

**PENGARUH PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN SILASE DAUN
MENGKUDU (*Morinda citrifolia*) PADA FORMULASI PAKAN TERHADAP
HISTOPATOLOGI IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

Oleh :

**ARIF YANUAR SETIAWAN
NIM. 0710850003**



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

**PENGARUH PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN SILASE DAUN
MENGKUDU (*Morinda citrifolia*) PADA FORMULASI PAKAN TERHADAP
HISTOPATOLOGI IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

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

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

Oleh :

**ARIF YANUAR SETIAWAN
NIM. 0710850003**



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

**PENGARUH PEMBERIAN IMUNOSTIMULAN SILASE DAUN
MENGKUDU (*Morinda citrifolia*) PADA FORMULASI PAKAN TERHADAP
HISTOPATOLOGI IKAN SIDAT (*Anguilla bicolor*) YANG DIINFEKSI
BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh :
ARIF YANUAR SETIAWAN
NIM. 0710850003

Telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 19 Juni 2014
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

MENYETUJUI,

DOSEN PENGUJI I

(MUHAMMAD FAKHRI, SPi. MP. MSc)

NIK. 860717 08 1 1 0092

TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING I

Prof. Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS)

NIP. 19611106 198602 2 001

TANGGAL :

DOSEN PEMBIMBING II

(Ir. ELLANA SANOESI, MP)

NIP. 19630924 199803 2 002

TANGGAL :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Dr. Ir. Arning W. Ekawati, Ms
NIP. 19620805 1986032 001
TANGGAL :

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui lembar ini saya ucapkan banyak terima kasih untuk orang-orang yang sangat berarti dalam hidup saya dan juga dalam penyelesaian laporan skripsi ini, antara lain kepada:

- ❖ Bapak dan Ibuku tercinta atas kesabaran, motivasi, dorongan yang kuat, kebijaksanaan, do'a dan banyak materi yang telah diberikan untuk penyelesaian studi SI ini.
- ❖ Saudara-saudaraku (Mas Andri, Mbak Pita, Mas Aris dan Mas Adit) yang telah memberikan do'a dan dukungannya.
- ❖ Almarhummah Bu Vivi selaku pemimpin proyek penelitian ini yang telah banyak memberikan bantuan, bimbingan dan semangat. Semoga amal beliau diterima dan mendapat tempat yang Mulia disisi Allah SWT, Amin.
- ❖ Sahabatku program studi Budidaya Perairan angkatan 2007, Teman-teman seperjuangan saat penelitian (Fuad, Fajar, Zeny, Dwi, Dini, Ana dan Prista) yang penuh semangat dan canda tawa. Dan Yona Rachela Terimakasih atas motivasi dan bantuannya.
- ❖ Para laboran yang telah membantu saya dan memberikan motivasi untuk segera menyelesaikan tugas saya sebagai mahasiswa, diantaranya adalah Pak Yit, Dm Udin, dan Mbak Titin.
- ❖ Kepada semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terimakasih atas bantuan dan dukungannya semoga Allah SWT membalas lebih untuk kebaikan yang telah diberikan kepada saya.

RINGKASAN

Arif Yanuar Setiawan. Pengaruh Pemberian Imunostimulan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Formulasi Pakan terhadap Histopatologi Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ir. Ellana Sanoesi, MP**

Besarnya potensi pengembangan budidaya ikan sidat (*Anguilla bicolor*) untuk memenuhi kebutuhan domestik maupun ekspor menyebabkan intensifikasi semakin menjadi pilihan. Intensifikasi budidaya tersebut sering menyebabkan menurunnya kondisi lingkungan yang akhirnya menimbulkan masalah berupa timbulnya penyakit. Salah satu bakteri penyebab penyakit serius pada budidaya ikan air tawar khususnya ikan sidat adalah *Aeromonas hydrophila*. Alternatif dalam penanganan bakteri tersebut adalah dengan menggunakan bahan alami yang bisa digunakan sebagai imunostimulan, yaitu senyawa yang dapat merangsang aktifitas kekebalan tubuh. Salah satu yang bisa digunakan adalah dengan pemanfaatan silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam formula pakan ikan, dengan cara substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian silase daun mengkudu (*M. citrifolia*) dalam formula pakan terhadap gambaran histopatologi usus dan hati ikan sidat (*A. bicolor*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Laboratorium Workshop Budidaya Perairan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang pada 24 Desember 2011 – 10 Mei 2012.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, yang hasilnya dianalisis secara deskriptif. Perlakuan yang diberikan adalah pemanfaatan imunostimulan silase daun mengkudu dalam dosis yang berbeda yaitu K (0%); A (10%); B (20%) dan C (30%) pada formula pakan sidat (*A. bicolor*). Parameter utama yang diamati yaitu histopatologi hati dan usus ikan setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* selama 48 jam. Parameter penunjang yaitu pengamatan patologi klinis serta kualitas air, meliputi; suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada histopatologi usus ikan sidat pada perlakuan K (0%) terlihat struktur jaringan mengalami kerusakan yang lebih parah dibandingkan dengan perlakuan A (10%), B (20%), dan C (30%), hal tersebut bisa dilihat dari jenis kerusakan dan besarnya kerusakan pada jaringan. Kerusakan yang terjadi akibat terinfeksi *A. hydrophila* pada perlakuan K (0%) yaitu edema, inflamasi, nekrosis, dan hemoragi dalam jumlah kerusakan yang lebih besar. Perlakuan A (10%) menunjukkan adanya edema, hemoragi, inflamasi dan nekrosis dengan tingkat kerusakan yang lebih ringan dari perlakuan K (0%) dan C (30%). Pada perlakuan B (20%) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang paling ringan dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Jenis kerusakan jaringan yang ditimbulkan hanya sedikit dan dalam jumlah yang kecil, yaitu nekrosis dan edema. Perlakuan C (30%) tingkat kerusakannya lebih berat dibanding dengan perlakuan B dan A karena sel mengalami kerusakan lebih banyak. Kerusakan yang terjadi pada jaringan hati ikan perlakuan C antara lain adalah nekrosis, inflamasi, dan edema.

Hasil histopatologi hati ikan sidat perlakuan K (0%), terlihat struktur jaringan mengalami kerusakan yang lebih parah dibandingkan dengan perlakuan

A (10%), B (20%), dan C (30%), hal tersebut terlihat dari besarnya kerusakan pada jaringan. Kerusakan yang ditemukan akibat terinfeksi bakteri pada perlakuan K (0%) yaitu nekrosis, inflamasi, dan hemoragi dalam jumlah kerusakan yang lebih besar. Perlakuan A (10%) mengalami nekrosis, hemoragi, inflamasi dan kongesti. Perlakuan B (20%) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang paling ringan, jenis kerusakan jaringan yang ditimbulkan hanya sedikit dan dalam jumlah yang kecil, yaitu nekrosis dan hemoragi. Perlakuan C (30%) tingkat kerusakannya lebih berat dibanding dengan perlakuan B dan A karena sel mengalami kerusakan lebih banyak. Kerusakan yang terjadi pada jaringan hati ikan perlakuan C antara lain adalah nekrosis, inflamasi, hemoragi.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa pemanfaatan silase daun mengkudu dalam formula pakan memberikan pengaruh terhadap gambaran histopatologi usus dan hati ikan sidat (*A. bicolor*) setelah diinfeksi *A. hydrophila*. Berdasarkan hasil tersebut dapat disarankan bahwa untuk meningkatkan sistem imun ikan sidat (*A. bicolor*) dan mencegah kerusakan jaringan yang lebih besar akibat serangan *A. hydrophila* adalah dengan memanfaatkan silase daun mengkudu (*M. citrifolia*) dalam formula pakan sebesar 20%.



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyajikan skripsi yang berjudul **“Pengaruh pemberian Imunostimulan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*) pada Formulasi Pakan terhadap Histopatologi Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan masukan dan arahan mulai dari penyusunan proposal hingga selesainya laporan skripsi ini, beliau adalah:

1. Prof. Dr. Ir. Sri Handayani, MS selaku dosen pembimbing 1
2. Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing 2

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis maka apabila ada kekurangan dalam pembuatan laporan skripsi ini, penulis mengharapkan saran dan kritik yang sifatnya membangun demi sempurnanya tulisan ini. Penulis berharap semoga laporan penelitian skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkannya.

Malang, 22 April 2014

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|-------------|
| RINGKASAN | i |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI | iv |
| DAFTAR GAMBAR | vi |
| DAFTAR TABEL | vii |
| DAFTAR LAMPIRAN | viii |
| 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 5 |
| 1.4 Kegunaan Penelitian | 6 |
| 1.5 Hipotesis | 6 |
| 1.6 Tempat dan Waktu | 6 |
| 2. TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| 2.1 Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) | 7 |
| 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi | 7 |
| 2.1.2 Habitat dan Siklus Hidup | 9 |
| 2.1.3 Penyebaran dan Sumberdaya Ikan Sidat di Indonesia | 10 |
| 2.1.4 Pakan dan Kebiasaan Makan | 11 |
| 2.1.5 Pertumbuhan Ikan Sidat | 12 |
| 2.1.6 Kelulushidupan Ikan Sidat | 13 |
| 2.2 Tanaman Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) | 14 |
| 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi | 14 |
| 2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan | 15 |
| 2.2.3 Komposisi Kimia Tanaman Mengkudu | 16 |
| 2.2.4 Penggunaan Daun Mengkudu Sebagai Pakan Ternak | 17 |
| 2.2.5 Silase Daun Mengkudu | 18 |
| 2.3 Formulasi Pakan Ikan | 20 |
| 2.4 Kebutuhan Nutrisi Ikan Sidat | 21 |
| 2.4.1 Protein | 21 |
| 2.4.2 Lemak | 22 |
| 2.4.3 Karbohidrat | 23 |
| 2.4.4 Vitamin | 24 |
| 2.4.5 Mineral | 25 |
| 2.5 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> | 25 |
| 2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi | 25 |
| 2.5.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan | 26 |
| 2.5.3 Habitat dan Daerah Sebaran | 27 |
| 2.5.4 Patogenitas <i>Aeromonas hydrophila</i> | 28 |
| 2.5.5 Infeksi <i>Aeromonas hydrophila</i> | 29 |
| 2.6 Leukosit | 30 |

| | |
|--|-----------|
| 2.7 Sistem Imun Ikan | 31 |
| 2.8 Imunostimulan | 32 |
| 2.9 Histopatologi..... | 36 |
| 2.10 Usus | 37 |
| 2.11 Hati | 38 |
| 2.12 Patologi Klinis..... | 39 |
| 2.13 Kualitas Air | 39 |
| 2.6.1 Suhu | 40 |
| 2.6.2 pH..... | 40 |
| 2.6.3 Oksigen Terlarut (DO)..... | 41 |
| 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN | 42 |
| 3.1 Materi Penelitian | 42 |
| 3.1.1 Bahan-bahan Penelitian | 42 |
| 3.1.2 Alat-alat Penelitian..... | 42 |
| 3.2 Metode Penelitian | 43 |
| 3.3 Rancangan Percobaan | 43 |
| 3.4 Prosedur Penelitian..... | 46 |
| 3.4.1 Persiapan Penelitian | 46 |
| 3.4.2 Pelaksanaan Penelitian | 47 |
| 3.5 Parameter Penelitian..... | 51 |
| 3.5.1 Parameter Utama..... | 51 |
| 3.5.2 Parameter Penunjang..... | 52 |
| 3.6 Analisis Data | 52 |
| 4. HASIL DAN PEMBAHASAN | 53 |
| 4.1 Histopatologi Usus dan Hati Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) | 53 |
| 4.1.1 Histopatologi Usus Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) | 53 |
| 4.1.2 Histopatologi Hati Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) | 61 |
| 4.2 Perubahan Patologi Klinis..... | 68 |
| 4.3 Kualitas Air | 71 |
| 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 75 |
| DAFTAR PUSTAKA | |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|--|---------|
| 1. Ikan Sidat (<i>A. bicolor</i>)..... | 26 |
| 2. Siklus Hidup Ikan Sidat (<i>A. bicolor</i>) | 10 |
| 3. Tanaman Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>)..... | 14 |
| 4. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> | 26 |
| 5. Tata Letak atau Denah Percobaan..... | 46 |
| 6. Irisan Melintang Usus Ikan Normal, Perbesaran 100x..... | 53 |
| 7. Irisan Melintang Usus Perlakuan K (0 %) Setelah Infeksi..... | 55 |
| 8. Irisan Melintang Usus Perlakuan A (10 %) Setelah Infeksi..... | 55 |
| 9. Irisan Melintang Usus Perlakuan B (20 %) Setelah Infeksi | 56 |
| 10. Irisan Melintang Usus Perlakuan C (30 %) Setelah Infeksi | 56 |
| 11. Irisan Melintang Hati Ikan Normal, Perbesaran 400x..... | 61 |
| 12. Irisan Melintang Hati Perlakuan K (0 %) Setelah Infeksi | 63 |
| 13. Irisan Melintang Hati Perlakuan A (10 %) Setelah Infeksi | 63 |
| 14. Irisan Melintang Hati Perlakuan B (20 %) Setelah Infeksi | 63 |
| 15. Irisan Melintang Hati Perlakuan C (30 %) Setelah Infeksi | 64 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|---|---------|
| 1. Bagian Tanaman, Jenis Senyawa Fitokimia, dan Manfaat Tanaman Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) | 17 |
| 2. Perbandingan Kandungan Karoten pada <i>Morinda citrifolia</i> , <i>Brassica chinensis</i> dan <i>Colocasia esculenta</i> | 17 |
| 3. Kandungan Nutrisi Daun Mengkudu Segar dan Silase Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) | 19 |
| 4. Kelebihan dan Kekurangan dari Metode Pemberian Imunostimulan..... | 35 |
| 5. Komposisi Bahan Pakan Percobaan | 45 |
| 6. Formula Pakan Percobaan | 45 |
| 7. Perbedaan Patologi Klinis Ikan Sidat (<i>A. bicolor</i>) Saat Diinfeksi..... | 69 |
| 8. Rata-rata Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Media Penelitian Ikan Sidat (<i>A. bicolor</i>) Selama Penelitian | 72 |



DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|---|---------|
| 1. Gambar Alat dan Bahan Penelitian | 86 |
| 2. Bagan Pembuatan Silase | 89 |
| 3. Bagan Pembuatan Ransum Pakan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>)..... | 90 |
| 4. Hasil Analisis Proksimat Pakan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>)..... | 91 |
| 5. Data Pengukuran Suhu Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 92 |
| 6. Data Suhu Pagi Media Pemeliharaan Ikan sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 95 |
| 7. Data Suhu Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla Bicolor</i>) Selama Penelitian | 97 |
| 8. Data Pengukuran pH Media Pemeliharaan Ikan Sidat(<i>Anguilla Bicolor</i>) Selama penelitian | 99 |
| 9. Data pH Pagi Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) selama Penelitian | 102 |
| 10. Data pH Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 104 |
| 11. Data Pengukuran DO Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 106 |
| 12. Data DO Pagi Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 109 |
| 13. Data DO Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (<i>Anguilla bicolor</i>) Selama Penelitian | 111 |

1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan permintaan produk perikanan untuk kebutuhan domestik maupun ekspor untuk saat ini telah menempatkan sektor perikanan pada posisi yang penting. Salah satu jenis ikan yang laku di pasar internasional adalah ikan sidat (*Anguilla sp.*), ikan ini menjadi makanan primadona yang harganya sangat mahal. Pusat informasi pengolahan dan pemasaran hasil perikanan Kementerian Kelautan dan Perikanan mencatat permintaan sidat untuk kebutuhan supermarket di beberapa kota besar di Indonesia mencapai 3 ton/bulan, tetapi selama ini yang terpenuhi baru sekitar 10%. Kebutuhan sidat di pasar internasional jauh lebih besar, bisa mencapai 300.000 ton/tahun. Khusus pasar Jepang kebutuhan sidat mencapai 100.000 ton/tahun dan 60.000 ton diantaranya masih diimpor dari luar negeri (Wijaya, 2013). Sedangkan menurut Dahuri (2013), di dunia kebutuhan sidat mencapai 400.000 ton tetapi supplainya baru 270.000 ton, jadi tidak seimbang antara kebutuhan dan ketersediaannya. Hal tersebut menyebabkan ikan sidat sangat potensial dibudidayakan di Indonesia.

Besarnya potensi pengembangan budidaya ikan sidat untuk memenuhi kebutuhan domestik maupun ekspor menyebabkan intensifikasi semakin menjadi pilihan. Intensifikasi budidaya tersebut sering menyebabkan menurunnya kondisi lingkungan yang akhirnya menimbulkan masalah berupa timbulnya penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri selain dapat menyebabkan kematian massal juga mengganggu kualitas ikan dengan menurunkan mutu daging ikan sehingga tidak disukai oleh konsumen. Beberapa kasus wabah penyakit akibat infeksi bakteri telah menyebabkan pembudidaya ikan mengalami kerugian besar, oleh karena itu penanganan penyakit perlu mendapat perhatian serius (Gardenia *et al.*, 2010).

Aeromonas hydrophila merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit serius pada budidaya ikan air tawar. Bakteri tersebut dapat menginfeksi ikan pada semua ukuran yang dapat menyebabkan kematian sampai 90%, sehingga mengakibatkan kerugian yang sangat besar dalam usaha budidaya ikan air tawar (Sanoesi, 2008^a). Serangan bakteri ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres yang disebabkan oleh penurunan kualitas air, kekurangan pakan atau penanganan ikan yang kurang baik (Kordi, 2004).

Walaupun lingkungan telah dikondisikan sebaik mungkin dan benih ikan telah disterilisasi dari penyakit-penyakit infeksi bawaan, tetapi penyakit sangat mudah timbul dalam kondisi pemeliharaan yang intensif. Bila kemudian tidak ditangani secara baik dan sistematis, maka bisa dipastikan kemungkinan mortalitas 100% akan terjadi pada kondisi tersebut. Penggunaan antibiotik sebagai terapi pengobatan memang telah banyak membantu, namun ternyata juga menimbulkan efek yang negatif, diantaranya yang paling berbahaya adalah timbulnya penyakit baru yang kebal terhadap pengobatan konvensional (Ellis, 1988 *dalam* Barlianto, 2008).

Pengobatan dengan antibiotik akan membawa efek samping jika digunakan dalam jangka waktu lama, karena bakteri akan resisten terhadap antibiotik yang digunakan. Selain itu vaksin atau antibiotik ini hanya manjur bagi satu jenis penyakit tertentu dan bukan tidak mungkin ikan yang telah divaksin atau diberi antibiotik ini dengan mudah diserang oleh bakteri atau penyakit lain. Oleh karena itu perlu dicari alternatif baru untuk penanggulangan penyakit ikan. Upaya untuk meningkatkan kekebalan tubuh ikan sendiri tanpa ada pengaruh samping akhir-akhir ini sudah mulai dikembangkan. Pengkajian baru yang masih perlu perlakuan yang cermat ini menggunakan "*immunostimulant*", yaitu senyawa

yang dapat merangsang aktifitas kekebalan tubuh. Immunostimulan merupakan bahan kimia, obat atau stressor yang bekerja dengan cara meningkatkan pertahanan non spesifik (Hastuti dan Ruslan, 2007).

Tanaman mengkudu merupakan salah satu tanaman tropika yang cukup banyak ditemukan diberbagai tempat. Secara keseluruhan daun mengkudu mengandung zat nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh seperti protein, vitamin dan mineral. Daun mengkudu mengandung protein, khususnya asam amino essensial dan non essensial, vitamin (provitamin A, vitamin A, vitamin C, vitamin B5, vitamin B1, vitamin B2) dan mineral (Ca, P, Se, Fe). Mengkudu mengandung alkaloid penting yaitu Proxeronin (jenis asam koloid yang tidak mengandung gula, asam amino atau asam nukleat dengan bobot molekul lebih dari 16.000) dalam jumlah besar. Xeronin ini membantu memperluas lubang usus kecil sehingga memudahkan proses penyerapan makanan, memperbaiki tugas kelenjar tiroid dan timus yang penting untuk kekebalan tubuh dan perlawanan menghadapi infeksi dari luar, mengaktifkan enzim-enzim dan mengatur fungsi protein di dalam sel (Djauhariya, 2003). Daun mengkudu mengandung antrakuinon, glikosida sebagai anti kanker (Djauhariya *et al.*, 2006).

Senyawa-senyawa yang mempunyai prospek cukup baik yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya dari golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin. Hasil test secara *in vitro* dari flavonoid golongan flavones dan flavonols telah menunjukkan adanya respon imun (Holiman *et al.*, 1996). Senyawa yang mempunyai bioaktifitas sebagai immunostimulan agen adalah golongan senyawa polisakarida, terpenoids, alkaloid dan polifenol (Wagner, 1985).

Hasil penelitian Astuti (2012), menunjukkan bahwa silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam pakan merupakan bahan yang potensial untuk digunakan sebagai agen immunostimulan pada ikan sidat yang terinfeksi bakteri

A. hydrophila karena dapat meningkatkan jumlah sel darah putih dan diferensial leukosit yang sangat berperan dalam respon imun non-spesifik.

Dengan demikian berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa mengkudu dapat digunakan sebagai imunostimulan. Diperlukan upaya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh pemberian silase daun mengkudu yang dicampurkan dalam pakan dengan dosis berbeda terhadap infeksi bakteri *A. hydrophila* pada ikan sidat dan seberapa besar pengaruhnya pada struktur jaringan usus dan hati melalui pengamatan histopatologi.

Menurut Hibiya (1982), tujuan dari pengamatan histologi dan histopatologi adalah untuk mendiagnosa penyakit dari perubahan patologi pada jaringan. Murdjani (2002) juga menyebutkan histopatologi dapat mendeteksi organ target spesifik, sel dan organella serta bermanfaat untuk membedakan luka yang disebabkan oleh racun dan struktur normal.

1.2 Rumusan Masalah

Dalam kegiatan budidaya, kegagalan yang dialami biasanya terjadi dikarenakan terserangnya penyakit. Penyakit yang sering menyerang adalah dari golongan bakteri, salah satunya yang mematikan adalah bakteri *A. hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* termasuk bakteri yang sering menyebabkan wabah pada ikan yang dibudidayakan maupun ikan yang hidup bebas pada air tawar.

Usaha pengendalian penyakit bakterial pada budidaya ikan sidat selama ini masih bertumpu pada penggunaan bahan kimia dan obat-obatan antibiotik. Penggunaan obat-obatan atau antibiotik mempunyai beberapa keuntungan bila tepat diagnosis dan dosisnya, mudah didapat dan efeknya lebih cepat teramati, tetapi penggunaan obat-obatan atau antibiotik secara terus-menerus akan menimbulkan masalah, yaitu timbulnya resistensi, adanya residu pada tubuh ikan, dan mencemari lingkungan yang akhirnya mematikan organisme lain. Hal

ini dapat dieliminasi dengan penggunaan imunostimulan untuk meningkatkan resistensi benih sidat melalui mekanisme sistem imun alamiah, dengan teknik pemberian imunostimulan melalui pakan (oral).

Daun mengkudu merupakan salah satu bahan pakan alternatif yang dapat digunakan untuk pakan ikan sidat karena mengandung nutrisi lengkap, alkaloid lengkap dan polisakarida yang akan bergabung dengan banyak protein diseluruh tubuh, membantu dalam pembentukan jaringan tubuh dan memiliki senyawa antibakteri. Mengkudu juga mengandung alkaloid penting yaitu proxeronin yang nantinya berubah menjadi xeronin. Xeronin berfungsi membantu memperluas lubang usus kecil sehingga memudahkan proses penyerapan makanan, memperbaiki tugas kelenjar tiroid dan timus yang penting untuk kekebalan tubuh dan perlawanan menghadapi infeksi dari luar, mengaktifkan enzim-enzim dan mengatur fungsi protein di dalam sel (Djauhariya, 2003).

Diharapkan dengan penggunaan daun mengkudu dalam formula pakan ikan sidat dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh sidat atau meningkatkan imunostimulan sidat. Dari penelitian ini akan dilakukan pengamatan histopatologi ikan sidat (*Anguilla bicolor*) untuk mengetahui sejauh mana perubahan yang terjadi pada organ dalam (hati dan usus) akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* sesudah pemberian imunostimulan.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian silase daun mengkudu (*M. citrifolia*) dalam formula pakan terhadap gambaran histopatologi usus dan hati ikan sidat (*A. bicolor*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang penggunaan bahan alternatif dalam formula pakan ikan sidat (*A. bicolor*) yaitu menggunakan silase daun mengkudu (*M. citrifolia*) sehingga mampu meningkatkan pengembangan budidaya, khususnya solusi dalam peningkatan sistem kekebalan tubuh ikan sehingga dapat menghambat serangan bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Hipotesis

H₀ : Diduga dengan pemanfaatan imunostimulan silase daun mengkudu dengan dosis yang berbeda dalam formulasi pakan tidak memberikan pengaruh terhadap histopatologi ikan sidat yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H₁ : Diduga dengan pemanfaatan imunostimulan silase daun mengkudu dengan dosis yang berbeda dalam formulasi pakan akan memberikan pengaruh terhadap histopatologi ikan sidat yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Reproduksi, Pembenihan dan Pemuliaan Ikan, Laboratorium Workshop Budidaya Perairan, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang pada 24 Desember 2011 – 10 Mei 2012.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Deelder (1986) dalam Rovara *et al.* (2007), klasifikasi ikan sidat (*Anguilla bicolor*) (Gambar 1) adalah sebagai berikut:

| | |
|-----------|---------------------------|
| Filum | : Vertebrata |
| Sub filum | : Craniata |
| Superklas | : Gnatostomata |
| Divisi | : Pisces |
| Kelas | : Teleostomi |
| Sub kelas | : Actinopterygii |
| Ordo | : Anguilliformes |
| Sub ordo | : Anguilloidei |
| Famili | : Anguillidae |
| Genus | : <i>Anguilla</i> |
| Spesies | : <i>Anguilla bicolor</i> |



Gambar 1. Ikan Sidat (*A. bicolor*) (Mardiyah, 2010)

Sidat memang unik, tubuhnya tidak seperti kebanyakan jenis ikan air tawar atau ikan laut. Namun demikian, sidat juga memiliki kepala, perut dan ekor. Tubuhnya memanjang dengan perbandingan antara panjang dan tinggi yaitu dua puluh banding satu (20:1). Bila dipotong di bagian perut, tubuh sidat memiliki perbandingan satu banding satu antara tinggi dan lebar. Kepala sidat berbentuk

segitiga, memiliki mata, hidung, mulut dan tutup insang. Mata sidat sangat kecil, bulat dan berwarna hitam (Sasongko *et al.*, 2007).

Karena famili Anguillidae hanya terdiri atas satu genus, maka ciri-ciri famili dapat dianggap sebagai ciri-ciri genus (Deelder, 1985). Konsep ini dikemukakan oleh Berg (1949) *dalam* Deelder (1985), sebagai berikut: tubuh memanjang seperti ular, sirip punggung dan sirip dubur menyatu dengan sirip ekor. Sirip dada ada, namun sirip perut tidak ada. Tubuh diliputi oleh sisik sisik halus, Linea lateralis terbentuk dengan baik, perut jauh dari kepala, mulut terminal, rahang tidak memanjang secara khusus. Gigi kecil, pektinat dan setiform dalam beberapa sisi pada rahang dan vomer, terdapat gigi halus pada tulang faring, membentuk *oval patch* pada faring atas. Celah insang lateral vertikal berkembang dengan baik dan terpisah satu sama lainnya. Insang dalam membuka lebar, terdapat lidah, bibir tebal, tulang frontal berpasangan tetapi tidak tumbuh bersama. Palatopterygoid berkembang baik, premaksila tidak berkembang sebagai suatu elemen yang dapat dibedakan pada ikan dewasa. Lengkung pektoral terdiri dari 7-9 elemen radial (untuk yang masih muda mencapai 11), tulang ekor tanpa proses transverse.

Menurut Suitha dan Akhmad (2008), tubuh sidat memanjang dan dilapisi sisik kecil berbentuk memanjang. Susunan sisiknya tegak lurus terhadap panjang tubuhnya. Sisik biasanya membentuk pola mozaik. Sirip di bagian anus menyatu dan berbentuk seperti jari-jari yang terlihat lemah. Sirip dada terdiri atas 14-18 jari-jari sirip. Punggung sidat berwarna coklat kehitaman. Perutnya berwarna kuning hingga perak. Pergerakan ikan ini terbantu lendir yang melapisi tubuhnya. Ikan ini memiliki kemampuan mengambil oksigen langsung dari udara dan mampu bernafas menggunakan seluruh bagian kulitnya.

2.1.2 Habitat dan Siklus Hidup

Menurut Sasongko *et al.* (2007), sidat dijuluki “*deep sea water*”. Pasalnya binatang ini bisa hidup di laut dalam. Sidat juga dijuluki ikan katadromus, yaitu ikan yang dewasa berada di hulu sungai atau danau, tetapi bila sudah matang gonad akan beruaya ke laut lepas dan memijah disana. Sidat berbeda dengan ikan lain, kebanyakan ikan hanya hidup di air tawar atau hidup di air laut, tetapi sidat bisa hidup di kedua tempat itu.

Ikan sidat tumbuh di perairan tawar dan bermigrasi (ruaya) ke laut dalam untuk melakukan pemijahan. Pemijahan ikan sidat Pasifik dan di Samudra Hindia diduga terjadi di kawasan laut sekitar kedalaman 400 meter dengan suhu diatas 13°C dan salinitas 34‰ di sekitar kepulauan Bonin sampai Okinawa (Brunn, 1937; Ege, 1939; Jespersen, 1942 *dalam* Usui, 1974).

Sidat hidup di dua jenis perairan, pada fase larva hingga menjelang dewasa hidup di sungai, dan setelah dewasa menuju laut untuk bereproduksi. Selanjutnya, larva hasil pemijahan terbawa arus ke pantai dan menuju perairan tawar melalui muara sungai. Ikan ini dapat beradaptasi pada suhu 12-31°C. Nafsu makannya menurun pada suhu lebih rendah dari 12°C (Suitha dan Akhmad, 2008).

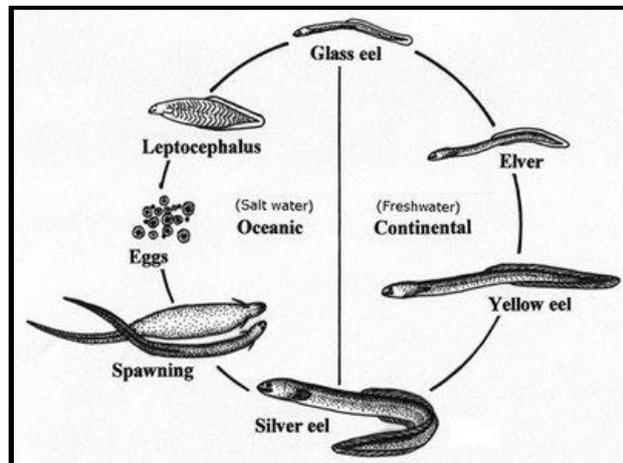
Setelah telur dikeluarkan oleh ikan sidat dewasa, telur-telur tersebut akan naik mengapung dekat permukaan air dan menetas sekitar 24 jam kemudian menjadi larva kecil (pralarva) berukuran 5 mm (Usui, 1974). Ikan planktonik kecil ini berangsur-angsur tumbuh menjadi *leptocephalus* berbentuk daun yang transparan dan hanyut dibawa arus. Selama fase pelagik (larva) *leptocephalus* mencapai ukuran tertentu dan akan mengalami metamorfosis. Setelah metamorfosis, bentuk ikan sidat kecil sudah menyerupai keseluruhan morfologi ikan sidat dewasa tetapi belum memiliki pigmen tubuh sehingga disebut *glass eel* (sidat kaca). Sidat kaca beruaya secara aktif kearah perairan tawar, mulai

mengembangkan pigmen tubuh eksternal ketika memasuki kawasan pantai. Ikan-ikan kecil yang mulai menampilkan warna tubuh ini disebut *elver* (Facey dan Avyle, 1987).

