

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) TERHADAP KELULUSHIDUPAN IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

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

Oleh :
MUHAMMAD SULAIMAN DADIONO
NIM. 105080500111009



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

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) TERHADAP KELULUSHIDUPAN IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

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

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

Oleh :
**MUHAMMAD SULAIMAN DADIONO
NIM. 105080500111009**



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

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) TERHADAP KELULUSHIDUPAN IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :
MUHAMMAD SULAIMAN DADIONO
NIM. 105080500111009

Dosen Penguji I

Dosen Pembimbing I

Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D
NIP. 19460320 197303 1 001

Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
NIP. 19611106 198602 2 001

TANGGAL:

TANGGAL:

Dosen Penguji II

Dosen Pembimbing II

Fani Fariedah, S.Pi, MP
NIK. 82030 8081 20 397

Ir. Ellana Sanoesi, MP
NIP.19630924 199803 2 002

TANGGAL:

TANGGAL:

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

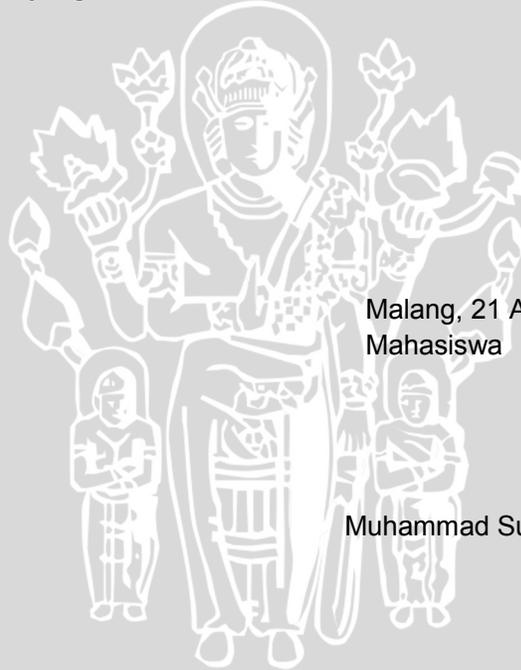
Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19620805 198603 2 001

TANGGAL:

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, 21 Agustus 2014
Mahasiswa

Muhammad Sulaiman Dadiono

RINGKASAN

MUHAMMAD SULAIMAN DADIONO. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Terhadap Kelulushidupan Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MS**.

Kontribusi ekspor ikan hias Indonesia dalam neraca perdagangan perikanan pada 2011 mencapai 13,26 juta dollar AS dan hingga April 2012 telah mencapai 5,24 juta dollar AS. Salah satunya adalah ikan koi (*Cyprinus carpio*) karena memiliki nilai ekonomi cukup tinggi, selain banyak penggemar yang secara serius mengoleksi ikan ini untuk ajang kontes ikan hias.

Ikan koi sangat rentan akan adanya hama dan penyakit pada waktu masih benih, dan penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sampai saat ini solusi untuk mengatasi penyakit tersebut masih dilakukan dengan pemberian antibiotik, pemakaian antibiotik dapat menimbulkan resistensi bakteri *A. hydrophila* terhadap antibiotik tertentu. oleh karena itu diperlukan pengobatan alternatif yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan senyawa aktif binahong (*A. cordifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* tanpa menimbulkan efek resistensi.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan 14 April sampai 21 Mei 2014. Tujuan penelitian ini adalah untuk Mengetahui pengaruh dari pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* dan Mengetahui berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) untuk dapat meningkatkan kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi. Dengan 3 perlakuan yaitu A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm), serta kontrol (+) dan kontrol (-) yang masing – masing diulang sebanyak 3 kali.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah rata-rata presentase kelulushidupan ikan koi pada perlakuan kontrol (+) sebesar 53,33 %, kontrol (-) sebesar 96,66 %, A (200 ppm) sebesar 100 %, B (400 ppm) 96,66%, C (600 ppm) 83,33%. Peningkatan kelulushidupan ikan koi terjadi mulai dari dosis 0 ppm pada kontrol positif sampai dosis optimal pada dosis 145 ppm kemudian meningkat lagi sampai pada dosis maksimal 335 ppm. Karena dalam ekstrak kasar daun binahong mengandung senyawa aktif flavonoid yang berperan sebagai antibakteri dan immunostimulan yang dapat meningkatkan kelulushidupan ikan koi. Setelah berada pada dosis maksimal 335 ppm kelulushidupan ikan koi terus mengalami penurunan sampai pada dosis 600 ppm. karena dalam ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) terdapat kandungan senyawa aktif yang memiliki fungsi sebagai immunosupresor yang dapat menghambat dan menekan aktivitas imun.

Saran yang dapat diberikan Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan melakukan pencegahan terhadap ikan koi (*C. carpio*) akan bahaya infeksi bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) dengan dosis 145 ppm.

KATA PENGANTAR

Puja dan puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia*) Terhadap Kelulushidupan Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. Yang kedua shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan Nabi besar kita Muhammad SAW. sebagai teladan umat manusia.

Laporan Skripsi ini merupakan hasil penyusunan laporan yang diperoleh selama Penelitian yang dilaksanakan pada tanggal 14 April sampai 21 Mei 2014 dan laporan ini dibuat dengan maksud untuk memenuhi syarat mendapatkan gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

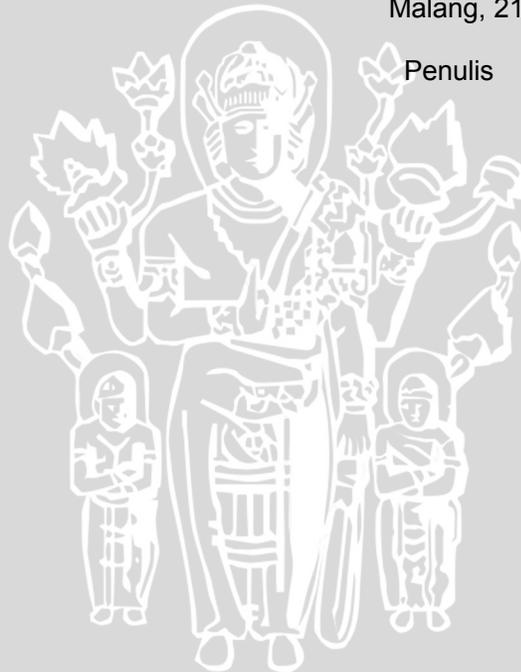
- Ibu, ayah, dan seluruh keluarga besar atas segala doa, motivasi dan dukungan selama ini.
- Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku pembimbing I yang telah banyak memberikan masukan selama penelitian skripsi dan dalam penyusunan laporan skripsi.
- Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan pengetahuan serta masukan selama penelitian skripsi dan dalam penyusunan laporan skripsi.
- Tim Binahong (Danny dan Huriatul) serta teman-teman dari angkatan BP 2010 yang telah banyak membantu, memberi motivasi serta kerja samanya selama penelitian dan penyusunan skripsi.

- Keluarga besar Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan angkatan 2010, serta semua pihak yang telah memberikan dukungan baik moral maupun materi sehingga dapat tersusunnya laporan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa laporan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan laporan ini. Harapan penulis semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi para pembacanya.

Malang, 21 Agustus 2014

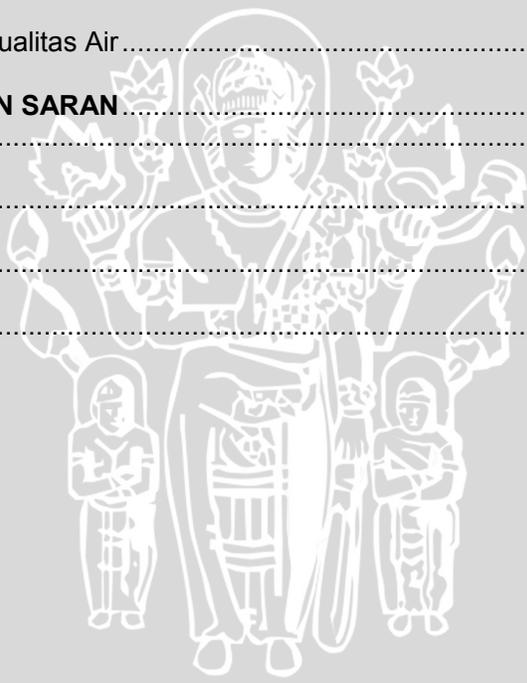
Penulis



DAFTAR ISI

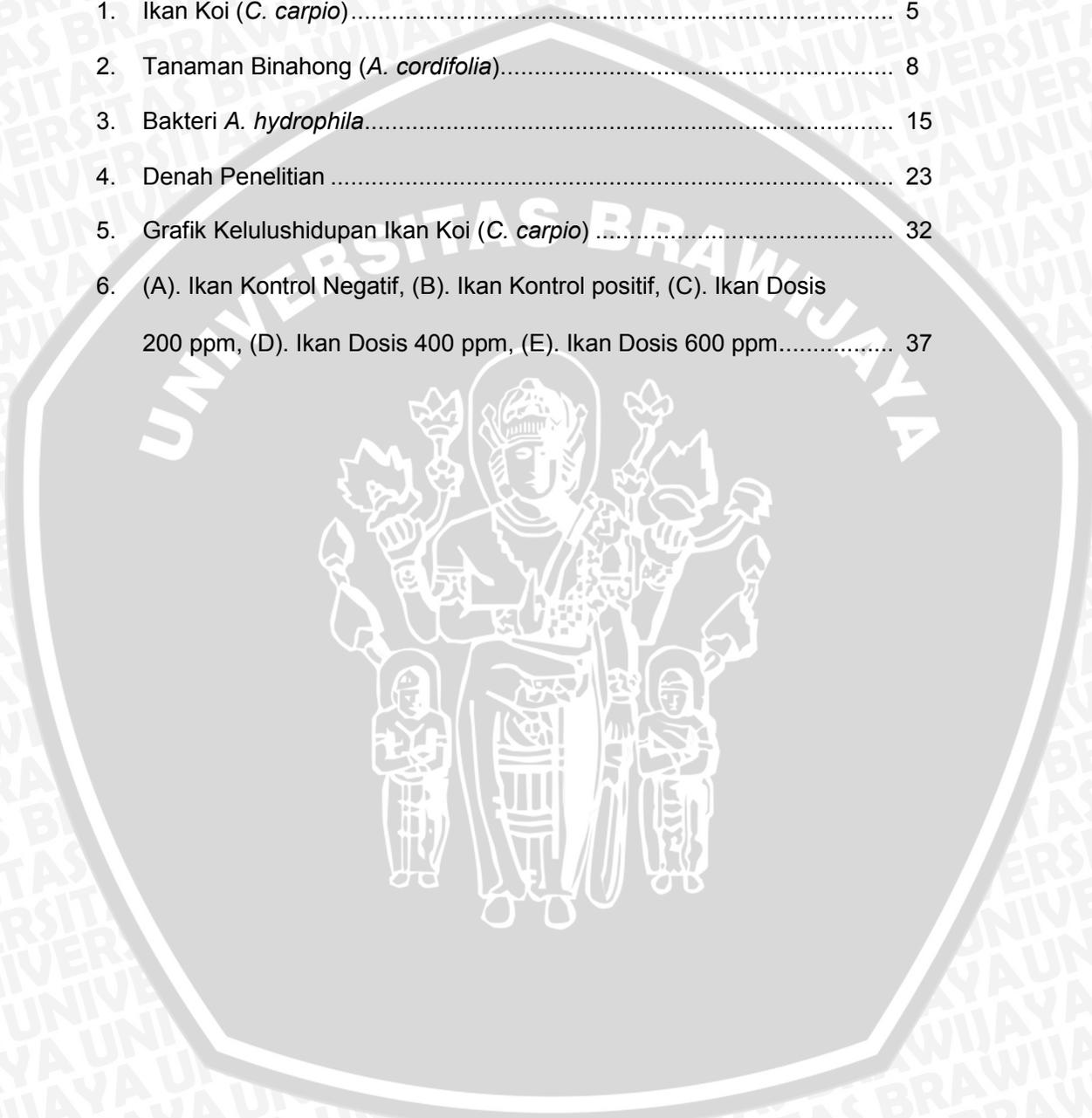
	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan morfologi Ikan koi (<i>C. carpio</i>)	4
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	6
2.1.3 Pakan dan Kebiasaan Makan	7
2.2 Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	8
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	9
2.2.3 Manfaat dan Kandungan Tanaman Binahong	10
2.2.4 Zat Antimikroba Tanaman Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	11
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	15
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	15
2.3.2 Habitat dan Perkembangbiakan	15
2.3.3 Patogenitas Bakteri <i>A. hydrophila</i>	16
2.3.4 Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	17
2.4 Sistem Imun Pada Ikan	18
2.5 Kelulushidupan Pada Ikan	18
2.6 Gejala Patologi Klinis pada Ikan	19
3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Materi Penelitian	20
3.1.1 Alat Penelitian	20
3.1.2 Bahan Penelitian	21

