

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG DAN AKTIVITAS FAGOSITOSIS IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN BUDIDAYA PERIKANAN**

Oleh :
KUKUH HIDAYATULLOH
105080500111025



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG DAN AKTIVITAS FAGOSITOSIS IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

**SKRIPSI
BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN BUDIDAYA PERIKANAN**

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

Oleh :
KUKUH HIDAYATULLOH
105080500111025



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2014**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR KEMANGI (*Ocimum sanctum* L.)
TERHADAP JUMLAH SEL MAKROFAG DAN AKTIVITAS FAGOSITOSIS IKAN
MAS (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh:

**KUKUH HIDAYATULLOH
NIM. 105080500111025**

DOSEN PENGUJI I

**Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP. 19630924 199803 2 002
TANGGAL:**

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

**Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS
NIP. 19550213 198403 1 001
TANGGAL:**

DOSEN PEMBIMBING II

**Qurrota A'yunin, S. Pi, MP, M. Sc
NIK. 86062808120317
TANGGAL:**

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

**Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001
TANGGAL :**

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Juni 2014

Mahasiswa

KUKUH HIDAYATULLOH

UCAPAN TERIMA KASIH

Atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa mengiringi dan memberi petunjuk-Nya dalam setiap langkah, serta Nabi besar Muhammad SAW yang menjadi suri tauladan bagi umatnya.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen pembimbing I, terima kasih karena telah meluangkan waktu dan memberikan saran serta bimbingan dari awal penelitian hingga terselesainya laporan skripsi ini.
3. Ibu Qurrota A'yunin, S. Pi, MP, M. Sc selaku dosen pembimbing II, terima kasih karena senantiasa dengan sabar dalam membimbing, mengarahkan serta memberikan motivasi dan juga semangat.
4. Ibu Titin Yuniastutik, A. Md selaku laboran Labolatorium Parasit dan Penyakit Ikan, yang senantiasa membantu dari penelitian pendahuluan hingga penelitian inti.
5. Almarhum Moch. Syafi'i dan Kumil Laila selaku kedua orang tua dan Bagus Tangkas Wirawan, SST selaku kakak, terima kasih atas doa, bimbingan, kekuatan serta dukungan dari awal hingga akhir terselesainya laporan skripsi ini.
6. Kurrotul Desfirea Widya Kusuma selaku seseorang yang selalu memberikan pengertian, semangat dan motivasi dari awal kegiatan penelitian hingga tersusunnya laporan skripsi ini.

RINGKASAN

KUKUH HIDAYATULLOH. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Aktivitas Fagositosis Ikan Mas (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* (di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS dan Qurrota A'yunin S.Pi, MP, M.Sc).

Potensi ikan mas (*C. carpio*) sebagai ikan budidaya air tawar cukup besar dan memiliki beberapa kelebihan bila dibandingkan dengan jenis ikan konsumsi air tawar lainnya. Produksi ikan mas pada tahun 2010 mencapai 374.112 ton. Jumlah ini melampaui target awal sebanyak 267.100 ton. Jumlah produksi ini diharapkan semakin meningkat dari tahun ke tahun. Akan tetapi, sistem budidaya perikanan air tawar yang hingga kini telah mencapai tahap intensifikasi tidak terlepas dari resiko biologis, yaitu munculnya penyakit terutama penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian benih sampai 90%. Salah satu alternatif pencegahan dari efek penyakit yang menyerang ikan yaitu dengan pengobatan. Kemangi dapat dijadikan salah satu alternatif pengobatan alami untuk mengatasi penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada ikan mas.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan ekstrak kemangi terhadap jumlah makrofag dan aktivitas fagositosis ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan mengetahui berapakah dosis ekstrak kemangi yang tepat yang dapat menurunkan jumlah sel makrofag dan aktivitas fagositosis pada ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada Januari – April 2014.

Metode yang digunakan yaitu metode eksperimen dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah perendaman ikan mas menggunakan ekstrak kemangi sebagai pengobatan dengan dosis A (50 ppm), B (150 ppm), C (250 ppm) dan D (350 ppm). Parameter utama yang diamati yaitu jumlah sel makrofag (sel/ml) dan persentase aktivitas fagositosis (%) serta parameter penunjang yaitu gejala klinis ikan mas dan kualitas air meliputi : suhu, oksigen terlarut (DO) dan derajat keasaman (pH). Pemberian ekstrak kemangi memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah sel makrofag dan persentase aktivitas fagositosis. Ekstrak kemangi dapat menurunkan jumlah sel makrofag dan persentase aktivitas fagositosis yang merupakan komponen penting dalam proses penyembuhan ikan.

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan D (350 ppm) merupakan dosis yang berbeda nyata untuk menurunkan jumlah sel makrofag dan persentase aktivitas fagositosis dalam penelitian ini yakni pada jumlah sel makrofag sebesar $24,31 \times 10^5$ sel/ml dan 44 % pada persentase aktivitas fagositosis. Nilai kisaran kualitas air sebagai media pemeliharaan selama penelitian berada pada kisaran toleransi ikan mas, yaitu : suhu 24 – 26,8 °C, pH 6,32 – 8,45 dan DO 5,02 – 7,52 mg/l.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi mengenai Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Aktivitas Fagositosis Ikan Mas (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*. Skripsi merupakan salah satu syarat yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana (S-1) pada Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Dalam skripsi ini secara umum isinya adalah mengenai pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap jumlah sel makrofag dan aktivitas fagositosis ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Tujuan dari pemberian konsentrasi yang berbeda adalah untuk mengetahui konsentrasi yang maksimal yang dapat membunuh patogenitas dari bakteri *A. hydrophila*.

Malang, Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
RINGKASAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR ISTILAH.....	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran.....	6
2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan.....	7
2.2 Daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i> L.).....	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	8
2.2.2 Bahan Aktif <i>O. sanctum</i> L.....	9
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan.....	10
2.3.3 Patogenitas Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.3.4 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11

2.4 Aktivitas Fagositosis	12
3. METODOLOGI	14
3.1 Materi Penelitian	14
3.1.1 Alat Penelitian	14
3.1.2 Bahan Penelitian	15
3.2 Media Penelitian	15
3.3 Metode Penelitian	15
3.4 Pengambilan Data	16
3.5 Rancangan Penelitian	16
3.6 Prosedur Penelitian	18
3.6.1 Persiapan Penelitian	18
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian	19
3.7 Parameter Uji	20
3.7.1 Parameter Utama	20
3.7.2 Parameter Penunjang	22
3.8 Analisis Data	22
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Jumlah Sel Makrofag	24
4.2 Aktivitas Fagositosis	28
4.3 Patologi Klinis Ikan Mas	32
4.4 Kualitas Air	34
4.4.1 Suhu	34
4.4.2 Derajat Keasaman (pH)	35
4.4.3 Oksigen Terlarut (DO)	35
5. KESIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Kesimpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	6
2. Daun Kemangi (<i>O. sanctum</i> L.).....	8
3. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	10
4. Denah Penelitian	17
5. Pengamatan Sel Makrofag dengan Perbesaran 1000x.....	25
6. Grafik Regresi Jumlah Sel Makrofag Ikan Mas	27
7. Pengamatan Aktivitas Fagositosis dengan Perbesaran 1000x.....	29
8. Grafik Regresi Presentase Aktivitas Fagositosis Ikan Mas.....	32
9. Gejala Klinis Ikan	34



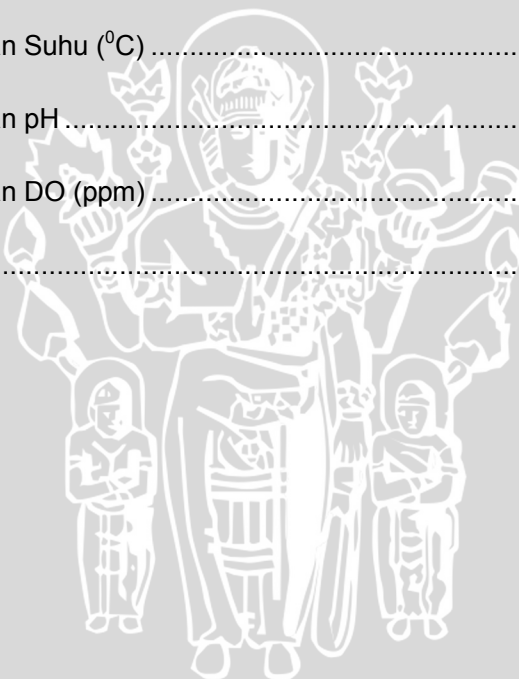
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Perlakuan	17
2. Jumlah Sel Makrofag ($\times 10^5$ sel/ml)	24
3. Analisis Sidik Ragam Jumlah Sel Makrofag (10^5 sel/ml)	26
4. Uji BNT Jumlah Sel Makrofag (10^5 sel/ml)	26
5. Jumlah Presentase Aktivitas Fagositosis (%)	28
6. Analisis Sidik Ragam Aktivitas Fagositosis	30
7. Uji BNT Presentase Aktivitas Fagositosis	31



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat-alat Penelitian.....	41
2. Bahan-bahan Penelitian	43
3. Gambaran Sel Makrofag Selama Penelitian	44
4. Gambaran Aktivitas Fagositosis Selama Penelitian	45
5. Perhitungan Jumlah Sel Makrofag.....	46
6. Perhitungan Presentase Aktivitas Fagositosis	47
7. Data Pengukuran Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	48
8. Data Pengukuran pH	50
9. Data Pengukuran DO (ppm).....	52
10. Foto Kegiatan	54



DAFTAR ISTILAH (GLOSARIUM)

- *A. hydrophila* : Bakteri gram negatif yang bersifat motil, dimana pergerakannya menggunakan flagel dan termasuk bakteri fakultatif anaerobik.
- Fagositosis : Poses penyerapan dan eliminasi mikroba atau partikel lain oleh sel- fagosit yang berasal dari sel darah putih yang terdapat di dalam aliran darah.
- Fakultatif Anaerobik : Mikroorganisme yang tidak memerlukan oksigen untuk hidup akan tetapi masih dapat hidup dengan baik.
- Flagel : Alat gerak yang dimiliki bakteri sehingga dapat berpindah tempat
- Flavonoid : Antibakteri yang dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel.
- Gram Negatif : Bakteri yang tidak mempertahankan zat warna kristal violet sewaktu proses pewarnaan gram.
- Haemorrhagic septicaemia : Bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah.
- Invertebrata Air : Kelompok hewan air yang tidak memiliki tulang belakang
- Limfosit : Sejenis sel darah putih pada sistem kekebalan tubuh ikan.
- Lisosom : Organel sel berupa kantong terikat membran yang berisi enzim hidrolitik yang berguna untuk mengontrol pencernaan intraseluler.
- Makrofag : Sel fagosit yang berperan penting dalam pertahanan tubuh.
- *O. sanctum* L : Tanaman kemangi memiliki kandungan antibakteri berupa flavonoid.
- Poliferasi : Pertumbuhan untuk menghasilkan jaringan baru dan bagian sel.
- Sitoplasma : Bagian sel berupa koloid yang melarutkan berbagai macam hara (nutrien) dan tempat berlangsungnya banyak reaksi kimia untuk membentuk energi dan menyimpan energi.

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan meningkatnya jumlah dan populasi penduduk Indonesia, menyebabkan peningkatan jumlah kebutuhan, termasuk kebutuhan pangan. Kebutuhan bahan pangan sumber protein hewani seperti ikan juga ikut meningkat. Ikan merupakan salah satu sumber protein hewani yang dapat dijangkau oleh seluruh lapisan masyarakat. Salah satu usaha perikanan yang dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani tersebut adalah budidaya ikan, baik budidaya ikan air tawar maupun laut. Salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan secara intensif baik pembenihan maupun pembesarannya, di pekarangan atau pun di tambak adalah ikan mas (*C. carpio*) (Santoso, 1993).

Pembangunan perikanan yang diarahkan kepada pembinaan petani dan nelayan tidak semata-mata bertujuan untuk meningkatkan pendapatan petani-nelayan dan keluarganya yang pada akhirnya tercapai tingkat kesejahteraan hidup yang lebih baik. Salah satu usaha di bidang perikanan adalah pembesaran ikan mas. Usaha ini berkembang sangat pesat sejalan dengan meningkatnya permintaan ikan konsumsi oleh masyarakat. Namun, penyediaan benih untuk usaha tersebut masih menghadapi berbagai kendala. Permintaan benih ikan mas hingga kini masih belum dapat dipenuhi oleh produsen benih ikan karena produksinya relatif terbatas, khususnya di Sulawesi Utara. Potensi produksi petani sebenarnya sangat besar, namun karena adanya berbagai kendala baik teknologi maupun alam, potensi tersebut belum dapat dicapai (Mantau dan Sudarty, 2011).

Ikan mas (*C. carpio*) yang berkembang di Indonesia berasal dari beberapa negara Eropa Tengah sampai Timur, China dan Jepang. Ikan mas diintroduksi pada pertengahan abad ke-18. Sejak saat itu budidaya ikan mas mulai berkembang dan menyebar hampir di seluruh kawasan Indonesia dan terbagi ke dalam banyak galur (Ariyanto dan Subagyo, 2004).