Pertumbuhan selanjutnya, ikan sidat ini mencapai ukuran besar dengan warna tubuh coklat kekuning-kuningan. Selama kehidupan di perairan tawar disebut ikan sidat tahap kuning atau coklat (*Yellow eel*) (Facey dan Avyle, 1987).

Tahap terakhir ikan sidat hidup di perairan tawar terlihat pada perubahan pigmen tubuh menjadi warna perak, sehingga disebut ikan sidat perak (*silver eel*). Ikan sidat ini siap melakukan ruaya dan selanjutnya memijah di laut dalam (Facey dan Avyle, 1987).

Secara umum, siklus hidup ikan sidat sesuai dengan tingkatannya seperti terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus Hidup Ikan Sidat (*A. bicolor*) (Jellyman, 1995)

2.1.3 Penyebaran dan Sumberdaya Ikan Sidat di Indonesia

Sidat menyebar ke seluruh penjuru dunia, termasuk eropa, Amerika, Afrika, Australia, dan Asia (Sasongko *et al.*, 2007). Indonesia paling sedikit memiliki enam jenis ikan sidat yakni *A. marmorata*, *A. celebensis*, *A. ancentralis*, *A. borneensis*, *A. bicolor bicolor* dan *A. bicolor pacifica*. Jenis ikan tersebut menyebar di daerah-daerah yang berbatasan dengan laut dalam yakni di pantai

selatan Pulau Jawa, pantai barat P. Sumatera, pantai timur P. Kalimantan, seluruh pantai P. Sulawesi, Kepulauan Maluku, Bali, Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur hingga pantai utara Papua. Ikan sidat hidup di perairan estuaria (laguna) dan perairan tawar (sungai, rawa dan danau serta persawahan) dataran rendah hingga dataran tinggi (Affandi, 2005).

Menurut Fahmi dan Rina (2010), penelitian tentang penyebaran atau distribusi ikan sidat telah banyak dilakukan, terutama di daerah subtropis, seperti *Anguilla anguilla* dari Eropa, *A. Rostrata* di Amerika dan *A. japonica* di Jepang. Sampai saat ini telah ditemukan 18 jenis sidat dengan distribusi geografi yang luas meliputi wilayah Indo-Pasifik, Atlantik, dan oseania. Jika dicermati, daerah distribusi sidat tersebut berkaitan erat dengan aliran arus panas dari daerah tropis, dimana daerah-daerah yang dilalui arus dingin tidak didiami sidat. Dari ke-18 jenis sidat, hanya 6 jenis yang mendiami subtropis. Meskipun sidat tropis memiliki jenis yang jauh lebih banyak dan merupakan asal mula sidat dunia, namun pustaka keberadaannya masih sangat kurang. Keenam jenis sidat yang mendiami perairan Indonesia adalah *A. borneensis*, *A. celebensis*, *A. interioris*, *A. obscura*, *A. bicolor*, dan *A. marmorata*. Dua jenis terakhir merupakan ikan sidat yang memiliki nilai ekonomis penting, disisi lain kedua jenis ini tersebar sangat luas (dari Samudera India hingga Samudera Pasifik).

2.1.4 Pakan dan Kebiasaan makan

Menurut Sasongko *et al.* (2007), sepanjang hidupnya terutama di air tawar, sidat bersifat karnivora yaitu hewan pemakan daging. Hewan ini akan memakan ikan dan binatang air lainnya yang berukuran lebih kecil dari bukaan mulutnya. Meskipun saat dewasa bersifat karnivora, tetapi saat sidat kecil bersifat omnivora atau pemakan segala. Larva yang baru menetas memakan mikroplankton. Walaupun secara alami sidat lebih menyukai makanan yang hidup dan bangkai, tetapi dalam pembudidayaannya dapat diberi pakan tambahan, berupa pasta.

Pasta ini dibuat dari tepung pakan khusus sidat. Ikan sidat akan mencari makan pada malam hari dan siang hari akan beristirahat serta bersembunyi di lubang-lubang tanah, akar pohon, dibalik daun tumbuh-tumbuhan air dan tempat tersembunyi lainnya. Dengan bersembunyi maka sidat akan terhindar dari musuh-musuhnya.

Pakan berfungsi sebagai sumber nutrisi dan energi yang digunakan untuk mempertahankan hidup, membangun tubuh dan proses perkembangbiakan. Informasi mengenai pakan ikan sidat di alam, dapat dipakai sebagai dasar penyusunan ransum pakan buatan. Sepanjang hidupnya, di perairan umum terutama di air tawar, ikan sidat (*Anguilla bicolor*) bersifat karnivora, ikan sidat kecil bersifat omnivora dan larva yang baru menetas makan mikroplankton. Aktivitas makan ikan sidat (*A. bicolor*) umumnya pada malam hari (nokturnal) (Rovara *et al.*, 2007).

2.1.5 Pertumbuhan Ikan Sidat

Pertumbuhan diasumsikan sebagai penambahan jaringan struktural, yang berarti penambahan (peningkatan) jumlah protein dalam jaringan tubuh. Hampir semua jaringan secara aktif mengikat asam-asam amino dan menyimpannya secara intraseluler dalam konsentrasi yang lebih besar, untuk dibentuk menjadi protein tubuh (sel-sel tubuh) (Buwono, 2000).

Effendie (1997), menjelaskan dalam pertumbuhan terjadi proses biologis yang kompleks dimana banyak faktor yang mempengaruhi diantaranya jenis pakan yang diberikan, jumlah, dan waktu pemberian pakan serta kualitas air harus optimum. Pertambahan panjang dan berat ini merupakan akibat penambahan jaringan yang terjadi melalui pembelahan sel secara mitosis. Hal ini dapat terjadi apabila terdapat kelebihan masukan energi dan asam amino (protein) yang berasal dari pakan setelah dipakai untuk metabolisme dasar,

pergerakan, produksi, organ seksual, perawatan bagian-bagian tubuh atau mengganti sel-sel yang sudah tidak terpakai.

Menurut Sarwono (1997), di alam pertumbuhan ikan sidat (*Anguilla* sp) relatif lambat, pertumbuhan ikan sidat (*A. bicolor*) budidaya berkisar 11-17 cm/tahun. Ikan sidat (*A. bicolor*) yang dipelihara di kolam dengan variasi suhu tahunan 25-30°C (Indonesia) dapat mencapai ukuran 150-200 gram/ekor dalam waktu 7-9 bulan.

Pertumbuhan benih sidat ukuran 1-2 gram selama pemeliharaan 2-3 bulan dapat mencapai ukuran 10-20 gram merupakan siap tebar untuk pembesaran. Ikan sidat mencapai ukuran konsumsi bila telah mencapai ukuran 120-500 gram adalah 8-9 bulan masa pemeliharaan (Rusmaedi *et al.*, 2010).

2.1.6 Kelulushidupan Ikan Sidat

Kelulushidupan adalah perbandingan antara jumlah individu yang hidup pada akhir percobaan dengan jumlah individu yang hidup pada awal percobaan. Kelulushidupan merupakan peluang hidup dalam suatu saat tertentu. Padat tebar yang terjadi dapat menjadi salah satu penyebab rendahnya tingkat kelangsungan hidup suatu organisme, terlihat bahwa makin meningkat padat tebar ikan maka tingkat kelangsungan hidupnya akan makin kecil (Effendie, 1997).

Faktor-faktor yang mempengaruhi sintasan ikan sidat (*A. bicolor*) antara lain kualitas air, kompetisi antar jenis, kekurangan pakan, umur serta kemampuan menyesuaikan dengan lingkungan (Purwanto, 2007).

Menurut hasil penelitian Degani dan Levanon (1983), benih ikan sidat (*Anguilla anguilla*) dengan berat $0,35 \pm 0,025$ gram dan panjang 7 cm yang ditempatkan di dalam bak fiber ukuran $2 \times 0,4 \times 0,4$ m³ dengan padat penebaran yang berbeda, tingkat kelangsungan hidup yang paling tinggi terdapat pada padat penebaran $0,3$ kg/m² yaitu sebesar $(55 \pm 4\%)$.

2.2 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Mengkudu (Gambar 3) termasuk tumbuhan keluarga kopi-kopian (Rubiaceae), berasal dari wilayah daratan Asia Tenggara. Menurut Waha dan Listyani (2000), klasifikasi mengkudu sebagai berikut :

- Filum : Angiospermae
- Subfilum : Dicotyledonae
- Divisi : Lignosae
- Famili : Rubiaceae
- Genus : *Morinda*
- Spesies : *Morinda citrifolia*



Gambar 3. Tanaman Mengkudu (Verdana, 2012)

Djauhariya (2003) menyatakan bahwa pohon mengkudu merupakan tanaman perdu, tingginya 3-8 m, banyak bercabang. Kulit batangnya berwarna coklat, cabang-cabangnya kaku dan kasar. Daun mengkudu bertangkai, berwarna hijau tua mengkilap, tebal. Duduk daun bersilang, berhadapan, berbentuk bulat, lebar sampai berbentuk ellips. Panjang daun 10-40 cm, lebar 5-17 cm, helaian daun tebal, mengkilap, tepi daun rata, ujungnya meruncing. Pangkal daun menyempit, tulang daun menyirip.

Mengkudu berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Bunganya mempunyai dua jantina yaitu jantan dan betina. Buahnya bulat, permukaannya agak berkerutu. Ketika muda buahnya berwarna hijau dan akan bertukar menjadi kuning dan akhirnya berubah warna menjadi putih apabila masak. Apabila

buahnya sudah masak berbentuk poligon seperti bentuk kentang. Dalam satu buah dapat mengandung lebih dari 300 biji. Bentuk biji pipih lonjong, berwarna hitam kecoklatan, kulit biji tidak teratur atau tidak rata (Farida, 2008).

2.2.2 Habitat dan Perkembangbiakan

Mengkudu merupakan tumbuhan tropis, dapat tumbuh diberbagai tipe lahan dan iklim pada ketinggian tempat dataran rendah, sampai 1500 m dpl (di atas permukaan laut). Kondisi lahan dan lingkungan yang sesuai untuk tanaman mengkudu adalah cukup sinar matahari, tanah agak kering sampai agak basah, subur, dan gembur, cukup bahan organik dekat dengan sumber air dan drainasenya baik, curah hujan 1500-3500 mm/tahun, ph tanah 5-7 (Djauhariya, 2003).

Tanaman mengkudu dapat beradaptasi dengan baik terhadap berbagai jenis tanah. Tanaman ini tumbuh dan berproduksi dengan baik di daerah dataran rendah sampai pada ketinggian antara 500 m dpl. Suhu udara antara 22-30°C namun masih dapat tumbuh hingga suhu udara 32°C. Mengkudu berkembang biak melalui batang dan biji benih. Mengkudu umumnya diperbanyak dengan biji yang ditabur pada persemaian. Dalam buahnya mengandung biji benih yang berwarna coklat kehitaman dan dapat bertahan selama 6 bulan. Kemudian akan bercambah setelah 3-9 minggu disemai. Tanaman tersebut akan mulai menghasilkan buah setelah lebih kurang 3 (tiga) tahun ditanam dan akan mengeluarkan buah sepanjang tahun selama lebih dari 25 tahun (Farida, 2008).

Cara perbanyakkan mengkudu dapat secara generatif dengan biji maupun secara vegetatif dengan stek, cangkok dan okulasi. Pohon yang akan dijadikan pohon induk harus diseleksi dari jenis yang unggul, cukup umur (>5 tahun), sehat, berbuah banyak dan terus menerus, ukuran buah panjang dan besar. Cara penyerbukan mengkudu sistem silang, sehingga bila pada suatu lokasi

terdiri dari banyak jenis, maka bibit hasil perbanyakan dari biji akan besar variasi morfologinya (Djauhariya, 2003).

2.2.3 Komposisi Kimia Tanaman Mengkudu

Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia*) adalah salah satu sumber suplemen yang mempunyai potensi cukup baik. Tanaman Mengkudu ini merupakan tanaman obat yang cukup potensial untuk dikembangkan. Hampir semua bagian tanaman mengkudu mengandung berbagai zat yang berguna untuk pengobatan maupun menjaga kesehatan tubuh. Daun Mengkudu mengandung protein, zat kapur, zat besi, karoten dan askorbin. Kulit akarnya mengandung senyawa morindin, morindon, aligerin-d-methyleter dan soranyideal. Senyawa-senyawa yang berperan dalam pengobatan adalah yang terdapat dalam sari buahnya antara lain *xeronin*, *proxeronin*, vitamin A, vitamin C, anti oksidant, mineral (kalium, natrium, kalsium, zat besi), protein, karbohidrat, kalori, lemak, niamin, thiamin dan ribovlavin (Bestari *et al.*, 2005).

Mengkudu mengandung alkaloid penting yaitu *Proxeronine* (jenis asam koloid yang tidak mengandung gula, asam amino atau asam nukleat seperti koloid-koloid lainnya dengan bobot molekul lebih dari 16.000). Apabila *proxeronine* di konsumsi maka kadar *xeronine* di dalam tubuh akan meningkat. Di dalam tubuh (usus) enzim *proxeronase* dan zat-zat lain akan mengubah *proxeronine* menjadi *xeronine*. Fungsi utama *xeronine* adalah mengatur bentuk dan rigiditas (kekerasan) protein-protein spesifik yang terdapat di dalam sel. *Xeronine* diserap oleh sel-sel tubuh untuk mengaktifkan protein-protein yang tidak aktif, mengatur struktur dan bentuk sel yang aktif. Secara keseluruhan mengkudu merupakan bahan makanan yang bergizi lengkap (Widayat, 2001).

Apriyantono dan Farid (2002) melaporkan bahwa bagian tanaman mengkudu mempunyai efek farmakologi seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Bagian Tanaman, Jenis Senyawa Fitokimia, dan Manfaat Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

| Bagian Tanaman | Jenis senyawa | Manfaat |
|----------------|--|--|
| Buah | Alkaloid (Xeronin). | Meningkatkan aktifitas enzim & struktur protein. |
| | Polisakarida (asam glukoronat, glikosida). | Imunostimulan, anti kanker & antibakteri dll. |
| | Scopoletin. | Memperlebar pembuluh darah, analgesic dll. |
| | Vitamin C | Antioksidan. |
| Daun | Antrakuinon (damnakantal). | Anti septic, anti bakteri, anti kanker. |
| | Glikosida (Falvonol glikosida, dll). | Anti kanker |
| Akar | Morindin, morindon | Anti bakteri, pewarna |

Sumber : Apriyantono dan Farid (2002)

Aalbersberg (1993) melaporkan bahwa kandungan karoten pada daun mengkudu lebih tinggi dibanding dengan yang terkandung pada daun cay sin (*Brassica chinensis*) dan *Colocasia esculenta* (Tabel 2).

Tabel 2. Perbandingan Kandungan Karoten pada *Morinda citrifolia*, *Brassica chinensis* dan *Colocasia esculenta*.

| Bahan tanaman | Bagian Tanaman | Karoten mg/100gr (daun segar) |
|---|----------------|-------------------------------|
| Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) | Daun | 12.40 |
| | Kulit batang | 0.86 |
| | Buah | 0.52 |
| Sawi putih (<i>Brassica chinensis</i>) | Daun | 2.40 |
| Talas loma/keladi (<i>Colocasia esculenta</i>) | Daun | 4.80 |

Sumber : Aalbersberg *et al* (1993)

2.2.4 Penggunaan Daun Mengkudu Sebagai Pakan Ternak

Penggunaan daun mengkudu yang difermentasi dengan EM-4 (*Effective Microorganism*) memberikan hasil yang lebih baik terhadap pertambahan bobot badan dan konversi pakan ayam broiler dibandingkan dengan daun mengkudu yang hanya dikeringkan dan yang diproses ensilase (Susilo *et al.*, 2005).

Daun mengkudu dapat diberikan sebagai ramuan tradisional untuk meningkatkan nafsu makan ikan mas (Sutrisno, 2007). Daun mengkudu memiliki kadar serat kasar yang tinggi. Tingginya kadar serat kasar, umumnya didominasi oleh komponen lignoselulosa (karbohidrat kompleks) yang sulit dicerna (McDonald *et al.*, 2000 *dalam* Sofyan dan Febrisiantosa, 2007). Untuk itu perlu diberi perlakuan dengan cara dibuat silase guna meningkatkan kualitas nutrisinya sehingga mudah dicerna.

2.2.5 Silase Daun Mengkudu

Silase merupakan makanan ternak yang sengaja disimpan dan diawetkan dengan proses fermentasi dengan maksud untuk mendapatkan bahan pakan yang masih bermutu tinggi serta tahan lama agar dapat diberikan kepada ternak pada masa kekurangan pakan ternak. Prinsip pengawetan ini didasarkan atas adanya proses peragian di dalam tempat penyimpanan (silo). Sel-sel tanaman untuk sementara waktu akan terus hidup dan mempergunakan O₂ yang ada di dalam silo. Bila O₂ telah habis terpakai, terjadi keadaan anaerob di dalam silo yang tidak memungkinkan bagi tumbuhnya jamur/cendawan (Hanafi, 2004).

Menurut Ennahar *et al.* (2003) *dalam* Santoso *et al.* (2011), bakteri asam laktat mempunyai peranan yang penting dalam proses fermentasi hijauan dan mempengaruhi kualitas silase yang dihasilkan. Secara alami pada hijauan terdapat bakteri asam laktat (BAL) yang hidup sebagai bakteri epifit, namun demikian populasinya rendah dan bervariasi bergantung pada spesies tanaman.

Menurut Safarina (2009), pembuatan silase secara garis besar dibagi menjadi 4 fase antara lain:

a) Fase aerob, fase ini berlangsung dalam 2 proses yaitu proses respirasi dan proses proteolisis. Kedua proses ini terjadi akibat adanya aktivitas enzim yang berada dalam tanaman tersebut sehingga menghasilkan pH sekitar 6-6,5.

Dampak negatif dari fase ini dapat dihindarkan dengan cara menutup silo sampai rapat secepat mungkin.

b) Fase fermentasi, fase ini berlangsung selama 1 minggu sampai 1 bulan dan dicapai ketika terjadi kondisi anaerob yang mengakibatkan tumbuhnya mikroba anaerob yakni bakteri asam laktat, *Enterobacteriaceae*, *clostridia*, ragi dan kapang.

c) Fase stabil, fase ini berlangsung setelah proses fermentasi tercapai dan ditandai dengan stabilnya pH silase.

d) Fase pengeluaran pakan ternak dilakukan setelah silase melewati masa simpan yang cukup dan diberikan kepada ternak. Fase ini disebut fase aerobik.

Kandungan nutrisi silase daun mengkudu lebih baik daripada daun mengkudu segar. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.

Tabel 3. Kandungan Nutrisi Daun Mengkudu Segar dan Silase Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia*)

| Komposisi Kimia | Daun Mengkudu* | Daun mengkudu segar** | Silase daun mengkudu** |
|-----------------|----------------|-----------------------|------------------------|
| Air | 89,1g | - | - |
| Bahan Kering | - | 89,947 % | 95,398 % |
| Protein | 3,9 g | 15,924 % | 19,788 % |
| Lemak | 0,6 g | 23,266 % | 20,783 % |
| Karbohidrat | 3,0 g | - | - |
| SK | - | 22,120 % | 19,814 % |
| BETN | - | 16,502 % | 21,396 % |
| Ca | 114 mg | 2,019 % | 2,406 % |
| P | 14 mg | - | - |
| Fe | 2,8 mg | - | - |
| Na | 18 mg | - | - |
| K | 234 mg | - | - |
| Karoten | 0,3 mg | - | - |
| Vitamin A | 6,3 mg | - | - |
| Vitamin B1 | 1,5 mg | - | - |
| Vitamin B2 | 0,32 mg | - | - |
| Niacin | 5,6 mg | - | - |
| Vit C | 115 mg | - | - |
| Abu | - | 12,135 % | 13,616 % |
| Energi | - | 2865,17kkal/kg | 2989,8kkal/kg |

Sumber: * (Bresson *et al.*, 2008), ** (Febriani, 2010)

2.3 Formulasi Pakan Ikan

Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, ikan harus cukup makan yang bergizi. Pakan ikan sebagian besar dipergunakan sebagai sumber tenaga dan mempertahankan kondisi. Sisanya dipakai untuk pertumbuhan badannya. Bila pakan yang dikonsumsi ikan hanya cukup untuk fungsi yang pertama, praktis ikan akan lambat pertumbuhannya (Susanto, 2008).

Di dalam budidaya ikan, formula pakan ikan harus mencukupi kebutuhan gizi ikan yang dibudidayakan, seperti protein (asam amino esensial), energi (karbohidrat), vitamin dan mineral. Mutu pakan akan tergantung pada tingkatan dari bahan gizi yang dibutuhkan oleh ikan. Pakan bermutu umumnya tersusun dari bahan baku pakan (*feedstuffs*) yang bermutu, yang dapat berasal dari berbagai sumber dan sering kali digunakan karena sudah tidak lagi dikonsumsi oleh manusia. Pemilihan bahan baku tersebut tergantung pada kandungan bahan gizinya, kecernaannya (*digestibility*) dan daya serap (*bioavailability*) ikan, tidak mengandung anti nutrisi dan zat racun, tersedia dalam jumlah banyak dan harga relatif murah. Umumnya bahan baku berasal dari material tumbuhan dan hewan. Ada juga beberapa yang berasal dari produk samping atau limbah industri pertanian atau peternakan (Herry, 2008).

Menurut Masyamsir (2001), dalam membuat pakan buatan untuk ikan, hal pertama yang harus dipertimbangkan adalah persyaratan baku untuk pakan, yaitu:

- a) bahan baku pakan tidak boleh bersaing dengan bahan makanan manusia. Bila manusia banyak membutuhkannya, bahan baku ini tidak boleh diberikan kepada ikan.
- b) bahan baku ini harus tersedia dalam waktu lama, atau ketersediaannya harus kontinyu. Bahan baku yang pada suatu saat ada dan kemudian lenyap harus dihindari.

c) harga bahan baku; walaupun bisa digunakan, tetapi bila harganya mahal maka penggunaan bahan atau peran bahan baku itu sebagai bahan baku sudah tersisihkan. Sebenarnya murah atau mahalnya bahan baku itu harus dinilai dari manfaat bahan itu, yang merupakan cermin dari kualitas bahan tersebut.

d) kualitas gizi bahan baku, menjadi persyaratan penting lainnya. Walaupun harganya murah, banyak terdapat di Indonesia, dan ketersediaannya kontinu tetapi bila kandungan gizinya buruk, tentu bahan baku ini tidak dapat digunakan.

2.4 Kebutuhan Nutrisi Ikan Sidat

Zat gizi merupakan faktor penting dalam budidaya ikan, ditinjau dari segi biologis, zat gizi berperan sebagai sumber materi dan energi untuk mendukung sintasannya. Seperti jenis ikan lain, sidat membutuhkan zat gizi berupa lemak, protein, karbohidrat, vitamin dan mineral.

2.4.1 Protein

Menurut Sumeru dan Suzy (2005), protein merupakan senyawa organik kompleks, tersusun atas banyak asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Protein sangat penting bagi tubuh, karena zat ini mempunyai fungsi sebagai bahan-bahan dalam tubuh serta sebagai zat pembangun dan pengatur.

Kebutuhan protein untuk ikan dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti ukuran ikan, temperatur air, rata-rata pemberian pakan (*feeding rate*), ketersediaan dan kandungan gizi pakan, keseluruhan kandungan energi yang dapat dicerna oleh ikan dan mutu protein tersebut. Mutu protein tergantung pada kuantitas dan kualitas asam amino esensial yang terkandung di dalamnya serta daya serapnya (*bioavailability*). Protein yang dicerna oleh ikan digunakan sebagai sumber energi untuk pembaruan/mengganti jaringan yang rusak dan pertumbuhan ikan (Herry, 2008).

Sidat dewasa membutuhkan pakan berkadar protein 45%, sedangkan larva membutuhkan pakan berkadar protein 50% (Suitha dan Akhmad, 2008). Untuk sidat lokal *Anguilla bicolor* kadar protein optimalnya adalah 45% (Affandi, 1996 dalam Samsudin dan Armen, 2000).

2.4.2 Lemak

Lemak berfungsi sebagai sumber energi dan membantu penyerapan mineral-mineral tertentu (terutama kalsium) serta vitamin-vitamin yang terlarut dalam lemak (vitamin, A, D, E, K) dalam kaitannya dengan pakan buatan penggunaan lemak berpengaruh terhadap rasa dan tekstur pakan yang dibuat. Lemak juga mempunyai peranan dalam proses metabolisme dan pertumbuhan ikan (Sahwan, 2001).

Menurut Herry (2008), lemak merupakan senyawa organik yang penting untuk penyusunan membran sel pada tanaman, hewan dan mikroba. Lemak merupakan senyawa tidak larut air tetapi dapat larut pada pelarut nonpolar (bukan air), seperti eter dan alkohol. Fungsi lemak secara umum adalah:

- Sumber energi metabolisme, *adenosine triphosphate* (ATP). Lemak memiliki energi kira-kira dua kali lebih tinggi dari energi protein dan karbohidrat.
- Sumber asam lemak esensial (EFA) yang berperan penting untuk pertumbuhan dan pertahanan.
- Komponen penting pada membran sel dan subsel.
- Sumber steroids yang berperan penting terhadap fungsi biologi seperti pemeliharaan sistem membran, transport lipid, dan prekursor hormon steroid.

Kadar lemak dalam pakan buatan tidak boleh berlebihan. Kelebihan lemak pada pakan dapat menimbulkan kerugian pada pakan maupun pada ikan budidaya. Walaupun penggunaan lemak berpengaruh terhadap rasa dan tekstur pakan. Namun kandungan lemak yang berlebihan pada pakan akan

mempengaruhi mutu pakan, yaitu mudah mengalami oksidasi dan menghasilkan bau tengik (Kordi, 2010).

Kebutuhan lemak pada ikan sidat adalah > 4%, kadar lemak dalam pakan sebanyak 4-6 % memenuhi kebutuhan asam lemak essensial untuk rainbow trout, ikan mas, salmon dan ikan sidat. Jumlah minyak yang digunakan untuk pakan ikan sidat pada suhu air 23-30 °C adalah antara 7-10 % (Takeuchi, 1972 dalam Kamil, 2000).

2.4.3 Karbohidrat

Kandungan serat kasar dalam pakan tidak lebih dari 21%, karena bila terlalu banyak atau terlalu tinggi justru dapat mengganggu daya cerna dan daya serap dalam sistem pencernaan ikan (Buwono, 2000).

Menurut Sahwan (2001), karbohidrat merupakan zat sumber energi dan pada umumnya berasal dari tumbuh-tumbuhan yang pembentukannya melalui proses fotosintesis dengan bantuan sinar matahari. Dalam formula pakan, karbohidrat termasuk kelompok yang sering disebut (NFE) (*Nitrogen Free Extract*).

Karbohidrat merupakan sumber energi yang murah dan dapat menggantikan sumber energi protein yang lebih mahal. Penggunaan karbohidrat untuk menggantikan protein dan lemak sebagai sumber energi dapat dimaksimalkan untuk mengurangi biaya pakan, karena sumber energi karbohidrat lebih ekonomis, dan mudah dicerna dan dimanfaatkan oleh ikan. Sumber karbohidrat seperti tapioka, terigu, alginat, agar, karagenan dan gum dapat juga digunakan sebagai perekat pakan untuk menjaga stabilitas kandungan air pada pakan ikan dan udang (Herry, 2008).

Ikan sidat membutuhkan karbohidrat dalam jumlah yang relatif lebih sedikit dalam pakannya jika dibandingkan dengan kebutuhan protein. Kecernaan

karbohidrat pada ikan sidat menurun ketika kadar karbohidrat dalam pakan meningkat. Secara umum kandungan karbohidrat dalam pakan buatan untuk ikan sidat lokal berkisar antara 20-40% (Affandi, 1996 *dalam* Kamil, 2000).

2.4.4 Vitamin

Menurut Hariati (1989), vitamin adalah zat organik yang diperlukan tubuh dalam jumlah sedikit, tetapi penting untuk mempertahankan tubuh normal. Vitamin ini harus didapatkan dari pakan karena tubuh sendiri tidak dapat membuatnya. Hal ini diperjelas dengan pernyataan Sahwan (2001), vitamin dibutuhkan dalam jumlah yang relatif sedikit, terutama untuk menjaga kesehatan dan pertumbuhan tubuh ikan.

Vitamin berperan penting dalam reaksi spesifik metabolisme tubuh, proses pertumbuhan dan kehidupan normal. Kekurangan salah satu jenis atau lebih macam makanan dalam makanan dapat menghambat pertumbuhan ikan atau terjadinya kemunduran yang disebut penyakit defisiensi vitamin (Murtidjo, 2001).

Fungsi utama vitamin secara umum adalah: (1) sebagai bagian dari enzim atau ko-enzim sehingga dapat mengatur berbagai proses metabolisme; (2) mempertahankan fungsi berbagai jaringan tubuh; (3) mempengaruhi pertumbuhan dan pembentukan sel-sel baru dan (4) membantu dalam pembuatan zat-zat tertentu dalam tubuh (Kordi, 2010).

Vitamin memegang peranan penting dalam proses metabolisme ikan. Vitamin dibutuhkan oleh ikan untuk pertumbuhan normal, *maintenance* dan reproduksi. Seperti halnya pada hewan lain, defisiensi suatu vitamin pada ikan akan menimbulkan gejala sakit. Hashimoto *et al.* (1970) *dalam* Samsudin dan Armen (2000) mengemukakan bahwa kekurangan vitamin pada ikan sidat akan menimbulkan hilangnya nafsu makan, pertumbuhan lambat, dan pendarahan pada sirip. Vitamin yang ditambahkan pada pakan ikan sidat umumnya sebesar 1% dari total komponen pakan.

2.4.5 Mineral

Fungsi utama mineral adalah sebagai komponen utama dalam struktur gigi dan tulang *eksoskeleton*, menjaga keseimbangan asam-basa, menjaga keseimbangan tekanan osmosis dengan lingkungan perairan, struktur dari jaringan dan sebagai penerus dalam sistem syaraf dan kontraksi otot, fungsi metabolisme, sebagai komponen utama dari enzim, vitamin, hormon, pigmen dan sebagai enzim aktivator (Kordi, 2010).

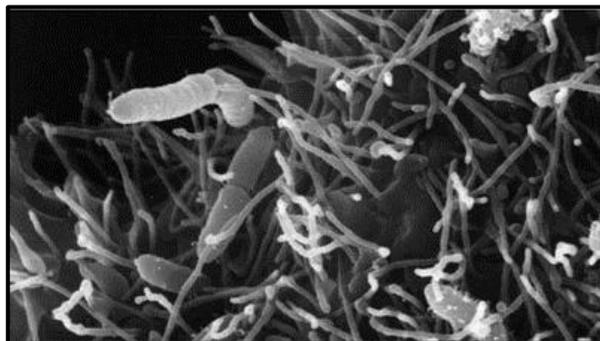
Mineral sangat dibutuhkan oleh ikan sidat, kekurangan mineral dalam pakan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan. Ikan sidat yang diberi pakan yang miskin mineral akan menunjukkan pertumbuhan yang lambat, munculnya gejala lordose, terganggunya kemampuan berenang dan mortalitas yang tinggi. Gejala tersebut akan muncul hingga kadar mineral dalam pakan mencapai 1%. Mineral yang dibutuhkan oleh ikan sidat antara lain Ca, Mg, dan beberapa unsur mikro seperti Cu, I, Fe, Mn dan Zn (Arai, 1988 *dalam* Kamil, 2000).