3.2 Metode Penelitian.....	21
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Persiapan Penelitian	23
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	26
3.5 Parameter Uji	28
3.5.1 Parameter Utama	28
3.5.2 Parameter Penunjang	28
3.6 Analisa Data	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Kelulushidupan Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	30
4.2 Gejala Klinis Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	33
4.3 Pengamatan Kualitas Air	37
5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45



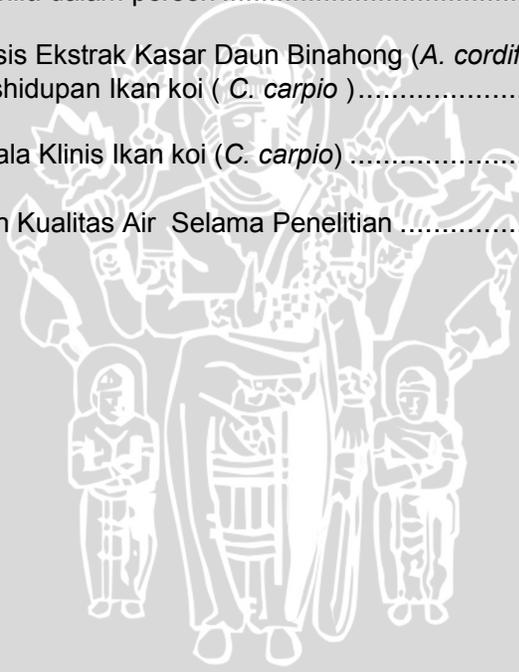
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	5
2. Tanaman Binahong (<i>A. cordifolia</i>).....	8
3. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	15
4. Denah Penelitian	23
5. Grafik Kelulushidupan Ikan Koi (<i>C. carpio</i>).....	32
6. (A). Ikan Kontrol Negatif, (B). Ikan Kontrol positif, (C). Ikan Dosis 200 ppm, (D). Ikan Dosis 400 ppm, (E). Ikan Dosis 600 ppm.....	37



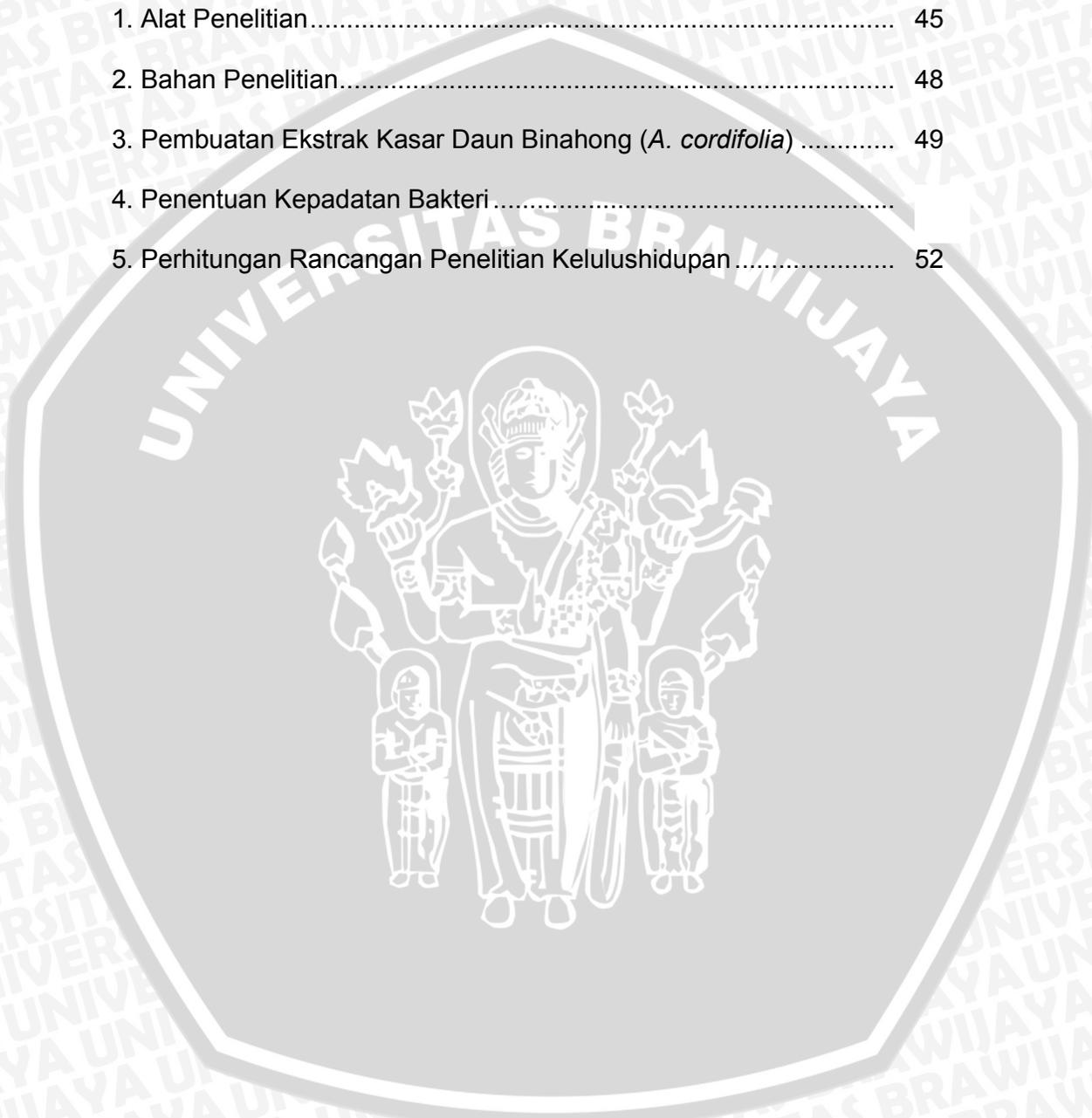
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat Penelitian untuk Mendapatkan Ekstrak Secara <i>In Vitro</i>	20
2. Alat Penelitian untuk Uji Kelulushidupan Secara <i>In Vivo</i>	20
3. Bahan Penelitian untuk Mendapatkan Ekstrak Secara <i>In Vitro</i>	21
4. Bahan Penelitian untuk Uji Kelulushidupan Secara <i>In Vivo</i>	21
5. Data Rata – rata Kelulushidupan Ikan Koi (<i>C. carpio</i>) yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> dalam Persen	30
6. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Koi (<i>C. carpio</i>) yang Diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i> dalam persen	31
7. Hasil Uji BNT Dosis Ekstrak Kasar Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>) Terhadap Kelulushidupan Ikan koi (<i>C. carpio</i>)	31
8. Pengamatan Gejala Klinis Ikan koi (<i>C. carpio</i>)	34
9. Data Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	45
2. Bahan Penelitian.....	48
3. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	49
4. Penentuan Kepadatan Bakteri.....	
5. Perhitungan Rancangan Penelitian Kelulushidupan.....	52



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kontribusi ekspor ikan hias Indonesia dalam neraca perdagangan perikanan pada 2011 mencapai 13,26 juta dollar AS dan hingga April 2012 telah mencapai 5,24 juta dollar AS. Tujuan utama ekspor ikan hias Indonesia adalah Amerika Serikat, Jepang, Hongkong, Australia, Inggris. Hal tersebut tidak terlepas dari keberadaan lima negara pengimpor ikan hias dunia. Kelimanya adalah Singapura 2,3 juta dollar AS, Jepang 2,2 juta dollar AS, Amerika Serikat 2 juta dollar AS, Malaysia 1,5 juta dollar AS dan Hongkong sebesar 2,9 juta dollar AS. Dan untuk budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) itu sendiri dalam sebulan menghasilkan 20.000 ekor ikan koi. Dengan penjualan berkisar 10.000 ekor. Omset usaha ikan koi dalam sebulan bisa mencapai puluhan juta rupiah dan jika semua digabung, omsetnya dapat mencapai puluhan juta rupiah. Rata-rata sebulan bisa menghasilkan Rp 80 juta (Utami, 2013).

Ikan hias merupakan salah satu komoditi perikanan yang memiliki peluang untuk dikembangkan. Salah satunya adalah ikan hias koi (*Cyprinus carpio*) karena memiliki nilai ekonomi cukup tinggi, selain banyak penggemar yang secara serius mengkoleksi ikan ini untuk ajang kontes ikan hias maupun sebagai peliharaan, karena memiliki corak warna yang unik dan bentuk tubuh yang elegan. Menurut Saselah, *et al.* (2012), ikan koi (*C. carpio*) merupakan jenis ikan hias air tawar yang bernilai ekonomis penting. Ikan koi (*C. carpio*) dikenal oleh masyarakat sebagai ikan hias. Ikan koi sendiri berasal dari Jepang. Ikan koi sangat diminati khususnya parapecinta ikan hias dan para pengusaha. Masyarakat lebih tertarik dengan ikan koi karena warna yang indah dan kelincahan gerakannya (Priyagung, 2008). Ikan ini telah mampu menembus

pasar ekspor Eropa yaitu Jerman. Nilai eksportnya cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Tetapi Indonesia hanya mampu menyumbang 10 juta dolar AS untuk permintaan ikan koi dunia yang mencapai 45 juta dolar AS sehingga masih besar peluang budidaya untuk ikan koi (Fadel, 2010 *dalam* Muntamah, Lestari dan Apriani, 2011).

Ikan koi sangat rentan akan adanya hama dan penyakit pada waktu masih dalam bentuk benih, dan penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Menurut Ellis, (1988) *dalam* Suhermanto, *et al.* (2011) pada ikan, respon imun baru terbentuk secara sempurna disaat ikan telah dewasa. Ikan-ikan muda tidak mempunyai respon imun spesifik yang sempurna. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan bakteri gram negatif, bersifat saprofit dan parasit obligat. Sehingga bakteri ini mudah sekali menyebar dari satu inang ke inang lainnya.

Sampai saat ini solusi untuk mengatasi penyakit tersebut masih dilakukan dengan pemberian antibiotik yang mengandung bahan kimia yang dapat menyebabkan resistensi terhadap lingkungan maupun organismenya sendiri, selain itu antibiotik ini juga memiliki harga yang cukup mahal. Menurut Wang dan Silva, (1999) *dalam* Dayanti, *et al.* (2012), pemakaian antibiotik dapat menimbulkan resistensi bakteri *A. hydrophila* terhadap antibiotik tertentu. Pengaruh lain dari penggunaan antibiotik ini dikawatirkan akan menimbulkan akumulasi dalam.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. karena itu perlu dilakukannya penelitian tentang pemanfaatan senyawa aktif binahong (*A. cordifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* tanpa menimbulkan efek resistensi yang dikaji melalui kelulushidupan ikan Koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Menurut Dayanti, *et al.* (2012), untuk

menghindari dampak negatif penggunaan antibiotik, maka penanggulangan penyakit ikan diupayakan dengan menggunakan tanaman obat yang mempunyai khasiat anti bakteri (*herbal medicine*).

1.2. Perumusan Masalah

Ikan Koi (*C. carpio*) termasuk komoditas ikan hias yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Tetapi seringkali petani dan konsumen ikan koi ini mengalami gangguan dalam pemeliharaan yang disebabkan oleh beberapa penyakit, salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Tetapi hingga saat ini pengobatannya masih banyak menggunakan antibiotik yang berbahan kimia yang dapat menyebabkan efek resistensi terhadap lingkungan maupun organismenya, oleh karena itu diperlukan pengobatan alternatif yang ramah lingkungan dengan memanfaatkan senyawa aktif binahong (*A. cordifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* tanpa menimbulkan efek resistensi serta mengetahui manfaat pemberian senyawa aktif tersebut terhadap kelulushidupan ikan Koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

- a. Mengetahui pengaruh dari pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*.
- b. Mengetahui berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) untuk dapat meningkatkan kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4. Hipotesis

H_0 : Pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) tidak mempengaruhi kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) diduga dapat mempengaruhi kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 14 April sampai 21 Mei 2014.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Koi (*C. carpio*)

Klasifikasi ikan koi (Gambar 1) menurut Yusuf (2002) dalam Priyagung (2008) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Superkelas	: Gnathostomata
Kelas	: Osteichthyes
Superordo	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Famili	: Cyprinidae
Genus	: <i>Cyprinus</i>
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i>



Gambar 1. Ikan Koi (*C. carpio*) (Firdaus, 2010).

