

**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

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

**OLEH :  
RENI NUR LAILI  
NIM. 0910853005**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG  
2014**



**PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa***

**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 :  
**RENI NUR LAILI  
NIM. 0910853005**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2014**

LEMBAR PENGESAHAN  
SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN LARUTAN DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN MAS  
(*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*

Oleh :

RENI NUR LAILI  
NIM. 0910853005

Telah Dipertahankan Didepan Penguji pada Tanggal 7 Februari 2014  
dan Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

Dosen Penguji I,

(Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS)  
NIP. 19620805 198603 2 001  
Tanggal :

Dosen Penguji II,

(M. Fakhri, S.Pi, MP, MSc)  
NIK.860717 08 1 1 0092  
Tanggal:

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I,

(Dr. Ir. Maftuch, MSi)  
NIP: 19660825 199203 1 001  
Tanggal :

Dosen Pembimbing II,

(Ir. Ellana Sanoesi, MP)  
NIP.19630924 199803 2 002  
Tanggal:

Mengetahui,  
Ketua Jurusan,

(Dr. Ir. Happy Nursyam, MS)  
NIP : 19600322 198601 1 001  
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 tedapat 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 dengan hukum yang berlaku di Indonesia.



Malang, 28 Februari 2014

**Reni Nur Laili**  
**(0910853005)**

## RINGKASAN

**RENI NUR LAILI.** Pengaruh Penggunaan Larutan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, MSi dan Ir. Ellana Sanoesi, MP**).

Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) merupakan ikan konsumsi air tawar yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Ikan ini sangat potensial untuk dikembangkan dan dibudidayakan. Tetapi masih ada beberapa kendala yang dihadapi. Salah satu kendala yang dihadapi pada pembenihan ikan Mas (*C. carpio*) yaitu adanya serangan penyakit. Penyakit yang sering menyerang baik yang disebabkan oleh bakteri, virus maupun dari mikroorganisme berbahaya lainnya. Penyakit yang paling sering menyerang ikan mas adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri, salah satunya bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Penyakit bakterial merupakan masalah serius dalam budidaya. Salah satu usaha pengendalian penyakit tersebut masih bertumpu dengan menggunakan obat - obatan kimia dan antibiotik.

Pemakaian obat – obatan kimia memang efektif dilakukan dalam jangka pendek, tetapi dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping dan resistensi, serta berbahaya bagi lingkungan. Sehingga diperlukan alternatif lain untuk menggantikan obat berbahan kimia tersebut. Salah satunya adalah dengan menggunakan tanaman herbal yang mempunyai banyak khasiat, murah, mudah didapat, serta ramah lingkungan. Salah satu tanaman herbal tersebut adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang telah terbukti banyak menyembuhkan berbagai macam penyakit, hal ini karena kandungan yang terdapat di dalamnya terdapat beberapa senyawa yaitu: alkaloid, flavonoid, pigmen, fenol, terpenoid, steroid dan minyak esensial.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* yang meliputi eritrosit, leukosit, hemoglobin (*Hb*), dan hematokrit. Penelitian ini dilaksanakan pada 8 Mei – 11 Agustus 2013 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan (A = 0 ppt, B = 4 ppt, C = 5 ppt, dan D = 6 ppt). Tiap - tiap perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali.

Hasil penelitian diperoleh nilai eritrosit terbaik adalah pada perlakuan C. Dimana jumlah eritrosit pada ikan normal (kontrol) adalah  $1,626 \times 10^6$  sel/ml dan nilai eritrosit pada perlakuan C adalah  $1,630 \times 10^6$  sel/ml.

Hasil penelitian untuk nilai leukosit terbaik adalah pada perlakuan C. Dimana jumlah leukosit pada ikan normal (kontrol) adalah  $24,58 \times 10^3$  sel/ml dan nilai leukosit sesudah perlakuan terendah ditunjukkan oleh perlakuan C yaitu  $20,39 \times 10^3$  sel/ml. nilai leukosit pada perlakuan A sangat tinggi, yaitu  $80,34 \times 10^3$  sel/ml. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi

Nilai hemoglobin ikan normal adalah 8,60 g% dan nilai hemoglobin sesudah perlakuan 8,80 g% dimana nilai tersebut didapat pada perlakuan C. Sedangkan, nilai

hematokrit ikan normal adalah 33,33 % dan nilai hematokrit sesudah perlakuan diperoleh dosis terbaik adalah 5 ppt dimana nilai hematokritnya 32%.

Larutan sambiloto (*A. paniculata*) ternyata mampu memberikan pengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*. Dosis terbaik adalah pada perlakuan C (dosis 5ppt), dimana dapat meningkatkan jumlah eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit pada ikan uji yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

Ikan yang telah diinfeksi dengan bakteri *P. aeruginosa* akan tampak gejala patologi klinis seperti bercak - bercak hitam yang muncul pada kulit (sisik), pada bagian anal akan berwarna merah kekuningan dan bengkak, produksi lendir yang berlebih, gerakan ikan yang tidak stabil dan tidak teratur, serta ikan yang lebih sering berenang dipermukaan akuarium untuk mengambil oksigen. Berdasarkan hasil penelitian, nilai kualitas air selama pemeliharaan adalah suhu 25 – 26,2°C, pH = 7 - 8,2 dan DO = 5,3 – 6,7, dinyatakan memenuhi syarat dalam pemeliharaan ikan mas (*C. carpio*).



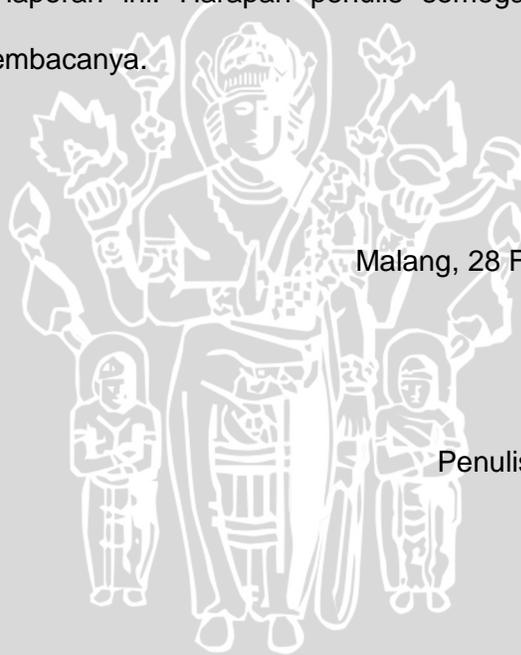
## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah serta karunia-Nya sehingga penyusunan skripsi dengan Judul "Pengaruh Pemberian Larutan Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Terhadap Hematologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*" dapat diselesaikan dengan baik.

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

Malang, 28 Februari 2014

Penulis



## UCAPAN TERIMAKASIH

Atas selesainya laporan ini, tak lupa penulis mengucapkan terimakasih kepada:

- Kedua orangtuaku, ibu Surati dan Bapak Sulaiman atas segala Do'a, pengorbanan, cinta dan kasih sayang selama ini yang tidak pernah putus.
- Dr. Ir. Maftuch, MSi dan Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku dosen pembimbing yang banyak membimbing dan memberikan masukan dalam penyusunan skripsi ini
- Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS dan M. Fakhri, S.Pi, MP, MSc selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik dan saran dalam menyempurnakan penyusunan laporan skripsi ini.
- Kakakku tercinta, Tutik Mujayanah, S.Pd, beserta keluarga besar di Lamongan, terimakasih untuk perhatian, pengorbanan dan Do'a
- *My Best Partner*: Aristya Rachmadani dan Lina Citra, yang mampu menjadi keluarga, sahabat juga tempat berbagi untuk saling menguatkan dan mengingatkan.
- Teman-teman Budidaya Perairan 2009 a.k.a Saudara'09 untuk segala info, bantuan, dukungan dan do'a nya.. Bangga dan bahagia menjadi bagian dari keluarga BP 09.
- Teman-teman Penelitian di lab Parasit dan Penyakit Ikan juga para *laborant*: mbak Titin, Pak Yit dan Pak Udin yang selalu membantu dan memberi banyak saran yang sangat bermanfaat. Serta semua pihak yang sudah membantu dan tidak bisa disebutkan satu per satu. Termakasih banyak.

Malang, 28 Februari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	3
1.5 Kegunaan Penelitian.....	3
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian .....	4
<b>2.TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	5
2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	6
2.1.3 Penyakit pada Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	7
2.2 Sambiloto .....	8
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Sambiloto .....	8
2.2.2 Penyebaran dan Habitat Sambiloto .....	9
2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif dalam Sambiloto .....	10
2.2.4 Manfaat Sambiloto .....	11
2.3 Bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	11
2.3.2 Karakteristik <i>P. aeruginosa</i> .....	12
2.3.3 Tanda - tanda Infeksi Bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	13
2.4 Hematologi.....	14
2.4.1 Fungsi Darah pada Ikan .....	14
2.4.2 Sel Darah Merah (Eritrosit).....	14
2.4.3 Sel Darah Putih (Leukosit).....	15
2.4.4 Hemoglobin (Hb).....	16
2.4.4 Hematokrit.....	17
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1 Materi Penelitian .....	18
3.1.1 Alat Penelitian .....	18
3.1.2 Bahan Penelitian .....	18

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian.....	18
3.2.1 Metode Penelitian .....	18
3.2.2 Rancangan Penelitian .....	19
3.3 Prosedur Penelitian .....	20
3.3.1 Persiapan Wadah.....	20
3.3.2 Persiapan Ikan Uji .....	20
3.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	20
3.3.4 Pembuatan Media Bakteri .....	21
3.3.5 Pemiakan Bakteri <i>P.aeruginosa</i> .....	22
3.3.6 Penginfeksi Bakteri pada Ikan .....	23
3.3.7 Pembuatan Larutan Sambiloto ( <i>A. paniculata</i> ) .....	24
3.3.8 Pengambilan Sampel Darah.....	24
3.3.9 Pengamatan Hematologi.....	25
3.4 Parameter Uji .....	27
3.4.1 Parameter Utama.....	27
3.4.2 Parameter Penunjang .....	27
3.5 Analisis Data .....	27
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
4.1 Analisa Hematologi .....	28
4.1.1 Sel Darah Merah (Eritrosit) Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	28
4.1.2 Sel Darah Putih (Leukosit) Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	31
4.1.3 Hemoglobin (Hb) Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) .....	34
4.1.4 Hematokrit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	37
4.2 Gejala Patologi Klinis Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	40
4.3 Kualitas Air.....	41
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>
5.1 Kesimpulan .....	43
5.2 Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>48</b>



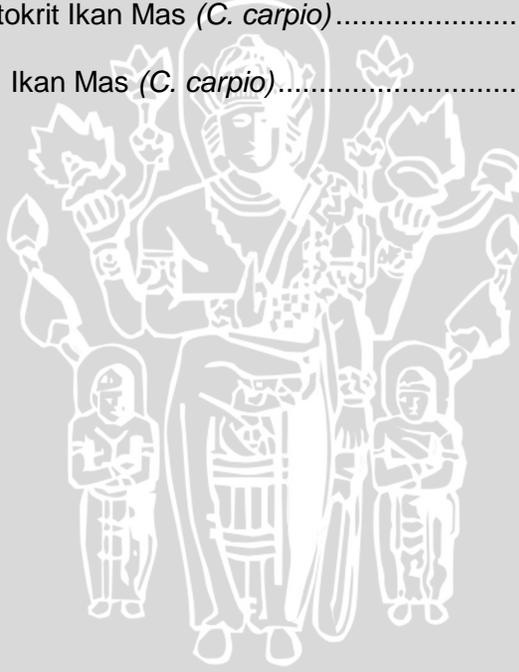
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	5
2. Sambiloto ( <i>A. paniculata</i> ).....	8
3. Bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	12
4. Sel Darah Merah (Eritrosit).....	16
5. Denah Penelitian.....	20
6. Hasil Pengamatan Jumlah Eritrosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	28
7. Hasil Pengamatan Eritrosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	31
8. Hasil Pengamatan Jumlah Leukosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	31
9. Hasil Pengamatan Nilai Hemoglobin Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	34
10. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	37
11. Hasil Pengamatan Nilai Hematokrit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	37
12. Hasil Pengamatan Kadar Hematokrit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	40
13. Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ) yang Terinfeksi Bakteri.....	40
14. Sampel untuk Pengukuran Kualitas Air.....	41



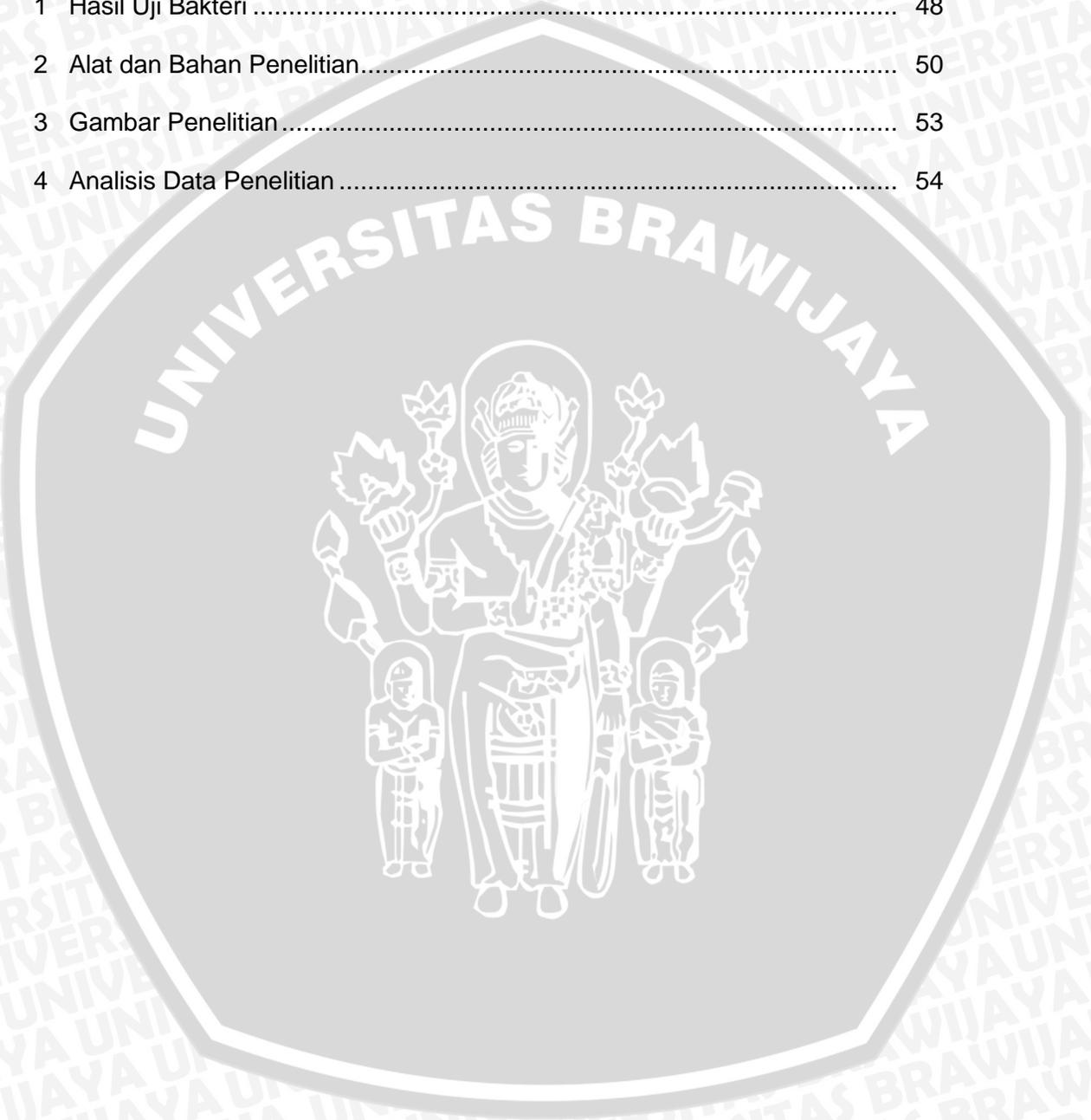
### DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	29
2. Uji BNT Eritrosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	29
3. Sidik Ragam Leukosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	32
4. Uji BNT Leukosit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	32
5. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	35
6. Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	35
7. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	38
8. Uji BNT Hematokrit Ikan Mas ( <i>C. carpio</i> ).....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Hasil Uji Bakteri .....	48
2 Alat dan Bahan Penelitian.....	50
3 Gambar Penelitian.....	53
4 Analisis Data Penelitian.....	54



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan mas merupakan ikan budidaya air tawar yang memiliki nilai ekonomis sangat penting dan berkembang di masyarakat. Ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang berkembang di Indonesia berasal dari beberapa negara Eropa tengah sampai timur, China dan Jepang. Ikan mas diintroduksi pada pertengahan abad ke-18. Sejak saat itu budidaya ikan mas mulai berkembang dan menyebar hampir di seluruh kawasan Indonesia (Kartolani, 2012).