2.5 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.5.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi bakteri *A. hydrophila* (Gambar 4) menurut Buchanan dan Gibbon (1974), adalah sebagai berikut:

- Filum : Protophyta
- Kelas : Schizomycetes
- Ordo : Pseudomonadales
- Sub ordo : Pseudomonadineae
- Famili : Aeromonadaceae
- Genus : *Aeromonas*
- Spesies : *Aeromonas hydrophila*



Gambar 4. Bakteri *A. hydrophila* (Bima, 2009)

Secara bakteriologi, *A. hydrophila* adalah berbentuk batang, berdiameter 0,3-1,0 μm dan panjang 1,0-3,5 μm , bersifat gram negatif, fakultatif aerobik (dapat hidup dengan atau tanpa oksigen), tidak berspora, bersifat motil (bergerak aktif) karena mempunyai satu flagel (*monotrichous flagella*) yang keluar dari salah satu kutubnya. Biokimia *A. hydrophila* merupakan bakteri yang dapat menghidrolisis esculin dan menfermentasi salisin dan arabinose, bakteri ini bersifat resisten terhadap antibiotik jenis ampicilin, carbenicilin dan cephalotin (Popoff dan Vernon, 1976 dalam Sanoesi, 2008^b). Koloninya berbentuk bulat. Tepi rata, cembung dan berwarna kuning keputih-putihan (krem) dengan diameter 2-3 mm pada inkubasi selama 48 jam dalam suhu 25^oC (Sarono *et al.*, 1993).

Dinding sel bakteri gram negatif mengandung lebih sedikit peptidoglikan (10-20 persen bobot kering dinding sel), tetapi diluar lapisan peptidoglikan, ada struktur membran kedua yang tersusun dari protein dan lipopolisakarida (Volk dan Wheeler, 1993).

2.5.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

A. hydrophila adalah bakteri fakultatif anaerob. Pada kondisi aerob, bakteri ini mengoksidasi asam amino, sedangkan pada kondisi anaerob metabolit yang terjadi bersifat fermentasi, dan energi diproduksi dengan cara memecah gula menjadi asam organik (Fardiaz, 1992). Bakteri *A. hydrophila* juga bersifat

heterotropik yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik (Breed *et al.*, 1957 dalam Malan, 2011).

Bakteri *A. hydrophila* berkembang biak secara aseksual, yaitu dengan cara memanjangkan sel yang diikuti dengan pembelahan inti yang disebut pembelahan biner. Waktu yang diperlukan untuk membelah satu sel menjadi dua sel kurang lebih 10 menit (Volk and Wheeler, 1993).

Pertumbuhan bakteri terdiri atas beberapa fase yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase statis, fase menuju kematian dan fase kematian. Fase adaptasi adalah fase dimana terjadi penyesuaian dan lamanya tergantung pada kondisi lingkungan serta belum terjadi pembelahan sel. Memasuki fase pertumbuhan awal sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah. Pertumbuhan akan semakin cepat dan konstan pada fase logaritmik. Fase berikutnya adalah fase pertumbuhan lambat dimana terjadi pertumbuhan yang tidak stabil, jumlah populasi masih meningkat karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati. Selanjutnya terjadi pertumbuhan yang tetap dimana antara jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Karena kondisi nutrien yang terus berkurang, lingkungan dari organisme yang tidak mendukung untuk berkembang, maka akan terjadi kematian yang semakin lama semakin banyak yang dikenal dengan fase kematian (Dwijoseputro, 1998).

Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* adalah 28⁰C dan tetap dapat tumbuh sampai suhu 37⁰C (Woo dan Bruno, 1999). Bakteri dapat tumbuh dengan kisaran pH 5,5-9,0 (Bonang dan Koeswardono, 1982).

2.5.3 Habitat dan Daerah Sebaran

Bakteri A. hydrophila tersebar luas di perairan umum dan mempunyai kemampuan untuk hidup serta berkembang dengan kisaran kondisi lingkungan yang lebar. Bakteri ini menyerang hampir semua jenis hewan air seperti amphibi,

ikan, moluska dan reptil, bahkan menyerang juga organisme berdarah panas seperti sapi dan manusia (Hazen *et al.*, 1978).

Di daerah tropis dan sub tropis kandungan bahan organik tinggi dibandingkan dengan daerah dingin, dan di daerah ini penyakit *Haemorrhagic* pada umumnya muncul pada musim kemarau (panas), karena pada musim kemarau kandungan bahan organik tinggi. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* banyak menyerang ikan di daerah tropis dan sub tropis dibandingkan dengan di daerah dingin karena di daerah tropis dan sub tropis kandungan bahan organik lebih tinggi dibandingkan dengan di daerah dingin (Bullock *et al.*, 1971 dalam Sanoesi, 2008^b).

Menurut Kabata (1985), bakteri ini ditemukan didalam insang, kulit, ginjal, hati dan jantung serta ada didalam air. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini juga dikenal dengan nama *infectious dropsy*, *red disease*, *red pest*, dan lain-lain.

2.5.4 Patogenitas *Aeromonas hydrophila*

Menurut Prajitno (2005), pengertian umum dari patogenitas adalah kemampuan suatu organisme (bakteri) menimbulkan Penyakit atau menginfeksi suatu penyakit. Sifat patogenik dari *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 yang tinggi.

Kehadiran bakteri patogen dalam air budidaya mungkin bersifat laten, tetapi karena sesuatu hal dapat terjadi perubahan dari laten menjadi patogenik, antara lain karena adanya perubahan dalam: konsentrasi oksigen, konsentrasi karbondioksida, amonia, kandungan materi organik, dan populasi mikroba (Irianto, 2005).

Tingkat patogenitas bakteri terhadap inang berbeda-beda, dipengaruhi oleh faktor pertahanan tubuh inang dalam melawan patogen dan faktor patogenitas yang ada pada bakteri patogen, seperti kemampuan memproduksi

toksin, enzim, mengatasi ketahanan inang dan kecepatan berkembang biak (Istiqomah *et al.*, 2004 *dalam* Sanoesi, 2008^b). *A. hydrophila* menghasilkan enzim galatinase, kaseinase, elastase, lipase dan deoksiribonuklease disamping juga haemolysin, sitotoksin dan enterotoksin (Inglis, 2004 *dalam* Sanoesi, 2008^b).

A. hydrophila termasuk kedalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses infasi dan infeksi. Sebagai faktor-faktor virulensi, kitinase, lestinase, dan hemolisin yang dihasilkan oleh *A. hydrophila*, bekerja dengan mendegradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang (Del Coral *et al.*, 1990 *dalam* Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

2.5.5 Infeksi *Aeromonas hydrophila*

Menurut Irianto (2005), Manajemen pengelolaan yang buruk seringkali menjadi faktor utama munculnya wabah penyakit. Penanganan yang kasar atau kurang hati-hati dapat menyebabkan rusaknya kulit atau lapisan mukus. Kerusakan kulit atau lapisan mukus akan mempermudah invasi agensia patogenik. Pada dasarnya *A. hydrophila* merupakan oportunist karena penyakit yang disebabkan mewabah pada ikan-ikan yang mengalami stres atau pada pemeliharaan dengan padat tebar tinggi.

Baik di alam maupun dalam kegiatan budidaya ikan, infeksi bakteri dapat menyebabkan kematian besar. Infeksi bakteri dapat melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian akan masuk kedalam pembuluh darah dan menyebar pada organ dalam lainnya yang menyebabkan pendarahan disertai *haemorrhagic septicemia* (Bullock *et al.*, 1971 *dalam* Sanoesi, 2008^b).

A. hydrophila sebelum melakukan infeksi, terlebih dahulu akan melakukan penempelan kedalam *host cell*. Proses ini disebut adhesi, yaitu proses dimana

mikroba menempelkan diri secara stabil kedalam sel dengan menggunakan flagel. Faktor virulen dalam mikroba beradaptasi dalam sel host/inang dan memantapkan keberadaannya. Faktor adaptasi dari mikroba ini sangat berpengaruh terhadap kerusakan sel/jaringan. Semakin tinggi tingkat adaptasi sel maka semakin parah kerusakan sel/jaringan. Faktor virulen dari bakteri dapat dibedakan menjadi exoenzim, toksin dan faktor anti fagosit. Beberapa mikroba mempunyai kemampuan untuk menghindari fagositosis. Umumnya bakteri mengeluarkan leukocidin, yang merupakan bahan kimia yang toksik terhadap sel darah. Bakteri juga mampu mengeluarkan extraseluler yang melapisi bagian membran luar bakteri. Hal inilah yang menyulitkan sel-sel fagosit mengenali bakteri, sehingga bakteri mampu menginfeksi sel inang dengan mudah (Talaro dan Arthur, 1999 *dalam* Hainindra, 2008).

Bakteri ini dapat menyebar secara cepat jika padat penebaran tinggi yang bisa mengakibatkan kematian sampai 90%. Penyakit pada ikan dapat timbul karena adanya interaksi inang, jasad pathogen dan kondisi lingkungan yang tidak seimbang (Kabata, 1985). Adapun gejala infeksi yang disebabkan oleh *Aeromonas* yaitu:

- Terdapat bercak-bercak merah dibagian kulit, kadang-kadang diikuti kerusakan pada sirip, insang dan kulit.
- Lendir berkurang dengan cepat sehingga tubuh terasa kasar dan warna tubuh menjadi pucat.
- Berenang sangat lemah.

2.6 Leukosit

Leukosit (sel darah putih) merupakan sel-sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan. Sel ini berfungsi membersihkan tubuh dari benda asing. Jumlah leukosit pada ikan berkisar 120.000 – 150.000 sel/mm³. Leukosit terdiri

atas dua macam sel yaitu agranulosit dan granulosit. Agranulosit terdiri atas limfosit, trombosit dan monosit, sedangkan sel granulosit terdiri atas netrofil, eosinofil dan basofil (Purwanto, 2006).

Leukosit merupakan salah satu sel darah yang mempunyai peran sangat penting dalam sistem kekebalan ikan. Leukosit sangat berbeda dari eritrosit karena memiliki kemampuan bergerak bebas dan mampu keluar dari pembuluh darah menuju jaringan dan melakukan fungsinya. Jumlah leukosit yang menyimpang dari keadaan normal mempunyai arti klinik penting dalam mengevaluasi gangguan kesehatan. Jumlah leukosit akan meningkat secara pesat dalam waktu singkat apabila terjadi suatu penyakit infeksi (Iwama dan Nakanishi, 1996).

Fungsi leukosit dalam sistem tubuh sangat penting. Eusinofil adalah anggota leukosit yang merupakan fagosit lemah, sedangkan netrofil dan monosit merupakan fagosit kuat. Mekanisme fagositosis oleh neutrofil dilakukan dengan mendekati partikel yang akan difagositosis dengan cara mengeluarkan kaki-kaki semu (pseudopodia) ke segala arah sekitar partikel, satu sama lain saling bersatu pada tempat yang berlawanan. Satu neutrofil dapat memfagosit 5-20 bakteri, sebelum neutrofil menjadi aktif dan mati. Monosit mempunyai struktur yang lebih besar dari neutrofil dan dapat memfagosit partikel yang lebih besar serta mengalami pematangan menjadi makrofag yang dapat memfagosit sampai 100 bakteri (Stoskopf, 1993 *dalam* Hainindra, 2008).

2.7 Sistem Imun Ikan

Menurut Zahrah (2010), imunitas atau kekebalan adalah sistem mekanisme pada organisme yang melindungi tubuh terhadap pengaruh biologis luar dengan mengidentifikasi dan membunuh patogen serta sel tumor. sistem imun dibedakan menjadi dua, yaitu sistem kekebalan alami (imun non spesifik)

dan sistem kekebalan didapat (spesifik). Sistem kekebalan alami yaitu pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi serangan berbagai mikroorganisme atau benda asing lain (respon langsung terhadap antigen). Sistem imun didapat yaitu hanya dapat menghancurkan benda asing yang sudah dikenal sebelumnya.

Ikan seperti hewan pada umumnya, memiliki mekanisme pertahanan diri terhadap patogen. Sistem pertahanan tersebut terdiri dari sistem pertahanan konstitutif dan karena diinduksi (Ellis, 1999 *dalam* Hainindra, 2008). Sistem pertahanan konstitutif menjalankan perlindungan secara umum terhadap invasi flora normal, kolonisasi, infeksi dan penyakit infeksi yang disebabkan oleh patogen. Sistem pertahanan konstitutif dikenal pula sebagai sistem pertahanan *innate* (bawaan/alami). Imunitas non spesifik mempunyai beberapa komponen. Komponen seluler imunitas non spesifik berupa sel-sel sitotoksik alami, granulosit (neutrofil, sel-sel eosinofilik bergranula) dan sel-sel monosit atau turunan makrofag. Adapun komponen humoralnya yaitu komplemen, transferin, lektin, interferon, protein reaktif-C, profenoloksidase, faktor pembeku dan sejumlah enzim pertahanan (Hainindra, 2008). Adapun sistem pertahanan yang diinduksi atau didapat, maka untuk berfungsi dengan baik harus diinduksi antara lain dengan pemaparan pada patogen atau produk-produk yang berasal dari patogen (misalnya: LPS, vaksin). Sistem pertahanan yang diinduksi meliputi pula respon imun terhadap patogen penyebab infeksi (Irianto, 2005).

2.8 Imunostimulan

Imunostimulan adalah senyawa kimia yang mengaktifkan sel darah putih (leukosit) dan karena itu dapat membuat hewan mampu lebih resisten oleh infeksi virus, bakteri, fungi dan parasit (Raa, 2000). Dijelaskan oleh Robertsen (1999), bahwa imunostimulan adalah senyawa yang dapat merangsang aktivitas

pertahanan tubuh. Keistimewaan imunostimulan dibandingkan vaksinasi adalah sifatnya yang tidak spesifik, artinya bahan tersebut mampu merangsang peningkatan ketahanan ikan dan udang terhadap penyakit.

Salah satu kemampuan imunostimulan adalah dapat meningkatkan ketahanan tubuh non spesifik yaitu dengan meningkatnya sel-sel fagositosis. Sel-sel fagositosis ini berfungsi melakukan fagositosis terhadap benda-benda asing yang masuk ke tubuh inang. Fagositosis merupakan mekanisme pertahanan tubuh non-spesifik yang secara umum dapat melindungi adanya serangan penyakit (Secombes, 1994).

Adapun mekanisme kerja imunostimulan dalam meningkatkan fungsi sel-sel fagositosis tersebut seperti yang diterangkan oleh Jawetz *et al.* (1982), yaitu apabila imunostimulan masuk ke dalam tubuh maka imunostimulan akan merangsang makrofag untuk memproduksi interleukin yang akan mengaktifkan sel limfosit yang kemudian membelah menjadi limfosit T dan limfosit B. Selanjutnya limfosit T akan memproduksi interferon yang mampu mengaktifkan kembali makrofag, sehingga dapat memfagosit bakteri, virus, dan partikel asing lainnya yang masuk ke dalam tubuh.

Raa (2000) menjelaskan bahwa penggunaan imunostimulan dapat memperbaiki kesehatan dan performa dari peternakan hewan termasuk ikan dan udang pada akuakultur, bila digunakan ketika:

- a. Kondisi yang diketahui akan menimbulkan stress (seperti penanganan ikan, perubahan temperature dan kondisi lingkungan, ketika larva akan menerima makanan buatan)
- b. Ada dugaan akan terpapar mikroorganisme patogen dan parasit (misalnya ketika musim-musim tertentu dimana penyakit biasanya timbul atau ketika kondisi pemeliharaan dalam kepadatan yang tinggi)

- c. Fase-fase perkembangan ketika hewan biasanya sangat rentan terserang penyakit (misalnya fase larva pada udang dan ikan, pematangan gonad)

Keuntungan penggunaan imunostimulan adalah:

- a. Mengurangi kematian berkaitan patogen oportunistik

Patogen oportunistik dapat menyebabkan penyakit dan kematian ketika inangnya sedang dalam kondisi lemah atau stress, mikroorganisme seperti itu dapat mengganggu kondisi ikan, walaupun keadaan lingkungan dan pakan baik, dan ikan tidak menunjukkan gejala klinik penyakit.

- b. Melindungi dari serangan virus

Mengembangkan vaksin untuk melawan serangan virus sangat butuh waktu dan mahal, dan tidak realistis untuk membuat produk vaksin efektif untuk segala jenis serangan virus yang dapat menyerang spesies yang berbeda-beda pada suatu kegiatan akuakultur. Imunostimulan dapat mengurangi rata-rata kematian yang terjadi bila digabungkan dengan pemeliharaan dan pakan yang baik.

- c. Mengurangi kematian ikan pada tahap larva/benih

Benih ikan biasanya sangat rentan terserang penyakit dan sering menjadi obyek serangan patogen oportunistik pada hatchery-hatchery. Ikan muda tidak memiliki sistem kekebalan yang sempurna (Ellis, 1988 *dalam* Raa, 2000) dan hanya bergantung pada mekanisme pertahanan non spesifik/alami/bawaan.

- d. Meningkatkan kemampuan substansi anti mikroba

Telah dibuktikan bahwa imunostimulan dapat bereaksi secara sinergis dengan antibiotik dalam mencegah infeksi pada manusia dan ikan. Penggunaan imunostimulan yang dikombinasikan dengan bahan-bahan anti mikrobial untuk pengobatan patut dipertimbangkan, ketika penyakit mulai berkembang atau sebelumnya untuk mengantisipasi serangan penyakit.

- e. Meningkatkan daya tahan terhadap parasit dan dapat meningkatkan kemampuan vaksin.

Kondisi pemeliharaan yang berbeda-beda telah memberikan cara-cara yang berbeda dalam penerapan imunostimulan. Metode dasar yang digunakan adalah melalui penyuntikan, perendaman dan oral (Hainindra, 2008). Metode penyuntikan dan perendaman cocok hanya pada kondisi pemeliharaan yang intensif, metode ini membutuhkan penanganan ekstra terhadap ikan. Tetapi cara ini membutuhkan tenaga yang lebih besar, makan waktu dan menjadi tidak praktis ketika berat ikan kurang dari 15 gr. Pemberian imunostimulan melalui oral, adalah metode yang paling ekonomis, cocok diterapkan pada budidaya ekstensif, dalam pelaksanaannya tidak menimbulkan stres pada ikan dan memungkinkan pelaksanaan secara masal berkenaan dengan ukuran ikan (Galindo dan Hosokawa, 2004). Perbedaan ketiga metode disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Kelebihan dan Kekurangan dari Tiga Metode Pemberian Imunostimulan

| Metode | Kelebihan | Kekurangan |
|---------------|---|--|
| Penyuntikan | Cara imunostimulan paling manjur. Paling hemat untuk ikan besar. | Sangat berguna untuk pemeliharaan intensif. Butuh kerja lebih. Potensi ikan untuk stres tinggi (ketika dibius atau penanganan). Berat ikan harus >10-15 g. |
| Perendaman | Memungkinkan untuk imunostimulan ikan kecil (<5g). Metode paling ekonomis, pelaksanaan perendaman non-stressing. | Cocok untuk intensif akuakultur. Kemampuan dibawah metode injeksi. Pengangkatan dari bak perendaman berpotensi menimbulkan stres. |
| Oral | Satu-satunya cara yang tidak berpotensi menimbulkan stres. Memungkinkan untuk digunakan pada imunostimulasi masal untuk ikan ukuran berapapun. Tidak membutuhkan banyak tenaga dan biaya. | Keampuan rendah. Membutuhkan banyak bahan imunostimulan untuk mencapai tingkat proteksi. |

Sumber: Galindo dan Hosokawa (2004)

Senyawa-senyawa yang mempunyai prospek cukup baik yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya dari golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin. Hasil test secara *in vitro* dari flavonoid golongan flavones dan flavonols telah menunjukkan adanya respon imun (Holiman *et al.*, 1996). Menurut Wagner (1985), senyawa yang mempunyai bioaktifitas sebagai imunostimulan agen adalah golongan senyawa polisakarida, terpenoids, alkaloid dan polifenol.

2.9 Histopatologi

Menurut Bevelander dan Ramaley (1988) *dalam* Firdaus (2009), histologi berasal dari bahasa Yunani (histos yaitu jaringan) adalah suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan serta tumbuhan secara terperinci, dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan.

Pengamatan patologi anatomi merupakan salah satu cara untuk melihat sejauh mana kerusakan suatu jaringan atau organ dan perubahan-perubahan yang terjadi akibat suatu penyakit tertentu. Patologi adalah ilmu yang mempelajari sebab, sifat dan perjalanan penyakit, mempelajari baik perubahan anatomi maupun perubahan fungsional dari suatu penyakit (Djojopranoto, 1963).

Analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme (Martinez dan Marina, 2007 *dalam* Setyowati, 2013).

2.10 Usus

Usus merupakan segmen terpanjang dari saluran pencernaan. Pada bagian depan usus terdapat dua saluran yang masuk ke dalamnya, yaitu saluran yang berasal dari kantung empedu (*ductus choledochus*) dan yang berasal dari pancreas. Pada ikan-ikan yang pancreasnya menyebar pada organ hati (hepatopankreas) hanya terdapat satu saluran yaitu *ductus choledochus* (Fujaya, 2004).

Adanya saluran empedu (*ductus choledachus*) dan saluran pankreas yang bermuara ke bagian usus depan menunjukkan bahwa di segmen usus depan masih terjadi proses pencernaan. Keadaan usus yang panjang, villi-villi yang ukurannya cukup tinggi serta membentuk jaringan dan adanya mikrovilli pada sel-sel kolumnar/enterosit menunjukkan adanya pelipat gandaan luas permukaan usus. Ditunjang oleh kenyataan bahwa sel yang dominan di segmen usus tersebut adalah enterosit yang berfungsi untuk menyerap zat-zat makanan, maka jelaslah bahwa usus merupakan tempat terjadi proses penyerapan zat makanan (Handajani, 2012).

Menurut Stoskopf (1993) dalam Firdaus (2009), struktur sistem pencernaan ikan mirip dengan vertebrata darat dan pola histologinya juga sama. Lapisan mukosa terdiri dari lapisan epitel yang berisi jaringan ikat longgar atau yang disebut lamina propria. Dibawah lamina propria adalah mukosa muskularis. Tiga lapisan tunika mukosa didukung oleh jaringan ikat tunika submukosa, dan dikelilingi oleh tunika muskularis.

Lapisan mukosa usus tersusun oleh selapis sel epitelium dengan bentuk prisma. Pada lapisan ini terdapat tonjolan-tonjolan (villi) membentuk sarang tawon pada usus bagian depan dan lebih beraturan pada usus bagian belakang. Bentuk sel yang umum ditemukan pada epitelium usus adalah enterosit dan mukosit. Enterosit merupakan sel paling dominan dan diantara enterosit terdapat

mukosit. Jumlah mukosit semakin meningkat ke arah bagian belakang usus (Fujaya, 2004).

2.11 Hati

Hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini umumnya merupakan suatu kelenjar yang kompak, berwarna merah kecoklatan tersusun oleh sel-sel hati (hepatosit) (Fujaya, 2004). Posisi hati pada ikan-ikan sangat bervariasi. Pada ikan sidat (*Anguilla anguilla*) hati terletak dibawah esofagus dan di belakang jantung. Organ ini menutupi esofagus dan sebagian kecil usus depan. Disekitar hati terdapat organ berbentuk kantung kecil bulat, oval atau memanjang dengan warna hijau kebiruan, organ ini dinamakan kantung empedu (Handajani, 2012).

Hati merupakan organ penting yang memiliki sejumlah fungsi antara lain membantu pencernaan melalui produksi enzim-enzim pemecah lemak dan menjadi tempat penyimpanan lemak serta karbohidrat. Hati juga penting karena perannya dalam menghancurkan sel-sel darah yang tua, menjaga keseimbangan kimiawi darah dan berperan dalam ekskresi nitrogen (Irianto, 2005).

Hati merupakan organ vital yang berfungsi sebagai detoksifikasi dan mensekresikan bahan kimia yang digunakan untuk proses pencernaan. Hati berperan penting dalam proses metabolisme dan transformasi bahan pencemar dari lingkungan. Dengan demikian hati merupakan organ yang paling banyak mengakumulasi zat toksik sehingga mudah terkena efek toksik. Sebagian zat toksik yang masuk kedalam tubuh setelah diserap oleh sel akan dibawa ke hati oleh vena porta hati, sehingga hati berpotensi mengalami kerusakan. Dengan adanya zat toksik maka dapat mempengaruhi struktur histologi hati sehingga dapat mengakibatkan patologis hati seperti pembengkakan sel, rangkaian

nekrosis atau bridging necrosis, degenerasi intralobular dan fokal nekrosis, fibrosis dan cirrhosis (Setyowati *et al.*, 2013).

2.12 Patologi Klinis

Tanda-tanda klinis infeksi *A. hydrophila* bervariasi, tetapi umumnya ditunjukkan adanya hemoragik pada kulit, insang, rongga mulut dan borok pada kulit yang dapat meluas ke jaringan otot. Sering pula tanda-tanda klinis ditunjukkan dengan terjadinya eksoptalmia, ascites, pembengkakan limpa dan ginjal. Secara histopatologis tampak terjadinya nekrosis pada limpa, hati, ginjal dan jantung. Seringkali ditandai oleh penampakan sel-sel bakteri pada jaringan-jaringan tersebut (Irianto, 2005).

Menurut Kordi (2004), ikan yang terserang bakteri ini biasanya memperlihatkan gejala-gejala berupa: warna tubuh ikan menjadi gelap, kemampuan berenang menurun, mata ikan rusak dan agak menonjol, sisik terkuak, seluruh siripnya rusak, insang berwarna merah keputihan, insang rusak sehingga sulit bernapas, kulit ikan menjadi kasar dan timbul pendarahan selanjutnya diikuti dengan luka borok, perut ikan kembung (*drops*), dan apabila dilakukan pembedahan maka akan kelihatan pendarahan pada hati, ginjal dan limpa.

2.13 Kualitas Air

Air menjadi kebutuhan utama dalam budidaya ikan. Selain sebagai media internal, air juga sebagai media eksternal bagi ikan. Sebagai media internal, air sebagai pengangkut bahan pakan dan memperlancar metabolisme dalam tubuh ikan. Sebagai media eksternal, air berfungsi sebagai habitat ikan (Wiyanto dan Rudi, 2007).

Kegunaan air bagi organisme hidup harus memenuhi berbagai persyaratan, baik fisik, kimia maupun biologis. Dari segi fisik air merupakan

tempat hidup dan menyediakan ruang gerak bagi organisme di dalamnya. Dari segi kimia air sebagai pembawa unsur hara, mineral dan gas-gas esensial. Dari segi biologis air merupakan media yang baik untuk kegiatan biologis dalam pembentukan dan penguraian bahan-bahan organik. Dalam suatu kegiatan budidaya perairan, kualitas air merupakan salah satu faktor yang memegang peranan penting karena organisme hidup dalam perairan tersebut. Kualitas air yang diuji meliputi faktor fisika dan kimia, diantaranya adalah suhu, kandungan oksigen terlarut dan pH (Subarijanti, 2000).

2.13.1 Suhu

Suhu adalah kapasitas panas. Pengukuran suhu sebaiknya secara siklus harian dengan termometer, sehingga suhu yang terukur benar-benar akurat tanpa banyak dipengaruhi oleh suhu sekitarnya (Sutisna dan Ratno, 1995).

Suhu air sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan ikan. Secara umum laju pertumbuhan dan laju metabolisme meningkat sejalan dengan kenaikan suhu sampai batas tertentu yang dapat menekan kehidupan ikan dan bahkan menyebabkan kematian (Mintardjo *et al.*, 1984).

Suhu air yang dibutuhkan untuk pemeliharaan ikan sidat 12 – 29°C (Bleeker *dalam* Liviawaty dan Afrianto, 1998). Menurut Sarwono (1997), suhu air sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan sidat dan berpengaruh pula terhadap aktivitas makanannya, hingga sidat memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi pada suhu air antara 28-30 °C. Pada suhu tersebut aktivitas makan sidat memang paling baik.

2.13.2 pH

pH (singkatan dari *puissance negatif de H*) yaitu logaritma dari kepekatan ion-ion H (hidrogen) yang terlepas dalam suatu cairan. Derajat keasaman (pH)

adalah suatu ukuran dari konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan suasana air tersebut bereaksi asam atau basa (Kordi dan Andi, 2007).

Subarijanti (2000) menyatakan bahwa secara alami pH dipengaruhi oleh konsentrasi CO₂ dan senyawa yang bersifat asam. Udang maupun ikan sensitif terhadap perubahan pH, pH yang optimum untuk pertumbuhan organisme air sekitar 6,5-8,5. Perubahan pH berkaitan dengan kandungan oksigen dalam air. Pada siang hari jika oksigen naik akibat hasil fotosintesis maka pH juga akan naik. Menurut Cheng dan Fang (1986) dalam Herianti (2005), pH optimal untuk budidaya ikan sidat (*Anguilla bicolor*) berkisar antara 6,5-8,0.

2.13.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan perubahan mutu air paling penting bagi kehidupan organisme air. Oksigen terlarut dalam air pada konsentrasi tertentu dapat diserap oleh *haemosianin* dalam pembuluh darah *lamella* insang akibat perbedaan tekanan parsial. Oksigen yang diserap kemudian dimanfaatkan dalam proses metabolisme baik untuk pembentukan sel baru (pertumbuhan) dan untuk penggantian sel yang hilang (Asmawi, 1986).

Menurut Marcel (1975) dalam Herianti (2005), oksigen minimal yang dibutuhkan oleh ikan sidat sekitar 3,0 ppm. Bila kurang dari itu maka akan mengurangi nafsu makan sehingga laju pertumbuhan ikan akan menurun.

3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

a. Pemeliharaan ikan uji

Ikan yang digunakan dalam penelitian (Lampiran 1) adalah ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Berat ikan yang digunakan adalah 5 gram/ekor, dengan standar deviasi 0,25 gr sebanyak 252 ekor (tiap akuarium diisi 21 ekor). Bahan-bahan lain yang digunakan dalam pemeliharaan ikan uji adalah air tawar sebagai media ikan, plastik hitam sebagai pembungkus akuarium, kertas label, tali rafia, tissue, plastik bening pembungkus pakan.

b. Pembuatan Pakan Ikan Uji

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan pakan ikan (Lampiran 1) yaitu tepung silase daun mengkudu, tepung ikan, tepung yuyu, tepung keong, tepung tapioka, minyak cumi, vitamin dan mineral mix serta progol. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah kertas label, plastik, dan air tawar.

c. Penginfeksian

Bakteri yang digunakan adalah *Aeromonas hydrophila* kepadatan 10^7 sel/ml, bakteri diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dengan kepadatan awal 10^8 sel/ml.

e. Bahan untuk pengawetan hati dan usus

Bahan yang digunakan adalah hati dan usus ikan sidat, larutan formalin 10%, kertas label, tissue, dan alkohol 70%.

3.1.2 Alat-alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian (Lampiran 1) yaitu timbangan digital dengan ketelitian 0,01 gr, ember plastik, toples plastik, oven, loyang, mesin penggiling tepung, ayakan, heater air, alat pencetak pelet, akuarium

ukuran 80x40x40 cm³, regulator, selang aerasi, batu aerasi, pipa PVC, blower, selang air, nampan, seser, filter akuarium, pompa akuarium, heater akuarium, thermometer, DO meter, pH meter, penggaris, anco, pipet tetes, tabung reaksi, botol film, toples kaca kapasitas 2 liter, aerator, pisau, sectio set.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yaitu penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab-akibat melalui pemanipulasian variabel independen (misalnya: treatment) dan menguji perubahan-perubahan yang diakibatkan oleh pemanipulasian tadi (Subana dan Sudrajat, 2005)

Pada dasarnya tujuan daripada eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberi perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung dan pengamatan langsung (Nazir, 1983).

3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam atau homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Karena media homogen, maka media atau tempat percobaan tidak mempengaruhi pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Model untuk RAL adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, \dots, t \quad ; \quad j = 1, 2, \dots, r$$

Keterangan:

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

μ = nilai tengah umum atau konstanta / rata-rata harapan

T_i = pengaruh taraf perlakuan

ϵ_{ij} = pengaruh kesalahan (galat) percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Dalam penelitian ini menggunakan 4 (empat) perlakuan formulasi pakan pada tingkat penggunaan tepung silase daun mengkudu yang berbeda. Formulasi pakan ditentukan berdasarkan komposisi kimia semua bahan penyusun pakan percobaan yang akan digunakan. Setelah ikan sidat diberi perlakuan selama 45 hari, kemudian dilakukan uji tantang dengan dipapar menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml pada seluruh perlakuan, setelah itu diamati perbedaan histopatologi usus dan hati.

