

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUAH MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas fluorescens***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

DIAN LESTARI

NIM. 115080500111042



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUAH MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas fluorescens***

**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 :

**DIAN LESTARI
NIM. 115080500111042**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2015**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUAH MENKUDU
(*Morinda citrifolia*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA
(*Oreochromis niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI
*Pseudomonas fluorescens***

Oleh :
DIAN LESTARI
NIM. 115080500111042

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 28 MEI
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI

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

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

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

DOSEN PEMBIMBING II

Ir. Heny Suprastyani, M.S
NIP. 19620904198701 2 001
Tanggal :

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

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

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Mei 2015
Mahasiswa

Dian Lestari



RINGKASAN

DIAN LESTARI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. HENY SUPRASTYANI, MS.**

Salah satu jenis ikan air tawar yang cukup banyak dibudidayakan adalah ikan nila (*Oreochromis sp.*) karena ikan nila sangat cocok dibudidayakan di Indonesia. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan pengembangan perikanan adalah masalah penyakit yang sering menyerang ikan. Salah satu bakteri yang sering menyerang ikan nila adalah *Pseudomonas fluorescens*. Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini dilarang karena dapat menimbulkan efek resisten pada bakteri patogen serta mengakibatkan pencemaran pada lingkungan. Oleh sebab itu, dibutuhkan adanya antibakteri alternatif yang dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri, salah satunya adalah dengan penggunaan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *P. fluorescens*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Maret 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu dengan menggunakan dosis A (60 ppt), B (65 ppt), C (70 ppt) dan D (75 ppt). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) kadar hematokrit dan hemoglobin, sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (pH, suhu dan DO).

Hasil yang diperoleh pada parameter utama dari penelitian ini adalah sebagai berikut: perhitungan sel darah merah (eritrosit) pada perlakuan D (75 ppt) memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu 18.60×10^6 sel/mm³. Pada perhitungan sel darah putih (leukosit) pada perlakuan D (75 ppt) memiliki rata-rata jumlah leukosit terendah yaitu 8.23×10^3 sel/mm³, hasil dari kadar hematokrit menunjukkan angka 22% pada perlakuan D = (75 ppt) pada pengamatan 36 jam ikan udah kembali kondisi normal, dan kadar hemoglobin pada pengamatan 36 jam perlakuan D = (75 ppt) menunjukkan angka 9 Hb/100ml. Hasil yang diperoleh pada parameter penunjang dari penelitian ini adalah sebagai berikut: gejala klinis yang terlihat adalah pada perlakuan A (60 ppt) adanya mata rusak, badan bengkak dan juga mengalami kematian, sedangkan untuk perlakuan D (75 ppt) mendekati kondisi ikan yang sehat.

Kualitas air yang didapat pada penelitian ini adalah suhu sebesar 25-26,62°C, pH 7,96-8,04 dan oksigen terlarut (DO) sebesar 4,1-5,06. Kualitas air pada penelitian ini masih dalam kisaran normal untuk kelangsungan hidup ikan nila.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang mana telah memberikan limpahan rahmat dan karuniaNya. Tak lupa shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*”.

Laporan skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS (selaku dosen pembimbing 1) yang telah meluangkan waktu, selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi kepada penulis dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS (selaku dosen pembimbing 2) yang telah meluangkan waktu, senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih banyak kekurangan oleh karena itu penulis menerima segala bentuk saran dan kritik demi kesempurnaan laporan ini. Semoga laporan ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan pembaca pada umumnya untuk pengetahuan mengenai kesehatan ikan.

Malang, Mei 2015

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan atas terselesainya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat serta karunia-Nya.
2. Ibu dan Ayah tercinta atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya, serta kedua adikku Dicky Diva, Mbah Uti, Mbah Kung yang tersayang.
3. Untuk tersayang Oddy Prananda Putra yang selalu memberikan semangat, saran, motivasi dan mendengarkan semua keluhan.
4. Om dan Tante serta keluarga besar yang selalu mendoakan.
5. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini.
6. Mbak Heny dan mbak Titin yang selalu memberikan saran dan solusi.
7. Tim Jenggers yang selalu membantu dan memberi solusi, Anggita, Elinda, Dani, dan Indah.
8. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
9. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Mei 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat.....	6
2.1.3 Pakan dan Kebiasaan Makan.....	6
2.1.4 Luka pada Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	7
2.1.5 a. Oksigen Terlarut.....	8
b. Suhu.....	8
c. pH	9
2.2 Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	9
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	10
2.2.3 Infeksi Bakteri <i>Pseudomonas fluorescens</i>	11
2.3 Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>).....	11
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	12
2.3.2 Bahan Aktif Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>).....	13
2.4 Mekanisme Pertahanan Tubuhi	14
2.5 Hematologi.....	14
2.5.1 Sel Darah Merah (Eritrosit).....	15
2.5.2 Sel Darah Putih(Leukosit).....	16
2.5.3 Kadar Hematokrit	16
2.5.4 Kadar Hemoglobin.....	17

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat-alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	19
3.2 Metode Penelitian	20
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Persiapan Penelitian	23
a. Persiapan Ikan	23
b. Pembuatan Ekstrak Kasar Buah Mengkudu	24
c. Persiapan Alat Penelitian	24
d. Pembiakan Bakteri <i>Pseudomonas Fluorescens</i>	25
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	26
a. Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Nila	26
b. Pemberian ekstrak Kasar Buah Mengkudu	26
c. Penambilan Sampel Darah	26
d. Uji Hematologi	
• Penghitungan Jumlah Eritrosit	27
• Penghitungan Jumlah Leukosit	28
• Pengukuran Kadar Hemoglobin	29
• Pengukuran Kadar Hematokrit	29
3.5 Parameter Uji	29
3.5.1 Parameter Utama	29
3.5.2 Parameter Penunjang	30
3.6 Analisa Data	30

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Hematologi	31
4.1.1 Jumlah Eritrosit	31
4.1.2 Jumlah Leukosit	33
4.1.3 Kadar Hematokrit	36
4.1.4 Kadar Hemoglobin	39
4.2 Pengamatan Gejala Klinis	41
4.3 Kualitas Air	43
4.3.1 Suhu	44
4.3.2 Derajat Keasaman (pH)	44
4.3.3 DO (<i>Dissolved Oxygen</i>)/Oksigen Terlarut	44

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	45
5.2 Saran	45

DAFTAR PUSTAKA	46
----------------------	----

LAMPIRAN	49
----------------	----

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	6
2. Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>).....	13
3. Sel Darah Merah.....	16
4. Denah Penelitian	23
5. Gambar Diagram Eritrosit	31
6. Gambar Diagram Leukosit	34
7. Gambar Diagram Hematokrit	37
8. Gambar Diagram Hemoglobin	39
9. Gejala Klinis Ikan	42



