleh :
AGUNG AZHAR KURNIAWAN
0810852009

Menyetujui,

Dosen Penguji

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)

Tanggal :

Dosen Pembimbing I

(Dr. Ir. Maftuch, M.Si)

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

(Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si)

Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS.)

Tanggal :

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan 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	6
2.1 Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i> L)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Distribusi dan Siklus Hidup	7
2.1.3 Sistem Imunitas Ikan	8
2.1.4 Darah	9
2.2 Biologi <i>Aeromonas salmonicida</i>	11
2.2.1 Klasifikasi dan morfologi <i>A. salmonicida</i>	11
2.2.2 Aktifitas dan Pertumbuhan	12
2.2.3 Infeksi dan Tanda-tanda Penyerangannya	13
2.2.4 Vaksin	14
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	16
3.1 Materi Penelitian	16
3.1.1 Bahan-bahan Penelitian	16
3.1.2 Alat-alat Penelitian	16
3.2 Metode dan Rancangan Penelitian	16
3.3 Prosedur Penelitian	18
3.3.1 Persiapan Penelitian	18
3.3.1.1 Sterilisasi alat dan bahan	18
3.3.1.2 Pembuatan Media	18
3.3.2 Pelaksanaan Penelitian	19
3.3.2.1 Pembuatan Biakan Bakteri <i>Aeromonas salmonicida</i>	19
3.3.2.2 Pewarnaan Gram (<i>Gram Staining</i>)	20
3.3.2.3 Pembuatan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	20
3.3.2.4 Menginfeksi Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) dengan	21
<i>A. salmonicida</i>	21

3.3.2.5 Persiapan Wadah dan Hewan Uji	21
3.4 Parameter Uji	22
3.4.1 Parameter Utama	22
3.4.1.1 Perhitungan Eritrosit	22
3.4.1.2 Total Leukosit	22
3.4.1.3 Hematokrit	23
3.4.1.4 Differensial Leukosit	24
3.4.2 Parameter Penunjang	25
3.4.2.1 pH (<i>power of hydrogen</i>)	25
3.4.2.2 DO (<i>Dissolved Oxygen</i>)	26
3.4.2.3 Suhu	26
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Penentuan Kepadatan Bakteri untuk Ujiantang	27
4.2 Hasil isolasi Bakteri <i>A. salmonicida</i>	27
4.3 Penentuan Dosis Vaksin Bakteri untuk Ujiantang	28
4.4 Mortalitas Ikan pada Perlakuan	28
4.5 Jumlah Total Eritrosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	28
4.6 Jumlah Total Hematokrit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	32
4.7 Jumlah Total Leukosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	36
4.8 Differensial Leukosit	40
4.8.1 Jumlah Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	40
4.8.2 Jumlah Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	44
4.8.3 Jumlah Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	48
4.8.4 Jumlah Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Ujiantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	51
4.9 Pengamatan Kualitas air	55
5. KESIMPULAN DAN SARAN	57
5.1 Kesimpulan	57
5.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

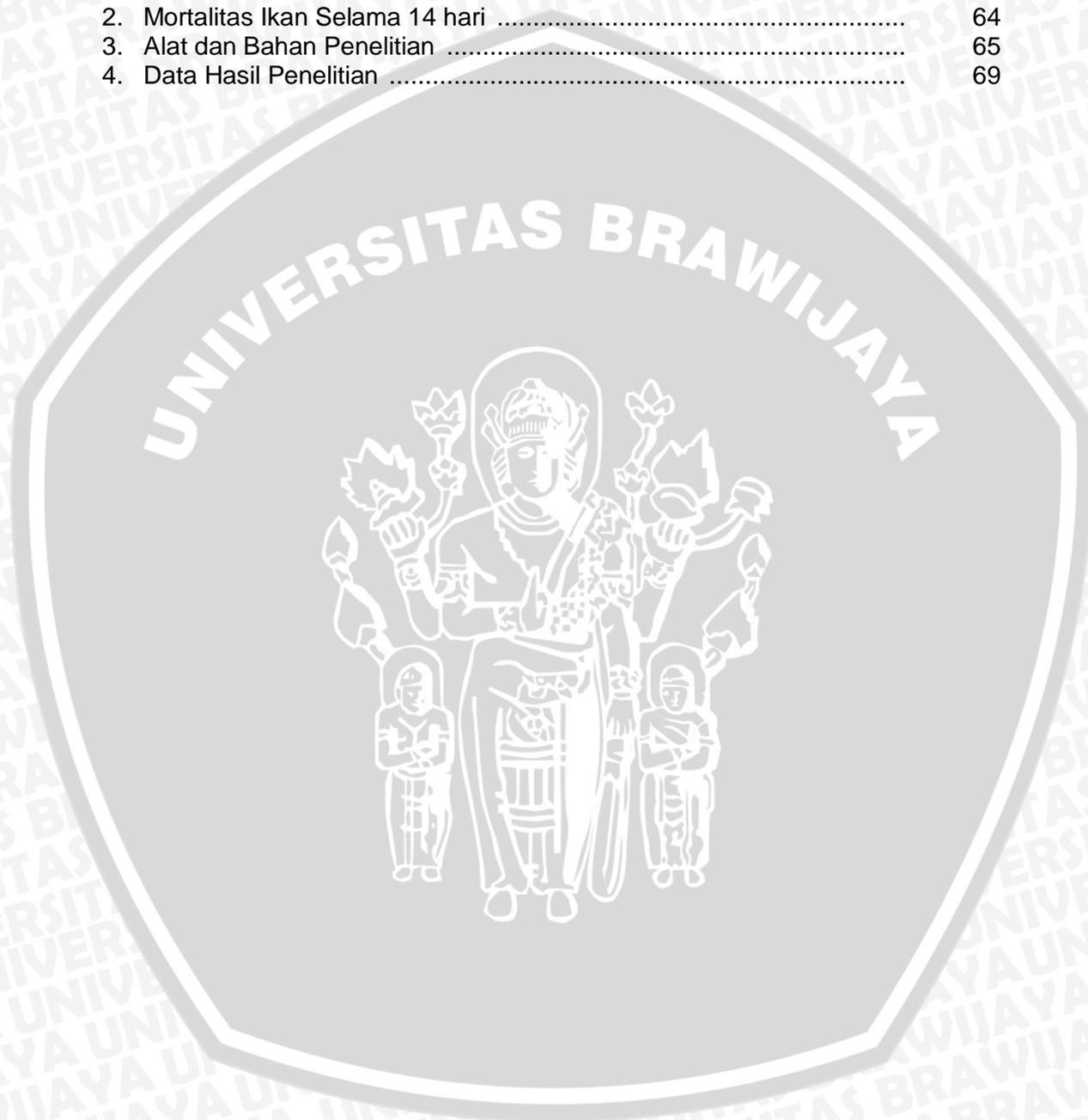
Tabel	Halaman
1. Sidik Ragam Total Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	31
2. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	31
3. Sidik Ragam Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	34
4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	35
5. Sidik Ragam Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	39
6. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	39
7. Sidik Ragam Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	42
8. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	43
9. Sidik Ragam Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	46
10. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	46
11. Sidik Ragam Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	49
12. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	50
13. Sidik Ragam Eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	53
14. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas	6
2. <i>Aeromonas salmonicida</i>	12
3. Denah Penelitian	17
4. <i>Haemocytometer</i>	23
5. Alat Hitung Hematokrit (Pipa Kapiler Hematokrit)	24
6. Vaksin Bakterin	27
7. Eritrosit.....	29
8. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Eritrosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	29
9. Kurva Hubungan Kuadratik Total Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	32
10. Hematokrit	33
11. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Hematokrit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	33
12. Kurva Hubungan Kuadratik Total Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	36
13. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Leukosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	37
14. Kurva Hubungan Kuadratik Total Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	40
15. Neutrofil	41
16. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	41
17. Kurva Hubungan Kuadratik Total Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	44
18. Monosit	44
19. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	45
20. Kurva Hubungan Linier Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	47
21. Limfosit	48
22. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	48
23. Kurva Hubungan Kuadratik Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	50
24. Eosinofil	51
25. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	52
26. Kurva Hubungan Kuadratik Eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri <i>A. salmonicida</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Halaman
1. Tabel Kebutuhan Pakan dan Vaksin Bakterin Selama 14 hari	63
2. Mortalitas Ikan Selama 14 hari	64
3. Alat dan Bahan Penelitian	65
4. Data Hasil Penelitian	69



KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul ” **PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN BAKTERIN PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L) PASCA UJI TANTANG TERHADAP DAYA HAMBAT BAKTERI *Aeromonas salmonicida***”. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Strata-1 (S-1) pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran perbaikan dari para pembaca untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca.

Malang, Agustus 2011

Agung Azhar Kurniawan

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpah rahmat dan karunia-Nya sehingga Skripsi yang berjudul "Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Pasca Uji Tantang Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas salmonicida*" dapat diselesaikan dengan baik.

Ucapkan terimakasih kepada Ayahanda Bapak Tri Makna, S.Ag dan Ibunda tercinta Markoah, S.Pd selaku orang tua yang tanpa hentinya memberikan do'a, bimbingan, motivasi dan dukungan baik moril dan materil sampai menyelesaikan skripsi ini dan kepada adikku tersayang Habib Abdul Muhtarom dan Luthfi Ahmad Hafidhi serta keluarga besar di Lampung dan Jakarta yang selalu memberi dukungan dan motivasinya.

Kepada Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku Dosen Pembimbing I dan Bapak Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si selaku Dosen Pembimbing II, yang telah memberikan bimbingannya dan petunjuk serta pengertiannya atas penyusunan skripsi ini hingga dapat terselesaikan dengan baik.

Kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku Dosen Penguji I, dan Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku Dosen Penguji II,

saya ucapkan terimakasih yang telah meluangkan waktu untuk memberi saran dan perbaikan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini.

Kepada Lala Fistias Astorengga beserta keluarga yang selalu memberikan dukungan dan motivasi hingga terselesaikannya skripsi ini saya ucapkan terimakasih. Semoga dengan terselesaikannya skripsi ini kita dapat lebih dekat dan bisa merencanakan kelanjutan hari esok kita bersama.

Kepada keluarga besar ALJer (Alih Jenjang Transfer) saya ucapkan terimakasih banyak atas motivasi dan dukungannya selama dalam tahap kuliah hingga selesai. Semoga kita dapat terus menjalin komunikasi dengan baik dan sukses untuk kita.

Kepada Keluarga Besar Perikanan UB saya ucapkan terimakasih banyak atas dukungan dan tali persahabatan serta ilmu yang saya dapatkan dikampus ini. Sukses untuk kita semua.

Kepada teman seperjuangan Rahmat, Sofa, Bima, Leka, Hemin, Torik, Asep, Fadhli, Viki, Inul, Amal dan kawan-kawan yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu serta keluarga besar kost 271, 243F, dan 259D yang telah memberikan dukungan dan motivasinya hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

RINGKASAN

AGUNG AZHAR KURNIAWAN. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Pada Ikan Mas (*Cyprinus Carpio* L) Pasca Uji Tantang Terhadap Daya Hambat Bakteri *Aeromonas Salmonicida*. (Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si** dan **Ir. M. Rasyid Fadholi, M.Si**).

Ikan mas (*Cyprinus carpio* L) merupakan ikan air tawar yang menjadi primadona kegiatan budidaya ikan air tawar. Teknik pembudidayaannya relatif mudah, tetapi para petani ikan sering dihadapkan pada masalah kematian ikan yang disebabkan oleh penyakit. Umumnya ikan mas sering terserang bakteri *A. hydrophilla*, *A. salmonicida* dan *Pseudomonas fluorescens*. Adapun penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* disebut *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) atau sering juga disebut *Hemorrhage Septicemia*. Penularannya melalui air, kontak badan, peralatan yang tercemari bakteri ini.

Penyakit merupakan salah satu faktor penyebab ketidakberhasilan budidaya ikan karena dapat menyebabkan kematian dalam jumlah besar. Penyakit dapat muncul di suatu perairan akibat tidak seimbangnya antara lingkungan, ikan, dan jasad patogen. Penanganan dalam budidaya yang kurang baik dapat menyebabkan ikan mengalami stres, sehingga daya tahan tubuhnya menurun dan mudah terserang penyakit.

Adapun penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh vaksin bakterin pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L) pasca uji tantang dengan bakteri *Aeromonas salmonicida* terhadap respon imun dan daya hambatnya serta mengetahui dosis vaksin bakterin pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L) pasca uji tantang dengan bakteri *Aeromonas salmonicida* terhadap peningkatan respon imun dan daya hambatnya.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Model metode yang digunakan adalah RAL dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah Perlakuan A (pemberian bakterin dengan konsentrasi 2 mg/gram pakan), Perlakuan B (pemberian bakterin dengan konsentrasi 4 mg/gram pakan), Perlakuan C (pemberian bakterin dengan konsentrasi 6 mg/gram pakan) Perlakuan K- (perlakuan tanpa pemberian bakterin dan tanpa infeksi bakteri), Perlakuan K+ (perlakuan tanpa pemberian bakterin dan dilakukan infeksi bakteri)

Nilai rata-rata jumlah total eritrosit pada ikan mas sebelum di infeksi berkisar antara 1746666,6 sel/ml sampai 1896666,6 sel/ml dan setelah infeksi mengalami penurunan menjadi 1136666,6 sel/ml sampai 1823333,3 sel/ml. Nilai rata-rata jumlah total hematokrit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 24,33% sampai 26,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami penurunan menjadi 14,33% sampai 27,33%. Nilai rata-rata jumlah total leukosit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 45300 sel/ml sampai 52300 sel/ml dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 45516,67 sel/ml sampai 61216,67 sel/ml. Nilai rata-rata jumlah total neutrofil pada ikan mas sebelum infeksi berkisar

antara 5,33% sampai 5,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 4% sampai 6,33%. Nilai rata-rata jumlah total monosit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 11,66% sampai 14,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 11,33% sampai 13,67%. Nilai rata-rata jumlah total limfosit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 77,33% sampai 78,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 78,33% sampai 80,67%. Nilai rata-rata jumlah total eosinofil pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 1,33% sampai 5,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 0,33% sampai 6,33%. Perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah B yaitu dengan dosis 4 mg/gram pakan karena tingkan respon recovery yang optimum. Pada pengukuran kualitas air didapatkan hasil pH pada saat penelitian 7, DO di media penelitian berkisar 6.4533 sampai 6.5733 ppm, dan suhu di media penelitian berkisar 26.4667°C sampai 26.7333°C.

Berdasarkan data diatas menunjukkan bahwa vaksin bakterin memberikan pengaruh daya hambat pada darah ikan (eritrosit, leukosit, hematokrit, dan diferensial leukosit) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*.



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi perikanan tahun 2008 yang berasal dari kegiatan penangkapan dan budidaya mencapai 9,05 juta ton. Dari total produksi tersebut perikanan budidaya menyumbang 47,49%. Laju pertumbuhan produksi perikanan nasional sejak tahun 2005-2009 mencapai 10,02% per tahun, dimana pertumbuhan budidaya sebesar 21,93%, lebih tinggi dibandingkan dengan pertumbuhan perikanan tangkap yang hanya sebesar 2,95%. Sedangkan nilai produksi perikanan meningkat 15,61% dari Rp. 57,62 triliun pada tahun 2005 menjadi Rp.102,78 triliun pada tahun 2009. Jika dibandingkan pertumbuhan volume produksi terhadap nilai, maka pertumbuhan nilai lebih tinggi dari pada pertumbuhan volume. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa secara umum komoditas perikanan mengalami peningkatan kualitas dan kenaikan harga (Muhammad, 2010).

Ikan mas (*C. carpio*) merupakan ikan air tawar yang menjadi primadona kegiatan budidaya ikan air tawar. Teknik pembudidayaannya relatif mudah, tetapi para petani ikan sering dihadapkan pada masalah kematian ikan yang disebabkan oleh penyakit. Umumnya ikan mas sering terserang bakteri *A. hydrophilla*, *A. salmonicida* dan *Pseudomonas flourescens*. Adapun penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* disebut *Motil Aeromonas Septicemia* (MAS) atau sering juga disebut *Hemorrhage Septicemia*. Penularannya melalui air, kontak badan, peralatan yang tercemari bakteri ini (Anonymous, 2008).

Untuk mencapai target produksi sesuai dengan yang diharapkan, berbagai permasalahan yang menghambat upaya peningkatan produksi tersebut, antara lain kegagalan produksi akibat serangan wabah penyakit ikan yang bersifat patogenik baik dari golongan parasit, jamur, bakteri, dan virus.

Permasalahan lainnya adalah degradasi mutu lingkungan budidaya yang semakin buruk, yang disebabkan oleh kegiatan budidaya itu sendiri maupun dari luar lingkungan budidaya. Timbulnya serangan wabah penyakit tersebut pada dasarnya sebagai akibat terjadinya gangguan keseimbangan bagi interaksi antara ikan dan lingkungannya yang tidak menguntungkan ikan dan berkembangnya patogen penyebab penyakit. Kemungkinan lainnya adalah adanya atau masuknya agen penyakit ikan obligat yang ganas (virulen) meskipun kondisi lingkungannya relatif baik (Sugianti, 2005).

Penyakit merupakan salah satu faktor penyebab ketidakberhasilan budidaya ikan karena dapat menyebabkan kematian dalam jumlah besar. Penyakit dapat muncul di suatu perairan akibat tidak seimbangnya antara lingkungan, ikan, dan jasad patogen. Penanganan dalam budidaya yang kurang baik dapat menyebabkan ikan mengalami stres, sehingga daya tahan tubuhnya menurun dan mudah terserang penyakit (Syawal *et al*, 2008).

Menurut Richard dan Robert (1978) dalam Syarif *et al*. (2007), bakteri yang mampu menyebabkan penyakit pada ikan (patogen) hampir selalu terdapat pada air kolam, di permukaan tubuh ikan dan pada bagian dalam tubuh ikan, yaitu antara lain : *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. kamphaci*, *Flexibacter columnaris*, *F. Psychophila*, *Pseudomonas flourescens*, *Edwarsiella tarda*, *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus*, *Pasteurella piscida*, *Haemophilas piscium*, *Streptococcus faecalis*, *Clostridium botulinum*, *Microbacterium marinum*, *M. fortuitum* dan *Nocardia asteroides*.

Menurut Supriyadi dan Rukyani (1990) dalam Olga *et al*, (2008), vaksinasi merupakan salah satu pencegahan terhadap penyakit ikan dengan merangsang kekebalan ikan yang divaksin terhadap suatu penyakit tertentu pada

ikan. Disamping itu vaksinasi tidak menimbulkan dampak yang negatif baik pada ikan, lingkungan maupun konsumen.

Ellis (1988) dalam Maftuch (2006) menyatakan penggunaan vaksin bakteri yang diproduksi dari organisme hidup membuktikan keberhasilan yang cukup menggembirakan dalam bidang biologi molekuler. Lebih lanjut dalam seleksi alam dapat muncul strain antigen baru dari bakteri. Vaksin yang efektif dapat menimbulkan tanggap kebal waktu lama dari sel T. oleh karena itu diperlukan suatu penelitian secara *in vivo* laboratorium yang dapat membuktikan peningkatan respon imun pasca vaksinasi dan membuktikan seberapa jauh vaksin tersebut memberikan perlindungan pada ikan pasca infeksi bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Penyakit adalah penyebab terganggunya kesehatan ikan yang dapat mematikan ikan. Secara garis besar penyakit yang menyerang ikan dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu penyakit infeksi (penyakit menular) dan non infeksi (penyakit tidak menular). Penyakit menular adalah penyakit yang timbul disebabkan oleh masuknya mikroba lain kedalam tubuh ikan, baik pada bagian tubuh dalam maupun bagian tubuh luar. Makhluk tersebut antara lain adalah virus, bakteri, jamur dan parasit. Penyakit tidak menular adalah penyakit yang disebabkan antara lain oleh keracunan makanan, kekurangan makanan atau kelebihan makanan dan mutu air yang buruk (Irawan *et al.*, 2009).

Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat dirumuskan beberapa permasalahannya, sebagai berikut :

- a. Apakah vaksin bakterin dapat meningkatkan respon imun dan menghambat infeksi bakteri *A. salmonicida* pada ikan mas (*C. carpio* L) ?

- b. Berapa dosis vaksin bakterin yang dapat menghambat serangan bakteri *A. salmonicida* pada ikan mas (*C. carpio* L) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun penelitian ini bertujuan sebagai berikut :

- a. Mengetahui pengaruh vaksin bakterin pada ikan mas (*C. carpio* L) pasca ujiantang dengan bakteri *A. salmonicida* terhadap respon imun dan daya hambatnya.
- b. Mengetahui dosis vaksin bakterin pada ikan mas (*C. carpio* L) pasca ujiantang dengan bakteri *A. salmonicida* terhadap peningkatan respon imun dan daya hambatnya.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dibuatnya vaksin bakterin yang dapat menghambat serangan bakteri *A. salmonicida*.

1.5 Hipotesis

H_0 : Diduga Bakterin pada ikan mas (*C. carpio* L) tidak dapat meningkatkan respon imun dan menghambat serangan bakteri *A. salmonicida*.

H_1 : Diduga Bakterin pada ikan mas (*C. carpio* L) dapat meningkatkan respon imun dan menghambat serangan bakteri *A. salmonicida*.

1.6 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan bulan 10 Oktober – 13 November 2010 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang.



II. TINJAUAN PUSTAKA

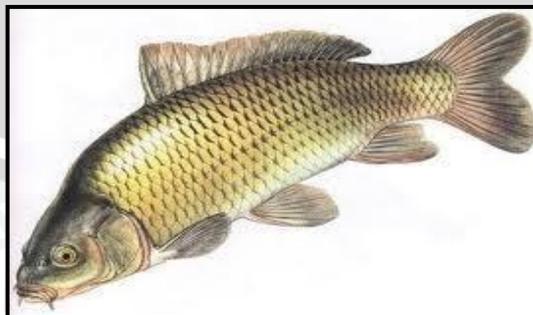
2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Ikan mas merupakan jenis ikan konsumsi air tawar, berbadan memanjang pipih kesamping dan lunak. Ikan mas sudah dipelihara sejak tahun 475 sebelum masehi di Cina. Di Indonesia ikan mas mulai dipelihara sekitar tahun 1920. Ikan mas yang terdapat di Indonesia merupakan ikan mas yang dibawa dari Cina, Eropa, Taiwan dan Jepang. Ikan mas Punten dan Majalaya merupakan hasil seleksi di Indonesia. Sampai saat ini sudah terdapat 10 ikan mas yang dapat diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologisnya.

Dalam ilmu taksonomi ikan, klasifikasi ikan mas (gambar 1) adalah sebagai berikut:

- | | |
|------------|-----------------------------|
| Kelas | : Osteichthyes |
| Anak kelas | : Actinopterygii |
| Bangsa | : Cypriniformes |
| Suku | : Cyprinidae |
| Marga | : <i>Cyprinus</i> |
| Jenis | : <i>Cyprinus carpio</i> L. |



Gambar. 1 Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) (www.wordpress.com)

Ikan mas mempunyai ciri-ciri badan memanjang, agak pipih, lipatan mulut dengan bibir yang halus, dua pasang kumis (*babels*), ukuran dan warna badan sangat beragam (Sumantadinata, 1983 dalam Robby, 2010). Bentuk tubuh ikan mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Mulutnya terletak di bagian tengah ujung kepala (*terminal*) dan dapat disembulkan (*protaktil*). Di bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Di ujung dalam mulut terdapat gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang terbentuk atas tiga baris gigi geraham. Secara umum hampir seluruh tubuh ikan mas ditutupi sisik kecuali pada beberapa varietas yang hanya memiliki sedikit sisik. sisik ikan mas berukuran besar dan digolongkan ke dalam sisik tipe sikloid (*lingkaran*).