Badan ikan koi berbentuk seperti torpedo dengan perangkat gerak berupa sirip, yang meliputi sebuah sirip punggung, sepasang sirip dada, sepasang sirip

perut, sebuah sirip anus, dan sebuah sirip ekor. Pertumbuhan badannya bergantung pada suhu air, pakan dan jenis kelamin. Dalam tempo setengah tahun ikan koi tumbuh sangat cepat. Umumnya ikan koi jantan tumbuh langsing, sedangkan ikan koi betina membulat. Sampai umur 2 tahun, ikan koi jantan tumbuh lebih pesat dibandingkan betina. Namun setelah itu terjadi sebaliknya, betina tumbuh lebih pesat daripada jantan. Di dalam air ikan koi mampu mengenali pakannya dan bahkan mencarinya di antara lumpur dan kotoran, karena ikan koi mempunyai organ penciuman yang sangat tajam. Organ pencium ini berupa dua pasang kumis yang menghiasi mulutnya (Susanto, 2005).

2.1.2 Habitat dan Daerah Penyebaran

Menurut Khairuman *et al.*, (2008), bahwa ikan mas menyukai tempat hidup (habitat) di perairan tawar yang airnya deras dan tidak terlalu deras, seperti di pinggiran sungai atau danau. Ikan mas hidup baik di daerah ketinggian 150-600 meter di atas permukaan laut (dpl) pada suhu 25-30°C. Meskipun tergolong ikan air tawar, ikan mas terkadang ditemukan di perairan payau atau muara sungai yang bersalinitas 25-30 ppm.

Menurut Cahyono (2000), bahwa ikan mas banyak dijumpai di sungai-sungai, danau-danau dan genangan-genangan air. Ikan mas mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan. Ikan mas mudah beradaptasi dengan fluktuasi lingkungan yang relatif tinggi, misalnya perubahan suhu sampai 5°C dan penurunan O₂ sampai 2 mg/liter.

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

2.1.3 Pakan dan Kebiasaan Makan

Menurut Khairuman dan Sudenda (2002), ikan koi bersifat omnivor, artinya pemakan segala jenis pakan. Dengan demikian dapat diberikan jenis pakan yang beranekaragam, misalnya ikan kecil, kerang–kerangan atau jenis tumbuh–tumbuhan. Pakan utama anak ikan koi adalah udang–udang renik seperti *Daphnia* sp. Sejalan dengan pertumbuhan badannya mereka dapat memakan serangga air, jentik–jentik nyamuk atau lumut–lumut yang menempel pada tanaman. Pakan ikan koi akan mempengaruhi pembentukan zat warna tubuhnya. Tubuh ikan koi yang berwarna-warni disebabkan adanya zat warna yang antara lain: zat pigmen karoten (jingga), rutin (kuning), atasantun (merah).

Menurut Firdaus (2010), larva tidak diberi pakan dari luar hingga kuning telur habis (kurang lebih umur 5 hari). Saat umur 5 hari dilakukan penjarangan larva untuk mencegah kematian massal karena jumlah yang terlalu padat. Penjarangan dilakukan dengan membagi larva yang ada ke dalam dua kolam pemeliharaan larva. Menurut Susanto (2005), di dalam air ikan koi mampu mengenali pakannya dan bahkan mencarinya diantara lumpur didasar kolam, karena ikan koi mempunyai organ penciuman yang sangat tajam. Organ penciuman ini berupa dua pasang kumis yang terletak pada bagian kiri dan kanan mulutnya. Ikan koi akan memburu sepotong pakan atau mengaduk–aduk lumpur untuk mendapatkan pakan yang dibutuhkan. Mulut ikan koi berukuran cukup besar dan dapat disembulkan. Letaknya diujung moncong (terminal). Air bersama – sama pakan memasuki rongga mulut. Pakan yang kecil langsung ditelan dan air ditelan lewat insang setelah keping–keping insang menyerap oksigen yang terdapat di air, pakan masuk kedalam kerongkongan pakan dibawa langsung ke usus yang panjangnya sekitar 5x panjang tubuh.

2.2 Binahong (*Anredera cordifolia*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi tanaman binahong (*A. cordifolia*) (Gambar 2). Menurut Khunaifi (2010) adalah :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Hamamelidae
- Ordo : Caryophyllales
- Famili : Basellaceae
- Genus : *Anredera*
- Spesies : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis



Gambar 2. Tanaman Binahong (*A. cordifolia*) (Dokumentasi Pribadi).

Tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang (*perennial*), bisa mencapai panjang +/- 5 m. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun binahong merupakan daun tunggal, bertangkai sangat pendek (*sessile*), tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (*cordata*), panjang 5 - 10 cm, lebar 3 - 7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (*emarginatus*), tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Perbanyak generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakan secara vegetatif melalui akar rimpangnya (Mus, 2008).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Tanaman binahong tumbuh merambat dan menjalar. Umumnya orang menanam di dalam pot dengan diberi penopang rambatan atau membiarkannya menjalar pada pagar atau pergola. Dalam kondisi lingkungan yang baik, binahong bisa tumbuh hingga 7 meter. Tanaman binahong (*A. cordifolia*) termasuk dalam famili Basellaceae merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai potensi besar ke depan untuk diteliti, karena dari tanaman ini masih banyak yang perlu digali sebagai bahan fito farmaka. Lingkungan yang baik untuk tempat tumbuh tanaman binahong adalah tempat teduh dan agak lembab, dimana tingkat cahaya matahari tidak terlalu tinggi (Manoi dan Balitro, 2009).

Tanaman binahong (*A. cordifolia*) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah Dheng shan chi, di Inggris disebut *madeira vine*. Sinonim *Boussingaultia gracilis* Miers. *Boussingaultia cordifolia* *Boussingaultia*

basselloides. Tanaman binahong (*A. cordifolia*) termasuk dalam famili Basellaceae merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai potensi besar ke depan untuk diteliti. Tanaman ini berasal dari Cina dan menyebar ke Asia Tenggara (Manoi dan Balitro, 2009).

Di Indonesia tanaman binahong dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai tanaman merambat yang dijadikan gapura yang melingkar di atas jalan taman. Tanaman merambat ini perlu dikembangkan dan diteliti lebih jauh. Terutama untuk mengungkapkan khasiat dari bahan aktif yang dikandungnya. Berbagai pengalaman yang ditemui di masyarakat, binahong dapat dimanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit berat (Manoi dan Balitro, 2009).

2.2.3 Manfaat dan Kandungan Tanaman Binahong

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Tanaman ini masih diteliti meski dalam lingkup terbatas. Percobaan pada tikus yang disuntik dengan bahan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak mudah sakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, rhematik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi,

menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh, (Manoi dan Balitro, 2009)

Menurut Rachmawati (2008), telah melakukan skrining fitokimia daun Binahong (*A. Cordifolia*) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk kering daun dengan menggunakan pelarut n-heksana dan metanol didapatkan kandungan kimia berupa saponin triterpenoid, flavanoiod dan minyak atsiri. Rochani (2009). melakukan ekstraksi dengan cara maserasi daun binahong dengan menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat dan etanol, setelah dilakukan uji tabung ditemukan kandungan alkaloid, saponin dan flavanoid, sedangkan pada analisis secara KLT ditemukan senyawa alkaloid, saponin dan flavanoid. Selain itu juga dijelaskan (Uchida, 2003) bahwa di dalam daun binahong terdapat aktifitas antioksidan, asam askorbat dan total fenol yang cukup tinggi.

2.2.4 Zat Antimikroba Tanaman Binahong (*A. cordifolia*)

a. Flavanoid

Flavanoid merupakan senyawa polar yang pada umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, menthanol, butanol, aseton, dan lain-lain. (Markham,1988). Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat sangat efektif untuk menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Nurachman (2002) menambahkan bahwa senyawa-senyawa flavanoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan.

Senyawa flavanoid dan turunannya memiliki dua fungsi fisiologi tertentu, yaitu sebagai bahan kimia untuk mengatasi serangan penyakit (sebagai antimikroba) dan anti virus bagi tanaman. Ditambahkan oleh De Padua *et al.*, (1999) bahwa flavanoid mempunyai bermacam-macam efek yaitu, efek anti

tumor, anti HIV, immunostimulant, analgesik, anti radang, anti fungal, anti diare, anti hepatotoksik, anti hiperglikemik dan sebagai vasolidator.

b. Saponin

Menurut Louis (2004), saponin dibedakan sebagai saponin triterpenoid dan saponin steroid. Saponin triterpenoid umumnya tersusun dari sistem cincin oleanana atau ursana. Glikosidanya mengandung 1-6 unit monosakarida (Glukosa, Galaktosa, Ramnosa) dan aglikonnya disebut sapogenin, mengandung satu atau dua gugus karboksil.

Robinson (1995), menyatakan saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba dan saponin tertentu menjadi penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan sebagai bahan baku untuk sintesis hormon steroid yang digunakan dalam bidang kesehatan. Saponin merupakan glukosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter.

c. Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Alkaloid sering bersifat racun bagi manusia dan banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotina) pada suhu kamar (Harborne, 1996).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga dapat menyebabkan lapisan pada dinding sel bakteri

tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut, sehingga alkaloid dapat dikatakan memiliki fungsi antibakteri (Robinson, 1995).

d. Terpenoid

Terpenoid atau isoprenoid merupakan salah satu senyawa organik yang hanya tersebar di alam. Senyawa terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, group metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995). Terpenoid banyak ditemukan dalam tumbuhan tingkat tinggi sebagai minyak atsiri yang memberi bau harum dan bau khas pada tumbuhan dan bunga. Selain itu terpenoid juga terdapat dalam jamur, invertebrata laut dan feromon serangga. Sebagian besar terpenoid ditemukan dalam bentuk glikosida atau glikosil ester (Thomson, 1993).

Terpenoid dari tumbuhan biasanya digunakan sebagai senyawa aromatik yang menyebabkan bau pada *eucalyptus*, pemberi rasa pada kayu manis, cengkeh, jahe dan pemberi warna kuning pada bunga. Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, anti bakteri, anti jamur dan gangguan kesehatan (Thomson, 1993).

e. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa volatil yang dihasilkan oleh jaringan tertentu suatu tanaman, baik berasal dari akar, batang, daun, kulit, bunga, biji-bijian, bahkan putik bunga (Rachmawati, 2007). Pada umumnya minyak atsiri mempunyai ciri-ciri mudah menguap pada suhu kamar, mudah mengalami dekomposisi, memiliki bau harum sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air (Guenther, 1987).

Ajizah (2004) menjelaskan, minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH)

dan karbonil. Turunan dari fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami penguraian, diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.

f. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang memiliki berat molekul antara 500-3000 dalton yang diduga berperan sebagai antibakteri, karena dapat membentuk kompleks dengan protein dan interaksi hidrofobik. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis (Robinson, 1995).

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme dari zat tanin sendiri adalah dengan merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama *et al.*, 2001).

Menurut Ajizah (2004), aktivitas antibakteri pada senyawa tanin adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel bakteri atau membran sel bakteri, sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhan sel bakteri akan terhambat atau bahkan mati.

2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Bakteri *Aeromonas hydrophila* (Gambar 3) menurut Buchanan dan Gibsons (1974), diklasifikasikan sebagai berikut :

- Filum : Protophyta
- Klas : Schizomyecetes
- Ordo : Pseudomonodale
- Sub Ordo : Pseumodineae
- Family : Vibrionceae
- Genus : *Aeromonas*
- Spesies : *Aeromonas hydrophila*

Secara morfologis bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 μm dan lebar 15,7-15,8 μm , termasuk bakteri gram negatiif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk bakteri anaerobik dan merupakan bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 37° C (Kabata, 1985).



Gambar 3. Bakteri *A. hydrophila* (Aberoum dan Jooyandeh, 2010).

2.3.2 Habitat dan Perkembangbiakan

Bakteri *A. hydrophila* tidak dapat hidup lama tanpa inangnya, suhu optimal bagi pertumbuhannya 22 – 28° C, pada suhu 35°C pertumbuhannya terhambat.

Genus *Aeromonas* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar, keberadaan *A. hydrophila* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar. Bakteri ini diakui sebagai patogen bagi hewan berdarah dingin (Holmes *et al.*, 1996).

Bakteri *A. hydrophila* bersifat fakultatif anaerob yaitu bakteri yang dapat hidup dengan atau tanpa adanya oksigen (Kabata, 1985) dan akan tumbuh tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair. Bakteri ini dapat tumbuh pada kisaran suhu 15-30°C, pH 5,5–9. Perkembangbiakannya secara aseksual dengan memanjangkan sel diikuti pembelahan satu sel menjadi dua sel selama lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1993).

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

2.3.3 Patogenitas Bakteri *A. hydrophila*

Penyebab penyakit bakteri dari ikan adalah mikroorganisme yang komponennya terdiri dari sisa makanan dimana akan menjadi patogen bila terjadi perubahan lingkungan yaitu adanya kenaikan suhu mendadak, polusi, serta sisa makanan atau stress hormonal (Suprastyani, 1989).