Sebagai ikan budidaya, ikan mas menduduki peringkat pertama dari total produksi ikan budidaya pada skala nasional selama kurun waktu 1990 – 1995 (FAO, 2002). Pada tahun 1996 produksi ikan mas mencapai angka 178.362 ton. Meskipun demikian, pengembangan budidaya ikan mas pada saat ini mengalami hambatan yang disebabkan oleh timbulnya wabah penyakit yang mencapai puncaknya pada tahun 2000 – 2002 serta adanya penurunan kualitas genetik ikan yang secara nyata mengakibatkan pertumbuhan yang lambat, matang kelamin diusia dini serta menurunnya daya tahan terhadap penyakit dan perubahan lingkungan. Penyakit tersebut sebagian besar disebabkan oleh virus maupun bakteri (Ariyanto dan Subagyo, 2004).

Penyakit adalah terganggunya kesehatan ikan yang diakibatkan oleh parasit, bakteri atau virus. Penyakit dapat menyebabkan terjadinya penurunan produksi ikan, baik secara kuantitas maupun kualitas. Salah satu cara untuk membantu mendiagnosa adanya penyakit pada ikan yaitu melalui pemeriksaan darah. Adanya gangguan yang bersifat infeksi maupun non-infeksi akan menyebabkan terjadinya perubahan pada gambaran darah secara umum. Komponen - komponen darah akan mengalami perubahan apabila terjadi gangguan fisiologis ikan yang akan menentukan status kesehatan ikan. Perubahan komponen darah akan terjadi, baik

kuantitatif maupun kualitatif. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengetahui gambaran darah ikan untuk mengetahui status kesehatannya (Mones, 2008).

Bakteri merupakan penyakit yang paling sering menyerang ikan mas. Salah satunya adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini akan mudah menyerang, apalagi jika ikan dalam keadaan stres maupun dalam kondisi lingkungan yang kurang baik. Jika dalam keadaan yang parah, bakteri ini dapat menyebabkan kematian pada ikan. sehingga dibutuhkan penanganan dan pengobatan yang tepat. Pengobatan pada ikan dapat dilakukan dengan menggunakan bahan kimia maupun tanaman herbal yang banyak terdapat di alam. Pemakaian obat – obatan kimia memang efektif dilakukan dalam jangka pendek, tetapi dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping dan resistensi, serta berbahaya bagi lingkungan.

Penggunaan antibiotik secara terus menerus bila penggunaannya tidak tepat dapat menyebabkan bakteri patogen menjadi resisten, terjadi penimbunan residu obat - obatan di dalam tubuh ikan dan lingkungan perairan, akhirnya dapat membahayakan konsumen yang mengkonsumsinya. Untuk mengatasi masalah tersebut, perlu dicari alternatif lain sebagai pengganti antibiotik yang berasal dari tumbuhan alami yang dapat dijadikan sebagai bahan anti bakteri (Lukistyowati, 2012). Salah satu tanaman yang banyak digunakan dan dimanfaatkan adalah sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang sudah banyak dikenal dapat mengobati berbagai macam penyakit pada ikan. Hal ini karena kandungan yang dimilikinya. Seperti andrografolid, flavonoid, keton, aldehid, dan mineral (Wijayakusuma *et al.*, 1993).

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan gambaran tentang pengaruh pemberian larutan daun sambiloto terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

## 1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Apakah pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*?
- Berapa dosis terbaik dari pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*, melalui cara perendaman?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengetahui pengaruh pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* yang meliputi Eritrosit, Leukosit, Hemoglobin (Hb), Hematokrit
- Mengetahui dosis terbaik dari pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*, dengan cara perendaman

## 1.4 Hipotesis

H0: Diduga pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

H1: Diduga pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa*.

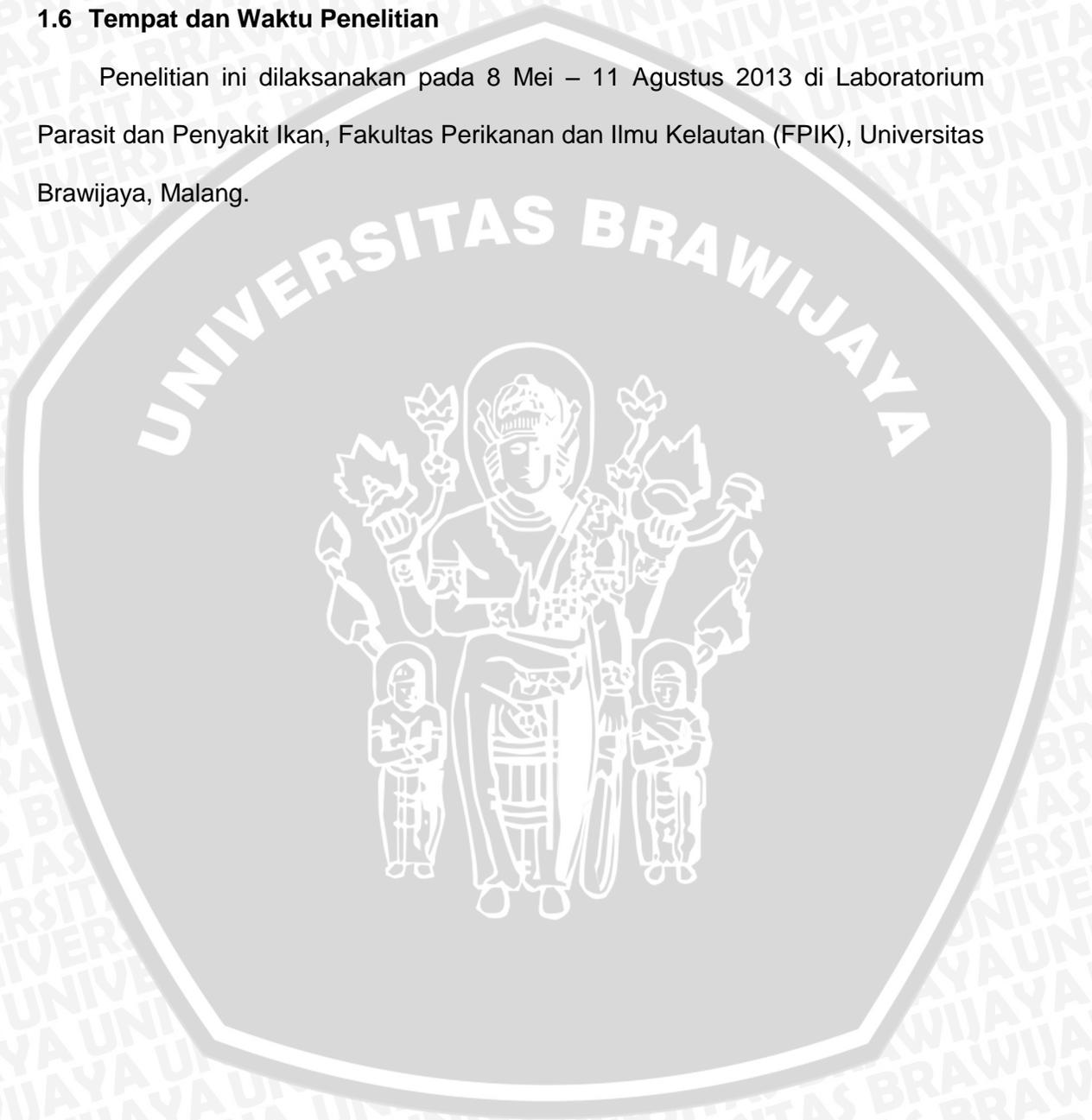
## 1.5 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan dan dikembangkan untuk mendapatkan dosis larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) yang tepat untuk

dapat menyembuhkan penyakit yang disebabkan bakteri *P. aeruginosa*, sehingga mampu menurunkan kemungkinan berkembangnya penyakit yang menyerang ikan mas (*C. carpio*).

### 1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 8 Mei – 11 Agustus 2013 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan (FPIK), Universitas Brawijaya, Malang.



## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Mas (*C. carpio*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas (*C. carpio*)

Klasifikasi ikan mas (Gambar 1) menurut Amri dan Khairuman (2002) adalah sebagai berikut:

- Kerajaan : Animalia
- Filum : Chordata
- Subfilum : Vertebrata
- Superkelas : Pisces
- Kelas : Osteichtyes
- Subkelas : Actinoperygii
- Ordo : Cypriniformes
- Sub Ordo : Cyprinoidea
- Famili : Cyprinidae
- Genus : Cyprino
- Species : *C. carpio*



Gambar 1. Ikan Mas (*C. carpio*) (Choirul, 2008)

Ikan mas merupakan jenis ikan konsumsi air tawar, berbadan memanjang pipih kesamping dan lunak. Ikan mas sudah dipelihara sejak tahun 475 sebelum masehi di Cina. Di Indonesia ikan mas mulai dipelihara sekitar tahun 1920. Ikan mas yang

terdapat di Indonesia merupakan merupakan ikan mas yang dibawa dari Cina, Eropa, Taiwan dan Jepang (Kartolani, 2012). Ikan mas di Indonesia terbagi ke dalam banyak galur. Masing - masing galur tersebut mempunyai kekhasan dan keunikan tersendiri yang merupakan keunggulan ikan mas dibandingkan dengan jenis - jenis ikan lainnya (Arianto dan Subagyo, 2004).

Tubuh ikan mas agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Mulut terletak di ujung tengah (terminal) dan dapat disembulkan. Dibagian anterior terdapat dua pasang sungut. Secara umum, hampir seluruh tubuh ikan mas dipenuhi oleh sisik. Sisik ikan mas berukuran relatif besar dan digolongkan dalam sisik tipe sikloid. Garis rusuk (*linea lateralis* atau gurat sisi) ikan mas tergolong lengkap, berada dipertengahan tubuh melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor (Amri dan Khairuman, 2002).

Sirip punggung (*dorsal*) berukuran memanjang dan bagian belakangnya berjari keras. Sementara itu, sirip ketiga dan keempat bergerigi. Letak sirip punggung berseberangan dengan permukaan sirip perut (*ventral*). Tipe sirip dubur (*anal*) mirip dengan sirip punggung, yakni berjari keras dan pada akhirnya bergerigi (Khairuman *et al.*, 2008).

### **2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup Ikan Mas (*C. carpio*)**

Ikan mas memiliki habitat diperairan tawar yang tidak terlalu deras, misalnya di pinggiran sungai atau danau. Ikan ini hidup baik pada ketinggian 150 - 600 meter di atas permukaan laut (dpl) dan pada suhu 25 – 30 ° C. Ikan mas termasuk jenis ikan omnivora, dengan kecenderungan memakan organisme bentik, seperti insekta air, larva insekta, cacing, moluska, dan zooplankton. Ikan mas biasanya menggali substrat dasar pada perairan untuk mendapatkan makanannya (Praseno *et al.*, 2010).

Menurut Amri dan Khairuman (2002), ikan mas meskipun tergolong ikan air tawar, meskipun kadang ditemukan diperairan payau atau muara sungai dengan salinitas sampai 25 - 30 ppt. Beberapa parameter kualitas air untuk ikan mas diantaranya: pH 6,5 - 8,5; karbondioksida 0 - 12 mg/l, alkalinitas minimal 20 mg/l, ammonia maksimum 0,002 mg/l dan oksigen terlarut lebih besar dari 2 mg/l.

Budidaya ikan mas telah berkembang pesat dikolam biasa, disawah, waduk, sungai air deras bahkan ada yang dipelihara dalam karamba diperairan umum. Kualitas air untuk pemeliharaan ikan mas harus bersih, tidak terlalu keruh dan tidak tercemar bahan - bahan kimia beracun dan limbah. Kolam dengan sistem pengairan mengalir sangat baik untuk pertumbuhan dan perkembangan fisik ikan mas. Debit air untuk kolam air tenang adalah 8 - 15 liter/detik/hektar dan untuk pembesaran kolam air deras adalah 100 liter/detik/hektar (Kartolani, 2012).

### 2.1.3 Penyakit pada Ikan Mas (*C. carpio*)

Ikan sebenarnya mempunyai daya tahan terhadap penyakit selama dalam keadaan lingkungan yang baik dan tubuhnya tidak diperlemah oleh berbagai sebab. Beberapa hal yang menyebabkan kondisi tubuh ikan menjadi lemah dan sakit antara lain adalah cara perawatan yang buruk sehingga membuat ikan menjadi stres, pakan yang tidak baik, serta disebabkan oleh beberapa parasit yang bahkan bisa menyebabkan kematian, seperti virus, jamur (*Saprolegnia*), bakteri (*Aeromonas*, *Pseudomonas*), protozoa (*Ichtyophthirius*), cacing (*Dactylogyrus*) (Daelami, 2001).

Ikan mas merupakan ikan yang mudah terserang penyakit. Salah satu penyakit yang cukup mematikan adalah *Koi Herpes Virus (KHV)* yang disebabkan serangan virus dan sangat mematikan. Sedangkan, jika ikan mas mengalami sakit yang disebabkan oleh bakteri biasanya disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophylla*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* dan *Edwardsiella*. Kondisi air yang kurang bagus dan stres pada ikan dapat menjadi penyebab utamanya (Alex, 2005).

## 2.2 Sambiloto

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi Sambiloto

Klasifikasi sambiloto (*A. paniculata*) menurut Wijayakusuma *et al.* (1993) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>A. paniculata</i>



**Gambar 2. Sambiloto (*A. paniculata*) (Pujiasmanto, *et al.*, 2007)**

Tinggi tanaman sambiloto (Gambar 2) mencapai sekitar 40 - 90 cm, dengan batang persegi empat dan nodus membesar, dengan banyak cabang. Daun tunggal dengan letak berhadapan dan bersilang, bentuknya lanset dengan pangkal dan ujung daun meruncing. Tepi daun rata, permukaan atas berwarna hijau tua dan

permukaan bawah berwarna hijau muda. Panjang daun 2 - 8 cm, lebarnya 1 - 3 cm, bertangkai pendek (Wijayakusuma *et al.*, 1993).

Bunga berbentuk tabung: kecil - kecil, warnanya putih bernoda ungu. Buah berbentuk kapsul, panjang sekitar 1,5 cm, lebar 0,5 cm, pangkal dan ujung tajam, bila pecah akan membujur menjadi 4 keping. Biji gepeng, kecil - kecil, warnanya coklat muda. Perbanyakkan biji dengan stek atau batang (Dalimartha, 1999). Biji agak keras, panjang 1,5 mm sampai 3 mm, lebar  $\pm 2$  mm. Permukaan luar berwarna coklat muda bertonjol - tonjol. Pada penampang melintang biji terlihat endosperm berwarna kuning kecoklatan (Eismaputeri *et al.*, 2010).