Usaha untuk memenuhi kebutuhan tersebut, pemeliharaan dan budidaya ikan merupakan salah satu alternatif yang potensial untuk dilakukan. Masalah terbesar yang sering dianggap menjadi penghambat budidaya ikan adalah munculnya serangan penyakit. Penyakit yang menyerang ikan mas antara lain disebabkan oleh virus, bakteri, jamur, protozoa, dan metazoa. Bakteri menduduki tempat kedua setelah virus berdasarkan keganasannya sebagai penyebab kematian pada ikan (Zonneveld, 1991). Bakteri yang biasa menyerang ikan air tawar adalah *A. hydrophila* yang sampai saat ini masih menjadi ancaman dalam usaha budidaya ikan air tawar.

Bakteri *A. hydrophila* banyak menyerang ikan mas yang dibudidayakan dengan kepadatan tinggi. Jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini adalah Haemorrhagic Septicaemia. Akibat dari penyakit ini pada ikan mas adalah warna tubuh ikan berubah menjadi agak gelap, terjadi luka dan berdarah, perut membesar (busung), dalam waktu yang tidak lama ikan yang terserang menjadi lemah dan sering nampak pada permukaan kolam dan akhirnya ikan tersebut mati (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

1.2 Rumusan Masalah

A. hydrophila sebelum melakukan infeksi, terlebih dahulu melakukan penempelan menggunakan flagel ke dalam *host cell*. Faktor virulen dalam mikroba beradaptasi dalam sel *host/inang* dan memantapkan keberadaannya. Umumnya *A. hydrophila* menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh ikan disertai

dengan pendarahan pada organ dalam. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 90 % (Shome dan Shome, 1999).

Usaha untuk memberantas penyakit yang disebabkan *A. hydrophila* ini dapat digunakan berbagai macam zat kimia tertentu. Namun penggunaan zat kimia seperti obat-obatan mempunyai efek samping dan beberapa kelemahan yaitu dalam jangka waktu lama bakteri akan menjadi resisten terhadap zat kimia yang diberikan dan menimbulkan pencemaran lingkungan (Kordi, 2004).

Daun kemangi (*O. sanctum* L.) mengandung minyak esensial yang bersifat antibakteri. Selain minyak esensial, daun kemangi juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri. Flavonoid dapat menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi sel (Yuhana, Kusdarwati dan Meles, 2011).

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemanfaatan ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap jumlah makrofag dan aktivitas fagositosis ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

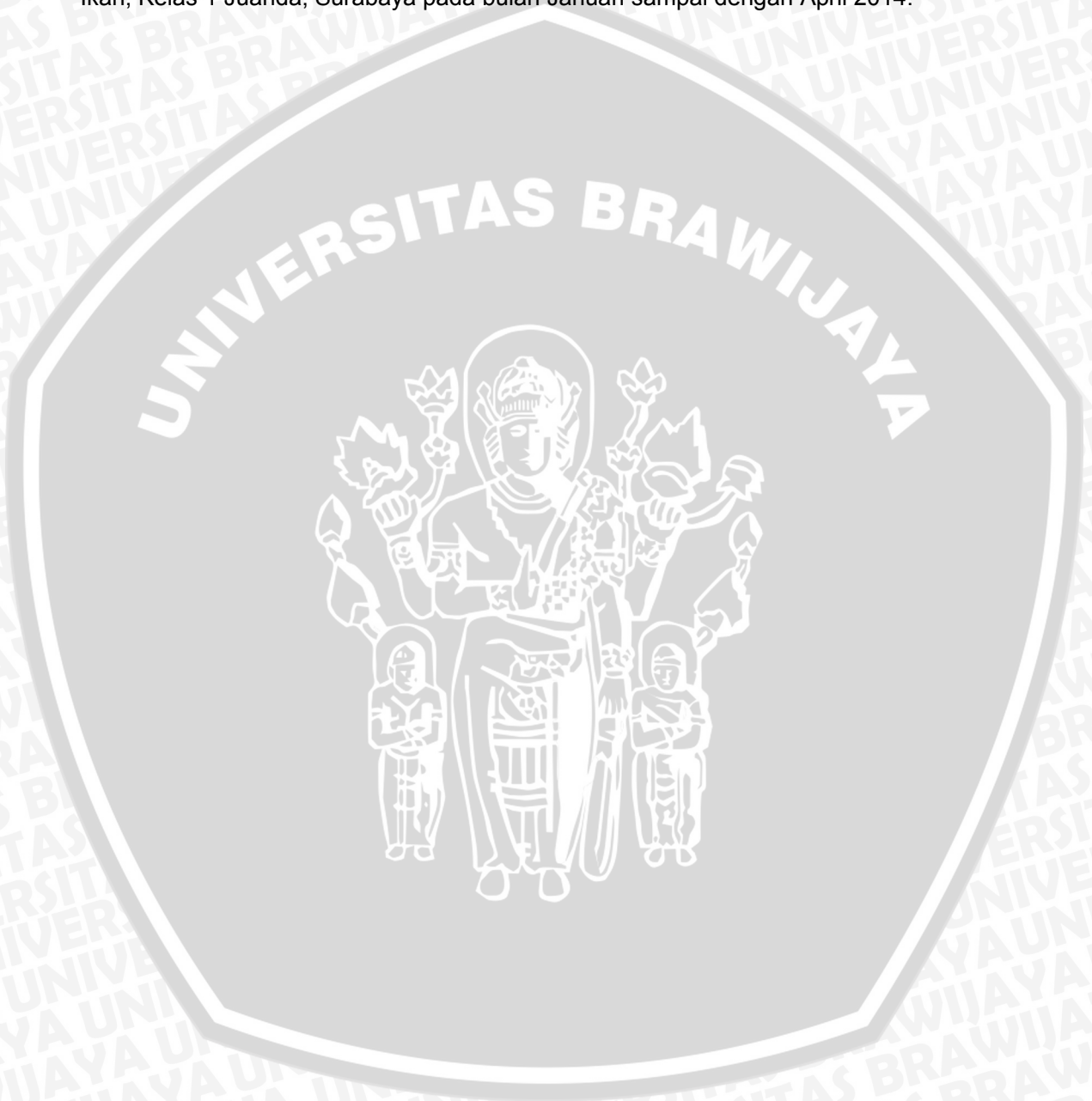
1.4 Hipotesis

H_0 : Pemberian ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.) yang berbeda diduga tidak mempengaruhi jumlah dari sel makrofag dan aktivitas fagositosis pada ikan mas (*C. carpio*).

H_1 : Pemberian ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.) yang berbeda diduga dapat mempengaruhi jumlah dari sel makrofag dan aktivitas fagositosis pada ikan mas (*C. carpio*).

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Labolatorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang dan Balai Karantina Ikan, Kelas 1 Juanda, Surabaya pada bulan Januari sampai dengan April 2014.



2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Mas (*C. carpio*) Strain Majalaya

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi ikan mas (*C. carpio*) menurut Effendy (1993) adalah sebagai berikut :

Phylum	: Chordata
Class	: Osteichthyes
Ordo	: Ostariophysi
Sub Ordo	: Cyprinoidae
Family	: Cyprinidae
Sub Family	: Cyprininae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: <i>C. carpio</i>

Ikan mas berasal dari daratan Cina dan Rusia. Ikan mas mempunyai bentuk badan agak memanjang pipih ke samping (*compressed*). Mulut (bibir) berada di ujung tengah (*terminal*), dapat disembulkan dan bersifat lunak (*elastic*). Memiliki kumis (*barbel*) 2 pasang (empat buah), kadang-kadang mempunyai sungut satu pasang (*rudimentir*). Untuk membedakan ikan mas koki (*C. auratus*) dari jenis ikan hias/pajangan dengan ikan mas adalah adanya kumis ini. Ikan mas memiliki jari-jari sirip punggung (*dorsal*) yang keduanya dapat mengeras seperti gergaji. Sedangkan letak antara kedua sirip, punggung dan perut berseberangan. Sirip dada (*pectoral*) terletak di belakang tutup insang (*operculum*) (Santoso, 1993).

Ikan mas saat ini telah banyak dikenali masyarakat di Indonesia. Badan ikan mas berbentuk memanjang dan sedikit pipih ke samping (*compressed*).

Mulutnya terletak di ujung tengah (terminal) dan dapat disembunyikan. Di bagian mulut ini dihiasi dua pasang sungut. Didalam mulut terdapat gigi kerongkongan yang terdiri dari tiga baris berbentuk geraham (Andrianto, 2005). Berikut merupakan gambar ikan mas seperti yang disajikan pada gambar 1.



Gambar 1. Ikan Mas. (Dokumentasi Penelitian)

Sirip punggung ikan mas berbentuk memanjang yang terletak pada bagian permukaanya, sama dengan permukaan sirip perut. Di belakang sirip punggung ini berjari keras, dan di bagian akhir bergerigi seperti juga sirip punggung. Di bagian sirip dubur ikan mas ini juga berjari keras dan bagian yang terakhir bergerigi, sedangkan sisik ikan mas ini berukuran cukup besar dengan tipe sisik lingkaran (cycloid) dan terletak beraturan (Susanto, 2000).

2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran

Menurut Khairuman, Sudenda dan Gunadi (1962), menyatakan bahwa ikan mas menyukai tempat hidup di perairan tawar yang airnya deras dan tidak terlalu deras. Ikan mas hidup baik di daerah dengan ketinggian 150-600 meter di atas permukaan laut (dpl) pada suhu 25-30⁰ C. Meskipun tergolong ikan air tawar, ikan mas terkadang ditemukan di perairan payau atau muara sungai yang bersalinitas (kadar garam) 25-30 ppm.

Menurut Cahyono (2000), ikan mas banyak dijumpai di sungai-sungai, danau-danau dan genangan-genangan air. Ikan mas mudah beradaptasi dengan fluktuasi lingkungan yang relatif tinggi, misalnya perubahan suhu sampai 5⁰ C dan penurunan O₂ sampai 2 mg/liter.

Ikan mas di Indonesia mulai dipelihara sekitar tahun 1920. Ikan mas jenis Punten dan Majalaya merupakan hasil seleksi beberapa jenis ikan mas. Ikan ini tidak memiliki naluri untuk merawat dan melindungi keturunannya serta dapat tumbuh dengan baik pada tempat dengan ketinggian antara 150-1000 meter diatas permukaan laut (Mantau dan Sudarty, 2011).

2.1.3 Makanan dan Kebiasaan Makan

Ikan mas tergolong jenis omnivora, yakni ikan yang dapat memangsa berbagai jenis makanan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik, misalnya invertebrata air, udang-udangan renik, larva dan serangga air, kerang-kerangan dan tanaman air. Sumber protein, vitamin, lemak, dan mineral sebagai sumber energi metabolisme tubuh dan pertumbuhan diperoleh dari makanan renik berupa plankton, yaitu plankton nabati (*phitoplankton*) dan plankton hewani (*zooplankton*). Hewan-hewan kecil tersebut disedot bersama lumpurnya, diambil yang dapat dimanfaatkan dan sisanya dikeluarkan melalui mulut (Cahyono, 2000).

Ikan mas sering mencari sumber makanan (jasad-jasad renik) di sekeliling pematang, oleh sebab itu pematang sering rusak dan longsor karenanya. Ikan mas juga suka mengaduk-aduk dasar kolam untuk mencari makanan yang bias dimanfaatkan seperti larva insecta, cacing-cacingan dan sebagainya (Santoso,1993).

2.2 Daun Kemangi (*O. sanctum* L)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Oktara (2011), klasifikasi daun kemangi adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales
Famili	: Lamiaceae
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>O. sanctum</i> L.

Tanaman kemangi mempunyai tinggi 60–70 cm, batang halus dengan daun pada setiap ruas, daun berwarna hijau muda berbentuk oval dengan panjang 3–4 cm, berambut halus di permukaan bagian bawah, bunganya berwarna putih, dan bila dibiarkan berbunga pertumbuhan daun lebih sedikit dan tanaman cenderung cepat menua dan mati. Berikut merupakan gambar daun kemangi seperti yang disajikan pada gambar 2.



Gambar 2. Daun Kemangi. (Dokumentasi Penelitian)

2.2.2 Bahan Aktif *O. sanctum* L.

Kandungan utama *O. sanctum* L. yang bersifat antioksidatif salah satunya adalah flavonoid. Menurut Robinson (1995), flavonoid terdapat pada seluruh tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. Flavonoid merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional. Flavonoid dapat bertindak sebagai antimikroba dan antivirus serta sebagai penampung yang baik bagi radikal hidroksi dan superoksida, sehingga dapat melindungi membran lipid terhadap reaksi yang merusaknya. Flavonoid dapat merugikan yaitu bersifat mutagen dan jenis isoflavon dapat merangsang pembentukan estrogen pada mamalia.