Menurut Grandiosa (2010), untuk memenuhi permintaan produk perikanan yang terus meningkat, penerapan intensifikasi budidaya tidak dapat dihindarkan. Namun, intensifikasi budidaya dapat menimbulkan berbagai dampak penyakit. Salah satu penyebab penyakit adalah kehadiran bakteri patogen yaitu *A. hydrophila*. Bakteri ini menyebabkan penyakit (Motile *Aeromonas* Septicemia) atau penyakit bercak merah. Bakteri ini menyerang berbagai jenis ikan air tawar seperti lele dumbo, (*Clarias gariepinus*), ikan mas (*C. carpio*), gurami

(*Osphronemus gouramy*) dan udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) dan dapat menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi (80-100%) dalam waktu 1-2 minggu.

2.3.4 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Menurut Gardenia *et al.*, (2010), *A. Hydrophila* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang banyak ditemukan di lingkungan air tawar dan air payau. *A. Hydrophila* dikenal dengan bakteri oportunistis karena biasanya menimbulkan masalah pada saat ikan sedang mengalami stress pada ikan. Infeksi bakteri dapat menyebabkan kematian massal dan merusak mutu ikan yang terinfeksi sehingga sangat merugikan bagi pembudidaya.

A. hydrophila sebelum melakukan infeksi, terlebih dahulu melakukan penempelan menggunakan flagel ke dalam *host cell*. Faktor virulen dalam mikroba beradaptasi dalam sel host/inang dan memantapkan keberadaannya. Umumnya aeromonas menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh ikan disertai dengan pendarahan pada organ dalam. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penebaran tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 90 % (Shome dan Shome, 1999).

Infeksi bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan akan menyebar pada organ dalam lainnya. Infeksi bakteri gram negatif ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Organ yang dapat diserang antara lain insang, ginjal, 17tress17s, spleen bahkan otot dan tulang. Simptom penyakit ini bervariasi mengingat kondisi ini dipengaruhi oleh beberapa 17tress antara lain virulensi dari bakteri, resistensi ikan terhadap infeksi, hadir atau tidaknya septicemia dan bacteremia serta 17tress yang diasosiasikan dengan 17tress pada ikan (Kabata, 1985).

Harikrishnan *et al.*, (2003) menyatakan bakteri aeromonas yang diinfeksi pada ikan mas dilakukan melalui metode penyuntikan dengan dosis 100 µl konsentrasi 10^6 cfu/ml tingkat mortalitas sebesar 10%, konsentrasi 10^8 cfu/ml mortalitas sebanyak 50 % dan pada konsentrasi 10^{10} cfu/ml mortalitas sangat besar yaitu 90% pada periode inkubasi selama 10 hari.

2.4 Sistem Imun Pada Ikan

Menurut Alifuddin (2002), Seperti halnya dengan udang, jaringan limfoid ikan menyatu dengan jaringan mieloid disebut sebagai jaringan limfomielioid. Pada ikan teleost jaringan limfomielioidnya adalah limfa, timus dan ginjal depan. Berbeda dengan udang, pada ikan terdapat populasi sel B dan sel T. Sel-sel ini sangat berperan dalam respon imunitas baik seluler maupun humoral.

Respon dan faktor humoral pada ikan antara lain antibodi, transferin, interferon, protein C-reaktif, respon dan faktor seluler seperti sel makrofag dan sel killer. Selain itu, terdapat pertahanan mekanik dan kimiawi seperti kulit, sisik dan mukus pada permukaan tubuh ikan, selain itu insang juga merupakan alat pertahanan tubuh ikan yang bersifat non-spesifik. Respon humoral merupakan respon yang bersifat spesifik dilakukan oleh sesuatu substansi yang dikenal sebagai antibodi atau imunoglobulin, sedangkan respon seluler ikan bersifat non-spesifik dilakukan oleh "*cell mediated imunity*" (Alifuddin, 2002).

2.5 Kelulushidupan pada Ikan

Kelulushidupan adalah jumlah ikan yang hidup pada akhir penelitian dibandingkan dengan jumlah ikan diawal penelitian, adapun cara penghitungan kelulushidupan (SR) ikan mas dilakukan pada akhir penelitian. Adapun rumus kelulushidupan (*Survival Rate*) menurut Efendi (1993) dalam Marlina (2013), sebagai berikut:

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Kelangsungan hidup hewan Uji (%).

Nt = Jumlah ikan uji pada akhir penelitian (ekor).

No = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor).

2.6 Gejala Patologi Klinis pada Ikan

Tauhid *et al.*, (2004), menunjukkan beberapa gejala-gejala yang timbul pada ikan mas dan koi yang terinfeksi bakteri : a) produksi lendir (mukus) berlebih sebagai respon fisiologis terhadap kehadiran patogen, selanjutnya produksi lendir menurun drastis sehingga tubuh ikan terasa kasar, b) insang berwarna pucat dan terdapat bercak putih atau coklat (sebenarnya adalah kematian sel-sel insang atau nekrosa insang), selanjutnya menjadi rusak, geripis pada ujung tapis insang dan akhirnya membusuk. Secara mikroskopis terjadi adanya kerusakan jaringan yang serius serta kematian sel yang berat, c) pendarahan (hemoragi) disekitar pangkal dan ujung sirip serta permukaan tubuh lainnya, d) adanya kulit melepuh, e) hati berwarna pucat selanjutnya menjadi rusak, f) ginjal (anterior dan posterior) berwarna pucat.

Sistem infeksi dapat dilihat dari karakterisasi difusi nekrosis pada beberapa organ dalam dan ada juga pada muatan-muatan melanin pada makrofage darah. Secara internal, pada lambung dan ginjal merupakan organ infeksi septicemia akut. Lambung dapat menjadi pucat dan berwarna kehijauan sedangkan ginjal akan menjadi bengkak dan rapuh. Organ-organ tersebut rupanya diserang oleh toksik pada bakteri dan kehilangan integritas strukturalnya (Cipriano, 2001).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Alat beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1 untuk penelitian secara *in vitro* dan Tabel 2 untuk penelitian secara *in vivo*.

Tabel 1. Alat Penelitian untuk Mendapatkan Ekstrak Secara *In Vitro*.

No	Alat	Fungsi
1.	Timbangan Analitik	Sebagai alat untuk menimbang bahan
2.	Hot Plate	Sebagai alat pemanas
3.	Baskom	Sebagai tempat bahan
4.	Gunting	Sebagai alat pemotong bahan
5.	Beaker Glass	Sebagai tempat bahan dalam proses maserasi
6.	Gelas Ukur	Sebagai alat dalam mengukur bahan larutan
7.	Corong	Sebagai alat pembantu penuangan larutan
8.	Nampan	Sebagai tempat bahan dalam proses waterbath
9.	Blender	Sebagai alat untuk menghaluskan bahan
10.	Spatula	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
11.	Vortex	Sebagai alat untuk menghomogenkan larutan
12.	Botol 2L	Sebagai wadah untuk maserasi
13.	Waterbath	Sebagai alat pemanas
14.	<i>Rotary evaporator</i>	Sebagai alat untuk mendapatkan ekstrak

Tabel 2. Alat Penelitian untuk Uji Kelulushidupan Secara *In Vivo*

No	Alat	Fungsi
1.	Akuarium 15 buah	Sebagai wadah air
2.	Aerator dan Batu Aerasi	Sebagai alat bantu penghasil oksigen
3.	Selang Aerator	Sebagai alat bantu aerasi
4.	Jaring	Sebagai alat untuk memindahkan ikan uji
5.	Termometer	Sebagai alat untuk mengukur suhu
6.	pH Meter	Sebagai alat untuk mengukur pH air media
7.	DO Meter	Sebagai alat untuk mengukur kandungan oksigen terlarut
8.	Selang Air	Sebagai alat menyalurkan air
9.	Sectio set	Sebagai alat bedah
10.	Botol Film	Sebagai wadah sampel air
11.	Selang Sifon	Sebagai alat untuk menyifon

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan beserta fungsinya yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 3 untuk penelitian secara *in vitro* dan Tabel 4 untuk penelitian secara *in vivo*.

Tabel 3. Bahan Penelitian untuk Mendapatkan Ekstrak Secara *In Vitro*.

No	Alat	Fungsi
1.	Binahong <i>Anredera cordifolia</i>	Sebagai bahan immunostimulan
2.	Kertas Label	Sebagai penanda
3.	Kertas Saring	Sebagai bahan untuk menyaring ekstrak
4.	Tissue	Sebagai bahan pembersih
5.	Masker	Sebagai penutup mulut
6.	Sarung Tangan	Sebagai penutup tangan
7.	Akuabides	Sebagai pelarut ekstrak

Tabel 4. Bahan Penelitian untuk Uji Kelulushidupan Secara *In Vivo*

No	Alat	Fungsi
1.	Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	Sebagai hewan uji
2.	Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	Sebagai bahan penginfeksian
3.	Air Media	Sebagai media hidup hewan uji
4.	Pakan Ikan	Sebagai nutrisi ikan uji
5.	Akuades	Sebagai bahan sterilisasi awal
6.	Ekstrak Binahong	Sebagai bahan immunostimulan

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental, metode ini merupakan metode penelitian yang memungkinkan peneliti memanipulasi variabel dan meneliti akibatnya. Menurut Atmodjo (2011), penelitian eksperimen adalah suatu penelitian yang meneliti hubungan sebab akibat dengan memanipulasikan satu (lebih) variabel pada satu (lebih) kelompok eksperimen dan membandingkannya dengan kelompok lain yang tidak mengalami manipulasi.

Metode penelitian dalam menganalisa gejala klinis menggunakan metode deskriptif yaitu menurut Hartono (2009), penelitian deskriptif merupakan metode penelitian yang berusaha menggambarkan dan menginterpretasi objek sesuai dengan apa adanya. Penggunaan metode deskriptif, penelitian memungkinkan untuk melakukan hubungan antar variabel, menguji hipotesis, mengembangkan generalisasi, dan mengembangkan teori yang memiliki validitas universal. Selain itu, penelitian deskriptif juga merupakan penelitian yang dilakukan dengan pengumpulan data untuk melihat pertanyaan penelitian atau hipotesis yang berkaitan dengan keadaan dan kejadian sekarang.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian 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 :

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

Keterangan:

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

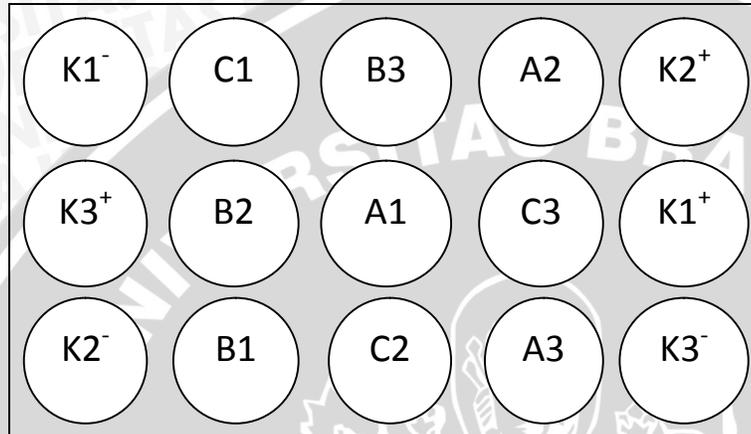
μ = nilai rata-rata

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

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

Penelitian ini terdiri dari satu faktor penelitian dengan 3 perlakuan dan 2 kontrol (kontrol positif dan negative) dengan 3 kali ulangan. Perlakuan yang

diberikan adalah perbedaan dosis larutan binahong terhadap ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi *A. hydrophila*. Sebagai perlakuan, ikan koi berukuran 8-11 cm yang sudah terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Ulangan yang dipergunakan sebanyak 3 kali untuk setiap perlakuan, Penempatannya dilakukan secara acak dengan denah penelitian seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Denah Penelitian.

Keterangan :

- A = Perlakuan dengan dosis ekstrak binahong 200 ppm
- B = Perlakuan dengan dosis ekstrak binahong 400 ppm
- C = Perlakuan dengan dosis ekstrak binahong 600 ppm
- K⁻ = Kontrol negatif (Kontrol tanpa diberi perlakuan)
- K⁺ = Kontrol positif (Kontrol hanya diinfeksi bakteri *A. hydrophila*)
- 1, 2, 3 = Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong (*A. cordifolia*)

Daun binahong (*A.cordifolia*) diperoleh dari berbagai tempat di kota Malang, Jawa Timur sebanyak 2 kg. Daun dikeringkan dengan cara diangin-

anginkan sampai kering selama 5 hari, setelah kering diblender sampai menjadi bubuk.