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji MIC	21
2. Rancangan Perlakuan Uji	22
3. Jumlah Rata – rata Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	31
4. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	32
5. Uji BNT Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	32
6. Jumlah Rata - rata Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
7. Sidik Ragam Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	35
8. Uji BNT Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	35
9. Jumlah Rata – rata Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	36
10. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	37
11. Uji BNT Hematokrit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	38
12. Jumlah Rata –rata Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
13. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	40
14. Uji BNT Hemoglobin Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	49
2. Bahan Penelitian.....	52
3. Perhitungan BNT Eritrosit 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	54
4. Perhitungan BNT Eritrosit 18 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	55
5. Perhitungan BNT Eritrosit 24 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	56
6. Perhitungan BNT Eritrosit 36 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	57
7. Perhitungan BNT Leukosit 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	58
8. Perhitungan BNT Leukosit 18 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	59
9. Perhitungan BNT Leukosit 24 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	60
10 Perhitungan BNT Leukosit 36 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	61
11. Perhitungan BNT Hematokrit 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	62
12. Perhitungan BNT Hematokrit 18 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	63
13. Perhitungan BNT Hematokrit 24 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	64
14. Perhitungan BNT Hematokrit 36 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	65
15. Perhitungan BNT Hemoglobin 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	66
16. Perhitungan BNT Hemoglobin 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	67
17. Perhitungan BNT Hemoglobin 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	68
18. Perhitungan BNT Hemoglobin 12 Jam Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	69
19. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	70
20. Tabel Kualitas Air.....	71

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki garis pantai terpanjang nomor dua di dunia (setelah Canada) dengan berbagai jenis ekosistem perairan pantai yang ada (diantaranya estuarine, mangrove, padang lamun, dan terumbu karang) serta beragam biota yang ada (dikenal dengan Negara mega biodiversity) merupakan satu potensi yang sangat besar bagi pengembangan perikanan budidaya (budidaya air tawar, pantai, dan laut). Perikanan budidaya Indonesia menduduki posisi keempat sebagai penghasil produk perikanan budidaya terbesar di dunia, dengan total produksi tahun 2004 mencapai 1,045 ton (Radiarta, 2002).

Menurut Kordi (2009), akuakultur menjadi penting dan strategis bagi peningkatan produksi perikanan Indonesia. Akuakultur diharapkan dapat menjadi industri dalam penyediaan pangan, terutama protein hewani. Sebagai industri, akuakultur dapat membuka lapangan kerja dan menghasilkan devisa, serta menggerakkan perekonomian bangsa. Dari sisi lingkungan, akuakultur menjadi penyeimbang bagi kegiatan penangkapan.

Penyakit pada ikan dalam kondisi alami dapat timbul akibat adanya interaksi antara inang, jasad patogen dan kondisi lingkungan. Apabila interaksi antara ketiga komponen tersebut tidak seimbang, dapat mengakibatkan penyakit pada ikan. Ikan mudah terserang penyakit terutama disebabkan oleh kondisi ikan yang lemah (semakin turunnya daya tahan ikan) akibat dari beberapa faktor seperti kepadatan yang tinggi, makanan yang kurang baik, fluktuasi suhu yang besar, penanganan yang buruk serta adanya pembendungan atau polusi yang dapat menyebabkan perubahan ekosistem perairan. Selain itu lemahnya kondisi ikan juga disebabkan oleh perkembangan alat produksi atau pada saat pemijahan (Prajitno, 2007).

Menurut Mastan (2013), penyakit lebih sering terjadi dalam sistem budidaya modern. Dalam sistem budidaya intensif, kolam dipupuk menggunakan bahan kimia anorganik, menggunakan suplemen pakan buatan, dan stok ikan dengan kepadatan yang sangat tinggi. Semua kegiatan yang bertujuan untuk meningkatkan produksi ikan dari ekosistem tertentu, pada saat yang bersamaan juga menyebabkan kondisi stres pada ikan. Ikan rentan terhadap berbagai infeksi. Kualitas air yang buruk, bahan organik tinggi, pakan yang terkontaminasi dan kondisi yang tidak higienis adalah beberapa faktor timbulnya penyakit bakteri pada hewan air. *Pseudomonas fluorescens* merupakan komponen dominan pada ekosistem air tawar. *P. fluorescens* terkait dengan kondisi *septicemia* dan *ulcerative* pada ikan. *P. fluorescens* biasanya ditemukan dalam air, tanah dan pada tubuh ikan. Bakteri ini merupakan patogen budidaya yang dapat menginfeksi banyak spesies ikan, termasuk ikan koi India, ikan nila dan ikan flounder Jepang. Infeksi *Pseudomonas* pada ikan menyebabkan penyakit *Red Skin*, yang terjadi sepanjang tahun terutama ketika ikan terluka oleh penanganan yang kurang tepat serta luka fisik selama transportasi. Karena kurangnya sarana yang efektif untuk pengendalian penyakit yang sering menyebabkan kematian yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kerugian yang besar.

Menurut Yulvizar (2014), permasalahan penyakit yang disebabkan bakteri patogen dapat diatasi dengan pemberian antibiotik sebagai upaya kemoterapi untuk menghilangkan penyakit. Peningkatan penggunaan antibiotik dapat diikuti oleh bertambahnya penyakit patogenik, karena meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia (antibiotik). Antibiotik menyebabkan mutasi kromosom patogen atau akuisisi plasmid.

Berdasarkan uraian diatas penelitian mengenai khasiat buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai immunostimulan maupun pengobatan pada ikan masih belum dilakukan sebelumnya. Berdasarkan uraian diatas diperlukan upaya

penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai bahan pengobatan ikan nila yang diinfeksi bakteri yang dilihat dari pengamatan hematologi yang meliputi sel darah merah (Eritrosit), sel darah putih (Leukosit), kadar Hemoglobin dan Hematokrit ikan nila.

1.2 Perumusan Masalah

Dalam kegiatan budidaya ikan nila sering terserang bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Ikan yang sering diserang bakteri ini adalah ikan nila, lele dan koi. Keberadaan bakteri ini akan menyebabkan kematian masal organisme yang dibudidayakan. Pengobatan yang sering dilakukan oleh pembudidaya adalah menggunakan bahan-bahan kimia yang akan berdampak buruk pada jangka panjang karena akan menjadi residu di dalam tubuh ikan dan menyebabkan resistensi terhadap obat tersebut. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai penggunaan antibakteri yang berasal dari bahan-bahan alami yang tidak akan menimbulkan efek jangka panjang.

Pengobatan tradisional dengan fitofarmaka dan pemanfaatan bahan obat alamiah lainnya mulai menjadi perhatian dunia sekarang. Hal ini disebabkan karena obat kemoterapi serta obat kimia lainnya mempunyai efek samping yang mengganggu keseimbangan kesehatan dan lingkungan (Simanungkalit, 2000). Beberapa bahan fitofarmaka bisa digunakan untuk menanggulangi bakteri *Pseudomonas fluorescens* salah satunya adalah buah mengkudu (*M. citrifolia*) yang mengandung minyak esensial yang bersifat antibakteri. Selain minyak esensial, buah mengkudu (*M. citrifolia*) juga mengandung flavonoid yang bersifat antibakteri.

Sehingga berdasarkan uraian tersebut, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak kasar buah mengkudu dapat mengobati penyakit ikan nila yang disebabkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens*?
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu terhadap kadar hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi *Pseudomonas fluorescens*.