Antimikroba adalah suatu zat yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membrane sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel (Pelczar dan Chan, 1986).

2.3 Bakteri *A. hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *A. hydrophila* menurut Holt (1979) adalah sebagai berikut :

Divisio	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>A. hydrophila</i>

Secara morfologis bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 μm dan lebar 15,7-15,8 μm , termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan flagel, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri fakultatif anaerobik dan merupakan bakteri penyebab penyakit *Haemorrhagic septicaemia* yaitu bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37° C (Kabata, 1985). Berikut merupakan gambar bakteri *A. hydrophila* seperti yang disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *A. hydrophila*. (Dokumentasi Penelitian). Perbesaran 1000x

2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

A. hydrophila mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar. Keberadaan *Aeromonas* disuatu perairan erat hubungannya dengan jumlah bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin. Penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila* ini lebih banyak menyerang ikan di daerah tropis dan daerah sub tropis dibandingkan dengan daerah dingin. Karena daerah tropis dan daerah sub tropis kandungan bahan organiknya lebih tinggi dibandingkan dengan daerah dingin (Prajitno, 2007).

Bakteri *A. hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen (Kabata, 1985) dan akan tumbuh

tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-30°C, pH 5,5–9. Perkembangbiakannya secara aseksual dengan memanjangkan sel diikuti pembelahan satu sel menjadi dua sel selama lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1993).

A. hydrophila sering muncul pada musim kemarau, karena pada musim ini kandungan bahan organik perairan tinggi. Kandungan O₂ yang rendah, suhu tinggi, dan akumulasi bahan organik atau sisa metabolisme ikan serta pola padat penebaran dengan kepadatan tinggi akan berkorelasi positif terhadap perkembangbiakannya (Christian, Volk, Creason, Jarosh, Robinson dan Warnes, 2001).

2.3.3 Patogenitas Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* pada umumnya hidup pada media air tawar yang mengandung bahan organik tinggi. Bakteri ini diakui sebagai pathogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Di daerah tropik dan sub tropik Haemorrhagic Septicaemia yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* pada umumnya muncul pada musim panas (kemarau) dimana pada saat itu kandungan bahan organiknya tinggi. Bakteri *A. hydrophila* banyak ditemukan pada insang, kulit, hati dan ginjal. Ada juga yang berpendapat bakteri ini dapat hidup pada saluran pencernaan (Kabata, 1985).

2.3.4 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

A. hydrophila umumnya menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian hingga 90%. Infeksi bakteri ini bersifat sekunder yaitu bakteri akan masuk dalam tubuh ikan jika ada kerusakan jaringan yang disebabkan oleh kerusakan fisik atau karena serangan virus atau mikroorganisme lainnya (Prajitno, 2007).

Infeksi bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan akan menyebar pada organ dalam lainnya. Infeksi bakteri gram negatif ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Organ yang dapat diserang antara lain insang, ginjal, pankreas, spleen bahkan otot tulang. Simptom penyakit ini bervariasi mengingat kondisi ini dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain virulensi dari bakteri, resistensi ikan terhadap infeksi, hadir atau tidaknya septicemia dan bacteremia serta faktor yang diasosiasikan dengan stres pada ikan (Kabata, 1985).

2.4 Aktivitas Fagositosis

Makrofag merupakan sel fagosit yang berperan penting dalam pertahanan tubuh. Fungsi utama makrofag dalam imunitas non-spesifik adalah memfagosit partikel asing seperti mikroorganisme, makromolekul (antigen) dan sel atau jaringan itu sendiri yang mengalami kerusakan. Hal ini dimungkinkan karena makrofag mempunyai sejumlah lisosom sitoplasma yang mengandung enzim hidrolase dan peroksidase yang merupakan enzim perusak (Rasyid, Yanwirasti dan Nasrul, 2008).

Makrofag juga berperan pada reaksi imunologis tubuh, dengan menelan, memproses, dan menyimpan antigen dan menyampaikan informasi kepada sel-sel berdekatan secara imunologis (limfosit dan sel plasma). Makrofag mempunyai reseptor yang mengikat antibodi dan mampu menghancurkan antigen terhadap antibodi tersebut. Selama proses infeksi limfosit T yang terangsang, menghasilkan sejumlah limfokin yang menarik makrofag ketempat yang membutuhkannya dan terus mengaktifkannya. Makrofag berukuran 10 – 30

mm, bentuk tidak teratur, dan inti berbentuk lonjong. Makrofag merupakan sel yang dapat bertahan berbulan-bulan dalam jaringan (Efendi, 2003).

Fagositosis adalah proses penyerapan dan eliminasi mikroba atau partikel lain oleh sel-sel khusus yang disebut fagosit. Fagosit adalah sel-sel yang berasal dari sel darah putih yang terdapat di dalam aliran darah. Di dalam proses penghancuran bakteri atau kuman, fagosit dapat keluar dari dinding pembuluh darah menuju bakteri atau virus berada (Brown, 2000 *dalam* Amrullah, 2004).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

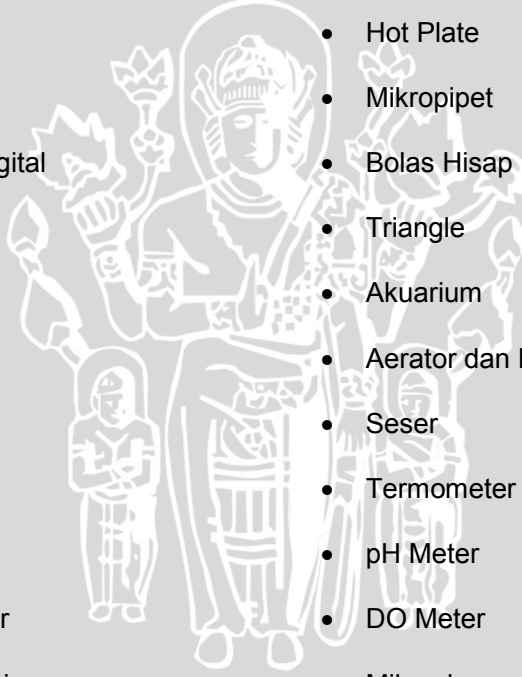


3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Kemangi (*O. sanctum L.*) terhadap Jumlah Sel Makrofag dan Aktivitas Fagositosis Ikan Mas (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* antara lain :

- 
- Nampan
 - Gunting
 - Blender
 - Timbangan Digital
 - Beaker Glass
 - Gelas Ukur
 - Cawan Petri
 - Corong
 - Autoclave
 - Bunsen
 - Magnetic Stirer
 - Tabung Reaksi
 - Jarum Ose
 - Spatula
 - Apendorf
 - Rotary Evaporator
 - Sentrifuge
 - Pipet Volume
 - Hot Plate
 - Mikropipet
 - Bolas Hisap
 - Triangle
 - Akuarium
 - Aerator dan Batu Aerasi
 - Sesar
 - Termometer
 - pH Meter
 - DO Meter
 - Mikroskop
 - Obyek Glass
 - Cover Glass
 - Spuit
 - Hand Tally Counter
 - Oven

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Ikan Mas
- Tanaman Kemangi
- *A. hydrophila*
- Spirtus
- Alkohol
- Etanol 70%
- Akuades
- Kertas Label
- Kertas Koran
- Kertas Saring
- Tissue
- Kapas
- Alumunium Foil
- Benang
- TSA (*Trypton Soya Agar*)
- Triptan Biru
- RPMI FBS 2%
- Larutan Giemsa

3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah air tawar pada Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat pipa menuju akuarium berukuran 40x40x40 cm sebanyak 11 buah dengan volume 15 liter dan diberi aerasi sebagai penyuply oksigen.

3.3 Metode Penelitian

Metode eksperimen menurut Nazir (1988), penelitian eksperimental adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Tujuan penelitian eksperimental adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab-akibat dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimental, satu atau lebih kondisi perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kelompok kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan.

3.4 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung, yaitu penyelidik mengadakan pengamatan terhadap gejala-gejala subjek yang diselidiki baik secara langsung dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan atau alat yang sudah ada maupun yang sengaja dibuat untuk keperluan khusus (Surachmad, 1998).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam sehingga kondisi lingkungan tempat penelitian dalam keadaan sama (Sastrosupadi, 2002).

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (*mean*)

τ = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum L.*) dengan dosis 50 ppm, 150 ppm, 250 ppm dan 350 ppm. Sedangkan untuk kontrol pembanding digunakan 2 kontrol yaitu kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi dan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol positif dan negatif hanya sebagai pembanding tanpa ulangan. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel

sebanyak 12 sampel. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel 1 sebagai berikut:

Tabel 1. Rancangan Perlakuan

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₃
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₃
K (+)	K (+) ₁	K (+) ₂	K (+) ₃
K (-)	K (-) ₁	K (-) ₂	K (-) ₃

Keterangan:

A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 50 ppm ekstrak kasar kemangi

B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 150 ppm ekstrak kasar kemangi

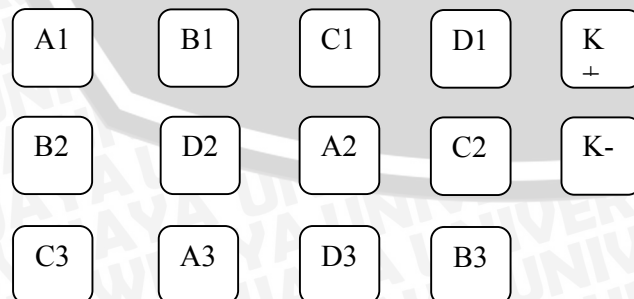
C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 250 ppm ekstrak kasar kemangi

D : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 350 ppm ekstrak kasar kemangi

K(+): Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

K(-): Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

Untuk denah penelitian disajikan pada gambar 4 berikut :



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

A-B-C-D : perlakuan

K(-) : kontrol negatif

K(+) : kontrol positif

1,2,3 : ulangan

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian yang akan dilakukan meliputi pembuatan ekstrak kemangi (*O. sanctum L*), pembiakan bakteri *A. hydrophila*, persiapan alat dan persiapan hewan uji.

a. Pembuatan ekstrak *O. sanctum L*

- Disiapkan bahan dalam keadaan kering
- Dibersihkan dan dipisahkan dari kotoran-kotoran yang menempel
- Dipotong kecil-kecil dan diblender hingga halus
- Ditimbang sebanyak 1000 gram
- Dimasukkan ke dalam plastik dan diberi kertas label
- Dimasukkan bahan ke dalam toples dengan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 10 liter (perbandingan 1:10)
- Dimaserasi selama 3x24 jam
- Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring
- Diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator*

b. Pembiakan bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang digunakan untuk menginfeksi ikan mas yaitu dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Hasil awal spektrofotometri menunjukkan nilai $2,736 \times 10^9$ sel/ml, sehingga untuk mendapatkan kepadatan bakteri yang di

inginkan harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

N_1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N_2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

c. Persiapan Alat

- Pencucian akuarium
- Persiapan alat-alat pendukung (aerasi, termometer, seser dan lain-lain)
- Pengisian air pada akuarium (ukuran akuarium 40x40x40 cm)

d. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu ikan mas (*C. carpio*) strain Majalaya sebanyak 140 ekor dengan ukuran panjang 7-10 cm. Berikut langkah-langkah dalam persiapan hewan uji :

- Masing-masing akuarium diisi air dengan sebanyak 15 liter
- Sebelum ikan mas dimasukkan dalam akuarium terlebih dahulu dipasang aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut
- Masing-masing akuarium diberi 10 ekor ikan mas

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Perlakuan Awal Hewan Uji

Ikan mas (*C. carpio*) di adaptasikan (aklimatisasi) selama 1 minggu. Media (air) sebelum digunakan telah di treatment terlebih dahulu dengan pemberian 2 ml chlorin dalam masing-masing akuarium sebagai disinfektan dan membersihkan akuarium dari bakteri dan kotoran yang menempel. Langkah

selanjutnya, akuarium dibersihkan menggunakan air bersih dan didiamkan selama 1 hari, dan akuarium siap untuk digunakan. Setelah dilakukan treatment, masing-masing akuarium diisi air sebanyak 15 liter ($\frac{2}{3}$ volume akuarium) dan diberi aerasi.

b. Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila*

Penginfeksian dilakukan 1 minggu setelah perlakuan adaptasi ikan. Penginfeksian menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman pada akuarium yang berbeda selama 7 jam 30 menit dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml, kemudian ikan mas dimasukkan kembali ke dalam akuarium perlakuan. Akuarium diisi air sebanyak 15 liter dan ditambahkan ekstrak kasar kemangi (*O. sanctum* L.) sesuai dengan dosis (50 ppm, 150 ppm, 250 ppm dan 350 ppm). Akuarium diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pengambilan sampel ginjal ikan mas dilakukan pada jam ke 48, jam ke 72 dan jam ke 96, kemudian dilakukan pengamatan jumlah sel makrofag dan aktifitas fagositosis.