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan cara melarutkan serbuk simplisia sebanyak 50 gram ke dalam 150 ml etanol 96% lalu ditutup dengan alumunium foil dan dibiarkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, sampel yang direndam tersebut disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat dievaporasi dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental daun binahong. Kemudian dilanjutkan pemekatan ekstrak dengan penangas air (*water bath*) dengan suhu 50°C sampai hampir kering untuk mengkilangkan kadar air (Dayanti *et al.*, 2012).

b. Uji Pendahuluan

- **Penentuan Dosis Ekstrak Daun Binahong (*A.cordifolia*)**

Ekstrak kasar *A.cordifolia* dengan dosis 400, 600, 800, 1000 dan 1200 ppm, masing-masing bahan ekstrak dilarutkan ke dalam 10 liter air. Ikan koi (*C. carpio*) sebanyak 10 ekor, dimasukkan dalam akuarium dengan dosis yang berbeda. Perendaman dilakukan sampai kematian ikan mencapai 50% dalam range waktu 24 jam. Hasil yang diperoleh adalah kematian ikan sampai 50% terjadi pertama pada dosis 800 ppm sehingga diasumsikan dosis yang digunakan adalah kurang dari 800 ppm. Menurut Novita, Lesje dan Novi (2012), dosis perlakuan yang digunakan dalam uji adalah 200, 400 dan 600 ppm. Perendaman ikan uji dilakukan dengan cara: merendam ikan pada wadah plastik yang berukuran 10 liter yang berisi larutan sesuai dengan dosis.

- **Respon Imun Ikan koi (*C. carpio*) Terhadap Ekstrak Binahong (*A.cordifolia*)**

Ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-11 cm diadaptasikan selama 1 minggu, kemudian dilakukan pemberian ekstrak daun binahong sebagai immunostimulan dengan cara perendaman dengan dosis yang berbeda yaitu

200, 400 dan 600 ppm. Volume air yang digunakan untuk media perendaman sebanyak 10 liter, kemudian dicampurkan dengan ekstrak kasar (*A.cordifolia*) sesuai dengan dosis yang ditentukan. Perendaman dengan ekstrak kasar *A.cordifolia* dengan dosis yang berbeda 5, 50, 500, 1500 menit berdasarkan penelitian pendahuluan. Sebelum perendaman Ikan koi (*C. carpio*) di ambil darahnya. Kemudian proses adaptasi 48 jam dan di ambil darahnya lagi untuk mengetahui kenaikan leukosit pada Ikan koi (*C. carpio*). Uji respon imun ini dilakukan 2 kali pengulangan untuk mendapatkan waktu terbaik uji respon imun. Hasil yang didapatkan dari uji respon imun ini adalah jumlah leukosit terbaik pada waktu perendaman 50 menit.

- **Penentuan kepadatan bakteri *A.hydrophila***

Bakteri *A.hydrophila* dengan kepadatan yang berbeda 10^6 , 10^7 , 10^8 sel/ml. Masing-masing kepadatan bakteri dilarutkan ke dalam 10 liter air. Ikan koi (*C. carpio*) sebanyak 10 ekor, dimasukkan dalam akuarium dengan kepadatan bakteri yang berbeda. Perendaman dilakukan sampai kematian ikan mencapai 50% dalam range waktu 24 jam. Hasil yang diperoleh adalah kematian ikan sampai 50% terjadi pertama kali pada kepadatan 10^8 sehingga diasumsikan kepadatan bakteri yang dipakai dalam infeksi kurang dari 10^8 . Bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan koi yaitu dengan kepadatan 10^7 sel/ml (Selvaraj *et al.*, 2009 dalam Samad, 2010).

- c. **Pengenceran bakteri *A.hydrophila***

Bakteri *A.hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Juanda dengan kepadatan 10^9 . Bakteri yang baik dipakai dalam uji adalah di bawah 10^8 sehingga untuk mendapatkan kepadatan bakteri tersebut harus dilakukan perhitungan pengenceran dengan menggunakan rumus menurut Cappucino (1988), sebagai berikut :

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

Dimana :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

d. Persiapan alat

- Pencucian akuarium
- Persiapan alat-alat pendukung (aerasi, termometer, timbangan, seser dan lain-lain)
- Pengisian air pada akuarium (ukuran akuarium 30x30x30 cm)

e. Persiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan yaitu Ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-11 cm sebanyak 10 ekor untuk masing-masing akuarium. Berikut langkah-langkah dalam persiapan hewan uji :

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

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Perlakuan Pemberian Ekstrak Kasar

Ikan koi (*C. carpio*) diadaptasikan (*aklimatisasi*) selama 1 minggu. Media (air) sebelum digunakan telah di *treatment* terlebih dahulu dengan pemberian 1 ml chlorin dalam masing-masing akuarium (10 liter), selama 1 hari sebagai desinfektan dan membersihkan akuarium dari bakteri dan kotoran-kotoran yang

menempel. Kemudian diberikan 2 ml Na-thiosulfat untuk menghilangkan toksik dari efek perlakuan chlorin selama 1 hari.

Langkah selanjutnya, akuarium dibersihkan menggunakan air bersih dan didiamkan selama 1 hari dan diberi aerator, akuarium siap untuk digunakan. Setelah dilakukan *treatment*, masing-masing akuarium diisi air sebanyak 10 liter. Kemudian dilakukan pemberian ekstrak daun binahong (*A.cordifolia*) dengan cara perendaman dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 200 ppm, 400 ppm dan 600 ppm selama 50 menit. Setelah direndam selama 50 menit, ikan uji dipindahkan ke akuarium yang berisi air bersih.

b. Penginfeksian Bakteri *A. hydrophila*

Penginfeksian dilakukan maksimal 24 jam setelah perendaman ekstrak yang kedua. Penginfeksian menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman pada akuarium yang berbeda selama 24 jam dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml. Dari hasil perhitungan pengenceran bakteri, dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan untuk penginfeksian sebanyak 0,1 liter dan air tawar sebanyak 9,9 liter.

Selanjutnya, 120 ekor ikan koi dimasukkan dalam 4 buah akuarium yang terpisah berdasarkan perlakuan A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm), Kontrol positif yang telah diberi bakteri *A. hydrophila* dan direndam selama 24 jam sampai ikan menunjukkan gejala-gejala terkena *A. hydrophila* (warna tubuh pucat, berenang tidak seimbang dan sering ke permukaan). Kemudian setelah diinfeksi, ikan dipindahkan ke akuarium yang berisi air bersih dan diamati selama 14 hari.

c. Uji Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Setelah selesai dilakukan penginfeksian bakteri *A. hydrophila*, ikan diambil dan dipindah ke 15 akuarium berukuran 30x30x30 cm yang berisi air 15 liter, sebelumnya akuarium telah diisi air dan diberi aerator selama 24 jam.

Akuarium kemudian diberi tanda berdasarkan perlakuan yang diberikan dimana terdapat A (1,2,3), B (1,2,3), C (1,2,3), K⁻ (1,2,3), K⁺ (1,2,3). Pengamatan dilakukan selama 14 hari masa pemeliharaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi gejala klinis ikan dan jumlah ikan mati selama masa pemeliharaan. Pengukuran kualitas air dilakukan setiap pagi dan sore hari, sedangkan pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari setelah dilakukan pengukuran kualitas air dan pergantian air dilakukan setiap 2 hari sekali dengan cara disifon dan di isi kembali dengan air baru.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang diamati yaitu kelangsungan hidup atau *Survival Rate* (SR) setelah di infeksi dengan bakteri *A. hydrophila* selama 14 hari masa pemeliharaan di dalam akuarium yang berukuran 30x30x30 cm. Rumus SR menurut Efendi (1993) dalam Marlina (2013), sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Kelangsungan hidup hewan Uji (%).

N_t = Jumlah ikan uji pada akhir penelitian (ekor).

N_o = Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor).

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air dan gejala klinis ikan. Pada pengukuran kualitas air, parameter yang diukur meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut, dimana :

- Suhu yang diukur menggunakan termometer

- pH air yang diukur menggunakan pH meter
- Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter
- Pengukuran kualitas air dilakukan setiap hari waktu pagi dan sore

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan gejala klinis dan jumlah kerusakan jaringan pada histopatologi otot secara kuantitatif, digunakan uji polynomial orthogonal yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kelulushidupan

Hasil penelitian pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) ke dalam masing-masing akuarium dengan dosis yang berbeda terhadap ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-11 cm yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* pada masing-masing perlakuan menghasilkan hasil rata – rata persentase kelulushidupan yang berbeda setelah 14 hari masa pemeliharaan, seperti yang terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data Rata – rata Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* dalam Persen.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A (200 ppm)	100	100	100	300	100	0
B (400 ppm)	100	90	100	290	96.66	5.77
C (600 ppm)	100	70	80	250	83.33	15.27
K+	40	50	70	160	53.33	15.27
K-	100	90	100	290	96.66	5.77

Tabel di atas dapat dilihat hasil perhitungan data kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) pada masing-masing perlakuan yaitu kontrol (-) dengan rata – rata 96,66%, kontrol (+) dengan rata – rata 53,33%, perlakuan A (200 ppm) dengan rata-rata 100%, Perlakuan B (400 ppm) dengan rata-rata 96,66%, perlakuan C (600 ppm) dengan rata-rata 83,33%. Dari hasil tersebut dapat dilihat nilai rata – rata kelulushidupan pada perlakuan A (200 ppm) lebih tinggi dari nilai rata – rata kelulushidupan pada kontrol (-) . Selanjutnya dilakukan perhitungan sidik ragam, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun binahong terhadap

kelulushidupan. Dari perhitungan didapatkan sidik ragam kelulushidupan ikan koi seperti yang tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*) yang diinfeksi Bakteri *A. hydrophila* dalam Persen.

Sidik Ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
perlakuan	3	4,066.67	1355.56	10.844*	8.85	27.49
Acak	8	1,000.00	125.00			
Total	11	5,066.67				

* : Berbeda Nyata

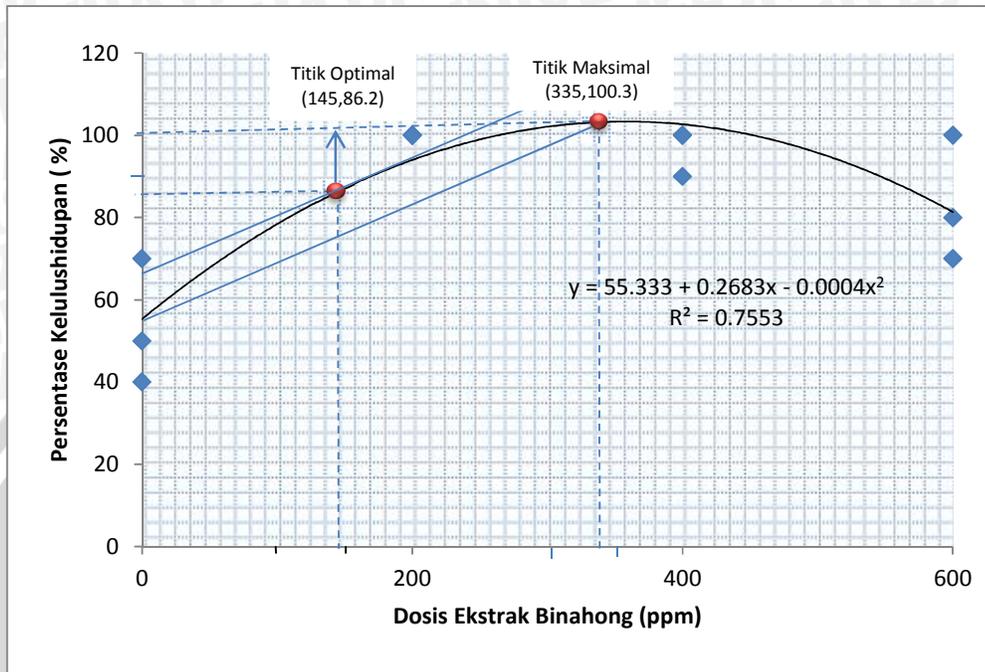
Berdasarkan Tabel 6. Menunjukkan bahwa F hitung $> F 5\%$ dan $< F 1\%$, sehingga dapat dikatakan pengaruh antara dosis ekstrak kasar daun binahong yang diberikan untuk mengetahui kelulushidupan ikan koi pada masing - masing perlakuan adalah berbeda nyata. Oleh karena itu untuk mengetahui tingkat perbedaan pengaruh dari masing-masing perlakuan maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5% dan taraf 1%. Hasil uji BNT dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji BNT Dosis Ekstrak Kasar Daun Binahong (*A. cordifolia*) terhadap Kelulushidupan Ikan koi (*C. carpio*).

Rerata Perlakuan	K+=53.33	C=83.33	B=96.66	A=100	Notasi
K+=53.33	-	-	-	-	a
C=83.33	30 *	-	-	-	b
B=96.66	43.33 *	13.33 ns	-	-	b
A=100	46.66 *	16.66 ns	3.33 ns	-	b

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan K+ menunjukkan hasil berupa notasi a, perlakuan C, B dan A menunjukkan hasil yang sama berupa notasi b yang berarti perlakuan C, B, A memberikan hasil yang berbeda dibandingkan dengan perlakuan K+. Berdasarkan hasil perhitungan uji BNT, untuk mengetahui respon pemberian ekstrak kasar daun

binahong terhadap kelulushidupan ikan koi dilakukan uji *polynomial orthogonal* yang ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*).