1.4 Hipotesis

H₀: Diduga pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis yang berbeda tidak mempengaruhi hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

H₁: Diduga pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan dosis yang berbeda dapat mempengaruhi gambaran hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Januari – Maret 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Suyanto (1993) dalam Israk (2003). Klasifikasi ikan nila (*O. niloticus*) dapat dijelaskan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Sub-kelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Sub-ordo	: Percoidea
Family	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Ikan nila (*O. niloticus*) yang masih kecil sulit dibedakan antara jantan dan betina. Perbedaan tersebut dapat dibedakan setelah beratnya mencapai 50 gr atau ukuran panjangnya mencapai 10-12 cm dan semakin terlihat perbedaan antara jantan betina setelah ikan dewasa dapat dilihat pada Gambar 1. Dapat dilihat dari bentuk tubuh, warna dan kelaminnya. Ikan nila (*O. niloticus*) jantan bertubuh lebih pendek sedangkan betina lebih panjang. Warna jantan lebih cerah dibandingkan dengan betina (Partosuwiro dan Waseno, 2011).

Ciri utama morfologi ikan nila (*O. niloticus*) dibedakan dari bentuk tubuh, sisik, mata dan sirip. Perbandingan antara panjang total dan tinggi badan 3:1. Warna badan pada umumnya berwarna keabu-abuan sampai hijau, kondisi warna dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Ikan nila memiliki lima sirip

(dorsal sirip) yaitu sirip punggung (dorsal sirip), sirip dada (pectoral fin), sirip perut (Ventral fin), sirip anus (Anal fin), dan sirip ekor (Cudal fin) (Setyo, 2006).



Gambar 1. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Pada umumnya ikan nila (*O. niloticus*) hidup diperaian tawar seperti, sungai, danau, waduk, rawa, sawah dan sungai irigasi. Ikan nila memiliki toleransi yang luas terhadap salinitas sehingga dapat hidup dan berkembang diperaian payau. Ikan nila (*O. niloticus*) dapat dipindahkan dari perairan tawar ke perairan payau melalui proses adaptasi yang bertahap. Pemandahan yang secara mendadak dapat menyebabkan ikan tersebut stres bahkan mati (Setyo, 2006).

Ikan nila (*O. niloticus*) bermula dibudidayakan di kawasan Afrika, kemudian mampu menyebar di beberapa negara, antara lain Taiwan, Thailand, Vietnam, Bangladesh, dan Indonesia. Menurut Salsabila, Basuki, dan Hastuti (2013), ikan ini didatangkan dari Indonesia dari Taiwan ke Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Bogor pada tahun 1969. Nama ikan nila tersebut diambil dari nama spesies ikan ini, yakni nilotica yang kemudian diubah menjadi nila.

2.1.3 Pakan dan Kebiasaan Makan

Ikan nila (*O. niloticus*) tergolong ikan pemakan segala atau omnivor sehingga bisa mengkonsumsi makanan berupa hewan atau tumbuhan. Ketika masih benih, pakan yang disukai adalah zooplankton (plantonkton hewan), seperti rotifer sp., *Moina.*, atau *Daphnia* sp. Ikan nila (*O. niloticus*) juga memakan

tanaman ukuran dewasa, ikan nila bisa diberi makanan tambahan, misalnya pellet (Khairuman dan Amri, 2008).

Ikan nila (*O. niloticus*) adalah pemakan segala (omnivora), pemakan plankton, sampai pemakan aneka tumbuhan sehingga ikan ini diperkirakan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali gulma air. Selain itu, ikan ini mudah berkembang biak, peka terhadap pertumbuhan lingkungan, mampu mencerna makanan secara efisien, pertumbuhan cepat, dan tahan terhadap serangan penyakit. Mudahnya dipelihara dan dibiakkan ikan ini banyak dibudidayakan diberbagai negara sebagai ikan konsumsi termasuk Indonesia (Elyana, 2011).

2.1.4 Luka pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* dapat menyerang ikan yang masih muda dan ikan yang sudah dewasa. Kerugian yang ditimbulkan oleh serangan bakteri ini sangat besar. Hampir semua bagian tubuh ikan dapat terserang oleh bakteri ini, karena serangannya yang sangat ganas sehingga dapat menyebabkan kematian. Penularannya bisa melalui air, alat-alat budidaya, bagian tubuh ikan yang sudah terinfeksi, melalui perantara hewan lain, dan melalui tumbuhan air. Gejala yang terlihat pada ikan yang telah terinfeksi bakteri ini adalah ikan berwarna gelap (kusam), nafsu makan berkurang atau bahkan tidak ada nafsu makan, ikan bergerombol di dekat pintu pengeluaran air, terdapat luka pada kulit, sirip dan sisik rusak, pendarahan pada tubuh ikan, perut busung, insang rusak berwarna keputih-putihan hingga kebiru-biruan, ikan melemah, dan timbul luka borok. Faktor-faktor penunjang lainnya adalah kualitas perairan yang buruk, kandungan bahan organik di perairan yang cukup tinggi, dan perubahan musim kering (kemarau) ke musim penghujan (Cahyono, 2001).

Aeromonas dan *Pseudomonas* adalah dua jenis bakteri yang paling banyak ditemukan pada ikan koi. Ikan yang terinfeksi akan mengalami kemerahan pada kulit,

misalnya di sekitar luka. Jika dibiarkan, bakteri dapat mengakibatkan bengkak pada jaringan tubuh. Pembengkakan akan nampak pada bagian mata. Kondisi ini sering disebut dropsi dan membutuhkan perawatan antibiotik untuk mencegah penyebaran lebih luas serta kemungkinan terjadinya kematian. Ketika bakteri menyerang insang, penyakit ini disebut penyakit bakterial insang (Twigg, 2008).

2.1.5 Kualitas Air

a. Oksigen Terlarut

Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas dalam kehidupan suatu organisme. Bila ketersediannya tidak mencukupi kebutuhan ikan budidaya, maka segala aktivitas ikan akan terhambat (Kordi, 2004). Oksigen sangat dibutuhkan oleh setiap makhluk hidup untuk bernapas. Kebutuhan oksigen tiap spesies ikan bervariasi. Saat keadaan oksigen yang turun atau pada tingkat yang rendah, terutama terjadi secara tiba-tiba, ikan akan mengalami gangguan pernapasan dan menimbulkan kematian (Lesmana, 2003).

Parameter kualitas air untuk pemeliharaan ikan nila khususnya oksigen terlarut. Ikan nila dapat hidup pada konsentrasi oksigen terlarut lebih dari 2 mg/l hingga kandungan 6 mg/l (Batubara, 2009).

b. Suhu

Ikan nila dapat dipelihara pada suhu 25 – 32°C. Ikan nila akan tumbuh baik dengan ketinggian antara 150 – 1000 m dpl (Batubara, 2009).

Daerah yang cocok untuk budidaya ikan nila adalah daerah yang memiliki ketinggian 150 – 600 m diatas permukaan laut., dengan perairan yang memiliki temperatur optimal 25 – 31 °C (Yuliati *et al.* 2003).

c. pH

Derajat keasaman (pH) dalam budidaya ikan nila juga menjadi faktor pendukung keberhasilan kegiatan budidaya. Kondisi optimal untuk kegiatan budidaya yaitu bekisar antara (6,5 - 7). (Kordi, 2009).