3.7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

a. Perhitungan Jumlah Sel Makrofag

Perhitungan jumlah sel makrofag dilakukan pada jam ke 48, jam ke 72 dan jam ke 96 sebagai perbandingan untuk mengetahui perkembangan kondisi tubuh ikan setelah menjalani pengobatan. Adapun cara dalam perlakuan pengisolasian sel makrofag menurut Irianto (2005), sebagai berikut :

- 1) Ikan dibedah, selanjutnya digunting mulai dari anus ke depan hingga pangkal overkula
- 2) Organ dalam dikeluarkan dan ginjal diambil dengan menggunakan spatula aseptis

- 3) Ginjal ditimbang
- 4) Ginjal dihancurkan dengan menggunakan *tissue grinder*
- 5) Ginjal diencerkan dengan perbandingan 1 : 10 menggunakan RPMI FBS 2%
- 6) Didapatkan suspensi makrofag
- 7) Suspensi makrofag diambil menggunakan spuit lalu dimasukkan kedalam appendorf

Makrofag yang sudah diisolasi kemudian dihitung jumlahnya dengan cara sebagai berikut :

- 1) Suspensi makrofag ditetaskan melalui lekukan atau *groove* hingga memenuhi bilik hitung
- 2) Suspensi diberi triptan biru
- 3) Perhitungan total makrofag dilakukan dengan cara memeriksa bilik hitung dengan mikroskop perbesaran sedang (400x) dan makrofag dihitung dalam 4 kotak kecil. Makrofag akan terlihat biru dan dilakukan penghitungan.

Jumlah sel mekrofag dihitung dengan rumus:

$$(\text{sel/ml}) = \frac{N \times F_p}{V}$$

Keterangan :

N : Jumlah sel makrofag

Fp : Faktor pengenceran

V : Volume cairan haemocytometer

b. Perhitungan Aktivitas Fagositosis

Metode yang digunakan berdasarkan metode modifikasi oleh Irianto dan Austin (2002), uji fagositosis makrofag adalah dengan cara :

- 1) Suspensi makrofag sebanyak 3 ml di teteskan pada objek glass secara merata, di inkubasi selama 60 menit pada suhu kamar dan dijaga tetap basah.
- 2) Objek glass kemudian dicuci dengan RPMI FBS 2% untuk menghilangkan sel yang tidak melekat, selanjutnya di tambahkan mikroba berupa *A. hydrophilla* dengan kepadatan 10^7 sebanyak 1000 μ L
- 3) Diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit
- 4) Objek glass selanjutnya dicuci 3 kali dengan RPMI FBS 2%, kemudian di fiksasi dengan methanol 96% dan dibiarkan selama 3-5 menit pada suhu kamar.
- 5) Setelah di angin-anginkan, selanjutnya diwarnai dengan larutan giemsa dan dibiarkan selama 20-30 menit, selanjutnya dicuci dengan air.
- 6) Objek glass diperiksa dengan mikroskop perbesaran 400x dan dihitung untuk penentuan perbandingan sel yang menelan mikroba dengan yang tidak.

Aktifitas fagositosis dirumuskan sebagai berikut :

$$PA = \frac{\text{jumlah makrofag yang menelan mikroba}}{100 \text{ makrofag}} \times 100\%$$

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pengamatan gejala patologi klinis ikan mas beserta pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan DO.

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini

dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan jumlah sel makrofag, digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jumlah Sel Makrofag

Hasil pengamatan selama penelitian menggunakan ekstrak kemangi dengan dosis A (50 ppm), B (150 ppm), C (250 ppm), D (350 ppm), K(+) dan K(-) memberikan hasil jumlah sel makrofag ikan mas yang berbeda dan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Sel Makrofag ($\times 10^5$ sel/ml)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SED $\pm$
	1	2	3			
A	35,83	31,4	28,75	95,98	31,99	3,57
B	36,29	28,49	33,21	97,99	32,66	3,92
C	27,47	22,62	28,01	78,1	26,03	2,96
D	22,32	26,28	24,35	72,95	24,31	1,98
K (+)	36,31	33,36	34,15	103,82	34,61	1,53
K (-)	22,48	24,02	23,65	70,15	23,38	0,80
Total	121,91	108,79	114,32	345,02	115,07	14,76

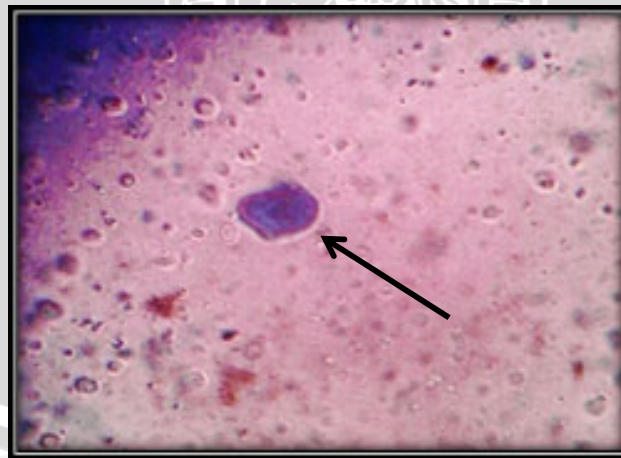
Keterangan : K (+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

K (-) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

Berdasarkan tabel 2, menunjukkan hasil bahwa pada K (+) sebesar 34,61 $\times 10^5$ sel/ml dan pada K (-) sebesar 23,38 $\times 10^5$ sel/ml. Sedangkan pada perlakuan D jumlah rata-rata sel makrofag memiliki nilai yang paling rendah yaitu sebesar $24,31 \times 10^5$ sel/ml. Nilai tersebut dapat dikatakan normal karena jumlah rata-rata tersebut mendekati K (-) yaitu sebesar $23,38 \times 10^5$ sel/ml. Sehingga diduga perlakuan D sudah dapat mengobati ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, hal ini karena makrofag sudah tidak mengeluarkan interleukin untuk merangsang sel T berpoliferasi membentuk limfokin, sehingga presentase jumlah makrofag semakin menurun. Hal ini sesuai dengan pendapat Menurut Kennedy dan Stoskopf (1993) dalam Andayani (2007), selama prosesnya makrofag mengeluarkan interleukin untuk merangsang sel T berpoliferasi dan

membentuk limfokin, kemudian akan menarik makrofag lebih banyak menuju tempat infeksi. Makrofag yang didatangkan adalah makrofag yang beredar di aliran darah dalam bentuk monosit yang mengalami pematangan dalam perjalanannya menuju luka.

Selain itu penurunan jumlah makrofag pada perlakuan D juga diduga karena ekstrak kasar kemangi yang diberikan mengandung zat antibakteri berupa flavonoid. Flavonoid dapat meningkatkan sekresi IL-1 dan 2 serta menghambat aktivasi makrofag serta respon imun seluler. Hal ini menyebabkan proses aktivasi makrofag menjadi terhambat dan pada akhirnya menurunkan kemampuan fagositosis makrofag. Sesuai dengan pernyataan Rahman (2008), flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan terlarutnya sel bakteri. Jumlah gugus hidroksil pada fenol dapat membunuh mikroorganisme dengan bukti bahwa proses pengikatan gugus hidroksil yang meningkat juga menyebabkan tingginya toksisitas zat antimikroba. Pengamatan sel makrofag dapat dilihat pada gambar. 5 berikut ini.



Gambar 5. Pengamatan Sel Makrofag dengan Perbesaran 1000x (↗).

Pada perlakuan A (50 ppm) dan B (150 ppm) jumlah rata-rata sel makrofagnya masih tinggi, yakni diatas 30×10^5 sel/ml dan hampir mendekati K (+) yang sebesar $34,61 \times 10^5$ sel/ml. Hal tersebut diduga pada perlakuan A dan

B dosis yang diberikan masih belum mampu membunuh bakteri *A. hydrophila*, sehingga sel makrofag yang berperan dalam darah akan diproduksi semakin tinggi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada ikan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Norum, Bogwald, dan Dalmo (2005), bahwa sel makrofag dapat meningkat disebabkan adanya jaringan yang rusak akibat aktivitas bakteri. Bakteri tersebut akan mengeluarkan zat-zat kimia yang dapat mendatangkan lebih banyak makrofag seperti lipoposakarida. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap jumlah sel makrofag, maka dilakukan analisis sidik ragam seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Analisis Sidik Ragam Jumlah Sel Makrofag (10^5 sel/ml) Selama Penelitian

Sidik Ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	158,60	52,86	5,16	4,07	7,59
Acak	8	81,92	10,24	*		
Total	11	240,52				

Keterangan: * berbeda nyata

Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah sel makrofag berbeda nyata, hal ini dikarenakan hasil F Hitung sebesar 5,16 lebih besar daripada F Tabel 5% akan tetapi lebih kecil dari F Tabel 1%. Hal ini berarti pemberian ekstrak kemangi sebagai pengobatan pada ikan mas berpengaruh nyata terhadap jumlah sel makrofag ikan mas setelah di infeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah sel makrofag. Hasil uji BNT sel makrofag ikan mas dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Uji BNT Jumlah Sel Makrofag (10^5 sel/ml)

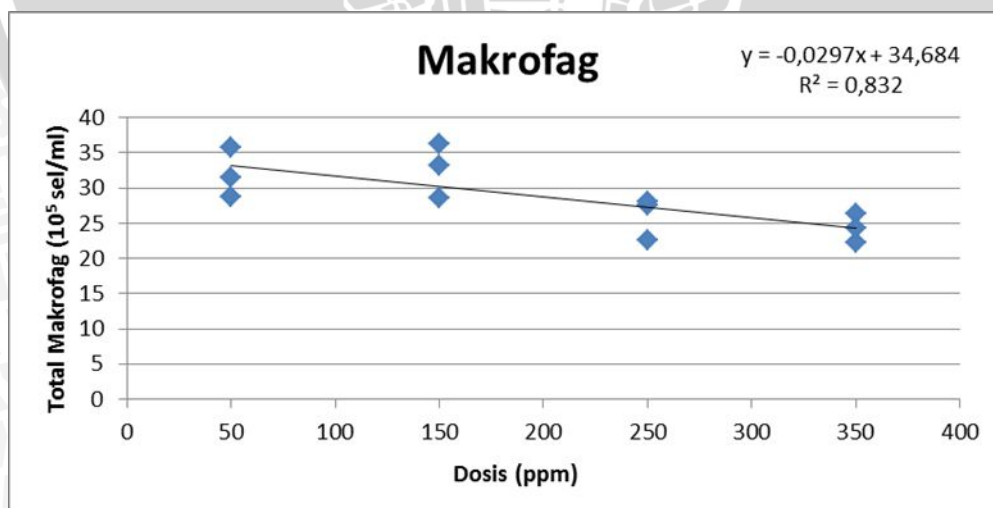
Rerata Perlakuan	D = 24,31	C = 26,03	A = 31,99	B = 32,66	Notasi
D = 24,31	-	-	-	-	a
C = 26,03	1.71 ^{ns}	-	-	-	a
A = 31,99	7.67*	5.96 ^{ns}	-	-	ab
B = 32,66	8.34*	6.63*	0.67 ^{ns}	-	bc

Keterangan : ns *non significant* , * berbeda nyata

Berdasarkan notasi pada Uji BNT sel makrofag di atas dapat diketahui bahwa perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, begitu juga sebaliknya. Perlakuan C dan D berbeda nyata dengan perlakuan A dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan B. Pada perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, C dan D. Kemudian pada perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan A akan tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D.

Pada tabel 4 di atas menunjukkan perlakuan D (350 ppm) memiliki rata-rata sel makrofag yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lain yaitu $24,31 \times 10^5$ sel/ml, hal tersebut disebabkan pada daun kemangi terdapat bioaktif yang berfungsi sebagai antimikroba. Seperti yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1972), antimikroba adalah suatu zat yang mampu menghambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroba. Mekanisme kerja antimikroba antara lain dengan jalan merusak dinding sel, merusak membran sitoplasma, mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim dalam sel.

Selanjutnya dilakukan Uji Polinomial Ortogonal untuk mengetahui tingkat respon pemberian ekstrak kemangi terhadap jumlah sel makrofag pada ikan mas yang disajikan pada gambar 6.



Gambar 6. Grafik Regresi Jumlah Sel Makrofag Ikan Mas

Berdasarkan gambar 6 menunjukkan bahwa grafik berbentuk linier dengan persamaan $y = -0,0297x + 34,684$. dan dengan hasil R^2 yang mendekati angka satu yaitu sebesar $R^2 = 0,832$. Hal ini berarti terdapat hubungan antara variabel x dan y yang ditunjukkan dengan jumlah sel makrofag yang menurun seiring bertambahnya dosis pengobatan yang diberikan.