Berdasarkan grafik di atas, didapatkan hasil hubungan antara dosis ekstrak kasar daun binahong dengan persentase kelulushidupan ikan koi adalah kuadratik, dengan dosis optimal 145 ppm dan dosis maksimal 335 ppm dan memiliki persamaan $y = 55.333 + 0.2683x - 0.0004x^2$ dengan koefisien determinasi sebesar $(R^2) = 0.7553$ artinya 75% kelulushidupan ikan koi pada penelitian yang telah dilakukan dipengaruhi oleh perbedaan dosis pelakuan yang digunakan yaitu perlakuan A dengan dosis 200 ppm, perlakuan B dengan dosis 400 ppm dan perlakuan C dengan dosis 600 ppm. Kelulushidupan ikan koi pada penelitian dengan dosis yang berbeda memberikan korelasi yang cukup tinggi karena nilai R^2 mendekati 1 yaitu 0.7553 atau 75%. Grafik diatas menunjukkan peningkatan kelulushidupan ikan koi terjadi mulai dari dosis 0 ppm pada kontrol positif sampai dosis optimal 145 ppm kemudian meningkat lagi sampai pada

dosis maksimal 335 ppm. Hal ini disebabkan dalam ekstrak kasar daun binahong mengandung senyawa aktif flavonoid yang berperan sebagai antibakteri dan immunostimulan yang dapat meningkatkan kelulushidupan ikan koi. Sesuai dengan pendapat Rachmawati (2008), bahwa didalam daun binahong terdapat kandungan kimia berupa flavanoid. De Padua *et al.*, (1999) menambahkan, selain bersifat antimikroba flavonoid mempunyai efek sebagai immunostimulan. Pada dosis maksimal 335 ppm kelulushidupan ikan koi terus mengalami penurunan sampai pada dosis 600 ppm. Hal ini karena dalam ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) terdapat kandungan senyawa aktif yang memiliki fungsi sebagai immunosupresor. Hal ini sesuai pendapat Ramadany *et al.*, (2012), immunosupresor dapat menghambat dan menekan aktivitas imun.

4.2 Gejala Klinis Ikan Koi (*C. carpio*)

Pengamatan gejala klinis dilakukan pada ikan koi setelah penginfeksi dengan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 selama masa pemeliharaan 14 hari, yang sebelumnya direndam dengan ekstrak kasar daun binahong. Pengamatan yang dilakukan meliputi pergerakan berenang pada ikan, respon terhadap makanan yang diberikan dan kerusakan fisik yang mungkin timbul karena terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

Hasil penelitian, ikan pada perlakuan dan kontrol (+) yang telah terinfeksi terlihat kehilangan keseimbangan ditandai dengan ikan berenang tidak seimbang dan cenderung tidak bergerak. Sering juga dijumpai ikan yang berenang menuju ke permukaan air, serta warna tubuh berubah menjadi agak pucat. Sedangkan ikan pada kontrol (-) yang tidak di beri perlakuan. ikan tidak menunjukkan ciri – ciri seperti pada ikan yang telah diinfeksi bakteri. Ikan terlihat berenang normal dan bergerak aktif, serta warna tubuhnya cerah. Hal ini sesuai dengan pendapat Afrianto dan Liviawaty (1992), gejala klinis adalah gejala akibat gangguan

patogen yang ditunjukkan oleh adanya kelainan pada tubuh (seperti luka pada kulit, sirip rontok dan adanya pendarahan) dan kelainan perilaku ikan (seperti ikan memisahkan diri dari kelompoknya, terlihat selalu berada pada permukaan air, tubuh tampak lemah dan menunjukkan gerakan yang lambat. Hasil dari pengamatan gejala klinis ikan koi dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Pengamatan Gejala Klinis Ikan koi (*C. carpio*)

Hari	Perlakuan	Gejala Klinis
1	K (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan bergerak aktif dan terlihat berenang normal • Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan • Nafsu makan ikan normal • Warna tubuh cerah
	K (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan berenang tidak seimbang dan cenderung tidak bergerak • Warna tubuh pucat • Ikan tidak nafsu makan
	A (200 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan
	B (400 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan
	C (600 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan
2	K (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan bergerak aktif dan terlihat berenang normal • Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan • Nafsu makan ikan normal • Warna tubuh cerah
	K (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan berenang tidak seimbang dan cenderung tidak bergerak • Sisik mengelupas • Terdapat luka di insang • Warna tubuh pucat • Ikan tidak nafsu makan
	A (200 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Sisik mengelupas • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan

Tabel 8 (Lanjutan)

2	B (400 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Sisik mengelupas • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan
	C (600 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Sisik mengelupas • Sebagian ikan terdapat bintik merah di tubuh • Warna tubuh agak pucat • Ikan tidak nafsu makan
3	K (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan bergerak aktif dan terlihat berenang normal • Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan • Nafsu makan ikan normal • Warna tubuh cerah
	K (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan tidak aktif • Sisik mengelupas • Terdapat luka di insang • Warna tubuh pucat • Ikan mulai makan sedikit
	A (200 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan mulai normal • Sisik mengelupas • Warna tubuh agak pucat • Ikan mulai makan sedikit
	B (400 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan mulai normal • Sisik mengelupas • Warna tubuh agak pucat • Ikan mulai makan sedikit
	C (600 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan mulai normal • Sisik mengelupas • Sebagian ikan terdapat bintik merah di tubuh • Warna tubuh agak pucat • Ikan mulai makan sedikit
4	K (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Ikan bergerak aktif dan terlihat berenang normal • Tidak ditemukan kerusakan pada bagian tubuh ikan • Nafsu makan ikan normal • Warna tubuh cerah
	K (+)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan mulai agak aktif • Terdapat luka di insang • Warna tubuh mulai normal • Ikan mulai makan sedikit
	A (200 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan normal • Warna tubuh mulai normal • Ikan mulai makan sedikit

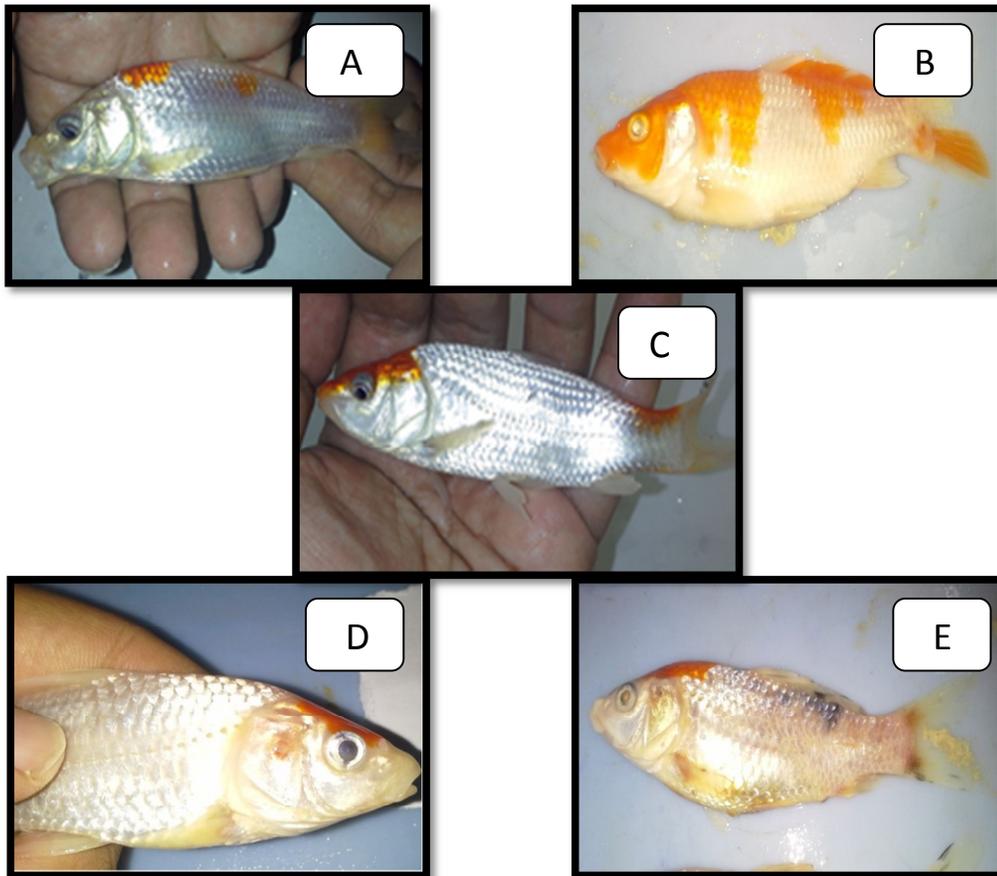
Tabel 8 (Lanjutan)

4	B (400 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan normal • Warna tubuh mulai normal • Ikan mulai makan sedikit
	C (600 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> • Pergerakan ikan normal • bintik merah di tubuh mulai menghilang • Warna tubuh mulai normal • Ikan mulai makan sedikit

Berdasarkan tabel di atas, menunjukkan bahwa ikan koi pada hari ke 1 sampai dengan ke 3 pasca penginfeksi bakteri, baik pada kontrol (+) maupun ikan pada tiap perlakuan baik perlakuan A, B dan C menunjukkan gejala patologi klinis yang hampir sama, yaitu ikan terlihat berenang tidak seimbang bahkan cenderung tidak aktif dan nafsu makan ikan berkurang. Sedangkan pada hari ke 4 baik pada kontrol (+) ataupun pada perlakuan A, B dan C, ikan mengalami peningkatan dimana pergerakan ikan sudah mulai aktif, nafsu makan mulai normal dan bintik-bintik merah pada insang serta tubuh ikan mulai sembuh.

Setelah selesai dilakukan pengamatan gejala klinis terhadap ikan koi yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* selama 14 hari didapatkan hasil pada perlakuan kontrol positif pada minggu pertama terdapat 4 ikan mati dan pada minggu kedua terdapat 10 ikan mati dengan ciri-ciri pada tubuh ikan terdapat banyak lendir, tubuh ikan membengkak, mulut terdapat cairan kuning berbau busuk dan sisik pada tubuh ikan mengelupas. Sedangkan pada perlakuan A (200 ppm) ikan tidak ada yang mati sampai pada hari ke 14, untuk perlakuan B (400 ppm) terdapat 1 ekor ikan mati dengan ciri-ciri terdapat bintik merah pada bagian insang dan ekor dan untuk perlakuan C (600 ppm) selama pemeliharaan 14 hari terdapat 5 ekor ikan mati pada minggu pertama 1 ekor dan minggu kedua 4 ekor dengan ciri-ciri pada tubuh ikan terdapat banyak lendir, sisik mengelupas dan tubuh membengkak. Hal ini sesuai dengan pendapat Tauhid *et al.*, (2004), yang

menjelaskan ikan mas dan koi yang terinfeksi bakteri *A. hydrophlia* akan memproduksi lendir (mukus) berlebih, terjadinya kerusakan pada jaringan tubuh, pendarahan dan kerusakan organ tubuh sehingga akhirnya membusuk. Gambar ikan pada masing-masing perlakuan selama pemeliharaan 14 hari dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. (A). Ikan Kontrol Negatif, (B). Ikan Kontrol positif, (C). Ikan Dosis 200 ppm, (D). Ikan Dosis 400 ppm, (E). Ikan Dosis 600 ppm.

4.3 Pengamatan Kualitas Air

Dalam proses pemeliharaan ikan kualitas air merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan karena kualitas air dapat mempengaruhi kelangsungan hidup ikan. Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air selama penelitian adalah pH, suhu dan oksigen terlarut.

Pengukurannya kualitas air dilakukan pada setiap pagi dan sore. Sedangkan untuk pergantian air dilakukan setiap 2 hari sekali dengan cara di sifon. Hasil pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Data Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian.

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran Parameter Kualitas Air pada Perlakuan	Menurut Pustaka
1.	pH	6,79 – 7,28	6,7 – 8,2 (Partosuwiryo dan Warseno, 2011)
2.	Suhu	25 - 26 ^o C	25 – 30 ^o C (Khairuman <i>et al.</i> , 2008)
3.	Oksigen Terlarut	3,03 - 6,79 ppm	5 – 7 ppm (Afrianto dan Liviawaty, 1992)

- **pH**

Hasil pengukuran pH yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat dari data Tabel 9 diketahui nilai rata-rata pengukuran pH sebesar 6,79 - 7,28. Nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran normal, sesuai dengan pernyataan Partosuwiryo dan Warseno (2011), ikan mas mampu hidup dan berkembang dengan baik dengan pH 6,7 - 8,2.