Formula pakan yang digunakan adalah isoprotein 40% dan isoenergi 3,6 kkal/g. Perbandingan yang dipakai dalam penggunaan sumber protein bahan antara tepung ikan : tepung keong : tepung yuyu = 75% : 15% : 10%. Berdasarkan perhitungan dari perbandingan sumber protein bahan yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa maksimal protein tepung silase daun mengkudu yang bisa di substitusi terhadap protein tepung ikan adalah 30%.

Perlakuan yang diberikan adalah substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan, dengan rincian sebagai berikut:

K = Perlakuan dengan substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 0 % (0:100).

A = Perlakuan dengan substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 10 % (10:90).

B = Perlakuan dengan substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 20 % (20:80).

C = Perlakuan dengan Substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 30 % (30:70).

Formulasi pakan ditentukan berdasarkan komposisi kimia masing-masing bahan penyusun pakan percobaan yang digunakan (Tabel 5) dan formula pakan percobaan (Tabel 6).

Tabel 5. Komposisi Bahan Pakan Percobaan

| Jenis Bahan | Kadar Kering (%) [*] | Protein (%) [*] | Lemak (%) [*] | Kadar Abu (%) [*] | Serat Kasar (%) [*] | BETN (%) ^{**} | Energi (kal/g) ^{***} |
|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| Tepung keong | 89,12 | 66,62 | 1,02 | 20,33 | 0 | 1,15 | 280,26 |
| Tepung yuyu | 90,48 | 30,88 | 0,79 | 31,39 | 0 | 27,42 | 240,31 |
| Tepung ikan | 91,03 | 70,17 | 1,91 | 16,37 | 0 | 2,58 | 308,19 |
| Tepung silase daun mengkudu | 91,68 | 22,40 | 3,43 | 11,78 | 15,35 | 38,72 | 275,35 |
| Tepung tapioka | 84,03 | 0,19 | 0,97 | 0,07 | 0,76 | 82,04 | 337,65 |
| Progol | 89,40 | 1,79 | 0,37 | 11,66 | 1,48 | 74,1 | 306,89 |

Keterangan :

* : Hasil Analisis Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

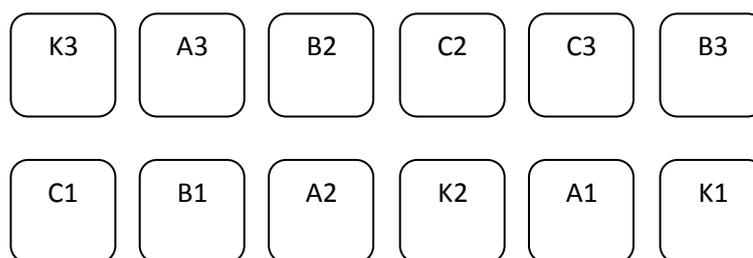
** BETN: $100 - \text{protein} - \text{lemak} - \text{kadar abu} - \text{serat kasar}$

*** Energi: $(4 \times \% \text{protein}) + (9 \times \% \text{lemak}) + (4 \times \% \text{BETN})$

Tabel 6. Formula Pakan Percobaan

| Jenis Bahan | K (%) | A (%) | B (%) | C (%) |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Tepung keong | 8,03 | 8,03 | 8,03 | 8,03 |
| Tepung yuyu | 11,72 | 11,72 | 11,72 | 11,72 |
| Tepung ikan | 38,92 | 35,03 | 31,13 | 27,24 |
| Tepung silase daun mengkudu | 0 | 12,28 | 24,56 | 36,84 |
| Minyak cumi | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Tepung tapioca | 24,55 | 17,45 | 10,34 | 3,23 |
| Vitamin mineral mix | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Progol | 4,29 | 3,0 | 1,72 | 0,44 |

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 12 unit percobaan. Pakan kontrol tanpa menggunakan tepung silase daun mengkudu, dibandingkan dengan 3 formula pakan yang menggunakan tepung silase daun mengkudu, yang selanjutnya disebut sebagai variabel bebas. Empat perlakuan formulasi pakan tersebut akan diamati pengaruhnya terhadap histopatologi hati dan usus ikan sidat yang selanjutnya disebut sebagai variabel terikat. Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Tata Letak atau Denah Percobaan

Keterangan gambar :

K : Kontrol

A,B,C : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan ke 1,2,3 (pada setiap fase pengamatan)

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian meliputi persiapan pakan, alat dan hewan uji.

a. Persiapan pakan

- Penentuan formulasi pakan
- Pengadaan bahan-bahan pembuatan pakan
- Pembuatan tepung silase daun mengkudu
- Pembuatan tepung keong dan tepung yuyu
- Analisis proksimat bahan penyusun pakan
- Pembuatan pakan

b. Persiapan alat

- Persiapan alat pembuatan pakan
- Pencucian akuarium
- Persiapan alat pendukung (perangkat aerasi, blower, genset, filter akuarium, termometer, timbangan digital, DO meter, pH meter, dan lain-lain).
- Pengisian air pada akuarium

c. Persiapan hewan uji

- Ikan sidat (*Anguilla bicolor*) dengan berat 5 gram/ekor diadaptasikan terlebih dahulu didalam akuarium selama 5 hari terhadap lingkungan dan pakan.
- Ikan dipuasakan selama 1 hari sebelum ditimbang dan dimasukkan kedalam akuarium yang sesuai dengan perlakuan.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian**a. Pembuatan tepung silase daun mengkudu**

Bagan pembuatan silase daun mengkudu dapat dilihat pada Lampiran 2.

- Daun mengkudu sebanyak 18 kg dipotong-potong dan dilayukan
- Ditambahkan molasse (0,45 kg/18kg) daun mengkudu
- Ditambahkan *Lactobacillus plantarum* 0,27 kg/18 kg daun mengkudu
- Diaduk sampai homogen dan dimasukkan kedalam toples plastik (silo) dan ditutup rapat (anaerob)
- Disimpan selama 21 hari didalam silo
- Hasil fermentasi dikeluarkan dari silo dan dikeringkan dalam oven.
- Digiling dan diayak sampai menjadi tepung

b. Pembuatan tepung keong dan tepung yuyu

- Keong dibuang cangkangnya
- Keong dan yuyu dipisah dan dicuci bersih kemudian ditiriskan
- Dikeringkan dalam oven sampai kering (\pm 3 hari) dengan suhu 25⁰C
- Hasil kering digiling dan diayak menjadi tepung

c. Pembuatan pakan (pelet)

Bagan pembuatan ransum pakan (pelet) dapat dilihat pada Lampiran 3.

- Analisis proksimat masing-masing bahan penyusun pakan (tepung ikan, tepung yuyu, tepung keong, tepung tapioka, minyak cumi, vitamin dan mineral mix, progol)
- Ditentukan formulasi penyusun pakan
- Pencampuran bahan-bahan pakan dimulai dari bahan yang paling sedikit jumlahnya, sesuai dengan formulasi pakan
- Dilakukan pencetakan dengan menggunakan alat penggiling pelet dan dikeringkan didalam oven dengan suhu 28^oC selama 3 hari
- Analisis proksimat pakan ikan sidat (*A. bicolor*) untuk penelitian (Lampiran 4)

d. Pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

- Akuarium diisi air dengan ketinggian 25 cm
- Dipasang aerasi, heater dan filter akuarium
- Masing-masing akuarium diberi 21 ekor ikan sidat yang telah ditimbang beratnya dan dinyatakan sebagai berat awal populasi. Berat ikan yang digunakan adalah 5 gram/ekor dengan standar deviasi 0,25 gr. Pemberian pakan berupa pelet sebanyak 5% dari berat badan biomass yang diberikan sesuai dengan perlakuan yang diberikan.
- Frekuensi pemberian pakan 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 WIB sebanyak 40% dan pukul 20.00 WIB sebanyak 60% dari jumlah pakan sehari.
- Sebelum pemberian pakan, terlebih dahulu dilakukan penyiponan sisa-sisa feses dan pergantian air sebanyak 30% dari volume media pemeliharaan yang dilakukan dua hari sekali.
- Pengukuran suhu, pH dan DO dilakukan setiap hari pada pagi dan malam (pukul 07.00 dan 20.00 WIB).

- Dipelihara selama 45 hari, kemudian dipindahkan kedalam toples kaca dengan diisi air sebanyak 1,5 liter dan diberi aerasi.
- Diambil sampel ikan dari masing-masing perlakuan untuk dibedah dan diambil organ hati dan ususnya.

e. Penginfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*

- Mempersiapkan bakteri *A. hydrophila*
- Mempersiapkan 12 toples kaca yang diisi air 1,5 liter
- Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml, untuk mendapatkan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus:

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

Dimana:

N1 = kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2 = kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V1 = Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2 = Volume media yang diinginkan

- Ditunggu selama 2 hari
- Diambil sampel ikan dari masing-masing perlakuan untuk dibedah dan diambil organ hati dan ususnya

f. Pengambilan organ usus dan hati

- Ikan dipotong kepala untuk mengurangi gerakan dan mempercepat kematian.
- Dibedah tubuh ikan yang dimulai dari lubang anus hingga ke bagian atas tubuh yaitu menuju ke kepala.
- Dipisahkan organ usus dan hati dari organ lainnya secara perlahan.
- Organ usus dan hati yang didapat diawetkan kedalam larutan formalin 10%.

g. Pembuatan preparat histologi (patologi anatomi)

Menurut Barlianto (2008), tahap-tahap pembuatan preparat histologi adalah:

1. Tahap fiksasi

- Jaringan hati dan usus diiris dengan ukuran 0,5 x 0,5 cm².
- Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan fiksatif yaitu formalin 10% selama 24 jam.

2. Tahap dehidrasi

- Jaringan direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam.
- Jaringan selanjutnya direndam dalam alkohol 80%, 95%, 100%, xylol + alkohol (3:1), xylol + alkohol (1:1), xylol masing-masing selama 30 menit.

3. Tahap parafinasi

- Jaringan direndam dengan menggunakan parafin xylol, parafin I, parafin II, parafin III dalam oven bersuhu 50-60°C selama 30 menit.
- Selanjutnya terhadap jaringan tersebut dilakukan embedding atau pengeblokan dengan cara memasukkan jaringan dalam cetakan berisi parafin cair.
- Jaringan kemudian didinginkan hingga mengeras dalam suhu kamar selama minimal 24 jam.

4. Tahap deparafinasi

- Blok parafin yang berisi jaringan dipotong dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 mikron.
- Jaringan yang terpotong diletakkan di air hangat untuk mencegah hasil pemotongan melengkung selanjutnya diletakkan diatas gelas objek dan dikeringkan sampai jaringan menempel sempurna pada permukaan gelas objek.

- Preparat potongan jaringan dicelupkan secara berturut-turut pada larutan xylol, alkohol 100%, 90%, 80%, 70% masing-masing selama 3-5 menit.
- Preparat potongan jaringan dicelupkan dalam akuades selama 5 menit.

5. Tahap pewarnaan

- Preparat potongan jaringan dicelupkan dalam larutan pewarna haemotoksilin selama 5-10 menit kemudian dibilas dengan air mengalir.
- Preparat potongan jaringan kemudian dicelupkan kedalam eosin selama 5-10 menit lalu dibilas dengan air mengalir.

6. Tahap dehidrasi

- Preparat potongan jaringan dicelupkan kembali secara berturut-turut pada larutan etanol 70%, 80%, 95%, 100% selama 3-5 menit dilanjutkan dengan alkohol absolut selama 3 menit.
- Preparat potongan jaringan selanjutnya dicelupkan dalam xylol selama 5 menit.

7. Tahap mounting

- Preparat dilem menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan cover glass jangan sampai terjadi gelembung.
- Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop.

3.5 Parameter Penelitian

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini adalah pengamatan histopatologi organ usus dan hati ikan sidat (*A. bicolor*) setelah pemeliharaan selama 45 hari dengan diberi pakan berupa silase daun mengkudu pada formulasi pakan dan setelah dipapar bakteri *A. hydrophila* selama 48 jam.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pengamatan patologi klinis serta kualitas air media meliputi suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO). Pengamatan patologi klinis dilakukan saat terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari selama perlakuan pemberian imunostimulan silase daun mengkudu dalam formulasi pakan kepada ikan sidat (*A. bicolor*).

3.6 Analisis Data

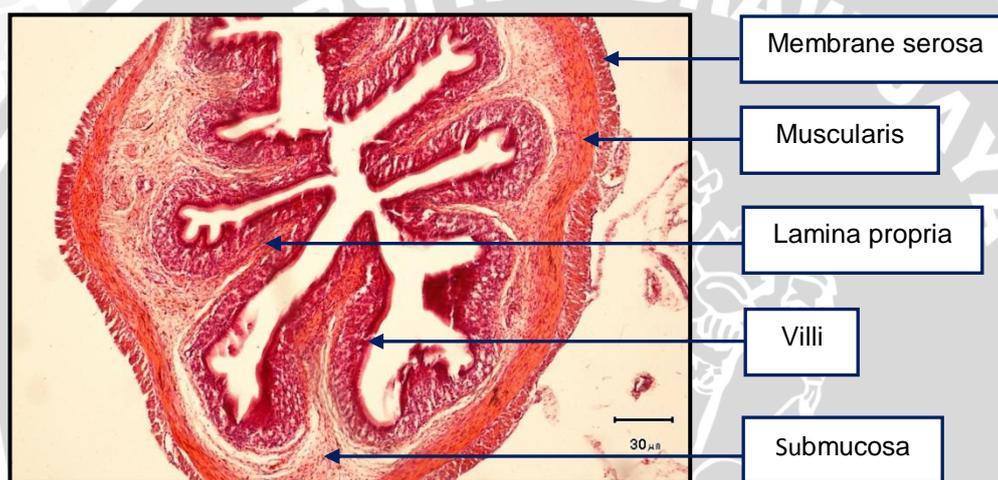
Data hasil penelitian ini berupa deskriptif. Data yang berbentuk deskriptif adalah data hasil pengamatan preparat jaringan organ usus dan hati. Data deskriptif menyajikan apa yang dihasilkan pada saat perlakuan tersebut. Sifat umum dari bentuk deskriptif adalah mengumpulkan, menyusun, menganalisa dan menafsirkan data yang ada, kemudian dibandingkan antara kelompok data yang satu dengan yang lain. Analisa data ini dilakukan dengan mengamati dan membandingkan preparat jaringan usus dan hati ikan sidat (*A. bicolor*) yang diberi perlakuan paparan bakteri *A. hydrophila* setelah perlakuan pemberian pakan tambahan silase daun mengkudu.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Usus dan Hati Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)

4.1.1 Histopatologi Usus Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)

Hasil pengamatan pada usus ikan sidat (*Anguilla bicolor*) normal, tanpa pemberian imunostimulan dan sebelum diinfeksi penyakit memiliki jaringan yang masih baik, tampak bagian-bagian usus terlihat jelas dan struktur jaringan masih kompak (Gambar 6).



Gambar 6. Irisan Melintang Usus Ikan Normal, 100x (Bar 30 μm)

Pada jaringan usus ikan normal tidak terjadi kerusakan yang parah, seperti terlihat pada gambar jaringan yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*, yang diantaranya menunjukkan adanya kerusakan jaringan yaitu edema, nekrosis, inflamasi dan hemoragi.

Bagian usus ikan sidat (*A. bicolor*) pada gambar 6 dan 7 memiliki bagian antara lain membrane serosa, muscularis, submucosa, lamina propria, dan villi yang terlihat dengan jelas. Menurut Panigoro *et al.* (2007), struktur histologi saluran pencernaan sangat beragam sepanjang saluran tersebut. Pada dasarnya saluran tersebut tersusun dari lapisan epitel lendir (mucosal epithelium), lamina propria, submukosa, lapisan otot (muscularis) dan membrane serosa. Epitel

lendir berbentuk kolom sederhana dan berhadapan dengan rongga usus. Sel goblet juga dapat ditemukan pada usus. Lamina propria tersusun dari jaringan ikat dan banyak pembuluh darah kapiler. Submukosa terpisah dari lamina propria oleh lapisan tipis otot polos yang memanjang (lapisan otot lendir). Secara histologi submukosa tersusun sama dengan lamina propria. Lapisan otot (muscularis) terdiri dari otot-otot polos yang merupakan otot yang dapat berkerut. Membrane serosa terdiri dari sel epitel pipih dan sederhana yang menutupi seluruh permukaan saluran pencernaan.

Pada lapisan mukosa terdapat tonjolan-tonjolan (villi) membentuk seperti sarang tawon pada usus bagian depan dan lebih beraturan pada usus bagian belakang. Bentuk sel yang umum ditemukan pada epitelium usus adalah enterosit dan mukosit. Enterosit merupakan sel yang paling dominan dan diantara mukosit terdapat mukosit. Jumlah mukosit semakin meningkat ke arah bagian belakang usus. Enterosit merupakan sel permukaan sel permukaan atasnya (mengarah ke rongga usus), memiliki mikrovilli yang berperan dalam penyerapan makanan (Barlianto, 2008).

Lebih jelas disebutkan oleh Yuwono dan Sukardi (2001), sel mikrovilli pada epitelium usus berfungsi dalam penyerapan dan sel vasikular melepaskan sekresinya ke dalam lumen usus. Mukosit atau sel penghasil lendir merupakan sel yang berbentuk piala (sel goblet). Menurut Fujaya (2004), pada permukaan mukosit terdapat mikrovilli, yang bagian bawahnya mengandung butiran-butiran yang disebut mucigen sebagai hasil sintesis sel. Mucigen ini akan berubah menjadi lendir bilamana telah dilepaskan oleh sel dan bereaksi dengan air. Pada segmen usus, lendir yang dihasilkan berfungsi sebagai pelumas dan pelindung dinding usus. Sehubungan dengan fungsinya sebagai pelumas maka dibagian usus belakang jumlah mukosit ini relatif lebih banyak.

Berdasarkan hasil penelitian setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kepadatan 10^7 sel/ml, gambaran jaringan usus ikan sidat kontrol tanpa substitusi silase daun mengkudu (K 0%), perlakuan dengan substitusi protein silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 10% (perlakuan A), 20% (perlakuan B), dan 30% (perlakuan C) dapat dilihat pada Gambar 7, 8, 9 dan 10 dengan perbesaran mikroskop 100 kali.



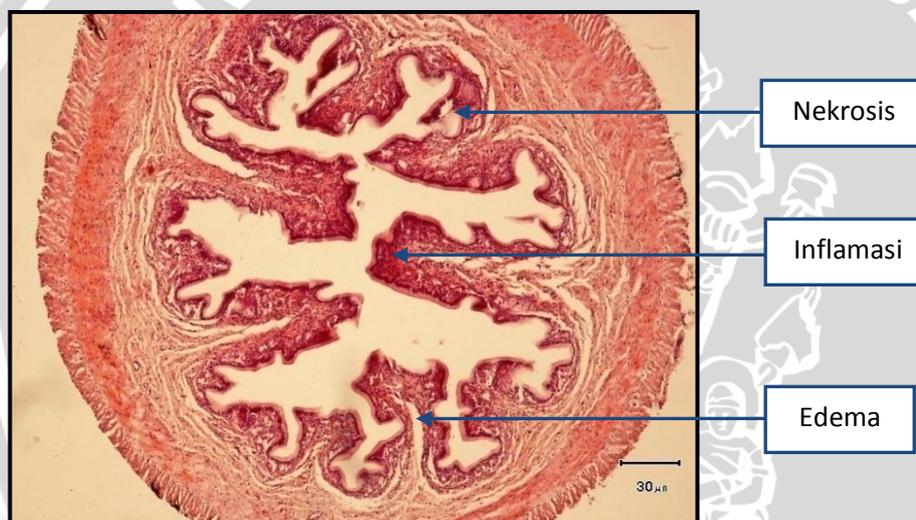
Gambar 7. Irisan Melintang Usus Perlakuan K (0 %) Setelah Infeksi, 100x (Bar 30 µm)



Gambar 8. Irisan Melintang Usus Perlakuan A (10 %) Setelah Infeksi, 100x (Bar 30 µm)



Gambar 9. Irisan Melintang Usus Perlakuan B (20 %) Setelah Infeksi, 100x (Bar 30 μm)



Gambar 10. Irisan Melintang Usus Perlakuan C (30 %) Setelah Infeksi, 100x (Bar 30 μm)

Terlihat pada Gambar 7, 8, 9 dan 10 terjadi kerusakan jaringan usus akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, pada jaringan tersebut dapat dilihat adanya nekrosis, edema, hemoragi, dan inflamasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Taufik (2001), bahwa Infeksi *A. hydrophila* pada ikan dapat terjadi melalui oral maupun lewat permukaan tubuh yang rusak lalu menembus masuk dan berkembang didalam epitel intestinum kemudian ikut dalam peredaran darah, menyebar keseluruh tubuh, merusak pembuluh darah, sehingga menyebabkan terjadinya gangguan fisiologis, menimbulkan inflamasi atau peradangan disekitar

tempat infeksi dan menyebabkan luka yang semakin meluas menjadi borok bahkan mengakibatkan kematian pada ikan.

Perubahan degeneratif yang sering terjadi pada saluran pencernaan ikan terutama usus yaitu atropi sel-sel epitel mukosa, nekrosa sel-sel epitel mukosa, dan deskuamasi sel epitel yang disertai infiltrasi sel limfosit ke lapisan lamina propia dan sub mukosa. Selain itu dapat juga terjadi dilatasi lumen usus, perdarahan, dan kongesti atau pembendungan pembuluh darah. Ulser dan deskuamasi menyebabkan mukosa terlepas dari submukosanya disertai perdarahan. Hal ini bisa terjadi karena parasit atau benda asing lainnya. Infiltrasi sel limfosit, leukosit, dan hipertrofi jaringan ikat akan mengikuti kelainan ini (Hibiya 1995).

Pada jaringan usus ikan sidat perlakuan K (Gambar 7) terlihat struktur jaringan mengalami kerusakan yang lebih parah dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C, hal tersebut bisa dilihat dari jenis kerusakan dan besarnya kerusakan pada jaringan. Kerusakan yang ditemukan akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan K (0%) yaitu edema, inflamasi, nekrosis, dan hemoragi dalam jumlah kerusakan yang lebih besar. Edema merupakan suatu kondisi meningkatnya jumlah cairan dalam jaringan, bisa diketahui dengan terlihatnya rongga kosong pada jaringan usus. Inflamasi atau peradangan pada jaringan usus ditandai dengan vili usus menjadi lebih panjang dan terlihat adanya leukosit, hal tersebut sebagai respon pemulihan jaringan serta menekan agen penyebab nekrosis. Nekrosis dapat dilihat dari bentuk dan warna sel, sel yang mati memiliki warna yang pudar dan bentuk sel yang tidak utuh (hancur) sehingga jaringan menjadi rapuh, sel dan jaringan mempunyai aktivitas yang rendah dan kadang mati. Hemoragi merupakan pendarahan, yaitu darah keluar dari pembuluh darah dan menyebar ke jaringan sehingga tampak berwarna merah karena terdapat eritrosit.

Menurut Priosoeryanto *et al.* (2010), edema merupakan suatu akumulasi cairan yang abnormal di dalam rongga tubuh atau di dalam ruang interstitial dari jaringan dan organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan. Kerusakan mekanis atau penyakit dapat mempengaruhi ikan terhadap infeksi lebih lanjut, karena edematus menyediakan suatu medium yang baik untuk pertumbuhan bakteri.

Edema menyebabkan epitel usus terangkat dan pada kondisi parah dapat berlanjut menjadi dekuamasi dan ruptur epitel. Edema yang ditemukan menandakan adanya masalah pada sistem sirkulasi darah. Adanya eritrosit yang menyebar menandakan terjadi hemoragi sedangkan limfosit menandakan ada peradangan karena gangguan parasit, bakteri atau virus. Hemoragi atau perdarahan terlihat dari ditemukannya eritrosit yang menyebar pada ujung vili usus. Kelainan vili ini akan menyebabkan terganggunya penyerapan zat-zat makanan yang penting sehingga ikan akan mengalami defisiensi nutrisi. (Susanto, 2008).

Guyton dan Hall (1996) *dalam* Pazra (2008) menyatakan bahwa penyebab dari edema adalah meningkatnya tekanan hidrostatik intra vaskula sehingga menimbulkan perembesan cairan plasma darah keluar dan masuk ke dalam ruang interstisium. Kondisi peningkatan tekanan hidrostatik sering ditemukan pada pembuluh vena dan edema sebagai resiko paska kongesti.

Beberapa tanda terjadinya peradangan pada usus yaitu vili usus menjadi lebih panjang, dinding usus menebal, dan jumlah jaringan limfatik menjadi lebih banyak. Berdasarkan gambaran histopatologi, pada peradangan akut terjadi edema di lamina propia disertai infiltrasi leukosit dalam jumlah yang ringan dan didominasi neutrofil. (Shackelford dan Elwell, 1999). Peradangan dapat menyebabkan erosi dan ulser di usus. Istilah erosi digunakan untuk

menggambarkan hilangnya epitel usus pada fokus tertentu tanpa disertai hilangnya muskularis mukosa. Ulser digunakan untuk menggambarkan kerusakan epitel sampai muskularis mukosa atau bahkan lebih dalam lagi. Lesi ulser biasanya terjadi pada lapisan submukosa atau mukosa dan kadangkala disertai adanya edema. Pada tepi ulser biasanya terjadi hiperplasia epitel mukosa. Peradangan usus dapat disebabkan oleh bakteri, parasit, jamur (kapang dan khamir), virus, sistem autoimun, atau bahan toksik (Macfarlane *et al.*, 2000).

Menurut Ersa (2008), nekrosis adalah kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Karakteristik dari jaringan nekrotik, yaitu memiliki warna yang lebih pucat dari warna normal, hilangnya daya rentang (jaringan menjadi rapuh dan mudah terkoyak), atau memiliki konsistensi yang buruk atau pucat (seperti bubur).

Perlakuan A (Gambar 8) dengan substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 10% mengalami edema, hemoragi, nekrosis dan inflamasi. Kerusakan jaringan lebih ringan dibandingkan pada perlakuan K (0%) dan C (30%), tetapi lebih berat dibandingkan dengan perlakuan B (20%).

Perlakuan B (Gambar 9) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang paling ringan dibandingkan dengan perlakuan lainnya (K, A, dan C). Jenis kerusakan jaringan yang ditimbulkan hanya sedikit dan dalam jumlah yang kecil, yaitu nekrosis (kematian sel) yang ditandai dengan warna sel menjadi pudar atau sel menjadi hancur, serta terjadi edema yang ditandai dengan adanya rongga kosong karena berisi cairan. Kerusakan yang tidak terlalu parah tersebut disebabkan karena dosis silase daun mengkudu yang diberikan cukup optimal. Menurut Andeson (1992) dalam Jasmanidar (2008), pemberian dosis imunostimulan memang tidak dianjurkan untuk terlalu berlebihan hal tersebut

tentu akan mempengaruhi sistem pertahanan non spesifik pada ikan. Pemberian imunostimulan harus memperhatikan dosis optimal yang digunakan, disamping itu juga durasi periode pemberian imunostimulan untuk mencapai proteksi yang optimal juga merupakan hal yang penting dalam pemberian imunostimulan.

Perlakuan C (Gambar 10) tingkat kerusakannya lebih berat dibanding dengan perlakuan B karena sel mengalami kerusakan lebih banyak. Kerusakan yang terjadi pada jaringan hati ikan perlakuan C antara lain adalah nekrosis, inflamasi, dan edema. Hal tersebut dikarenakan dosis imunostimulan yang terlalu berlebihan sehingga tidak memaksimalkan sistem pertahanan non spesifik pada ikan. Dosis imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan dan dosis yang rendah bisa tidak efektif atau tidak cukup untuk memberikan respon imun (Jasmanidar, 2009).

Ridlo dan Pramesti (2009), menambahkan senyawa aktif akan menunjukkan aktivitasnya jika dapat mencapai di lokasi targetnya yang berarti harus dapat diserap oleh darah untuk selanjutnya dibawa ketempat dimana zat itu akan memberikan efek aktivitasnya atau jumlah senyawa aktif yang lebih kecil dari jumlah minimal yang diperlukan untuk memunculkan efek imunostimulan atau bahkan sebaliknya dosisnya terlalu tinggi sehingga tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

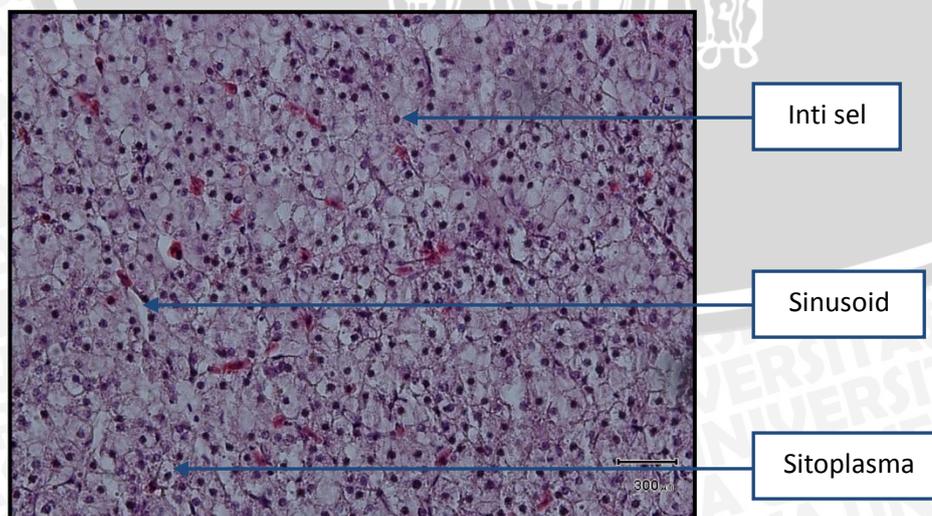
Kerusakan yang terjadi sebagai akibat pemberian dosis imunostimulan yang tinggi menyebabkan sistem kekebalan tubuh non spesifik tidak dapat bekerja secara maksimal yang menyebabkan kerusakan pada jaringan akibat infeksi bakteri, karena imunostimulan yang berlebihan akan menjadi immunosupresor yang menghambat sistem kerja imun (Barlianto, 2008). Harborne (1978) dalam Barlianto (2008), menyebutkan bahwa imunostimulan dapat menyebabkan efek toksin dan seringkali menyebabkan racun bagi organisme (manusia dan hewan) bila diberikan pada level dosis yang terlalu tinggi. Adanya

toksin dan infeksi bakteri menyebabkan sistem kekebalan tubuh menjadi lemah karena kerjanya terbagi menjadi dua, pertama untuk mengatasi efek toksin dan kedua adalah infeksi bakteri.

Dari penelitian ini, hasil terbaik untuk pemberian silase daun mengkudu adalah pada perlakuan B dengan substitusi protein silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 20%. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan silase daun mengkudu dalam pakan ikan dalam dosis optimal mampu mengurangi tingkat kerusakan pada struktur jaringan usus akibat serangan bakteri *A. hydrophila*.

4.1.2 Histopatologi Hati Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)

Hasil pengamatan pada hati ikan sidat (*A. bicolor*) normal tanpa pemberian imunostimulan dan sebelum diinfeksi penyakit (Gambar 11) memiliki struktur jaringan yang masih baik dikarenakan belum terjadi kerusakan jaringan. Tampak bagian-bagian hati yaitu inti sel, sitoplasma, dan sinusoid terlihat jelas dan struktur jaringan masih kompak. Jaringan hati ikan normal tidak terjadi kerusakan yang parah seperti terlihat pada gambar 12, 13, 14 dan 15 akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, diantaranya menunjukkan adanya nekrosis, inflamasi, kongesti dan hemoragi.