2.2 Bakteri (*Pseudomonas fluorescens*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi *P. fluorescens* menurut Goto (1992) dalam Ramdan (2012) pengkelasan *P. fluorescens* adalah:

Kingdom	: Prokariota
Divisi	: Gracilutes
Kelas	: Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas fluorescens</i>

Penyakit merah tergolong penyakit bakterial. Penyebabnya adalah bakteri *P. fluorescens*. Bakteri ini tergolong jenis bakteri gram negatif, berbentuk batang dengan ukuran sekitar 2-3 μ m, dan mempunyai alat berupa flagela yang digunakan untuk bergerak (Cahyono, 2001).

Karakteristik dari *Pseudomonas* yaitu bersel satu, berbentuk basil, streptobasil, flagel lofotrik yaitu mempunyai lebih dari satu flagel pada salah satu ujungnya, bakteri heterotrof, hidup berkoloni, bersifat oksidatif. Bakteri ini memiliki flagel yg berfungsi sebagai alat pergerakan, kapsul sebagai bahan kental berupa lapisan lendir, berdinding tipis, fli sebagai pintu gerbang masuknya bahan genetik (Qnoze, 2011).

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Menurut Anonymous (2013), *P. fluorescens* adalah bakteri Gram-negatif, obligat aerobik, motil dan bakteri berbentuk batang. Bakteri ini tumbuh pada pH netral dan memiliki suhu pertumbuhan optimal sebesar 25-30°C (Palleroni, 1984), dengan suhu pertumbuhan terendah sebesar 4°C. *P. fluorescens* tidak membentuk spora atau struktur hidup lain dan tidak tumbuh di bawah kondisi asam (pH <4,5) (Holt, 1994). Kebutuhan nutrisi *P. fluorescens* sangat sederhana, sehingga mereka dapat bertahan hidup dan berkembang biak selama berbulan – bulan pada lingkungan yang lembab. Kebanyakan strain hidup secara aerobik kemo-organotroph yaitu membutuhkan oksigen dan karbon organik untuk pertumbuhan.

Menurut Sastrahidayat (1990), fase – fase pertumbuhan populasi bakteri terdiri dari fase penyesuaian, fase logaritmis, fase statis dan fase penurunan/kematian. Pada fase penyesuaian, pertumbuhan populasi bakteri cukup pelan karena bakteri harus menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya. Selanjutnya pada fase berikutnya, bakteri membelah dengan cepat karena telah sesuai dengan kondisi lingkungan dan persaingan diantara setiap individu relatif belum terjadi. Pada fase statis, bakteri mengalami hambatan – hambatan di dalam pertumbuhannya oleh sebab ketidaksesuaian lingkungannya dengan kebutuhan populasi yang ada (persaingan, kekurangan makanan, adanya racun – racun dan sebagainya), sehingga pertumbuhan populasi relatif konstan atau statis. Setelah populasi tidak dapat lagi mentolerir keadaan pada saat tersebut, terjadilah kemudian fase penurunan jumlah populasi yang relatif cepat karena banyak sel – sel yang mati.

2.2.3 Infeksi Bakteri (*Pseudomonas fluorescens*)

Bakteri patogen menghasilkan berbagai enzim yang pada dasarnya tidak toksik tetapi berperan penting dalam proses infeksi. Beberapa bakteri patogen memproduksi enzim hidrolitik seperti enzim hidrolitik seperti protease dan hialuronidase, yang mendegradasi komponen matrik ekstraseluler sehingga dapat merusak struktur jaringan inang. Enzim hidrolitik ini digunakan oleh bakteri untuk memperoleh sumber karbon dan energi dengan menghancurkan polimer inang menjadi gula sederhana dan asam amino (Salyers dan Whitt, 1994 dalam Baehaki *et al.*, 2008).

Menurut Attia *et al.* (2012), penyakit bakteri antara ikan disebabkan oleh berbagai patogen dan merupakan masalah ekonomi yang signifikan pada kegiatan akuakultur. *P. fluorescens* adalah bakteri Gram-negatif keluarga Pseudomonadaceae, umumnya bakteri patogen yang terkait dengan spesies akuakultur yang dipelihara. *P. fluorescens* adalah patogen untuk berbagai jenis ikan termasuk grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), black carp (*Mylopharyngodon piceus*), dan ikan nila (*Oreochromis*). Infeksi ikan oleh *P. fluorescens* akan membentuk penyakit yang disebut *Red Skin* yang ditandai dengan pendarahan, sisik terlepas, dan ulserasi pada sirip. Wabah penyakit ini sering timbul ketika terjadi kondisi stres.

2.3 Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

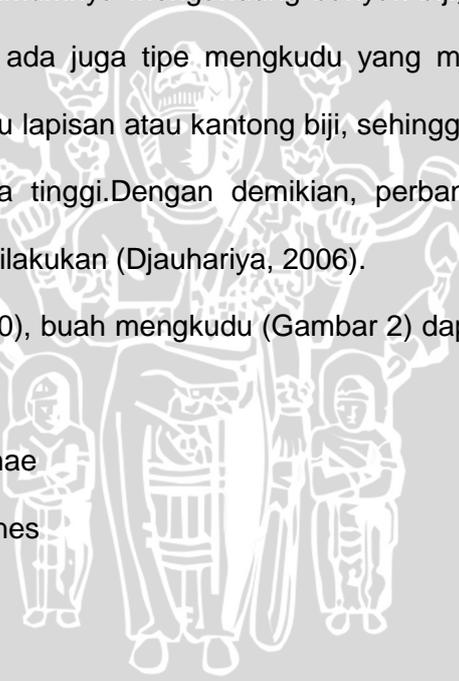
Mengkudu termasuk jenis tanaman pohon dan berbatang bengkok, tinggi pohon dapat mencapai 3-8 m. Daun tunggal dengan ujung dan pangkal kebanyakan runcing. Buahnya termasuk buah bongkol, benjol-benjol tidak teratur, berdaging, jika masak daging buah berair. Buah masak berwarna kuning kotor atau putih kekuning-kuningan dengan panjang 5-10 cm, lebar 3-6 cm (Suryowinoto, 1997).

Tanaman mengkudu merupakan jenis tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia. Nama botaninya adalah *Morinda citrifolia*. Tanaman yang juga dikenal dengan sebutan buah Pace atau Noni ini berwarna hijau di saat muda dan berubah putih kekuningan jika mulai matang. Permukaan kulit buahnya berbintil dan dipenuhi mata berwarna coklat kehitaman, rasanya sangat asam dengan aroma khas sangat tajam ketika tua dan matang. Tanaman yang selama ini dikenal sebagai tumbuhan liar dan berbau busuk, kini berubah menjadi buah “ajaib” yang banyak dicari (Budhie, 2011).