4.2 Aktivitas Fagositosis

Hasil pengamatan selama penelitian menggunakan ekstrak kemangi dengan dosis A (50 ppm), B (150 ppm), C (250 ppm), D (350 ppm), K(+) dan K(-) memberikan hasil presentase aktivitas fagositosis ikan mas yang berbeda dan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Jumlah Presentase Aktivitas Fagositosis (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SED ±
	1	2	3			
A	60	56	64	180	60	3,58
B	66	58	47	171	57	3,93
C	52	40	42	134	44,66	2,97
D	46	44	42	132	44	1,98
K (+)	62	68	71	201	67	4,58
K (-)	44	41	43	128	42,67	1,53
Total	330	307	309	946	315,33	18,57

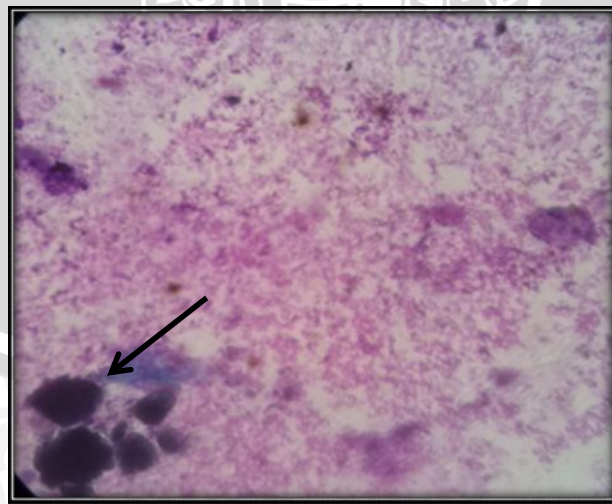
Keterangan : K (+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

K (-) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar kemangi

Berdasarkan tabel 5, menunjukkan hasil bahwa pada K (+) sebesar 67% dan pada K(-) sebesar 42,67%. Sedangkan perlakuan D (350 ppm) jumlah rata rata presentase aktivitas fagositosis memiliki nilai yang paling rendah yaitu sebesar 44%. Nilai tersebut dapat dikatakan normal karena jumlah rata-rata tersebut mendekati K (-) yaitu sebesar 42,67%. Sehingga perlakuan D (350 ppm) diduga sudah dapat mengobati ikan mas yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, hal ini karena ekstrak kasar daun kemangi mengandung antibakteri berupa flavonoid, dan semakin tinggi dosis yang diberikan maka daya bunuh bakteri juga

semakin tinggi. Sesuai dengan pernyataan Waluyo (2008), bahwa bahan antimikrobal dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Bahan kemoterapeutik yang baik adalah mempunyai daya mematikan mikroba, namun tidak menyebabkan keracunan pada ikan yang menggunakan bahan tersebut. Bahan yang demikian disebut memiliki toksisitas selektif.

Selain itu penurunan aktivitas fagositosis ini juga disebabkan karena adanya peran enzim yang dapat membunuh bakteri *A. hydrophila*. Sesuai dengan pernyataan Spector (1993), aktivitas fagositosis terjadi apabila ada kontak antara partikel dengan permukaan sel fagositosis. Membran sel kemudian mengalami invaginasi dimana dua lengan sitoplasma menelan partikel sehingga terkurung dalam sitoplasma sel, terletak dalam vakuola yang dilapisi membran (fagosom). Lisosom yang ada di dekatnya melebur ke dalam fagosom dan mengeluarkan enzim-enzim membentuk fagolisosom atau lisosom sekunder sehingga bakteri atau partikel tersebut mati dan hancur dalam sel fagositosis tersebut. Pengamatan aktivitas fagositosis dapat dilihat pada gambar. 7 berikut ini.



Gambar. 7 Pengamatan Aktivitas Fagositosis dengan Perbesaran 1000x (↗).

Pada perlakuan A (50 ppm) rata-rata presentase aktivitas fagositosisnya masih tinggi, yakni 60% dan hampir mendekati K (+) sebesar 67%. Hal tersebut diduga pada perlakuan A dosis yang diberikan masih belum mampu membunuh bakteri *A. hydrophila*. Sehingga aktivitas fagositosis yang berperan dalam darah akan diproduksi semakin tinggi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada ikan. Sesuai dengan pernyataan Abbas, Litchman dan Pober (2012), peningkatan aktivitas fagositosis makrofag selain diakibatkan oleh interaksi langsung dengan agen penginvansi seperti mikroorganisme, dapat juga diaktifkan oleh produk limfosit (limfokin) yang dirangsang oleh antigen atau bahan aktif ekstrak *O. sanctum L.* Sekali sel makrofag diaktifkan maka akan menunjukkan aktivitas metabolitnya dan peningkatan fungsi yaitu untuk memfagositosis dan membunuh kuman serta memproses kuman tersebut.

Menurut Darwin (2006), proses fagositosis terjadi diawali dengan adanya kontak antara bakteri atau partikel dengan permukaan sel fagosit (makrofag). Agar terjadi fagositosis, sel-sel fagosit tersebut harus berjarak dekat dengan mikroorganisme tersebut agar dapat melekat pada permukaan sel fagosit. Untuk mencapai hal ini, maka sel fagosit harus bergerak menuju sasaran yang dibantu oleh mediator yang disebut kemotaktik yang diproduksi oleh bakteri. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap presentase aktivitas fagositosis, maka dilakukan analisis sidik ragam seperti pada tabel 6.

Tabel 6. Analisis Sidik Ragam Aktivitas Fagositosis Selama Penelitian

Sidik Ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	616,25	205,41	5,39	4,07	7,59
Acak	8	304,66	38,08	*		
Total	11	920,91				

Keterangan: * berbeda nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa presentase aktivitas fagositosis berbeda nyata, hal ini dikarenakan hasil F Hitung sebesar 5,39 lebih besar daripada F Tabel 5% akan tetapi lebih kecil dari F Tabel 1%. Hal ini berarti pemberian

ekstrak kemangi sebagai pengobatan pada ikan mas berpengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis ikan mas setelah di infeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap aktivitas fagositosis. Hasil Uji BNT persentase aktivitas fagositosis pada ikan mas dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Uji BNT Presentase Aktivitas Fagositosis

Rerata Perlakuan	D = 44	C = 44,66	B = 57	A = 60	Notasi
D = 44	-	-	-	-	a
C = 44,66	0,66 ^{ns}	-	-	-	a
B = 57	13*	12,33*	-	-	ab
A = 60	16*	15,33*	3 ^{ns}	-	bc

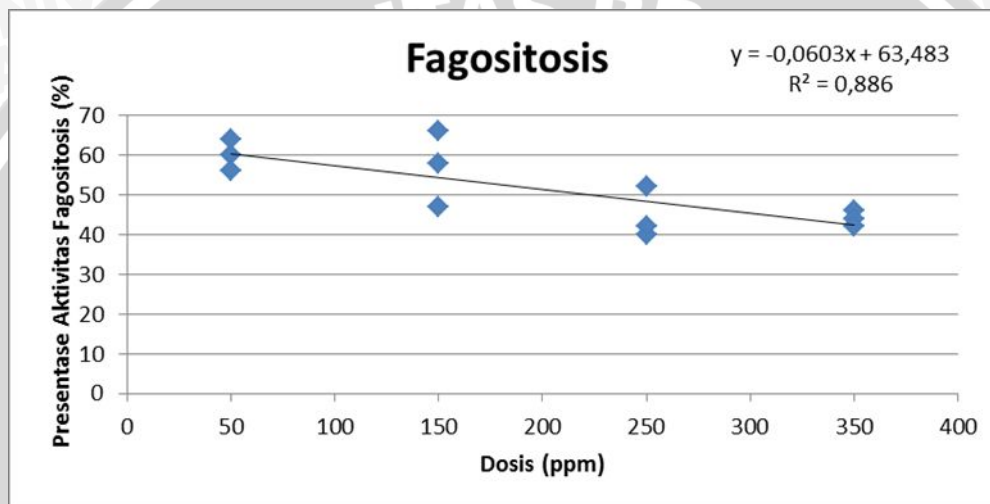
Keterangan : ns *non significant* , * berbeda nyata

Berdasarkan notasi pada Uji BNT aktivitas fagositosis di atas dapat diketahui bahwa perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D, begitu juga sebaliknya. Perlakuan C dan D berbeda nyata dengan perlakuan B dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan A. Pada perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan A, C dan D. Kemudian pada perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B akan tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan C dan D.

Pada tabel 7 diatas menunjukkan perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, hal ini karena antara dosis 350 ppm dan 250 ppm tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah rata-rata presentase aktivitas fagositosis. Sedangkan pada perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan A, C dan D, hal ini karena pada dosis 150 ppm memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah rata-rata presentase aktivitas fagositosis. Menurut Brown (2000), menyatakan peningkatan kekebalan tubuh dapat diketahui dari peningkatan aktivitas sel fagosit dari hemosit. Sel fagosit ini berfungsi untuk melakukan fagositosis terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh inang. Fagositosis adalah ingesti bahan partikel terutama bakteri

ke dalam sitoplasma sel darah. Pola peningkatan prosentase indeks fagositosis ini merupakan fungsi dari peningkatan total leukosit maupun presentasi jenis leukosit masing-masing pada limfosit, monosit dan neutrofil.

Berdasarkan hasil Uji BNT yang menunjukkan hasil yang berbeda nyata, maka selanjutnya dilakukan dilakukan Uji Polinomial Ortogonal untuk mengetahui tingkat respon pemberian ekstrak kemangi terhadap presentase aktivitas fagositosis pada ikan mas yang disajikan pada gambar 8.



Gambar 8. Grafik Regresi Presentase Aktivitas Fagositosis Ikan Mas

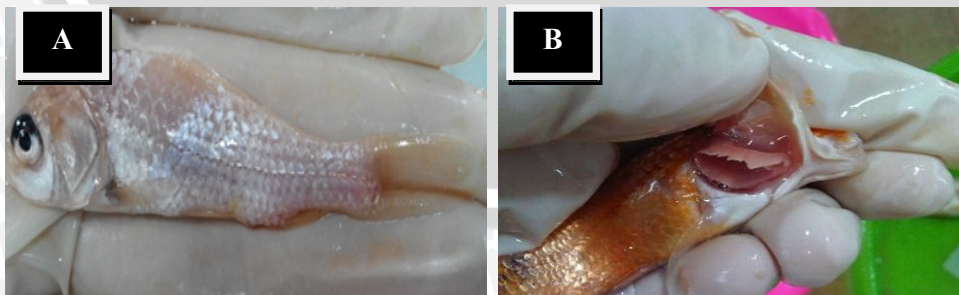
Berdasarkan gambar 8 menunjukkan bahwa grafik berbentuk linier dengan persamaan $y = -0,0603x + 63,483$ dan dengan hasil R^2 yang mendekati angka satu yaitu sebesar dengan $R^2 = 0,886$. Hal ini berarti terdapat hubungan antara variabel x dan y yang ditunjukkan dengan presentase aktivitas fagositosis yang menurun seiring bertambahnya dosis pengobatan yang diberikan.

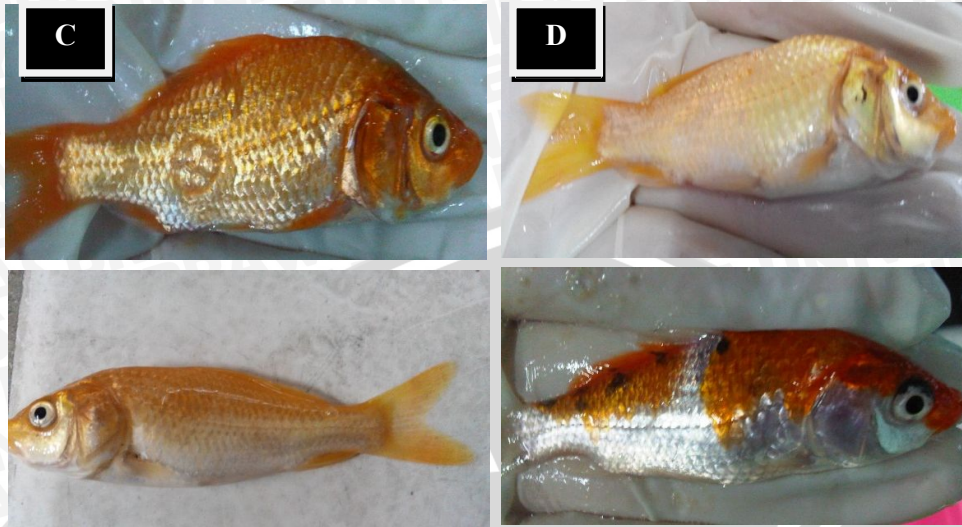
4.3 Patologi Klinis Ikan Mas

Selama masa pemeliharaan satu minggu, gejala klinis yang terlihat dari ikan yang dipelihara diantaranya adalah pada kontrol negatif K(-) ikan masih terlihat sehat dan tidak terlihat gejala klinis yang significant, tetapi pada kontrol positif K(+) terdapat perdarahan di daerah insang dan perut. Pada perlakuan A

(50 ppm) insang terlihat pucat, sisik terlepas, mata terlihat pucat, serta terdapat perdarahan di bagian perut. Pada perlakuan B (150 ppm) bagian antara sirip pectoral berwarna hijau, insang pucat, sisik terlepas, mata terlihat pucat. Perlakuan C (250 ppm) beberapa sisik masih terkelupas, ikan mulai merespon sentuhan dan mulai bergerak aktif, tetapi nafsu makan masih menurun. Sedangkan pada perlakuan D (350 ppm) ikan sudah berenang cepat, ikan terlihat sehat dan respon terhadap makanan sudah membaik. Menurut Haryani, Roffi, Ibnu dan Ayi (2012), menyatakan bahwa ikan mas yang bertahan hidup pada akhirnya mengalami proses penyembuhan, baik sembuh secara total (tidak terlihat gejala klinis lagi) maupun hanya sembuh parsial (masih terlihat gejala klinis). Gejala klinis yang masih teramati pada ikan yang bertahan hidup (sembuh parsial) adalah berupa sisik yang rontok dan warna kemerahan pada kulit ikan tetapi tidak menunjukkan perbaikan terutama respon terhadap pakan yang sudah mulai kembali normal seperti ikan sehat.