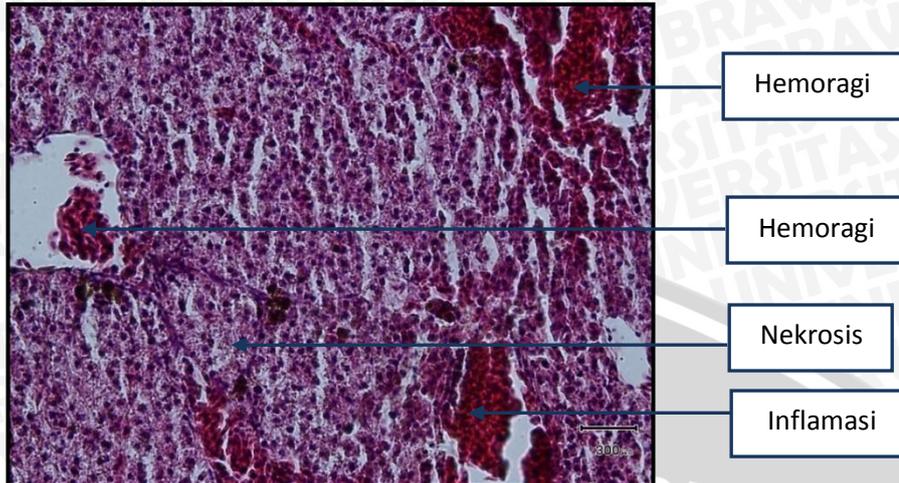
Gambar 11. Irisan Melintang Hati Ikan Normal, 400x (Bar 30 μm)

Menurut Setyowati *et al.* (2010), struktur jaringan hati yang normal menunjukkan hepatosit terlihat jelas, inti bulat letaknya sentralis, sinusoid tampak jelas, dan vena sentralis sebagai pusat lobulus tampak berbentuk bulat dan kosong.

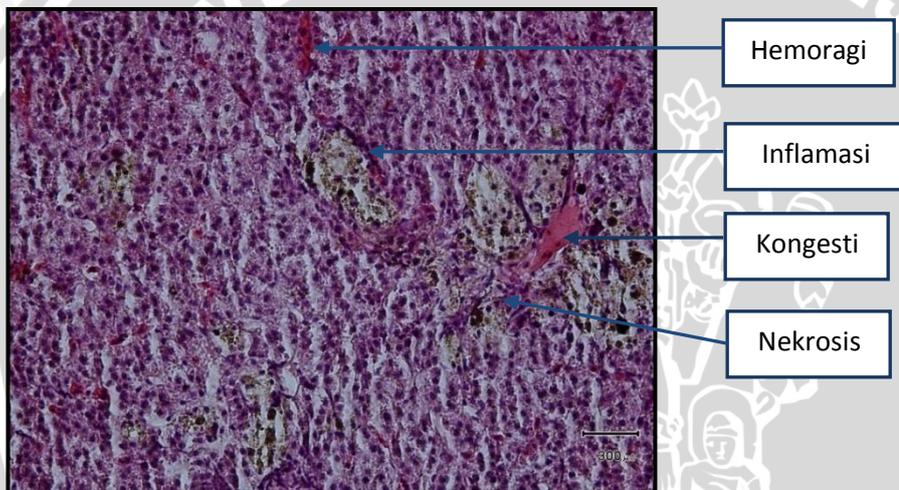
Hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ ini pada umumnya merupakan suatu kelenjar yang kompak, berwarna merah kecoklatan tersusun oleh sel-sel hati (*hepatosit*). Menurut Bevelandar dan Rameley (1988), pada gambaran hati terlihat penampakan sel-sel hepatosit, dimana sel-sel hepatosit memiliki bentuk yang menyerupai plat tipis atau lembaran-lembaran yang terpisah oleh sinusoida-sinusoida yang tersebar secara radial.

Hepatosit (sel parenkim hati) menyusun sebagian besar organ hati. Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Sel-sel ini terletak di antara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Lebih lanjut sel kupfer melapisi sinusoid hati dan merupakan bagian penting dari sistem retikuloendotelial tubuh. Darah dipasok melalui vena porta dan arteri hepatica, dan disalurkan melalui vena sentral dan kemudian vena hepatica ke dalam vena kava (Tugiyono *et al.*, 2009).

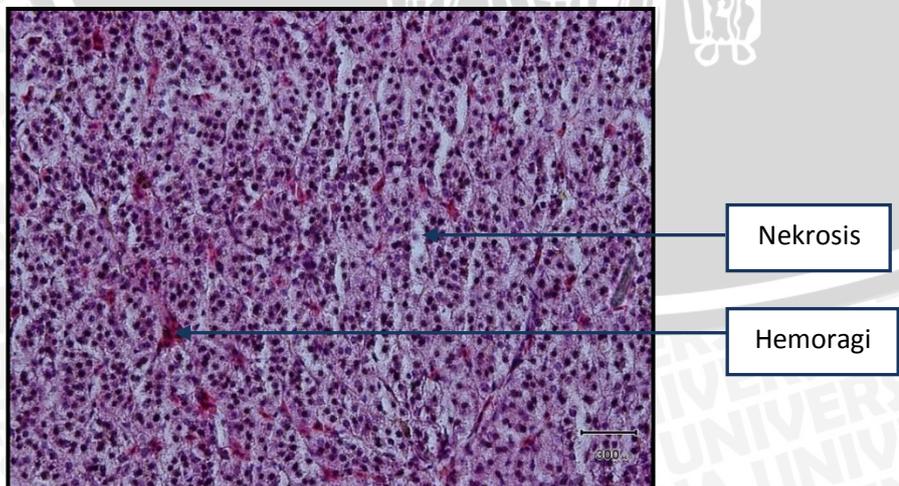
Berdasarkan hasil penelitian setelah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kepadatan 10^7 sel/ml, gambaran jaringan hati ikan sidat perlakuan K (0%), A (10%), B (20%), dan C (30%) dapat dilihat pada Gambar 12, 13, 14 dan 15 dengan perbesaran mikroskop 400 kali.



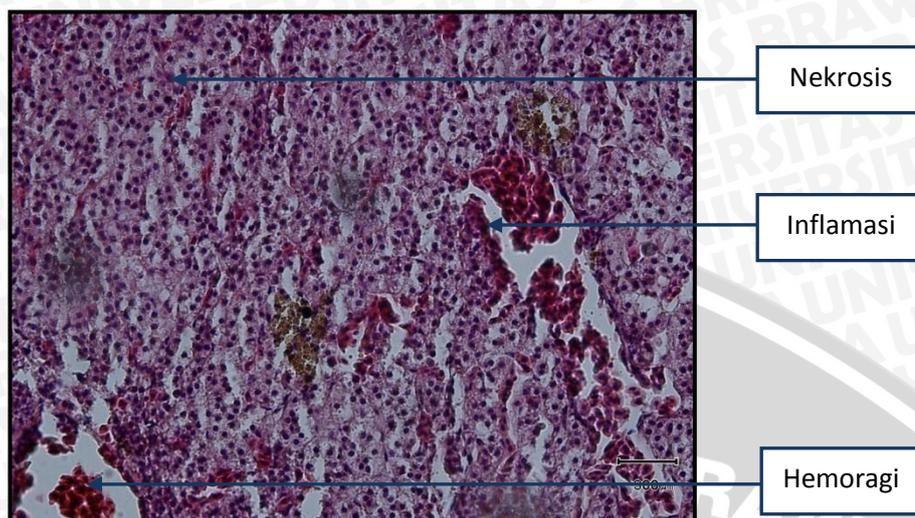
Gambar 12. Irisan Melintang Hati Perlakuan K (0%) Setelah Infeksi, 400x (Bar 30 μm)



Gambar 13. Irisan Melintang Hati Perlakuan A (10 %) Setelah Infeksi, 400x (Bar 30 μm)



Gambar 14. Irisan Melintang Hati Perlakuan B (20 %) Setelah Infeksi, 400x (Bar 30 μm)



Gambar 15. Irisan Melintang Hati Perlakuan C (30 %) Setelah Infeksi, 400x (Bar 30 μ m)

Terlihat pada Gambar 12, 13, 14 dan 15 terjadi kerusakan jaringan hati akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophila*, pada jaringan tersebut dapat dilihat adanya nekrosis, hemoragi, kongesti dan inflamasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fuentes dan Perez (1998) bahwa *Aeromonas* sp. banyak ditemukan di mata, hati dan ginjal ikan yang terinfeksi. Secara histopatologi, jaringan ikan yang terinfeksi akan mengalami hiperplasia, pendarahan, serta peradangan. Derajat kerusakan sel-sel hati tergantung dari perubahan degenerasi yang terjadi pada organ tersebut. Tipe awal degenerasi pada sel hati berupa degenerasi hidrofik, kemudian berlanjut menjadi degenerasi meleak, sebelum akhirnya sel tersebut mengalami kematian atau nekrosis.

Pada jaringan hati ikan sidat perlakuan K (Gambar 12) terlihat struktur jaringan mengalami kerusakan yang lebih parah dibandingkan dengan perlakuan A, B, dan C, hal tersebut bisa dilihat dari jenis kerusakan dan besarnya kerusakan pada jaringan. Kerusakan yang ditemukan akibat terinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan K (0%) yaitu nekrosis, inflamasi, dan hemoragi dalam jumlah kerusakan yang lebih besar. Perlakuan A (10%) menunjukkan adanya nekrosis, inflamasi, kongesti dan hemoragi. Nekrosis dapat dilihat dari bentuk

dan warna sel, sel yang mati memiliki warna yang pudar dan bentuk sel yang tidak utuh (hancur) sehingga jaringan menjadi rapuh. Inflamasi atau peradangan pada jaringan hati ditandai dengan adanya jendolan-jendolan darah serta terjadi emigrasi leukosit ke daerah nekrosis, bertujuan untuk pemulihan jaringan serta menekan agen penyebab nekrosis. Kongesti dapat diketahui dengan melebarnya pembuluh darah dan terisi darah yang menggumpal sehingga sirkulasi darah terganggu. Hemoragi merupakan pendarahan, yaitu darah keluar dari pembuluh darah dan menyebar ke jaringan sehingga tampak berwarna merah karena banyak terdapat eritrosit.

Prince dan Wilson (2006) menyatakan bahwa nekrosis merupakan sel-sel yang mempunyai aktivitas yang sangat rendah dan akhirnya mengalami kematian sel jaringan sehingga menyebabkan hilangnya fungsi pada daerah yang mengalami nekrosis. Nekrosis yang terjadi pada sel-sel hepatosit diperkirakan sebagai akibat infeksi bakteri yang mengeluarkan toksin dan dapat merusak sel-sel hati dengan rusaknya sel hepatosit akan memudahkan bakteri masuk ke dalam jaringan hati dan menimbulkan kerusakan yang lebih besar.

Menurut Ersa (2008), nekrosis adalah kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Karakteristik dari jaringan nekrotik, yaitu memiliki warna yang lebih pucat dari warna normal, hilangnya daya rentang (jaringan menjadi rapuh dan mudah terkoyak), atau memiliki konsistensi yang buruk atau pucat (seperti bubur).

Kongesti adalah kenaikan jumlah darah di dalam pembuluh darah, yang secara mikroskopik terlihat bahwa kapiler darah tampak melebar terisi eritrosit (Kurniasih, 1999). Kongesti terjadi dengan meningkatnya volume darah akibat pelebaran pembuluh darah kecil. Kongesti dimulai pada vena sentralis karena vena sentralis merupakan penampung darah yang berasal dari arteri hepatica

dan vena porta. Akibat lebih lanjut dari kongesti adalah terganggunya sirkulasi darah, terjadinya kongesti akan menyebabkan vena dan kapiler semakin permeable. Hal ini akan menyebabkan keluarnya cairan plasma ke dalam jaringan dan meningkatkan viskositas darah sehingga sel darah menggumpal dan tekanan terhadap aliran darah akan lebih tinggi. Selain terganggunya itu, kongesti juga menyebabkan sel-sel hati mengalami degenerasi atau akan berlanjut pada nekrosis karena kekurangan nutrient dan oksigen (Tugiyono *et al.*, 2009).

Inflamasi atau peradangan ditandai dengan adanya jendolan-jendolan darah serta jaringan berwarna merah karena banyak didapati eritrosit yang keluar dari pembuluh darah. Respon peradangan ini bertujuan untuk pemulihan jaringan serta menekan agen penyebab nekrosis. Hal ini dikarenakan sel-sel yang mengalami nekrosis tidak mampu di absorpsi oleh sel fagosit sehingga dapat melarutkan unsur-unsur sel sehingga dapat mengeluarkan enzim litik. Respon peradangan dilakukan dengan cara regenerasi sel-sel hilang, pembentukan jaringan ikat serta terjadi emigrasi leukosit ke daerah nekrosis (Robbina dan Kumar, 1992 *dalam* Setyowati *et al.*, 2010).

Perlakuan B (Gambar 14) mengalami tingkat kerusakan jaringan yang paling ringan dibandingkan dengan perlakuan lainnya (K, A, dan C). Jenis kerusakan jaringan yang ditimbulkan hanya sedikit dan dalam jumlah yang kecil, yaitu nekrosis (kematian sel) yang ditandai dengan warna sel menjadi pudar atau sel menjadi hancur, serta terjadi hemoragi yang dapat diketahui dengan keluarnya darah dari pembuluh darah dan menyebar ke jaringan. Kerusakan jaringan hati ikan sidat (*A. bicolor*) yang ringan tersebut disebabkan karena dosis pemberian silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam formulasi pakan cukup optimal. Menurut Andeson (1992) *dalam* Jasmanidar (2008), pemberian dosis imunostimulan memang tidak dianjurkan untuk terlalu berlebihan hal

tersebut tentu akan mempengaruhi sistem pertahanan non spesifik pada ikan. Pemberian imunostimulan harus memperhatikan dosis optimal yang digunakan, disamping itu juga durasi periode pemberian imunostimulan untuk mencapai proteksi yang optimal juga merupakan hal yang penting dalam pemberian imunostimulan.

Perlakuan C (Gambar 15) tingkat kerusakannya lebih berat dibanding dengan perlakuan B karena sel mengalami kerusakan lebih banyak. Kerusakan yang terjadi pada jaringan hati ikan perlakuan C antara lain adalah nekrosis, inflamasi dan hemoragi. Hal tersebut dikarenakan dosis imunostimulan yang terlalu berlebihan sehingga tidak memaksimalkan sistem pertahanan non spesifik pada ikan. Dosis imunostimulan yang tinggi dapat menekan mekanisme pertahanan dan dosis yang rendah bisa tidak efektif atau tidak cukup untuk memberikan respon imun (Jasmanidar, 2009).

Ridlo dan Pramesti (2009), menambahkan senyawa aktif akan menunjukkan aktivitasnya jika dapat mencapai di lokasi targetnya yang berarti harus dapat diserap oleh darah untuk selanjutnya dibawa ketempat dimana zat itu akan memberikan efek aktivitasnya atau jumlah senyawa aktif yang lebih kecil dari jumlah minimal yang diperlukan untuk memunculkan efek imunostimulan atau bahkan sebaliknya dosisnya terlalu tinggi sehingga tidak memberikan efek atau berperilaku sebagai inhibitor.

Kerusakan yang terjadi sebagai akibat pemberian dosis imunostimulan yang tinggi menyebabkan sistem kekebalan tubuh non spesifik tidak dapat bekerja secara maksimal yang menyebabkan kerusakan pada jaringan akibat infeksi bakteri, karena imunostimulan yang berlebihan akan menjadi immunosupresor yang menghambat sistem kerja imun (Barlianto, 2008). Harborne (1978) dalam Barlianto (2008), menyebutkan bahwa imunostimulan dapat menyebabkan efek toksin dan seringkali menyebabkan racun bagi organisme

(manusia dan hewan) bila diberikan pada level dosis yang terlalu tinggi. Adanya toksin dan infeksi bakteri menyebabkan sistem kekebalan tubuh menjadi lemah karena kerjanya terbagi menjadi dua, pertama untuk mengatasi efek toksin dan kedua adalah infeksi bakteri.

Dari penelitian ini, hasil terbaik untuk pemberian silase daun mengkudu terhadap histopatologi hati ikan sidat (*Anguilla bicolor*) adalah pada perlakuan B dengan substitusi protein silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan sebesar 20%. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan silase daun mengkudu dalam pakan ikan dalam dosis optimal mampu mengurangi tingkat kerusakan pada struktur jaringan hati akibat serangan bakteri *A. hydrophila*.

4.2 Perubahan Patologi Klinis

Berdasarkan pengamatan pada ikan sidat dalam toples saat diuji tantang bakteri *A. hydrophila* selama 2 hari (48 jam) dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml, ikan sidat (*A. bicolor*) yang sedang terserang penyakit secara umum dapat terlihat dari gejala antara lain nafsu makan berkurang, berenang abnormal, gerakannya lamban, apabila disentuh akan mudah terkejut dan bergerak menghindar. Secara penampilan fisik terdapat gejala permukaan tubuh menjadi pucat dan kemerahan terutama pada bagian perut, dan pangkal sirip ekor. Selanjutnya insang, sirip, dan kulit menjadi rusak. Pada hari berikutnya ikan mulai tampak mengalami peradangan kulit, produksi lendir meningkat, adanya memar yang diikuti pendarahan dan ikan menjadi lemah.

Perbedaan patologi klinis ikan sidat (*A. bicolor*) perlakuan kontrol tanpa substitusi silase daun mengkudu (K 0%), perlakuan dengan substitusi protein silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan dalam formula pakan

sebesar 10% (perlakuan A), 20% (perlakuan B), dan 30% (perlakuan C) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Perbedaan Patologi Klinis Ikan Sidat (*A. bicolor*) Saat Diinfeksi

| Hari ke- | Perlakuan | Gejala Patologi Klinis |
|----------|-----------|--|
| 1 | K (0%) | Ikan berenang tidak normal dan agresif, mulai memproduksi lendir, nafsu makan berkurang, warna tubuh menjadi pucat |
| | A (10%) | Ikan berenang normal dan cenderung bergerombol di dasar, kulit menghasilkan lendir sehingga air tampak keruh, nafsu makan berkurang |
| | B (20%) | Ikan berenang normal dan bergerombol di dasar, kulit mulai memproduksi lendir, nafsu makan normal, warna tubuh masih normal |
| | C (30%) | Ikan tampak tidak tenang, berenang tidak normal dan agresif, warna tubuh pucat, mulai memproduksi lendir, nafsu makan berkurang |
| 2 | K (0%) | Ikan berenang tidak normal, lebih agresif (beberapa kali meloncat kepermukaan) dan terlihat tidak tenang, produksi lendir meningkat, ikan semakin lemas, sudah tidak nafsu makan, tubuh menjadi lebih pucat dan kemerahan terutama pada bagian perut, dan pangkal sirip ekor yang menunjukkan terjadinya pendarahan. |
| | A (10%) | Pergerakan ikan lamban, cenderung berdiam diri didasar dan bergerombol, produksi lendir semakin meningkat dan air bertambah keruh, tidak nafsu makan |
| | B (20%) | Pergerakan ikan lebih tenang, lendir semakin banyak, warna tubuh pucat, ikan bergerombol di dasar, nafsu makan berkurang |
| | C (30%) | Ikan berenang tidak normal, lebih agresif dan tidak tenang, produksi lendir meningkat, ikan semakin lemas, tidak nafsu makan, tubuh menjadi lebih pucat dan kemerahan terutama pada bagian perut, dan pangkal sirip ekor yang menunjukkan terjadinya pendarahan. |

Adanya gejala tersebut menunjukkan bahwa bakteri sudah mulai menyerang organ ikan secara sistematis dengan cara melakukan multiplikasi secara cepat pada kondisi sistem kekebalan tubuh yang menurun dan berakibat pada kerusakan jaringan serta organ, sehingga potensi kematian ikan semakin cepat (Maftuch, 2006).

Menurut Mulia *et.al* (2012), bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* menunjukkan gejala terutama adanya bercak putih pada kulit, gerakan tubuh lemah serta kulit mengelupas, otot lembek dan mudah rusak. Ikan yang mati,

matanya mengalami kerusakan dan setelah dibedah rongga perut dipenuhi cairan berwarna kekuningan, lambung berisi air, ginjal lembek, dan hati berwarna kehijauan.

A. hydrophila mampu menginfeksi ikan dikarenakan mampu mengenali dan berikatan dengan reseptor pada sel-sel tertentu, selanjutnya bakteri tersebut mematikan dan mengurai sel inang dengan memproduksi enzim-enzim ekstraseluler dan hasil penguraian sel inang digunakan sebagai nutrient untuk pertumbuhannya. Berkembangnya populasi bakteri patogen menimbulkan inflamasi atau peradangan disekitar tempat infeksi dan menyebabkan luka yang semakin meluas menjadi borok (ulcer). Pemecahan sel-sel tubuh ikan di daerah yang meradang merusak pembuluh darah, kemudian bakteri masuk dan ikut peredaran darah sehingga menyebar ke seluruh tubuh ikan, keadaan ini disebut bakteriemia. Apabila borok-borok ini menyerang organ-organ penting seperti organ respirasi, saluran pencernaan, ginjal dan hati akan mengakibatkan ikan tersebut mati. Kemampuan *A. hydrophila* menginfeksi ikan dikaitkan dengan struktur permukaan sel yang bersifat hidrofobik dan zat penggumpal darah (β -haemolisin) serta kemampuannya memproduksi bermacam-macam enzim ekstra seluler (amilase, chitinase, elastase, lechitinase, nuclease, phospolipase dan protease). Bakteri ini juga memproduksi sederet protein permukaan yang tersusun dalam sebuah bentuk teratur pada permukaan paling luar sel sebagai sebuah bentuk seperti kristal (S-layer) yang berfungsi untuk melindungi sel dari aksi pelisisan oleh protein-protein serum (Austin dan Adam, 1996 dalam Barlianto, 2008).

Proses invasi bakteri patogen ke dalam tubuh diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit, dengan memanfaatkan pili, flagela dan kait untuk bergerak, dan melekat kuat pada lapisan terluar tubuh ikan yaitu sisik yang dilindungi oleh zat kitin. Selama proses invasi tersebut *A. hydrophila* memproduksi enzim kitinase yang juga berfungsi mendegradasi lapisan kitin

sehingga mudah ditembus oleh bakteri. Selain memanfaatkan kitinase *A. hydrophila* juga mengeluarkan enzim lainnya seperti lestinase dalam upaya masuk ke dalam aliran darah (Wijaya, 2002; Nasran *et al.*, 2003 dalam Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

Enzim kitinase dan lestinase memiliki peran penting dalam proses infeksi. Bakteri bergerak dengan sangat cepat didalam pembuluh darah, dan dengan mudah mencapai organ-organ penting dari ikan seperti pada sinusoid hati dan ginjal. Lokasi tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media tempat hidup dan memperbanyak diri, serta menggunakan nutrisi yang ada di sekitarnya untuk proses metabolisme (Bevelender dan Ramaley, 1979 dalam Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

Masuknya bakteri pada tubuh mengaktifkan respon imun dengan memproduksi polimorfonuklear neuklosit, seperti melanomakrofag, monosit, dan neutrofil yang berperan sebagai *phagocytic* sel. Kehadiran leukosit tersebut menyebabkan bakteri mengeluarkan toksin hemolisin yang mengakibatkan terjadinya ulcer dan hemoragik pada permukaan tubuh ikan. Hemoragik dan nekrosis juga terjadi pada hati, limpa, dan ginjal yang terinfeksi bakteri 10^7 cfu/ml diikuti oleh kematian seluruh sel atau jaringan. Pada saat bersamaan lisosom merupakan organel penghasil enzim hidrolitik di dalam sel hati, limpa dan ginjal, melakukan tugasnya dalam melisiskan dinding sel bakteri. Sel-sel bakteri maupun neutrofil yang mati difagositosis oleh makrofag untuk dihidrolisis (Geneser, 1994 dalam Mangunwardoyo *et al.*, 2010).

4.3 Kualitas Air

Kualitas air merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi keberhasilan suatu usaha budidaya. Pengelolaan kualitas air dilakukan untuk memenuhi persyaratan bagi kehidupan dan pertumbuhan ikan sidat (*Anguilla*

bicolor) yang dipelihara. Kualitas air dalam penelitian ini merupakan parameter penunjang. Hasil pengamatan terhadap kualitas air media selama penelitian masih memberikan nilai pada kisaran yang diinginkan oleh ikan sidat untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhannya. Kisaran kualitas air selama penelitian ikan sidat (*A. bicolor*) dapat dilihat pada Tabel 7 di bawah ini.

Tabel 8. Rata-rata Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Media Penelitian Ikan Sidat (*A. bicolor*) Selama Penelitian

| Parameter Kualitas Air | Substitusi protein silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan | | | |
|------------------------|--|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | K (0%) | A (10%) | B (20%) | C (30%) |
| Suhu (° C) | | | | |
| Pagi | 29,58 ± 1,00 ^a | 29,51 ± 0,70 ^a | 29,70 ± 0,72 ^a | 29,69 ± 0,73 ^a |
| Malam | 29,91 ± 0,42 ^a | 29,94 ± 0,35 ^a | 30,04 ± 0,36 ^a | 30,04 ± 0,46 ^a |
| Ph | | | | |
| Pagi | 8,07 ± 0,18 ^a | 8,08 ± 0,19 ^a | 8,13 ± 0,16 ^a | 8,16 ± 0,17 ^a |
| Malam | 8,10 ± 0,13 ^a | 8,13 ± 0,09 ^a | 8,16 ± 0,11 ^a | 8,15 ± 0,14 ^a |
| DO (mg/l) | | | | |
| Pagi | 6,80 ± 0,80 ^a | 6,69 ± 0,79 ^a | 6,74 ± 0,92 ^a | 6,91 ± 0,70 ^a |
| Malam | 6,92 ± 0,51 ^a | 6,88 ± 0,33 ^a | 6,96 ± 0,45 ^a | 6,97 ± 0,46 ^a |

4.3.1 Suhu

Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, karena itu penyebaran organisme baik di lautan maupun di perairan tawar dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dapat menekan kehidupan ikan yang dibudidayakan bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu drastis.

Data hasil pengukuran suhu pagi dan malam hari selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil pengukuran suhu pada masing-masing perlakuan diperoleh pada kisaran pagi hari 29,51-29,70 °C (Lampiran 6) dan malam hari 29,91-30,04 °C (Lampiran 7), dimana kisaran suhu tersebut masih dalam kondisi normal untuk pemeliharaan ikan sidat. Menurut Sarwono (1997), suhu air sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan sidat dan berpengaruh pula terhadap

aktivitas makanannya, hingga sidat memiliki kecepatan tumbuh yang tinggi pada suhu air antara 28-30 °C. Pada suhu tersebut aktivitas makan sidat memang paling baik. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Arief *et al.* (2011) bahwa kisaran suhu air media pemeliharaan ikan sidat selama 42 hari yang memberikan kelulushidupan terbaik adalah 28-31 °C.

Hasil sidik ragam (Lampiran 6 dan 7) menunjukkan bahwa dengan pemanfaatan silase daun mengkudu dalam formula pakan dengan cara substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perubahan suhu karena ($p>0,05$).

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Skala pH merupakan suatu skala logaritmik negatif, yang berarti bahwa untuk setiap penurunan 1 unit pH terjadi peningkatan konsentrasi ion hidrogen 10 kali lipat. Pada suatu perairan sering terjadi fluktuasi pH akibat aktivitas organisme di dalamnya. Fluktuasi pH yang besar akan berakibat stress bahkan kematian pada hewan budidaya.

Data hasil pengukuran pH pagi dan malam hari selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil pengukuran pH pada masing-masing perlakuan diperoleh pada kisaran pagi hari 7,79-8,38 (Lampiran 9) dan malam hari 8,07-8,16 (Lampiran 10), dimana kisaran pH tersebut masih dalam kondisi normal untuk pemeliharaan ikan sidat. Menurut Cheng dan Fang (1986) dalam Herianti (2005), pH optimal untuk budidaya ikan sidat (*Anguilla bicolor*) berkisar antara 6,5-8,0. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Arief *et al.* (2011) bahwa kisaran pH air media pemeliharaan ikan sidat selama 42 hari yang memberikan kelulushidupan terbaik adalah 7-8,5.

Hasil sidik ragam (Lampiran 9 dan 10) menunjukkan bahwa dengan pemanfaatan silase daun mengkudu dalam formula pakan dengan cara substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap nilai pH karena ($p>0,05$).

4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)

Kebutuhan oksigen dalam budidaya ikan tergantung pada spesies yang dibudidayakan. Oksigen diperlukan ikan untuk katabolisme yang menghasilkan energi bagi aktivitas seperti berenang, reproduksi dan pertumbuhan.

Data hasil pengukuran DO pagi dan malam hari selama penelitian dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil pengukuran DO pada masing-masing perlakuan diperoleh pada kisaran pagi hari 6,69-6,91 mg/l (Lampiran 12) dan malam hari 6,88-6,97 mg/l (Lampiran 13), dimana kisaran DO tersebut masih dalam kondisi normal untuk pemeliharaan ikan sidat. Menurut Marcel (1975) dalam Herianti (2005), oksigen minimal yang dibutuhkan oleh ikan sidat sekitar 3,0 ppm. Bila kurang dari itu maka akan mengurangi nafsu makan sehingga laju pertumbuhan ikan akan menurun. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Arief *et al.* (2011) bahwa kisaran DO air media pemeliharaan ikan sidat selama 42 hari yang memberikan kelulushidupan terbaik adalah 3,5-5,8 mg/l.

Hasil sidik ragam (Lampiran 12 dan 13) menunjukkan bahwa dengan pemanfaatan silase daun mengkudu dalam formula pakan dengan cara substitusi protein tepung silase daun mengkudu terhadap protein tepung ikan tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kandungan oksigen terlarut (DO) karena ($p>0,05$).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa pemanfaatan silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam formula pakan memberikan pengaruh terhadap histopatologi ikan sidat (*Anguilla bicolor*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Perlakuan terbaik adalah perlakuan B (20%) yang memiliki kerusakan jaringan paling ringan.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian dapat disarankan bahwa untuk meningkatkan sistem imun ikan sidat (*A. bicolor*) dan mencegah kerusakan jaringan yang lebih besar akibat serangan *A. hydrophila* adalah dengan memanfaatkan silase daun mengkudu (*M. citrifolia*) dalam formula pakan sebesar 20%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aalbersberg, W.G.L., Shabina Husein, dan A.S. Wirian. 1993. Journal of Herbs. Spices and Medicinal plant 2 (1): 51-54.
- Affandi, R. 2005. Strategi Pemanfaatan Sumberdaya Ikan Sidat, *Anguilla* spp. Di Indonesia. Jurnal Ikhtiologi Indonesia 5 (2): 77-81
- Affandi, R dan E. Riani. 1994. Studi Adaptasi Benih Ikan Sidat (Elver) *Anguilla* sp. Pada Berbagai Tingkat Salinitas. Laporan Hasil Penelitian, Fakultas Perikanan IPB, Bogor. 47 hlm.
- Apriyantono, A dan Farid, S.L. 2002. Mengkudu (*Morinda citrifolia*); Efek farmakologis dan Teknologi pengolahannya. Sarasehan Temu Saran Pengembangan Obat Tradisional Indonesia, Bogor. 87 hlm.
- Arief, M. Pertiwi, D. K. Cahyoko, Y. 2011. Pengaruh pemberian pakan buatan, pakan alami, dan kombinasinya terhadap pertumbuhan, rasio konservasi pakan dan tingkat kelulushidupan ikan sidat (*Anguilla bicolor*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 3 (1): 61-65.
- Asmawi. S. 1986. Parameter Kualitas Air Tambak. PT. Gramedia. Jakarta. 65 hlm.
- Astuti, D.P. 2012. Optimalisasi Penggunaan Silase Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) dalam Pakan Terhadap Performa Hematologi Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Barlianto, D. 2008. Aplikasi Imunostimulan Khamir Laut Pada Ikan Patin (*Pangasius* sp.) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dengan Pengamatan Histopatologi. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Bestari, J., Parakkasi, A dan Susilo, A. 2005. Pengaruh Pemberian Tepung Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) Yang Direndam Air Panas Terhadap Penampilan Ayam Broiler. Balai Penelitian Ternak, PO Box 221, Bogor 160022. Fakultas Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2005. 158 hlm.
- Bevelander, G., dan Rameley, J. 1988. Dasar-Dasar Histologi. Edisi kedelapan. Erlangga. Jakarta.
- Bima, F. 2009. Bakteri *Aeromonas* sp. <http://elfahrybima.blogspot.com/2009/10/bacteri-aeromonas-sp.html>. Diakses pada tanggal 1 agustus 2012.
- Bonang, G., dan E.S. Koeswardono. 1982. Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik. PT Gramedia. Jakarta. 199 hlm.

- Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Auburn Univ. (Ala). Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York. 318 hlm.
- Boyd, C. 2008. Nitrogen Limiting Factor in Aquaculture Production. Global Aquaculture Advocate. <http://www.unisla.ac.id>. Diakses tanggal 23 Desember 2012.
- Bresson, J. Albert, F. Marina, H. 2008. Safety of 'leaves from *Morinda citrifolia* Linn. scientific opinion of the panel on dietetic products, nutrition and allergies. The EFSA Journal (769): 1-17
- Buchanan, R.E., dan N.E. Gibbon (ed). 1974. Determinative Bacteriology. Eighty edition. Averly press. Inc. USA. 126hlm.
- Buwono, I. D. 2000. Kebutuhan Asam Amino Esensial dalam Ransum Ikan. Penerbit Kanisius Yogyakarta. 56 hlm.
- Dahuri, R. Memanfaatkan Potensi Sumberdaya Ikan Sidat Untuk Pengembangan Wilayah Pesisir. <http://www.bppt.go.id>. Diakses tanggal 8 mei 2013.
- Das, D.K., 1994. Naturally Occuring Flavonoids: Structure, Chemistry, and Hight Performance Liquid Chromatography Methods for Separation and Characterization. Methods in Enymology. 234 : 410-421.
- Deelder, C.L. 1985. Expose Cynoptique des Donnes Biologigues sur L Anguille, *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758). FAO Synop. Peches(80) Rev.1: 71p.
- Degani, G and Levanon, D. 1983. The influence of low density on food adaptation, cannibalism and growth of eels (*Anguilla anguilla*). Migal. Galilee Technological Center. Kiriat. Israel. 8 hlm.
- Djauhariya, E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) tanaman obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman rempah dan obat. Perkembangan Teknologi TRO, Vol. XV (1): 21 hlm.
- Djauhariya, E., M. Raharjo, dan Ma'mun, 2006, Karakteristik Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu, Buletin Plasma Nutfah, Th 2006, Balai Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor. 12 (1): 6.
- Djojopranoto, M. 1963. Buku Pelajaran Patologi. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga. Surabaya. 183 hlm.
- Dwijoseputro, D. 1998. Dasar dasar Mikrobiologi. Djambatan. Malang. 214 hlm.
- Effendie, M. I. 1997. Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta. 163 hlm.
- Ersa, E. Maulana. 2008. Gambaran histopatologi insang, usus dan otot pada ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) di daerah ciampea bogor. Skripsi. 66 hlm.

- Facey, D.E and M.J. Van Den Avyle. 1987. Species profiles : Life Histories Andenvironmental requirements of coastal fishes and invertebrates (North Atlantic) - American Eel. U.S. Army Corps of engineers, TREL 82-4. 28p.
- Fahmi, M.R., dan Rina, H. 2010. Keragaman Ikan Sidat Tropis (*Anguilla* sp.) Di Perairan Sungai Cimandiri, Pelabuhan Ratu, Sukabumi. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010. Depok.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT. Gramedia. Jakarta. 295 hlm.
- Farida, Mutia Kemala. 2008. Mengkudu. <http://mkf-poenya.blog.com>. Diakses tanggal 10 Januari 2012.
- Febriani,M. 2010. Penggunaan khamir laut sebagai biokatalisator dalam pembuatan silase daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai salah satu bahan alternatif pakan ikan. Prosiding forum inovasi teknologi akuakultur. 775-780 hlm.
- Firdaus, M.S. 2009. Ekstrak Kasar Polisakarida Marine Yeast Sebagai Immunostimulan Pada Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) Yang terinfeksi *Vibrio alginolyticus* Melalui Pengamatan Histopatologi. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Fuentes, R. J. M. and H. J. A. Perez. 1998. Isolation of *Aeromonas hydrophila* in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinaria Mexico*. 29 (1): 117-119.
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Galindo, V.J., dan H. Hosokawa. 2004. Immunostimulants: Toward Temporary Prevention of Diseases In Marine Fish. Kochi University, Faculty of Agriculture. Laboratory of Fish Nutrition B200 Monobe, Nankoku, Kochi 783-8502 Japan.
- Gardenia, L., Isti, K., Hambali, S., dan Tatik, M. 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin Dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010. Jakarta. 877-883 hlm.
- Hainindra, R. 2008. Potensi Marine Yeast Sebagai Immunostimulan Terhadap Peningkatan Aktivitas Fagositosis Makrofag dan Sel Leukosit Pada Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Hanafi, N.D. 2004. Perlakuan silase dan amoniasi daun kelapa sawit sebagai bahan baku pakan domba. Universitas Sumatera Utara. 36 hlm.
- Handajani, H. 2012. Struktur dan Fungsi Alat Pencernaan. <http://handajani.staff.umm.ac.id/files/2010/01/MPPIBARU2008-isi.doc>. Diakses 7 April 2013.

- Hariati, A.M. 1989. Makanan Ikan. NUFFIC/UNIBRAW/LUW/FISH. Universitas Brawijaya. Malang. 155 hlm.
- Hastuti, S. D., dan Ruslan, J. K. 2007. Pengaruh Pemberian Lps (*Lipopolisakarida*) Terhadap Aktifitas Fagositosis dan Jumlah Eritrosit Darah Ikan Nila (*Oreocromis sp*). Jurnal Protein Vol. 15 No.1 Tahun 2007. Malang.
- Hazen, T.C., C.B. Fliermans, R.P. Hirsch, and G.W. Esch. 1978. Prevalence and Distribution of *Aeromonas hydrophilla* in the United States. Applied and Environmental Microbiology. USA. 36 (5): 731-738.
- Herianti, I. 2005. Rekayasa lingkungan untuk memacu perkembangan ovarium ikan sidat (*Anguilla bicolor*). *Oseanologi dan limnologi di Indonesia*. 7: 25-41.
- Herry. 2008. Pengenalan Bahan Baku Pakan Ikan. <http://www.forumsains.com/artikel/49>. Diakses tanggal 27 februari 2013.
- Hibiya, Takashi. 1982. An Atlas Of Fish Histology Normal And Pathological Features. Kodansha Ltd. Tokyo. 147hlm.
- Holiman, P.C.H, M.G.L. Hertog and M.B. Katan, 1996. Analysis and Health Effects of Flavonoids. Food Chemistry, 57 (1) : 43-46.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Iwama, G., dan T. Nakanishi. 1996. The Fish Immune System: Organism, Pathogen, and Environment. Academic Press. USA. 380 hlm.
- Jasmanidar, Yudiana. 2009. Penggunaan Ekstrak Gracilaria verrucosa untuk Meningkatkan Sistem Ketahanan Udang Vaname *Litopenaeus vannamei*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. 97 hlm.
- Jawetz, E., Melnick and Adelberg. 1982. Review of medical microbiology. Diterjemahkan: Gerard Bonang K.C.V. EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta. 846 hlm.
- Jellyman, D. J. 1995. Longevity of longfinned eels *Anguilla dieffenbachii* in a New Zealand high country lake. *Ecology of Freshwater Fish*,4 (3): 106-112.
- Kabata, Z. 1985. Parasites and Disease of Fish Cultured in The Tropics. Taylor & Francis. London and Philadelphia.318hlm.
- Kamil, M. T. 2000. Pengaruh kadar asam lemak n-6 yang berbeda pada kadar asam lemak n-3 tetap dalam pakan terhadap pertumbuhan ikan sidat (*Anguilla bicolor*). Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 68 hlm.
- Kordi, M.G.H. 2004. Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan. PT Rineka Cipta dan PT Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm

- Kordi, M.G.H. 2010. Pakan udang. Akademia. Jakarta. 233 hlm.
- Kordi, M.G.H dan Andi, T. 2007. Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 78 hlm.
- Kurniasih. 1999. Deskripsi Histopatologi dari Beberapa Penyakit Ikan. Departemen Pertanian. Jakarta. 55 hlm.
- Liviawaty, E., dan E. Afrianto. 1998. Pemeliharaan Sidat. Kanisius. Yogyakarta. 134 hlm.
- Macfarlane PS, Reid R, Callander R. 2000. Pathology Illustrated. Ed ke-5. Edinburgh: Churchill Livingstone. Hlm 62-77.
- Malan, S. 2011. Pengaruh Ekstrak Kasar Bioaktif Fenolik Kulit Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Boerl*) Sebagai Immunostimulan Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio L*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang
- Mangunwardoyo, W., R. Imayasari, dan E. Riani. 2010. Uji Patogenisitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier Pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. Jurnal Riset Akuakultur. 5 (2): 245-255.
- Mardiyah, A. 2010. Budidaya Sidat Pada Jaring Apung. <http://adialuhkan.blogspot.com/2010/03/budidaya-sidat-pada-jaring-apung.html>. Diakses pada tanggal 1 agustus 2012.
- Masyamsir. 2001. Membuat Pakan Ikan Buatan. Modul Program Keahlian Budidaya Ikan Kode Modul SMKP2L01-06BIK. Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan. Jakarta. 33 hlm.
- Mintardjo, K., Sunaryanto, A., Utaminingsih, dan Hermiyaningsih. 1984. Persyaratan Tanah dan Air dalam Pedoman Pembenihan Udang Penaeid. Direktorat Jenderal Perikanan, Departemen Perikanan. Jakarta.
- Mulia, D., Kartika, S., Eddy, S. 2012. Efek Anti bakteri Buah Mengkudu (*Morindacitrifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. <http://www.isjd.pdii.lipi.go.idadminjurnal111081826.pdf>. Diakses tanggal 8 april 2013.
- Murdjani, M. 2002. Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginoliticus* Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). Disertasi. Program Pascasarjana. Universitas Brawijaya Malang.
- Murtidjo, B.A. 2001. Pedoman Meramu Pakan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 128 hlm.
- Nazir. 1983. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 589 hlm.

- Panigoro, N., Astuti I., Bahnan M., Salfira P.D.C., dan Wakita K. 2007. Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-dasar Histopatologi Ikan. Balai Budidaya Air Tawar Jambi. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya.
- Pazra, DB. Gambaran histopatologi insang, otot dan usus Pada ikan lele (*clarias* spp.) Asal dari Daerah bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hal.
- Prajitno, A. 2005. Diktat Kuliah Penyakit dan Parasit Ikan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 104 hlm.
- Prince, S.A. dan Wilson, L.M. 2006. Patofisiologi. Edisi VI. Volume 1. EGC. Philadelphia.
- Priosoeryanto., I.M. Ersa., R. Tiuriadan S.U. Handayani. 2010. Gambaran histopatologi insang, usus, dan otot ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*) yang berasal dari Daerah Ciampea, Bogor. *Journal of Veterinary Science & Medicine*. 2(1):1-8.
- Purwanto, A. 2006. Gambaran Darah Ikan Mas Yang Terinfeksi Koi Herpes Virus. Skripsi. Program Studi Teknologi dan Manajemen Akuakultur. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Purwanto, J. 2007. Pemeliharaan benih ikan sidat (*Anguilla bicolor*) dengan padat tebar yang berbeda. *Buletin Teknologi Akuakultur* 6 (2): 85-89 .
- Raa, J. 2000. The use of immune-stimulants in fish and shellfish feeds. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 19-22 Noviembre, 2000, Mérida, Yucatán, Mexico.
- Ridlo. A., R. Pramesti. 2009. Aplikasi ekstrak rumput laut sebagai agen imunostimulan sistem pertahanan non spesifik pada udang (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Ilmu Kelautan*. 14(3):133-137.
- Robertsen, Borre. 1999. Modulation of the non-specific defence of fish by structurally conserved microbial polymers. *Journal of fish dan shellfish immunology*.
- Rovara, O. Setiawan dan Amarullah. 2007. Mengenal Sumberdaya Ikan Sidat. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Jakarta. 99 hlm.
- Rusmaedi, O. Praseno, Rasidi, dan I.W. Subamia. 2010. Pendederan Benih Sidat (*Anguilla bicolor*) Sistem Resirkulasi Dalam Bak Beton. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2010*. 107-111 hlm.
- Safarina, S.N. 2009. Optimalisasi kualitas silase daun rami (*Boehmerian Nivea*, L. Gaud) melalui penambahan beberapa zat aditif. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 64 hlm.

- Sahwan, M. F. 2001. Pakan Ikan dan Udang. Penebar Swadaya. Jakarta. 96 hlm.
- Samsudin, A dan Armen, N. 2000. Efek penambahan campuran vitamin pada pakan buatan terhadap pertumbuhan larva dan perkembangan sidat (*Anguilla bicolor*). *Jurnal Ilmiah Satya Negara Indonesia* 2 (1): 62-68.
- Sanoesi, E. 2008^a. Penggunaan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya Linn*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pada Ilan Mas (*Cyprinus carpio L*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Penelitian Perikanan*, Vol. 11, No. 2, Desember 2008. Malang. 139-144 hlm.
- Sanoesi, E. 2008^b. Penggunaan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya Linn*) Terhadap Jumlah Sel Makrofag Pada Ilan Mas (*Cyprinus carpio L*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tesis. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.
- Santoso, B. Hariadi, Alimuddin dan Soseray. 2011. Kualitas fermentasi dan nilai nutrisi silase berbasis sisa tanaman padi yang di ensilase dengan penambahan inokulum bakteri asam laktat epifit. *Universitas Negeri Papua. JITV*. 16(1): 1-81.
- Sarono, A., K.H. Nitimulyo, I.Y.B. Lelono, Widodo, N. Thaib, E.B.S. Haryani, S. Haryanto, Triyanto, Ustadi, A.N. Kusumahati, W.Novianti, S. Wardani, dan Setianingsih. 1993. Deskripsi Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri. Buku 2. Pusat Karantina Pertanian. Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 91 hlm.
- Sarwono, B. 1997. Budidaya Belut dan Sidat. Penebar Swadaya. Jakarta. 88 hlm.
- Sasongko, A., Joko, P., Siti, M., dan Usni, A. 2007. Sidat: Panduan Agribisnis Penangkapan, Pendederan dan Pembesaran. Penebar Swadaya. Jakarta. 115 hlm.
- Sastrosupadi. 2000. Rancangan Percobaan Bidang Pertanian. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 342 hlm.
- Secombes, C.J. 1994. Enhancement of fish phagocyte activity. *Journal of fish dan shellfish immunology*. Academic press.
- Setyowati, A., Dewi, H., Awik P.D.N., dan Nurlita A. 2010. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. <http://digilib.its.ac.id/public/its-undergraduate-13520-paper.pdf>. Diakses 7 April 2013.
- Shackelford C.C, and Elwell M.R. 1999. Small and Large Intestine, and Mesentary. *Pathology of the Mouse Reference and Atlas*. Edited by R.R Maronpot, G.A Boorman, and B.W Gaul. Vienna: Cache River Press. Hlm 81-115.

- Sofyan dan Febri siantosa. 2007. Pakan Ternak dengan Silase. BPPTKLIPI. Yogyakarta. Majalah Inovasi. <http://www.unisla.ac.id>. Diakses tanggal 2 Januari 2012.
- Subana, M.dan Sudrajat. 2005. Dasar-dasar Penelitian Ilmiah.Pustaka Setia. Bandung.
- Subarijanti, H. U. 2000. Pemupukan dan Kesuburan Perairan. Fakultas Perikanan. Universitas Brawijaya. Malang. 40 hlm.
- Suitha, M dan Akhmad, S. 2008. Budidaya Sidat. AgromediaPustaka. Jakarta. 44 hlm.
- Sumeru, S. U dan Suzy, A. 2005. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kanisius. Yogyakarta. 94 hlm.
- Susanto, A. 2006. *Pengaruh pemberian kromium organik terhadap kinerja pertumbuhan ikan bawal air tawar (Colossoma macropomum)*. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 36 hlm.
- Susanto, H. 2008. Budidaya Ikan di Pekarangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 196 hlm.
- Susilo,A.,Purnamasari,D.K., Agustina,D., Lubis,F.N., Akil,S., Parakkasi, A.2005. Efek Penggunaan Daun Mengkudu Yang Di Fermentasi Dan Diensilase Terhadap Performans Ayam Broiler. Thesis. Pasca sarjana Ilmu Ternak. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 9 (1): 31 hlm.
- Sutisna, D. Hdan Ratno S. 1995. Pembenuhan Ikan Air Tawar. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 78 hlm.
- Sutrisno, 2007. MenambangMas di KolamDeras. www.trobos.com. Diakses tanggal 20 Desember 2011.
- Triwahyudi, M. 2011. Amonia di Tambak Ikan. www.kualitasairtambak.blogspot.com. Diakses tanggal 20 Januari 2012.
- Tugiyono, Nuning N., R. Supriyanto, dan Mala K. 2009. Biomonitoring Pengolahan Air Limbah Pabrik Gula PT Gunung Madu Plantation Lampung dengan Analisa Biomarker: Indeks Fisiologi dan Perubahan Histologi Hati Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn). J. Sains MIPA, Vol. 15, No. 1. Hlm 42 – 50.
- Usui S. 1974, Eel Culture (Translated by Ichiro Hayashi). Fishing News (Books) Ltd. London. 186hlm.
- Verdana, Y. 2012. Sekilas tentang Mengkudu. <http://www.amazingxamthone.com/blog/2012/06/04/248>. Diakses pada tanggal 1 agustus 2012.
- Volk, W.A., and M.F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar. Alih bahasa: markham edisi 5. Erlangga. Jakarta. 396 hlm.

- Wagner, H., 1985. Immunostimulants from medicinal plants. *In* Advances in Chinese medicinal materials research (Eds.) H.M. Chang; H.W. Yeung; W.W. Tso and A. Koo. World Scientific Publ. Co. Singapura : 159-170.
- Waha, M.G., dan Listyani, W. 2000. Sehat dengan mengkudu. MSF group. Jakarta. 44 hlm.
- Widayat, W. 2001. Khasiat Buah Mengkudu. www.ekafood.com. Diakses tanggal 20 Desember 2012.
- Wijaya, H. 2013. Penawaran Kerjasama Pembesaran Ikan Sidat. <http://rumahsidatsemarang.blogspot.com>. Diakses tanggal 8 mei 2013.
- Wiyanto, R.H dan Rudi, H. 2007. Pembenihan dan Pembesaran Gurami. Penebar Swadaya. Jakarta. 80 hlm.
- Yuwono, E., dan Sukardi, P. 2001. Fisiologi Hewan Air. CV Sagung Seto. Jakarta.
- Zahrah. 2010. Sistem Imun Non Spesifik. <http://wahidatun-hanifah.blogspot.com/2010/12/sistem-imun-non-spesifik.html>. Diakses tanggal 7 April 2013.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Alat dan Bahan Penelitian



Akuarium



Timbangan Digital



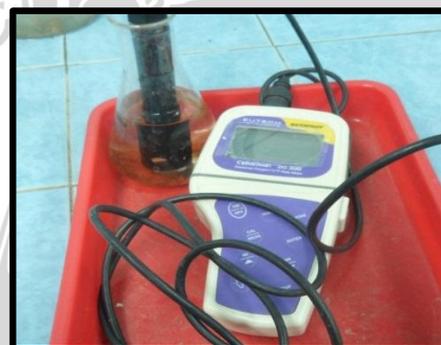
Ayakan



Anco

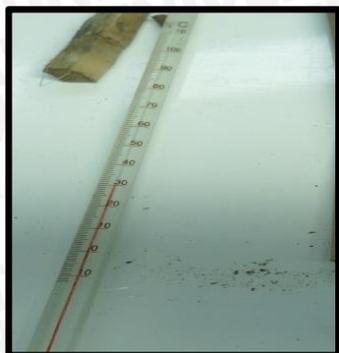


pH Meter



DO Meter

Lampiran 1 (Lanjutan).



Termometer



Heater Aquarium



Pencetak Pelet



Seser



Oven



Blower



Sectio Set



Mikroskop

Lampiran 1 (Lanjutan).

Gambar Bahan Penelitian



Ikan Sidat



Bahan Pakan Uji



Pakan Uji

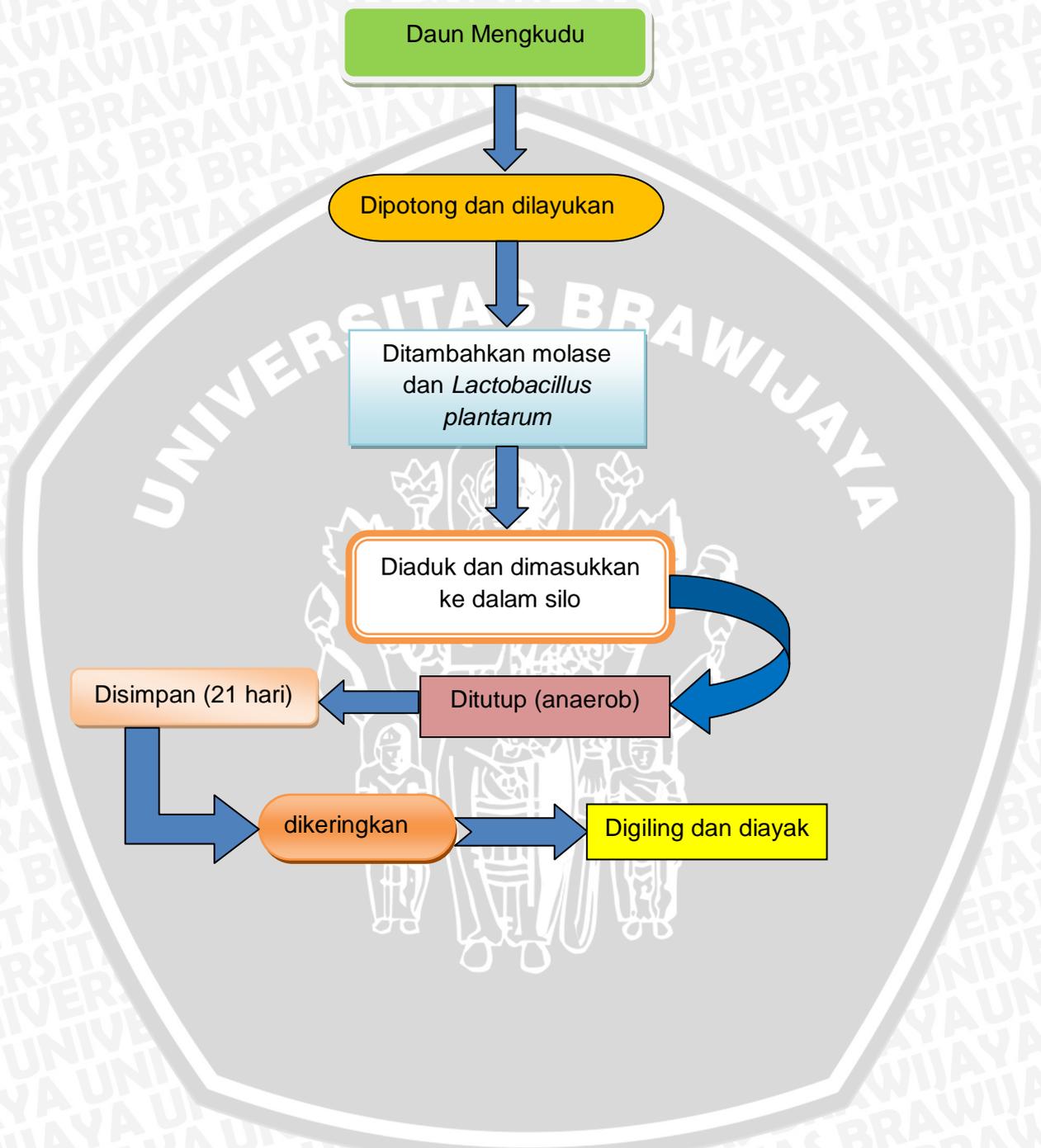


Formalin 10%

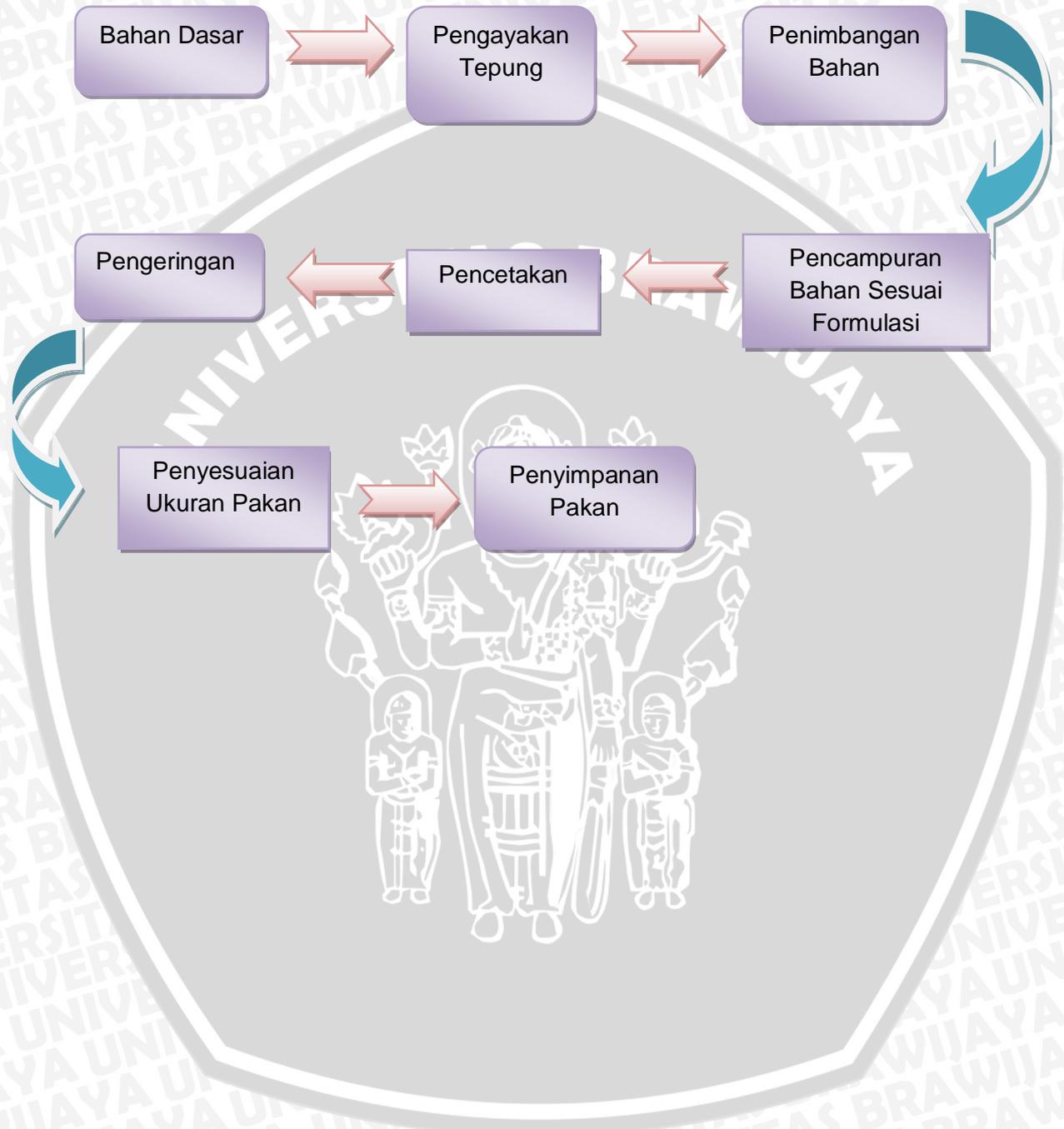


Alkohol 70%

Lampiran 2. Bagan Pembuatan Silase Daun Mengkudu



Lampiran 3. Bagan Pembuatan Ransum Pakan Sidat (*Anguilla bicolor*)



Lampiran 4. Hasil Analisis Proksimat Pakan Sidat (*Anguilla bicolor*)

| Analisis | Pakan Percobaan | | | |
|------------------------------------|-----------------|--------|--------|--------|
| | K 0% | A 10% | B 20% | C 30% |
| Kadar Kering (%)* | 89,52 | 89,96 | 89,82 | 89,43 |
| Kadar Air (%) | 10,48 | 10,04 | 10,18 | 10,57 |
| Kadar Abu (%)* | 15,57 | 16,53 | 16,69 | 17,49 |
| Protein (%)* | 39,93 | 39,69 | 40,10 | 40,73 |
| Lemak (%)* | 8,74 | 10,06 | 11,50 | 12,91 |
| Serat Kasar (%)* | 3,82 | 5,99 | 7,66 | 11,00 |
| BETN (%)** | 31,94 | 27,73 | 24,05 | 17,87 |
| Gross Energi (Kkal/100 g)** | 381,42 | 384,18 | 390,74 | 394,59 |
| E/P rasio** | 9,55 | 9,68 | 9,74 | 9,69 |

Keterangan :

* : Hasil analisis uji di Laboratorium Nutrisi Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

** : Hasil analisis perhitungan dengan rumus :
 $BETN = 100 - (\text{kadar protein kasar} + \text{kadar lemak kasar} + \text{kadar abu} + \text{kadar serat kasar})$

$\text{Karbohidrat} = 100 - (\text{kadar protein kasar} + \text{kadar lemak kasar} + \text{kadar abu})$

$\text{Energi} = (4 \times \% \text{kadar protein kasar}) + (9 \times \% \text{kadar lemak kasar}) + (4 \times \% \text{kadar karbohidrat})$

Lampiran 5. Data Pengukuran Suhu Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