Tanaman mengkudu berbuah sepanjang tahun. Ukuran dan bentuk buahnya bervariasi, pada umumnya mengandung banyak biji, dalam satu buah terdapat >300 biji, namun ada juga tipe mengkudu yang memiliki sedikit biji. Bijinya dibungkus oleh suatu lapisan atau kantong biji, sehingga daya simpannya lama dan daya tumbuhnya tinggi. Dengan demikian, perbanyakkan mengkudu dengan biji sangat mudah dilakukan (Djauhariya, 2006).

Menurut Galuh (2010), buah mengkudu (Gambar 2) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Filum	: Angiospermae
Sub filum	: Dicotyledones
Divisio	: Lignosae
Family	: Rubiaceae
Genus	: <i>Morinda</i>
Spesies	: <i>citrifolia</i>
Nama Ilmiah	: <i>Morinda citrifolia</i>





Gambar 2. Buah Mengkudu

2.3.2 Bahan Aktif Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Buah mengkudu (*M. citrifolia*, L.) mengandung *scopoletin*, sebagai analgesik, antiradang, antibakteri, antikanker dan imunostimulan. *Alizarin*, *Acubin*, *L. Asperuloside*, dan flavonoid sebagai antibakteri. Vitamin C, sebagai antioksidan (Dewi, 2010).

Kandungan kimia penting pada sari buah mengkudu adalah asam lemak yang terdiri asamkaproat, kaprilat, asam palmitat, asam stearat dan asam oleat (Ngakan *et al.*, 2000). Kandungan nutrisi yang terkandung dalam buah mengkudu adalah protein, mineral (Se), vitamin C sebagai antioksidandan asam lemak rantai pendek yang menyebabkan bau yang menyengat (Amar *et al.*, 2004).

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) mengandung berbagai bahan berkhasiat seperti antrakuinon, *scopoletin*, morindon, morindin, morindanigrin, monometil eter, *damnacanthol*, *saranjidiol*, *xeronine*, asam glutamat dan bahan lainnya yang sangat bermanfaat untuk kesehatan. Dilaporkan bahwa daya antimikroba mengkudu disebabkan oleh adanya senyawa antrakuinon dan *scopoletin*. Telah dilaporkan pula bahwa antrakuinon dan *skopoletin* dapat

membunuh bakteri patogen seperti *E. coli*, *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* (Darwis, 2005).

2.4 Mekanisme Pertahanan Tubuh

Imunitas adalah suatu keadaan sangat resisten terhadap organism pathogen tertentu. Ikan memiliki system kekebalan tubuh untuk melawan berbagai macam penyakit, yaitu system pertahanan seluler dan system pertahanan humoral. Sistem pertahanan seluler bersifat non spesifik sedangkan sistem pertahanan humoral bersifat spesifik (Nursida, 2011).

Sistem imun dapat membedakan zat asing dari zat yang berasal dari tubuh sendiri. Pada beberapa keadaan patologik, sistem imun ini tidak dapat membedakan self dari zat asing sehingga sel-sel dalam sistem imun membentuk zat anti terhadap jaringan tubuhnya sendiri yang disebut autoantibodi. Apabila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respon imun yang mungkin terjadi yaitu respon imun nonspesifik dan sistem imun spesifik. Respon imun nonspesifik umumnya merupakan imunitas bawaan dalam arti bahwa respon terhadap zat asing dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar pada zat tersebut, sedangkan respon imun spesifik merupakan respon didapat yang timbul terhadap antigen tertentu, terhadap mana tubuh pernah terpapar sebelumnya (Kresno, 1991).

2.5 Hematologi

Hematologi merupakan cabang ilmu kedokteran yang mempelajari tentang darah, diantaranya struktur komponen sel darah, fungsi, sifat, dan aliran darah. Hematologi sangat berhubungan dengan patologi, terutama untuk memperoleh gambaran kondisi kesehatan ikan dalam keadaan sehat atau sakit (Jhonny, Zafran, Roza, dan Mahardika, 2003).

Darah tersusun atas cairan darah (plasma darah) dan elemen – elemen seluler (sel – sel darah). Plasma darah terdiri dari protein (globulin, albumin, dan faktor – faktor koagulasi), lipid dan ionnya (Fujaya, 2004).

Berdasarkan warna dan fungsi, darah dibagi menjadi sel darah (eritrosit) sel darah putih (leukosit). Sel darah putih dikelompokkan berdasarkan pada ada tidaknya butir –butir (granul) dalam sitoplasma, yaitu granulosit dan agranulosit. Kelompok dari granulosit terdiri dari neutrofil, eosinofil, dan jenis basofil. Sedangkan yang termasuk ke dalam kelompok agranulosit, yaitu monosit dan limfosit (Lagler, Bardach, Miller dan Passino, 1977).

2.5.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Menurut Dopongtonung (2008), eritrosit pada ikan merupakan jenis sel darah yang paling banyak jumlahnya. Bentuk eritrosit pada semua jenis ikan hamper sama. Eritrosit ikan memiliki inti, seperti pada bangsa burung dan reptil. Jumlah eritrosit pada ikan teleostei berkisar antara $(1,0 - 3,0) \times 10^6$ sel/mm³ (Irianto, 2005). Eritrosit berwarna kekuningan, berbentuk oval, kecil, dengan ukuran berkisar antara 7 – 36 μ m. Eritrosit berbentuk oval sampai bundar, inti berukuran kecil dengan sitoplasma membesar.

Eritrosit ikan yang matang secara normal berbentuk oval atau ellips dengan sitoplasma eosinofilik dan inti yang berbentuk oval atau ellips juga. Inti eritrosit ikan relatif besar ukurannya kurang lebih seperempat dari volume sel eritrosit. Butir kromatin intinya padat dan berwarna ungu gelap. Bentuk dan ukuran sel darah merah ikan bervariasi tergantung jenis spesiesnya. Contohnya eritrosit ikan kelas Chondrichthyes umumnya lebih besar daripada kelas Osteichthyes. Eritrosit matang pada beberapa ikan berbentuk bikonveks tapi pada spesies lain ada yang berbentuk datar dan bikonkaf (Bijanti *et al.*, 2010).



Gambar 3. Sel Darah Merah (Eritrosit)

2.5.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel darah putih (leukosit) memiliki berbagai macam fungsi, erat kaitannya untuk sistem pertahanan tubuh dari pathogen. Kisaran normal leukosit ikan nila adalah $20.000 \text{ sel/mm}^3 - 150.000 \text{ sel/mm}^3$. Peningkatan total leukosit ikan nila diawal perlakuan merupakan tanda adanya fase awal infeksi, stres ataupun leukimia (Syhida, Sarijitno, Slamet dan Angela 2013).

Leukosit dari granulosit terdiri atas neutrofil, esonofil, dan basofil dan leukosit dari agrunolosit terdiri atas limfosit, monosit (Mahasri, Widyaastuti dan Sulmartiwi, 2011). Granulosit memiliki karakteristik yaitu memiliki granula sitoplasma. Neutrofil yang memiliki rentangan diameter antara 8 sampai 14 μm . Eusonofil memiliki karakteristik granula bulat di dalam sitoplasmanya. Rata – rata diameter eusonofil adalah $10 \pm 1 \mu\text{m}$ (Bircan- Yildirim, Cek, Batusta dan Atik, 2011).