Berdasarkan gejala klinis di atas, dapat diduga bahwa ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kemudian diberi pengobatan dengan ekstrak kasar daun kemangi menunjukkan respon yang berbeda. Pada dosis yang rendah A (50 ppm), ikan masih belum sembuh dari infeksi bakteri *A. hydrophila*, tetapi pada dosis yang lebih tinggi D (350 ppm), ikan mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*.





Gambar 7. Gejala klinis Ikan. (A) Dosis 50 ppm, (B) Dosis 150 ppm, (C) Dosis 250 ppm, (D) Dosis 350 ppm, K(-) Tanpa Infeksi Bakteri dan Pemberian Ekstrak dan K(+) Diinfeksi Bakteri dan Pemberian Ekstrak

4.4 Kualitas Air

Kualitas air selama masa pemeliharaan berlangsung merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan karena kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Selama penelitian berlangsung, dilakukan pengukuran kualitas air pada pagi dan sore hari yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO).

4.4.1 Suhu

Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan ikan. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dan dapat menekan kehidupan ikan bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (drastis) karena terjadi perubahan daya angkut darah. Bila suhu rendah ikan akan kehilangan nafsu makan, sehingga pertumbuhannya terhambat, sebaliknya bila suhu terlalu tinggi ikan akan stress bahkan mati kekurangan oksigen.

Berdasarkan hasil pengukuran, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 24-26,8°C. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal. Karena menurut Partosuwiryo dan Warseno (2011), Ikan mas dapat tumbuh cepat pada suhu lingkungan berkisar antara 25-30°C dan akan mengalami penurunan pertumbuhan bila suhu lingkungan lebih rendah. Pertumbuhan akan menurun dengan cepat di bawah suhu 13°C dan akan berhenti makan apabila suhu berada di bawah 5 °C.

4.4.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktivitas ion hydrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (dalam mol/liter) pada suhu tertentu atau dapat ditulis $\text{pH} = -\log (\text{H}^+)$. Air murni mempunyai pH netral 7 karena berasosiasi sempurna dan memiliki ion H^+ dan ion OH^- dalam konsentrasi yang sama. Semakin tinggi konsentrasi ion H^+ , maka semakin rendah konsentrasi ion OH^- dan $\text{pH} < 7$, perairan semacam ini bersifat asam dan sebaliknya jika konsentrasi ion OH^- yang tinggi maka $\text{pH} > 7$ dan bersifat basa.

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 6,32-8,45. Nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran normal, sesuai dengan pernyataan Murtidjo (2001), ikan mas mampu berkembang dengan baik dengan pH 6,5-8,5.

4.4.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut adalah satu jenis gas terlarut dalam air dengan jumlah yang sangat banyak. Ikan membutuhkan oksigen guna pembakaran makanan untuk menghasilkan aktivitas seperti berenang, pertumbuhan, reproduksi dan sebagainya. Kelarutan oksigen dalam air sangat berkaitan dengan suhu.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 5,02-7,52 mg/l. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), kandungan oksigen terlarut minimum yang dapat diterima sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm dan lebih baik 7 ppm.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.) yang berbeda dapat mempengaruhi jumlah dari sel makrofag dan aktivitas fagositosis pada ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Pada perlakuan D (350 ppm) merupakan dosis yang terbaik untuk membunuh bakteri *A. hydrophila*, ditunjukkan dengan menurunnya jumlah makrofag dan presentase aktivitas fagositosis pada ikan mas dengan hasil secara berturut-turut yaitu sebesar 24,31 x 10⁵ sel/ml dan 44%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang ekstrak kemangi (*O. sanctum* L.) untuk memperoleh dosis yang optimal pada pengobatan ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Serta perlu dilakukan uji lebih lanjut tentang pengenceran makrofag dengan menggunakan HBSS agar hasil preparat yang diamati lebih jelas.

DAFTAR PUSTAKA

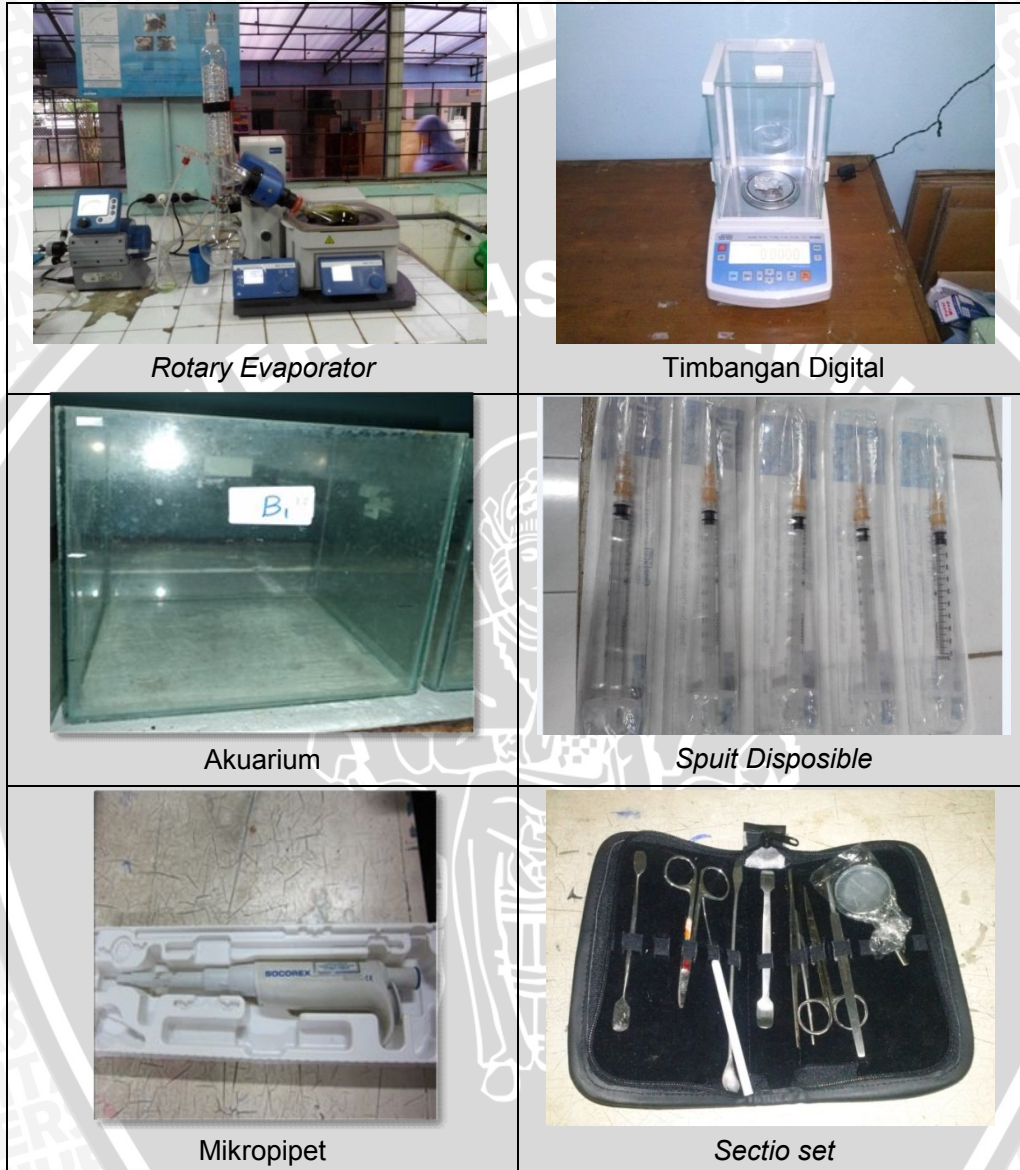
- Abbas, A. K., H. Litchman, dan J. S. Pober. 2012. *Celluler and Molecular Immunology*. W.B. Saunders, Philadelphia. p 81.
- Afrianto, E dan E.Liviawaty. 1992. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 91 hlm.
- Andayani, S. 2007. Pengaruh Bioaktif Alkaloid Ubur-Ubur (*Boungainvillia sp*) sebagai Immunostimulan terhadap Aktifitas Bakterisida, Respon Immun Non Spesifik serta Kelulushidupan (RPS) Ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*). Universitas Brawijaya. Malang. 24 hlm.
- Andrianto, T. Taufik. 2005. *Pedoman Praktis Budidaya Ikan Mas*. Kanisius : Yogyakarta. 61 hlm.
- Aryanto, D. dan Subagyo. 2004. Variabilitas Genetik Dan Evaluasi Heterositas Pada Persilangan Antar Galur Dalam Spesies Ikan Mas. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 559 hlm.
- Brown, K.M.T .2000. *Applied Fish Pharmacology*. Kluwer Academic Publisher. Nedherland. p 309.
- Cahyono, B. 2000. *Budidaya Ikan Air Tawar Ikan Gurami, Ikan Nila, Ikan Mas*. Kanisius. Yogyakarta. 113 hlm.
- Christian, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J., and Warnes, C., 2001. Detection of *A. hydrophilla* in a drinking-water distribution system: a field and pilot study. *Can. J. Microbiol.* **47** (8): 782-786.
- Darwin, E. 2006. *Imunologi dan Infeksi*. Andalas University Press. Padang. 226 hlm.
- Effendy. 1993. *Biologi Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. 71 hlm.
- Efendi, Z. 2003. *Daya Fagositosis Makrofag Pada Jaringan Longgar Tubuh*. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan. 4 hlm.
- Haryani, A., Roffi G., Ibnu D.B dan Ayi S. 2012. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*C. papaya*) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *A. hydrophilla* pada Ikan Mas Koki (*C. auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3** (3): 213-220.
- Holt, J.G. 1979. *The Sorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The William and Wilkins Company Baltimore. USA. p 992.
- Irianto, A. dan B. Austin. 2002. Use of Probiotic to Control Furunculosis in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, **25** : 333-342.

- Irianto, 2005. Patologi Ikan Teleostei. Universitas Gajahmada. Yogyakarta. 256 hlm.
- Kabata, Z., 1985. Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelphia. p 318.
- Khairuman, D. Sudenda. dan B. Gunadi. 1962. Budidaya Ikan Mas Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 156 hlm.
- Kordi. K, M. Gufron. H. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm.
- Mantau, Z. dan Sudarty. 2011. Buku Terlengkap Pembenihan Ikan Mas yang Efektif dan Efisien. Pustaka Mina. Jakarta. 256 hlm.
- Murtidjo, B. A. 2001. Beberapa Metode Pembenihan Ikan Air Tawar. Kanisius. Yogyakarta. 108 hlm.
- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 62 hlm.
- Norum, Bogwald, dan Dalmo. 2005. Isolation and Characterisation Of Spotted Wolfish (*Anarchichas minor Olaten*) Macrophages. Journal Fish and Shelfish Immunology. Elsevier. Amsterdam. Nedherland. p 391.
- Oktara, B. 2011. Pemanfaatan Penginderaan Jauh dari Sistem Informasi Geografis Untuk Managemen Sumber Daya Perikanan Budidaya di Indonesia. Jurnal Akuakultur. **3** (1) : 11 hlm.
- Partosuwiryo S., dan Yus W., 2011. Kiat Sukses Budidaya Ikan Mas. Citra Aji Parama. Yogyakarta. 60 hlm.
- Pelczar, M.S dan E.C.S Chan. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi II. Alih Bahasa: R.S Hadieoetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 997 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. UM Press. Malang. 115 hlm.
- Rahman, F.M. 2008. Potensial Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya pada Ikan Gurami yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*. Skripsi. IPB. 62 hlm.
- Rasyid, R., Yanwirasti dan E. Nasrul. 2008. Pengaruh Esterogen Terhadap Aktivitas Sel Makrofag Dalam Memfagosit *C. albicans* Secara *In Vitro*. Artikel Penelitian Majalah Kedokteran Andalas. **1** (2): 80-81.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan: K. Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung. 203 hlm.
- Santoso, B. 1993. Ikan Mas. Kanisius. Yogyakarta. 83 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2002. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi. Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.