Sirip punggungnya (*dorsal*) berbentuk panjang dengan bagian belakang berjari keras hingga bergerigi. Letak sirip punggung berseberangan dengan permukaan sisi perut (*ventral*). Sirip duburnya (*anal*) mempunyai ciri yaitu berjari keras dan bagian akhirnya bergerigi. garis rusuknya (*linea lateralis* atau gurat sisi) tergolong lengkap, berada di pertengahan tubuh dengan bentuk melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor. (Anonymous, 2009).

2.1.2 Distribusi dan Siklus Hidup

Ikan mas berasal dari daratan Asia dan telah lama dibudidayakan sebagai ikan konsumsi oleh bangsa Cina sejak 400 tahun SM. Penyebarannya merata di daratan Asia juga Eropa sebagian Amerika Utara dan Australia. Pembudidayaan ikan mas di Indonesia banyak ditemui di Jawa dan Sumatra dalam bentuk empang, balong maupun keramba terapung yang di letakan di danau atau waduk besar. Budidaya modern di Jawa Barat menggunakan sistem air deras untuk mempercepat pertumbuhannya.

Habitat aslinya yang di alam meliputi sungai berarus tenang sampai sedang dan di area dangkal danau. Perairan yang disukai tentunya yang banyak menyediakan pakan alaminya. Ceruk atau area kecil yang terdalam pada suatu dasar perairan adalah tempat yang sangat ideal untuknya. Bagian-bagian sungai yang terlindungi rindangnya pepohonan dan tepi sungai dimana terdapat runtunan pohon yang tumbang dapat menjadi tempat favoritnya (Anonymous, 2010^a).

2.1.3 Sistem Imunitas Ikan

Rijkers (1981) dan Anderson (1974) dalam Setiawati (2004), menyatakan bahwa respon kekebalan tubuh pada ikan terdiri dari respon seluler dan respon humoral. Selanjutnya dikatakan respon humoral merupakan respon spesifik, sedang respon seluler bersifat non spesifik. Respon dan faktor humoral antara lain antibodi, transferin, interferon, protein C-reaktif, sedangkan respon dan faktor seluler seperti makrofage, sel killer, neutrofil, reaksi penolakan allograft dan hipersensitivitas. Selain itu barrier mekanik dan kimiawi yaitu permukaan kulit, sisik dan mukus pada permukaan tubuh dan insang, juga merupakan alat pertahanan tubuh ikan yang bersifat non spesifik.

Berbagai macam respon kekebalan tubuh (immunity) pada ikan dan pertahanan terhadap penyakit dapat dipengaruhi oleh nutrien dan senyawa non-nutritif dalam pakan. Oleh karena itu pemberian pakan berkualitas dapat secara atraktif diuji cobakan pada ikan sebagai alternatif pemecahan masalah terhadap peningkatan kesehatan ikan.

Ikan mempunyai kemampuan yang baik dalam sistem imun spesifik dan non-spesifik (Iwama dan Nakanishi, 1996 dalam Setiawati, 2004). Komponen non-spesifik merupakan sistem kekebalan tubuh ikan terhadap mekanisme

fagosit yang berkaitan dengan makrofage dan granular leukosit, sebagai contoh neutrofil menyerang mikroorganisme yang masuk melalui jaringan kulit ikan atau mukus.

Komponen spesifik dalam sistem imun, terdiri dari humoral dan respon sel terhadap memori imunologi, walaupun memori imun pada ikan secara umum sangat kurang berkembang dibandingkan hewan tingkat tinggi lainnya. Tingkat induksi dan respon dipengaruhi suhu. Pada respon imun spesifik, makrofage bertindak sebagai sel antigen, sedangkan B-limfosit terlibat dalam produksi antibodi. T-limfosit juga terlibat dalam imunitas melalui deferensiasi dan proliferasi dari B-limfosit. Suatu antibodi akan diproduksi terhadap patogen spesifik, yang akan mengikat membran patogen dan merusak melalui aktivasi sistem komplement dengan cara klasik (Iwana dan Nakanishi, 1996 dalam Setiawati, 2004).

2.1.4 Darah

Menurut Fadhil *et al*, (2009), darah adalah suatu fluida (plasma) tempat beberapa bahan terlarut dan tempat eritrosit, leukosit dan beberapa bahan lain yang tersuspensi. Sistem peredaran darah terdiri dari jantung (merupakan pusat pemompaan darah), arteri (pembuluh darah dari jantung), kapiler (menghubungkan arteri dengan vena) dan vena (pembuluh darah yang menuju jantung).

Sistem peredaran darah pada ikan disebut sistem peredaran darah tunggal dimana darah hanya satu kali saja melewati jantung. Darah yang terkumpul dari seluruh tubuh masuk ke atrium. Pada saat relaksasi, darah mengalir pada sebuah katup kedalam ventrikel yang berdinding tebal. Kontraksi dari ventrikel ini sangat kuat sehingga menyebabkan darah keluar menuju

jaringan kapiler insang lalu dari insang darah mengalir ke jaringan kapiler lain dalam tubuh. Pertukaran zat-zat pun terjadi pada saat pengaliran darah ini.

Darah berfungsi mengedarkan suplai makanan kepada sel-sel tubuh, membawa oksigen ke jaringan-jaringan tubuh, membawa hormon dan enzim ke organ yang memerlukan. Pertukaran oksigen dari air dengan karbondioksida terjadi pada bagian semipermeable yaitu pembuluh darah yang terdapat di daerah insang. Selain itu, di daerah insang terjadi pengeluaran kotoran yang bernitrogen.

Melalui sel darah, suatu organisme dapat pula diketahui sampai mana organisme tersebut mengalami pencemaran, baik itu dari media hidupnya dimana kualitas air tidak memenuhi syarat.

Menurut Wells (2005) dalam Fadhil *et al*, (2009), hemoglobin merupakan protein yang terdiri dari protoporfirin, globin dan besi yang bervalensi dua (ferro). Satu gram hemoglobin dapat mengikat sekitar 1,34 ml oksigen. Kadar hemoglobin yang rendah dapat dijadikan sebagai petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin atau ikan mendapat infeksi. Sedangkan kadar tinggi menunjukkan bahwa ikan sedang berada dalam kondisi stress.

Menurut Chinabut *et al*. (1991) dalam Fadhil *et al*. (2009), eritrosit (sel darah merah) merupakan sel yang paling banyak jumlahnya. Inti sel eritrosit terletak di sentral dari sitoplasma dan akan terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa. Pada ikan teleost, jumlah normal eritrosit adalah $1,05 \times 10^6 - 3,0 \times 10^6$ sel/mm³.

Leukosit (sel darah putih) mempunyai bentuk lonjong atau bulat, tidak berwarna, dan jumlahnya tiap mm³ darah ikan berkisar 20.000 - 150.000 butir, serta merupakan unit yang aktif dari sistem kekebalan (imun) tubuh. Sel-sel

leukosit akan ditranspor secara khusus ke daerah terinfeksi. Leukosit terdiri dari dua macam sel yaitu sel granulosit (terdiri dari netrofil, eosinofil, dan basofil dan sel agranulosit) dan sel granulosit yang terdiri dari limfosit, trombosit, dan monosit (Purwanto, 2006 dalam Fadhil *et al.*, 2009).

Lucky (1977) dalam Salsalia *et al.*, (2001), menyatakan limfosit ikan berbentuk sferis (lingkaran bola) dengan diameter sekitar 0.004-0.008 mm. Inti besar memenuhi sel, terwarnai violet dengan kromatin padat bentuk limfosit hampir menyerupai trombosit, akan tetapi dalam penelitian ini trombosit dapat dibedakan dari limfosit karena trombosit mempunyai ukuran lebih kecil dari limfosit dan cenderung bergerombol.

Nabib dan Pasaribu (1989) menyatakan limfosit memiliki peranan dalam respon imunitas dan monosit merupakan sel makrofag yang berperan penting dalam memfagosit mikroorganisme patogen. Sedangkan trombosit sangat berperan dalam proses pembekuan darah dan berfungsi untuk mencegah kehilangan cairan tubuh pada kerusakan-kerusakan dipermukaan. Berbeda dengan ketiga sel di atas, netrofil sangat aktif dalam membunuh bakteri dan jumlahnya besar dalam nanah. Sel-sel tersebut bersirkulasi dalam darah dan cairan limfa.

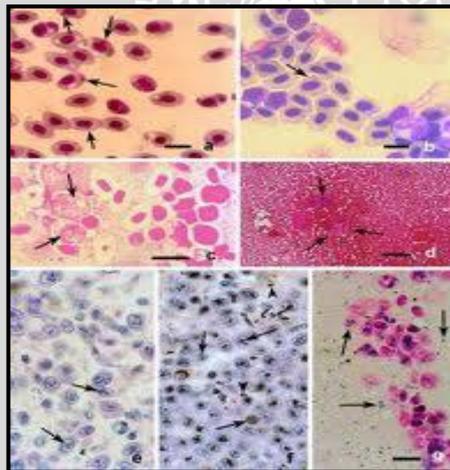
Eosinofil dilaporkan jarang ditemukan di dalam darah ikan. Kebanyakan eosinofil ikan teleost ditemukan pada kulit, jaringan hemapoietik dan digesti. Ukuran eosinofil berkisar antara 9 – 15 μm , inti terletak memanjang di tepi sel, memiliki granula besar dan sitoplasma berwarna merah (Affandi & Tang, 2002).

2.2 Biologi *Aeromonas salmonicida*

2.2.1 Klasifikasi dan morfologi *Aeromonas salmonicida*

Klasifikasi *A. salmonicida* menurut (Lehmann and Neumann 1896) Griffin et al. 1953 (gambar 2) bakteri sebagai berikut :

- Domain : Bacteria
Kingdom : Proteobacteria
Phylum : Gammaproteobacteria
Class : Aeromonadales
Genus : *Aeromonas*
Species : *A. salmonicida*



Gambar 2. *Aeromonas salmonicida* (<http://microbiology.science.edu>)

A. salmonicida adalah bakteri yang berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,3-2,0 x 0,8-1,3 μm , bersifat gram negatif, tidak bergerak, tidak membentuk spora maupun kapsul, dan bersifat aerob. Bakteri ini tidak dapat hidup lama tanpa inangnya dan suhu optimal bagi pertumbuhannya antara 22-28°C, sedangkan pada suhu 35°C pertumbuhannya terhambat. Dapat dijumpai di lingkungan air tawar maupun air laut dan dikenal sebagai penyebab penyakit “furunculosis” (Anonymous, 2010^b).

2.2.2 Aktifitas dan Pertumbuhan

Sugianti (2005), menyatakan bahwa *A. salmonicida* adalah bakteri patogen Gram-negatif yang menyebabkan agen furunculosis ikan salmonid, yang melemahkan, dan penyakit mematikan yang dihadapi dalam budidaya. Vaksin saat ini menawarkan efektivitas terbatas yang umum pada budidaya ikan. Pengembangan yang luas dan kontrol efektif memerlukan pemahaman yang lebih lengkap dari interaksi antara patogen dan faktor tuan rumah yang memberikan kontribusi pada bagian penyakit. Bakteri *A. salmonicida* banyak dijumpai di perairan tawar dan laut serta mempunyai kisaran inang yang luas mulai dari ikan-ikan air tawar sampai ikan laut.

Menurut Nitimulyo *et al.* (1993) dan Inglis *et al.* (1993) dalam Sugianti (2005), bakteri ini dapat bertahan hidup dalam air atau sedimen selama beberapa hari atau beberapa minggu tetapi tidak dapat berbiak, dan bersifat obligat. *A. salmonicida* dapat bertahan dalam air pada periode waktu yang lama. Lamanya waktu tergantung pada kandungan mineral, pH dan suhu air. Dengan meningkatnya suhu, virulensinya juga bertambah tinggi.

2.2.3 Infeksi dan Tanda-Tanda Penyeranganya

Sugianti (2005), menyatakan bahwa kemampuan menimbulkan penyakit dari bakteri *A. hydrophila* cukup tinggi. Gejala yang menyertai serangan bakteri ini antara lain ulser (luka) yang berbentuk bulat atau tidak teratur dan berwarna merah keabu-abuan, inflamasi dan erosi di dalam rongga dan di sekitar mulut seperti penyakit mulut merah (red mouth disease).

Menurut Nitimulyo *et al.* (1993) dalam Sugianti (2005), tanda lain adalah haemorhagi pada sirip dan eksophthalmia (pop eye) yaitu mata membengkak dan menonjol. Gejala klinis serangan *A. salmonicida* pada ikan adalah pembentukan

ulkus-ulkus yang menyerupai bisul, perdarahan sirip, sirip putus atau patah, perdarahan pada insang, lendir berdarah pada rectum, petichiae pada otot dan pembentukan cairan berdarah. Usus bagian belakang lengket dan bersatu serta pembengkakan limpa, dan nekrosis pada ginjal. Banyak jenis ikan air tawar yang dapat terserang penyakit ini. Penyakit furunculosis pada ikan yang disebabkan oleh 18 bakteri ini memiliki ciri-ciri luka yang khas yaitu nekrosis pada otot, pembengkakan di bawah kulit, dengan luka terbuka berisi nanah, dan jaringan yang rusak di puncak luka tersebut seperti cekungan. Dana dan Angka (1990) dalam Sugianti (2005), selain itu ciri-ciri lainnya adalah pendarahan pada tubuh, sisik terkuak, borok, nekrosis, busung, dan juga ikan lemas sering di permukaan atau dasar kolam.

2.2.4 Vaksin

Vaksinasi merupakan suatu upaya untuk menimbulkan ketahanan tubuh yang bersifat spesifik melalui pemberian vaksin. Secara umum aktivitas ini dikenal sebagai imunisasi aktif dan pasif. Imunisasi pasif diperoleh dengan pemberian serum kebal maupun dengan cara diturunkan oleh induk ikan yang dikenal sebagai imunitas maternal, sedangkan imunisasi aktif dilakukan melalui tindak vaksinasi (Anonymous, 2010^o).

Vaksinasi untuk menghindari penyakit yang disebabkan oleh virus sudah lama dikenal, akan tetapi vaksinasi untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri belum terisialisasi dengan baik. Penggunaan vaksin untuk mencegah penyakit pada hewan dapat mengurangi jumlah peredaran anti bakteri pada ikan (Markedstat dan Grave, 1997 dalam Soeripto, 2002). Vaksin *vibrio* dan *Aeromonas* yang digunakan untuk mencegah penyakit berhasil menurunkan penggunaan antibakteri secara drastis.

Pada penelitian Plumb (1984) dan Stevenso (1988) dalam Kamiso dan Triyanto (1992), menyatakan bahwa vaksin polivalen adalah dimana tingkat perlindungan vaksinasi secara injeksi lebih tinggi dibanding rendaman dan rendaman lebih tinggi dibanding oral. Sedangkan dalam vaksin monovalen ternyata tingkat perlindungan tertinggi terjadi pada rendaman baru disusul oleh injeksi kemudian oral. Hasil yang bervariasi dari vaksinasi *Aeromonas* diduga oleh adanya variasi patogenitas dan anti genitas atau serotipe. Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Rini Pramesti (1989) yang ternyata vaksinasi oral lebih baik dibanding rendaman. Tetapi apabila dibandingkan dengan kontrol semua jenis vaksin (monovalen dan polivalen) dan semua cara vaksinasi (oral, rendaman dan injeksi) memberi perlindungan yang lebih tinggi (mortalitas antara 0 – 45%), dibanding kontrol (40 – 80%) ($P < 0.05$). Umur ikan mempengaruhi hasil vaksinasi. Vaksinasi terhadap ikan lele dumbo yang berumur 5-7 minggu hasilnya lebih baik (mortalitas antara 0 – 27%) dibanding dengan yang berumur 3 minggu (mortalitas 73 – 100%). Kedua kelompok umur ikan (5 dan 7 minggu) berbeda nyata dengan kontrol ($P < 0.05$). Hal ini berlaku baik untuk polivalen maupun monovalen vaksin dari semua isolat.

Rendahnya tingkat perlindungan ikan yang terlalu muda dikarenakan rendahnya tingkat tanggapan kekebalan terhadap vaksin yang diberikan diduga antara lain oleh karena belum sempurnanya organ tubuh atau limfosit (Dorson, 1984 dan Manning, 1982 dalam Kamiso dan Triyanto, 1992).

III. MATERI DAN METODELOGI PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan – bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Ikan Mas (*C. carpio* L) berasal dari Blitar sebanyak 90 ekor dengan berat per ekor 22 gram, Bakteri *A. salmonicida*, *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), Air mendidih 100^o C, Larutan Giemsa, Akudes, Pellet Komersil merk Pakan Ikan Bibit Apung FF-999, Tisu, Vaksin Bakterin, Bakteri 10⁷, Putih Telur, Kertas Perkamen, Malam, Hayem, Na-Sitrat, Larutan Truks Dan Methanol.

3.1.2 Alat-alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Akuarium (60x30x30) sekat 2, ember volume 10 liter, Filter, Aerator, Timbangan Analitik, *Shaker bath*, Sentrifus, *Syringe*, Cover dan obyek glass, DO meter, pH paper, Thermometer, Haemocytometer, Mikroskop. Petridish, Rak, Tabung Reaksi, Jarum ose, Erlenmeyer, *Ependorf*, Pipet Tetes, Pipet Kapiler, Kertas Mikro Hematokrit, Sentrifuse, Pipet Thoma, Pipet Leukosit, dan *Handtally Counter*.

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen menurut Zulnaldi (2007) adalah prosedur penelitian yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian vaksin terhadap beberapa parameter yang tertera pada penelitian.

Menurut Gasperz (1991), model umum untuk RAL adalah sebagai berikut:

$$Y = \mu + T + \epsilon$$

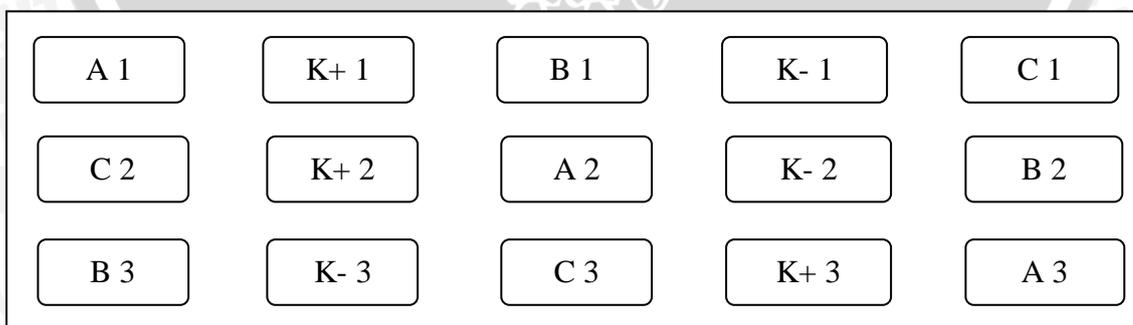
Keterangan :

- Y = Nilai pengamatan dari suatu percobaan
- μ = nilai tengah populasi (rata-rata sesungguhnya)
- T = Pengaruh perlakuan
- ϵ = Pengaruh galat dari suatu percobaan

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Dalam penelitian ini, sebagai perlakuan adalah konsentrasi dari bakterin pada ikan mas pasca uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida*, yaitu :

- Perlakuan A : Pemberian bakterin dengan konsentrasi 2 mg/gram pakan
- Perlakuan B : Pemberian bakterin dengan konsentrasi 4 mg/gram pakan
- Perlakuan C : Pemberian bakterin dengan konsentrasi 6 mg/gram pakan
- Perlakuan K- : Perlakuan tanpa pemberian bakterin dan tanpa infeksi bakteri
- Perlakuan K+ : Perlakuan tanpa pemberian bakterin dan dilakukan infeksi bakteri

Masing-masing perlakuan di ulang sebanyak 3 kali yang ditempatkan secara acak. Denah percobaan dapat dilihat pada gambar 3 berikut:



Gambar 3. Denah penelitian

Keterangan :

A, B, C, K-, K+ = Perlakuan

1, 2, 3 = Ulangan

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Penelitian

3.3.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan disterilisasi dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen atau kertas koran, kemudian diikat dengan menggunakan benang, dituangkan air secukupnya ke dalam autoklaf. Kemudian alat yang telah dibungkus kertas perkamen dimasukkan ke dalam autoklaf dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang. Kompor pemanas dinyalakan, setelah beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 1 atm, jika terjadi kelebihan tekanan kran udara dibuka hingga manometer menunjukkan angka 1 atm kembali. Ketika sampai suhu 121°C dan manometer menunjukkan 1 atm, keadaan ini dipertahankan sampai 15 menit. Kompor dimatikan dan kran dibuka untuk mengurangi tekanan. Di tunggu beberapa saat sampai termometer dan manometer menunjukkan angka 0 (nol) lalu penutup autoklaf dibuka secara silang. Alat dan bahan yang sudah disterilkan diambil. Alat yang telah disterilkan disimpan dalam inkubator, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin (Dwijoseputro, 1989).

3.3.1.2 Pembuatan Media

Pembuatan Trypton Soy Agar (TSA) menurut Ruangpan dan Kitio (1992) dalam Endarti (2009) sebagai berikut :

1. 40 gram TSA dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlenmeyer.

2. Erlenmeyer ditutup kapas dan kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih. Larutan TSA kemudian disterilkan dalam autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit
3. Media yang sudah disterilkan dituang kedalam cawan petri steril dalam keadaan panas sebanyak 10-12 ml. Penuangan dilakukan didekat api bunsen, selanjutnya setelah penuangan selesai, cawan petri dipanaskan lagi. Media dibiarkan dingin dan memadat.
4. Media dari lemari pendingin, apabila akan digunakan dimasukkan kembali kedalam inkubator, sehingga suhu media sama dengan suhu lingkungan dan untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada media.

Pembuatan Media Cair Tryptic Soy Borth menurut Ruangpan dan Kitio (1992) dalam Endarti (2009) sebagai berikut :

1. 13 gram Nutrien Borth dilarutkan dengan 1 liter aquades steril dalam erlenmeyer. Erlenmeyer ditutup kapas dan kemudian dididihkan hingga larut sempurna dan jernih.
2. Media cair NB dalam erlenmeyer disterilkan dalam autoclave pada suhu 121⁰C selama 15 menit. Media NB yang akan dipakai, dibiarkan dingin terlebih dahulu agar bakteri yang akan di inokulasi tidak mati.
3. Media cair NB yang tidak langsung digunakan disimpan didalam lemari pendingin sehingga bertahan lama.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

3.3.2.1 Pembuatan Biakan Bakteri *A. salmonicida*

Petri disk yang berisi media TSA yang telah disterilkan disiapkan terlebih dahulu. Kemudian isolat bakteri yang diambil dari biakan *A. salmonicida* digoreskan pada masing-masing cawan petri menggunakan jarum ose yang sebelumnya telah dipanaskan (hingga berpijar) di atas api bunsen. Setelah itu cawan petri ditutup rapat dan dipanaskan di atas bunsen pada bagian tepinya. Media yang telah terisi bakteri diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam (Maryanti, 2010).