- **Suhu**

Hasil pengukuran suhu yang dilakukan selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 9 diketahui nilai rata-rata pengukuran suhu sebesar 24 - 26^o C nilai tersebut masih berada pada kisaran normal suhu untuk media hidup ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai dengan pendapat Khairuman *et al.*, (2008), Ikan mas (*C. carpio*) hidup baik di daerah ketinggian 150 - 600 meter di atas permukaan laut pada suhu 25 - 30^oC.

- **Kandungan Oksigen Terlarut**

Hasil pengukuran kandungan oksigen terlarut yang dilakukan selama penelitian, dari data pada Tabel 9 dapat diketahui nilai rata-rata pengukuran

oksigen terlarut sebesar 3,03 - 6,76. Nilai tersebut masih dalam kisaran yang wajar, menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), kisaran kandungan oksigen terlarut minimum yang dapat diterima sebagian besar spesies ikan untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm - 7 ppm.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, kelulushidupan ikan koi semakin meningkat dari dosis 0 ppm pada kontrol positif sampai pada dosis optimal 145 ppm dan meningkat lagi sampai dosis maksimal 335 ppm, kemudian kelulushidupan ikan koi terus mengalami penurunan dari dosis maksimal 335 ppm sampai dosis 600 ppm.
- Hasil penelitian dapat diketahui dosis yang terbaik dari pemberian ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) untuk meningkatkan kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah dosis 145 ppm.

5.2 Saran

- Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan melakukan pencegahan terhadap ikan koi (*C. carpio*) akan bahaya infeksi bakteri *A. hydrophila* dengan menggunakan ekstrak kasar daun binahong (*A. cordifolia*) dengan dosis 145 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberoum, A and H. Jooyandeh. 2010. **A Review On Occurrence And Characterization Of The *Aeromonas* Species From Marine Fishes.** *World Journal of Fish and Marine Science*. 2(6):519-523.
- Ajizah, A. 2004. **Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L.** *Bioscientie*, VOL 1 NO.1: 31-8
- Akiyama, H. F., K. Iwatsuki, T. 2001. **Antibacterial Action Of Several Tennis Against *Staphylococcus aureus*.** *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*. Vol. 48: 487-91.
- Alifuddin, M. 2002. **Imunostimulan Pada Hewan Akuatik.** *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 1(2):87-92.
- Ardias, N. 2008. **Peranan NaCl Terhadap Derajat Pembuahan, Penetasan Telur dan Kelangsungan Hidup Larva Ikan Koi (*Cyprinus carpio*).** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Tidak di Publikasikan.
- Afrianto, E dan E.Liviawaty. 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan.** Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 89 hal.
- Atmodjo, J.T. 2011. **Modul 9 dan 10 Jenis Metode Penelitian.** Universitas Mercubuana. Jakarta. 19 hlm.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibsons. 1974. **Determinative Bacteriology.** Eighty edition. Avery Press. Inc. USA.126 hlm.
- Cahyono, B. 2000. **Budidaya Ikan Air Tawar Ikan Gurami, Ikan Nila, Ikan Mas.** Kanisius. Yogyakarta. 113 hlm.
- Capuccino dan Sherman, 1988. *Microbiology, A laboratory Manual.* Benjamin/Cumming Science Publishing. Menlo Park. California : 477.
- Cipriano, C. 2001. ***Aeromonas hydrophila* and Motile Aeromonad Septicemias of Fish.** *Fish Disease Leaflet* 68. 25 hal.
- Chauret, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J., and C. Warnes. 2001. **Detection of *Aeromonas hydrophila* in a drinking-water distribution system: a field and pilot study.** *Can. J. Microbiol.* 47 (8): 782-786.
- Dayanti, Rani., Iesje. L., Morina. R. 2012. **Ketahanan Non-Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Larutan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap *Aeromonas hydrophila*.** Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Riau.
- De padua, L. S. , Bunyaphatsara, N. and Lemmens, R. H. M. S. 1999. *Plant Resources of South East Asia* No 12(1). **Medical and Poisonous Plants 1.** Printed in Bogor Indonesia (PROSEA). Leiden, the Netherlands, Backhuys Publishers, 36-48.

- Firdaus, R. 2010. **Pembenihan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)**. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 36 hlm.
- Gardenia. L., Isti K., Hambali S. Dan M. Tatik. 2010. **Aplikasi Deteksi *Aeromons hydrophilla* Penghasil Aerolycin Dengan Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)**. Pusat Riset Perikanan Budidaya. Jakarta. 883 hlm.
- Grandiosa, R. 2010. **Efektivitas Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophilla* Secara In Vitro dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)**. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjadjaran. Bandung. Tidak di Publikasikan.
- Guenther, E.1987. ***Minyak Atsiri***. Jakarta: penerbit UI. 507 hlm.
- Gustiano, R., T.H. Prihadi, dan E, Kusriani. 2008. **Survei Potensi, Distribusi Sumber Daya, dan Usaha Ikan Hias Air Tawar di Beberapa Sentra Produksi**. Media Aquaculture. Jakarta. 80 hlm.
- Harborne, J.B.1996. ***Metode Fitokimia: Penuturan Cara Modern menganalisa Tumbuhan***. Terbitan Kedua. ITB. Bandung. 354 hlm.
- Harikrishnan, R., M. N. Rani, and C. Balasundaram, 2003. **Haematological and biochemical parameters incommon carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophilla* infection**. Aquaculture, **221**: 41-50.
- Hartono, 2009. Penelitian deskriptif. <http://www.penalaran-unm.org.pdf>. Diakses 20 Januari 2014.
- Holmes, P., Niccolls, L. M. And D.P. Sartory. 1996. **The ecology of mesophilic *Aeromonas* in the aquatic environment. In the Genus *Aeromonas***, edited by B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling & S. Joseph. New York: Wiley. 150 hlm.
- Kabata, Z., 1985. **Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic**. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelphia. 318 hlm.
- Khairuman dan D. Sudenda. 2002. Budidaya Patin Secara Intensif**. Agro Media Pustaka. Yogyakarta. 138 hlm.
- Khairuman, Dodi S dan G. Bambang. 2008. ***Budidaya Ikan Mas Secara Intensif***. Agromedia Pustaka. Jakarta. 116 hlm.
- Khunaifi, Mufid. 2010. **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa***. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Louis, F.G. 2004. **Saponin Glicosides**. Georges luis@friedli.com, <http://www.friedli.com/herbsphytochem.glycosides.html>. diakses tanggal 7 Januari 2014.
- Manoi, F dan Balitro. 2009. **Binahong *Anredera cordifolia* Sebagai Obat. Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 16 (1): 0853 – 8204.**
- Markham, K.R.1998. **Cara mengidentifikasi flavanoid**. Bandung: penerbit ITB. 117 hlm.
- Marlina, E. 2013. **Efektivitas Ekstrak Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)**. Skripsi. Universitas Padjajaran. Jatinagor. Tidak di Publikasikan.
- Mantau, Z. dan Sudarty. 2011. **Buku Terlengkap Pembenuhan Ikan Mas yang Efektif dan Efisien**. Pustaka Mina. Jakarta. 63 hlm.
- Muntamah., Y., A. Lestari dan I. Apriani. 2011. **Pembenuhan Ikan Koi *Cyprinus carpio* di Mina Karya Koi Cente, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta**. Program Kreativitas Mahasiswa Artikel Ilmiah. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mus. 2008. **Informasi Spesies Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis**. <http://www.plantamor.com/spcdetail.php?recid=1387>. diakses tanggal 20 Januari 2014.
- Nurachman, Z. 2003. **Artoindonesianin Untuk Antitumor**. <http://www.chem-is-try.com>. diakses pada tanggal 1 Januari 2014.
- Partosuwiryo S dan W. Yus. 2011. **Kiat Sukses Budi Daya Ikan Mas**. Citra Aji Parama. Yogyakarta. 59 hal.
- Priyagung, T. P. 2008. **Identifikasi Jenis Kelamin Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Menggunakan Voting Feature Intervals**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Tidak di Publikasikan.
- Rachmawati, S. 2008. **Studi Makroskopi dan Skrining Fitokimia Daun *Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis**. Skripsi. Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya. Tidak di Publikasikan.
- Ramadany, H. M, D. Winarni dan H. Soepriandono. 2012. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Tiga Jenis Teripang Lokal Pantai Timur Surabaya Terhadap Hepar Mencit (*Mus Musculus*) Setelah Infeksi *Escherichia Coli***. Jurnal Ilmiah Biologi Vol 1. No 1 (2012). Universitas Airlangga. Surabaya.
- Robinson, T. 1995. **Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi**, diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB: Bandung. 367 hlm.
- Rochani, N. 2009. **Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) Terhadap *Candida albicans* Serta**

Skrining Fitokimianya. Skripsi: Fakultas Farmasi UMS. Surakarta. Tidak di Publikasikan.

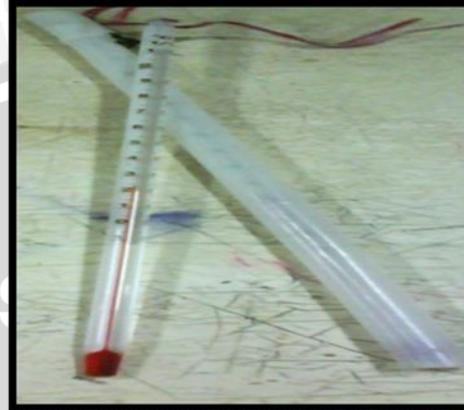
- Samad, M.S.F. 2010. **Pengaruh senyawa fenolik ubur-ubur (*Aurelia* sp.) terhadap hematologi dan aktivitas fagositosis ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.** Tesis. 109 hlm.
- Saselah, Jetti. T., Reiny. A. T dan M. Henky. 2012. **Determinasi Molekuler Koi Herpes Virus (KHV) yang Diisolasi dari Ikan Koi (*Cyprinus carpio koi*).** Jurnal Perikanan dan Kelautan Tropis, Vol. VIII-2, Agustus 2012. Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Manado. Sulawesi Utara.
- Sastrosupadi, A. 2000. **Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian Edisi Revisi.** Kanisius. Yogyakarta. 276 hlm.
- Shome, R., and B.R. Shome, 1999. A. **Typical chronic form of *Aeromonas hydrophilla* infection in indian major carp, *Catta calta*, from Andaman.** Curr. Sci., **76**: 1188-1190.
- Suhermanto, Achmad., Andayani ,S dan Maftuch. 2011. **Pemberian Total Fenol Teripang Pasir (*Holothuria Scabra*) untuk Meningkatkan Leukosit dan Diferensial Leukosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*.** Jurnal Kelautan, Volume 4, No. 2. ISSN: 1907-9931.
- Suprastyani, H. 1989. **Dasar-dasar Mempelajari Penyakit Bakterial Pada Ikan.** Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 52 hlm.
- Susanto, H. 2005. **Koi.** Penebar Swadaya. Jakarta.186 hlm.
- Taukhid, Sunarto A, Koesharyani I, Supriyadi H, L. Gaedenia. 2004. **Strategi Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas dan Koi. Makalah Seminar Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) pada Budidaya Ikan Air Tawar.** Bogor. 10 hlm.
- Thomson, R.H. 1993. **The Chemistri Of Natural Producst.** 2 Edition, chapman and hall ltd.glasgow,UK.
- Uchida, S. 2003. **Production of a digital map of the hazardous conditions of soil erosion for the sloping lands of West Java, Indonesia using geographic information systems (GIS).** JIRCAS. Indonesia.
- Utami, S. W. 2013. **Warta Ekspor, Peluang Ekspor Ikan Hias.** Ditjen PEN/MJL,25/V/2013. Djpen.kemendag.go.id. Tradexpo Indonesia.
- Volk , W. dan M. Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar.** Penerbit Erlangga. Jakarta. 396 hlm.