- Shome, R., dan B.R. Shome, 1999. A. Typical chronic from of *A. hydrophilla* infection in indian major carp, *Calta calta*, from Andaman. Curr. Sci., 7 (1): 1188-1190.
- Spector, W.G. 1993. An Introduction to General Pathology. Third Edition. Churcill Livingstone, London. p 391.
- Surachmad, W. 1988. Pengantar Penelitian Ilmiah Dasar. Penerbit Tarsito. Bandung. 118 hlm.
- Susanto, H. 2000. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 152 hlm.
- Volk , W. dan M. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hlm.
- Waluyo, L. 2008. Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi. Cetakan Pertama. Malang: UMM Press. 77 hlm.
- Yuhana, S., A., R. Kusdarwati dan D. K. Males. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*O. sanctum* L.) terhadap Bakteri *S. iniae* secara *in vitro*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. 7 hlm.
- Zonneveld, N.E.A. Huisman dan J.H. Bon. 1991. Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. 335 hlm.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat Penelitian



Lampiran 1. (Lanjutan)

 pH meter	 DO meter
 Termometer	 Appendorf
 Mikroskop	 Hand Tally Counter
 Aerator dan Batu Aerasi	 Seser

Lampiran 2. Bahan-bahan Penelitian



Ikan Mas (*C. carpio*)



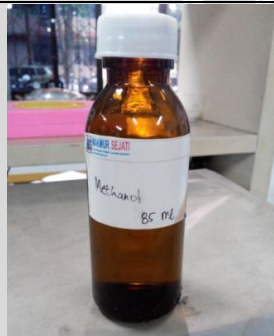
Ekstrak Daun Kemangi



Triptan Biru



RPMI FBS 2%



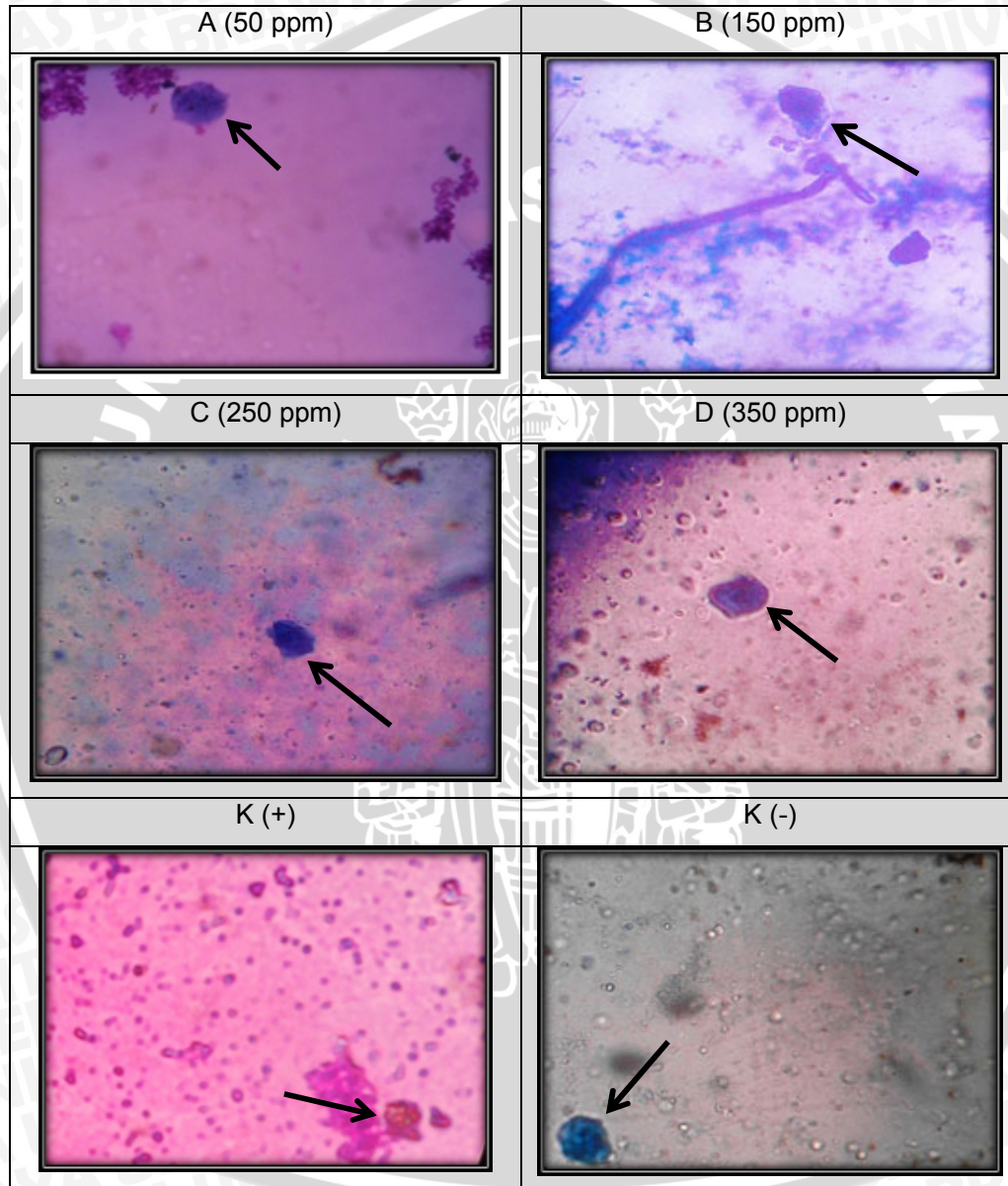
Methanol



Giemsa

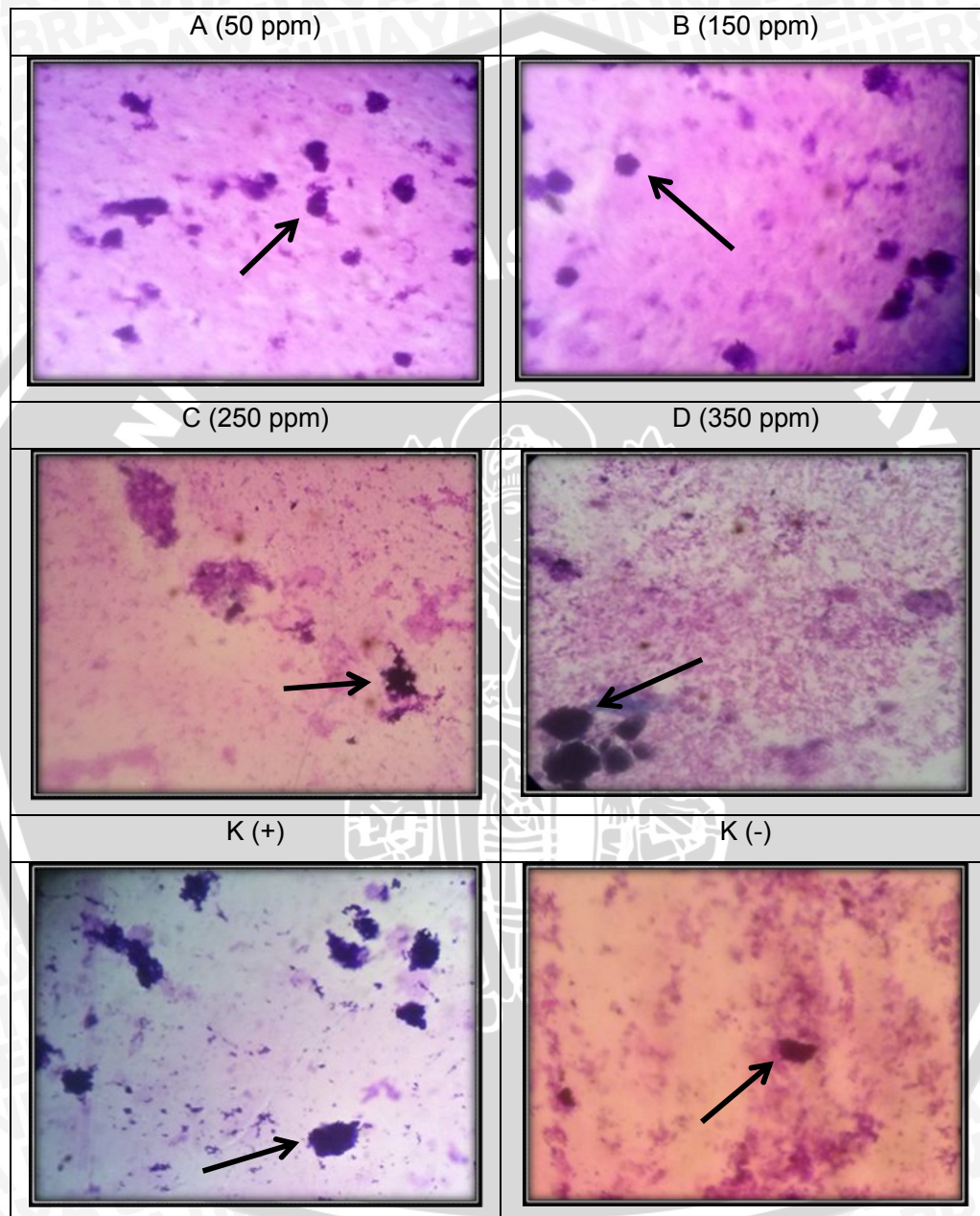
Lampiran 3. Gambaran Sel Makrofag Selama Penelitian

Pengamatan sel makrofag dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x seperti yang disajikan pada gambar beserta tanda panah ($\nearrow$) berikut :



Lampiran 4. Gambaran Aktivitas Fagositosis Selama Penelitian

Pengamatan aktivitas fagositosis dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x seperti yang di tunjukkan pada gambar berikut :



Lampiran 5. Perhitungan Jumlah Sel Makrofag ($\times 10^5$ sel/ml)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	35,83	31,4	28,75	95,98	31,99
B	36,29	28,49	33,21	97,99	32,66
C	27,47	22,62	28,01	78,1	26,03
D	22,32	26,28	24,35	72,95	24,31
FK		345,02		119.038,80	9.919,90
JK Total				10.160,43	240,53
JK Perlakuan		30.235,51		10.078,50	158,60
JK Acak					81,92
kk (koefisien keragaman)		10,24		86,26	3,710

Analisis Sidik Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	158,604	52,868	5,163	4,07	7,59
Acak	8	81,924	10,241	*		
Total	11	240,528				

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{2 \text{ KT acak/r}} = \sqrt{2 \cdot 48.16666378/3} = 2,61285391 \\ \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \cdot \text{SED} = (2.306 \cdot 2.61285391) = 6,025241117 \\ \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \cdot \text{SED} = (3.355 \cdot 2.61285391) = 8,766124868 \end{aligned}$$

Uji BNT

Rerata Perlakuan	D = 24,31	C = 26,03	A = 31,99	B = 32,66	Notasi
D = 24,31	-	-	-	-	a
C = 26,03	1.71 ^{ns}	-	-	-	a
A = 31,99	7.67*	5.96 ^{ns}	-	-	ab
B = 32,66	8.34*	6.63*	0.67 ^{ns}	-	bc

Lampiran 6. Perhitungan Presentase Aktivitas Fagositosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	60	56	64	180	60
B	66	58	47	171	57
C	52	40	42	134	44,66
D	46	44	42	132	44

FK	617,00	380.689,00	31.724,08
JK Total		32.645,00	920,92
JK Perlakuan	97.021,00	32.340,33	616,25
JK Acak			304,67
kk (koefisien keragaman)	38,08	154,25	4,001

Analisis Sidik Ragam

Sidik Ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	616,250	205,417	5,394	4,07	7,59
Acak	8	304,667	38,083	*		
Total	11	920,917				

$$\text{SED} = \sqrt{2 \text{ KT acak/r}} = 5,038738819$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} = (2.306 \times 144950.2256) = 11,61933172$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} = (3.355 \times 144950.2256) = 16,90496874$$

Uji BNT

Rerata Perlakuan	D = 44	C = 44,66	B = 57	A = 60	Notasi
D = 44	-	-	-	-	a
C = 44,66	0,66 ^{ns}	-	-	-	a
B = 57	13*	12,33*	-	-	ab
A = 60	16*	15,33*	3 ^{ns}	-	bc