### 2.2.2 Penyebaran dan Habitat Sambiloto

Sambiloto (*A. paniculata*) merupakan tanaman perdu yang tumbuh tegak dengan tinggi antara 0,5 - 1 meter. Bagian yang digunakan adalah daun dan batang. Tanaman ini tumbuh secara luas di Asia Selatan dan Tenggara seperti India, Pakistan, Sri Lanka, Indonesia, Malaysia dan Thailand. Di Cina dan Thailand, sambiloto dibudidayakan secara besar - besaran (Srijanto, 2012).

Sambiloto (*A. paniculata* Nees) secara alami hidup subur di antara tegakan hutan. Hal ini megindikasikan bahwa tanaman ini toleran terhadap naungan (Pribadi, 2007). Pola sebaran sambiloto mengelompok. Sambiloto pada umumnya tumbuh di bawah naungan pohon jati (Sulistijo dan Pujiasmanto, 2007). Sambiloto tumbuh liar di bawah tegakan pohon jati atau bambu pada ketinggian 1 - 1600 m dpl. Benih sambiloto dapat diperoleh dari tumbuhan sambiloto yang tumbuh di berbagai ketinggian (rendah < 400 m dpl, menengah 400 - 700 m dpl dan tinggi > 700 m dpl) (Pujiasmanto, 2008).

Tumbuhan sambiloto memiliki daya adaptasi pada lingkungan ekologi setempat. Tumbuhan tersebut terdapat di seluruh Nusantara karena dapat tumbuh dan berkembang baik pada berbagai topografi dan jenis tanah. Tumbuh baik pada curah

hujan 2.000 – 3.000 mm/tahun, suhu udara 25 – 32°C serta kelembaban yang dibutuhkan antara 70 – 90 %. Tumbuhan sambiloto dapat tumbuh pada semua jenis tanah, ialah yang subur, mengandung banyak humus, tata udara dan pengairan yang baik. Sambiloto tumbuh optimal pada pH tanah 6 – 7 (netral). Pada tingkat kemasaman tersebut, unsur hara yang dibutuhkan tanaman cukup tersedia dan mudah diserap oleh tanaman. Kedalaman perakaran sambiloto dapat mencapai 25 cm dari permukaan tanah (Pujiasmanto *et al.*, 2007)

### 2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif dalam Sambiloto

Daun dan percabangan sambiloto mengandung laktone yang terdiri dari deoksiandrografolid, andrografolid (zat pahit). Juga terdapat flavonoid, alkane, keton, aldehyd, mineral (kalsium, kalium, natrium), asam kersik dan damar. Flavonoid diisolasi paling banyak dari akar (Dalimartha, 1999).

Senyawa aktif utama dari sambiloto adalah andrografolid. Senyawa ini termasuk senyawa diterpen lakton dan larut dalam pelarut organik. Andrografolid terkandung paling banyak di daun ( $\pm 2,39\%$ ) dan paling sedikit pada biji. Senyawa lain yang terdapat di dalam sambiloto adalah *deoksiandrografolid - 19- $\beta$ -D-glukosida* dan neo-andrografolid yang keseluruhannya diisolasi dari daun (Srijanto, 2012)

Pemanfaatan tanaman sambiloto sebagai bahan obat berkaitan erat pula dengan kandungan kimia tanaman tersebut yang dapat bersifat sebagai bahan bioaktif. Kandungan kimia pada daun sambiloto adalah andrografolid, andrografin, panikulin, kalmegin, dan minyak atsiri (Poeloengan dan Praptiwi, 2000).

Salah satu bahan obat tradisional yang banyak dimanfaatkan adalah daun sambiloto (*A. paniculata*) yang banyak dijumpai hampir di seluruh kepulauan Nusantara. Daun sambiloto mengandung saponin, flavonoid, alkaloid, fenol dan tanin. Kandungan kimia lain yang terdapat pada daun dan batang adalah laktone, panikulin, kalmegin dan hablur kuning yang memiliki rasa pahit. Sambiloto juga

dimanfaatkan untuk antimikroba/antibakteri, anti sesak napas dan untuk memperbaiki fungsi hati (Rahayoe *et al.*, 2008)

#### **2.2.4 Manfaat Sambiloto**

Menurut Dalimartha (1999), tanaman sambiloto ini mempunyai beberapa manfaat, diantaranya adalah antibakteri, antiradang, mengontrol reaksi imun, penghilang nyeri (analgesik), pereda demam (antipiretik), menghilangkan panas dalam, serta penawar racun (detoksikasi). Tanaman ini juga berkhasiat sebagai bakteriostatik pada *Staphylococcus aureus*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. Sedangkan zat aktif andrografolid terbukti berkhasiat sebagai hepaprotektor (melindungi sel hati dari toksik).

Sambiloto merupakan salah satu tanaman yang banyak diminati karena banyak mengandung senyawa bioaktif yang berkhasiat, diantaranya bersifat sebagai antiradang, antidierutika, antianalgetika, dan antibakteri (bakteriostatik) sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri pathogen (Arbianti, *et al*, 2008). Sambiloto mempunyai efek farmakologis berupa imunostimulan (meningkatkan daya tahan tubuh) dan antibiotik (Astuti dan Munifatul, 2010).

Masyarakat memanfaatkan bagian tajuk (daun dan batang) tumbuhan sambiloto sebagai bahan obat tradisional untuk obat penguat, demam, disentri, kolera, diabetes, sakit paru - paru, influenza dan bronkitis. Tumbuhan sambiloto dipanen dari habitat aslinya oleh masyarakat untuk sumber bahan obat tradisional (Pujiasmanto *et al.*, 2007).

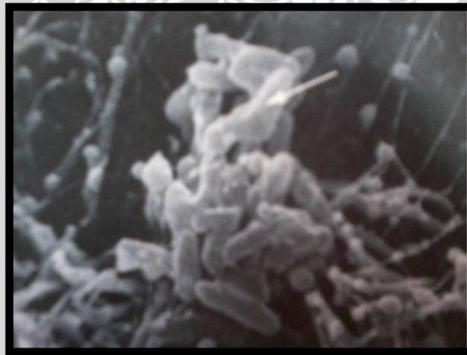
### **2.3 Bakteri *P. aeruginosa***

#### **2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakteri *P. aeruginosa***

Klasifikasi *P. aeruginosa* menurut Dwidjoseputro (1998), adalah sebagai berikut:

Genus	: Pseudomonas
Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Species	: <i>P. aeruginosa</i>

*P. aeruginosa* (Gambar 3) merupakan bakteri berbentuk batang pendek, motil dengan flagella polar dan bersifat gram negatif. Bakteri ini bersifat patogen oportunistik. Pada keadaan biasa bakteri tersebut ada pada lingkungan perairan atau tubuh ikan tanpa menimbulkan penyakit, tetapi akan menimbulkan penyakit bahkan kematian manakala terjadi stress atau daya tahan tubuh ikan menurun (Irianto, 2005).



**Gambar 3. Bakteri *P. aeruginosa* (Mayasari, 2005)**

Bakteri ini bersifat gram negatif, berbentuk batang lurus, membentuk spora, dapat bergerak, umumnya mempunyai flagella polar tunggal. Umumnya bakteri ini berukuran kecil dengan lebar 0,5 - 1,0  $\mu\text{m}$  dan panjang 1,5 - 4,0  $\mu\text{m}$ . *P. aeruginosa* memproduksi pigmen piosianin yang berwarna biru (Fardiaz, 1992).

### **2.3.2 Karakteristik *P. aeruginosa***

*P. aeruginosa* akan tumbuh dengan baik dengan adanya unsur nitrogen dan karbon. Mereka banyak dijumpai melimpah dalam air dan tanah. Bakteri ini terlihat

sebagai bakteri tunggal, berpasangan dan terkadang membentuk rantai yang pendek. Suhu optimum untuk pertumbuhan *P. aeruginosa* yaitu 42 °C. *P. aeruginosa* mudah tumbuh pada berbagai media pembiakan karena kebutuhan nutrisinya sangat sederhana (Venty, 2011).

*P. aeruginosa* tumbuh baik pada suhu rendah, bersifat psikrofilik atau mesofilik dengan suhu optimum relatif rendah, yaitu 37 °C. *P. aeruginosa* termasuk kedalam suku *Pseudomonadaceae* dan merupakan salah satu jenis bakteri yang dapat menyebabkan kebusukan dan kerusakan pada makanan (Fardiaz, 1992). *P. aeruginosa* dapat berkembang dengan cepat pada suhu rendah dan sering mengakibatkan terbentuknya lendir pada permukaan daging (Buckle *et al.*, 2007)

Bakteri *pseudomonas* merupakan bakteri patogen yang menyebabkan penyakit. Berbagai cara digunakan oleh bakteri tersebut untuk menyebarkan penyakit diantaranya adalah menggunakan protease. Melalui enzim ini, bakteri dapat menembus lapisan protein sel inang sehingga penyakit dapat menyebar luas (Nurhayati *et al.*, 2010).

### 2.3.3 Tanda - tanda Infeksi Bakteri *P. aeruginosa*

*P. aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif yang dapat menyebabkan penyakit. Bakteri *P. aeruginosa* menyerang ikan air tawar dan merupakan patogen oportunistik. Secara umum, tanda - tanda klinis infeksi *P. aeruginosa* mirip dengan *Aeromonas hydrophilla* antara lain terjadinya hemoragik *septicemia*, hemoragik pada insang dan ekor, dan borok pada kulit. Menyebabkan infeksi kronis pada organisme dengan fibrosis kistik dan merupakan penyebab utama kematian (Irianto, 2005).

Secara umum, gejala infeksi bakteri *Pseudomonas* mempunyai ciri yaitu pendarahan pada kulit, luka pada kulit dan selanjutnya menjadi borok. Apabila ikan dibedah akan terlihat hati, limfa dan ginjalnya berdarah (Daelami, 2001).

## **2.4 Hematologi**

### **2.4.1 Fungsi Darah pada Ikan**

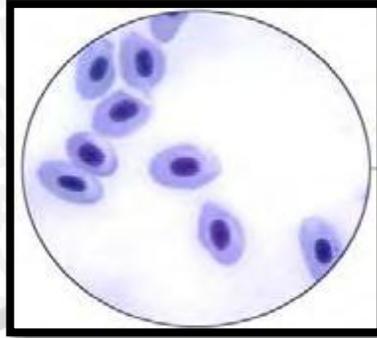
Darah ikan memiliki inti dan volumenya hanya mencapai sekitar 5% dari berat total tubuh ikan. Komposisi darah ikan terdiri dari plasma dan komponen seluler yang meliputi sel darah merah dan sel darah putih (Irianto, 2005).

Darah mempunyai peran fisiologis pada ikan, penyimpangan hematologis dan respon kebal ikan mencirikan terjadinya perubahan status kesehatan ikan dari normal menjadi abnormal. Perubahan gambaran darah dapat menentukan kondisi kesehatan ikan (Zainun, 2010).

Penyimpangan fisiologis ikan akan menyebabkan komponen - komponen darah juga mengalami perubahan. Perubahan gambaran darah dan kimia darah, baik secara kualitatif dan kuantitatif dapat menentukan kondisi kesehatan sebagaimana fungsi vital darah didalam tubuh antara lain sebagai pengangkut zat - zat kimia seperti hormon, pengangkut zat buangan hasil metabolisme tubuh, serta pengangkut oksigen dan karbondioksida. Untuk melakukan aktivitas, sel, jaringan, maupun organ membutuhkan nutrisi dan oksigen. Bahan - bahan ini dapat disuplai jika peredaran darah dalam keadaan normal. Karenanya, kondisi hematologi dapat dijadikan sebagai indikator untuk mendeteksi dan menentukan tingkat kesehatan ikan (Sabilu, 2010).

### **2.4.2 Sel Darah Merah (Eritrosit)**

Menurut Fujaya (2007), ikan memiliki sel darah merah (Gambar 4) berinti dengan bentuk dan ukuran bervariasi antara satu spesies dengan lainnya. Jumlah sel darah merah pada masing - masing spesies berbeda, tergantung dari aktivitas ikan tersebut. Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mengangkut hemoglobin yang berperan membawa oksigen dari insang atau paru - paru ke jaringan.



**Gambar 4. Sel Darah Merah (Eritrosit) (Mones, 2008)**

Eritrosit adalah cakram bikonkaf tidak berinti yang berdiameter  $\pm 8 \mu\text{m}$ , tebal bagian tepi  $2 \mu\text{m}$  dan ketebalan bagian tengah berkurang menjadi  $1 \mu\text{m}$ . Komponen utama eritrosit adalah hemoglobin protein yang mengangkut sebagian besar oksigen ( $\text{O}_2$ ) dan sebagian kecil fraksi karbon dioksida ( $\text{CO}_2$ ) (Sabilu, 2010). Eritrosit jumlahnya bervariasi tergantung spesies, kondisi stress dan suhu lingkungan, tetapi umumnya berkisar  $1,05 - 3,0 \times 10^6$  sel/ml. Pada ikan mas (*C. carpio*) biasanya berkisar  $1,43 - 1,6 \times 10^6$  sel/ml (Irianto, 2005).

#### **2.4.3 Sel Darah Putih (Leukosit)**

Menurut Fujaya (2007), sel darah putih (leukosit) pada ikan memiliki jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan manusia. Sel darah putih berfungsi menjaga tubuh dari serangan organisme patogen, sedangkan kombinasinya dengan trombosit dan faktor pembeku berperan menyumbat kebocoran pembuluh darah tanpa menyumbat alirannya.

Meningkatnya jumlah leukosit disebut leukositosis sedangkan penurunan disebut leukopenia. Leukositosis lebih umum daripada leukopenia dan tidak merupakan hal yang serius, bahkan mungkin bisa dikarenakan faktor fisiologis (Sabilu, 2010). Leukosit total dalam darah menunjukkan kondisi kesehatan ikan. Ikan yang mengalami stres yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena benda asing memperlihatkan respons kenaikan jumlah sel leukosit (Hastuti dan Subandiyono, 2011).

Adapun jumlah leukosit ikan bervariasi, yaitu  $2 - 15 \times 10^4$  sel/ml. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada ikan mas (*C. carpio*) dengan berat sekitar 20 - 25 gram memiliki kandungan leukosit  $1,02 - 5,13 \times 10^4$  sel/ml (Irianto, 2005).

#### 2.4.4 Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin (Hb) adalah pigmen merah pembawa oksigen dalam sel darah merah, yang merupakan suatu protein yang kaya akan zat besi. Fungsi utama hemoglobin ini adalah transport  $O_2$  dan  $CO_2$  (Sabilu, 2010). Hb berfungsi mengikat oksigen yang kemudian akan digunakan untuk proses katabolisme sehingga dihasilkan energi. Kemampuan mengikat oksigen dalam darah tergantung pada jumlah hemoglobin yang terdapat dalam sel darah merah. Rendahnya kadar hemoglobin menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan menjadi rendah. Hal ini membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta terlihat diam di dasar atau menggantung di bawah permukaan air (Alamanda *et al.*, 2007).

Besar kecilnya jumlah hemoglobin (Hb) yang terkandung dalam eritrosit menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah. Perbedaan kadar hemoglobin tersebut terkait dengan kondisi kualitas air media pemeliharaan ikan. Ikan yang dipelihara pada air media dengan kondisi kualitas yang lebih rendah memiliki kadar hemoglobin darah yang rendah. Hal ini diduga karena ikan mengalami stress. Oleh karena itu, dengan memperbaiki kualitas air media dapat memperbaiki kondisi hematologis ikan yang dibudidayakan menjadi lebih baik (Hastuti dan Subandiyono, 2011).