3.3.2.2 Pewarnaan Gram (*Gram Staining*)

Pewarnaan gram adalah pewarnaan differensial yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium mikrobiologi, karena merupakan tahapan penting dalam identifikasi (Viramedika, 2008). Bakteri yang sudah ditumbuhkan pada media padat, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram. Tahapan pewarnaan gram yaitu kaca objek disemprotkan dengan alkohol, kemudian di lap dengan tissue dan dibakar pada api bunsen untuk menghilangkan sisa alkohol. Jarum ose dibakar sampai berpijar dan didiamkan sebentar sampai dingin. Biakan bakteri yang berasal dari cawan petri diambil menggunakan jarum ose dan diletakkan pada kaca objek. Selanjutnya dilakukan fiksasi sampel bakteri pada api bunsen dengan jarak 20 cm dari api supaya tidak terlalu panas sehingga tidak merusak bentuk sel bakteri. Ditambahkan setetes pewarnaan kristal violet dan didiamkan selama 2 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir. Ditetesi kembali dengan lugol dan didiamkan selama 1 menit. Di bilas dengan alkohol selama 30 detik, kemudian baru di bilas dengan air mengalir. Diwarnai dengan safranin selama 15 detik dan dibilas kembali dengan

air mengalir. Didiamkan dan dikeringkan untuk selanjutnya dapat diamati pada mikroskop (Viramedika, 2008)

3.3.2.3 Pembuatan Bakterin *A. salmonicida*

Pembuatan bakterin mengikuti metode Longyant *et al.* (2007), bakterin dibuat dengan cara mengambil isolat bakteri yang telah dikultur dari media TSA kemudian di kultur kedalam larutan TSB selanjutnya di *shaking* pada inkubator dengan suhu 37°C. Setelah itu biakan tersebut di sentrifugasi pada *watherbath shaker* 6000 rpm selama 15 menit. Hasil larutan tersebut di masukkan kedalam tabung falkon 15 ml dan dihomogenkan sampai terlihat endapan bakteri dan supernatan dalam satu botol falkon, selanjutnya supernatan dibuang dan di bilas menggunakan larutan PBS yang kemudian disentrifugasi selama 15 menit, selanjutnya bakteri dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit dan dihitung OD (*optical dencity*).

3.3.2.4 Menginfeksi Ikan Mas (*C. carpio*) dengan *A. salmonicida*

Infeksi ikan mas dengan bakteri *A. salmonicida* sebelumnya dilakukan uji pendahuluan dengan dosis 10⁵ sel/ml, 10⁷ sel/ml dan 10⁹ sel/ml dengan LD50. Dari hasil uji pendahuluan tersebut di hasilkan infeksi bakteri yang optimum adalah 10⁷ sel/ml.

Infeksi dilakukan dengan *A. salmonicida* dengan kepadatan 10⁷ sel/ml. Setelah di infeksi kemudian dilakukan pengamatan terhadap nilai hematokrit, total leukosit, deferensial leukosit dan eritrosit. Infeksi dilakukan dengan metode perendaman.

3.3.2.5 Persiapan Wadah dan Hewan Uji

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berjumlah 15 unit dengan 6 ekor ikan per akuarium total ikan 90 ekor. Sebelum di gunakan akuarium di cuci dengan menggunakan deterjent, dan di cuci kembali hingga pengaruh deterjent hilang. Kemudian wadah di jemur hingga kering. Setelah itu, dilanjutkan dengan pengisian air ke dalam akuarium, bila air berasal dari PAM maka perlu didiamkan selama 1 hari agar unsur kaporit dalam air mengendap.

Ikan mas yang akan di uji berukuran dengan panjang total 8 -12 cm. Ikan yang digunakan adalah ikan yang sehat, aktif bergerak, bentuk tubuh normal dan tidak cacat. Ikan yang didapat diaklimatisasi terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam akuarium, kemudian ikan dikondisikan selama 1-2 hari agar tidak stress.

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter uji yang utama dari penelitian ini yaitu untuk melihat vaksin bakterin *A. salmonicida* ini berpengaruh dalam darah ikan mas (*C. carpio* L). Adapun sel darah yang di uji berkaitan dengan kandungan eritrosit, total leukosit, hematokrit, dan diferensial leukosit.

3.4.1.1 Perhitungan Eritrosit

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma eritrosit sebanyak 0,5 ml, 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 *handtally counter* (Dalimunte, 2006). Sesudah didapatkan hasil kemudian jumlah eritrosit dihitung dengan rumus (Bijanti, 2005):

$$\text{Jumlah eritrosit} = N \times \frac{1}{5 \text{ area} \times 1/250(\text{volume})} \times \text{faktor pengenceran}$$

3.4.1.2 Total Leukosit

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma leukosit sebanyak 0,5 ml, kemudian diencerkan dengan larutan truks hingga 11 (diencerkan sebanyak 20x) dan di goyangkan perlahan. Sebelum dihitung 4 tetes pertama pada pipet dibuang terlebih dahulu dan disiapkan kamar hitung yang sudah difokuskan terlebih dahulu. Darah diamati atau dihitung menggunakan kamar hitung atau haemocytometer dan diamati pada 4 kotak besar dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 200 – 400x dan dihitung dengan menggunakan *handtally counter* (Dalimunte, 2006). Kemudian dihitung dengan rumus:

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

Haemocytometer dapat dilihat pada gambar 4 sebagai berikut :



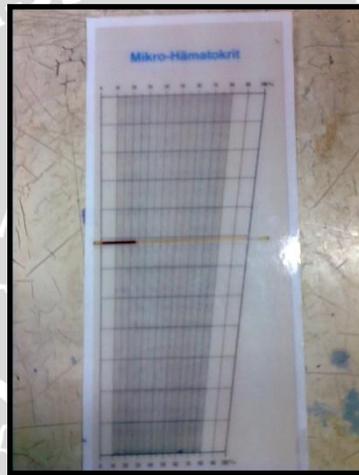
Gambar 4. Haemocytometer (www.blog.unila.ac.id)

3.4.1.3 Hematokrit

Nilai hematokrit adalah perbandingan antara sel - sel darah dengan volume darah keseluruhan setelah dilakukan pemusingan dan dinyatakan dalam persen. Pada keadaan normal, nilai hematokrit mempunyai hubungan yang positif dengan jumlah eritrosit dan hemoglobin. Nilai hematokrit akan meningkat pada individu jantan dewasa sejalan dengan meningkatnya sekresi androgen yang juga akan meningkatkan jumlah dan volume eritrosit. Meningkatnya jumlah hemoglobin akibat terselamatkannya sel eritrosit dari kerusakan mikroba patogen akan berakhir pada meningkatnya nilai hematokrit (Fuller, 1992 *dalam* Adriani Lovita, 2003).

Dalam penelitian ini prosedur yang dilakukan yaitu ikan mas dibuat tidak sadar dengan cara merusak otak bagian depan dengan menggunakan jarum yang cukup besar (disecting kit) dengan cara ditusuk lewat tengah hidung bagian kepala atas secara horizontal. Setelah itu dilakukan pembedahan tubuh ikan disekitar operculum sampai terlihat jantungnya. Setelah dilakukan pembedahan aorta ventralis di jepit dengan penjepit arteri, dibiarkan selama 2-3 menit hingga berwarna merah karena sinus venasus telah terisi darah. Kemudian penjepit arteri dilepas, lalu darah yang keluar dari sinus venasus ditampung dengan pipa kapiler sampai $\frac{3}{4}$ pipa terisi, diusahakan agar jangan sampai ada gelembung gas pada pipa kapiler. Lalu pipa kapiler dihomogenkan dengan cara menggoyangkan pipa kapiler ke kiri dan ke kanan secara horizontal sambil

diputar-putar. Di tutup Salah satu ujung tabung ditutup dengan malam (*plastisin*) dan kemudian pipa kaplier dimasukkan kedalam centrifuge khusus yang dapat mencapai kecepatan besar, yaitu lebih dari 16000 rpm (sentrifugasi mikrohematokrit) sekitar 4-5 menit. Setelah pemusingan dilakukan, hasil hematokrit yang dapat diperoleh disesuaikan dengan diagram hematokrit reading chart (Fadhil *et al*, 2009). Hematokrit dapat dilihat pada gambar 5 sebagai berikut:



Gambar 5. Alat Untuk Menghitung Hematokrit (Pipa Kapiler Hematokrit)

3.4.1.4 Differensial Leukosit

Satu tetes darah yang telah diberi anti koagulan heparin diambil dan diletakkan pada slide yang kering dan bersih. Dibuat hapusan darah tipis, kemudian hapusan darah tersebut dikeringkan lalu difiksasi hapusan darah dengan menggunakan metanol 95% selama 1-2 menit. Lakukan pengecatan pada hapusan darah yang telah difiksasi dengan pengecatan giemsa, ditunggu selama ± 15 menit setelah itu bilas slide dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Diperiksa hapusan darah di

bawah mikroskop (Bijanti, 2005). Setelah preparat hematologi dibuat, kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 X untuk menentukan persentase jenis leukosit yaitu neutrofil, monosit, dan limfosit. Perhitungan diferensial leukosit optimalnya adalah setiap 100 sel.

3.4.2 Parameter Penunjang

3.4.2.1 pH (*power of hydrogen*)

Beran, 1996 *dalam* Iqmal, 2008 Menyatakan bahwa instrumen pH meter adalah peralatan laboratorium yang digunakan untuk menentukan pH atau tingkat keasaman dari suatu sistem larutan. Suatu zat, ditentukan berdasarkan keberadaan jumlah ion hidrogen dalam larutan, yang dapat dinyatakan dengan persamaan:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

Pengukuran sifat keasaman ini dilakukan dengan kertas lakmus, terdapat dua jenis kertas lakmus, yaitu kertas lakmus merah dan kertas lakmus biru. Penggunaan kertas lakmus hanya sekali pakai. Nilai pH yang terukur hanya bersifat pendekatan, jika suatu senyawa merubah warna kertas lakmus merah menjadi biru, maka bersifat basa, sedangkan jika suatu senyawa merubah warna kertas lakmus biru menjadi merah, maka bersifat asam. Pengukuran hanya bersifat kualitatif, hasil yang diperoleh relatif tidak begitu akurat. Kertas lakmus dengan kombinasi beberapa indikator ada yang dapat digunakan yakni dengan pencocokan skala, kertas lakmus jenis ini mengkombinasikan 4 indikator yang berbeda warna. Kombinasi warna yang berbeda diberi skala 1-14 sesuai dengan pH senyawa yang diukur (Beran, 1996 *dalam* Iqmal, 2008).

3.4.2.2 DO (*Dissolved Oxygen*)

Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen* = DO) dibutuhkan oleh semua jasad hidup untuk pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan pembiakan. Pada pengukuran DO ini menggunakan alat DO meter. DO meter mula-mula di kalibrasi dengan aquades sampai menunjukkan nilai 0. Setelah itu, ujung dari DO meter dimasukkan kedalam media hidup ikan mas, dan ditunggu beberapa saat sampai nilai DO tidak berubah lagi. Setelah itu, angka yang muncul pada DO meter sudah dapat di catat dengan satuan mg/l.

3.4.2.3 Suhu

Pada pengukuran suhu ini, alat yang digunakan adalah thermometer. Thermometer di masukkan kedalam media sekitar 10 cm, dimana ujung thermometer diikat dengan tali yang dijadikan pegangan agar suhu thermometer tidak terkontaminasi oleh suhu tangan. Ditunggu beberapa saat sampai air raksa atau alkohol tidak bergerak lagi. Suhu dapat di baca dalam satuan °C.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan Kepadatan Bakteri untuk Uji Tantang

Kepadatan ujiantang bakteri *A. salmonicida* ditentukan dari hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan selama 2 hari dengan kepadatan bakteri sebanyak 10^6 sel/ml, 10^7 sel/ml, dan 10^8 sel/ml dengan kepadatan 4 ekor ikan per akuarium. Pada kepadatan 10^6 sel/ml ikan mas (*C. carpio*) tidak mengalami kematian sampai 48 jam, sedangkan pada kepadatan bakteri 10^7 sel/ml terjadi kematian ikan mas sebesar 50% setelah 48 jam, dan pada kepadatan bakteri 10^8 sel/ml mengalami kematian ikan mas sebesar 100% setelah 14 jam pengujian. Dari hasil penelitian pendahuluan ini maka diperoleh kepadatan bakteri yang akan digunakan sebesar 10^7 sel/ml.

4.2 Hasil Isolasi Bakteri *A. salmonicida*

Hasil biakan isolasi bakterin tersebut didiamkan dan dihomogenkan sampai supernatan berwarna bening selanjutnya supernatan di buang dan di bilas menggunakan larutan PBS yang kemudian disentrifugasi selama 15 menit, selanjutnya bakteri dipanaskan pada suhu 60°C selama 30 menit dan didapatkan pellet. Pellet tersebut merupakan vaksin bakterin.

Vaksin bakterin ini dapat dilihat pada gambar 6 sebagai berikut.



Gambar 6. Vaksin bakterin

4.3 Penentuan Dosis Vaksin Bakterin untuk Uji Tantang

Penentuan dosis bakterin yang digunakan untuk uji tantang didapatkan dari hasil uji pendahuluan. Pada dosis 2 mg/gram pakan didapatkan hasil tidak memberikan pengaruh terhadap sel darah ikan sedangkan pada dosis 4 mg/gram pakan menunjukkan pengaruh yang cukup besar. Oleh karena itu, pada penelitian ini dosis bakterin yang digunakan yaitu, 2 mg/gram pakan, 4 mg/gram pakan dan 6 mg/gram pakan. Total vaksin yang digunakan pada penelitian ini adalah 1809,92 mg dan pakan ikan (pellet) 723,52 gram, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 1.

4.4 Mortalitas Ikan Mas pada Perlakuan

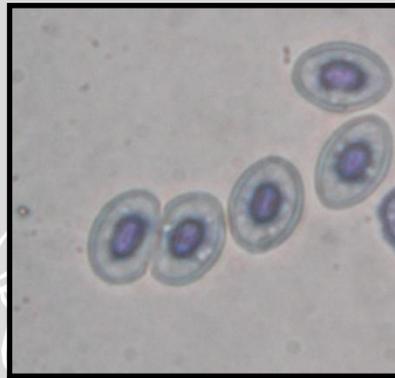
Total mortalitas pada perlakuan setelah infeksi adalah 6 ekor ikan yaitu pada perlakuan K (+) sebanyak 4 ekor dan A sebanyak 2 ekor. Total mortalitas tersebut merupakan akibat dari pengaruh pemberian infeksi pada tiap perlakuan. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 2.

4.5 Jumlah Total Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

Eritrosit (sel darah merah) merupakan sel yang paling banyak jumlahnya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma dan akan

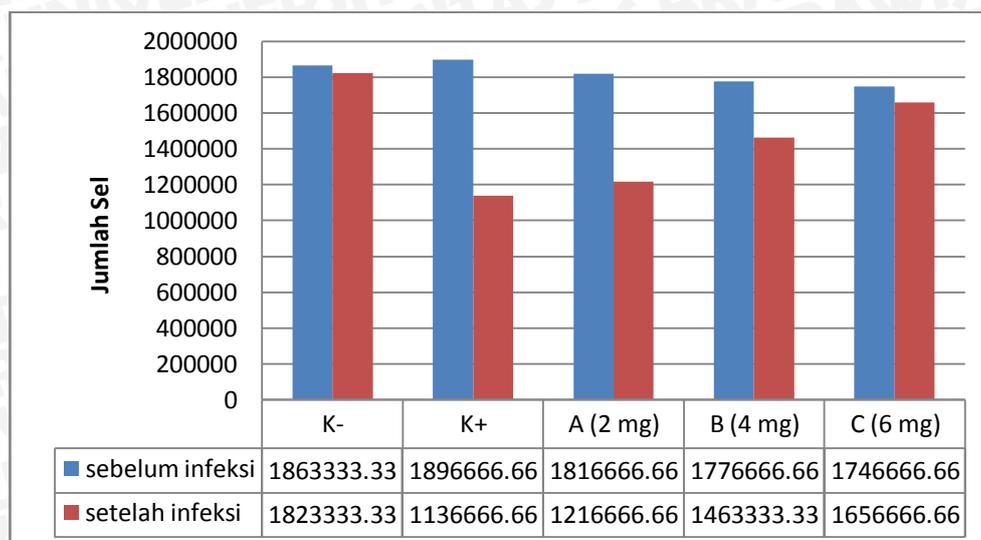
terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan Giemsa (Chinabut *et al.*, 1991 dalam Vonti, 2008). Pada ikan teleost, jumlah normal eritrosit adalah $1,05 \times 10^6 - 3,0 \times 10^6$ sel/mm³ (Robert, 1978 dalam Vonti, 2008). Seperti halnya pada hematokrit, kadar eritrosit yang rendah menunjukkan terjadinya anemia. Sedangkan kadar tinggi menandakan bahwa ikan tersebut dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake, 1977 dalam Vonti, 2008).

Bentuk eritrosit dapat dilihat pada gambar 7 sebagai berikut.



Gambar 7. Eritrosit Perbesaran 1000x

Rata-rata total eritrosit ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 8 sebagai berikut.



Gambar 8. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total eritrosit pada ikan mas sebelum di infeksi berkisar antara 1746666,6 sel/ml sampai 1896666,6 sel/ml dan setelah infeksi mengalami penurunan menjadi 1136666.6 sel/ml sampai 1823333.3 sel/ml. Pengaruh setelah dilakukannya penginfeksi ini terjadi karena adanya respon yang mempengaruhi sel eritrosit mengalami penurunan. Status sel darah merah dapat memberikan informasi penting menyangkut kondisi fisiologis dan menunjukkan status kesehatan ikan. Wedemeyer (1997) menyatakan bahwa total eritrosit yang rendah mengindikasikan bahwa ikan mengalami anemia, sedangkan total eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stres. Eritrosit memiliki inti yang berfungsi untuk mengikat oksigen (Affandi & Tang, 2002 dalam Vonti, 2008). Selain itu eritrosit berisi hemoglobin yang berfungsi mengangkut oksigen dari insang ke jaringan. Hemoglobin merupakan alat

transpor oksigen dan karbondioksida yang terdapat di dalam eritrosit (Moyle & Cech, 1988). Faktor yang mempengaruhi produksi sel darah merah adalah kebutuhan oksigen yang bervariasi pada ikan dan kondisi lingkungan. Dari diagram diatas dapat disimpulkan bahwa ikan mengalami anemia dan sistem respirasi ikan terganggu akibat penginfeksian dengan bakteri *A. salmonicida*.

Kondisi perubahan perbandingan sel darah merah (eritrosit) dengan sel darah putih (leukosit) dapat diidentifikasi bahwa ikan mengalami stress dan mudah terserang penyakit. Kondisi penyimpangan tersebut dapat diketahui melalui adanya gejala terjadinya penurunan jumlah sel darah merah yang diiringi dengan terjadinya peningkatan sel darah putih (Prasetyo *et al.*, 2008).

Jumlah eritrosit pada hewan dipengaruhi oleh jenis kelamin. Pada hewan jantan mempunyai eritrosit lebih tinggi bila dibandingkan dengan hewan betina. Jumlah eritrosit selain dipengaruhi dengan jenis kelamin juga dipengaruhi oleh umur, lingkungan dan status nutrisi (Salasia *et al.*, 2001).

Adapun hasil sidik ragam total eritrosit pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Sidik Ragam Total Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	1.00336×10^{12}	2.5084×10^{11}	43.75116279**	3.48	5.99
Galat	10	57333333333	57333333333			
Total	14	1.06069×10^{12}				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 1% dan F 5%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Dapat dilihat pada tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 2. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

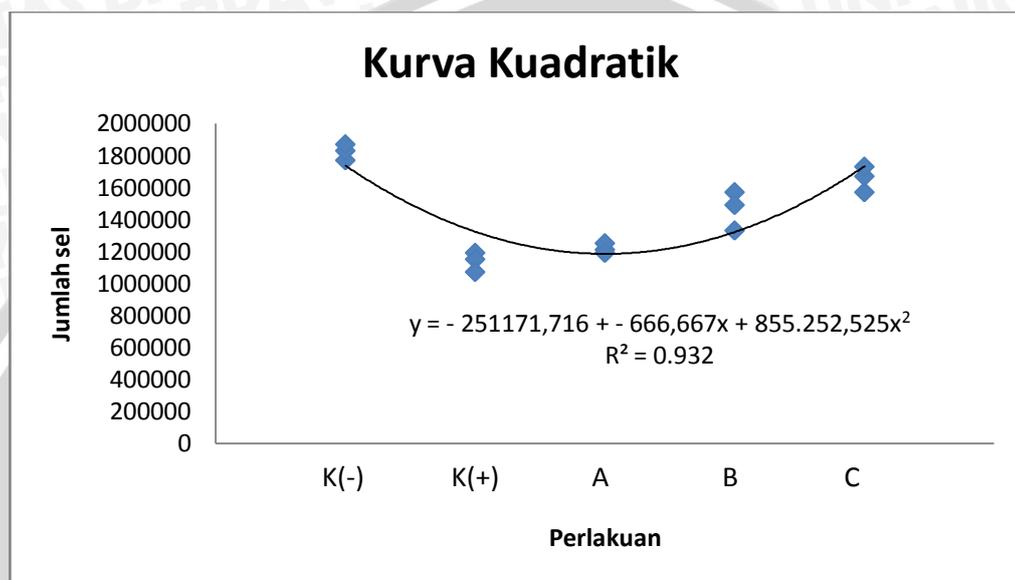
Rata – rata Perlakuan		K (+)	A	B	C	K (-)	Notasi
		1136666.67	1216666.67	1463333.33	1656666.67	1823333.33	
K (+)	0						a
A	80000	0					a
B	326666.67	246666.67	0				b
C	520000	440000	193333.33	0			b
K (-)	686666.67	606666.67	360000	166666.67	0	0	c

Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B → A = K(+)

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan B (4 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan A dan K (+) yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah sel eritrosit. Sedangkan K(-) merupakan kontrol normal.

Untuk mengetahui hubungan total eritrosit ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 9. sebagai berikut.

Kurva Regresi Kuadratik Eritrosit



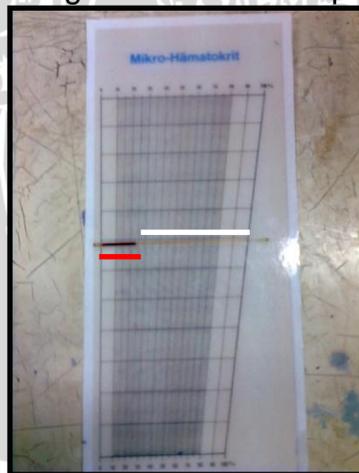
Gambar 9. Kurva Hubungan Kuadratik Total Eritrosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $y = -251171,716 + -666,667x + 855.252,525x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,932$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,932, hal ini menunjukkan bahwa 93,2% jumlah eritrosit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 6,8% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar = 0,965.