2.5.3 Kadar Hematokrit

Hematokrit merupakan presentase darah yang dibentuk oleh eritrosit. Pengukuran hematokrit merupakan hasil presentase eritrosit dalam darah setelah disentrifugasi (Sabilu, 2010). Pemeriksaan hematokrit berguna untuk melihat kondisi kesehatan ikan. Apabila kandungan hematokrit menurun dari kandungan presentase normal maka ikan mengalami anemia, sedangkan bila presentase

hematokrit diatas normal menunjukkan ikan mengalami stres (Dayanti, Lukistyowati dan Riauaty, 2012).

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah dengan plasma darah. Hematokrit ikan bervariasi tergantung faktor nutrisi serta umur. Penurunan hematokrit merupakan petunjuk akan rendahnya kandungan protein pakan, defisiensi vitamin atau ikan terkena infeksi (Laelawati, 2008).

2.5.4 Kadar Hemoglobin

Menurut Fujaya (2004), hemoglobin merupakan kombinasi dari hem, yaitu porphyrin besi dan globin. Atom besi yang terdapat pada hem, berasosiasi dengan satu molekul oksigen dan dikenal sebutan oxygenation. Setiap molekul hemoglobin ikan *elasmobranchi* dan *teleostei* mengandung empat atom besi yang kemudian mengangkut empat molekul oksigen. Hastuti dan Subandiyono (2011), menyatakan juga bahwa besar kecilnya hemoglobin yang terkandung dalam eritrosit menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah.

Hemoglobin yang terkandung dalam sel darah merah berfungsi untuk mengangkut oksigen dari insang menuju ke jaringan. Hemoglobin adalah jumlah rendah, mengindikasikan bahwa ikan sedang dalam keadaan sakit. Sedangkan dalam jumlah tinggi menunjukkan ikan sedang dalam kondisi stress (Wahjuningrum, *et al.*2008). Umumnya kadar hemoglobin darah ikan sehat adalah berkisar antara 12- 14 Hb/100ml (Alamanda, *et al.* 2007)

3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *P.flourescens*” antara lain:

- Akuarium 40x40x40 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- Pipet thoma leukosit
- Pipet thoma eritrosit
- Handtally counter
- Mikroskop cahaya
- Serok (jaring) Ikan
- Ember plastik
- Filter
- Heater akuarium
- Thermometer
- DO meter
- pH meter



- haemocytometer
- Objek glass
- Cover glass

3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ikan Nila (*O. niloticus*)
- Buah Mengkudu (*M. citrifolia*)
- Kertas label
- Bakteri *Pseudomonas fluorescens*
- Kertas label
- Methanol
- Larutan Giemsa
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Kertas Saring
- Akuades
- Larutan Hayem
- Anti Koagulan (Na-sitrat 3.8%)
- Sampel Darah Ikan Nila
- Alumunium Foil
- HCl 0,1 N



3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen adalah metode penelitian yang dilakukan untuk mengetahui hubungan sebab akibat antara dua variable atau lebih yang sudah diatur oleh peneliti, dan seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan melakukan perlakuan lain pada objek penelitian itu. (Zulnaidi,2007)

Sedangkan untuk teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Arikunto (2002), observasi dapat disebut juga pengamatan, yang meliputi kegiatan pemusatan perhatian terhadap suatu obyek dengan menggunakan alat indera yaitu melalui penglihatan, penciuman, pendengaran, peraba dan pengecap, serta mengamati dan berinteraksi langsung dengan objek penelitian. Untuk itu peneliti wajib terlibat langsung dalam kegiatan objek penelitian setiap hari, sehingga nantinya akan dapat memperoleh data yang lebih banyak tentang objek tersebut.

3.3 Rancangan Penelitian

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

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

Keterangan

μ = nilai rata-rata (mean)

T = pengaruh faktor perlakuan

ϵ = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar buah mengkudu dengan dosis 60 ppt, 65 ppt, 70 ppt, dan 75 ppt. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak buah mengkudu terhadap bakteri *P.fluorescens*. Untuk penentuan dosis diperoleh dari uji MIC.

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan menggunakan ekstrak kasar buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). *Minimum inhibitory concentration* (MIC) adalah konsentrasi antimikroba terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam. Nilai mic dapat yang terlihat dari ditentukan oleh sejumlah prosedur pengujian standar menurut Wahi, Arti dan Ajit (2011). Hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 1 .

Tabel 1. Hasil Uji MIC (*Minimum Inhibiting Concentration*) pada Perlakuan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda

Dosis	Hasil Spektrofotometri	keterangan
50 ppt	0,503	Keruh
60 ppt	0,938	Jernih
70 ppt	0,672	Jernih
80 ppt	0,753	Keruh
90 ppt	0,705	Keruh
100 ppt	0,785	Keruh
Kontrol +	0,888	Jernih
Kontrol -	1,060	Keruh

Dari hasil uji MIC yang menunjukkan jernih pertama kali adalah pada dosis 60 ppt yaitu dengan hasil spektrofotometer sebesar 0,938 dan mendekati

nilai kontrol + yaitu sebesar 0,888. Uji MIC dilakukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah dari ekstrak buah mengkudu yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji. Kemudian dilakukan pengamatan kualitatif yaitu dengan melihat adanya kekeruhan pada media sebagai indikasi adanya pertumbuhan bakteri setelah 24 jam inkubasi pada suhu 37°C dan bila medianya bening diindikasikan tidak ada pertumbuhan bakteri. Kemudian dilakukan pengamatan dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 550 nm untuk mengetahui hasil absorbansi dari tiap dosis perlakuan yang berbeda.

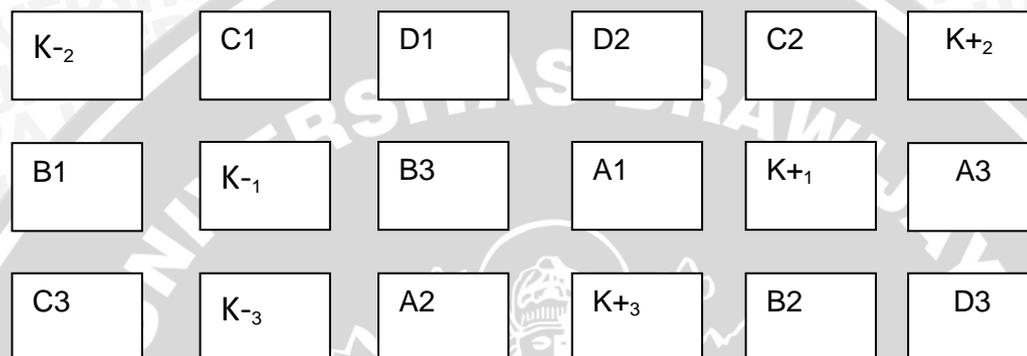
Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar buah mengkudu, sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 18 sampel. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada tabel 1. sebagai berikut :

Tabel 2. Rancangan Perlakuan Uji

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₂
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₄
K-	K ₋₁	K ₋₂	K ₋₃
K+	K ₊₁	K ₊₂	K ₊₃