Konsentrasi hemoglobin diukur berdasarkan pada intensitas warna dan dinyatakan dalam satuan gram hemoglobin/100 ml darah (gr/100 ml). Konsentrasi hemoglobin ikan mas (*C. carpio*) adalah 6,4 gr% dengan volume kapasitas oksigen sebesar 12,50 ml/dl (Moyle dan Cech, 2004).

#### 2.4.5 Hematokrit

Hematokrit merupakan gambaran presentase sel darah merah dalam darah (Hastuti dan Subandiyono, 2011). Apabila ikan terkena penyakit atau nafsu makannya menurun, maka nilai hematokrit darahnya menjadi tidak normal, jika nilai hematokrit rendah maka jumlah eritrosit pun rendah (Alamanda, *et al.*, 2007).

Hematokrit merupakan perbandingan antara plasma dengan padatan darah. Perbandingan antara keduanya dibaca dengan pembaca mikrohematokrit dalam satuan g%. Hematokrit biasa disebut "*packed cell volume*" dan ditentukan melalui mikrohematokrit. Nilai hematokrit ikan teleostei berkisar antara 20 – 30%. Nilai hematokrit *C. carpio* adalah 27,1 % (Moyle dan Cech, 2004).



### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat Penelitian

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya: Akuarium yang berukuran 30 × 30 × 30 cm dan 30 × 60 × 30 cm, timbangan, aerator, selang aerasi, batu aerasi, nampan, *heater* akuarium, termometer, jarum ose, *Haemocytometer*, mikroskop, *object glass*, *cover glass*, seser, *petri disc*, tabung reaksi, pipet tetes, *handtally counter*, pipet thoma, erlenmeyer, sahli meter, *autoclave*, lemari pendingin, *sentrifuge*, *hot plate*, bunsen, inkubator, gelas ukur, apendof, ember plastik, oven, *blower*, filter, pH meter, DO meter, dan tabung mikrohematokrit. Secara lebih jelas, Gambar alat - alat yang digunakan dalam penelitian dapat dilihat dalam lampiran 2.

##### 3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan mas (*C. carpio*) yang berukuran 12 – 17 cm, daun sambiloto (*A. paniculata*), bakteri *P. aeruginosa* kepadatan  $10^7$  sel/ml. Bahan lain yang di gunakan adalah Air, kapas, tissue, *Aluminium Foil*, kertas label, akuades, alkohol 70%, spirtus, HCl 0,1N, anti koagulan (Na-Sitrat 3,8%), parafin, spuit, larutan turk, larutan hayem, sampel darah ikan Mas (*C. carpio*), Media NB (*Nutrient Broth*), PSA (*Pseudomonas Soya Agar*).

#### 3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

##### 3.2.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan untuk penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen yaitu suatu metode yang mengadakan kegiatan percobaan secara langsung untuk mengetahui hasilnya.

Menurut Nazir (1988), metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat suatu hasil atau hubungan kasual antara variabel - variabel yang diselidiki.

Tujuan metode eksperimen ini adalah untuk menemukan hubungan sebab akibat antara variabel. Hasil yang diperoleh akan menegaskan bagaimana hubungan antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut, dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pengamatan atau observasi secara langsung.

### 3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). RAL digunakan untuk percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang seragam/homogen, sehingga RAL banyak digunakan untuk percobaan di laboratorium. Menurut Sastrosupadji (2000), model umum untuk Rancangan Acak Lengkap (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-  $j$

$\mu$  = nilai rata - rata

$\tau_i$  = pengaruh perlakuan ke-  $i$

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

$i$  = perlakuan penelitian (A,B,C,D)

$j$  = ulangan penelitian (1,2,3)

Penelitian ini menggunakan 3 perlakuan dan 1 kontrol yang masing - masing terdiri dari dari 3 kali ulangan, yaitu:

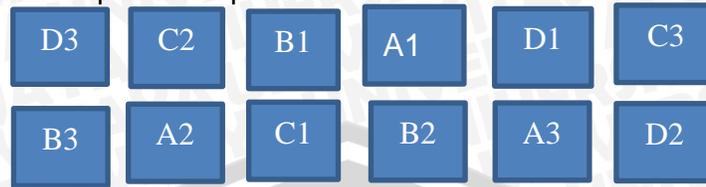
A = Tanpa pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) atau dosis 0 ppt

B = Pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) dengan dosis 4 ppt

C = Pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) dengan dosis 5 ppt

D = Pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) dengan dosis 6 ppt

Masing - masing perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali dan ditempatkan secara acak. Denah penelitian dapat dilihat pada Gambar 5:



**Gambar 5. Denah Penelitian**

Keterangan gambar: A,B,C,D = Perlakuan

1,2,3 = Ulangan

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Persiapan Wadah

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium yang berukuran 30 × 30 × 30 cm dan 30 × 60 × 30 cm. Sebelum digunakan, akuarium dicuci bersih terlebih dahulu dan diberi desinfektan (klorin) untuk membunuh bakteri yang menempel pada akuarium, lalu akuarium tersebut dikeringkan. Setelah kering, akuarium diisi air sebanyak 12 liter (Untuk akuarium kecil) dan 27 liter untuk akuarium besar, lalu diberi aerasi.

#### 3.3.2 Persiapan Ikan Uji

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan mas (*C. carpio*). Ikan dipilih dalam kondisi sehat dan yang berukuran 12 – 17 cm. Ikan yang digunakan Sejumlah ± 100 ekor dan masing - masing akuarium diisi sebanyak 6 ekor ikan mas.

#### 3.3.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sebelum digunakan, alat – alat harus disterilisasi terlebih dahulu. Tujuan sterilisasi adalah untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada alat - alat yang digunakan dalam penelitian. Sehingga ketika digunakan alat dalam keadaan higienis. Langkah - langkah untuk sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat yang akan di sterilisasi dibungkus dengan menggunakan koran lalu diikat dengan benang atau bisa juga di bungkus dengan menggunakan plastik yang tahan panas (HDPE).
- Akuades di tuang ke dalam *autoclave* sampai batas pengisian, lalu dipasang saringan di atasnya. Alat yang akan disterilisasi dimasukkan ke dalam *autoclave* dan ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara silang.
- Kompur pemanas dinyalakan, suhu dinaikkan sampai tombol hijau menyala lalu ditunggu sampai beberapa saat manometer akan menunjukkan angka 1 atm lalu dipasang *timer* 15 menit.
- Setelah 15 menit alarm akan berbunyi, lalu dimatikan *timer* serta saklar pemanas.
- Setelah tekanan menunjukkan angka 0, lalu dibuka klep secara perlahan - lahan sampai semua uap keluar. Setelah itu baru dibuka tutup *autoclave*.

### 3.3.4 Pembuatan Media Bakteri

#### a. Pembuatan Media Padat

- Melarutkan 4,84 gram media PSA dengan 100 ml akuades dalam erlenmeyer, lalu diaduk hingga rata sampai larut sempurna
- Ditambahkan 1 ml gliserol
- Dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih
- Larutan yang sudah mendidih, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Larutan yang sudah disterilisasi lalu dituang ke dalam *petri disc* steril. Pada saat penuangan media, dilakukan didekat Bunsen agar tidak terkontaminasi dengan bakteri lain. Setelah dituang larutan, tepi *petri disc* dipanaskan dengan bunsen
- Media dibiarkan sampai benar - benar padat sebelum digunakan

- Media yang tidak digunakan dapat disimpan dalam kulkas/lemari pendingin, dengan posisi tutup *petri disc* berada dibawah, untuk menghindari adanya air yang menetes pada media
- Media yang sudah disimpan dapat digunakan kembali, namun suhunya harus disesuaikan dengan suhu ruang. Karena apabila suhunya terlalu panas, justru dapat membunuh bakteri.

#### **b. Pembuatan Media Cair**

Media cair yang digunakan adalah NB. Media cair ini digunakan untuk menginfeksi ikan dengan metode perendaman. Cara pembuatan media cair adalah sebagai berikut:

- Media NB diambil dan ditimbang, untuk setiap pembuatan media NB sebanyak 1.000 ml, dibutuhkan media sebanyak 13 gram.
- Media NB dilarutkan dengan akuades dalam erlenmeyer, lalu diaduk hingga larut sempurna dan berwarna bening
- Erlenmeyer lalu ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* lalu dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih
- Media disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit
- Media yang sudah disterilisasi dapat digunakan ( $\pm 30^\circ\text{C}$ )
- Media yang tidak langsung dipakai dapat disimpan dalam kulkas

#### **3.3.5 Pemiakan Bakteri *P. aeruginosa***

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *P. aeruginosa* (hasil uji bakteri yang digunakan dapat dilihat dalam Lampiran 1). Pemiakan bakteri dapat dilakukan pada 2 media, yaitu dengan media padat dan media cair.

##### **a. Pemiakan dalam Media Padat:**

- Pada media PSA, bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya sudah dipijarkan pada bunsen

- Lalu bakteri dari biakan murni tersebut dimasukkan ke dalam akuades steril 10 ml dan dihomogenkan.
- Pada akuades yang sudah tercampur bakteri, bakteri diambil dengan menggunakan *cotton buds* steril lalu digoreskan pada media padat dalam cawan petri secara zig - zag
- Media yang sudah diinokulasi bakteri disimpan dalam inkubator selama 24 jam dalam suhu 30°C

#### b. Pemiakan pada Media Cair:

- Bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan jarum ose yang sebelumnya sudah dipijarkan pada bunsen
- Kemudian ditanamkan sebanyak 2 - 3 jarum ose ke dalam media NB dan dihomogenkan
- Media cair NB lalu dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C untuk menunggu tumbuhnya bakteri

#### 3.3.6 Penginfeksian Bakteri pada Ikan

Penginfeksian bakteri *P. aeruginosa* pada ikan mas dilakukan dengan metode perendaman (Lampiran 3). Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml selama 4 jam. Untuk memperoleh kepadatan tersebut dilakukan perhitungan dengan rumus pengenceran menurut Sastrosupadji (2000) sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times$$

dengan:

$V_1$ : Volume suspensi bakteri dalam media NB yang dibutuhkan (ml)

$V_2$ : Volume media air yang digunakan dalam penelitian (ml)

$N_1$ : Kepadatan bakteri dalam media NB (Sel/ml)

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

Setelah dilakukan perendaman selama 4 jam, ikan lalu dipindahkan ke dalam akuarium yang berukuran 30 × 60 × 30 cm yang sudah diisi air sebanyak 27 liter atau setinggi 15 cm. Masing - masing akuarium diisi ikan sebanyak 20 ekor. Setelah diinfeksi, Ikan selanjutnya dipindahkan pada akuarium yang berisi air bersih. Ditunggu sampai 1 × 24 jam sampai muncul gejala klinis.

### 3.3.7 Pembuatan Larutan Sambiloto (*A. paniculata*)

Pembuatan larutan sambiloto dimulai dari pembuatan serbuk sambiloto. Daun yang digunakan adalah daun yang tidak terlalu muda. Daun yang akan digunakan dicuci bersih lalu dikering - anginkan. Setelah itu, daun sambiloto bisa dipanaskan dengan oven (suhu 60 °C selama 120 menit) atau dengan panas matahari selama 2 – 3 hari. Setelah kering, daun sambiloto bisa dihaluskan dengan menggunakan blender maupun ditumbuk sampai halus. Serbuk sambiloto tersebut siap digunakan dengan cara melarutkan pada akuades sesuai dengan dosis yang dibutuhkan.

Pengobatan dilakukan dengan cara merendam ikan yang sudah terinfeksi bakteri dengan menggunakan akuarium kecil (ukuran 30 × 30 × 30 cm) yang diisi air sebanyak 13,5 liter atau setinggi 15 cm. Tiap akuarium diisi ikan sebanyak 5 ekor dan direndam selama 30 menit. Baru selanjutnya ikan dipindah pada akuarium pemeliharaan.

Berdasarkan penelitian pendahuluan diketahui bahwa sambiloto dapat membunuh ikan pada dosis 7 ppt, dimana pada konsentrasi tersebut dapat menyebabkan kematian pada ikan hanya dalam waktu 35 menit.

### 3.3.8 Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan darah pada ikan (Lampiran 3), dilakukan pada ikan yang sehat (sebelum perlakuan), dan ikan setelah perlakuan. Pengambilan darah dilakukan melalui *vena caudalis* dengan menggunakan *syringe* yang telah diberi dengan *Nasitrat* sebagai antikoagulan untuk mencegah pembekuan darah. Darah diambil pada

bagian *vena caudalis* yaitu pembuluh darah yang terletak tepat dibagian ventral tulang *vertebrae* (tulang punggung). Lalu jarum ditarik sedikit kemudian darah dihisap/ditarik perlahan - lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Pastikan tidak ada gelembung udara yang masuk kedalam spuit tersebut. Setelah itu spuit dicabut, kemudian darah yang telah diambil kemudian ditampung dalam tube (Bijanti, 2005).

Selanjutnya dari sampel darah tersebut dapat dilakukan pengamatan dan perhitungan nilai hematokrit, kadar hemoglobin, sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit).

### 3.3.9 Pengamatan Hematologi

#### a. Pengamatan dan perhitungan sel darah merah (Eritrosit)

Darah yang sudah bercampur anti koagulan diambil dengan menggunakan pipet Thoma eritrosit sampai skala 0,5. Lalu tambahkan larutan hayem (berfungsi untuk mematikan sel - sel darah putih) sampai skala 101 (200 kali pengenceran), dikocok selama 3 – 5 menit sehingga darah tercampur rata. Setelah itu empat tetesan pertama larutan darah dalam pipet dibuang, selanjutnya teteskan pada *haemocytometer* kemudian ditutup dengan gelas penutup. Jumlah sel darah merah dapat diamati dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Perhitungan darah difokuskan pada 5 kamar hitung (kotak kecil) pada *haemocytometer* tersebut dan dihitung dengan *handtally counter*. Menurut Bijanti (2005), perhitungan eritrosit dapat dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah Eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = N \times \frac{1}{5 \text{ Area} \times \frac{1}{250} \text{ (Volume Pipet)}} \times \text{Faktor Pengencer}$$

#### b. Pengamatan dan perhitungan sel darah putih (Leukosit)

Darah yang sudah bercampur antikoagulan diambil dengan menggunakan pipet thoma leukosit sebanyak 0,5 kemudian dincerkan dengan larutan turks hingga skala 11 (diencerkan 20 kali), kemudian pipet thoma leukosit digoyang - goyangkan sampai darah dan larutan turks tercampur rata. Setelah itu, empat tetesan pertama

larutan darah dalam pipet dibuang, dan tetesan selanjutnya baru diteteskan pada *haemocytometer*. Hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan kelima, darah dan larutan truks telah tercampur sehingga memudahkan pada saat perhitungan sel darah putih pada mikroskop. *Haemocytometer* kemudian ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*). Jumlah sel darah putih diamati dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Darah dihitung pada 4 kotak besar (4 kamar hitung) dan dihitung dengan menggunakan *hand tally counter* (Bijanti, 2005). Jumlah eritrosit dihitung dengan rumus:

$$\text{Jumlah Leukosit} = N \times \frac{1}{4 \text{ area} \times 0,1 \text{ (volume pipet)}} \times \text{Pengenceran}$$

### c. Penetapan Kadar Hemoglobin (Hb)

Konsentrasi hemoglobin darah diukur dengan menggunakan metode Sahli. Metode ini didasarkan atas terbentuknya asam hematin (hemoglobin darah dirombak menjadi asam hematin oleh asam klorida 0,1 N) dengan satuan pengukuran dalam % (Alifuddin,1993). Tabung Sahli diisi dengan larutan HCl 0,1 N sampai skala 2 g% yang terdapat pada tabung haemometer. Darah dihisap dengan pipet Sahli sampai skala 20 mm. Darah kemudian dipindahkan ke dalam tabung sahli yang telah diisi dengan larutan HCl 0,1 N. Kedua bahan di homogenkan dan didiamkan sebentar agar terbentuk asam hematin (berwarna kuning kecokelatan). Kemudian ditambahkan akuades sehingga warna sampel sama dengan warna standar pada tabung Sahli. Pembacaan dilakukan dengan melihat cairan dan warna dicocokkan dengan warna pada skala tabung Sahli yang dilihat pada lajur g% yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah (Aliffudin,1993).