4.6 Jumlah Total Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

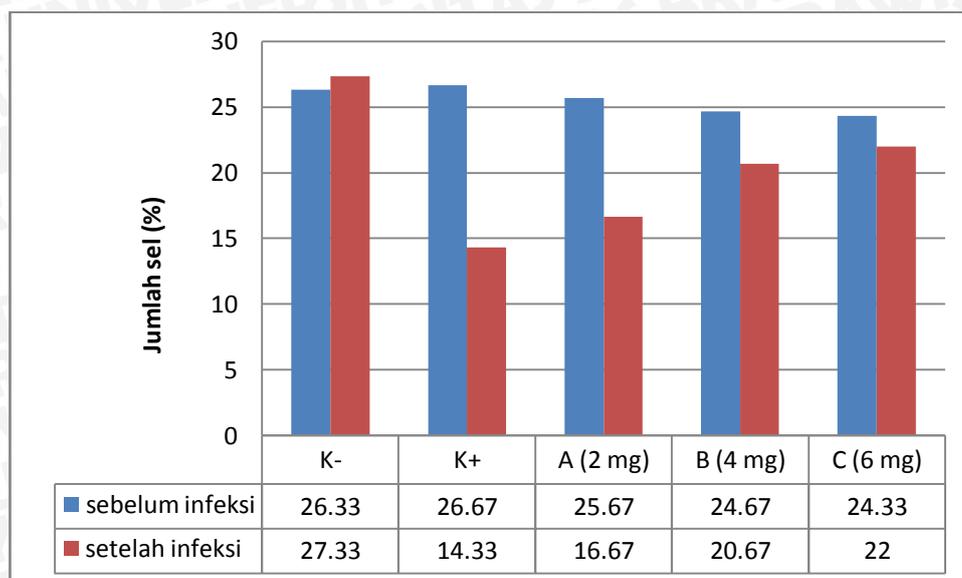
Hematokrit merupakan perbandingan antara sel darah merah dan plasma darah dan berpengaruh terhadap pengaturan sel darah merah. Peningkatan kadar hematokrit ini dipengaruhi oleh dua faktor yaitu perubahan parameter lingkungan terutama suhu perairan dan keadaan fisiologi ikan terkait dengan energi yang dibutuhkan (Utami 2009). Menurut Angka *et al.*, (1990) dalam Utami (2009) hematokrit ikan bervariasi tergantung pada faktor nutrisi dan umur ikan. Anak ikan dengan nutrisi yang baik mempunyai kadar hematokrit lebih tinggi dari pada ikan dewasa atau anak ikan dengan nutrisi rendah.

Adapun perbandingan antara sel darah merah (ditandai dengan garis berwarna merah) dengan plasma darah (ditandai dengan garis berwarna putih) pada perhitungan hematokrit dapat dilihat pada gambar 10 sebagai berikut.



Gambar 10. Hematokrit

Rata-rata total hematokrit ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 11 sebagai berikut.



Gambar 11. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total hematokrit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 24,33% sampai 26,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami penurunan menjadi 14,33% sampai 27,33%. Penurunan yang terjadi pada perlakuan setelah infeksi merupakan pengaruh akibat infeksi bakteri dari *A. salmonicida*. Perlakuan K(+) setelah infeksi bakteri lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan vaksin (perlakuan A, B dan C) hal ini menunjukkan adanya respon dari vaksin yang diberikan pada perlakuan A, B dan C. Nilai hematokrit selalu berubah – ubah tergantung kepada faktor nutrisi dan umur ikan. Nilai hematokrit dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain lingkungan, jenis kelamin, spesies dan umur ikan yang diambil darahnya (Randall, 1970 dalam Endarti, 2009).

Hematokrit merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk menghitung konsentrasi sel darah merah (perbandingan antara sel darah

merah dengan volume darah). Parameter hematokrit berpengaruh terhadap pengukuran volume eritrosit (Hesser, 1960 dalam Prasetyo *et al.*, 2008).

Moyle dan Cech (1988) melaporkan bahwa nilai hematokrit pada ikan mas (*C. carpio* Linn) adalah 27,1 %. Van vuren dan Hattingh (1978) dalam Vonti (2008) melaporkan pula bahwa nilai hematokrit normal *C. carpio* Linn adalah 29,62% atau berkisar antara 21.42 – 43.29.

Adapun hasil sidik ragam total hematokrit pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 5 sebagai berikut.

Tabel 3. Sidik Ragam Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	303.733 3	75.9333 3	71.1875* *	3.48	5.99
Galat	10	10.6666 7	1.06666 7			
Total	14	314.4				

Keterangan : ** = Berbeda Sangat Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah hematokrit dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 1% dan F 5%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 6 sebagai berikut.

Tabel 4. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Rata – rata Perlakuan		K (+)	A	B	C	K (-)	Notasi
		14.33333	16.66667	20.66667	22	27.33333	
K (+)	14.33333	0					a
A	16.66667	2.333333	0				b
B	20.66667	6.333333	4	0			c
C	22	7.666667	5.333333	1.333333	0		c
K (-)	27.33333	13	10.66667	6.666667	5.333333	0	d

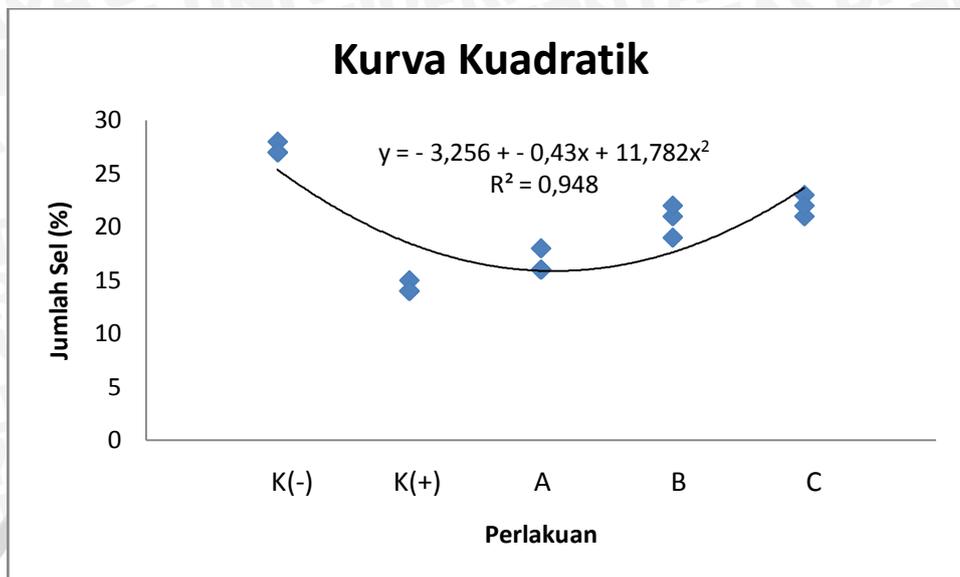
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B → A →

K(+)

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan C (6 mg/gram pakan) dan B (4 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan C dan B berbeda nyata dari perlakuan A dan K(+), yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah total hematokrit. Sedangkan perlakuan A berbeda nyata dengan K (+) yang artinya perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah sel leukosit. Pada perlakuan K (-) merupakan kontrol normal yang berbeda nyata dari perlakuan C, B, A dan K(+).

Untuk mengetahui hubungan hematokrit ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 12 sebagai berikut.

Kurva Regresi Kuadratik Hematokrit



Gambar 12. Kurva Hubungan Kuadratik Total Hematokrit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

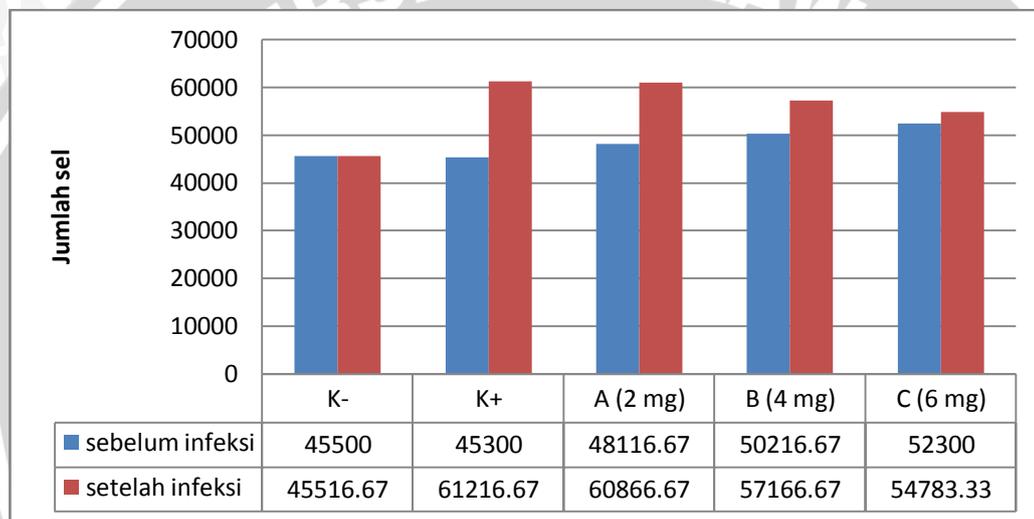
Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $y = -3,256 + -0,43x + 11,782x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,948$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,948, hal ini menunjukkan bahwa 94,8% jumlah hematokrit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 5,4% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar = 0,974.

4.7 Jumlah Total Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

Leukosit pada ikan berjumlah 20.000 -150.000 sel/ml. Ciri sel darah putih adalah memiliki inti yang berjumlah lebih dari satu. Sel darah putih dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan granulositnya. Pembagiannya

adalah sel darah putih yang mengandung granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil dan basofil sedangkan sel darah putih yang agranulosit terdiri dari limfosit, trombosit dan monosit yang merupakan bagian terbesar dari jumlah sel darah putih (Utomo, 2001).

Rata-rata total leukosit ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 13 sebagai berikut.



Gambar 13. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Total Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total leukosit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 45300 sel/ml sampai 52300 sel/ml dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 45516,67 sel/ml sampai 61216.67 sel/ml. Peningkatan sel leukosit sebelum diinfeksi merupakan respon dari vaksin bakterin yang diberikan pada ikan perlakuan. Setelah dilakukan infeksi dengan bakteri *A. salmonicida* mengalami peningkatan dibandingkan sebelum diinfeksi bakteri, akan tetapi terjadi penurunan

pada dosis yang diberikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Moyle & Cech (2004) dalam Mones (2008) yaitu leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem imun dan respon lainnya. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk mensintesa antibodi dan memfagosit bakteri.

Peningkatan jumlah leukosit ini dapat diindikasikan peningkatan pertahanan tubuh ikan dari serangan bakteri, virus, parasit, stress karena kualitas air yang buruk atau pencemaran perairan hal ini sesuai dengan pernyataan Arry (2007), bahwa peningkatan jumlah leukosit total terjadi akibat adanya respon dari tubuh ikan terhadap kondisi lingkungan pemeliharaan yang buruk, faktor stres dan infeksi penyakit.

Menurut Joshi *et al.*, (2002) dalam Ramesh (2008), peningkatan jumlah leukosit dapat dikorelasikan dengan peningkatan produksi antibodi yang membantu dalam kelangsungan hidup dan pemulihan ikan. Sedangkan menurut Moyle dan Cech (1988) dalam Dopongtonung (2008), leukosit berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh yang akan dikirim secara khusus ke daerah yang terinfeksi dan mengalami peradangan yang serius.

Kondisi perubahan perbandingan sel darah merah (eritrosit) dengan sel darah putih (leukosit) dapat diidentifikasi bahwa ikan mengalami stress dan mudah terserang penyakit. Kondisi penyimpangan tersebut dapat diketahui melalui adanya gejala terjadinya penurunan jumlah sel darah merah yang diiringi dengan peningkatan sel darah putih.

Leukosit adalah salah satu bagian darah yang berperan menghasilkan antibodi. Hal tersebut dapat diindikasikan bahwa ikan telah dimasuki antigen yang bersifat patogenik (Prasetyo *et al.*, 2008).

Leukosit memiliki bermacam-macam fungsi yang erat kaitannya untuk menghilangkan benda asing (termasuk mikroorganisme patogen). Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan (Moyle & Cech, 1988).

Adapun hasil sidik ragam leukosit pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 5. Sidik Ragam Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	490797666.7	122699416.7	18.67902722**	3.48	5.99
Galat	10	65688333.33	6568833.333			
Total	14	556486000				

Keterangan : * = Berbeda Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah leukosit dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih kecil dari F 1% dan F hitung lebih besar dari F 5%.

Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan yang nyata, maka selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 4 sebagai berikut.

Tabel 6. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

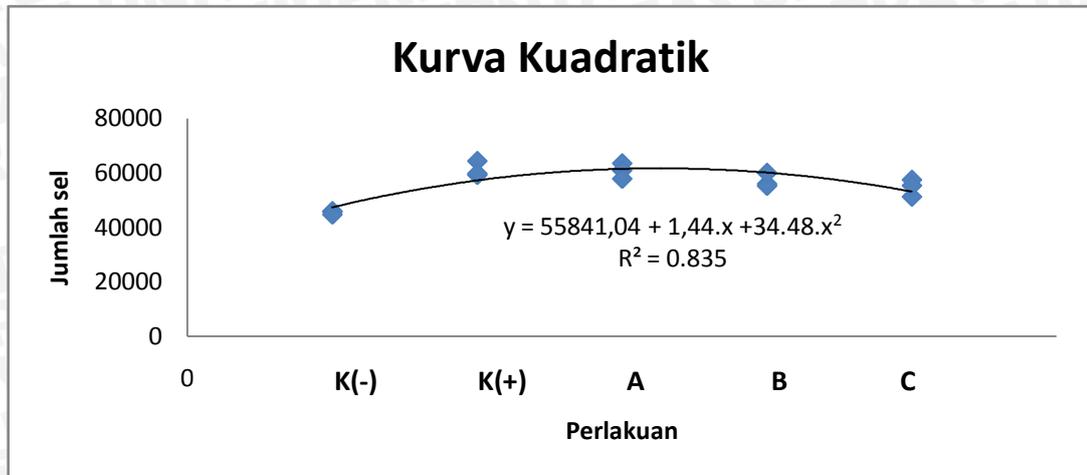
Rata – rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Notasi
		45516.67	54783.33	57166.67	60866.67	61216.67	
K (-)	45516.67	0					a
C	54783.33	9266.67	0				b
B	57166.67	11650	2383.33	0			b
A	60866.67	15350	6083.33	3700	0		bc
K (+)	61216.67	15700	6433.33	4050	350	0	bc

Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu $K(+) = A \rightarrow B = C \rightarrow K(-)$

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan B (4 mg/gram pakan) dan C (6 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan B dan C berbeda nyata dari perlakuan A dan K (+) yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah sel leukosit. Sedangkan perlakuan A dan K (+) bernotasi sama yang artinya perlakuan tersebut tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah sel leukosit. Pada perlakuan K (-) merupakan kontrol normal yang berbeda nyata dengan perlakuan C.

Untuk mengetahui hubungan leukosit ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 14 sebagai berikut.

Kurva Regresi Kuadratik Leukosit



Gambar 14. Kurva Hubungan Kuadratik Total Leukosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $y = 55841,04 + 1,44.x + 34.48.x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,835$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.835, hal ini menunjukkan bahwa 83,5% jumlah leukosit ditentukan oleh variable dalam setiap perlakuan, sedangkan 16,5% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar = 0,914.

4.8 Differensial Leukosit

4.8.1 Jumlah Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

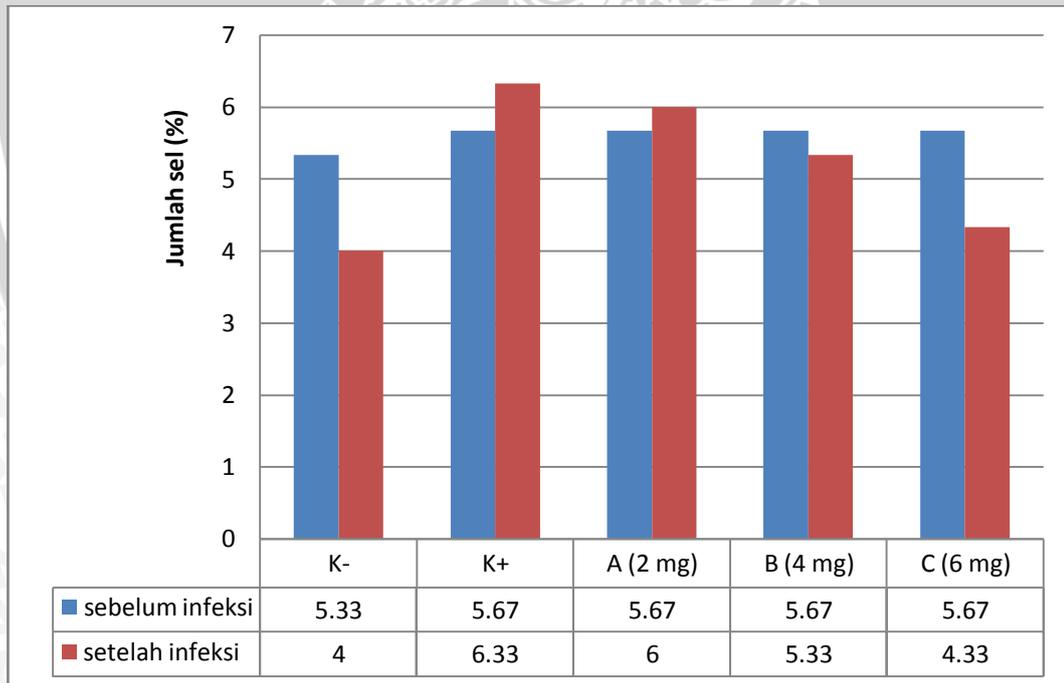
Neutrofil adalah sel darah putih yang dapat meninggalkan pembuluh darah, mengandung vakuola yang berisi enzim yang digunakan oleh sel tersebut

untuk menghancurkan organisme yang dimakannya (Chinabut *et al. dalam* Anggie, 2008). Adapun bentuk neutrofil dapat dilihat pada gambar 15 sebagai berikut.



Gambar 15. Neutrofil Perbesaran 1000x

Rata-rata total neutrofil ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 16 sebagai berikut.



Gambar 16. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total neutrofil pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 5,33% sampai 5,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 4% sampai 6,33%. Jumlah neutrofil menurut Salasia (2001) pada ikan mas adalah 3,74%. Dari diagram di atas pada perlakuan K (+) setelah infeksi bakteri memiliki nilai neutrofil yang paling tinggi dibandingkan perlakuan K(-), A, B dan C. Hal tersebut merupakan respon dari infeksi bakteri *A. salmonicida*. Neutrofil merupakan sel fagosit, sel-sel fagosit akan mengenali dan menelan partikel-partikel antigenik, termasuk bakteri dan sel-sel inang yang rusak melalui tiga tahapan proses yaitu pelekatan, fagositosis dan pencernaan. (Yanuhar, 2009).

Penginfeksi bakteri yang masuk ke dalam tubuh melalui sejumlah jalur alami (saluran respirasi, saluran gastrointestinal dan saluran genitourinary) atau melalui jalur non alami seperti dalam membran mucus atau kulit. Bakteri yang masuk lewat mulut diperkirakan karena ikan melakukan proses osmoregulasi dan respirasi dengan jalan meminum air. Bakteri akan terbawa ke dalam peredaran oleh darah di insang kemudian keseluruh tubuh yaitu dari insang darah dialirkan ke dorsal aorta kemudian darah dialirkan ke kepala, otot badan, ginjal dan semua organ pencernaan melalui pembuluh kapiler (Fujaya, 2004).

Adapun hasil sidik ragam total neutrofil pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 7 sebagai berikut.

Tabel 7. Sidik Ragam Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	15.06667	3.766667	4.346154*	3.48	5.99
Galat	10	8.666667	0.866667			
Total	14	23.73333				

Keterangan : * = Berbeda Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah neutrofil dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 5% dan lebih kecil dari F 1%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 8 sebagai berikut.

Tabel 8. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Notasi
		3.67	4.33	5.33	6	6.33	
K (-)	3.67	0					A
C	4.33	0.67	0				A
B	5.33	1.67	1	0			A
A	6	2.33	1.67	0.67	0		Ab
K (+)	6.33	2.67	2	1	0.33	0	Ab

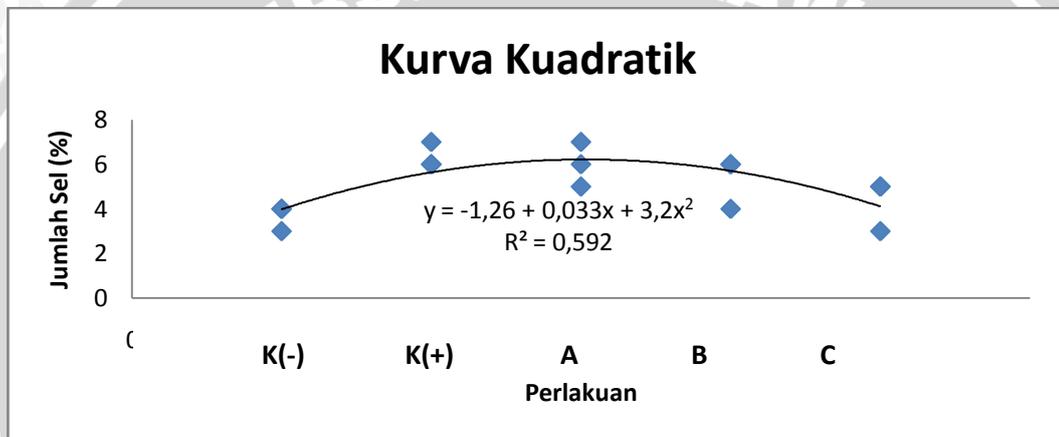
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(+) = A → B = A = K(-)

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan B (4 mg/gram pakan) dan C (6 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan B dan C berbeda nyata dari perlakuan A dan K (+), yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah neutrofil. Sedangkan perlakuan K (+) bernotasi sama dengan perlakuan A yang artinya perlakuan tersebut tidak

memberikan pengaruh terhadap jumlah sel neutrofil. Pada perlakuan K (-) merupakan kontrol normal yang bernotasi sama dengan perlakuan B dan C.

Untuk mengetahui hubungan neutrofil ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 17 sebagai berikut.

Kurva Regresi Kuadratik Neutrofil

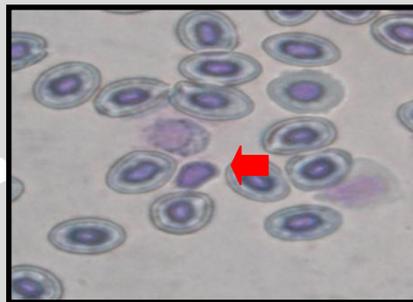


Gambar 17. Kurva Hubungan Kuadratik Neutrofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $Y = y = -1,26 + 0,033x + 3,2x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,592$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,592, hal ini menunjukkan bahwa 59,2% jumlah neutrofil ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 40,8% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar = 0,769.