Keterangan :

- A : Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M.citrifolia*) 60 ppt
 B : Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M.citrifolia*) 65 ppt
 C : Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M.citrifolia*) 70 ppt
 D : Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*m.citrifolia*) 75 ppt



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

- A,B,C,D : Perlakuan
 K(-) : Kontrol Negatif
 K(+) : Kontrol Positif
 1,2,3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a) Persiapan Ikan

Hewan yang akan di uji yaitu ikan nila sebanyak 180 ekor dengan panjang 9 – 12 cm. Ikan nila diperoleh dari stasiun percobaan Sumber Pasir, dari masing-masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor ikan uji. Menurut Mawan (2009) kepadatan ikan untuk uji *invivo* eksperimen dapat disesuaikan sesuai kebutuhan penelitian. Dalam penelitian ini kepadatan ikan uji berjumlah 10 ekor/akuarium. Ikan uji sebelumnya diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses

aklimatisasi ini bertujuan untuk mengkondisikan ikan agar ikan benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Ikan diberi pakan pelet sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB, dan juga dilakukan penyiponan apabila kondisi air pada akuarium telah kotor karena sisa pakan dan feses. Setelah ikan siap dan kondisinya baik, maka ikan siap untuk diuji tantang.

b) Pembuatan Ekstrak Kasar Buah Mengkudu

Pembuatan ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang pertama adalah buah mengkudu di cuci sampai bersih. Buah ditiriskan dan dipotong kecil-kecil. Buah yang sudah di potong selanjutnya dilakukan pengovenan dengan suhu 50° C selama 48 jam. Buah mengkudu yang kering selanjutnya dibuat serbuk dengan cara di blender. Sehingga didapatkan ekstrak buah mengkudu berupa serbuk.

Serbuk mengkudu yang dihasilkan dilakukan perendaman (maserasi) dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 7 yaitu setiap 1 gram serbuk mengkudu, dirtendam dalam 7 ml etanol. Serbuk mengkudu sebanyak 300 gr direndam dengan etanol sebesar 2,1 liter. Maserasi dilakukan selama 24 jam. Hasil yang didapatkan disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan hasil cair yang kemudian dilakukan rotary evaporator, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu sebesar 71,149 gr dengan nilai rendemen 23,83%.

c) Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan dalam uji tantang ini adalah akuarium berukuran 30x30x30 cm sebanyak 18 buah. Akuarium sebelumnya dicuci dengan detergen dan kemudian direndam dengan khlorin selama 30 menit, kemudian diberi Na-Thiosulfat untuk menetralkan. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan

selama 1 hari sebelum diisi dengan air tawar. Air diisi sebanyak 12 liter dan dilengkapi dengan aerasi juga heater untuk menjaga kandungan oksigen dalam air serta untuk menjaga suhu air.

d) Pembiakan Bakteri *P.fluorescens*

Bakteri *P. fluorescens* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara, Jawa tengah. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^8 sel/ml. Sedangkan bakteri yang akan digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Untuk itu dilakukan pengenceran agar mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml, dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan :

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

$$V_1 \cdot 6 \cdot 10^8 = 12.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{12 \cdot 10^{10}}{6 \cdot 10^8}$$

$$V_1 = 2 \cdot 10^2$$

$$V_1 = 200 \text{ ml}$$

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

Penginfeksi bakteri $6 \cdot 10^8$ sel/ml dilakukan dengan cara, pertama bakteri ditanam pada media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan diinkubasi selama 1 hari pada inkubator. Bakteri $6 \cdot 10^8$ sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media infeksi dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus di atas. Berdasarkan rumus di atas didapatkan bahwa untuk mendapatkan bakteri kepadatan $6 \cdot 10^7$ sel/ml sebanyak 12 liter (12.000 ml)

adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan 10^8 sel/ml sebanyak 200 ml ke dalam air sebanyak 11.800 ml.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Penginfeksi Bakteri Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Penginfeksi bakteri *P.fluorescens* dengan kepadatan 10^7 sel/ml kepada ikan uji dilakukan dengan cara perendaman selama 24 jam. Bakteri yang telah ada kemudian diencerkan dengan air media pemeliharaan. Setelah perendaman dengan bakteri, kemudian ikan dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Ikan dipelihara selama 1 minggu. Pengukuran suhu, pH dan DO dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB).

b) Pemberian Ekstrak Kasar Buah mengkudu (*M.citrifolia*) pada Ikan Nila

Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu (*M.citrifolia*) dilakukan dengan cara pertama akuarium diisi air sebanyak 12 liter dan kemudian tambahkan ekstrak kasar buah mengkudu sesuai dosis yang telah ditentukan (60, 65, 70 dan 75). Akuarium diberi aerasi untuk menambah kandungan oksigen terlarut. Selanjutnya sampel darah ikan koi yang terinfeksi bakteri diambil sebelum perendaman dan dihitung total eritrosit, total leukosit dan difensial leukosit. Kemudian direndam ikan nila masing-masing sebanyak 10 ekor/akuarium selama kurang lebih 24 jam. Selanjutnya dipindahkan ke akuarium baru yang berisi air tawar dan dipelihara selama 1 minggu untuk diamati total eritrosit, leukosit, hemoglobin, dan hematokrit. Kemudian darah ikan diambil setelah penginfeksi selama 12, 18, 24 dan 36 jam.

c) Pengambilan sampel darah

Menurut Maswan (2009), Ikan ujiantang dan yang telah di beri perlakuan diambil darahnya dilakukan setiap satu kali selama seminggu. Ikan

diletakkan pada wadah, kemudian diambil darahnya dengan spuit yang sebelumnya dibilas dengan Na-sitrat sebagai anti koagulan. Darah diambil pada bagian caudal peduncle. Spuit dimasukkan perlahan dengan posisi 45° dan tarik perlahan-lahan sampai darah masuk ke dalam spuit. Kemudian darah dimasukkan ke dalam *appendorf*.

d). Uji Hematologi

• Penghitungan Jumlah Eritrosit

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah merah dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Sel darah merah dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{SDM} = (a/n) \times (1/v) \times F_p$$

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

F_p = faktor pengenceran

Jumlah sel darah merah dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma eritrosit sampai skala 0,5, kemudian larutan Hayem juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 101 (pengenceran 1:200). Pipet bulir digoyang-goyangkan agar darah dan larutan hayem bercampur rata, setelah bercampur rata empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke haemositometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa

kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

- **Penghitungan Jumlah Leukosit**

Jumlah sel darah putih dihitung dengan cara pertama-tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet thoma leukosit sampai skala 0,5, kemudian larutan Turk juga dihisap sampai skala menunjukkan pada angka 11 (Pengenceran 1:20). Pipet bulir digoyang goyangkan agar darah dan larutan Turk bercampur rata. Empat tetesan pertama dibuang dan tetesan selanjutnya diteteskan ke *haemocytometer*, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata, sehingga memudahkan kita pada saat perhitungan sel darah putih pada mikroskop. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel leukosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

Menurut Mones (2008), penghitungan jumlah sel darah putih dilakukan dengan menggunakan *haemocytometer*. Jumlah sel darah putih dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SDM = (a/n) \times (1/v) \times Fp$$

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

A = jumlah sel darah putih yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

Fp = faktor pengenceran

Leukosit dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu agranulosit dan granulosit berdasarkan ada-tidaknya granula pada sitoplasma. Agranulosit terdiri atas limfosit dan monosit. Granulosit terdiri atas neutrofil, eosinofil dan basofil.