### d. Penetapan nilai hematokrit (PCV)

Hematokrit merupakan perbandingan antara plasma dengan padatan darah, perbandingan diantara keduanya dibaca dengan pembaca mikrohematokrit dalam satuan % (Alifuddin 1993). Nilai hematokrit diperoleh dengan cara mengambil darah

sampai  $\frac{3}{4}$  pipa kapiler yang telah dilapisi dengan antikoagulan, setelah itu ditutup bagian ujung pipa kapiler dengan menggunakan parafin. Tabung yang berisi darah tersebut kemudian disentrifugasi selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm, setelah itu hasil dapat dibaca dengan menggunakan mikrohematokrit (Bijanti, 2005).

### 3.4 Parameter Uji

#### 3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah pada ikan mas (*C. carpio*), yang meliputi:

- Sel darah merah (Eritrosit)
- Sel darah putih (Leukosit)
- Hemoglobin (Hb)
- Hematokrit

#### 3.4.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah pengamatan terhadap gejala patologi klinis dan pengamatan kualitas air yang digunakan sebagai media tempat hidup ikan, meliputi pengamatan suhu, pH dan DO (Oksigen Terlarut).

### 3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian, akan dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman sesuai dengan rancangan yang digunakan, yaitu RAL. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur dilakukan Analisis Sidik Ragam (Uji F). Apabila dari sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh beda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) ( $F_{\text{Hitung}} > F_{\text{Tabel}}$ ), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

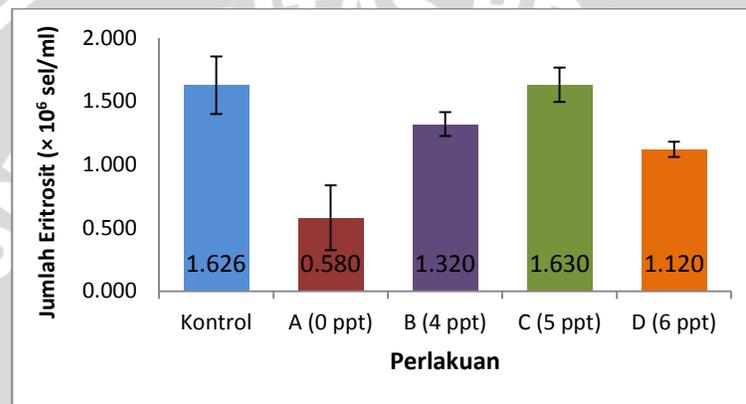
## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Analisis Hematologi

#### 4.1.1 Sel Darah Merah (Eritrosit) Ikan Mas (*C. carpio*)

Fungsi utama sel darah merah adalah untuk mengangkut hemoglobin yang berperan membawa oksigen dari insang atau paru - paru ke jaringan (Fujaya, 2007).

Nilai eritrosit ikan mas normal dan sesudah perlakuan dapat dilihat dalam Gambar 6:



**Gambar 6. Hasil Pengamatan Jumlah Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Gambar 6 di atas menunjukkan bahwa jumlah eritrosit ikan mas normal adalah  $1,626 \times 10^6$  sel/ml, sedangkan setelah diinfeksi dan diberi sambiloto nilainya lebih beragam. Pada perlakuan A (dosis 0 ppt) nilainya sangat rendah ( $0,580 \times 10^6$  sel/ml) jika dibandingkan dengan ikan normal ( $1,626 \times 10^6$  sel/ml). Hal tersebut dikarenakan bahwa pada perlakuan A ikan masih dalam keadaan sakit, karena hanya diinfeksi bakteri tanpa diberi sambiloto (*A. paniculata*). Sedangkan, pada perlakuan B, C, dan D yang diberi sambiloto dengan dosis yang berbeda menunjukkan perbedaan jumlah eritrosit. Dimana jumlah eritrosit paling tinggi adalah pada perlakuan C dengan jumlah eritrosit  $1,630 \times 10^6$  sel/ml. Nilai tersebut mendekati jumlah eritrosit pada ikan normal (kontrol). Untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) terhadap nilai eritrosit ikan uji, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	1,77	0,5897	77,0879**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,06	0,0076			
3. Total	11	1,83				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 1) dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F1% ( $77,0879 > 7,59$ ), sehingga perlakuan pada ikan uji tersebut memberikan pengaruh yang sangat berbeda sangat nyata terhadap jumlah eritrosit ikan mas (*C. carpio*). Berdasarkan hasil tersebut, selanjutnya dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Uji BNT Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Rata-rata Perlakuan	A = 0,58	D = 1,12	B = 1,32	C = 1,63	Notasi
A = 0,58	-	-	-	-	a
D = 1,12	0,54**	-	-	-	b
B = 1,32	0,74**	0,2 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 1,63	1,05**	0,51**	0,31**	-	c

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata  
ns = tidak berbeda nyata

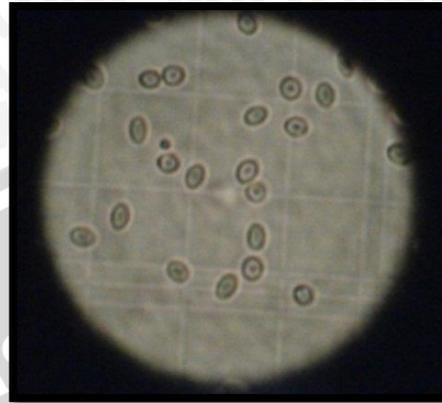
Hasil perhitungan BNT pada Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah eritrosit ikan uji. Perlakuan C memiliki pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A, B dan D. Perlakuan A mempunyai pengaruh yang berbeda nyata terhadap perlakuan B dan D. Sedangkan, perlakuan B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D. Hal tersebut diduga pemberian sambiloto pada perlakuan B (4 ppt) belum optimum untuk penyembuhan ikan, sedangkan pada perlakuan D (6 ppt) dosisnya yang terlalu tinggi sehingga bisa menjadi racun bagi ikan. Hal ini menyebabkan perubahan karakteristik darah tidak terlalu signifikan, sehingga tidak ada perubahan nilai eritrosit yang terlalu mencolok.

Peningkatan konsentrasi larutan sambiloto tidak diimbangi dengan peningkatan jumlah eritrositnya. Hal ini diduga karena adanya zat saponin yang terkandung dalam larutan sambiloto. Saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang dapat menyebabkan hemolysis eritrosit dan dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ikan. Saponin masuk ke dalam peredaran darah melalui insang, ketika mengambil oksigen dari air, saponin masuk ke dalam tubuh dan mengikat hemoglobin sehingga menyebabkan ikan kekurangan darah dan dapat menyebabkan kematian (Lukistyowati, 2011).

Menurunnya nilai eritrosit pada perlakuan A hal ini diduga ikan mengalami stres karena infeksi dari bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Irianto (2005), bahwa eritrosit jumlahnya bervariasi tergantung spesies, kondisi stress, suhu dan lingkungan. Pada perlakuan B dan D nilai eritrositnya rendah namun mendekati kisaran eritrosit pada ikan normal. Nilai perlakuan C ( $1,630 \times 10^6$  sel/ml) adalah perlakuan dengan jumlah eritrosit paling tinggi. Nilai eritrosit pada perlakuan C sudah menunjukkan bahwa ikan uji sudah dalam keadaan normal, hal ini sesuai dengan pernyataan Irianto (2005), bahwa jumlah eritrosit pada ikan mas (*C. carpio*) berkisar  $1,43 - 1,6 \times 10^6$  sel/ml. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa dosis terbaik yang diperoleh adalah 5 ppt (perlakuan C). Sambiloto mengandung senyawa bioaktif yang berkhasiat, diantaranya bersifat sebagai antibakteri (bakteriostatik) sehingga dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri patogen (Arbianti *et al.*, 2008). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian larutan sambiloto (*A. paniculata*) dapat menekan aktivitas bakteri, sehingga jumlah sel darah merah tidak menurun drastis.

Berdasarkan pengamatan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa eritrosit ikan mas (*C. carpio*) (Gambar 7) berbentuk bulat agak lonjong, dan terdapat titik ditengahnya yaitu inti sel. Sel darah merah (eritrosit) ikan mempunyai inti, umumnya

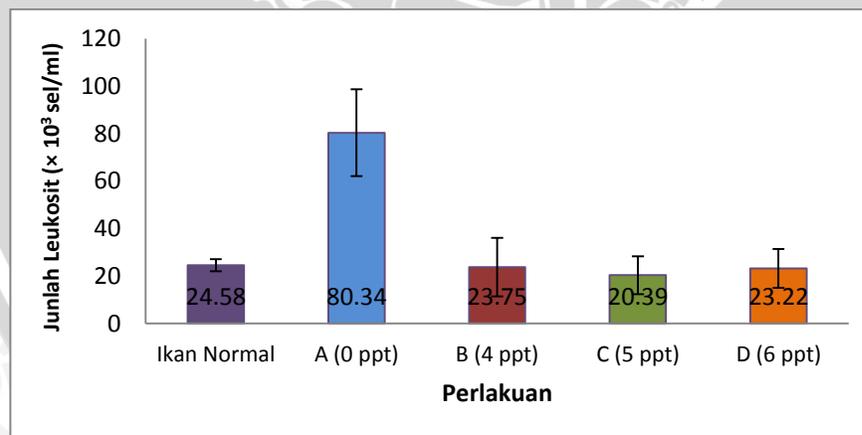
berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak ditengah dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan.



**Gambar 7. Hasil Pengamatan Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

#### 4.1.2 Sel Darah Putih (Leukosit) Ikan Mas (*C. carpio*)

Leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Menurut Fujaya (2007), sel darah putih berfungsi menjaga tubuh dari organisme patogen. Nilai leukosit ikan mas normal dan sesudah perlakuan dapat dilihat dalam Gambar 6:



**Gambar 8. Hasil Pengamatan Jumlah Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Gambar 8 di atas menunjukkan adanya perbedaan jumlah leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) normal dan sesudah perlakuan. Gambar 8 tersebut menunjukkan perbedaan jumlah leukosit dalam setiap perlakuan. Pada perlakuan A (dosis 0 ppt), nilainya sangat tinggi ( $80,34 \times 10^3$  sel/ml) jika dibandingkan dengan perlakuan

lainnya. Hal ini dikarenakan pada perlakuan A ikan hanya diinfeksi bakteri saja tanpa pengobatan. Sedangkan pada perlakuan B, C dan D jumlah leukosit mengalami penurunan, hal ini karena ikan uji diobati menggunakan sambiloto.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) terhadap jumlah leukosit, maka dilakukan uji sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Sidik Ragam Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	7558,37	2519,46	98,611**	4,07	7,59
2. Acak	8	204,39	25,5494			
3. Total	11	7762,76				

Keterangan: \*\*= berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 3) di atas dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F1% ( $98,611 > 7,59$ ), sehingga perlakuan pada ikan uji tersebut memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap jumlah leukosit ikan mas (*C. carpio*). Sehingga, perlu dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT disajikan dalam Tabel 4.

**Tabel 4. Uji BNT Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	C = 20,39	D = 23,22	B = 23,75	A = 80,34	Notasi
C = 20,39	-	-	-	-	a
D = 23,22	2,38 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
B = 23,75	3,39 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>	-	-	a
A = 80,34	59,95**	57,12**	56,59**	-	b

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata  
ns = tidak berbeda nyata

Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa tiap perlakuan berbeda nyata terhadap perlakuan lain. Hal tersebut ditunjukkan dari notasi yang berbeda pada Tabel BNT. Perlakuan B dan D tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C. Perlakuan B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D. Perlakuan A mempunyai pengaruh yang

sangat berbeda nyata terhadap perlakuan B, C dan D. Hal ini dikarenakan pada perlakuan A, nilai leukositnya sangat tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Sehingga memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap perubahan nilai leukosit dalam ikan uji. Tingginya jumlah leukosit ini karena adanya infeksi dari bakteri pada perlakuan A. Leukosit membantu menjaga tubuh dari benda asing yang masuk kedalam tubuh, termasuk serangan patogen melalui sistem tanggap kebal. Sehingga, ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi (Mahasri *et al.*, 2011).

Pada data pengamatan harian (Lampiran 4) dapat diketahui bahwa untuk pengamatan tiap hari *pasca* perlakuan, yaitu pada perlakuan B, C dan D masing - masing cenderung mengalami penurunan jumlah leukosit. Semakin menurunnya nilai leukosit menunjukkan ikan dalam keadaan normal. Pengamatan leukosit dapat menjelaskan secara umum sistem imun dan status kesehatan ikan. Dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian larutan sambilanoto (*A. paniculata*) mampu menyembuhkan ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri sehingga sel darah putih (leukosit) tidak naik secara drastis.

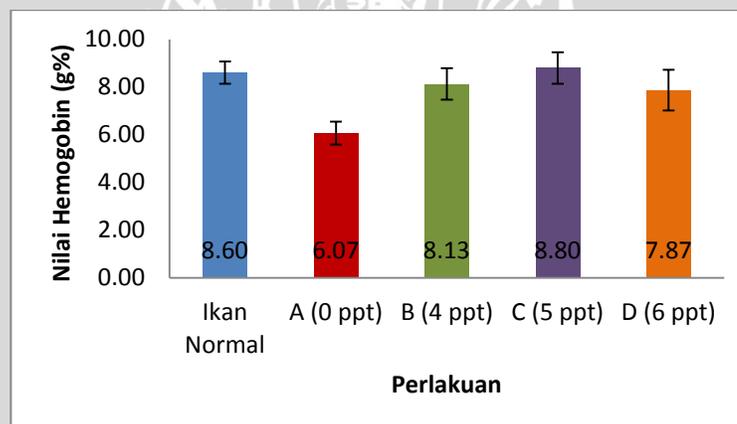
Dosis yang memberikan hasil paling baik adalah 5 ppt (perlakuan C), karena mempunyai nilai leukosit yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Berdasarkan gambar 8 dapat pula diketahui bahwa dengan dosis sambilanoto 0 ppt (perlakuan A), nilai leukositnya sangat tinggi. Hal ini dikarenakan ikan tersebut terinfeksi bakteri tanpa diberi pengobatan. Peningkatan jumlah sel darah putih ini merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Naiknya jumlah leukosit merupakan indikator adanya infeksi (Suhermanto *et al.*, 2011).

Menurut Irianto (2005), adapun jumlah leukosit ikan bervariasi, yaitu  $2 - 15 \times 10^4$  sel/ml, bahkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada ikan mas (*C.*

*carpio*) memiliki kandungan leukosit  $1,02 - 5,13 \times 10^4$  sel/ml. Ketika ada benda asing yang masuk kedalam tubuh, maka leukosit membentuk pertahanan diri dengan memperbanyak jaringannya. Peningkatan jumlah leukosit menunjukkan adanya respon perlawanan tubuh terhadap agen penyebab penyakit. Peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan tanda adanya parasit dan stres (Mahasri *et al.*, 2011).