LAMPIRAN

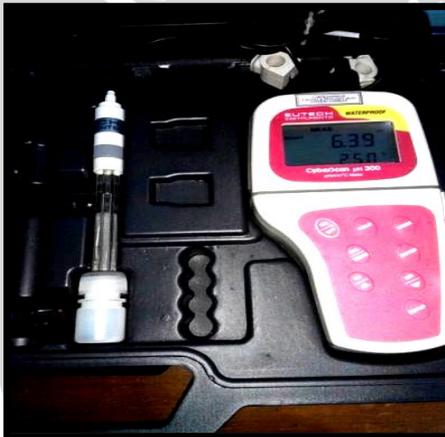
Lampiran 1. Alat Penelitian



Akuarium



Thermometer



pH Meter



Timbangan Analit



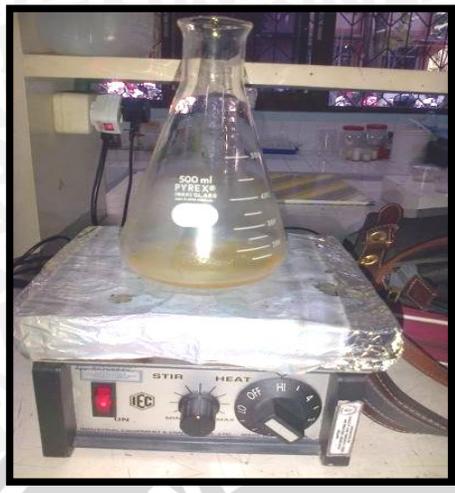
DO meter



Bak Plastik



Lampiran 1 (Lanjutan)



Autoclave



Hot Plate



Nampan dan Pipet Tetes



Selang Aerasi



Batu Aerasi



Laminary Flow

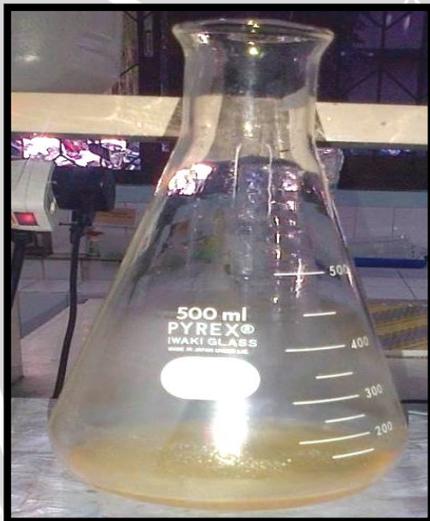
Lampiran 1 (Lanjutan)



Refrigator



Cawan petri

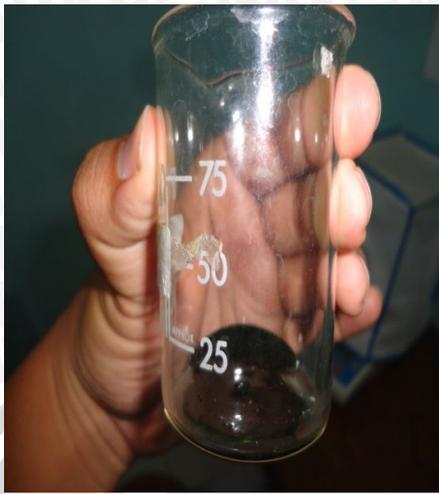


Erlenmayer



Beaker Glass

Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ekstrak Kasar Daun Binahong



Ikan Koi



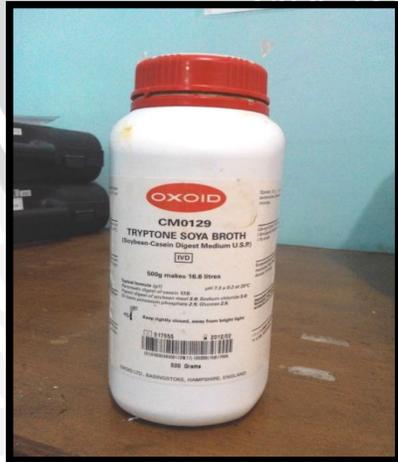
TSA



Aquades



Aluminium Foil



TSB



Alkohol 70%

Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Kasar Daun Binahong (*A. cordifolia*)**Daun Binahong *A. cordifolia***

- Dijemur hingga kering
- Dibersihkan dari pengotornya
- Dipotong sampai ukuran kecil
- Dimaserasi (direndam) dengan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 selama 24 jam
- Disaring dengan menggunakan kertas saring

Ekstrak Kasar

- Dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*
- Didapatkan ekstrak (ml)
- Dikeringkan dengan menggunakan *water bath* dengan suhu 50°C sampai hampir kering
- Diperoleh ekstrak kasar (gr)

Hasil**Penentuan Dosis Perendaman Ikan dengan Ekstrak Kasar Daun Binahong (*A. cordifolia*) untuk Penelitian In Vivo**

Menyiapkan akuarium untuk uji in vivo

Menentukan range dosis yang disarankan yaitu dosis 400, 600, 800, 1000, dan 1200 ppm

Menunggu kematian waktu ikan koi sampai 50% dan Melihat gejala klinis dengan melihat kelainan yang ada pada ikan, baik

Hasil uji menyimpulkan bahwa dosis yang dapat ditolerir oleh ikan adalah 200, 400 dan 600 ppm

Lampiran 4. Penentuan Kepadatan Bakteri

Pada penelitian lanjutan in vivo, sangat penting diketahui berapa kepadatan bakteri yang dapat ditolerir ikan koi (*C. carpio*). Bakteri *A. hydrophila* didapatkan dari balai karantina juanda dengan kepadatan 10^9 diukur dalam standart McFarlan. Untuk uji dilakukan pengenceran, dengan perhitungan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Dimana :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

- Untuk mendapatkan kepadatan bakteri *A. hydrophila* 10^8

$$V_1 \cdot 10^9 = 10.000 \text{ ml} \cdot 10^8$$

$$V_1 = \frac{10.000 \text{ ml} \cdot 10^8}{10^9} = \frac{10 \cdot 10^{11}}{10^9}$$

$V_1 = 1000 \text{ ml}$ (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan 9.000 ml air sehingga volume total 10.000 ml).

- Untuk mendapatkan kepadatan bakteri *A. hydrophila* 10^7

$$V_1 \cdot 10^9 = 10.000 \text{ ml} \cdot 10^7$$

$$V_1 = \frac{10.000 \text{ ml} \cdot 10^7}{10^9} = \frac{10 \cdot 10^{10}}{10^9}$$

$V_1 = 100 \text{ ml}$ (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan 9.900 ml air sehingga volume total 10.000 ml).

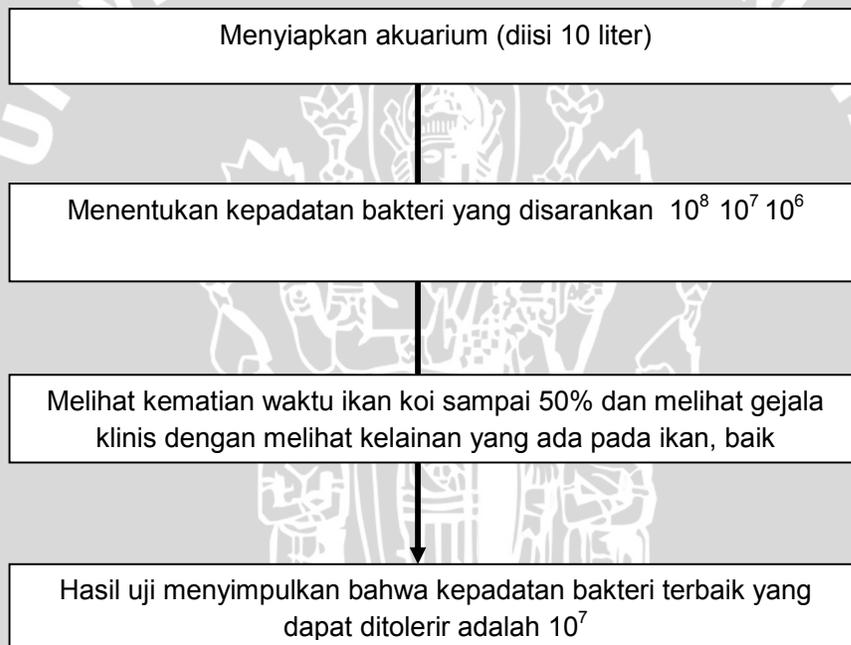
- Untuk mendapatkan kepadatan bakteri *A. hydrophila* 10^6

$$V_1 \cdot 10^9 = 10.000 \text{ ml} \cdot 10^6$$

$$V_1 = \frac{10.000 \text{ ml} \cdot 10^6}{10^9} = \frac{10 \cdot 10^9}{10^9}$$

$V_1 = 10 \text{ ml}$ (diambil dari bakteri kepadatan 10^9 sel/ml ditambahkan 9.990 ml air sehingga volume total 10.000 ml).

Penentuan Kepadatan Bakteri Terbaik akan di tampilan skema berikut:



Lampiran 5. Perhitungan Rancangan Penelitian Kelulushidupan
Perhitungan Dasar

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD	Total Kuadrat
	1	2	3				
A	100	100	100	300	100	0	90000.00
B	100	90	100	290	96.66666667	5.773502692	84100.00
C	100	70	80	250	83.33333333	15.27525232	62500.00
K+	40	50	70	160	53.33333333	15.27525232	25600.00
Total	340	310	350	1000	333.3333333	36.32400732	262200.00
Rerata	85	77.5	87.5	250			
Total Kuadrat	115600.00	96100.00	122500.00	1000000.00			

Perhitungan Kuadrat

Perlakuan	Ulangan			Total
	1	2	3	
A	10000.00	10000.00	10000.00	30000.00
B	10000.00	8100.00	10000.00	28100.00
C	10000.00	4900.00	6400.00	21300.00
K+	1600.00	2500.00	4900.00	9000.00
Total	31600.00	25500.00	31300.00	88400.00

Perhitungan Permodelan Statistik Rancangan Percobaan

FK	1,000.00	1,000,000.00	83,333.33
JK Total		88,400.00	5,066.67
JK Perlakuan	262,200.00	87,400.00	4,066.67
JK Acak			1,000.00
kk (koefisien keragaman)	125.00	250.00	4.472

Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan

sidik ragam	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
perlakuan	3	4,066.67	1355.56	10.844*	8.85	27.49
Acak	8	1,000.00	125.00			
Total	11	5,066.67				

*)Berbeda nyata pada taraf $f5% < f_{hitung} < f1%$

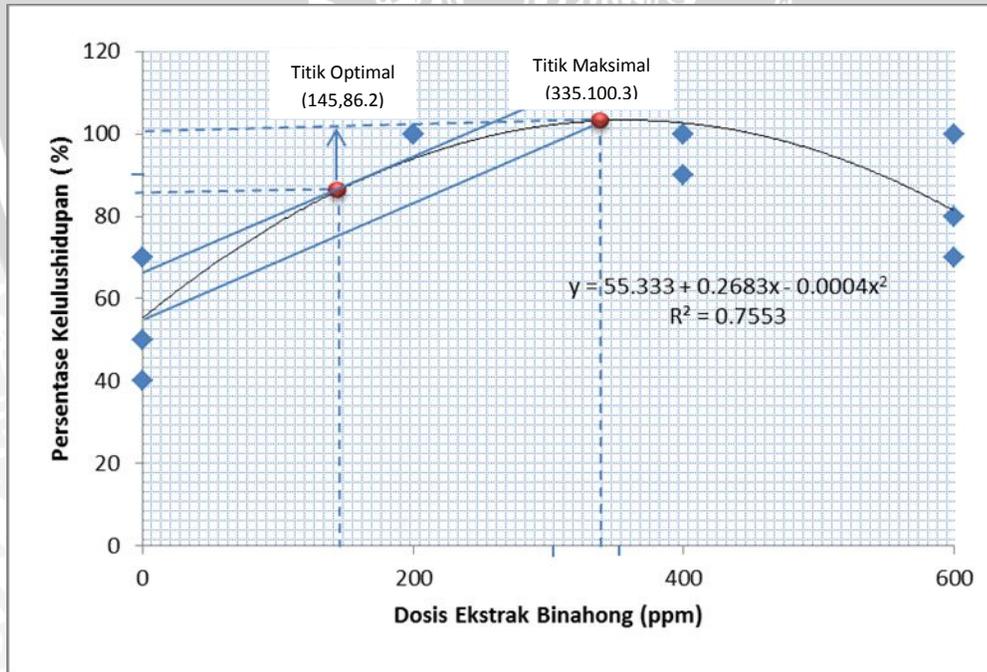
Lampiran 5 (lanjutan)

SED= $\sqrt{2}$ KT acak/r=	25.81988897
BNT 5%= t tabel 5%*SED= (0.7*10)=	18.07392228
BNT 1%= t tabel 1%*SED= (1.85*10)=	47.7667946

Hasil Uji BNT Dosis Ekstrak Kasar Daun Binahong (*A. cordifolia*) Terhadap Kelulushidupan Ikan koi (*C. carpio*).

Rerata Perlakuan	K+=53.33	C=83.33	B=96.66	A=100	Notasi
K+=53.33	-	-	-	-	a
C=83.33	30 *	-	-	-	b
B=96.66	43.33 *	13.33 ns	-	-	b
A=100	46.66 *	16.66 ns	3.33 ns	-	b

Grafik Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*).



Perhitungan Titik Maksimal

$$y = 55.333 + 0.2683x - 0.0004x^2$$

$$\begin{aligned}y' &= 0.2683 - 2(0.0004)x \\ &= 0.2683 - 0.0008x\end{aligned}$$

Mencari nilai x

$$0.0008x = 0.2683$$

$$x = 0.2683 / 0.0008$$

$$x = 335.375$$

Mencari nilai y

$$y = 55.333 + 0.2683x - 0.0004x^2$$

$$\begin{aligned}y &= 55.333 + 0.2683(335.375) - 0.0004(112476.390625) \\ &= 55.333 + 89.98 - 44.99 \\ &= 100.3\end{aligned}$$