Data suhu pagi hari mg/l

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 30,9 | 30,2 | 29,8 | 28,2 | 28,6 | 27,9 | 28,3 | 27,7 | 28,2 | 29,9 | 28,4 | 28,6 | 29 | 28,7 | 29,7 |
| K ₂ | 30,6 | 30,5 | 30,5 | 29,6 | 29,8 | 29,6 | 28,7 | 28,5 | 28,5 | 30 | 29,6 | 28,9 | 29,8 | 28,8 | 30,1 |
| K ₃ | 31,3 | 31,2 | 31 | 31,5 | 30,8 | 30,9 | 29,2 | 29,3 | 28,6 | 31,8 | 31 | 29,4 | 31,2 | 28,8 | 30,2 |
| A ₁ | 30,7 | 30,4 | 30,1 | 29,3 | 29,5 | 27,9 | 28,3 | 28,6 | 28,6 | 30 | 29 | 28,9 | 29,5 | 28,7 | 29,9 |
| A ₂ | 30,1 | 30,4 | 30,5 | 29,9 | 29,9 | 29,6 | 28,8 | 28,5 | 28,3 | 30 | 29,5 | 28,1 | 29,7 | 29,2 | 29,8 |
| A ₃ | 30,5 | 30,9 | 30,6 | 31,5 | 30,6 | 30,8 | 29,1 | 29,4 | 28,4 | 31,3 | 30,9 | 29,5 | 31 | 28,1 | 30,2 |
| B ₁ | 29,8 | 30,2 | 30,5 | 30,1 | 29,8 | 29,5 | 29,1 | 25,5 | 25,5 | 29,8 | 29 | 28,5 | 29,5 | 29,2 | 29,3 |
| B ₂ | 30,5 | 30,6 | 30,5 | 31 | 30,4 | 30,4 | 29 | 29,4 | 28,5 | 31,7 | 31,1 | 29,1 | 31,4 | 28,7 | 30,2 |
| B ₃ | 31,6 | 31,4 | 31 | 31,8 | 30,4 | 31,6 | 28,2 | 29,7 | 28 | 31,5 | 31,5 | 28,4 | 31,5 | 28,7 | 29,9 |
| C ₁ | 29,7 | 30,6 | 30,7 | 30,3 | 29,2 | 29,6 | 28,9 | 28,3 | 28,3 | 29,9 | 29,2 | 28,8 | 30,1 | 29,1 | 29,8 |
| C ₂ | 30,1 | 30,9 | 30,7 | 31,2 | 30,7 | 30,8 | 29 | 29,4 | 28,4 | 31,3 | 31,1 | 28,8 | 31,2 | 28,9 | 30 |
| C ₃ | 31,7 | 31,3 | 30,9 | 31,5 | 30,9 | 31,1 | 28,9 | 29,7 | 28,2 | 31,7 | 31,3 | 28,8 | 31,6 | 29,2 | 30,2 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K ₁ | 28,3 | 27,1 | 25,5 | 28 | 28,8 | 29,1 | 28 | 28,9 | 28,5 | 27,4 | 28,1 | 28,9 | 29,6 | 28,8 | 26,7 |
| K ₂ | 30,1 | 28,7 | 27 | 25,6 | 28,6 | 29,2 | 28,6 | 29 | 28,9 | 28,3 | 28,8 | 29,3 | 30 | 29,4 | 29,3 |
| K ₃ | 30,1 | 27,1 | 25,7 | 29,2 | 29,3 | 29,1 | 29,5 | 29,9 | 28,3 | 29,3 | 29,6 | 30 | 30,1 | 30 | 30,6 |
| A ₁ | 28,8 | 27,1 | 25,6 | 26,7 | 28,3 | 29,6 | 28,8 | 29,8 | 28,4 | 28,4 | 28,8 | 29 | 30 | 29,3 | 30 |
| A ₂ | 28,9 | 26,9 | 25,5 | 28,8 | 28,4 | 29,4 | 29 | 28,9 | 29,2 | 28,3 | 29,1 | 29,7 | 30,3 | 29,7 | 30,4 |
| A ₃ | 29,9 | 26,9 | 25,7 | 29 | 29,5 | 30,1 | 29,8 | 29,6 | 29,9 | 27,5 | 29,4 | 30 | 30,8 | 30,2 | 30,7 |
| B ₁ | 28,7 | 26,7 | 25,4 | 28,8 | 27,3 | 29,5 | 29 | 28,7 | 28,9 | 28,8 | 29,2 | 29,8 | 30,3 | 29,8 | 30,5 |
| B ₂ | 30,4 | 26,9 | 25,7 | 28,9 | 29,6 | 30 | 29,7 | 29,1 | 28,9 | 29,1 | 29,4 | 29,9 | 30,3 | 30,7 | 30,5 |
| B ₃ | 30,1 | 27,1 | 25,8 | 28,6 | 29,5 | 29,4 | 29,8 | 28,9 | 30,1 | 26,6 | 28,7 | 29,3 | 30,7 | 30,7 | 29,7 |
| C ₁ | 28,7 | 26,6 | 25,7 | 28,7 | 29,2 | 29,4 | 29 | 29,3 | 29 | 29 | 29,1 | 29,8 | 30,2 | 29,9 | 30,5 |
| C ₂ | 30,4 | 26,9 | 25,7 | 27,4 | 29,4 | 29,1 | 29,6 | 29,2 | 30,2 | 28,8 | 29,3 | 29,7 | 30,5 | 29,8 | 27,7 |
| C ₃ | 30,6 | 27,2 | 25,8 | 28,8 | 29,7 | 29,2 | 29,8 | 29,1 | 28,3 | 29,3 | 29,1 | 29,6 | 30,1 | 28,1 | 27,7 |

Lampiran 5. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K ₁ | 31,2 | 29,0 | 27,8 | 28,2 | 28,6 | 29,1 | 28,0 | 29,3 | 28,4 | 27,7 | 28,3 | 28,2 | 29,3 | 28,9 | 29,3 |
| K ₂ | 31,3 | 30,6 | 28,3 | 28,8 | 29,0 | 29,7 | 28,3 | 29,4 | 29,1 | 28,5 | 28,9 | 28,8 | 29,4 | 29,0 | 29,0 |
| K ₃ | 32,9 | 32,4 | 28,8 | 30,1 | 29,0 | 29,5 | 28,7 | 28,9 | 29,3 | 29,3 | 28,3 | 29,2 | 29,3 | 29,3 | 28,8 |
| A ₁ | 31,5 | 29,8 | 28,2 | 29,0 | 29,3 | 29,5 | 28,3 | 29,7 | 28,9 | 28,6 | 28,4 | 28,3 | 28,4 | 29,2 | 29,1 |
| A ₂ | 31,3 | 30,8 | 28,5 | 29,3 | 29,1 | 29,7 | 28,1 | 29,5 | 29,1 | 28,5 | 29,2 | 28,8 | 28,3 | 29,1 | 28,9 |
| A ₃ | 32,2 | 31,3 | 28,6 | 29,8 | 29,2 | 29,8 | 28,7 | 29,7 | 29,3 | 29,4 | 29,9 | 29,1 | 27,5 | 29,0 | 28,8 |
| B ₁ | 31,4 | 30,8 | 28,4 | 29,6 | 29,1 | 29,9 | 28,5 | 29,7 | 29,3 | 25,5 | 28,9 | 29,1 | 28,8 | 29,2 | 28,6 |
| B ₂ | 32,7 | 32,1 | 28,7 | 29,7 | 29,1 | 29,6 | 28,5 | 29,8 | 29,0 | 29,4 | 28,9 | 29,0 | 29,1 | 29,3 | 29,1 |
| B ₃ | 33,0 | 32,3 | 28,3 | 29,6 | 29,4 | 29,9 | 28,8 | 29,9 | 29,0 | 29,7 | 30,1 | 28,2 | 26,6 | 28,7 | 29,4 |
| C ₁ | 31,2 | 30,6 | 28,4 | 29,5 | 29,2 | 29,7 | 28,3 | 29,6 | 29,3 | 28,3 | 29 | 28,9 | 29,0 | 29,2 | 28,0 |
| C ₂ | 29,5 | 29,1 | 27,8 | 29,7 | 29,1 | 29,7 | 28,5 | 29,6 | 29,0 | 29,4 | 30,2 | 29,1 | 28,8 | 29,7 | 29,1 |
| C ₃ | 33,2 | 32,5 | 28,6 | 29,8 | 29,6 | 30,0 | 28,7 | 29,9 | 29,1 | 29,7 | 28,3 | 28,9 | 29,3 | 29,2 | 29,3 |

Data suhu malam hari mg/l

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 29,8 | 30,1 | 29,5 | 28,1 | 28,7 | 29,4 | 28 | 28,1 | 28,1 | 30,8 | 29,2 | 29,3 | 30,4 | 30,3 | 30,2 |
| K ₂ | 30,6 | 31,2 | 30,2 | 29,7 | 29,3 | 30,3 | 28,6 | 28,8 | 28 | 30,8 | 30 | 30,1 | 30,8 | 30,7 | 31,2 |
| K ₃ | 31 | 31,5 | 30,6 | 30,2 | 29,4 | 30,9 | 29,4 | 29,9 | 28,3 | 31,4 | 30,5 | 30,5 | 31,1 | 31,2 | 30,7 |
| A ₁ | 30,2 | 30,7 | 30,1 | 29,6 | 29,1 | 29,9 | 28,4 | 28,7 | 28,4 | 30,7 | 30,2 | 29,6 | 30,8 | 30,6 | 30,5 |
| A ₂ | 30,3 | 31 | 30,5 | 29,9 | 29,4 | 30,1 | 28,7 | 28,8 | 27,8 | 30,5 | 29,8 | 29,7 | 30,3 | 30,4 | 30,9 |
| A ₃ | 30,6 | 30,9 | 30,5 | 29,9 | 29,4 | 30,5 | 29,3 | 29,9 | 28,1 | 30,7 | 30,5 | 30,2 | 30,4 | 31 | 31,3 |
| B ₁ | 30,2 | 31 | 30,5 | 29,9 | 29,3 | 30,2 | 28,8 | 29 | 27,5 | 30,4 | 29,6 | 29,5 | 30 | 30,2 | 30 |
| B ₂ | 30,4 | 30,5 | 30,3 | 29,9 | 29,5 | 30,3 | 29,2 | 29,4 | 28,2 | 31 | 30,2 | 30,3 | 30,7 | 31,2 | 31,1 |
| B ₃ | 31 | 31,6 | 30,9 | 29,3 | 29,8 | 30,6 | 29 | 29 | 27,5 | 30,3 | 30,4 | 30,1 | 30,3 | 31,3 | 29,5 |
| C ₁ | 30,3 | 31,3 | 31,2 | 28 | 29,4 | 30,2 | 28,8 | 29,2 | 27,7 | 30,3 | 29,9 | 29,8 | 30,5 | 30,6 | 29,8 |
| C ₂ | 30,7 | 31 | 30,8 | 29,8 | 29,7 | 30,6 | 29,3 | 29,5 | 28,3 | 30,8 | 30,3 | 30,2 | 30,8 | 31 | 29,7 |
| C ₃ | 31 | 31,1 | 31,1 | 29,9 | 29,7 | 30,7 | 29,2 | 29,6 | 28 | 31,1 | 30,2 | 30,2 | 30,4 | 31,1 | 29,8 |

Lampiran 5. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K ₁ | 30 | 27,6 | 27,7 | 29,4 | 28,8 | 27,5 | 30,3 | 29 | 29,7 | 27,9 | 28,4 | 30,3 | 30,2 | 29,9 | 28,5 |
| K ₂ | 30,5 | 28,1 | 28,5 | 29,9 | 29,4 | 29,7 | 30,8 | 29,8 | 29,7 | 28,8 | 30,4 | 30,5 | 30,4 | 30,3 | 28,7 |
| K ₃ | 32,1 | 28,4 | 32,1 | 30,6 | 29,9 | 29,9 | 31,5 | 30,2 | 29,9 | 29,5 | 31,3 | 30,9 | 31,3 | 30,9 | 29,3 |
| A ₁ | 30,4 | 28 | 28,6 | 28,1 | 29,1 | 29,1 | 30,5 | 29,5 | 29,9 | 28,8 | 30,4 | 30,6 | 30,3 | 30,2 | 28,8 |
| A ₂ | 31 | 28,4 | 28,5 | 30,2 | 29,1 | 29,1 | 28,5 | 30,1 | 29,8 | 29,2 | 30,8 | 30,6 | 30,7 | 30,6 | 29 |
| A ₃ | 31 | 31,2 | 29 | 30,6 | 29,7 | 30,5 | 31,2 | 30,3 | 30,1 | 29,3 | 31,2 | 30,7 | 31,4 | 30,6 | 29,5 |
| B ₁ | 30,9 | 28,3 | 28,5 | 30 | 29,3 | 29,8 | 28 | 29,7 | 29,5 | 29 | 30,5 | 30,6 | 30,5 | 30,2 | 28,8 |
| B ₂ | 30,3 | 30,4 | 29 | 30,6 | 29,9 | 30,3 | 31,1 | 30,2 | 29,9 | 29,5 | 31,1 | 30,3 | 31,3 | 30,7 | 29 |
| B ₃ | 30,9 | 29,3 | 29,2 | 30,3 | 30,1 | 30,1 | 28,3 | 30,2 | 29 | 29,1 | 29,3 | 30,9 | 30,9 | 30,7 | 28,7 |
| C ₁ | 30,8 | 28,3 | 28,5 | 29,9 | 29,3 | 29,7 | 30,1 | 29,5 | 29,8 | 29 | 30,6 | 30,2 | 30,8 | 30 | 28,6 |
| C ₂ | 31,2 | 30,7 | 28,9 | 30,2 | 29,7 | 29,8 | 29 | 30,2 | 29,8 | 29,3 | 31,1 | 30,9 | 29,6 | 30,1 | 28,3 |
| C ₃ | 32,1 | 29,4 | 29 | 30,4 | 30,3 | 30,2 | 28 | 30,5 | 29,9 | 29,4 | 29,3 | 30,9 | 31 | 29,9 | 28,7 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K ₁ | 29,2 | 29,0 | 29,7 | 29,2 | 29,6 | 28,7 | 28,9 | 29,6 | 29,3 | 29,2 | 28,3 | 28,4 | 30,3 | 28,0 | 29,5 |
| K ₂ | 30,3 | 29,7 | 30,1 | 29,7 | 30,1 | 29,1 | 29,5 | 30,0 | 29,5 | 29,5 | 29,0 | 29,4 | 30,2 | 28,9 | 29,1 |
| K ₃ | 32,3 | 30,1 | 30,6 | 30,4 | 29,8 | 29,3 | 29,4 | 30,3 | 29,7 | 29,7 | 29,4 | 29,9 | 30,9 | 28,7 | 28,9 |
| A ₁ | 29,8 | 29,5 | 29,9 | 29,7 | 30,2 | 28,3 | 29,0 | 30,1 | 29,7 | 29,5 | 29,2 | 29,1 | 30,6 | 28,8 | 29,2 |
| A ₂ | 30,8 | 29,7 | 30,0 | 30,0 | 29,8 | 29,0 | 28,7 | 30,1 | 29,7 | 29,6 | 29,3 | 29,1 | 30,6 | 28,5 | 29,0 |
| A ₃ | 31,6 | 30,0 | 30,2 | 30,1 | 30,1 | 29,2 | 29,7 | 30,2 | 29,6 | 29,6 | 29,4 | 29,7 | 30,7 | 28,8 | 28,9 |
| B ₁ | 30,8 | 29,6 | 30,0 | 30,2 | 30,8 | 29,2 | 29,6 | 30,2 | 29,6 | 29,7 | 29,4 | 29,3 | 30,6 | 28,5 | 28,7 |
| B ₂ | 32,3 | 29,1 | 30,3 | 30,5 | 30,2 | 29,0 | 29,5 | 30,1 | 29,7 | 29,7 | 29,5 | 29,9 | 30,3 | 28,7 | 29,2 |
| B ₃ | 32,0 | 29,3 | 30,6 | 30,8 | 30,1 | 29,4 | 29,6 | 30,5 | 29,9 | 29,7 | 29,2 | 30,1 | 30,9 | 28,7 | 29,6 |
| C ₁ | 30,7 | 29,6 | 29,9 | 30,1 | 29,8 | 29,2 | 29,7 | 30,1 | 29,6 | 29,6 | 29,4 | 29,3 | 30,2 | 28,5 | 28,1 |
| C ₂ | 29,2 | 27,6 | 30,3 | 30,9 | 29,9 | 28,3 | 29,1 | 30,1 | 29,5 | 29,7 | 29,4 | 29,7 | 30,9 | 28,3 | 29,3 |
| C ₃ | 32,3 | 30,0 | 30,3 | 30,9 | 30,8 | 29,2 | 29,4 | 30,3 | 29,9 | 29,9 | 29,5 | 30,3 | 30,9 | 28,8 | 29,5 |



Lampiran 6. Data Suhu Pagi Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

Suhu pagi hari (° C)

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 30,9 | 28,9 | 28,1 | 28,7 | 29,15 |
| | 2 | 30,6 | 29,5 | 28,7 | 29,2 | 29,50 |
| | 3 | 31,3 | 30,4 | 29,1 | 29,5 | 30,08 |
| A | 1 | 30,7 | 29,2 | 28,5 | 29 | 29,35 |
| | 2 | 30,1 | 29,4 | 28,8 | 29,2 | 29,38 |
| | 3 | 30,5 | 30,1 | 29,2 | 29,4 | 29,80 |
| B | 1 | 29,8 | 29 | 28,7 | 29,1 | 29,15 |
| | 2 | 30,5 | 30,1 | 29,2 | 29,6 | 29,85 |
| | 3 | 31,6 | 30,3 | 29 | 29,5 | 30,10 |
| C | 1 | 29,7 | 29,5 | 28,9 | 29,2 | 29,33 |
| | 2 | 30,1 | 30,1 | 28,9 | 29,2 | 29,58 |
| | 3 | 31,7 | 30,4 | 28,8 | 29,7 | 30,15 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas suhu pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| Suhu Pagi | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 29,6183 |
| | Std. Deviasi | 0,36687 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,159 |
| | Positif | 0,159 |
| | Negatif | -0,146 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,550 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,923 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|-------|
| 0,515 | 3 | 8 | 0,683 |

Lampiran 6 (Lanjutan).

Rata-rata statistik suhu pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 (K) | 3 | 29,58 | 0,47 | 0,27 | 28,41 | 30,74 | 29,15 | 30,08 |
| 10 (A) | 3 | 29,51 | 0,25 | 0,15 | 28,89 | 30,14 | 29,35 | 29,80 |
| 20 (B) | 3 | 29,70 | 0,49 | 0,28 | 28,48 | 30,92 | 29,15 | 30,10 |
| 30 (C) | 3 | 29,69 | 0,42 | 0,24 | 28,64 | 30,73 | 29,33 | 30,15 |
| Total | 12 | 29,62 | 0,37 | 0,10 | 29,39 | 29,85 | 29,15 | 30,15 |

Sidik ragam suhu pagi ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,074 | 0,025 | 0,141 | 0,932 |
| Acak | 8 | 1,406 | 0,176 | | |
| Total | 11 | 1,481 | | | |

Signifikan = 0,932 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Lampiran 7. Data Suhu Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

Suhu malam hari (° C)

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 29,8 | 29,3 | 29 | 29,1 | 29,30 |
| | 2 | 30,6 | 30 | 29,7 | 29,6 | 29,98 |
| | 3 | 31 | 30,4 | 30,5 | 29,9 | 30,45 |
| A | 1 | 30,2 | 29,8 | 29,4 | 29,5 | 29,73 |
| | 2 | 30,3 | 29,8 | 29,7 | 29,5 | 29,83 |
| | 3 | 30,6 | 30,2 | 30,4 | 29,8 | 30,25 |
| B | 1 | 30,2 | 29,7 | 29,5 | 29,7 | 29,78 |
| | 2 | 30,4 | 30,1 | 30,2 | 29,8 | 30,13 |
| | 3 | 31 | 30 | 29,8 | 30 | 30,20 |
| C | 1 | 30,3 | 29,8 | 29,6 | 29,5 | 29,80 |
| | 2 | 30,7 | 30,1 | 29,9 | 29,4 | 30,03 |
| | 3 | 31 | 30,2 | 29,9 | 30,1 | 30,30 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas suhu malam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| Suhu Malam | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 29,9817 |
| | Std. Deviasi | 0,31470 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,129 |
| | Positif | 0,102 |
| | Negatif | -0,129 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,445 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,989 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|-------|
| 1,250 | 3 | 8 | 0,354 |

Lampiran 7 (Lanjutan).

Rata-rata statistik suhu malam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 | 3 | 29.91 | 0,58 | 0,33 | 28,47 | 31,35 | 29,30 | 30,45 |
| 10 | 3 | 29.94 | 0,28 | 0,16 | 29,25 | 30,62 | 29,73 | 30,25 |
| 20 | 3 | 30.04 | 0,23 | 0,13 | 29,48 | 30,60 | 29,78 | 30,20 |
| 30 | 3 | 30.04 | 0,25 | 0,14 | 29,42 | 30,67 | 29,80 | 30,30 |
| Total | 12 | 29.98 | 0,32 | 0,09 | 29,78 | 30,18 | 29,30 | 30,45 |

Sidik ragam suhu malam ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | Db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,042 | 0,014 | 0,107 | 0,954 |
| Acak | 8 | 1,047 | 0,131 | | |
| Total | 11 | 1,089 | | | |

Signifikan = 0,954 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Lampiran 8. Data Pengukuran pH Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

Data pH pagi hari °C

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 7,81 | 7,87 | 7,41 | 7,80 | 7,92 | 7,95 | 7,97 | 8,09 | 8,52 | 8,02 | 8,35 | 8,44 | 8,67 | 8,08 | 8,01 |
| K ₂ | 8,06 | 8,22 | 7,98 | 8,02 | 8,21 | 8,18 | 8,19 | 8,04 | 8,56 | 8,14 | 8,42 | 8,64 | 8,56 | 8,10 | 8,09 |
| K ₃ | 7,91 | 7,89 | 8,20 | 8,02 | 7,77 | 7,84 | 8,18 | 8,08 | 8,58 | 8,24 | 8,32 | 8,64 | 8,55 | 8,15 | 8,28 |
| A ₁ | 7,94 | 7,93 | 7,70 | 8,08 | 8,10 | 8,01 | 7,98 | 8,02 | 8,51 | 8,27 | 8,32 | 8,44 | 8,57 | 8,21 | 8,11 |
| A ₂ | 7,79 | 7,83 | 7,98 | 7,91 | 8,12 | 7,97 | 8,08 | 8,11 | 8,45 | 8,30 | 8,38 | 8,55 | 8,37 | 8,11 | 8,08 |
| A ₃ | 7,97 | 7,91 | 8,20 | 8,09 | 8,02 | 7,93 | 8,17 | 8,08 | 8,56 | 8,24 | 8,52 | 8,67 | 8,62 | 8,14 | 8,35 |
| B ₁ | 8,05 | 7,93 | 8,17 | 8,22 | 8,23 | 8,09 | 8,16 | 8,07 | 8,54 | 8,20 | 8,25 | 8,58 | 8,50 | 8,01 | 8,07 |
| B ₂ | 8,01 | 7,94 | 8,19 | 7,54 | 7,99 | 8,20 | 8,19 | 8,21 | 8,56 | 8,23 | 8,37 | 8,62 | 8,56 | 8,21 | 8,24 |
| B ₃ | 8,01 | 7,88 | 7,83 | 7,89 | 8,01 | 8,08 | 8,06 | 8,10 | 8,65 | 8,01 | 8,44 | 8,57 | 8,59 | 8,05 | 8,05 |
| C ₁ | 7,95 | 8,18 | 8,09 | 8,15 | 7,98 | 8,14 | 8,16 | 8,06 | 8,56 | 8,38 | 8,46 | 8,60 | 8,48 | 8,05 | 8,16 |
| C ₂ | 8,05 | 7,89 | 8,15 | 8,01 | 7,97 | 8,17 | 8,20 | 8,17 | 8,59 | 8,03 | 8,55 | 8,61 | 8,60 | 8,20 | 8,23 |
| C ₃ | 8,02 | 7,88 | 8,10 | 8,02 | 8,02 | 8,18 | 8,31 | 8,13 | 8,68 | 8,15 | 8,55 | 8,67 | 8,60 | 8,07 | 8,26 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K ₁ | 8,04 | 7,98 | 7,84 | 7,89 | 8,12 | 7,84 | 7,94 | 7,85 | 7,35 | 7,43 | 7,93 | 7,73 | 7,81 | 7,93 | 7,96 |
| K ₂ | 7,99 | 8,01 | 8,03 | 8,22 | 8,11 | 8,21 | 8,18 | 8,06 | 7,22 | 7,98 | 8,21 | 8,08 | 8,02 | 7,96 | 8,19 |
| K ₃ | 8,22 | 7,91 | 7,94 | 7,89 | 8,18 | 8,19 | 7,84 | 7,91 | 7,45 | 8,20 | 7,77 | 7,90 | 8,02 | 7,94 | 8,18 |
| A ₁ | 8,07 | 7,95 | 7,89 | 7,93 | 8,29 | 7,91 | 8,01 | 7,94 | 7,67 | 7,70 | 8,10 | 7,81 | 8,08 | 8,00 | 7,98 |
| A ₂ | 8,08 | 8,00 | 7,61 | 7,83 | 8,13 | 7,84 | 7,97 | 7,79 | 7,24 | 7,98 | 8,12 | 7,92 | 7,91 | 7,96 | 8,08 |
| A ₃ | 8,20 | 7,85 | 7,83 | 7,91 | 8,17 | 7,91 | 7,93 | 7,97 | 7,56 | 8,20 | 8,02 | 7,96 | 8,09 | 7,97 | 8,17 |
| B ₁ | 8,20 | 8,03 | 7,77 | 7,93 | 8,02 | 8,14 | 8,09 | 8,05 | 7,86 | 8,17 | 8,23 | 7,84 | 8,22 | 7,94 | 8,16 |
| B ₂ | 8,22 | 8,04 | 7,94 | 7,94 | 8,24 | 7,94 | 8,20 | 8,01 | 7,38 | 8,19 | 7,99 | 7,97 | 7,54 | 8,18 | 8,19 |
| B ₃ | 8,05 | 7,88 | 7,97 | 7,88 | 8,07 | 7,95 | 8,08 | 8,01 | 7,17 | 7,83 | 8,01 | 7,97 | 7,89 | 8,23 | 8,06 |
| C ₁ | 8,19 | 8,07 | 7,98 | 8,18 | 8,08 | 8,15 | 8,14 | 7,95 | 7,31 | 8,09 | 7,98 | 8,07 | 8,15 | 7,95 | 8,16 |
| C ₂ | 8,25 | 8,02 | 7,97 | 7,89 | 8,22 | 7,94 | 8,17 | 8,05 | 7,81 | 8,15 | 7,97 | 7,98 | 8,01 | 8,22 | 8,20 |
| C ₃ | 8,16 | 8,02 | 8,06 | 7,88 | 8,10 | 7,87 | 8,18 | 8,02 | 7,63 | 8,10 | 8,02 | 7,95 | 8,02 | 8,08 | 8,31 |

Dilanjutkan

Lampiran 8. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K ₁ | 8,41 | 8,18 | 7,88 | 8,09 | 8,02 | 8,01 | 8,11 | 8,33 | 8,35 | 8,61 | 8,16 | 8,43 | 8,42 | 7,95 | 8,52 |
| K ₂ | 8,36 | 8,29 | 8,00 | 8,04 | 8,14 | 8,09 | 8,39 | 8,51 | 8,42 | 8,56 | 8,49 | 8,64 | 8,43 | 8,28 | 8,56 |
| K ₃ | 8,21 | 8,22 | 8,10 | 8,08 | 8,24 | 8,28 | 8,39 | 8,45 | 8,32 | 8,55 | 8,26 | 8,64 | 8,30 | 8,26 | 8,58 |
| A ₁ | 8,11 | 8,17 | 7,90 | 8,02 | 8,27 | 8,11 | 8,26 | 8,27 | 8,32 | 8,57 | 8,14 | 8,44 | 8,23 | 8,36 | 8,51 |
| A ₂ | 8,28 | 8,18 | 7,95 | 8,11 | 8,30 | 8,08 | 8,31 | 8,41 | 8,38 | 8,37 | 8,44 | 8,55 | 8,38 | 8,15 | 8,45 |
| A ₃ | 8,25 | 8,15 | 8,13 | 8,08 | 8,24 | 8,35 | 8,45 | 8,31 | 8,52 | 8,62 | 8,29 | 8,67 | 8,55 | 8,40 | 8,56 |
| B ₁ | 8,22 | 8,15 | 8,07 | 8,07 | 8,20 | 8,07 | 8,30 | 8,36 | 8,25 | 8,50 | 8,42 | 8,58 | 8,42 | 8,39 | 8,54 |
| B ₂ | 8,34 | 8,27 | 8,15 | 8,21 | 8,23 | 8,24 | 8,43 | 8,48 | 8,37 | 8,56 | 8,21 | 8,62 | 8,32 | 8,50 | 8,56 |
| B ₃ | 8,33 | 8,14 | 8,08 | 8,10 | 8,01 | 8,05 | 8,33 | 8,48 | 8,44 | 8,59 | 8,01 | 8,57 | 8,57 | 8,38 | 8,65 |
| C ₁ | 8,15 | 8,20 | 8,12 | 8,06 | 8,38 | 8,16 | 8,36 | 8,36 | 8,46 | 8,48 | 8,54 | 8,60 | 8,30 | 8,42 | 8,56 |
| C ₂ | 8,25 | 8,15 | 8,13 | 8,17 | 8,03 | 8,23 | 8,47 | 8,53 | 8,55 | 8,60 | 8,22 | 8,61 | 8,54 | 8,39 | 8,59 |
| C ₃ | 8,35 | 8,21 | 8,11 | 8,13 | 8,15 | 8,26 | 8,36 | 8,55 | 8,55 | 8,60 | 8,04 | 8,67 | 8,62 | 8,42 | 8,68 |

Data pH malam hari °C

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 7,92 | 7,96 | 7,97 | 8,02 | 8,01 | 8,03 | 8,12 | 7,88 | 7,93 | 8,11 | 8,60 | 8,33 | 8,52 | 8,02 | 8,04 |
| K ₂ | 8,21 | 8,18 | 8,19 | 8,14 | 8,16 | 8,04 | 8,11 | 8,22 | 7,96 | 8,33 | 8,61 | 8,35 | 8,56 | 8,14 | 7,99 |
| K ₃ | 7,77 | 7,84 | 8,18 | 8,24 | 8,27 | 8,13 | 8,18 | 7,89 | 7,94 | 8,30 | 8,50 | 8,34 | 8,58 | 8,24 | 8,22 |
| A ₁ | 8,10 | 8,01 | 7,98 | 8,27 | 8,08 | 8,17 | 8,29 | 7,93 | 8,00 | 8,15 | 8,58 | 8,26 | 8,51 | 8,27 | 8,07 |
| A ₂ | 8,12 | 7,97 | 8,08 | 8,30 | 8,05 | 7,99 | 8,13 | 7,83 | 7,96 | 8,13 | 8,55 | 8,29 | 8,45 | 8,30 | 8,08 |
| A ₃ | 8,02 | 7,93 | 8,17 | 8,24 | 8,27 | 8,18 | 8,17 | 7,91 | 7,97 | 8,33 | 8,66 | 8,42 | 8,56 | 8,24 | 8,20 |
| B ₁ | 8,23 | 8,09 | 8,16 | 8,20 | 8,18 | 8,12 | 8,02 | 7,93 | 7,94 | 8,20 | 8,54 | 8,30 | 8,54 | 8,20 | 8,20 |
| B ₂ | 7,99 | 8,20 | 8,19 | 8,23 | 8,24 | 8,16 | 8,24 | 7,94 | 8,18 | 8,30 | 8,62 | 8,34 | 8,56 | 8,23 | 8,22 |
| B ₃ | 8,01 | 8,08 | 8,06 | 8,01 | 8,17 | 8,01 | 8,07 | 7,88 | 8,23 | 8,15 | 8,62 | 8,32 | 8,65 | 8,01 | 8,05 |
| C ₁ | 7,98 | 8,14 | 8,16 | 8,38 | 8,25 | 8,10 | 8,08 | 8,18 | 7,95 | 8,40 | 8,63 | 8,39 | 8,56 | 8,38 | 8,19 |
| C ₂ | 7,97 | 8,17 | 8,20 | 8,03 | 8,28 | 8,23 | 8,22 | 7,89 | 8,22 | 8,30 | 8,65 | 8,38 | 8,59 | 8,03 | 8,25 |
| C ₃ | 8,02 | 8,18 | 8,31 | 8,15 | 8,26 | 8,13 | 8,10 | 7,88 | 8,08 | 8,13 | 8,64 | 8,39 | 8,68 | 8,15 | 8,16 |