#### 4.1.3 Hemoglobin (Hb) Ikan Mas (*C. carpio*)

Penentuan kadar hematokrit dan hemoglobin dalam cairan darah berguna untuk melihat kesehatan ikan (Maswan, 2009). Menurut Fujaya (2007), ada korelasi kuat antara hematokrit dan jumlah hemoglobin darah, semakin rendah jumlah sel - sel darah merah, maka semakin rendah pula kandungan hemoglobin dalam darah. Jumlah hemoglobin ikan secara lengkap dapat dilihat dalam Gambar 9.



**Gambar 9. Hasil Pengamatan Nilai Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)**

Gambar 9 di atas menunjukkan jumlah hemoglobin ikan mas (*C. carpio*) setelah perlakuan masih lebih rendah dibandingkan ikan normal yaitu pada perlakuan A (6,07 g%), B (8,13 g%) dan D (7,87 g%). Nilai hemoglobin setelah perlakuan tertinggi diperoleh pada perlakuan C, yaitu 8,80 g%. Nilai tersebut sedikit lebih tinggi dibandingkan nilai hemoglobin pada ikan kontrol (8,6 g%). Nilai hemoglobin paling rendah adalah pada perlakuan A (0 ppt), yakni 6 g%. Perlakuan A menunjukkan ikan masih dalam keadaan sakit. Hal ini karena pada perlakuan A, ikan hanya diinfeksi bakteri tanpa diberi pengobatan menggunakan sambilanoto.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) terhadap nilai hemoglobin ikan uji, maka dilakukan uji sidik ragam yang disajikan dalam Tabel 5.

**Tabel 5. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)**

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	12,28	4,0922	12,4007**	4,07	7,59
2. Acak	8	2,64	0,33			
3. Total	11	14,92				

Keterangan: \*\* = Berbeda Sangat Nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 8) di atas dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar daripada nilai F1% ( $12,4007 > 7,59$ ), sehingga perlakuan pada ikan uji tersebut memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah hemoglobin ikan mas (*C. carpio*). Oleh karena itu, perlu dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT disajikan dalam Tabel 6.

**Tabel 6. Uji BNT Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	A = 6,07	D = 7,87	B = 8,13	C = 8,80	Notasi
A = 6,07	-	-	-	-	a
D = 7,87	1,80**	-	-	-	b
B = 8,13	2,06**	0,26 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 8,80	2,73**	0,93 <sup>ns</sup>	0,67 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata  
ns = tidak berbeda nyata

Tabel 6 di atas menunjukkan bahwa tiap perlakuan berbeda terhadap perlakuan lain. Hal tersebut ditunjukkan dari notasi yang berbeda pada Tabel BNT. Tabel BNT di atas menunjukkan perlakuan A mempunyai pengaruh yang sangat berbeda nyata terhadap perlakuan B, C, dan D. Perlakuan B tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C. Perlakuan D tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B dan C. Ini disebabkan karena tidak ada perubahan nilai hemoglobin yang terlalu drastis. Hal ini diduga pemberian sambiloto pada perlakuan B (5 ppt) belum optimum untuk

penyembuhan ikan, sedangkan pada perlakuan D (6 ppt) dosisnya yang terlalu tinggi sehingga bisa menjadi racun bagi ikan. Hal ini menyebabkan perubahan karakteristik darah tidak terlalu signifikan, sehingga tidak ada perubahan nilai hemoglobin tidak terlalu mencolok.

Peningkatan konsentrasi larutan pada sambilan tidak diimbangi dengan peningkatan jumlah hemoglobin. Hal ini diduga karena adanya zat saponin yang terkandung dalam larutan sambilan. Saponin merupakan golongan senyawa glikosida yang dapat menyebabkan *hemolysis* dan dapat bersifat racun pada hewan akuatik/ikan. Saponin masuk ke dalam peredaran darah melalui insang, ketika mengambil oksigen dari air, saponin masuk ke dalam tubuh dan mengikat hemoglobin sehingga menyebabkan ikan kekurangan darah dan dapat menyebabkan kematian (Lukistyowati, 2011).

Berdasarkan data yang diperoleh dapat diketahui bahwa perlakuan terbaik adalah pada perlakuan C (Dosis 5 ppt), dimana pada perlakuan tersebut nilai hemoglobinnya lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Sedangkan pada perlakuan A nilai nya sangat rendah, kurang dari konsentrasi minimal hemoglobin ikan mas (*C. carpio*) menurut Moyle dan Cech (2004), yaitu 6,40 g%. Menurunnya nilai hemoglobin dapat disebabkan oleh rendahnya sel darah merah dalam tubuh ikan (Fujaya, 2007). Besar kecilnya jumlah hemoglobin yang terkandung dalam eritrosit menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah (Hastuti dan Subandiyono, 2011).

Hemoglobin berperan mengangkut oksigen dari insang ke jaringan tubuh (Sukenda *et al.*, 2008). Oksigen tersebut dibutuhkan untuk proses metabolisme. Ikan yang sehat memiliki kandungan hemoglobin yang lebih tinggi dibandingkan ikan yang sakit, sehingga ikan yang dalam keadaan normal memiliki kemampuan untuk mengikat oksigen yang lebih besar dibandingkan dengan ikan yang sakit. Oksigen

yang diikat tersebut dibutuhkan untuk melaksanakan proses metabolisme untuk menghasilkan energi. Oleh karena itu, ikan yang sehat cenderung lebih aktif bergerak dibandingkan ikan yang sakit.

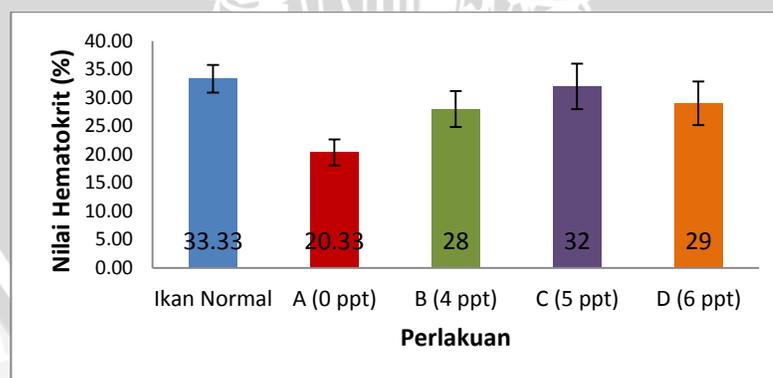
Tinggi rendahnya nilai Hb dapat dilihat dengan mencocokkan warna darah pada tabung sahli yang diencerkan dengan akuades dengan warna standart yang ada dalam tabung haemometer (Gambar 10).



**Gambar 10. Hasil Pengukuran Kadar Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)**

#### 4.1.4 Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)

Hematokrit merupakan gambaran presentase eritrosi dalam darah (Hastuti dan Subandiyono, 2011). Hematokrit dibaca dengan mikrohematokrit dan dinyatakan dalam persen (%). Gambar 11 berikut adalah nilai hematokrit ikan mas.



**Gambar 11. Hasil Pengamatan Nilai Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Berdasarkan Gambar 11 di atas dapat diketahui bahwa pada ikan normal nilai hematokritnya 33,33%. Setelah perlakuan, nilai hematokrit terendah terdapat pada perlakuan A (20,33 %), yaitu dengan dosis sambiloto 0 ppt. Nilai hematokrit yang

paling mendekati nilai pada ikan normal adalah pada perlakuan C (dosis 5 ppt), dimana nilai tersebut adalah 32%.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian sambiloto (*A. paniculata*) terhadap nilai hematokrit pada ikan uji, maka dilakukan perhitungan menggunakan analisis sidik ragam. Hasil perhitungan sidik ragam dapat dilihat dalam Tabel 7.

**Tabel 7. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	222,00	74,00	13,875**	4,07	7,59
2. Acak	8	42,67	5,33			
3. Total	11	264,67				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil sidik ragam (Tabel 11) dapat diketahui bahwa nilai F hitung lebih besar dari nilai F1% ( $13,875 > 7,59$ ), sehingga perlakuan pada ikan uji tersebut memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata terhadap jumlah hematokrit ikan mas (*C. carpio*), sehingga perlu dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil). Hasil perhitungan uji BNT disajikan dalam Tabel 8 sebagai berikut:

**Tabel 8. Uji BNT Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	A = 20,33	B = 28	D = 29	C = 32	Notasi
A = 20,33	-	-	-	-	a
B = 28,00	7,67**	-	-	-	b
D = 29,00	8,67**	1 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 32,00	11,67**	4 <sup>ns</sup>	3 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata, ns = tidak berbeda nyata

Tabel 8 di atas menunjukkan bahwa tiap perlakuan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan lain. Hal tersebut ditunjukkan dari notasi yang berbeda pada Tabel BNT. Dari uji BNT tersebut dapat diketahui bahwa perlakuan A berbeda nyata terhadap perlakuan B, C dan D. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan A ikan terinfeksi bakteri sehingga terjadi perubahan karakteristik dalam darahnya, sehingga

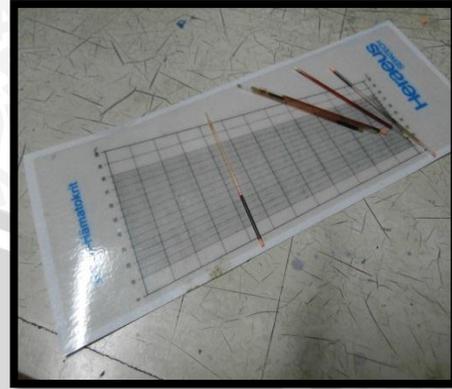
nilai hematokritnya rendah. Ikan yang sakit nilai hematokritnya rendah, karena fungsinya digantikan oleh leukosit untuk melawan patogen dalam tubuh ikan (Bijanti, 2005). Perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan D. Hal ini diduga karena tidak ada perubahan nilai hematokrit yang terlalu signifikan. Hal tersebut bisa disebabkan pemberian sambiloto pada perlakuan B (4 ppt) belum optimum untuk penyembuhan ikan, sedangkan pada perlakuan D (6 ppt) dosisnya yang terlalu tinggi sehingga bisa menjadi racun bagi ikan, sehingga tidak mempengaruhi nilai hematokritnya.

Berdasarkan data di atas, dapat diketahui bahwa perlakuan paling baik adalah pada perlakuan C. Perlakuan C (dosis 5 ppt), menunjukkan nilai yang paling mendekati kisaran normal (27,16%), sesuai dengan pernyataan Moyle dan Cech (2004), nilai hematokrit *C. carpio* adalah 27,1%. Apabila ikan terkena penyakit atau nafsu makannya menurun, maka nilai hematokrit darahnya menjadi tidak normal. Jika nilai hematokrit rendah maka jumlah eritrosit pun rendah (Alamanda *et al.*, 2007). Seiring meningkatnya jumlah eritrosit maka nilai hematokrit ikut meningkat pula. Terjadinya penurunan nilai hematokrit setelah pasca infeksi, disebabkan karena infeksi bakteri yang mampu melisis sel darah merah (Sukenda *et al.*, 2008).

Kadar hematokrit adalah persentase volume sel darah merah dalam darah yang diperoleh dari sampel darah total yang ada di tabung kapiler. Pengukuran hematokrit ini merupakan presentase eritrosit dalam darah lengkap setelah spesimen darah disentrifugasi (Sabilu, 2010). Sentrifugasi dilakukan dengan memasukkan pipa kapiler yang sudah berisi sampel darah kedalam *haemofuge* (Gambar 12a) selama 4 menit dengan kecepatan 12.000 rpm. Pengukuran kadar hematokrit dapat dilakukan dengan mencocokkan pada tabel mikrohematokrit (Gambar 12b).



(a)



(b)

Gambar 12. Hasil Pengamatan Kadar Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)

#### 4.2 Gejala Patologi Klinis Ikan Mas (*C. carpio*)

Penginfeksian bakteri pada penelitian ini dilakukan dengan cara perendaman. Perendaman dengan bakteri dilakukan selama 4 jam. Setelah  $1 \times 24$  jam muncul gejala, baru direndam dengan larutan sambilanoto selama 30 menit. Ikan dipelihara dalam akuarium selama 7 hari. Selama pemeliharaan, ikan yang telah diinfeksi dengan bakteri *P. aeruginosa* akan tampak gejala patologi klinis seperti bercak - bercak hitam (Gambar 13), yang muncul pada kulit, pada bagian anal akan berwarna merah kekuningan dan bengkak, produksi lendir yang berlebih, gerakan yang tidak stabil, serta ikan yang lebih sering berenang dipermukaan akuarium untuk mengambil oksigen. Menurut Kordi (2004), penyebab ikan sering terlihat dipermukaan adalah karena kerusakan insang akibat terinfeksi bakteri.



Gambar 13. Ikan Mas (*C. carpio*) yang Terinfeksi Bakteri

Gejala klinis tersebut sesuai dengan pernyataan Kordi (2004), penyakit yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* memperlihatkan gejala: ikan terlihat lemah, nafsu makan hilang, kulit yang melepuh kemudian menjadi borok. Daelami (2001), mengatakan bahwa ciri infeksi bakteri *pseudomonas* adalah luka pada kulit, yang selanjutnya menjadi borok.

Gejala klinis seperti Gambar 13 di atas (ditunjukkan tanda panah merah) akan mulai tampak pada hari kedua setelah penginfeksi. Menurut Daelami (2001), tanda-tanda umum ikan yang sakit dapat dilihat dari tingkah laku yang menyimpang, abnormalitas organ tubuh (warna tubuh, dan kelainan bentuk bagian tubuh). Pada hari ke-3 masa pemeliharaan, beberapa ikan pada akuarium A mengalami kematian.

#### 4.3 Kualitas Air

Kualitas air merupakan hal yang penting dalam kegiatan budidaya. Hal ini dikarenakan air merupakan tempat hidup biota tersebut dan dapat mempengaruhi kelangsungan hidup organisme didalamnya. Didalam budidaya ikan, kualitas air merupakan salah satu kunci keberhasilan budidaya ikan. Ada beberapa parameter kualitas air yang diamati untuk menentukan kualitas suatu perairan, diantaranya adalah suhu, pH dan oksigen terlarut.

Selama masa pemeliharaan ikan, nilai suhu berkisar antara 25 - 26,2 °C. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena menurut Amri dan Khairuman (2002), kisaran suhu yang optimal untuk ikan mas adalah 25 – 30 °C. Ikan dapat mengalami stres jika suhu diluar kisaran yang dapat ditoleransi oleh tubuh ikan. Suhu yang tinggi dapat menyebabkan gangguan kesehatan jangka panjang, misalnya stres dan tubuh yang lemah dan tingkah laku abnormal (Taukhid *et al.*, 2010).

Oksigen diperlukan ikan untuk katabolisme yang menghasilkan energi bagi aktivitas seperti berenang, reproduksi dan pertumbuhan (Taukhid *et al.*, 2010).

Selama masa pemeliharaan, nilai oksigen terlarut adalah 5,3 - 6,7 ppm. Hal tersebut

sesuai dengan pernyataan Daelami (2001), bahwa kandungan oksigen terlarut harus dapat dipertahankan lebih dari 5 mg/l, bila kandungan oksigen sebesar 3 atau 4mg/l dalam jangka waktu yang lama dapat menghentikan makan dan pertumbuhan ikan. Pengaruh lainnya adalah menurunnya kesehatan ikan, sehingga ikan mudah terinfeksi penyakit.



**Gambar 14. Sampel untuk Pengukuran Kualitas Air**

Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (Kordi, 2004). Untuk nilai derajat keasaman atau pH selama pemeliharaan adalah 7,5 - 8,2, dengan nilai pH rata - rata 7,9. Nilai ini masih menunjukkan kisaran yang normal, sesuai dengan pernyataan Amri dan Khairuman (2002), bahwa nilai pH untuk pemeliharaan ikan mas adalah 6,5 - 8,5. Kualitas air selama masa pemeliharaan masih menunjukkan kisaran yang normal dan memenuhi syarat dalam pemeliharaan ikan mas.