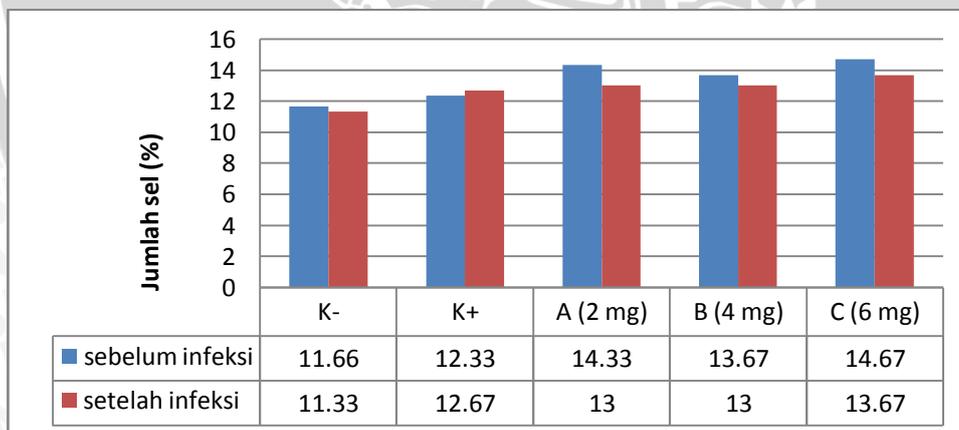
4.8.2 Jumlah Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

Monosit merupakan sel darah terbesar dengan bentuk yang tidak teratur dengan sitoplasma yang berwarna biru-kebiruan. Bentuk monosit ini dapat dilihat pada gambar 18 sebagai berikut.



Gambar 18. Monosit Perbesaran 1000x

Rata-rata total monosit ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 19 sebagai berikut.



Gambar 19. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total monosit pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 11,66% sampai 14,67% dan setelah dilakukan infeksi

mengalami peningkatan menjadi 11,33% sampai 13,67%. Jumlah monosit didalam populasi sel darah putih sedikit, namun jumlahnya akan meningkat jika ada substansi asing pada jaringan atau sirkulasi (Moyle dan Cech, 1998). Persentase monosit normal yang beredar dalam darah ikan dalam penelitian yang dilakukan Salasia (2001) adalah 13.33%. Jumlah monosit dari diagram diatas masih termasuk dalam kisaran normal. Hal ini diduga setelah dilakukanya infeksi pada ikan terjadi pembentukan sel monosit baru sesuai dengan pernyataan Menurut Affandi dan Tang (2002) monosit mempunyai masa beredar yang singkat dalam darah sebelum mengalir melalui membran-membran kapiler kedalam jaringan.

Peningkatan persentase monosit yang terjadi setelah uji tantang diduga disebabkan dalam tubuh ikan yang terinfeksi mendorong monosit untuk menghancurkan benda asing yang masuk. Benda asing yang dimaksud disini adalah *A. salmonicida* yang masuk kedalam tubuh ikan yang kemudian akan difagosit oleh monosit. Monosit diduga sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk kedalam tubuh. Fagosit oleh monosit merupakan proses yang sama seperti pada neutrofil, akan tetapi monosit ini mampu memiliki aktifitas fagositik yang tahan lama (Tizard 1988 dalam Endarti, 2009).

Adapun hasil sidik ragam total monosit pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 9 sebagai berikut.

Tabel 9. Sidik Ragam Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	8.933333	2.233333	3.722222*	3.48	5.99
Galat	10	6	0.6			
Total	14	14.93333				

Keterangan : * = Berbeda Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah monosit dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 5% dan lebih kecil dari F 1%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 10 sebagai berikut.

Tabel 10. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	K (+)	A	B	C	Notasi
		11.33333	12.66667	13	13	13.66667	
K (-)	11.33333	0					a
K (+)	12.66667	1.333333	0				a
A	13	1.666667	0.333333	0			ab
B	13	1.666667	0.333333	0	0		ab
C	13.66667	2.333333	1	0.666667	0.666667	0	ab

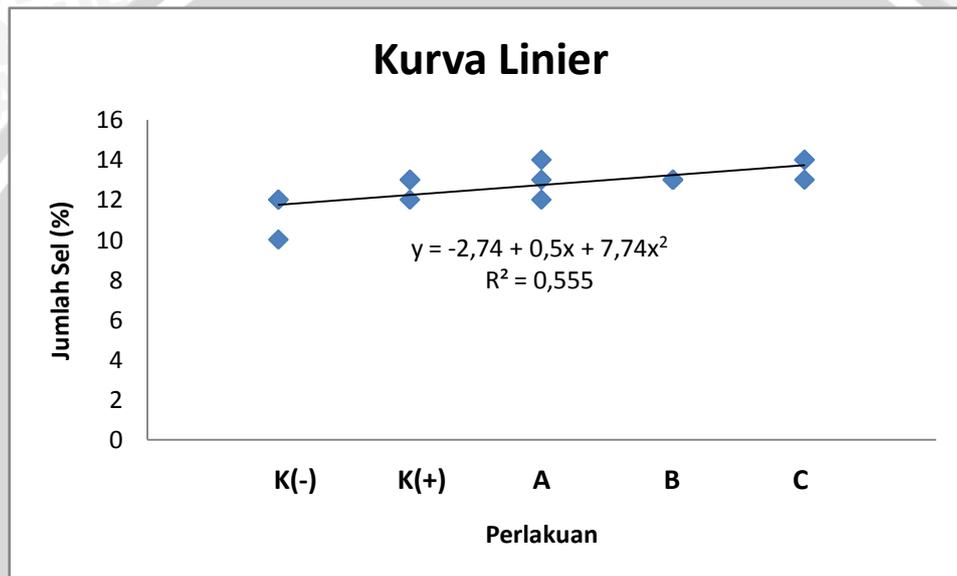
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu C = B = A → K(+) = K(-)

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan C (6 mg/gram pakan), B (4 mg/gram pakan) dan A (2 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan C, B dan A berbeda nyata dari perlakuan K(+) dan K(-), yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah monosit. Sedangkan perlakuan

K(+) bernetasi sama dengan perlakuan K(-) yang artinya perlakuan tersebut tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah sel monosit.

Untuk mengetahui hubungan monosit ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 20 sebagai berikut.

Kurva Regresi Linier Monosit



Gambar 20. Kurva Hubungan Linier Monosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva linier diatas diketahui bahwa $y = -2,74 + 0,5x + 7,74x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,555$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0.555, hal ini menunjukkan bahwa 55,5% jumlah monosit ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 44,5% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar $= 0,745$.

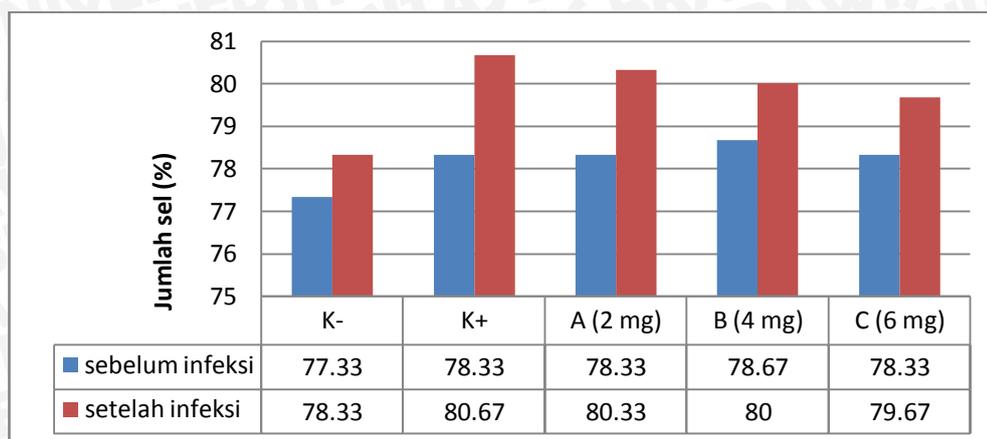
4.8.3 Jumlah Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sel limfosit jarang terlihat apabila terjadi infeksi dan ada reaksi imun dengan peratarasan sel, bentuknya lebih besar dari eritrosit, memiliki bentuk bulat dengan sedikit sitoplasma yang apabila diwarnai dengan giemsa akan berwarna biru terang atau jingga pucat. Nukleus hamper menutupi semua sel dan dicirikan dengan kromatin yang gelap (Utomo, 2001). Bentuk limfosit dapat dilihat pada gambar 21 sebagai berikut :



Gambar 21. Limfosit

Rata-rata total limfosit ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 22 sebagai berikut.



Gambar 22. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total limfosit pada ikan mas sebelum infeksi

berkisar antara 77,33% sampai 78,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 78,33% sampai 80,67%. Persentase limfosit ikan berkisar antara 71.12-82.88% dari total leukosit yang bersirkulasi (Affandi dan Tang, 2002). Hasil diagram diatas menunjukkan peningkatan sel limfosit setelah diinfeksi. Peningkatan limfosit terjadi karena adanya rangsangan antigen yang menyebabkan timbulnya respon imun karena limfosit berfungsi sebagai penghasil antibodi yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh terhadap penyakit (Moyle dan Cech, 2004).

Reaksi terhadap kehadiran antigen merangsang sel limfosit untuk berdiferensiasi membentuk dua macam sel yaitu limfosit T dan B. Limfosit T berasal dari kelenjar timus dan berperan mengatur kekebalan yang mampu mengeliminasi antigen melalui *cell mediated immune respons*. Limfosit B diduga berasal dari organ ginjal dan berperan dalam pembentukan antibodi. Kekurangan limfosit dapat menurunkan

konsentrasi antibodi di dalam sirkulasi darah, dan menyebabkan tubuh rentan terhadap serangan penyakit (Fujaya, 2004).

Adapun hasil sidik ragam total limfosit pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 11 sebagai berikut.

Tabel 11. Sidik Ragam Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	9.73333 3	2.43333 3	5.214286 *	3.48	5.99
Galat	10	4.66666 7	0.46666 7			
Total	14	14.4				

Keterangan : * = Berbeda Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah limfosit dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 5% dan lebih kecil dari F 1%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 12 sebagai berikut.

Tabel 12. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

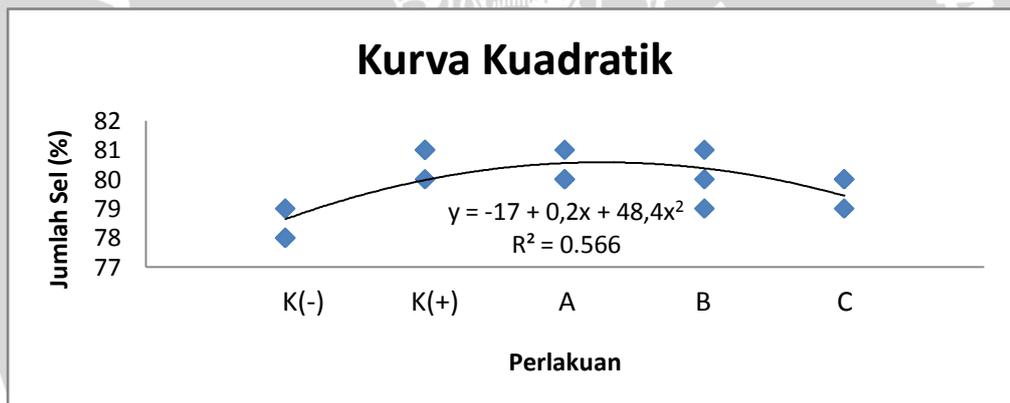
Rata-rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Notasi
		78.333	79.667	80	80.333	80.667	
K (-)	78.333	0					a
C	79.667	1.3333	0				b
B	80	1.6667	0.333	0			b
A	80.333	2	0.667	0.333	0		b
K (+)	80.667	2.3333	1	0.667	0.333	0	b

Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu $K(+) = A = B = A \rightarrow K(+)$

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan $K(+)$, A (2 mg/gram pakan), B (4 mg/gram pakan), dan C (6 mg/gram pakan). Hal ini dibuktikan dari notasi pada perlakuan $K(+)$, A, B dan C berbeda nyata dari perlakuan $K(-)$, yang berarti perlakuan tersebut memberikan pengaruh terhadap jumlah limfosit.

Untuk mengetahui hubungan limfosit ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 23 sebagai berikut.

Kurva Kuadratik Limfosit



Gambar 23. Kurva Hubungan Kuadratik Limfosit pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $y = -17 + 0,2x + 48,4x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,566$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,566, hal ini menunjukkan bahwa 56,6% jumlah neutrofil ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 43,4% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar $= 0,752$.

4.8.4 Jumlah Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

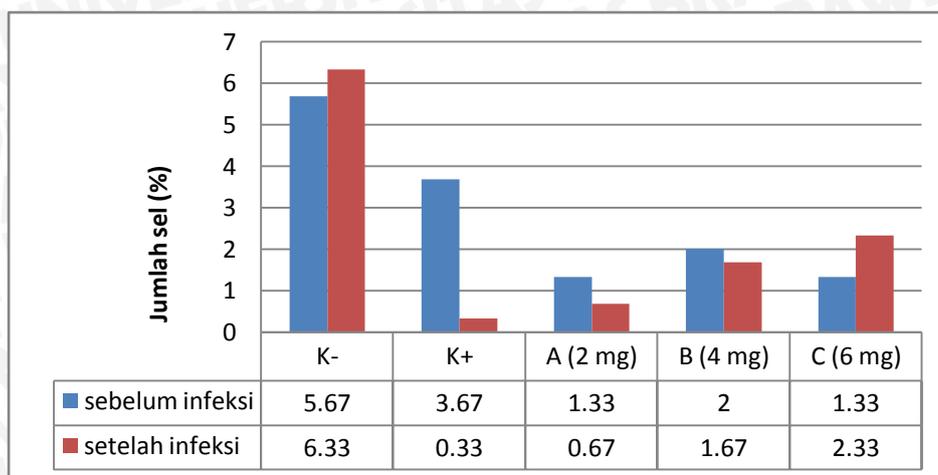
Eosinofil merupakan sel granular eosinofilik, secara normal berada pada berbagai macam jaringan pada ikan. Sel ini berakumulasi ketika terjadi proses inflamasi, khususnya sebagai akibat infeksi parasit (Feldman *et al.* 2000 dalam Vonti, 2008). Parasit dapat didefinisikan sebagai organisme yang hidup pada organisme lain, yang disebut inang, dan mendapat keuntungan dari inang yang ditempatinya hidup, sedangkan inang menderita kerugian. Invasi parasit dapat terjadi melalui kontak langsung antara ikan sehat dengan ikan terinfeksi. Densitas tinggi terhadap populasi inang memungkinkan untuk terjadinya penyebaran penyakit yang lebih cepat. Beberapa jenis parasit yang dapat menyebar melalui kontak langsung adalah parasit *ciliata*, *monogenea*, *copepoda*, *isopoda*, dan *branchiura* (Anshary, 2008).

Bentuk limfosit dapat dilihat pada gambar 24 sebagai berikut.



Gambar 24. Eosinofil Ikan Mas Perbesaran 1000x

Rata-rata total eosinofil ikan mas sebelum dan sesudah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* pada beberapa perlakuan dapat dilihat pada gambar 25 sebagai berikut.



Gambar 25. Pengaruh Pemberian Vaksin Bakterin Terhadap Jumlah Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum dan Sesudah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Nilai rata-rata jumlah total eosinofil pada ikan mas sebelum infeksi berkisar antara 1,33% sampai 5,67% dan setelah dilakukan infeksi mengalami peningkatan menjadi 0,33% sampai 6,33%. Persentase eosinofil di dalam sirkulasi darah ikan menurut Affandi dan Tang (2002) berkisar antara 0,78-2,00%. Pada diagram diatas menunjukkan bahwa pada perlakuan K(-) memiliki total eosinofil paling tinggi, hal ini disebabkan ikan pada perlakuan tersebut telah terjangkit parasit yaitu *Iernaea* sp.

Kemampuan inang untuk menahan serangan patogen ditentukan oleh tingkat kekebalan atau immunitas ikan. Kekebalan ditentukan oleh adanya antibodi dalam darah ikan yang dapat mentralisasi antigen yang masuk dalam tubuh. Imunisasi dirancang dengan melengkapi ikan dengan antibodi yang efektif terhadap patogen tertentu. Hal ini dapat dicapai dengan memasukkan protein patogen ke dalam tubuh ikan dalam bentuk yang aman, seperti patogen yang telah mati atau dilemahkan.

Kekebalan yang dimiliki oleh ikan meliputi kekebalan non spesifik dan kekebalan spesifik, dimana keduanya dapat distimulasi dengan menggunakan berbagai bahan melalui proses vaksinasi. Lernaeid atau cacing jangkar adalah hama paling umum pada ikan mas dan juga pada ikan salmon serta ikan lainnya. Parasit ini terutama sangat patogen pada ikan kecil (Anshary, 2008).

Adapun hasil sidik ragam total eosinofil pada ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat dilihat pada tabel 13 sebagai berikut.

Tabel 13. Sidik Ragam Eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	69.6	17.4	52.2**	3.48	5.99
Galat	10	3.333333	0.333333			
Total	14	72.93333				

Keterangan : ** = Berbeda Nyata

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian vaksin bakterin memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah eosinofil dalam darah ikan. Hal ini ditunjukkan dengan nilai F hitung yang lebih besar dari F 5% dan lebih kecil dari F 1%. Untuk mengetahui perlakuan yang menunjukkan adanya perbedaan sangat nyata, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dapat dilihat pada tabel 14 sebagai berikut.

Tabel 14. Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) Eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

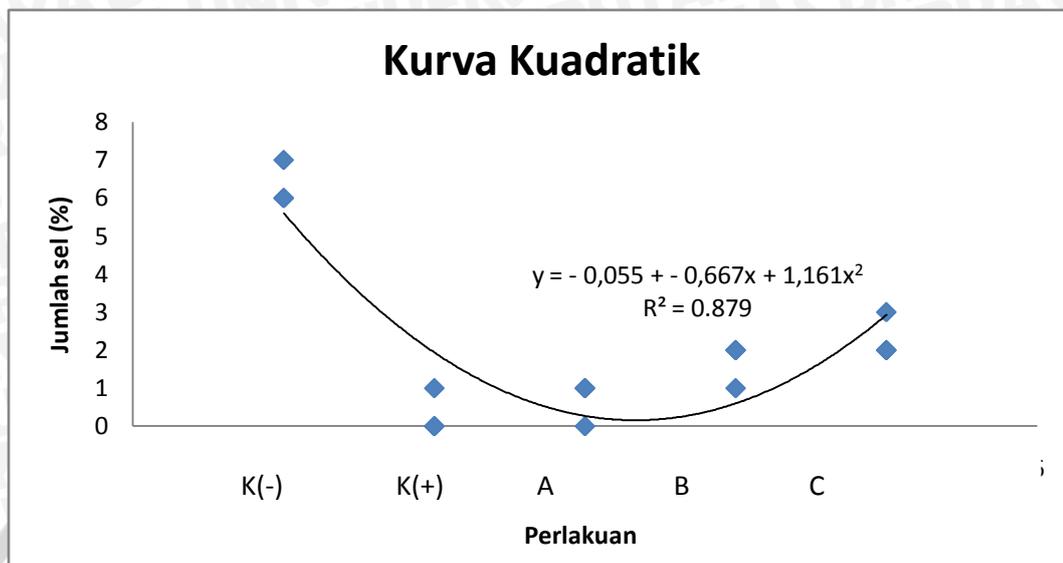
Rata-rata Perlakuan		K (-)	A	B	C	K (+)	Notasi
		A	0.666667	1.666667	2.333333	6.333333	
K (-)	0.333333	0					A
A	0.666667	0.333333	0				A
B	1.666667	1.333333	1	0			A
C	2.333333	2	1.666667	0.666667	0		Ab
K (+)	6.333333	6	5.666667	4.666667	4	0	C
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(+) → C → B = A = K(-)							

Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(+) → C → B = A = K(-)

Berdasarkan hasil uji BNT, perlakuan yang terbaik yaitu pada perlakuan C (6 mg/gram pakan), hal ini dibuktikan dari notasi yang berbeda nyata dari perlakuan A (2 mg/gram pakan), dan B (4 mg/gram pakan), sedangkan pada perlakuan K (+) merupakan kontrol yang diinfeksi bakteri.

Untuk mengetahui hubungan eosinofil ikan mas setelah uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* selanjutnya dilakukan analisa regresi yang dapat dilihat pada gambar 26 sebagai berikut.

Kurva Kuadratik Eosinofil



Gambar 26. Kurva Hubungan Kuadratik eosinofil pada Ikan Mas Setelah Uji Tantang dengan Bakteri *A. salmonicida*

Berdasarkan persamaan kurva kuadratik diatas diketahui bahwa $y = -0,055 + -0,667x + 1,161x^2$ dengan nilai $R^2 = 0,879$. Nilai R^2 yang didapatkan yaitu 0,879, hal ini menunjukkan bahwa 87,9% jumlah neutrofil ditentukan oleh variabel dalam setiap perlakuan, sedangkan 12,1% dipengaruhi oleh variabel lain. Koefisien korelasi (r) didapatkan sebesar = 0,938.

4.9 Pengamatan Kualitas Air

Pada penelitian ini pengukuran kualitas air dilakukan meliputi pH (derajat keasamaan), DO (oksigen terlarut) dan suhu ($^{\circ}\text{C}$) pada tiap wadah media pemeliharaan. Faktor-faktor tersebut turut diperhatikan selama pemeliharaan berlangsung karena media tersebut dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan itu sendiri. pH pada saat penelitian 7. pH air mempengaruhi tingkat kesuburan perairan karena mempengaruhi

kehidupan jasad renik. Perairan asam akan kurang produktif, malah dapat membunuh hewan budidaya. Pada pH rendah (keasaman yang tinggi) kandungan oksigen terlarut akan berkurang, sebagai akibatnya konsumsi oksigen menurun, aktivitas pernapasan naik dan selera makan akan berkurang. Hal yang sebaliknya terjadi pada suasana basa. Atas dasar ini, maka usaha budidaya perairan akan berhasil baik dalam air dengan pH 6.5-9.0 dan kisaran optimal adalah pH 7.5-8.7. (Kordi dan Tancung, 2007).

Pada pengamatan DO di media penelitian berkisar 6.4533 sampai 6.5733 ppm. Ikan dan organism akuatik lain membutuhkan oksigen terlarut dengan jumlah cukup. Kebutuhan oksigen sangat dipengaruhi oleh suhu dan variasi antar-organisme. Keberadaan logam berat yang berlebihan di perairan mempengaruhi system respirasi organism akuatik sehingga pada saat kadar oksigen terlarut rendah dan terdapat logam berat dengan konsentrasi tinggi, organism akuatik menjadi menderita. Diperairan tawar, kadar oksigen terlarut berkisar antara 15 mg/liter pada suhu 0°C dan 8 mg/liter pada suhu 25°C, sedangkan diperairan laut berkisar antara 11 mg/liter pada suhu 0°C dan 7 mg/liter pada suhu 25°C (Mc Neely *et al.*, 1979 *dalam* Effendi 2003).