Dilanjutkan

Lampiran 8. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K ₁ | 8,08 | 8,50 | 8,02 | 8,08 | 8,01 | 8,02 | 7,93 | 7,81 | 7,98 | 7,89 | 7,57 | 7,53 | 8,03 | 8,24 | 8,19 |
| K ₂ | 8,04 | 8,56 | 8,14 | 8,10 | 7,98 | 8,10 | 8,12 | 8,03 | 8,01 | 8,08 | 8,14 | 7,90 | 8,04 | 8,09 | 8,08 |
| K ₃ | 8,08 | 8,58 | 8,24 | 8,15 | 7,92 | 7,98 | 7,93 | 7,94 | 7,91 | 8,09 | 7,99 | 7,98 | 8,08 | 8,13 | 8,20 |
| A ₁ | 8,02 | 8,51 | 8,27 | 8,21 | 8,03 | 8,03 | 8,07 | 7,89 | 7,95 | 8,11 | 8,12 | 7,74 | 8,17 | 8,16 | 7,78 |
| A ₂ | 8,11 | 8,45 | 8,30 | 8,11 | 8,05 | 7,70 | 7,93 | 7,61 | 8,00 | 7,90 | 7,84 | 7,78 | 7,91 | 7,98 | 8,08 |
| A ₃ | 8,08 | 8,56 | 8,24 | 8,14 | 8,13 | 7,82 | 7,98 | 7,83 | 7,85 | 8,11 | 7,99 | 8,02 | 8,09 | 8,18 | 8,17 |
| B ₁ | 8,07 | 8,54 | 8,20 | 8,01 | 8,10 | 7,94 | 8,15 | 7,77 | 8,03 | 8,06 | 7,95 | 7,90 | 8,01 | 8,12 | 8,16 |
| B ₂ | 8,21 | 8,56 | 8,23 | 8,21 | 8,15 | 7,98 | 8,00 | 7,94 | 8,04 | 8,10 | 7,95 | 7,94 | 8,08 | 8,16 | 8,19 |
| B ₃ | 8,10 | 8,65 | 8,01 | 8,05 | 8,11 | 7,98 | 7,96 | 7,97 | 7,88 | 8,24 | 7,90 | 7,91 | 8,01 | 8,15 | 8,06 |
| C ₁ | 8,06 | 8,56 | 8,38 | 8,05 | 8,12 | 8,01 | 7,98 | 7,98 | 8,07 | 8,05 | 7,93 | 7,91 | 8,08 | 8,10 | 8,16 |
| C ₂ | 8,17 | 8,59 | 8,03 | 8,20 | 8,07 | 8,00 | 8,05 | 7,97 | 8,02 | 8,14 | 7,92 | 7,95 | 8,04 | 8,23 | 8,20 |
| C ₃ | 8,13 | 8,68 | 8,15 | 8,07 | 8,08 | 7,93 | 8,01 | 8,06 | 8,02 | 8,19 | 7,94 | 7,89 | 8,08 | 8,12 | 8,31 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K ₁ | 7,88 | 7,99 | 7,83 | 8,04 | 8,12 | 8,03 | 8,10 | 7,93 | 8,59 | 8,34 | 8,25 | 8,33 | 8,09 | 8,03 | 8,21 |
| K ₂ | 8,11 | 8,09 | 8,04 | 7,99 | 8,20 | 8,16 | 8,33 | 8,26 | 8,61 | 8,35 | 8,55 | 8,40 | 8,31 | 8,04 | 8,23 |
| K ₃ | 8,17 | 8,12 | 8,14 | 8,22 | 8,30 | 8,27 | 8,30 | 8,41 | 8,52 | 8,34 | 8,59 | 8,50 | 8,35 | 8,13 | 8,13 |
| A ₁ | 8,01 | 7,95 | 7,73 | 8,07 | 8,31 | 8,08 | 8,15 | 8,09 | 8,58 | 8,26 | 8,27 | 8,15 | 8,37 | 8,17 | 8,20 |
| A ₂ | 8,03 | 8,00 | 7,98 | 8,08 | 8,28 | 8,05 | 8,13 | 8,20 | 8,55 | 8,29 | 8,51 | 8,30 | 8,23 | 7,99 | 8,22 |
| A ₃ | 8,23 | 8,15 | 8,12 | 8,20 | 8,44 | 8,27 | 8,33 | 8,44 | 8,66 | 8,42 | 8,61 | 8,61 | 8,42 | 8,18 | 8,13 |
| B ₁ | 8,09 | 8,10 | 8,16 | 8,20 | 8,23 | 8,18 | 8,20 | 8,26 | 8,54 | 8,30 | 8,59 | 8,51 | 8,28 | 8,12 | 8,15 |
| B ₂ | 8,32 | 8,18 | 8,19 | 8,22 | 8,38 | 8,24 | 8,30 | 8,38 | 8,62 | 8,34 | 8,47 | 8,52 | 8,34 | 8,16 | 8,15 |
| B ₃ | 8,12 | 8,10 | 7,69 | 8,05 | 8,27 | 8,17 | 8,15 | 8,36 | 8,62 | 8,32 | 8,36 | 8,49 | 8,33 | 8,01 | 8,27 |
| C ₁ | 8,13 | 8,14 | 8,13 | 8,19 | 8,32 | 8,25 | 8,40 | 8,39 | 8,63 | 8,39 | 8,58 | 8,45 | 8,42 | 8,10 | 8,17 |
| C ₂ | 8,18 | 8,14 | 8,07 | 8,25 | 8,44 | 8,28 | 8,30 | 8,29 | 8,65 | 8,38 | 8,51 | 8,58 | 8,41 | 8,23 | 8,19 |
| C ₃ | 8,24 | 8,13 | 7,66 | 8,16 | 8,48 | 8,26 | 8,13 | 8,43 | 8,64 | 8,39 | 8,47 | 8,36 | 8,42 | 8,13 | 8,22 |

Lampiran 9. Data pH Pagi Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

pH pagi hari

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 7,81 | 8,01 | 7,84 | 8,23 | 7,97 |
| | 2 | 8,06 | 8,22 | 8,03 | 8,34 | 8,16 |
| | 3 | 7,91 | 8,17 | 7,96 | 8,32 | 8,09 |
| A | 1 | 7,94 | 8,14 | 7,95 | 8,24 | 8,07 |
| | 2 | 7,79 | 8,13 | 7,89 | 8,28 | 8,02 |
| | 3 | 7,97 | 8,23 | 7,98 | 8,37 | 8,14 |
| B | 1 | 8,05 | 8,2 | 8,04 | 8,3 | 8,15 |
| | 2 | 8,01 | 8,2 | 7,99 | 8,36 | 8,14 |
| | 3 | 8,01 | 8,14 | 7,93 | 8,31 | 8,10 |
| C | 1 | 7,95 | 8,22 | 8,03 | 8,34 | 8,14 |
| | 2 | 8,05 | 8,22 | 8,05 | 8,36 | 8,17 |
| | 3 | 8,02 | 8,24 | 8,02 | 8,38 | 8,17 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas pH pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| pH pagi | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 8,1100 |
| | Std. Deviasi | 0,06310 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,266 |
| | Positif | 0,171 |
| | Negatif | -0,266 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,922 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,363 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|-------|
| 2,357 | 3 | 8 | 0,148 |

Lampiran 9 (Lanjutan).

Rata-rata statistik pH pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 (K) | 3 | 8,07 | 0,10 | 0,06 | 7,83 | 8,31 | 7,97 | 8,16 |
| 10 (A) | 3 | 8,08 | 0,06 | 0,03 | 7,93 | 8,23 | 8,02 | 8,14 |
| 20 (B) | 3 | 8,13 | 0,03 | 0,02 | 8,06 | 8,20 | 8,10 | 8,15 |
| 30 (C) | 3 | 8,16 | 0,02 | 0,01 | 8,12 | 8,20 | 8,14 | 8,17 |
| Total | 12 | 8,11 | 0,06 | 0,02 | 8,07 | 8,15 | 7,97 | 8,17 |

Sidik ragam pH pagi ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,016 | 0,005 | 1,545 | 0,276 |
| Acak | 8 | 0,028 | 0,003 | | |
| Total | 11 | 0,044 | | | |

Signifikan= 0,276 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Lampiran 10. Data pH Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

pH malam hari

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 7,92 | 8,09 | 7,99 | 8,11 | 8,03 |
| | 2 | 8,21 | 8,21 | 8,09 | 8,24 | 8,19 |
| | 3 | 7,77 | 8,17 | 8,08 | 8,29 | 8,08 |
| A | 1 | 8,1 | 8,17 | 8,07 | 8,15 | 8,12 |
| | 2 | 8,12 | 8,14 | 7,98 | 8,18 | 8,11 |
| | 3 | 8,02 | 8,21 | 8,07 | 8,34 | 8,16 |
| B | 1 | 8,23 | 8,19 | 8,06 | 8,26 | 8,19 |
| | 2 | 7,99 | 8,24 | 8,11 | 8,32 | 8,17 |
| | 3 | 8,01 | 8,15 | 8,06 | 8,22 | 8,11 |
| C | 1 | 7,98 | 8,25 | 8,09 | 8,31 | 8,16 |
| | 2 | 7,97 | 8,22 | 8,1 | 8,32 | 8,15 |
| | 3 | 8,02 | 8,21 | 8,11 | 8,27 | 8,15 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas pH malam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| pH Malam | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 8,1350 |
| | Std. Deviasi | 0,04719 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,208 |
| | Positif | 0,122 |
| | Negatif | -0,208 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,721 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,677 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|-------|
| 3,915 | 3 | 8 | 0,054 |

Lampiran 10 (Lanjutan).

Rata-rata statistik pH malam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 (K) | 3 | 8,10 | 0,08 | 0,05 | 7,90 | 8,30 | 8,03 | 8,19 |
| 10 (A) | 3 | 8,13 | 0,03 | 0,02 | 8,06 | 8,20 | 8,11 | 8,16 |
| 20 (B) | 3 | 8,16 | 0,04 | 0,02 | 8,05 | 8,26 | 8,11 | 8,19 |
| 30 (C) | 3 | 8,15 | 0,01 | 0,00 | 8,14 | 8,17 | 8,15 | 8,16 |
| Total | 12 | 8,14 | 0,05 | 0,01 | 8,11 | 8,17 | 8,03 | 8,19 |

Sidik ragam pH malam ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,006 | 0,002 | 0,897 | 0,484 |
| Acak | 8 | 0,018 | 0,002 | | |
| Total | 11 | 0,025 | | | |

Signifikan = 0,484 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Lampiran 11. Data Pengukuran DO Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

Data DO pagi hari mg/l

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 5,25 | 6,30 | 6,60 | 7,07 | 7,39 | 6,83 | 7,24 | 7,24 | 7,73 | 7,13 | 7,20 | 7,40 | 7,37 | 6,75 | 7,33 |
| K ₂ | 5,62 | 6,44 | 6,10 | 6,68 | 6,76 | 6,79 | 6,87 | 6,77 | 7,17 | 7,20 | 7,40 | 7,17 | 6,64 | 7,11 | 7,13 |
| K ₃ | 6,29 | 6,02 | 6,23 | 5,01 | 6,30 | 6,54 | 6,44 | 6,78 | 7,29 | 7,0 | 7,01 | 6,99 | 6,19 | 7,44 | 6,82 |
| A ₁ | 5,37 | 6,33 | 6,45 | 6,53 | 6,78 | 6,86 | 6,82 | 7,15 | 7,57 | 7,48 | 7,59 | 7,23 | 6,85 | 7,08 | 6,69 |
| A ₂ | 5,74 | 6,53 | 6,26 | 6,27 | 6,07 | 6,51 | 6,79 | 6,99 | 7,72 | 7,18 | 7,61 | 7,28 | 7,01 | 7,14 | 6,68 |
| A ₃ | 5,57 | 6,56 | 6,76 | 5,49 | 6,71 | 6,66 | 6,66 | 7,04 | 7,45 | 7,06 | 6,92 | 7,01 | 6,56 | 7,68 | 6,84 |
| B ₁ | 5,61 | 6,45 | 6,20 | 6,36 | 6,22 | 6,75 | 6,82 | 7,27 | 7,30 | 7,32 | 7,52 | 7,23 | 7,05 | 7,41 | 7,0 |
| B ₂ | 5,25 | 5,51 | 6,48 | 6,40 | 6,24 | 6,80 | 6,66 | 6,94 | 7,60 | 7,16 | 7,15 | 7,24 | 6,74 | 7,21 | 7,12 |
| B ₃ | 5,66 | 6,11 | 5,80 | 6,23 | 5,90 | 6,32 | 6,26 | 6,35 | 7,08 | 6,57 | 6,60 | 6,88 | 6,50 | 7,45 | 6,28 |
| C ₁ | 5,51 | 6,29 | 6,47 | 6,22 | 6,61 | 6,82 | 6,83 | 7,24 | 7,34 | 7,52 | 7,49 | 7,43 | 6,94 | 7,23 | 6,71 |
| C ₂ | 6,53 | 6,60 | 6,57 | 6,11 | 6,22 | 6,41 | 6,50 | 6,91 | 7,46 | 7,27 | 7,45 | 7,30 | 6,31 | 7,30 | 6,98 |
| C ₃ | 6,06 | 6,12 | 6,26 | 6,07 | 5,97 | 6,27 | 7,29 | 6,95 | 7,25 | 6,85 | 6,57 | 7,24 | 6,25 | 7,40 | 6,53 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K ₁ | 7,50 | 7,69 | 7,63 | 7,42 | 6,49 | 6,89 | 7,10 | 7,12 | 7,19 | 7,15 | 8,06 | 7,10 | 6,94 | 6,85 | 7,19 |
| K ₂ | 7,86 | 7,88 | 8,02 | 7,82 | 7,38 | 7,51 | 8,04 | 8,30 | 6,79 | 7,61 | 7,86 | 7,22 | 7,49 | 7,38 | 8,13 |
| K ₃ | 7,53 | 7,85 | 8,05 | 7,41 | 7,30 | 7,20 | 7,86 | 7,57 | 6,77 | 7,48 | 7,56 | 7,27 | 8,03 | 7,0 | 7,03 |
| A ₁ | 7,67 | 7,71 | 7,87 | 7,93 | 7,23 | 7,54 | 7,84 | 7,23 | 7,00 | 7,10 | 8,01 | 7,11 | 6,74 | 6,80 | 6,64 |
| A ₂ | 7,24 | 7,69 | 7,85 | 7,07 | 6,85 | 6,44 | 7,77 | 7,19 | 7,01 | 7,05 | 7,45 | 6,44 | 6,72 | 6,32 | 6,47 |
| A ₃ | 7,63 | 7,90 | 8,25 | 7,44 | 7,30 | 6,86 | 7,57 | 7,70 | 7,66 | 7,69 | 7,56 | 7,53 | 6,99 | 7,08 | 7,10 |
| B ₁ | 7,72 | 7,73 | 7,95 | 7,64 | 7,18 | 7,50 | 8,01 | 8,07 | 6,80 | 7,19 | 7,46 | 7,25 | 6,70 | 6,87 | 6,92 |
| B ₂ | 7,42 | 8,05 | 8,24 | 7,63 | 7,50 | 7,58 | 7,71 | 7,86 | 8,00 | 7,47 | 7,60 | 6,89 | 7,91 | 7,09 | 6,77 |
| B ₃ | 7,72 | 7,66 | 7,49 | 7,69 | 7,58 | 7,30 | 8,29 | 7,92 | 7,34 | 8,15 | 7,93 | 7,61 | 7,78 | 7,34 | 7,50 |
| C ₁ | 7,61 | 7,67 | 7,77 | 7,67 | 7,13 | 7,73 | 7,89 | 7,55 | 7,86 | 7,38 | 7,69 | 7,23 | 7,09 | 6,97 | 7,19 |
| C ₂ | 7,33 | 7,70 | 8,08 | 7,80 | 7,34 | 7,46 | 7,54 | 7,88 | 7,51 | 7,72 | 7,65 | 6,96 | 7,40 | 7,07 | 8,24 |
| C ₃ | 7,42 | 7,50 | 7,98 | 7,67 | 6,97 | 8,18 | 7,92 | 7,98 | 7,88 | 7,53 | 7,83 | 7,36 | 7,81 | 7,32 | 7,93 |

Dilanjutkan

Lampiran 11. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K ₁ | 6,60 | 7,33 | 7,56 | 7,21 | 6,95 | 7,00 | 8,66 | 7,84 | 7,32 | 7,52 | 8,00 | 7,48 | 6,69 | 6,64 | 7,21 |
| K ₂ | 7,00 | 6,94 | 7,14 | 7,05 | 6,87 | 7,07 | 8,72 | 8,51 | 7,79 | 7,46 | 6,89 | 7,09 | 6,77 | 6,70 | 7,02 |
| K ₃ | 6,58 | 6,62 | 7,82 | 7,08 | 7,35 | 7,39 | 7,75 | 7,92 | 7,19 | 7,32 | 6,89 | 7,43 | 6,77 | 6,72 | 7,00 |
| A ₁ | 5,56 | 6,59 | 6,74 | 6,98 | 6,67 | 7,06 | 8,23 | 7,06 | 6,84 | 7,49 | 7,02 | 6,98 | 7,08 | 6,56 | 7,05 |
| A ₂ | 6,71 | 6,63 | 7,08 | 6,87 | 6,84 | 7,06 | 7,85 | 7,64 | 7,12 | 7,27 | 6,71 | 7,05 | 7,14 | 6,05 | 7,17 |
| A ₃ | 6,96 | 7,16 | 7,50 | 7,06 | 7,37 | 7,29 | 8,13 | 7,96 | 7,19 | 7,12 | 7,79 | 7,44 | 7,68 | 7,19 | 7,18 |
| B ₁ | 6,85 | 6,77 | 7,97 | 6,45 | 7,18 | 7,06 | 7,88 | 7,91 | 7,25 | 7,28 | 6,72 | 7,15 | 7,41 | 6,48 | 7,29 |
| B ₂ | 6,97 | 6,72 | 7,43 | 6,92 | 7,21 | 7,72 | 8,85 | 7,94 | 7,37 | 7,33 | 7,97 | 7,37 | 7,21 | 7,58 | 7,03 |
| B ₃ | 6,28 | 6,18 | 7,31 | 7,36 | 6,85 | 6,83 | 8,30 | 7,79 | 7,70 | 7,66 | 7,42 | 7,40 | 7,45 | 7,15 | 7,00 |
| C ₁ | 6,90 | 7,00 | 7,41 | 7,15 | 7,11 | 7,04 | 7,69 | 7,80 | 7,00 | 7,37 | 7,00 | 7,32 | 7,23 | 6,93 | 7,23 |
| C ₂ | 7,08 | 7,04 | 7,61 | 7,01 | 7,46 | 7,77 | 8,93 | 7,98 | 7,56 | 7,28 | 7,01 | 7,38 | 7,30 | 7,04 | 7,08 |
| C ₃ | 6,39 | 6,39 | 7,36 | 7,03 | 6,74 | 7,25 | 8,77 | 7,66 | 7,40 | 7,43 | 7,54 | 7,10 | 7,40 | 7,45 | 7,01 |

Data DO malam hari mg/l

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| K ₁ | 6,30 | 5,13 | 6,65 | 7,06 | 6,66 | 6,80 | 6,98 | 7,19 | 7,23 | 5,24 | 7,32 | 7,15 | 7,10 | 7,40 | 7,21 |
| K ₂ | 6,07 | 5,83 | 6,27 | 6,78 | 6,58 | 6,39 | 7,02 | 6,84 | 7,10 | 5,97 | 6,83 | 7,06 | 6,73 | 7,09 | 7,06 |
| K ₃ | 6,71 | 6,12 | 6,52 | 6,08 | 6,43 | 6,35 | 6,81 | 6,80 | 7,19 | 5,56 | 6,95 | 6,82 | 6,50 | 6,99 | 6,63 |
| A ₁ | 6,74 | 5,73 | 6,02 | 6,60 | 6,80 | 6,41 | 6,99 | 7,06 | 7,15 | 5,68 | 5,83 | 7,16 | 6,36 | 7,37 | 6,55 |
| A ₂ | 6,52 | 5,88 | 6,52 | 6,15 | 6,39 | 6,33 | 6,90 | 6,83 | 7,65 | 5,82 | 7,30 | 7,39 | 6,92 | 7,25 | 6,36 |
| A ₃ | 6,59 | 6,61 | 6,64 | 6,84 | 6,40 | 6,56 | 6,85 | 6,58 | 7,34 | 5,62 | 6,60 | 6,53 | 6,91 | 7,08 | 6,71 |
| B ₁ | 6,43 | 5,91 | 6,49 | 6,41 | 6,42 | 6,28 | 6,95 | 6,70 | 7,25 | 5,94 | 7,54 | 6,96 | 6,86 | 7,35 | 6,87 |
| B ₂ | 6,62 | 6,43 | 6,28 | 6,47 | 6,45 | 7,38 | 7,35 | 6,93 | 7,51 | 5,11 | 7,16 | 7,18 | 6,86 | 7,34 | 7,05 |
| B ₃ | 6,40 | 5,53 | 7,20 | 5,91 | 6,15 | 5,95 | 6,56 | 7,57 | 7,01 | 5,90 | 6,92 | 7,04 | 7,04 | 6,88 | 6,21 |
| C ₁ | 6,42 | 6,28 | 5,07 | 6,59 | 6,56 | 6,72 | 6,93 | 6,96 | 7,17 | 5,91 | 7,25 | 7,01 | 6,44 | 7,08 | 6,56 |
| C ₂ | 6,60 | 6,45 | 6,25 | 6,55 | 6,19 | 7,05 | 7,28 | 6,88 | 7,26 | 5,32 | 6,84 | 6,67 | 6,56 | 7,36 | 6,74 |
| C ₃ | 6,63 | 6,03 | 6,18 | 6,31 | 6,38 | 6,28 | 6,83 | 7,10 | 7,20 | 5,97 | 7,05 | 6,88 | 6,97 | 7,08 | 6,33 |

Dilanjutkan

Lampiran 11. (Lanjutan)

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 |
| K₁ | 7,20 | 7,09 | 7,81 | 7,33 | 6,49 | 7,61 | 7,06 | 6,94 | 7,45 | 7,80 | 7,66 | 6,39 | 6,45 | 7,30 | 7,64 |
| K₂ | 7,22 | 7,52 | 7,89 | 7,80 | 7,38 | 7,78 | 7,77 | 7,32 | 7,50 | 7,85 | 7,98 | 6,83 | 6,76 | 7,56 | 7,38 |
| K₃ | 6,86 | 7,19 | 7,31 | 7,62 | 7,30 | 7,93 | 6,81 | 7,14 | 7,62 | 7,77 | 7,30 | 6,91 | 6,79 | 6,96 | 7,11 |
| A₁ | 7,13 | 7,53 | 7,62 | 7,60 | 7,23 | 7,49 | 8,71 | 6,62 | 7,69 | 8,21 | 7,56 | 6,23 | 6,84 | 6,93 | 6,73 |
| A₂ | 6,67 | 6,98 | 6,94 | 7,03 | 6,85 | 6,66 | 6,95 | 6,39 | 7,18 | 7,38 | 7,45 | 6,05 | 6,36 | 6,57 | 6,86 |
| A₃ | 7,39 | 7,34 | 7,82 | 6,84 | 6,84 | 7,34 | 7,04 | 6,23 | 7,85 | 7,81 | 7,17 | 6,91 | 6,67 | 7,26 | 7,19 |
| B₁ | 7,02 | 7,68 | 7,51 | 7,23 | 7,18 | 7,73 | 8,71 | 6,19 | 7,35 | 7,45 | 7,18 | 6,76 | 6,52 | 6,98 | 7,20 |
| B₂ | 7,73 | 7,40 | 7,74 | 7,50 | 7,02 | 7,64 | 7,18 | 7,27 | 7,66 | 8,26 | 7,53 | 7,04 | 6,76 | 6,92 | 6,68 |
| B₃ | 7,0 | 7,14 | 7,23 | 7,58 | 7,09 | 7,67 | 8,13 | 6,36 | 7,89 | 8,71 | 7,56 | 6,87 | 6,77 | 7,22 | 7,83 |
| C₁ | 7,18 | 7,32 | 7,75 | 7,15 | 7,13 | 7,73 | 7,07 | 7,34 | 7,39 | 7,92 | 7,03 | 6,62 | 6,81 | 6,98 | 7,43 |
| C₂ | 7,20 | 7,45 | 7,76 | 7,34 | 7,17 | 7,64 | 8,41 | 7,44 | 8,58 | 8,00 | 7,10 | 6,94 | 7,20 | 7,44 | 7,17 |
| C₃ | 6,68 | 7,23 | 7,74 | 6,97 | 6,60 | 7,62 | 7,96 | 6,05 | 7,56 | 7,98 | 7,32 | 6,68 | 6,88 | 7,28 | 7,38 |

| Perlakuan | Hari ke- | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 |
| K₁ | 8,08 | 7,37 | 7,24 | 7,97 | 7,73 | 7,94 | 7,83 | 7,06 | 7,37 | 7,36 | 8,13 | 7,04 | 6,69 | 7,37 | 7,01 |
| K₂ | 7,38 | 7,10 | 7,05 | 6,98 | 7,41 | 7,96 | 8,72 | 6,90 | 7,43 | 7,14 | 7,98 | 7,07 | 6,77 | 7,15 | 6,72 |
| K₃ | 7,11 | 7,22 | 7,28 | 7,33 | 7,67 | 8,00 | 8,10 | 7,39 | 7,63 | 6,94 | 7,99 | 6,08 | 6,52 | 7,19 | 6,87 |
| A₁ | 7,01 | 6,74 | 6,94 | 7,33 | 6,75 | 7,43 | 7,55 | 6,38 | 7,14 | 7,12 | 7,13 | 6,60 | 6,02 | 7,15 | 6,94 |
| A₂ | 6,92 | 6,95 | 7,09 | 7,13 | 7,18 | 7,99 | 8,13 | 6,61 | 7,49 | 6,61 | 7,81 | 6,15 | 6,52 | 7,65 | 7,05 |
| A₃ | 7,07 | 7,41 | 7,43 | 7,44 | 7,31 | 7,98 | 7,99 | 7,44 | 7,50 | 7,35 | 7,90 | 6,84 | 6,64 | 7,34 | 7,11 |
| B₁ | 7,35 | 7,35 | 7,36 | 6,97 | 7,06 | 8,25 | 8,70 | 6,51 | 7,48 | 7,21 | 7,40 | 6,41 | 6,49 | 7,25 | 7,21 |
| B₂ | 7,06 | 7,50 | 7,76 | 8,03 | 7,49 | 8,51 | 8,70 | 8,04 | 7,52 | 7,27 | 8,06 | 6,47 | 6,28 | 7,51 | 6,97 |
| B₃ | 7,40 | 7,20 | 6,58 | 7,05 | 7,23 | 7,78 | 7,68 | 6,87 | 7,04 | 7,16 | 8,95 | 6,91 | 7,20 | 7,01 | 6,73 |
| C₁ | 7,62 | 7,41 | 7,26 | 7,38 | 7,54 | 8,11 | 8,00 | 7,16 | 7,78 | 7,30 | 7,77 | 6,55 | 6,25 | 7,17 | 7,15 |
| C₂ | 7,36 | 7,85 | 7,03 | 7,45 | 8,38 | 8,46 | 8,01 | 7,28 | 7,68 | 7,16 | 7,75 | 6,31 | 6,18 | 7,18 | 7,00 |
| C₃ | 7,31 | 7,33 | 6,04 | 7,04 | 8,35 | 7,94 | 7,99 | 7,27 | 7,48 | 7,54 | 8,42 | 7,30 | 7,02 | 7,26 | 6,88 |

Lampiran 12. Data DO Pagi Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

DO pagi hari (mg/L)

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 5,25 | 6,98 | 7,22 | 7,33 | 6,70 |
| | 2 | 5,62 | 6,79 | 7,68 | 7,26 | 6,84 |
| | 3 | 6,29 | 6,55 | 7,46 | 7,18 | 6,87 |
| A | 1 | 5,37 | 6,85 | 7,36 | 6,92 | 6,63 |
| | 2 | 5,74 | 6,78 | 7,03 | 7,01 | 6,64 |
| | 3 | 5,57 | 6,73 | 7,52 | 7,4 | 6,81 |
| B | 1 | 5,61 | 6,83 | 7,39 | 7,17 | 6,75 |
| | 2 | 5,25 | 6,7 | 7,58 | 7,44 | 6,74 |
| | 3 | 5,66 | 6,39 | 7,68 | 7,24 | 6,74 |
| C | 1 | 5,51 | 6,84 | 7,49 | 7,21 | 6,76 |
| | 2 | 6,53 | 6,79 | 7,57 | 7,43 | 7,08 |
| | 3 | 6,06 | 6,6 | 7,68 | 7,26 | 6,90 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas DO pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| DO Pagi | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 6,7883 |
| | Std. Deviasi | 0,12401 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,174 |
| | Positif | 0,174 |
| | Negatif | -0,101 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,602 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,862 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|---------------------|-----|-----|-------|
| 2,516 | 3 | 8 | 0,132 |

Lampiran 12 (Lanjutan).

Rata-rata statistik DO pagi media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 (K) | 3 | 6,80 | 0,09 | 0,05 | 6,58 | 7,03 | 6,70 | 6,87 |
| 10 (A) | 3 | 6,69 | 0,10 | 0,06 | 6,44 | 6,94 | 6,63 | 6,81 |
| 20 (B) | 3 | 6,74 | 0,01 | 0,00 | 6,73 | 6,76 | 6,74 | 6,75 |
| 30 (C) | 3 | 6,91 | 0,16 | 0,09 | 6,51 | 7,31 | 6,76 | 7,08 |
| Total | 12 | 6,79 | 0,12 | 0,04 | 6,71 | 6,87 | 6,63 | 7,08 |

Sidik ragam DO pagi ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,081 | 0,027 | 2,433 | 0,140 |
| Acak | 8 | 0,088 | 0,011 | | |
| Total | 11 | 0,169 | | | |

Signifikan = 0,140 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)

Lampiran 13. Data DO Malam Media Pemeliharaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) Selama Penelitian

DO malam hari (mg/L)

| PERLAKUAN ULANGAN | | Pengamatan Hari Ke- | | | | Rata-rata |
|----------------------|---|---------------------|------|------|------|-----------|
| | | 0 | 15 | 30 | 45 | |
| K | 1 | 6,3 | 6,76 | 7,21 | 7,47 | 6,94 |
| | 2 | 6,07 | 6,64 | 7,5 | 7,31 | 6,88 |
| | 3 | 6,71 | 6,56 | 7,24 | 7,28 | 6,95 |
| A | 1 | 6,74 | 6,56 | 7,34 | 6,94 | 6,90 |
| | 2 | 6,52 | 6,68 | 6,82 | 7,15 | 6,79 |
| | 3 | 6,59 | 6,65 | 7,18 | 7,38 | 6,95 |
| B | 1 | 6,43 | 6,69 | 7,24 | 7,26 | 6,91 |
| | 2 | 6,62 | 6,8 | 7,35 | 7,54 | 7,08 |
| | 3 | 6,4 | 6,55 | 7,4 | 7,25 | 6,90 |
| C | 1 | 6,42 | 6,59 | 7,25 | 7,36 | 6,91 |
| | 2 | 6,6 | 6,6 | 7,52 | 7,4 | 7,03 |
| | 3 | 6,63 | 6,61 | 7,19 | 7,41 | 6,96 |

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas DO malam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

| DO Malam | | |
|--|--------------|---------|
| N | | 12 |
| Parameter Normal ^a | Rata-rata | 6,9333 |
| | Std. Deviasi | 0,07315 |
| Perbandingan Distribusi kumulatif | Absolut (D) | 0,191 |
| | Positif | 0,191 |
| | Negatif | -0,158 |
| Kolmogorov-Smirnov Z (deviasi distribusi normal) | | 0,662 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | | 0,773 |

a. Data yang diuji adalah distribusi normal

Uji Homogenitas Varians

| Levene Statistic | db1 | db2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|-------|
| 1,509 | 3 | 8 | 0,285 |

Lampiran 13 (Lanjutan).

Rata-rata statistik DO dalam media pemeliharaan ikan sidat (*Anguilla bicolor*) selama penelitian

| Perlakuan | N | Rata-rata | Std. Deviasi | Std. Error | Selang kepercayaan 95% | | Minimum | Maximum |
|-----------|----|-----------|--------------|------------|------------------------|------------|---------|---------|
| | | | | | Batas bawah | Batas atas | | |
| 0 (K) | 3 | 6,92 | 0,04 | 0,02 | 6,83 | 7,02 | 6,88 | 6,95 |
| 10 (A) | 3 | 6,88 | 0,08 | 0,05 | 6,68 | 7,08 | 6,79 | 6,95 |
| 20 (B) | 3 | 6,96 | 0,10 | 0,06 | 6,71 | 7,21 | 6,90 | 7,08 |
| 30 (C) | 3 | 6,97 | 0,06 | 0,03 | 6,82 | 7,12 | 6,91 | 7,03 |
| Total | 12 | 6,93 | 0,07 | 0,02 | 6,89 | 6,98 | 6,79 | 7,08 |

Sidik Ragam DO Malam Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*)

| Sumber Keragaman | db | JK | KT | F | Sig. |
|------------------|----|-------|-------|-------|-------|
| Perlakuan | 3 | 0,015 | 0,005 | 0,901 | 0,482 |
| Acak | 8 | 0,044 | 0,005 | | |
| Total | 11 | 0,059 | | | |

Signifikan = 0,482 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$)