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Larutan sambiloto (*A. paniculata*) mampu menyembuhkan ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *p. aeruginosa*
- Larutan sambiloto (*A. paniculata*) berpengaruh terhadap hematologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *p. aeruginosa* dengan dosis terbaik adalah pada perlakuan C (dosis 5 ppt)

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disarankan untuk pengobatan ikan mas yang terinfeksi bakteri *P. aeruginosa* dapat menggunakan larutan daun Sambiloto (*A. paniculata*) dengan dosis 5 ppt.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh penggunaan larutan daun sambiloto (*A. paniculata*) untuk pengobatan pada jenis ikan dan bakteri yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alamanda, I.E., N.S. Handajani, dan A. Budiharjo. 2007. Penggunaan metode hematologi dan pengamatan endoparasit darah untuk penetapan kesehatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di kolam budidaya desa Mangkubumen Boyolali. *Biodiversitas* **8**(1): 34-38.
- Alex, S. 2005. Budidaya Ikan Koi, Ikan Eksotis yang Menguntungkan. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 205 hlm.
- Alifuddin M. 1993. Diagnosa Penyakit Ikan (Cara Pemeriksaan Penyakit Ikan). Bogor: Fakultas Perikanan IPB. 128 hlm.
- Amri, K dan khairuman. 2002. Menanggulangi Penyakit pada Ikan Mas dan Koi. Agromedia Pustaka. Jakarta. 62 hlm.
- Arbianti, R., T. S. Utami, H. Hermansyah dan A. Widyasari. 2008. Ekstaksi daun sambiloto dengan metode sonikasi dan pengaruhnya pada kenaikan indeks bias dan daya hambat pertumbuhan bakteri *S. aerus*. *Teknologi Proses* **7**(2):161-166.
- Ariyanto, D., dan Subagyo. 2004. Variabilitas genetik dan evaluasi heterosis pada persilangan antar galur dalam spesies ikan mas. *Zuriat* **15**(2): 1-7.
- Astuti, T dan M. Izzati. 2010. Pengaruh perendaman perasan daun mimba (*Azadirachta indica*), mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap keawetan tahu. *Jurnal Biodiversitas* **3**(1): 12-19.
- Bijanti, R. 2005. Hematologi Ikan: Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan. Bagian Ilmu Kedokteran Hewan Verteriner, Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga Surabaya. 131 hlm.
- Buckle, A. K., Lubis Z. 2007. Rancidity and lipid oxidation of dried-salted sardines. *International Journal of Food Science and Technology* **25**(3): 295-303.
- Cendranata, M. Djamhari, dan A. Endah. 2010. Daya hambat ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap populasi bakteri pada ulser *Recurrent Aphthous Stomatitis*. *Jurnal PDGI* **59**(2): 75-79.
- Choirul. 2008. Budidaya Ikan Mas (*Cyprinus Carpio linn*) Secara Intensif. <http://www.//118.98.213.22//aridata-web/ /ikan-mas.htm>. Diakses pada 28 Mei 2013.
- Daelami, D.A.S. 2001. Agar Ikan Sehat. Jakarta: Penebar Swadaya. 80 hlm.
- Dalimartha, S. 1999. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 1. Trubus Agriwidya. Jakarta. 170 hlm
- Dwidjoseputro, D. 1998. Dasar - Dasar Mikrobiologi. Djembatan. Malang. 215 hlm.

- Eismaputeri, M. Kartika., K. Khotimah, R. Hasyimi, dan A. F. Hasan. 2010. *Efektivitas daun sambiloto (Andrographis paniculata Nees) sebagai pengendalian Aeromonas hydrophila pada ikan patin (Pangasius pangasius)*. Universitas Airlangga: Surabaya. *Tidak dipublikasikan*. 15 hlm.
- FAO, Fishery Statistics. 2002. *Cyprinus carpio*. <http://www.fao.org/docrep>. Diakses pada 28 Juni 2013.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjutan*. IPB: Bogor. 82 hlm.
- Fujaya, Y. 2007. *Fisiologi Ikan*. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Hastuti, S dan Subandiyono. 2011. Performa hematologis ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan kualitas air media pada sistim budidaya dengan penerapan Kolam biofiltrasi. *Sarintek Perikanan* **6**(2): 1-5.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Kartolani, A.2012. *Gurahnya Laba Bisnis Ikan Konsumsi*. Araska. Yogyakarta. 144 hlm.
- Khairuman, D. Suhenda, dan B.Gunadi. 2008. *Budidaya Ikan Mas Secara Intensif*. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm.
- Kordi, K.M.G.H. 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Rineka Cipta. Jakarta. 190 hlm.
- Lukistyowaty, I. 2012. Studi efektifitas sambiloto (*Andrographis Paniculata*) untuk mencegah penyakit *Edwardsiellosis* pada ikan patin (*Pangasius Hypoptalamus*). *Jurnal Berkala Perikanan Terubuk*. **40**(2): 56–74
- Mahasri, G., P. Widyastuti dan L. Sulmartiwi. 2011. Gambaran leukosit darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfestasi *Ichthyophthirius multifiliis* pada derajat infestasi yangb dengan metode kohabitasi. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* **3**(1): 91-96
- Maswan, N.A. 2009. *Pengujian efektifitas dosis vaksin DNA dan korelasinya terhadap parameter hematologi secara kuantitatif*. Institut Pertanian Bogor.Skripsi. *Tidak dipublikasikan*. 70 hlm.
- Mayasari, E. 2005. *Pseudomonas aeruginosa, Karakteristik, Infeksi dan Penanganan*. Medan: Universitas Sumatera Utara. *Tidak dipublikasikan*. 32 hlm.
- Mones, R. A. 2008. *Gambaran darah pada ikan mas (Cyprinus carpio Linn) strain majalaya yang berasal dari daerah Ciampea, Bogor*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. *Tidak dipublikasikan*. 35 hlm.
- Moyle, P.B dan Cech JJ. 2004. *Fishes. An Introduction to Ichthyology*. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc. 205 page.

- Nazir, M. 1988. Metode Penelitian. Ghalia Indonesia. Jakarta. 622 hlm.
- Nurhayati, T., M. Thenawidjaja, L. Nuraida dan S.B. Poerwanto. 2010. Pengaruh glukosa dan *yeast extract* terhadap produksi inhibitor protease *Pseudomonas aeruginosa* dari *Chromohalobacter* sp.6A3 (bakteri yang berasosiasi dengan spons *Xetospongia testudinaria*). *Jurnal Teknologi Pertanian Indonesia*. **19**(2): 84-92.
- Poeloengan, M. dan Praptiwi. 2000. Daerah hambat ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada tiga isolat bakteri gram negatif. *Jurnal Seminar Nasional Peternakan dan Veteriner* **8**(2): 122-127.
- Praseno, O., H. Krettiawan, S. Asih dan A. Sudrajat. 2010. Uji ketahanan salinitas beberapa strain ikan mas yang dipelihara di akuarium. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur* **4**(2): 8-14.
- Pribadi, E. R. 2007. Kajian kelayakan usaha tani pola tanam sambiloto dengan jagung. *Jurnal Littri* **13**(3): 98-105
- Pujiasmanto, B., J. Moenandir, Syamsulbahri, dan Kuswanto. 2007. Kajian agroekologi dan morfologi sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) pada berbagai habitat. *Biodiversitas* **8**(4): 326-329
- Pujiasmanto, B., J. Moenadir, Syamsulbahri dan Kuswanto. 2008. Kajian tehnik perkecambahan sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). *Jurnal Agrivita* **30**(1): 45-53.
- Pujiasmanto, B., J. Moenadir, Syamsulbahri dan Kuswanto. 2008. Kajian distribusi dan potensi sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) pada berbagai ketinggian tempat. *Jurnal Agrivita* **3**(2): 105-111
- Rahayoe, S., B. Rahardjo dan R.S Kusumandari. 2008. Konstanta laju pengeringan daun sambiloto menggunakan pengering tekanan rendah. *Jurnal Rekayasa Proses* **2**(1): 17-23
- Sabilu, K. 2010. Dampak toksitas nikel terhadap hematologi ikan bandeng (*Chanos chanos* Forsikal) studi lanjut respon fisiologi. *Jurnal Paradigma* **14**(2): 205-216
- Sastrosupadji. 2000. Rancangan Percobaan Bidang Pertanian. Kanisius. Yogyakarta. 342 hlm.
- Srijanto, B., O. Bunga, L. Khojayanti, E. Rismana, dan Sriningsih 2012. Pemurnian ekstrak etanol sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dengan teknik estraksi cair - cair. *Jurnal Prosiding InSINas* **2**(1): 26-29
- Sugeng, H.R. 1984. Tanaman Apotik Hidup (Jamu - Jamu Tradisionil). CV Aneka Ilmu. Semarang. 96 hlm.
- Suhermanto, A., Sri Andayani dan Maftuch. 2011. Pemberian total fenol teripang pasir (*Holothuria scabra*) untuk meningkatkan leukosit dan differensial

leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Kelautan* 4(2): 9-16

Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias sp.*). *Jurnal Akuakultur Indonesia* 7(2): 159–169

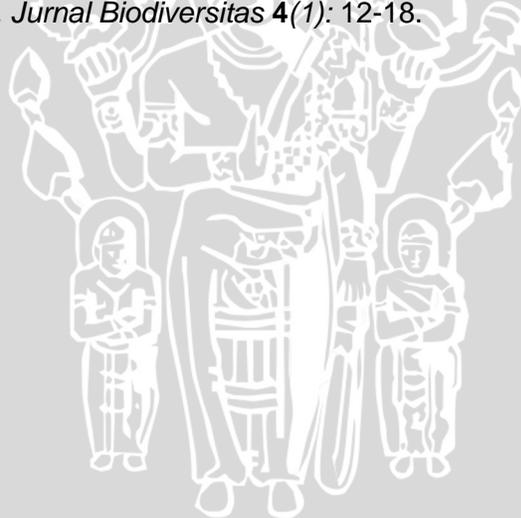
Sulistijo, T.D dan B. Pujiasmanto. 2007. Identifikasi sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) sebagai dasar pemanfaatan dan pelestarian plasma nutfah. *Biodiversitas* 8(3): 218-222

Taukhid, A. Mariana, W. Anditani, Rosidah dan Sriati. 2010. Induksi kekebalan spesifik pada ikan mas *Cyprinus carpio* terhadap infeksi koi herpes virus (KHV) melalui teknik kohabitasi terkontrol. *Jurnal Ris. Akuakultur* 5(20): 257-276

Venty. 2011. Karakteristik *Pseudomonas aeruginosa*. <http://www.ventystyle.com>. Diakses pada 23 Mei 2013.

Wijayakusuma, H., S. Dalimartha, A. S Wirian. 1993. Tanaman Obat Berkhasiat di Indonesia. Jilid 2. Pustaka Kartini. Jakarta. 120 hlm.

Zainun, Z. 2010. Pengamatan parameter hematologis pada ikan mas yang diberi immunostimulan. *Jurnal Biodiversitas* 4(1): 12-18.



LAMPIRAN

Lampiran 1: Hasil Uji Bakteri



KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
BADAN KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU,
DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN
BALAI KARANTINA IKAN, PENGENDALIAN MUTU
DAN KEAMANAN HASIL PERIKANAN KELAS I SURABAYA I
Jl. Raya Bandara Ir.H.Juanda No. 23 - Sidoarjo, 61254 - Jawa Timur
Telp. / Faks: 031 - 8688099 / 8688118 / 8678471 e-mail : juanda@bkipm.kkp.go.id

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

NAMA : Ir. Abdul Wahid, M.P
NIP : 19661015 199401 1 004
Gol./Ruang : Pembina, IV.a
Jabatan : Kasie. Tata Pelayanan
Unit Kerja : Balai KIPM Kelas I Surabaya I

Dengan ini menerangkan :

NAMA : Aristya Rachmadani P.
NIM : 0910850043
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya - Malang

Adalah benar telah melaksanakan kegiatan pemeriksaan/identifikasi bakteri sampel Ikan Mas, tanggal 08 s/d 11 Juli 2013 dengan menggunakan Metode Konvensional di Laboratorium Mikrobiologi Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya I.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sesuai keperluannya.

Kepala
Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan
Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya I
Kasie. Tata Pelayanan

Signature and stamp of Ir. Abdul Wahid, M.P.
NIP. 19661015 199401 1 004

Lampiran 1 (Lanjutan)

**Protokol Uji Biokimia Bakteri**  
**Metode : Mikroskopis dan Konvensional**

Inang Target : Benih Ikan Mas  
 Tanggal Pengujian : 08 - 11 Juli 2013

Karakteristik	Organ Target (Hati)	Organ Target (Insang)
Morfologi		
· Warna	Krem	Krem
· Bentuk		
· Tepi		
· Elevasi		
· Struktur dalam		
Uji gram, Morf. Sel	-, Batang	-, Batang
Oksidase	+	v
Katalase	+	+
O/F	O	O
TSIA, Gas, H <sub>2</sub> S(S/B)	Alk/As	As/As
L I A (S/B)	-	+
Motilitas	+	+
Gelatin	v	v
Indole	-	-
Ornithine	-	-
MR	-	+
Vp	-	-
Arginin	+	v
Simmons Citrate	+	+
Urease	v	-
Salmonella-Shigella agar	G	.
Mac Konkey	G	G
ONPG	-	-
* Glukosa	+	+
* Laktosa	-	+
* Sukrosa	.	v
* Arabinosa	.	+
* Manitol	v	+
* Inositol	.	+
* Maltosa	-	v
* Trehalose	-	+
* Xylose	v	v
CBBA	.	.
RS-A	.	.
TSA 0%, 3%, 7%	.	.
<b>HASIL IDENTIFIKASI</b>	<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b>	<b><i>Pseudomonas sp.</i></b>

Hasil Identifikasi Berdasarkan : Jean F. Mac Faddin, Biochemical Tests dor Identification of Medical Bacteria (Second Edition)

Lampiran 2: Alat dan Bahan Penelitian



Autoclave



Mikroskop



Hot Plate



Selang aerasi



Batu Aerasi



Aerator



Akuarium



Media NB



Pakan Ikan

Lampiran 2 (Lanjutan)



Tube



Pipa Kapiler



Sprit



Handtally Counter



Haemofuge



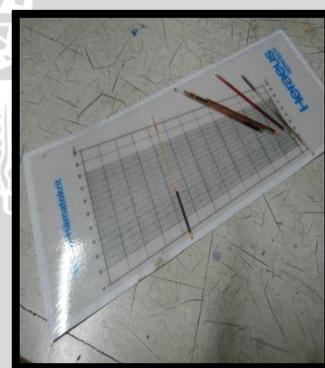
DO Meter



Pipet Thoma dan Haemocytometer



Haemometer



Tabel Mikrohematokrit

Lampiran 2 (Lanjutan)