Pada pengamatan suhu di media penelitian berkisar 26.4667°C sampai 26.7333°C. Suhu air dapat mempengaruhi kehidupan biota air secara tidak langsung, yaitu melalui pengaruhnya terhadap kelarutan oksigen dalam air. Semakin tinggi suhu air, semakin rendah daya larut oksigen dalam air dan sebaliknya. Pertumbuhan dan kehidupan biota dipengaruhi suhu air. Kisaran suhu optimal bagi kehidupan ikan diperairan

tropis adalah antara 28°C – 32°C. pada kisaran tersebut konsumsi oksigen mencapai 2.2 mg/g berat tubuh-jam (Ahmad dkk., 1998 *dalam* Kordi dan Tancung, 2007).



KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian vaksin bakterin pada ikan mas (*C. carpio* L) pasca uji tantang dengan bakteri *A. salmonicida* dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan pengamatan hematologi dan analisa regresi menunjukkan bahwa vaksin bakterin memberikan pengaruh daya hambat pada darah ikan (eritrosit, leukosit, hematokrit, dan differensial leukosit) yang terinfeksi bakteri *A. salmonicida*
2. Perlakuan terbaik pada penelitian ini adalah B yaitu dengan dosis 4 mg/gram pakan karena tingkat respon recovery yang optimum.
3. Pada hasil pengukuran pH didapatkan hasil 7, DO 6,45 – 6,57 dan Suhu 26,46 – 26,73
4. Perubahan total sel eritrosit, leukosit, hematokrit, neutrofil, monosit dan limfosit bukan disebabkan oleh pengaruh pH, DO dan suhu melainkan disebabkan oleh penginfeksian bakteri *A. salmonicida*.

5.2 Saran

Vaksin bakterin hasil isolasi dari bakteri *Aeromonas salmonicida* dapat digunakan sebagai kekebalan (imun) tubuh ikan dan perlu dilakukan penelitian lanjutan vaksin bakteri dengan teknik pemberian yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2008. **KESEHATAN IKAN**. <http://salmahgominut.com/> Diakses pada tanggal 28 September 2010
- _____, 2009. **MORFOLOGI IKAN MAS**. www.pusri.co.id. Diakses pada tanggal 11 Juni 2010
- _____, 2010^a. **BIOLOGI IKAN MAS**. <http://ikanmania.wordpress.com> Diakses pada tanggal 11 Juni 2010
- _____, 2010^b. **IKAN KARANTINA**. <http://dedisafrizal.blogdetik.com> Diakses pada tanggal 13 Juni 2010
- _____, 2010^c. **APLIKASI PEMBERIAN VAKSIN EDWARDSIELLA ICTALURI**. <http://www.sith.itb.ac.id> Diakses pada tanggal 13 Juni 2010
- Affandi R, UM Tang. 2002. **Fisiologi Hewan Air**. Unri Press, Pekanbaru.
- Anggie R S, 2008. **STUDI HISPATOLOGI INSANG, USUS DAN OTOT IKAN GURAMI (*Osphronemus gouramy*) AKIBAT INFESTASI PARASIT PROTOZOA DIDESA CARANGPULANG DRAMAGA BOGOR**. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Anshary H, 2008. **Modul Pembelajaran Berbasis Student Center Learning (SCL) Mata Kuliah Parasitologi Ikan**. Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan Dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. 125 hal.
- Arry, 2007. **PENGARUH SUPLEMENTASI ZAT BESI (Fe) DALAM PAKAN BUATAN TERHADAP KINERJA PERTUMBUHAN DAN IMUNTAS IKAN KERAPU BEBEK (*Cromileptes altivelis*)**. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB
- Bijanti, R. 2005. **Hematologi Ikan : Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan**. Bagian Ilmu Kedokteran Hewan Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. 31 hal
- Biofagri A.R, 2006. **RESPIRASI LAPORAN PRAKTIKUM FISILOGI HEWAN**. www.docstoc.com Diakses pada tanggal 11 Juni 2010
- Dwijoseputro. 1989. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Penerbit Djambatan. Jakarta. 215 hal.
- Dopongtoning A, 2008. **GAMBARAN DARAH IKAN LELE (*Clarias spp*) YANG BERASAL DARI DAERAH LALADON-BOGOR**. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Effendi, H. 2003. **TELAAH KUALITAS AIR**. Kanisius. Yogyakarta. 258 hal

Endarti, 2009. **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa*) SEBAGAI IMMUNOSTIMULAN TERHADAP HEMATOLOGI IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) SETELAH UJI TANTANG DENGAN BAKTERI *Aeromonas hydrophila***. Skripsi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Skripsi tidak dipublikasikan

Fadhil F, Darmadi, Hendrayana C, 2009 **PENENTUAN NILAI HEMATOKRIT PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L)**. www.scribd.com Diakses pada tanggal 11 Juni 2010

Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknologi Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hal.

Inglis, V. R. J., Robert and N. R. Bromage. 1993. **Bacterial Disease of Fish**. Blackwell Science. Oxford. 312 p

Iqmal T, 2008. **ARTI PENTING KALIBRASI PADA PROSES PENGUKURAN ANALITIK: APLIKASI PADA PENGGUNAAN pHMETER DAN SPEKTROFOTOMETER UV-Vis**. <http://iqmal.staff.ugm.ac.id> Diakses pada tanggal 11 Juni 2010

Irawan, Aminullah, Dahlan, Ismail, Bahri, Fahdian, 2009. **MAKALAH FAKTOR-FAKTOR PENTING DALAM PROSES PEMBESARAN IKAN DIFASILITAS NURSERY DAN PEMBESARAN**. Diakses pada tanggal 11 Juni 2010

Kamiso, H.N dan Triyanto, 1992. **VAKSINASI MONOVALEN DAN POLIVALEN VAKSIN UNTUK MENGATASI SERANGAN (*Aeromonas hydrophila*) PADA IKAN LELE (*Clarias Sp.*)**. <http://i-lib.ugm.ac.id> Diakses pada tanggal 12 Juni 2010

Kordi, MHG N Tancung, AB, 2007. **PENGELOLAAN KUALITAS AIR DALAM BUDIDAYA PERAIRAN**. Rineka cipta. Jakarta. 195 hal

Longyant S, Prahkarnkao K, Meevoothisom V, Rengpipat S, Rukpratanporn S, Sithigorngul W, Chaivisuthangkura P, Sithigorngul P, 2007. **Identification of *Aeromonas hydrophila* infection with specific monoclonal antibodies**. *Maejo International Journal of Science and Technology*

Maftuch, 2006. **KARAKTERISASI PROTEIN ADHESIN Omp *Vibrio alginolyticus* DAN ANTIBODI HASIL INDUKSINYA SERTA PENGARUHNYA TERHADAP RESPON IMUN IKAN KERAPU TIKUS (*Cromileptes altivelis*)**. Disertasi. Program Studi Ilmu Kedokteran Kekhususan Biomedik. Universitas Brawijaya, Malang.

Maryanti L, 2010. **POTENSI ANTAGONISTIK EXTRACELLULAR PRODUCT (ECP) *Vibrio alginolyticus* TERHADAP *Vibrio harveyi* SECARA IN**

VITRO. Skripsi Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan. Universitas Brawijaya, Malang. Skripsi tidak dipublikasikan

Mones, 2008. **GAMBARAN DARAH PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio* Linn) STRAIN MAJALAYA YANG BERASAL DARI DAERAH CIAMPEA BOGOR. FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Moyle PB, Cech JJ. 1988. **Fish an Introduction to Ichthyology Second.** Pretince Hall: New Jersey.

Muhammad F, 2010. **RENCANA STRATEGIS KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN TAHUN 2010 – 2014.** www.dkp.go.id Diakses pada tanggal 29 September 2010

Nabib, R. dan F. H Pasaribu. 1989. **Patologi dan penyakit ikan.** Bahan Ajar. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Dikti. Antar. Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.

Prasetyo, Yanti, Purwanto, 2008. **EFEKTIFITAS PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BAWANG PUTIH UNTUK PENGOBATANIKAN LELE *Clarias* sp YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla*.** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011

Olga, Langkah S, Triyanto, 2008. **PENGENDALIAN PENYAKIT MAS (MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA) PADA LELE DUMBO (*CLARIAS GARIEPINUS*) MELALUI VAKSINASI.** <http://www.docstoc.com> Diakses pada tanggal 11 Juni 2010

Ramesh, M dan M Saravanan, 2008. **HAEMATOLOGICAL and BIOCHEMICAL RESPONE IN A FRESHWATER FISH *Cyprinus carpio* EXPOSED TO CHLORPYRIFOS.** Unit of Toxicology. Departement of Zoology. Bharathiar Univercity. India.

Robby, 2010. **LAPORAN ANATOMI PISCES.** <http://anatomipisces.blogspot.com/> Diakses pada tanggal 12 Juni 2010

Ruangpan dan Kitio. 1992. **Laboratory Manual of Standardized Methods for Antimicrobial Sensitivity Test for Bacteria Isolated from Aquatic Animals and Environment.** SEAFDEC Aquaculture Departemen. 55p

Salsalia, Sulanjari, Ratnawati, 2001. **STUDI HEMATOLOGI IKAN AIR TAWAR.** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011

Setiawati Mia, 2004. **Kebutuhan NUTRIEN PAKAN PENINGKAT DAYA TAHAN TUBUH IKAN DALAM AKUAKULTUR.** www.rudyct.com Diakses Pada Tanggal 12 Juni 2010

Soeripto, 2002. **PENDEKATAN KONSEP KESEHATAN HEWAN MELALUI VAKSINASI.** www.pustaka-deptan.go.id Diakses pada tanggal 12 Juni 2010

- Sugianti B, 2005. **PEMANFAATAN TUMBUHAN OBAT TRADISIONAL DALAM PENGENDALIAN PENYAKIT IKAN.** www.rudyct.com Diakses pada tanggal 12 Juni 2010
- Sumisdiyanto, 2009. **PENGARUH IMMUNOSTIMULAN BAKTERIN *Vibrio aglino* TERHADAP RESPON IMMUN SELLUER UDANG WINDU (*Pneaus monodon*) YANG DIPAPAR BAKTERI *Vibrio aglino*.** Skripsi. Budidaya Perairan. Universitas Brawijaya. Malang. Skripsi tidak dipublikasikan
- Syawal H, Syafriadiman, Hidayah S, 2008. **PEMBERIAN EKSTRAK KAYU SIWAK (*SALVADORA PERSICA L.*) UNTUK MENINGKATKAN KEKEBALAN IKAN MAS (*CYPRINUS CARPIO L.*) YANG DIPELIHARA DALAM KERAMBA.** www.unsjournals.com Diakses pada tanggal 12 Juni 2010
- Undap Suzanne L, 2008. **EFEK EKSTRAK ALGA (*Padina sp.*) TERHADAP AKTIVITAS NEUTROFIL MELALUI PENYUNTIKAN GELEMBUNG RENANG IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*).** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011
- Utami W P, 2009. **EFEKTIFITAS EKSTRAK PACI-PACI *Leucas lavandulaefolia* YANG DIBERIKAN LEWAT PAKAN UNTUK PENCEGAHAN DAN PENGOBATAN PENYAKIT MAS *Motile Aeromonas Septicemia* PADA IKAN LELE DUMBO *Clarias sp.*** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011
- Utomo Y E, 2001. **UJI LAPANG VAKSIN *Aeromonas hydrophilla* TERHADAP IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) MELALUI PAKAN PELLET BERVAKSIN.** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011
- Viramedika. 2008. **Membedakan Bakteri Gram Positif dan Negatif.** <http://scrib.com/doc/25146430>. Diakses 7 Februari 2010.
- Vonti O, 2008. **GAMBARAN DARAH IKAN MAS (*CYRINUS CARPIO LINN*) STRAIN SINYONYA YANG BERASAL DARI DAERAH CIAMPEA BOGOR.** Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Bogor. IPB, Bogor.
- Wedemeyer, G.A. 1997. **Fish stres and health in intensive culture.** Society for Experimental Biologi Seminar Series 62. Cambridge: Cambridge University Press.
- Yanuhar U, 2009. **PENGARUH PEMBERIAN BAHAN AKTIF EKSTRAK *Nannochloropsis oculata* TERHADAP KADAR RADIKAL BEBAS PADA IKAN KERAPU TIKUS (*Cromileptes altivelis*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Vibrio alginolyticus*.** Diakses pada tanggal 10 Mei 2011
- Zulnaidi, SS, M.Hum, 2007. **METODE PENELITIAN.** <http://repository.usu.ac.id> Diakses pada tanggal 11 Juni 2010

Lampiran 1.

TABEL KEBUTUHAN PAKAN DAN VAKSIN BAKTERIN SELAMA 14 HARI

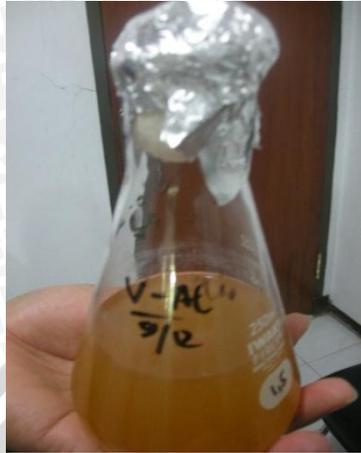
PERLAKUAN	BOBOT Rata-rata IKAN	FCR	HASIL PAKAN (gr)	DOSIS VAKSIN	HASIL (mg)	HARI	HASIL VAKSIN (mg)	TOTAL PAKAN (gr)
K (-)								
1	103.13	3%	3.09					
2	104.86	3%	3.14					
3	100.74	3%	3.02					
K(+)								
1	108.5	3%	3.25					
2	100.34	3%	3.37					
3	112.49	3%	3.37					
A								
1	127.22	3%	3.81	2	7.62			
2	116.32	3%	3.48	2	6.96			
3	123.23	3%	3.69	2	7.38			
B					21.96	14	307.44	
1	122.05	3%	3.66	4	14.64			
2	117.25	3%	3.51	4	14.04			
3	118.34	3%	3.55	4	14.2			
C					42.88	14	600.32	
1	119.98	3%	3.59	6	21.54			
2	120.9	3%	3.62	6	21.72			
3	117.93	3%	3.53	6	21.18			
					64.44	14	902.16	
TOTAL KEBUTUHAN PAKAN			51.68			14		723.52
TOTAL KEBUTUHAN VAKSIN SELAMA 14 HARI							1809.92	

LAMPIRAN 2.
TABEL MORTALITAS IKAN SELAMA 14 HARI

PERLAKUAN	ULANGAN	MORTALITAS
K (-)	1	0
	2	0
	3	0
K (+)	1	2
	2	1
	3	1
A	1	1
	2	1
	3	0
B	1	0
	2	0
	3	0
C	1	0
	2	0
	3	0
TOTAL		6

Lampiran 3.

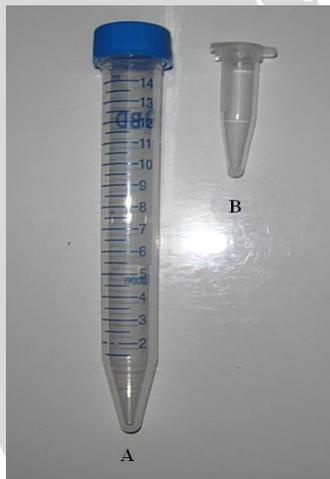
Alat dan Bahan Penelitian



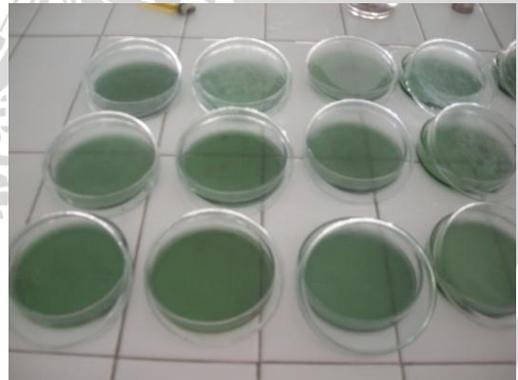
Erlenmeyer



A. Pipet Mikro 1000 μ l
B. Pipet Mikro 200 μ l
C. Pipet Mikro 50 μ l



A. Falcon 15 cc
B. Eppendorf



Cawan Petri

Lanjutan Lampiran 3.



Syringe



Timbangan Analitik



Waterbath shaker



Autoclave

Lanjutan Lampiran 3.



Kultur bakteri *A. salmonicida* pada media TSA



Pewarnaan gram (gram staining)



Bakteri Gram-negatif *A. salmonicida*



Pemeriksaan di mikroskop



Sentrifugasi Bakteri pada Watherbath shaker



Proses Pemanasan Bakteri *A. Salmonicida*

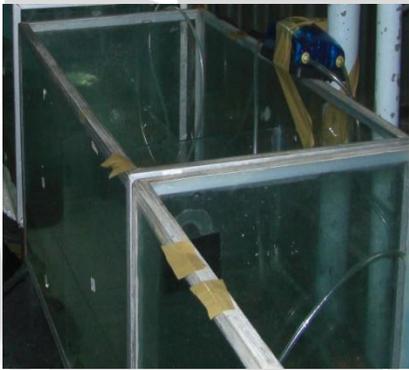
Lanjutan Lampiran 3.



Bakteri yang dihomogenkan
Vaksin
Pada Tabung Falkon
Ependorf



Proses Pengambilan
dari Tabung Falkon ke



Wadah Pemeliharaan



Pencampuran vaksin dengan
Pakan



Pengambilan darah ikan
Ependorf



Darah dimasukkan dalam

Lanjutan Lampiran 3.

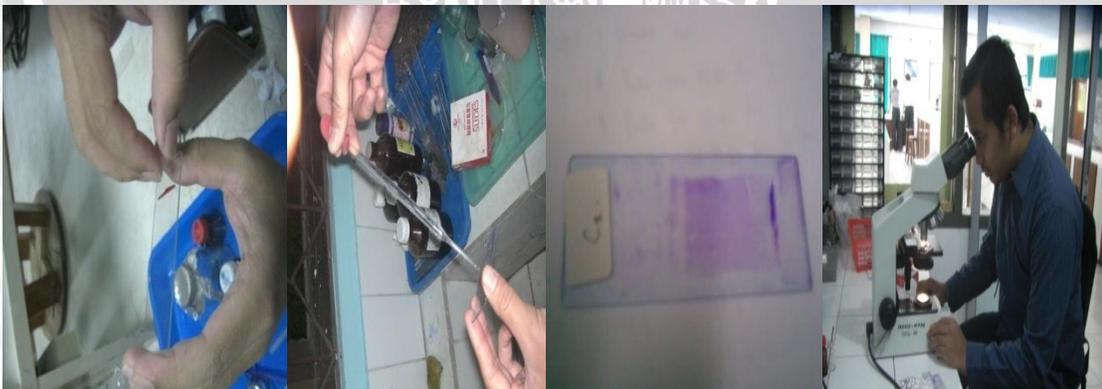
Pengamatan Hematokrit



Pengamatan Eritrosit dan Leukosit



Pengamatan Differensial Leukosit



Lampiran 4. Data hasil penelitian

Tabel data eritrosit

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	1830000	1850000	1830000	1850000	1770000
	2	1870000	1930000	2010000	1950000	1830000
	3	1770000	1820000	1680000	1790000	1870000
	Rata-rata	1823333	1866667	1840000	1863333	1823333
K (+)	1	1820000	1750000	1840000	1820000	1190000
	2	1970000	1910000	1870000	1950000	1150000
	3	1750000	1820000	1680000	1920000	1070000
	Rata-rata	1846667	1826667	1796667	1896667	1136667
A (2 mg)	1	1810000	1790000	1790000	1790000	1210000
	2	1830000	1790000	1830000	1850000	1250000
	3	1870000	1890000	1850000	1810000	1190000
	Rata-rata	1836667	1823333	1823333	1816667	1216667
B (4 mg)	1	1850000	1830000	1790000	1790000	1330000
	2	1890000	1850000	1750000	1790000	1570000
	3	1790000	1810000	1810000	1750000	1490000
	Rata-rata	1843333	1830000	1783333	1776667	1463333
C (6 mg)	1	1850000	1790000	1730000	1750000	1770000
	2	1790000	1710000	1770000	1730000	1670000
	3	1830000	1770000	1750000	1760000	1730000
	Rata-rata	1823333	1756667	1750000	1746667	1723333

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data hematokrit (%)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	26	25	26	28	28
	2	27	26	27	25	27
	3	26	26	27	26	27
	Rata-rata	26.33333	25.66667	26.66667	26.33333	27.33333
K (+)	1	25	27	26	26	15
	2	26	26	27	27	14
	3	27	26	25	27	14
	Rata-rata	26	26.33333	26	26.66667	14.33333
A (2 mg)	1	28	26	25	24	16
	2	26	25	24	26	16
	3	26	25	25	27	18
	Rata-rata	26.66667	25.33333	24.66667	25.66667	16.66667
B (4 mg)	1	26	25	23	24	19
	2	28	26	24	24	21
	3	26	27	27	26	22
	Rata-rata	26.66667	26	24.66667	24.66667	20.66667
C (6 mg)	1	28	26	24	24	23
	2	28	25	26	26	21
	3	26	26	26	23	22
	Rata-rata	27.33333	25.66667	25.33333	24.33333	22

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data leukosit

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	45200	44550	45350	45650	46050
	2	45600	44850	45550	45500	45700
	3	44650	45050	45850	45350	44800
	Rata-rata	45150	44816.67	45583.33	45500	45516.67
K (+)	1	45750	44550	45100	45600	59350
	2	43950	45350	45600	44550	64450
	3	44800	42800	44750	45750	59850
	Rata-rata	44833.33	44233.33	45150	45300	61216.67
A (2 mg)	1	45400	44550	47850	48150	63600
	2	45600	47800	49350	48350	61050
	3	44850	49650	47300	47850	57950
	Rata-rata	45283.33	47333.33	48166.67	48116.67	60866.67
B (4 mg)	1	43650	46700	48850	50600	56050
	2	45700	47800	49050	49900	55350
	3	44450	46850	48350	50150	60100
	Rata-rata	44600	47116.67	48750	50216.67	57166.67
C (6 mg)	1	44250	49300	51600	51600	57550
	2	45750	44800	48800	52350	51350
	3	45050	49450	50650	52950	55450
	Rata-rata	45016.67	47850	50350	52300	54783.33

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data jumlah neutrofil (%)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	6	5	5	6	4
	2	6	6	5	5	3
	3	5	5	6	6	5
	Rata-rata	5.666667	5.333333	5.333333	5.666667	4
K (+)	1	4	5	5	6	7
	2	5	6	6	5	6
	3	5	6	5	6	6
	Rata-rata	4.666667	5.666667	5.333333	5.666667	6.333333
A (2 mg)	1	5	5	4	5	5
	2	6	6	5	6	6
	3	5	5	6	6	7
	Rata-rata	5.333333	5.333333	5	5.666667	6
B (4 mg)	1	4	5	5	6	4
	2	6	6	5	5	6
	3	5	6	4	6	6
	Rata-rata	5	5.666667	4.666667	5.666667	5.333333
C (6 mg)	1	5	6	5	6	3
	2	5	6	6	6	5
	3	3	5	5	5	5
	Rata-rata	4.333333	5.666667	5.333333	5.666667	4.333333