Hari Ke-	Waktu	A			B			C			D			K (-)	K (+)	Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
1	Pagi	26	25	25	25	25	25	24	26	24	25	24	24	26	25	24-26
10-03-14	Sore	25	25	26,5	25	26,4	26,3	25	25	26,6	26,6	25	25	26,6	26,6	25-26,6
2	Pagi	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
11-03-14	Sore	27	27	27	27	27	27	27	27	27	27,1	27	27,1	27,2	27,2	27-27,2
3	Pagi	25,2	25,3	25,3	25,4	25,4	25,5	25,6	25,6	25,6	25,7	25,7	25,8	25,9	25,8	25,2-25,9
12-03-14	Sore	26,6	26,7	26,8	26,6	26,7	26,8	26,7	26,8	26,8	26,8	26,8	26,8	26,8	26,8	26,6-26,8
4	Pagi	25,4	27,4	25,7	25,3	25,7	25,8	25	25,6	25,8	25,4	25,6	25,6	25,5	25,8	25-25,8
13-03-14	Sore	25	25,5	24	25	25,6	25	25	25,4	25,4	25	25,4	25,6	25,5	25,4	24-25,6
5	Pagi	25,5	25,4	25,7	25,6	25,6	25,7	25,6	25,7	25,6	25,6	25,7	25,7	25,4	25,4	25,4-25,7
14-03-14	Sore	25,6	25,7	25,7	25,6	25,7	25,7	26,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,7	25,6-26,7
6	Pagi	24,7	24,8	24,8	25,8	24,8	24,8	24,8	24,8	24,8	24,7	24,8	24,8	25,1	25	24,7-25,8
15-03-14	Sore	26,1	26	26	26,1	26,1	26	26,1	26,1	26	26,1	26,1	26,1	26,1	26	26-26,1
7	Pagi	26,3	26,3	26,3	26,3	26,3	26,3	26,3	26,3	26,4	26,4	26,5	26,6	26,6	26,6	26,3-26,6
16-03-14	Sore	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,8	24,8	25,1	24,9	24,8-25,1
8	Pagi	24,5	24,5	24,5	24,7	24,6	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5	24,5	24,6	24,6	24,6	24,5-24,7
17-03-14	Sore	26	26,1	26,1	26	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26,1	26-26,1
9	Pagi	25	24	25	25	25	25	24	25	25	25	25	25	25	25	24-25
18-03-14	Sore	25,3	25,4	25,4	25,3	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,4	25,3-25,4
10	Pagi	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
19-03-14	Sore	25,6	25,6	25,6	25,9	25,9	25,9	25,9	25,9	25,9	26	26	26,1	26,1	25,2	25,2-26,1
11	Pagi	25,2	25,3	25,4	25,2	25,7	25,4	25,2	25,4	25,4	25,2	25,4	25,4	25,3	25,4	25,2-25,4
20-03-14	Sore	25,4	25,4	25,4	25,4	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,6	25,6	25,6	25,7	25,7	25,4-25,7
12	Pagi	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,7	24,6	24,6	24,6	24,6	24,6-24,7
21-03-14	Sore	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
13	Pagi	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	24,9	25	25	25	25	25	25	24,9-25
22-03-14	Sore	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,6	25,5	25,5	25,5	25,5-25,6

14	Pagi	26	25	25	25	25	25	24	26	24	25	24	24	26	25	24-26
23-03-14	Sore	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
TOTAL KISARAN NILAI SUHU																24-26,8



Hari Ke-	Waktu	A			B			C			D			K (-)	K (+)	Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
1	Pagi	8,22	8,4	8,3	8,31	8,22	8,17	8,38	8,19	8,28	8,29	8,34	8,25	8,29	8,28	8,17-8,4
10-03-14	Sore	8,19	8,15	8,26	8,25	8,15	8,16	8,38	8,19	8,31	8,23	8,3	8,19	8,34	8,35	8,15-8,38
2	Pagi	8,44	8,28	8,27	8,4	8,25	8,19	8,45	8,33	8,39	8,33	8,41	8,36	8,37	8,38	8,19-8,45
11-03-14	Sore	7,09	7,03	6,98	7,08	7	6,93	7,19	7,05	7,09	6,99	7,11	7,07	7,05	7,23	6,93-7,19
3	Pagi	7,1	7,13	7,13	7,19	7,13	7,09	7,25	7,14	7,22	7,14	7,19	7,17	7,15	7,18	7,1-7,25
12-03-14	Sore	7,13	7,14	7,05	7,14	7,09	7,05	7,28	7,09	7,13	7,14	7,2	7,12	7,13	7,19	7,05-7,28
4	Pagi	7,2	7,2	7,05	7,14	7,09	7,05	7,28	7,09	7,13	7,14	7,2	7,12	7,13	7,19	7,05-7,28
13-03-14	Sore	7,27	7,2	7,06	7,16	7,15	7,08	7,38	7,19	7,21	7,27	7,16	7,2	7	7,02	7-7,38
5	Pagi	7,35	7,29	7,16	7,24	7,2	7,19	7,4	7,25	7,3	7,24	7,3	7,27	7	7	7-7,4
14-03-14	Sore	7,34	7,3	7,16	7,26	7,14	7,2	7,36	7,25	7,22	7,18	7,3	7,22	7	6,98	6,98-7,36
6	Pagi	7,42	7,44	6,39	7,33	7,31	7,3	7,5	7,51	7,38	7,34	7,46	7,41	6,77	6,88	6,39-7,51
15-03-14	Sore	7,42	7,4	7,24	7,32	7,03	7,25	7,46	7,37	7,43	7,06	7,39	7,34	6,79	6,89	6,79-7,46
7	Pagi	7,42	7,45	7,31	7,32	7,28	7,32	7,39	7,37	7,33	7,25	7,36	7,27	6,77	7	6,77-7,45
16-03-14	Sore	7,48	7,38	7,27	7,35	7,28	7,3	7,39	7,37	7,37	7,3	7,35	7,3	6,81	6,7	6,7-7,48
8	Pagi	7,39	7,44	7,33	7,29	7,32	7,31	7,43	7,21	7,35	7,24	7,41	7,24	6,63	6,53	6,53-7,44
17-03-14	Sore	7,5	7,45	7,29	7,44	7,31	7,26	7,46	7,4	7,29	7,38	7,31	7,3	6,79	6,8	6,79-7,5
9	Pagi	7,57	7,52	7,36	7,52	7,45	7,45	7,59	7,45	7,52	7,37	7,74	7,41	6,93	7,32	6,93-7,74
18-03-14	Sore	7,56	7,39	7,24	7,45	7,34	7,32	7,45	7,24	7,41	7,28	7,31	7,19	6,7	6,62	6,62-7,56
10	Pagi	7,59	7,46	7,36	7,53	7,48	7,5	7,56	7,5	7,55	7,42	7,44	7,33	6,91	6,92	6,91-7,59
19-03-14	Sore	7,5	7,29	7,12	7,3	7,36	7,35	7,37	7,27	7,43	7,22	7,17	7,09	6,56	6,57	6,56-7,5
11	Pagi	7,53	7,35	7,08	7,36	7,44	7,3	7,45	7,31	7,36	7,33	7,07	7,18	6,64	6,54	6,54-7,53
20-03-14	Sore	7,46	7,31	6,97	7,11	7,35	7,3	7,25	7,24	7,33	6,98	6,92	7,04	6,4	6,32	6,32-7,46
12	Pagi	7,42	7,45	6,91	7,14	7,37	7,25	7,27	7,32	7,35	7,02	7,11	7,18	6,46	6,45	6,45-7,45
21-03-14	Sore	7,25	7,25	6,96	7,15	7,32	7,19	7,36	7,36	7,33	7	7,11	7,15	6,6	6,59	6,59-7,36
13	Pagi	7,35	7,41	7,06	7,14	7,33	7,14	7,3	7,3	7,27	7,02	7,11	7,13	6,39	6,48	6,39-7,41
22-03-14	Sore	7,31	7,3	7	7,19	7,26	7,04	7,46	7,33	7,28	7,12	7,12	7,16	6,4	6,42	6,4-7,46

Lampiran 8. Data Penukuran pH

14	Pagi	7,35	7,29	7,16	7,24	7,2	7,19	7,4	7,25	7,3	7,24	7,3	7,27	7	7	7-7,4
23-03-14	Sore	7,59	7,46	7,36	7,53	7,48	7,5	7,56	7,5	7,55	7,42	7,44	7,33	6,91	6,92	6,91-7,59
Kisaran Nilai pH															6,32-8,45	



Hari Ke-	Waktu	A			B			C			D			K (-)	K (+)	Kisaran
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
1	Pagi	5,52	6,01	5,73	5,95	5,56	5,47	6,25	5,56	6,16	6,26	6,24	6,27	5,62	6,02	5,47-6,27
10-03-14	Sore	5,81	5,81	6,91	7,12	6,69	6,91	6,87	5,85	6,91	6,9	6,29	6,93	6,88	6,87	5,81-7,12
2	Pagi	5,61	5,54	5,63	5,77	5,63	5,26	5,93	6,88	6,93	5,64	5,86	6,72	5,6	6,13	5,26-6,93
11-03-14	Sore	5,52	5,55	5,58	6,76	6,74	6,62	6,86	6,79	6,75	6,81	6,73	6,64	6,82	6,65	5,52-6,86
3	Pagi	5,99	6,59	5,47	6,7	5,64	6,09	6,38	5,59	6,16	5,97	6,05	6,09	5,51	5,67	5,47-6,7
12-03-14	Sore	5,56	5,83	6,32	6,15	5,53	5,37	6,06	6,38	5,8	5,79	6,4	5,57	5,42	6,5	5,37-6,5
4	Pagi	6,02	5,73	5,29	5,93	5,47	5,2	6,22	5,29	5,85	6,32	5,8	5,57	6,24	5,23	5,2-6,32
13-03-14	Sore	5,49	5,76	5,27	5,43	5,32	5,35	6,27	5,61	5,78	5,61	5,7	5,56	5,09	5,08	5,08-6,27
5	Pagi	6,03	5,77	6,1	5,74	5,75	5,6	6,53	6,59	6,1	5,51	6,54	6,08	6,65	5,44	5,44-6,65
14-03-14	Sore	6,27	6,7	5,38	5,79	5,77	6,35	6,5	6,47	6,19	5,95	5,77	6,24	6,46	5,53	5,38-6,7
6	Pagi	5,99	6,38	5,27	5,8	6,18	6,51	6,48	6,42	6,21	5,78	6,57	5,88	5,7	5,06	5,06-6,57
15-03-14	Sore	6,47	6,32	6,01	5,92	6,05	5,77	6,69	6,7	6,2	5,02	6,17	6,71	5,52	6,14	5,02-6,71
7	Pagi	6,51	6,6	6	6,45	6,15	6	6,4	6,11	6,33	6,55	6,4	6,62	6,62	6,29	6-6,62
16-03-14	Sore	6,35	6,62	6,33	6,13	6,02	6,06	6,46	6,23	6,33	6,23	6,59	5,89	5,33	5,66	5,33-6,62
8	Pagi	6,33	6,13	5,77	6,27	5,55	5,63	6,67	6,64	5,84	5,77	5,61	5,73	5,41	5,38	5,38-6,67
17-03-14	Sore	6,22	6,63	6,51	6,1	6,59	6,18	6,27	6,19	6,5	6,63	6,53	6,51	6,59	6,5	6,1-6,63
9	Pagi	6,72	6,66	6,63	6,33	5,92	6,26	6,62	6,77	6,62	6,67	6,55	6,7	5,77	6,46	5,77-6,77
18-03-14	Sore	6,86	6,36	6,04	6,5	6,27	6,54	6,67	6,4	6,41	6,78	6,43	6,05	5,81	6,26	5,81-6,86
10	Pagi	6,7	6,58	6,61	6,2	6,34	6,76	6,25	6,3	6,22	6,54	6,36	6,28	5,79	6,28	5,79-6,76
19-03-14	Sore	6,47	6,27	6,5	6,47	6,44	6,06	6,28	6,34	6,33	6,42	6,23	6,42	6,36	6,68	6,06-6,68
11	Pagi	7,52	5,46	5,11	6,34	5,84	5,44	6,34	5,56	5,5	5,48	5,35	5,5	5,53	5,35	5,11-7,52
20-03-14	Sore	5,85	5,85	5,67	6,26	6,1	6,06	6,07	6,01	5,98	6,31	5,88	5,67	6,37	6,45	5,67-6,45
12	Pagi	6,73	5,89	5,81	6,29	5,96	6,12	6,24	5,98	5,82	5,75	5,85	6,32	5,81	6,41	5,75-6,73
21-03-14	Sore	6,6	6,5	5,62	6,1	6,14	5,84	6,46	6,55	6,44	5,71	5,93	6,43	5,33	6,54	5,33-6,6
13	Pagi	6,71	6,32	6,28	6,23	6,19	6,38	6,5	6,29	6,37	6,2	6,24	6,19	6,33	6,15	6,15-6,71
22-03-14	Sore	6,68	6,45	6,59	6,36	6,27	6,38	6,41	6,36	6,42	6,47	6,2	6,18	6,55	6,35	6,18-6,68

14	Pagi	5,52	5,55	5,58	6,76	6,74	6,62	6,86	6,79	6,75	6,81	6,73	6,64	6,82	6,65	5,52-6,86
23-03-14	Sore	6,73	5,89	5,81	6,29	5,96	6,12	6,24	5,98	5,82	5,75	5,85	6,32	5,81	6,41	5,75-6,73
Kisaran Nilai DO																5,02-7,52



Lampiran 10. Foto Kegiatan



Penimbangan berat ginjal Ikan Mas (*C. carpio*)



Pengamatan makrofag



Sentrifuge suspensi makrofag



Pemberian mikroba *Aeromonas hydrophila* ke



Pencucian objek glass dengan larutan RPMI FBS



Pengamatan aktivitas fagositosis