Hayem



Na-Sitrat



Turk



Alkohol



Biakan *P. aeruginosa*



Aquadest



Lampiran 3: Gambar Penelitian



Penginfeksi Bakteri



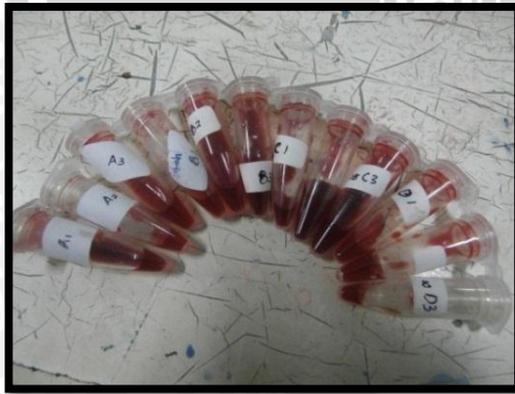
Perendaman Sambiloto



Pemeliharaan Ikan



Pengambilan Darah Ikan Mas



Darah dimasukkan dalam Tube



Sampel Darah Diletakkan pada  
*Haemocytometer*

**Lampiran 4. Analisis Data Penelitian**

✓ **Data Hasil Pengamatan Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

a. Data Pengamatan Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Normal ( $\times 10^6$  sel/ml)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Ke-				Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4		
Ikan Normal (Kontrol)	1	1,88	1,46	1,62	1,68	6,64	1,66
	2	1,35	1,17	1,69	1,80	6,01	1,50
	3	1,66	1,90	1,85	1,45	6,86	1,72

b. Data Pengamatan Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perlakuan ( $\times 10^6$  sel/ml)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-			
		H+1	H+3	H+5	H+7
A (0 ppt/ Tanpa Sambiloto)	1	1,17	0,85	0,75	<b>0,42</b>
	2	1,26	0,79	0,73	<b>0,62</b>
	3	1,21	0,99	0,76	<b>0,69</b>
B (4 ppt)	1	1,24	1,13	1,22	<b>1,29</b>
	2	1,20	1,06	1,25	<b>1,32</b>
	3	1,17	1,09	1,30	<b>1,36</b>
C (5 ppt)	1	1,36	1,29	1,38	<b>1,69</b>
	2	1,42	1,34	1,43	<b>1,52</b>
	3	1,38	1,28	1,39	<b>1,68</b>
D (6 ppt)	1	1,25	1,11	1,20	<b>1,14</b>
	2	1,21	1,08	1,11	<b>1,12</b>
	3	1,14	1,05	1,07	<b>1,09</b>

✓ **Cara Perhitungan Sidik Ragam, Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit**

Tabel Jumlah Eritrosit Ikan Mas H+7 setelah Perlakuan ( $\times 10^6$  sel/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	0,42	0,62	0,69	1,73	0,58
B	1,29	1,32	1,36	3,97	1,32
C	1,69	1,52	1,68	4,89	1,63
D	1,14	1,12	1,09	3,35	1,12
<b>Total</b>				<b>13,94</b>	

$$FK = G^2/n = (13,94)^2/12 = 194, 3236/12 = 16,19$$

$$\begin{aligned}
 Jk \text{ Total} &= A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2 - FK \\
 &= (0,42)^2 + (0,62)^2 + (0,69)^2 + (1,29)^2 + (1,32)^2 + (1,36)^2 + (1,69)^2 + (1,52)^2 + \\
 &\quad (1,68)^2 + (1,14)^2 + (1,12)^2 + (1,09)^2 - 16,19 \\
 &= 0,1764 + 0,3844 + 0,4761 + 1,6641 + 1,7424 + 1,8496 + 2,8561 + 2,3104 + \\
 &\quad 2,8224 + 1,2996 + 1,2996 + 1,2544 + 1,1881 - 16,19 \\
 &= 18,024 - 16,19 \\
 &= 1,83
 \end{aligned}$$

**Lampiran 4 (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - \text{FK} \\
 &= \frac{(1,73)^2 + (3,97)^2 + (4,89)^2 + (3,35)^2}{3} - 16,19 \\
 &= \frac{2,9929 + 15,7609 + 23,9121 + 11,2225}{3} - 16,19 \\
 &= \frac{53,8884}{3} - 16,19 \\
 &= 17,96 - 16,19 = 1,77
 \end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} = 1,83 - 1,77 = 0,06$$

**Tabel Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	1,77	0,5897	77,0879**	4,07	7,59
2. Acak	8	0,06	0,0076			
3. Total	11	1,83				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

**Perhitungan Uji BNT:**

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \cdot \text{KT Acak}}{\pi}} = 0,071$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ Tabel 5\% (db acak)} * \text{SED} = 2,306 * 0,071 = 0,163$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ Tabel 1\% (db acak)} * \text{SED} = 3,355 * 0,071 = 0,238$$

**Tabel BNT Eritrosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	A = 0,58	D = 1,12	B = 1,32	C = 1,63	Notasi
A = 0,58	-	-	-	-	a
D = 1,12	0,54**	-	-	-	b
B = 1,32	0,74**	0,2 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 1,63	1,05**	0,51**	0,31**	-	c

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata  
ns = tidak berbeda nyata

## Lampiran 4 (Lanjutan)

Data Hasil Pengamatan Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)a. Data Pengamatan Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) Sebelum Perlakuan ( $\times 10^3$  Sel/ml)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan Ke-				Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4		
Kontrol (Normal)	1	22,67	24,26	25,45	27,68	100,06	25,015
	2	27,19	28,45	22,17	23,54	101,35	25,338
	3	20,15	23,68	26,55	23,13	93,51	23,378

b. Data Pengamatan Harian Leukosit Ikan Mas Setelah Perlakuan ( $\times 10^3$  sel/ml)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-			
		H+1	H+3	H+5	H+7
A (Tanpa Sambiloto/ 0 ppt)	1	34,75	48,86	58,87	72,34
	2	36,54	42,56	68,64	80,22
	3	36,68	52,40	69,56	88,45
B (4 ppt)	1	29,75	34,35	26,66	20,15
	2	28,35	40,89	33,50	26,55
	3	29,65	33,50	26,56	24,54
C (5 ppt)	1	33,57	39,95	33,57	17,55
	2	32,87	37,90	32,78	20,95
	3	30,22	44,68	35,77	22,68
D (6 ppt)	1	32,87	37,87	27,19	19,05
	2	36,02	45,78	21,22	27,90
	3	35,01	36,02	23,14	22,70

## ✓ Cara Perhitungan Analisa Sidik Ragam, Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Nilai Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*) H+7 Setelah Perlakuan ( $\times 10^3$  sel/ml)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	72,34	80,22	88,45	241,01	80,34
B	20,15	26,55	24,54	71,24	23,75
C	17,55	20,95	22,68	61,18	20,39
D	19,05	27,90	22,70	69,65	23,22
<b>Total</b>				<b>443,08</b>	

$$FK = G^2/n = (443,08)^2/12 = 196319,88/12 = 16360$$

$$\begin{aligned}
 Jk \text{ Total} &= A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2 - FK \\
 &= (72,34)^2 + (80,22)^2 + (88,45)^2 + (20,15)^2 + (26,65)^2 + (24,54)^2 + (15,55)^2 \\
 &\quad + (20,95)^2 + (22,68)^2 + (19,05)^2 + (27,90)^2 + (22,70)^2 - 16360 \\
 &= 5233,08 + 6436,25 + 7823,4 + 406,02 + 704,90 + 7602,21 + 308,01 + \\
 &\quad 438,90 + 514,38 + 362,90 + 778,42 + 519,29 - 16360 \\
 &= 24122,8 - 16360 = 7762,76
 \end{aligned}$$

**Lampiran 4 (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - \text{FK} \\
 &= \frac{(241,01)^2 + (71,24)^2 + (61,18)^2 + (69,65)^2}{3} - 16360 \\
 &= \frac{58085,8 + 5075,14 + 3742,99 + 4851,12}{3} - 16360 \\
 &= \frac{71755,10}{3} - 16360 \\
 &= 23918,4 - 16360 = 7558,37
 \end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} = 7762,76 - 7558,37 = 204,39$$

**Tabel Sidik Ragam Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hitung	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	7558,37	2519,46	98,611**	4,07	7,59
2. Acak	8	204,39	25,5494			
3. Total	11	7762,76				

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

**Perhitungan Uji BNT:**

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \cdot \text{KT Acak}}{\pi}} = \sqrt{\frac{2 \cdot 25,5494}{3}} = \sqrt{\frac{51,09}{3}} = \sqrt{17,03} = 4,1267$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ Tabel 5\% (db acak)} * \text{SED} = 2,306 * 4,1267 = 9,516$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ Tabel 1\% (db acak)} * \text{SED} = 3,355 * 4,1267 = 13,845$$

**Tabel BNT Leukosit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	C = 20,39	D = 23,22	B = 23,75	A = 80,34	Notasi
C = 20,39	-	-	-	-	a
D = 23,22	2,38 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
B = 23,75	3,39 <sup>ns</sup>	0,53 <sup>ns</sup>	-	-	a
A = 80,34	59,95**	57,12**	56,59**	-	b

Keterangan: \*\* = berbeda sangat nyata

ns = Tidak berbeda nyata

Lampiran 4 (Lanjutan)

Data Hasil Pengamatan Hemoglobint Ikan Mas (*C. carpio*)

a. Data Pengamatan Hemoglobin Ikan Normal (g%)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-				Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4		
Ikan Normal (Kontrol)	K1	8,0	8,8	8,4	8,8	34,0	8,5
	K2	8,6	9,0	9,2	8,0	34,8	8,7
	K3	8,4	8,0	8,6	9,4	34,4	8,6

b. Data Pengamatan Harian Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perlakuan

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-			
		H+1	H+3	H+5	H+7
A (0 ppt/ Tanpa Sambiloto)	1	6,00	5,80	5,60	5,20
	2	6,20	5,20	6,00	6,40
	3	6,60	6,00	6,40	6,60
B (4 ppt)	1	6,60	6,00	7,40	8,20
	2	7,20	6,40	7,40	7,80
	3	7,40	7,00	7,80	8,40
C (5 ppt)	1	7,60	7,00	8,20	9,00
	2	8,20	7,20	8,00	8,20
	3	8,00	7,60	8,60	9,20
D (6 ppt)	1	6,20	5,80	7,40	8,00
	2	6,60	6,00	6,40	7,20
	3	7,40	6,80	8,00	8,40

Cara Perhitungan Sidik Ragam dan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Nilai Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*) H+7 Setelah Perlakuan (g%)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	U1	U2	U3		
A	5,20	6,40	6,60	18,20	6,07
B	8,20	7,80	8,40	24,40	8,13
C	9,00	8,20	9,20	26,40	8,80
D	8,00	7,20	8,40	23,60	7,87
Jumlah				92,60	

$$FK = G^2/n = (92,60)^2/12 = 8574,76/12 = 714,563$$

$$Jk \text{ Total} = A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2 - FK$$

$$= (5,2)^2 + (6,4)^2 + (6,6)^2 + (8,2)^2 + (7,8)^2 + (8,4)^2 + (9)^2 + (8,2)^2 + (9,2)^2 + (8)^2 + (7,2)^2 + (8,4)^2 - 714,563$$

$$= 27,04 + 40,96 + 43,56 + 67,24 + 60,84 + 70,56 + 81 + 67,24 + 84,64 + 64 + 51,84 + 70,56 - 714,563$$

$$= 729,48 - 714,563 = 14,92$$

## Lampiran 4 (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - \text{FK} \\
 &= \frac{(18,2)^2 + (24,4)^2 + (26,4)^2 + (23,6)^2}{3} - 714,563 \\
 &= \frac{331,24 + 595,36 + 696,96 + 556,96}{3} - 714,563 \\
 &= \frac{2180,52}{3} - 714,563 \\
 &= 726,84 - 714,563 = 12,28
 \end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} = 14,92 - 12,28 = 2,64$$

## Tabel Sidik Ragam Hemoglobin

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	12,28	4,0922	12,4007**	4,07	7,59
2. Acak	8	2,64	0,33			
3. Total	11	14,92				

Karena F hit > F5%, maka \*\* (berbeda sangat nyata/highly significant)

## Perhitungan Uji BNT:

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 * \text{KT Acak}}{\pi}} = 0,469$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ Tabel 5\% (db acak)} * \text{SED} = 2,306 * 0,469 = 1,081$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ Tabel 1\% (db acak)} * \text{SED} = 3,355 * 0,469 = 1,573$$

Tabel BNT Hemoglobin Ikan Mas (*C. carpio*)

Rata-rata Perlakuan	A = 6,07	D = 7,87	B = 8,13	C = 8,80	Notasi
A = 6,07	-	-	-	-	a
D = 7,87	1,80**	-	-	-	b
B = 8,13	2,06**	0,26 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 8,80	2,73**	0,93 <sup>ns</sup>	0,67 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns= tidak berbeda nyata

\*\*= berbeda sangat nyata

Lampiran 4 (Lanjutan)

Data Hasil Pengamatan Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)

a. Data Pengamatan Hematokrit Ikan Mas (*C. Carpio*) Normal (%)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-				Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4		
Kontrol (Ikan Normal)	K1	30	33	36	34	133	33,25
	K2	33	34	32	36	135	33,75
	K3	34	36	28	34	132	33,00

b. Data Pengamatan Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) Setelah Perlakuan (%)

Perlakuan	Ulangan	Pengamatan ke-			
		H+1	H+3	H+5	H+7
A	1	22	20	15	21
	2	20	18	16	21
	3	22	20	17	19
B	1	22	20	24	28
	2	24	20	24	26
	3	24	22	28	30
C	1	25	22	30	34
	2	26	20	28	30
	3	26	25	28	32
D	1	22	21	24	27
	2	22	19	26	33
	3	23	20	24	27

✓ Cara Perhitungan Sidik Ragam, Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Tabel Nilai Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*) H+7 setelah Perlakuan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A	21	21	19	61	20,33
B	28	26	30	84	28,00
C	34	30	32	96	32,00
D	27	33	27	87	29,00
Jumlah				328	

$$FK = G^2/n = (328)^2/12 = 107584/12 = 8965, 33$$

$$\begin{aligned}
 Jk \text{ Total} &= A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + D_1^2 + D_2^2 + D_3^2 - FK \\
 &= (21)^2 + (21)^2 + (19)^2 + (28)^2 + (26)^2 + (30)^2 + (34)^2 + (30)^2 + (32)^2 + (27)^2 + (33)^2 + \\
 &\quad (27)^2 - 8965, 33 \\
 &= 441+441+361+784+ 676+900+1156+900+1024 + 729 +1089+ 729 - 8965, 33 \\
 &= 9230 - 8965, 33 = 264, 67
 \end{aligned}$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{(\sum A)^2 + \dots + (\sum D)^2}{3} - FK$$

**Lampiran 4 (Lanjutan)**

$$= \frac{(61)2+(84)2+(96)2+(87)2}{3} - 8965,33$$

$$= \frac{3721+7056+9216+7569}{3} - 8965,33$$

$$= \frac{27562}{3} - 8965,33$$

$$= 9187,33 - 8965,33 = 222$$

$$\text{JK Acak} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} = 264,67 - 222 = 42,67$$

**Tabel Sidik Ragam Hematokrit**

Sumber Kergaman	db	JK	KT	F Hit	F5%	F1%
1. Perlakuan	3	222,00	74,00	13,875**	4,07	7,59
2. Acak	8	42,67	5,33			
3. Total	11	264,67				

Karena F hit > F5%, maka \*\* (berbeda sangat nyata/highly significant)

**Perhitungan Uji BNT:**

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \cdot \text{KT Acak}}{\pi}} = 1,88$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ Tabel 5\% (db acak)} \cdot \text{SED} = 2,306 \cdot 1,885 = 4,346$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ Tabel 1\% (db acak)} \cdot \text{SED} = 3,355 \cdot 1,885 = 6,324$$

**Tabel BNT Hematokrit Ikan Mas (*C. carpio*)**

Rata-rata Perlakuan	A = 20,33	B = 28	D = 29	C = 32	Notasi
A = 20,33	-	-	-	-	a
B = 28	7,67**	-	-	-	b
D = 29	8,67**	1 <sup>ns</sup>	-	-	b
C = 32	11,67**	4 <sup>ns</sup>	3 <sup>ns</sup>	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

\*\* = berbeda sangat nyata