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data jumlah monosit (%)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	11	12	12	11	12
	2	12	12	11	11	12
	3	11	11	10	12	10
	Rata-rata	11.33333	11.66667	11	11.33333	11.33333
K (+)	1	12	11	11	12	13
	2	10	12	11	13	13
	3	11	11	10	13	12
	Rata-rata	11	11.33333	10.66667	12.66667	12.66667
A (2 mg)	1	11	15	12	15	14
	2	10	15	13	15	13
	3	10	16	13	13	12
	Rata-rata	10.33333	15.33333	12.66667	14.33333	13
B (4 mg)	1	12	15	12	14	13
	2	11	17	13	14	13
	3	12	16	12	13	13
	Rata-rata	11.66667	16	12.33333	13.66667	13
C (6 mg)	1	11	15	14	14	14
	2	12	16	15	14	14
	3	11	16	16	16	13
	Rata-rata	11.33333	15.66667	15	14.66667	13.66667

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data jumlah limfosit (%)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	75	76	76	77	78
	2	77	76	78	78	78
	3	76	77	77	77	79
	Rata-rata	76	76.33333	77	77.33333	78.33333
K (+)	1	76	76	75	78	80
	2	77	76	76	78	81
	3	76	77	76	78	81
	Rata-rata	76.33333	76.33333	75.66667	78	80.66667
A (2 mg)	1	76	77	77	78	81
	2	75	78	78	78	80
	3	75	77	78	79	80
	Rata-rata	75.33333	77.33333	77.66667	78.33333	80.33333
B (4 mg)	1	75	75	76	78	81
	2	76	76	75	79	80
	3	75	76	75	79	79
	Rata-rata	75.33333	75.66667	75.33333	78.66667	80
C (6 mg)	1	76	77	76	79	80
	2	75	77	75	78	79
	3	76	78	77	78	80
	Rata-rata	75.66667	77.33333	76	78.33333	79.66667

Lanjutan Lampiran 4

Tabel data jumlah Eusinofil (%)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				Uji Tantang
		0	4	8	12	
K (-)	1	5	5	6	6	6
	2	6	6	6	6	7
	3	6	6	5	5	6
	rata-rata	5.666667	5.666667	5.666667	5.666667	6.333333
K (+)	1	4	3	2	4	0
	2	3	3	4	4	0
	3	3	3	3	3	1
	rata-rata	3.333333	3	3	3.666667	0.333333
A (2 mg)	1	2	2	1	1	0
	2	1	1	1	2	1
	3	1	2	2	1	1
	rata-rata	1.333333	1.666667	1.333333	1.333333	0.666667
B (4 mg)	1	2	1	2	2	2
	2	1	1	1	2	1
	3	2	2	2	2	2
	rata-rata	1.666667	1.333333	1.666667	2	1.666667
C (6 mg)	1	1	2	1	1	3
	2	1	1	2	2	2
	3	2	1	2	1	2
	rata-rata	1.333333	1.333333	1.666667	1.333333	2.333333

Lanjutan Lampiran 4

Tabel 2. Data Kualitas Air

• pH

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				UJI tantang
		0	4	8	12	
K (+)	1	7	7	7	7	7
	2	7	7	7	7	7
	3	7	7	7	7	7
	rata-rata	7	7	7	7	7
K (-)	1	7	7	7	7	7
	2	7	7	7	7	7
	3	7	7	7	7	7
	rata-rata	7	7	7	7	7
A (2 mg)	1	7	7	7	7	7
	2	7	7	7	7	7
	3	7	7	7	7	7
	rata-rata	7	7	7	7	7
B (4 mg)	1	7	7	7	7	7
	2	7	7	7	7	7
	3	7	7	7	7	7
	rata-rata	7	7	7	7	7
C (6 mg)	1	7	7	7	7	7
	2	7	7	7	7	7
	3	7	7	7	7	7
	rata-rata	7	7	7	7	7

Lanjutan Lampiran 4

• DO (*Dissolved Oxygen*)

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				UJI tantang
		0	4	8	12	
K (+)	1	6.23	6.24	6.28	6.36	6.44
	2	6.35	6.33	6.42	6.31	6.36
	3	6.63	6.54	6.49	6.58	6.57
	rata-rata	6.4	6.37	6.4	6.42	6.45667
K (-)	1	6.27	6.23	6.12	6.44	6.35
	2	6.62	6.89	6.25	6.83	6.56
	3	6.86	6.13	6.71	6.68	6.66
	rata-rata	6.58	6.42	19.08	6.65	6.52333
A (2 mg)	1	6.18	6.78	6.83	6.46	6.54
	2	6.29	6.26	6.22	6.38	6.59
	3	6.36	6.42	6.93	6.29	6.36
	rata-rata	6.28	6.49	6.66	6.38	6.49667
B (4 mg)	1	6.77	6.74	6.48	6.45	6.46
	2	6.69	6.59	6.41	6.38	6.56
	3	6.25	6.31	6.59	6.41	6.34
	rata-rata	6.57	6.55	6.49	6.41	6.45333
C (6 mg)	1	6.37	6.86	6.37	6.72	6.67
	2	6.84	6.54	6.58	6.68	6.67
	3	6.29	6.47	6.75	6.43	6.38
	rata-rata	6.5	6.62	6.57	6.61	6.57333

Lanjutan Lampiran 4

• Suhu

Perlakuan	Ulangan	Hari ke-				UJI tantang
		0	4	8	12	
K (+)	1	26.6	26.7	26.6	26.6	26.4
	2	26.6	26.6	26.7	26.6	26.5
	3	26.6	26.6	26.7	26.6	26.5
	rata-rata	26.6	26.6333	26.6667	26.6	26.4667
K (-)	1	26.7	26.6	26.6	26.7	26.6
	2	26.6	26.7	26.7	26.4	26.5
	3	26.7	26.6	26.4	26.6	26.4
	rata-rata	26.6667	26.6333	26.5667	26.5667	26.5
A (2 mg)	1	26.7	26.7	26.8	26.6	26.7
	2	26.8	26.5	26.7	26.7	26.6
	3	26.7	26.7	26.8	26.7	26.8
	rata-rata	26.7333	26.6333	26.7667	26.6667	26.7
B (4 mg)	1	26.7	26.7	26.6	26.7	26.7
	2	26.8	26.7	26.7	26.6	26.7
	3	26.8	26.6	26.8	26.8	26.8
	rata-rata	26.7667	26.6667	26.7	26.7	26.7333
C (6 mg)	1	26.7	26.8	26.7	26.8	26.7
	2	26.8	26.7	26.7	26.7	26.7
	3	26.6	26.7	26.8	26.6	26.6
	rata-rata	26.7	26.7333	26.7333	26.7	26.6667

Lanjutan Lampiran 4

Data Hasil Perhitungan Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Uji Tantang Dengan Bakteri *A. salmonicida*

- Eritrosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	I	II	III		
K (-)	1770000	1830000	1870000	5470000	1823333.333
K (+)	1190000	1150000	1070000	3410000	1136666.667
A (2 mg)	1210000	1250000	1190000	3650000	1216666.667
B (4 mg)	1330000	1570000	1490000	4390000	1463333.333
C (6 mg)	1570000	1670000	1730000	4970000	1656666.667
Total				21890000	

Perhitungan

- $$FK = \frac{G^2}{n}$$

$$= \frac{21890000^2}{15}$$

$$= 3,19448 \times 10^{13}$$
- $$JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$$

$$= [(1770000)^2 + \dots + (1730000)^2] - 3,19448 \times 10^{13}$$

$$= 1.06069 \times 10^{12}$$
- $$JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2 / 3 - FK$$

$$= 1.00336 \times 10^{12}$$
- $$JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$$

$$= 1.06069 \times 10^{12} - 1.00336 \times 10^{12}$$

$$= 57.333.333.333$$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	1.00336 x 10 ¹²	2.5084 x 10 ¹¹	43.75116279**	3.48	5.99
Galat	10	57333333333	5733333333			
Total	14	1.06069 x 10 ¹²				

- Karena F hitung > F 1% atau 43.75116279 > 5.99 → ** atau berbeda sangat nyata (highly significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Lanjutan Lampiran 4

Perhitungan uji BNT :

- **SED** = $\sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 = $\sqrt{\frac{2 \times 5733333333}{3}}$
 = 61824.1233
- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
 = 2.228 x 57348.83511
 = 137744.1467
- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
 = 3.169 x 57348.83511
 = 195920.6467

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata – rata Perlakuan		K (+)	A	B	C	K (-)	Nota
		1136666.667	1216666.667	1463333.333	1656666.667	1823333.333	
K (+)	1136667	0					a
A	1216667	80000	0				a
B	1463333	326666.6667	246666.6667	0			b
C	1656667	520000	440000	193333.3333	0		b
K (-)	1823333	686666.6667	606666.6667	360000	166666.6667	0	c
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B → A = K(+)							

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	5470000	-2	2	-1	1
K (+)	3410000	-1	-1	2	-4
A (2 mg)	3650000	0	-2	0	6
B (4 mg)	4390000	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	4970000	2	2	1	1
Q=∑Ci.Ti		-20000	5780000	-2460000	1140000
Kr = (∑Ci ²).r		30	42	30	210
JK= Q ² : Kr		13333333.33	7.95438 x 10 ¹¹	2.0172 x 10 ¹¹	6188571429
JK Total		1.00336 x 10 ¹²			

Lanjutan Lampiran 4

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5 %	F1 %
Perlakuan	4	1.00336 x 10 ¹²				
Linier	1	13333333.33	13333333.33	0.00232558 1	4.96	10
Kuadratik	1	7.95438 x 10 ¹¹	7.95438 x 10 ¹¹	138.739202 7		
Kubik	1	2.0172 x 10 ¹¹	2.0172 x 10 ¹¹	35.1837209 3		
Kuartik	1	6188571429	6188571429	1.07940199 3		
Acak	10	5733333333 3	5733333333			
Total	14					

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ regresi kuadratik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.932768229$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ regresi kubik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.775335479$$

Ternyata R² Kuadratik (0.932768229) > R² Kubik (0.775335479) → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j=12$
Uj	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j=0$
Uj²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2=10$
Uj⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4=34$
Y.ij	5470000	3410000	3650000	4390000	4970000	21890000
Uj.Y.ij						-20000
Uj².Y.ij						49560000

$$\sum U_j \cdot y_{ij} = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$-20000 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = -20000$$

$$b'_1 = -666,667$$

$$\sum Y_{ij} = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$21890000 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 21890000 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y_{ij} = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$49560000 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 49560000 \dots 2$$

Lanjutan Lampiran 4

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 21890000 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 218900000$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 49560000 \quad 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 49560000$$

$$\hline 198 \cdot b'_2 = 169.340.000$$

$$b'_2 = 855.252,525$$

$$b'_0 = -2543867575$$

$$b_1 = -666,667$$

$$b'_2 = 855.252,525$$

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 21890000$$

$$\leftrightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot 855.252,525 = 21890000$$

$$15 \cdot b'_0 = 21890000 - 25657575,75$$

$$b'_0 = -251171,716$$

$$Y = b'_0 + b'_1 \cdot x + b'_2 \cdot x^2 \Leftrightarrow y = -251171,716 + -666,667x + 855.252,525x^2$$

Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = -251171,716$

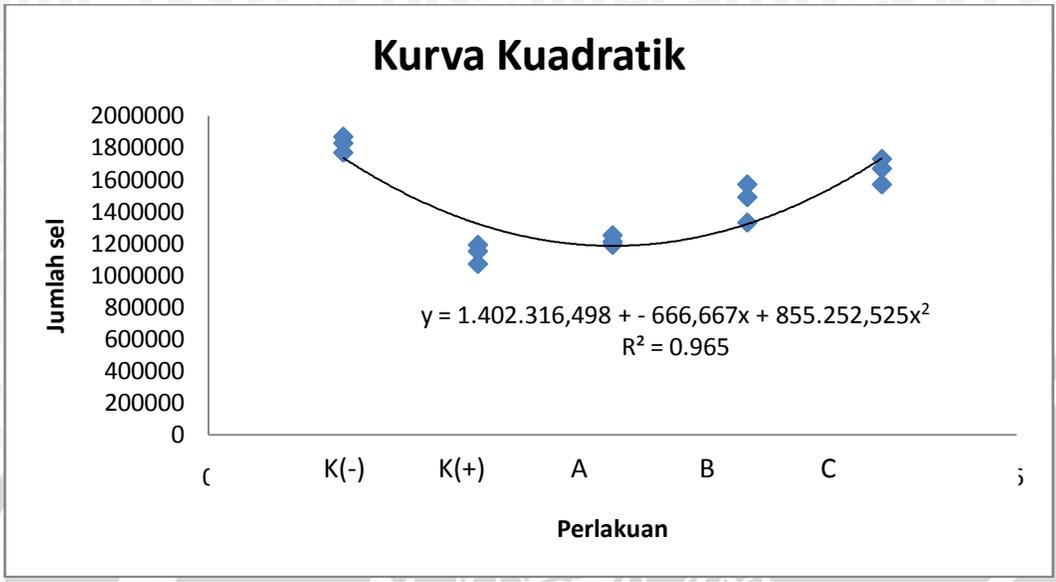
K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = -251171,716$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 316.7171,716$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 13.430.202,016$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 30.788.835.728,282$

Lanjutan Lampiran 4



• Hematokrit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
K (-)	28	27	27	82	27.3333
K (+)	15	14	14	43	14.3333
A (2 mg)	16	16	18	50	16.6667
B (4 mg)	19	21	22	62	20.6667
C (6 mg)	23	21	22	66	22
Total				303	

Perhitungan

• $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{303^2}{15}$
 $= 6120.6$

• $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(28)^2 + \dots + (22)^2] - 6120.6$
 $= 314.4$

Lanjutan Lampiran 4

- $JK_{\text{perlakuan}} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2 / 3 - FK$
 $= 303.7333$
- $JK_{\text{acak}} = JK_{\text{total}} - JK_{\text{perlakuan}}$
 $= 314.4 - 303.7333$
 $= 10.66667$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	303.7333	75.93333	71.1875**	3.48	5.99
Galat	10	10.66667	1.066667			
Total	14	314.4				

- Karena F hitung > F 1% atau $71.1875 > 5.99 \rightarrow **$ atau berbeda sangat nyata (highly significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan uji BNT :

- $SED = \sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 $= \sqrt{\frac{2 \times 1.066667}{3}}$
 $= 0.843274$
- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
 $= 2.228 \times 0.843274$
 $= 1.878815$
- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
 $= 3.169 \times 0.843274$
 $= 2.672335$

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata – rata Perlakuan		K (+)	A	B	C	K (-)	Notasi
K (+)	14.33333	0			22	27.33333	
A	16.66667	2.333333	0				b
B	20.66667	6.333333	4	0			c
C	22	7.666667	5.333333	1.333333	0		c
K (-)	27.33333	13	10.66667	6.666667	5.333333	0	d
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B → A → K(+)							

Lanjutan Lampiran 4

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	82	-2	2	-1	1
K (+)	43	-1	-1	2	-4
A (2 mg)	50	0	-2	0	6
B (4 mg)	62	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	66	2	2	1	1
Q = $\sum Ci.Ti$		-13	91	-54	28
Kr = $(\sum Ci^2).r$		30	42	30	210
JK = Q ² : Kr		5.633333	197.1667	97.2	3.733333
JK Total		303.7333			

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	303.7333				
Linier	1	5.633333	5.633333	5.28125*	4.96	10
Kuadratik	1	197.1667	197.1667	184.8437**		
Kubik	1	97.2	97.2	91.125**		
Kuartik	1	3.733333	3.733333	3.5 ^{ns}		
Acak	10	10.66667	1.066667			
Total	14					

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ regresi kuadratik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.948677$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ regresi kubik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.901112$$

Ternyata R^2 Kuadratik (0.948677) > R^2 Kubik (0.901112) → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j = 12$
Uj	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
Uj ²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
Uj ⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4 = 34$
Y.ij	82	43	50	62	66	303
Uj.Y.ij						-13
Uj ² .Y.ij						697

Lanjutan Lampiran 4

$$\sum U_j \cdot y \cdot ij = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$-13 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = -13$$

$$b'_1 = -0,43$$

$$\sum Y \cdot ij = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$303 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 303 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y \cdot ij = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$697 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 697 \dots 2$$

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 303 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 3030$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 697 \quad \underline{150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 697}$$

$$\underline{198 \cdot b'_2 = 2.333}$$

$$b'_2 = 11,782$$

$$b'_0 = -3,256$$

$$b_1 = -0,43$$

$$b'_2 = 11,782$$

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 303$$

$$\leftrightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot 11,782 = 303$$

$$15 \cdot b'_0 = 303 - 351,84$$

$$b'_0 = -3,256$$

$$Y = b'_0 + b'_1 \cdot x + b'_2 \cdot x^2 \Leftrightarrow y = -3,256 + -0,43x + 11,782x^2$$

Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = -3,256$

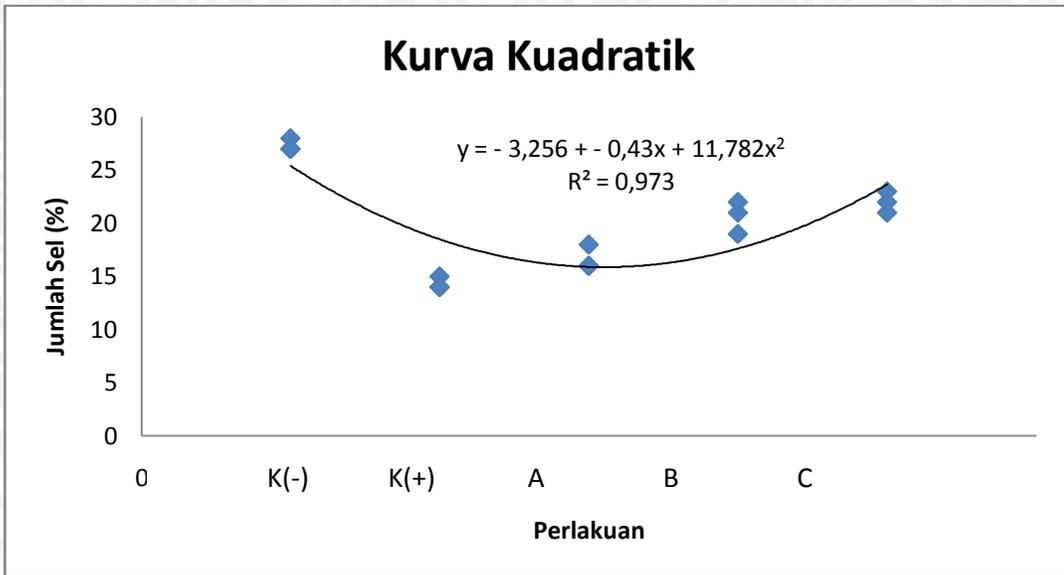
Lanjutan Lampiran 4

K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = -3,256$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 43,012$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 183,536$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 418,316$



• **Leukosit**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
K (-)	46050	45700	44800	136550	45516.7
K (+)	59350	64450	59850	183650	61216.7
A (2 mg)	63600	61050	57950	182600	60866.7
B (4 mg)	56050	55350	60100	171500	57166.7
C (6 mg)	57550	51350	55450	164350	54783.3
Total				838650	

Perhitungan

• $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{838650^2}{15}$
 $= 46888921500$

Lanjutan Lampiran 4

• $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(46050)^2 + \dots + (55450)^2] - 46888921500$
 $= 556486000$

• $JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2 / 3 - FK$
 $= 490797666.7$

• $JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 46888921500 - 490797666.7$
 $= 65688333.33$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	d b	JK	KT	Fhit	F5%	F1 %
Perlakuan	4	490797666.7	122699416.7	18.67902722*	3.48	5.99
Galat	10	65688333.3	6568833.33			
Total	14	556486000				

- Karena F hitung > F 1% atau $18.67902722 > 5.99 \rightarrow **$ atau berbeda sangat nyata (highly significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan uji BNT :

- **SED** = $\sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 $= \sqrt{\frac{2 \times 6568833.333}{3}}$
 $= 2092.659127$
- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
 $= 2.228 \times 2092.659127$
 $= 4662.444535$
- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
 $= 3.169 \times 2092.659127$
 $= 6631.636774$

Lanjutan Lampiran 4

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata – rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Nota
		45516.66667	54783.33333	57166.66667	60866.66667	61216.67	
K (-)	45516.67	0					a
C	54783.33	9266.666667	0				b
B	57166.67	11650	2383.333333	0			b
A	60866.67	15350	6083.333333	3700	0		bc
K (+)	61216.67	15700	6433.333333	4050	350	0	bc
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B → A = K(+)							

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Linier	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	136550	-2	2	-1	1
K (+)	183650	-1	-1	2	-4
A (2 mg)	182600	0	-2	0	6
B (4 mg)	171500	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	164350	2	2	1	1
Q=∑Ci.Ti		43450	-118550	52100	-24100
Kr = (∑Ci ²).r		30	42	30	210
JK= Q ² : Kr		62930083.3	334621488.	90480333.3	276576
		3	1	3	2
JK Total		490797666.	7		

Lanjutan Lampiran 3

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	490797666.7				
Linier	1	62930083.33	62930083.33	9.580100474*	4.96	10
Kuadratik	1	334621488.1	334621488.1	50.94077915**		
Kubik	1	90480333.33	90480333.33	13.77418618**		
Kuartik	1	2765761.905	2765761.905	0.421043093 ^{ns}		
Acak	10	65688333.33	6568833.333			
Total	14					

Lanjutan Lampiran 4

$$R^2 \text{ Kuadrat} = \frac{JK \text{ regresi kuadrat}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.835906266$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ regresi kubik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.579375718$$

Ternyata R^2 Kuadrat (0.835906266) > R^2 Kubik (0.579375718) → regresi kuadrat sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j=12$
Uj	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j=0$
Uj ²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2=10$
Uj ⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4=34$
Y.ij	136550	183650	182600	171500	164350	838650
Uj.Y.ij						43450
Uj ² .Y.ij						1558750

$$\sum U_j \cdot y_{ij} = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$43450 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = 43450$$

$$b'_1 = 1,44$$

$$\sum Y_{ij} = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$838650 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 838650 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y_{ij} = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$1558750 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 1558750 \dots 2$$

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 838650 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 8386500$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 1558750 \quad 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 1558750$$

$$\hline 198 \cdot b'_2 = 6827,750$$

$$b'_2 = 34,48$$

Lanjutan Lampiran 4

$$b'_0 = 55841,04$$

$$b_1 = 1,44$$

$$b'_2 = 34,48$$

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 838650$$

$$\leftrightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot 34,48 = 838650$$

$$15 \cdot b'_0 = 838650 - 1034,4$$

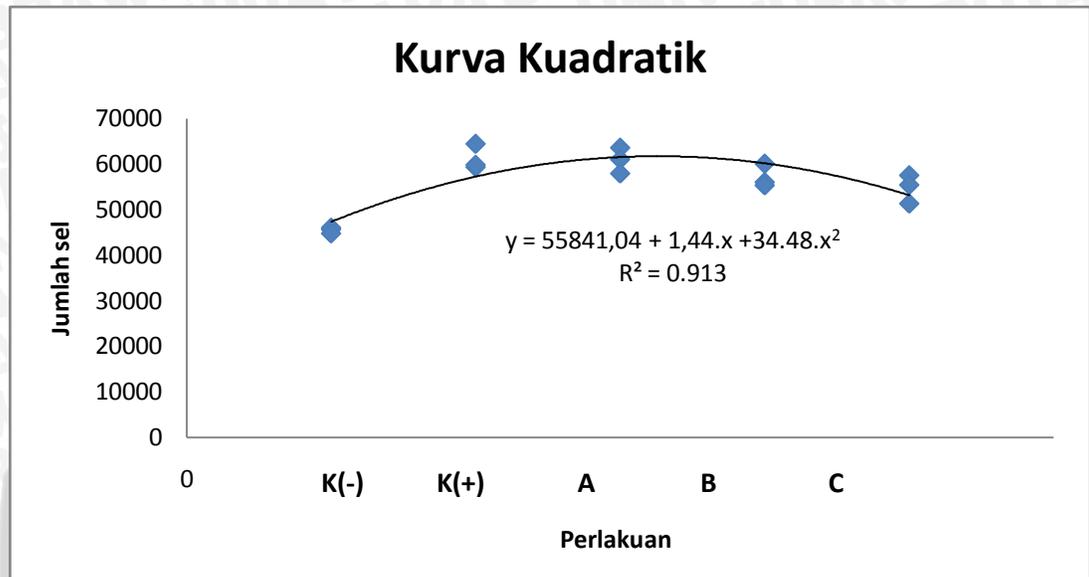
$$b'_0 = 55841,04$$

$$Y = b'_0 + b'_1 \cdot x + b'_2 \cdot x^2 \Leftrightarrow y = 55841,04 + 1,44x + 34,48x^2$$

Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = 55841,04$

K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = 55841,04$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 55981,84$
B nilai $x = 4 \rightarrow y = 56398,48$
C nilai $x = 6 \rightarrow y = 57090,96$



Lanjutan Lampiran 4

- Neutrofil

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
K (-)	4	3	4	11	3.66667
K (+)	7	6	6	19	6.33333
A (2 mg)	5	6	7	18	6
B (4 mg)	4	6	6	16	5.33333
C (6 mg)	3	5	5	13	4.33333
Total				77	

Perhitungan

- $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{77^2}{15}$
 $= 395.2667$
- $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(4)^2 + \dots + (5)^2] - 395.2667$
 $= 23.73333$
- $JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2/3 - FK$
 $= 15.06667$
- $JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 23.73333 - 15.06667$
 $= 8.66667$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	15.06667	3.766667	4.346154*	3.48	5.99
Galat	10	8.666667	0.866667			
Total	14	23.73333				

- Karena F hitung > F 1% atau 4.346154 > 5.99 → * atau berbeda nyata (significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Lanjutan Lampiran 4

Perhitungan uji BNT :

- **SED** = $\sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 = $\sqrt{\frac{2 \times 0.866667}{3}}$
 = 0.760117

- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
 = 2.228 x 0.760117
 = 1.693541

- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
 = 3.169 x 0.760117
 = 2.408811

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Notasi
		3.666667	4.333333	5.333333	6	6.333333	
K (-)	3.666667	0					a
C	4.333333	0.666667	0				a
B	5.333333	1.666667	1	0			a
A	6	2.333333	1.666667	0.666667	0		ab
K (+)	6.333333	2.666667	2	1	0.333333	0	ab
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) = C = B → A = K(+)							

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	11	-2	2	-1	1
K (+)	19	-1	-1	2	-4
A (2 mg)	18	0	-2	0	6
B (4 mg)	16	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	13	2	2	1	1
Q = ∑ Ci.Ti		1	-23	8	-8
Kr = (∑ Ci ²).r		30	42	30	210
JK = Q ² : Kr		0.033333	12.59524	2.133333	0.304762
JK Total		15.06667			

Lanjutan Lampiran 4

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	15.06667				
Linier	1	0.033333	0.033333	0.038462 ^{ns}	4.96	10
Kuadratik	1	12.59524	12.59524	14.53297 ^{**}		
Kubik	1	2.133333	2.133333	2.461538 ^{ns}		
Kuartik	1	0.304762	0.304762	0.351648 ^{ns}		
Acak	10	8.666667	0.866667			
Total	14					

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ regresi kuadratik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.592385$$

Ternyata R^2 Kuadratik (0.592385) → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j=12$
Uj	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j=0$
Uj ²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2=10$
Uj ⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4=34$
Y.ij	11	19	18	16	13	77
Uj.Y.ij						1
Uj ² .Y.ij						131

$$\sum U_j \cdot y_{ij} = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$1 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = 1$$

$$b'_1 = 0.033$$

$$\sum Y_{ij} = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$77 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 77 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y_{ij} = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$131 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 131 \dots 2$$

Lanjutan Lampiran 4

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 77 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 770$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 131 \quad 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 131$$

$$\hline 198 \cdot b'_2 = 639$$

$$b'_2 = 3.2$$

$$b'_0 = -1.26$$

$$b_1 = 0.033$$

$$b_2 = 3.2$$

$$15. b'_0 + 30. b'_2 = 77$$

$$\leftrightarrow 15. b'_0 + 30. 3,2 = 77$$

$$15. b'_0 = 77 - 96$$

$$b'_0 = - 1.26$$

$$Y = b'_0 + b'_1 \cdot x + b'_2 \cdot x^2 \Leftrightarrow y = -1,26 + 0,033x + 3,2x^2$$

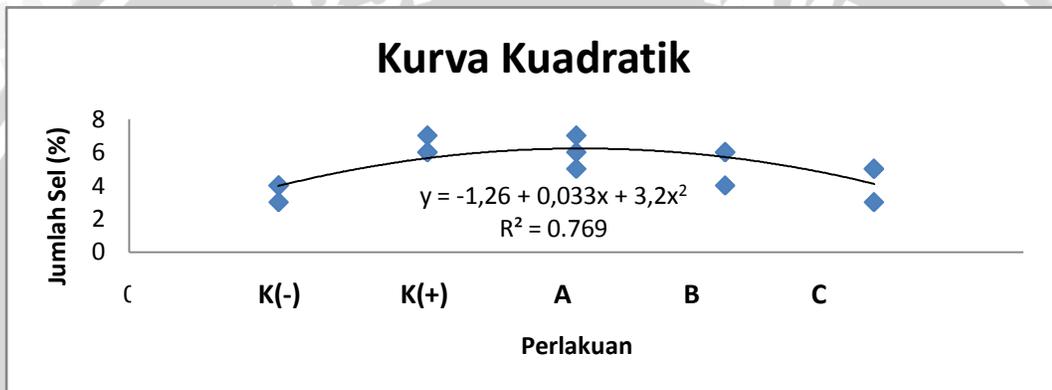
Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = - 1.26$

K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = - 1.26$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 12.2$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 50.072$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 114,138$



Lanjutan Lampiran 4

- Monosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
K (-)	12	12	10	34	11.3333
K (+)	13	13	12	38	12.6667
A (2 mg)	14	13	12	39	13
B (4 mg)	13	13	13	39	13
C (6 mg)	14	14	13	41	13.6667
Total				191	

Perhitungan

- $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{191^2}{15}$
 $= 2432.067$
- $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(12)^2 + \dots + (13)^2] - 2432.067$
 $= 14.93333$
- $JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2/3 - FK$
 $= 8.933333$
- $JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 14.93333 - 8.933333$
 $= 6$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	8.933333	2.233333	3.722222*	3.48	5.99
Galat	10	6	0.6			
Total	14	14.93333				

- Karena F hitung > F 1% atau $3.722222 > 5.99 \rightarrow *$ atau berbeda nyata (significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Lanjutan Lampiran 4
Perhitungan uji BNT :

- **SED** = $\sqrt{\frac{2KT \text{ acak}}{\mu}}$
= $\sqrt{\frac{2 \times 0.6}{3}}$
= 0.632456
- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
= 2.228 x 0.632456
= 1.409111
- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
= 3.169 x 0.632456
= 2.004252

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	K (+)	A	B	C	Notasi
		11.333333	12.66667	13	13	13.66667	
K (-)	11.333333	0					a
K (+)	12.66667	1.333333	0				a
A	13	1.666667	0.333333	0			ab
B	13	1.666667	0.333333	0	0		ab
C	13.66667	2.333333	1	0.666667	0.666667	0	ab
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) = K (+) → A = B = C							

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	34	-2	2	-1	1
K (+)	38	-1	-1	2	-4
A (2)	39	0	-2	0	6
B (4)	39	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	41	2	2	1	1
Q=∑Ci.Ti		15	-5	5	1
Kr = (∑Ci ²).r		30	42	30	210
JK= Q ² : Kr		7.5	0.595238	0.833333	0.004762
JK Total		8.933333			

Lanjutan Lampiran 4
Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	8.933333				
Linier	1	7.5	7.5	12.5**	4.96	10
Kuadratik	1	0.595238	0.595238	0.992063		
Kubik	1	0.833333	0.833333	1.388889		
Kuartik	1	0.004762	0.004762	0.007937		
Acak	10	6	0.6			
Total	14					

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ regresi Linier}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.555556$$

Ternyata R^2 Linier (0.555556) → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j = 12$
U _j	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j = 0$
U _j ²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2 = 10$
U _j ⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4 = 34$
Y _{.ij}	34	38	39	39	41	191
U _j .Y _{.ij}						15
U _j ² .Y _{.ij}						377

$$\sum U_j \cdot y_{.ij} = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$15 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = 15$$

$$b'_1 = 0.5$$

$$\sum Y_{.ij} = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$191 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 191 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y_{.ij} = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$377 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 377 \dots 2$$

Lanjutan Lampiran 4

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 191 \quad \rightarrow \quad 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 1910$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 377 \quad \quad 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 377$$

$$\hline 198 \cdot b'_2 = 1533$$

$$b'_2 = 7.74$$

$$b'_0 = -2.74$$

$$b_1 = 0.5$$

$$b'_2 = 7,74$$

$$15. b'_0 + 30. b'_2 = 191$$

$$\leftrightarrow 15. b'_0 + 30. 7,74 = 191$$

$$15. b'_0 = 191 - 232,2$$

$$b'_0 = - 2,74$$

$$Y = b'_0 + b'_1. x + b'_2. x^2 \Leftrightarrow y = -2,74 + 0,5x + 7,74x^2$$

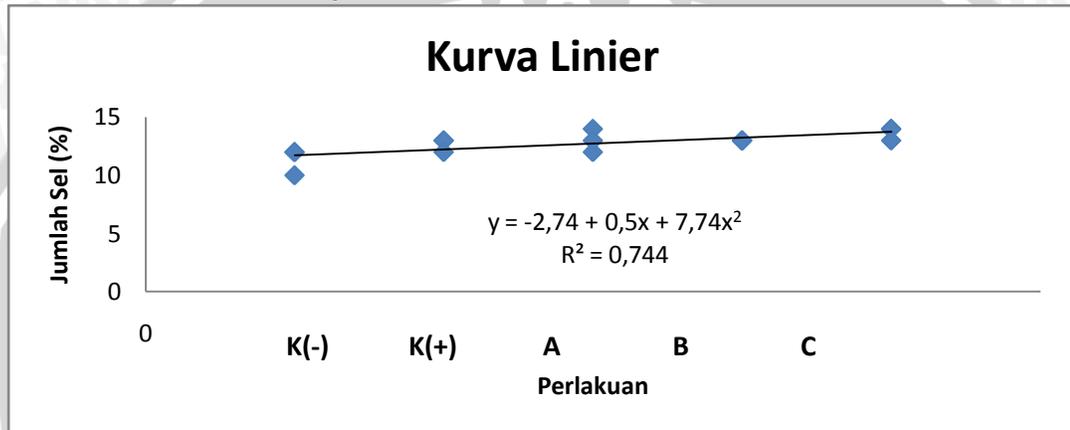
Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = - 2,74$

K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = - 2,74$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 29,22$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 123,1$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 278,9$



Lanjutan Lampiran 4

- Limfosit

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	I	II	III		
K (-)	78	78	79	235	78.3333
K (+)	80	81	81	242	80.6667
A (2 mg)	81	80	80	241	80.3333
B (4 mg)	81	80	79	240	80
C (6 mg)	80	79	80	239	79.6667
Total				1197	

Perhitungan

- $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{1197^2}{15}$
 $= 95520.6$
- $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(78)^2 + \dots + (80)^2] - 95520.6$
 $= 14.4$
- $JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2/3 - FK$
 $= 9.733333$
- $JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 14.4 - 9.733333$
 $= 4.666667$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	9.733333	2.433333	5.214286*	3.48	5.99
Galat	10	4.666667	0.466667			
Total	14	14.4				

- Karena F hitung > F 1% atau 5.214286 > 5.99 → * atau berbeda nyata (significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Lanjutan Lampiran 4

Perhitungan uji BNT :

- SED = $\sqrt{\frac{2 \text{ KT acak}}{\mu}}$
 $= \sqrt{\frac{2 \times 0.466667}{3}}$
 $= 0.557773$
- BNT 5% = T tabel 5 % x SED
 $= 2.228 \times 0.557773$
 $= 1.242719$
- BNT 1% = T tabel 1 % x SED
 $= 3.169 \times 0.557773$
 $= 1.767584$

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	C	B	A	K (+)	Notasi
		78.333333	79.66667	80	80.333333	80.66667	
K (-)	78.333333	0					a
C	79.66667	1.333333	0				b
B	80	1.666667	0.333333	0			b
A	80.333333	2	0.666667	0.333333	0		b
K (+)	80.66667	2.333333	1	0.666667	0.333333	0	b
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(-) → C = B = A = K(+)							

Tabel Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	235	-2	2	-1	1
K (+)	242	-1	-1	2	-4
A (2 mg)	241	0	-2	0	6
B (4 mg)	240	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	239	2	2	1	1
Q=∑Ci.Ti		6	-16	8	-8
Kr = (∑Ci ²).r		30	42	30	210
JK= Q2 : Kr		1.2	6.095238	2.133333	0.304762
JK Total		9.733333			

Lanjutan Lampiran 4

Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	9.733333				
Linier	1	1.2	1.2	2.571429 ^{ns}	4.96	10
Kuadratik	1	6.095238	6.095238	13.06122**		
Kubik	1	2.133333	2.133333	4.571429 ^{ns}		
Kuartik	1	0.304762	0.304762	0.653061 ^{ns}		
Acak	10	4.666667	0.466667			
Total	14					

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ regresi kuadratik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.566372$$

Ternyata R^2 Kuadratik (0.566372) → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	$\sum x_j=12$
Uj	-2	-1	0	1	2	$\sum u_j=0$
Uj ²	4	1	0	1	4	$\sum u_j^2=10$
Uj ⁴	16	1	0	1	16	$\sum U_j^4=34$
Y.ij	235	242	241	240	239	1197
Uj.Y.ij						6
Uj ² .Y.ij						2378

$$\begin{aligned} \sum U_j \cdot y_{ij} &= b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2 \\ 6 &= b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = 6 \\ b'_1 &= 0.2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sum Y_{ij} &= b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2 \\ 1197 &= b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 1197 \dots 1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \sum u_j^2 \cdot y_{ij} &= b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4 \\ 2378 &= b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 2378 \dots 2 \end{aligned}$$

Lanjutan Lampiran 4

Substitusi

$$\begin{array}{rcl}
 15. b'_0 + 30. b'_2 = 1197 & \rightarrow & 150. b'_0 + 300. b'_2 = 11970 \\
 150. b'_0 + 102. b'_2 = 2378 & & 150. b'_0 + 102. b'_2 = 2378 \\
 \hline
 & & 198. b'_2 = 9592 \\
 & & b'_2 = 48,4
 \end{array}$$

$$b'_0 = -17$$

$$b_1 = 0.2$$

$$b'_2 = 48,4$$

$$15. b'_0 + 30. b'_2 = 1197$$

$$\leftrightarrow 15. b'_0 + 30. 48,4 = 1197$$

$$15. b'_0 = 1197 - 1452$$

$$b'_0 = -17$$

$$Y = b'_0 + b'_1. x + b'_2. x^2 \Leftrightarrow y = -17 + 0,2x + 48,4x^2$$

Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = -17$

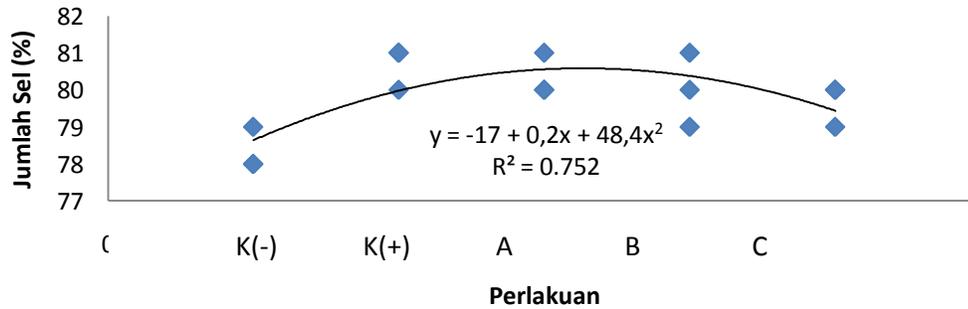
K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = -17$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 177$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 758,2$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 1726,6$

Kurva Kuadratik



Lanjutan Lampiran 4

- Eusinofil

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	I	II	III		
K (-)	6	7	6	19	6.33333
K (+)	0	0	1	1	0.33333
A (2 mg)	0	1	1	2	0.66667
B (4 mg)	2	1	2	5	1.66667
C (6 mg)	3	2	2	7	2.33333
Total				34	

Perhitungan

- $FK = \frac{G^2}{n}$
 $= \frac{34^2}{15}$
 $= 77,06$
- $JK_{total} = [(K(-)1)^2 + \dots + (C3)^2] - FK$
 $= [(6)^2 + \dots + (2)^2] - 77,06$
 $= 72,93$
- $JK_{perlakuan} = (\Sigma K(-))^2 + \dots + (\Sigma C)^2/3 - FK$
 $= 69,6$
- $JK_{acak} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$
 $= 72,93 - 69,6$
 $= 3,33$

Tabel Sidik Ragam

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	69.6	17.4	52.2**	3.48	5.99
Galat	10	3.333333	0.333333			
Total	14	72.93333				

- Karena F hitung > F 1% atau 52,2 > 5.99 → ** atau berbeda sangat nyata (highly significant). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan maka dilanjutkan dengan uji BNT.

Perhitungan uji BNT :

- $SED = \sqrt{\frac{2 KT_{acak}}{\mu}}$

Lanjutan Lampiran 4

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,33}{3}}$$

$$= 0,471$$

- **BNT 5%** = T tabel 5 % x SED
= 2.228 x 0,471
= 1,05
- **BNT 1%** = T tabel 1 % x SED
= 3.169 x 0,471
= 1,49

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) daya hambat vaksin bakterin terhadap infeksi bakteri *Aeromonas salmonicida*

Rata-rata Perlakuan		K (-)	A	B	C	K (+)	Notasi
		A	7	7	3	3	
K (-)	0.33333 3	0					a
A	0.66666 7	0.33333 3	0				a
B	1.66666 7	1.33333 3	1	0			a
C	2.33333 3		1.66666 7	0.66666 7	0		ab
K (+)	6.33333 3		5.66666 7	4.66666 7	4	0	c
Kesimpulan : Urutan Perlakuan Terbaik yaitu K(+) → C → B = A = K(-)							

Lanjutan Lampiran 4
Tabel polynomial

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)			
		Liner	Kuadratik	Kubik	Kuartik
K (-)	19	-2	2	-1	1
K (+)	1	-1	-1	2	-4
A (2)	2	0	-2	0	6
B (4)	5	1	-1	-2	-4
C (6 mg)	7	2	2	1	1
Q=∑Ci.Ti		-20	42	-20	14
Kr = (∑Ci ²).r		30	42	30	210
JK= Q ² : Kr		13.33333	42	13.33333	0.933333
JK Total		69.6			

Sidik ragam regresi

Sidik Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F5%	F1%
Perlakuan	4	69.6				
linier	1	13.33333	13.33333	23.26204**	4.96	10
kuadratik	1	42	42	73.27541**		
kubik	1	13.33333	13.33333	23.26204**		
kuartik	1	0.933333	0.933333	1.628342**		
acak	10	5.7318	0.57318			
total	14					

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ regresi kuadratik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.879$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ regresi kubik}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.69$$

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ regresi linier}}{JK \text{ total terkoreksi}} = 0.69$$

Ternyata R² Kuadratik (0.879) > R² Kubik (0.69) dan R² Linier → regresi kuadratik sesuai untuk kurva response

	0	0	2	4	6	∑xj=12
Uj	-2	-1	0	1	2	∑uj=0
Uj ²	4	1	0	1	4	∑uj ² =10
Uj ⁴	16	1	0	1	16	∑Uj ⁴ =34
Y.ij	19	1	2	5	7	34
Uj.Y.ij						-20
Uj ² .Y.ij						110

$$\sum U_j \cdot y_{ij} = b'_1 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$-20 = b'_1 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 30 \cdot b'_1 = -20$$

$$b'_1 = -0,667$$

$$\sum Y_{ij} = b'_0 \cdot n + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^2$$

$$34 = b'_0 \cdot 15 + b'_2 \cdot 3 \cdot 10 \rightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 34 \dots 1$$

$$\sum u_j^2 \cdot y_{ij} = b'_0 \cdot n \cdot \sum U_j^2 + b'_2 \cdot r \cdot \sum U_j^4$$

$$110 = b'_0 \cdot 15 \cdot 10 + b'_2 \cdot 3 \cdot 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 110 \dots 2$$

Substitusi

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 34 \rightarrow 150 \cdot b'_0 + 300 \cdot b'_2 = 340$$

$$150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 110 \quad 150 \cdot b'_0 + 102 \cdot b'_2 = 110$$

$$\hline 198 \cdot b'_2 = 230$$

$$b'_2 = 1,161$$

$$b'_0 = -0,055$$

$$b'_1 = -0,667$$

$$b'_2 = 1,161$$

$$15 \cdot b'_0 + 30 \cdot b'_2 = 34$$

$$\leftrightarrow 15 \cdot b'_0 + 30 \cdot 1,161 = 34$$

$$15 \cdot b'_0 = 34 - 34,83$$

$$b'_0 = -0,055$$

$$Y = b'_0 + b'_1 \cdot x + b'_2 \cdot x^2 \Leftrightarrow y = -0,055 + -0,667x + 1,161x^2$$

Untuk \leftrightarrow K (-) nilai $x = 0 \rightarrow y = -0,055$

K (+) nilai $x = 0 \rightarrow y = -0,055$

A nilai $x = 2 \rightarrow y = 3,245$

B nilai $x = 4 \rightarrow y = 15,853$

C nilai $x = 6 \rightarrow y = 37,739$