- **Pengukuran Kadar Hemoglobin**

Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan metode Sahli dan diacu sesuai dengan prosedur Fernando dan Rajapaksa (1990) sebagai berikut :

- Tabung sahli diisi dengan larutan 0,1 N HCl.
- Diambil darah ikan uji sebanyak 0,02 ml dan dipindahkan pada tabung sahli yang telah berisi 0,1 N HCl.
- Tabung sahli dikocok dan dibiarkan selama 5 menit.
- Aquades ditambahkan pada tabung sahli hingga warna sampel sama dengan warna standar tabung sahli.

- **Pengukuran Kadar Hematokrit**

Pengukuran kadar hematokrit dilakukan sesuai dengan metode Astria, Maharani, dan Putri (2013) dan Rashidi, Khara dan Mousavi – Sabet (2012), sebagai berikut :

- Diisi tabung kapiler hematokrit dengan darah yang telah diberi antikoagulan .
- Dimampatkan tabung kapiler dengan plastisin.
- Disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm.
- Diukur dengan menggunakan tabel hematokrit.

3.5. Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan mas yang meliputi penghitungan sel

darah merah (eritrosit), penghitungan sel darah putih (leukosit), kadar hematokrit dan kadar hemoglobin. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan nila yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan nila setelah diobati yaitu dengan melihat jumlah, leukosit, eritrosit, kadar hematokrit, dan kadar hemoglobin ikan nila.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini adalah kualitas air yang meliputi suhu, pH, dan kandungan oksigen terlarut dalam air atau DO (Dissolved Oxygen).

3.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan analisa secara statistik dengan mempergunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

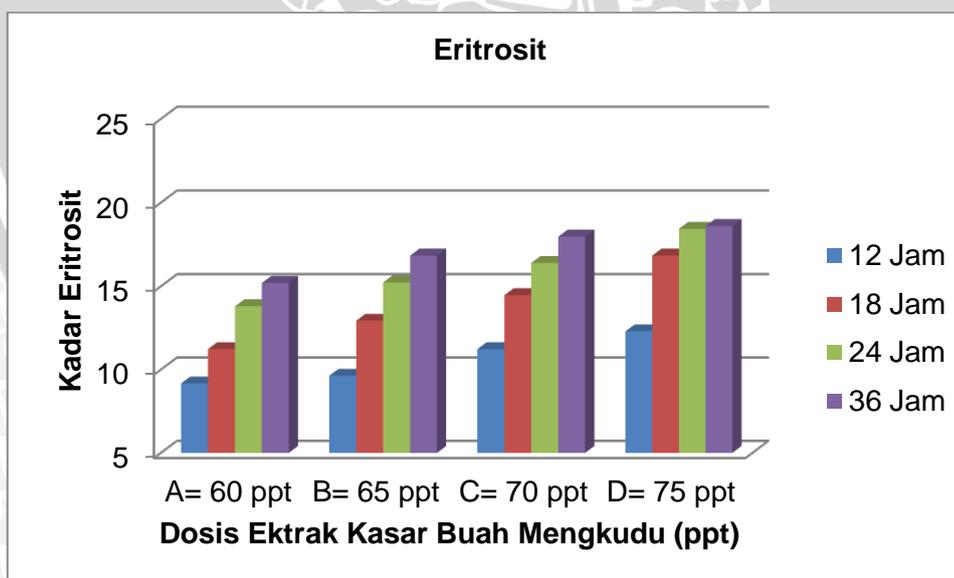
4.1 Analisis Hematologi

4.1.1 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan maka diperoleh jumlah eritrosit ikan nila seperti pada Lampiran 3. Perlakuan yang digunakan adalah 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A=60 ppt, B=65 ppt, C=65 ppt dan D=70 ppt . Jumlah rata – rata eritrosit dapat dilihat pada Tabel 3.dan Gambar 5.

Tabel 3. Jumlah Rata – Rata Eritrosit (10^6sel/mm^3) Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12	18	24	36
A= 60 ppt	9.17	11.23	13.80	15.20
B= 65 ppt	9.63	12.93	15.23	16.83
C= 70 ppt	11.23	14.47	16.40	17.97
D= 75 ppt	12.3	16.83	18.43	18.60



Gambar 5. Diagram Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu Terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Berdasarkan Gambar 5. jumlah eritrosit setelah 12 jam pemberian ekstrak kasar buah mengkudu mengalami perbedaan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah eritrosit ikan semakin meningkat.

Data hasil pengamatan eritrosit kemudian dihitung sidik ragamnya. Perhitungan sidik ragam eritrosit ikan nila selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap eritrosit ikan nila pada tiap jam. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
A = 60 ppt						
B = 65 ppt	18.85**	17.61**	32.48**	18.57**	4.07	7.59
C = 70 ppt						
D = 75 ppt						

Keterangan * = Berbeda nyata, ** = Berbeda Sangat Nyata

Tabel 4 menyatakan nilai F hitung dari jam ke 12 sampai ke 36 lebih besar dari F tabel 1% berbeda sangat nyata sehingga dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini :

Tabel 5. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis Perlakuan	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A=60 ppt	a	a	a	a
B=65 ppt	b	b	b	b
C=70 ppt	c	c	c	c
D=75 ppt	d	d	d	d

Berdasarkan perhitungan BNT pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu jumlah eritrosit ikan nila 12 jam pemeliharaan, perlakuan A berbeda sangat nyata pada perlakuan B. Perlakuan C sangat berbeda nyata pada

perlakuan D. Eritrosit mempunyai peranan utama sebagai pengangkut oksigen dalam tubuh (Jhony *et al.*, 2003). Rendahnya jumlah sel darah merah menunjukkan ikan menderita kekurangan darah (anemia) (Nabib dan Pasaribu, 1989).

Pada pengamatan 18 jam hasil perhitungan uji BNT pada tiap dosis yang diberikan menunjukkan hasil berbeda sangat nyata. Pengamatan pada 24 jam juga mengalami hasil yang demikian. Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata pada jumlah eritrosit ikan nila pengamatan terakhir yaitu pada 36 jam. Pemberian ekstrak kasar buah mengkudu terus mengalami peningkatan dengan pemberian dosis yang tinggi pula. Ikan yang normal memiliki jumlah eritrosit yang tinggi, pada grafik di atas pada perlakuan D (75 ppt) memiliki jumlah eritrosit tertinggi sehingga perlakuan D (75 ppt) mendekati kondisi ikan yang normal atau sehat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri, Basuki dan Hastuti (2013), eritrosit ikan normal berkisar $40,76 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$ - $94,37 \times 10^6 \text{ sel/mm}^3$.

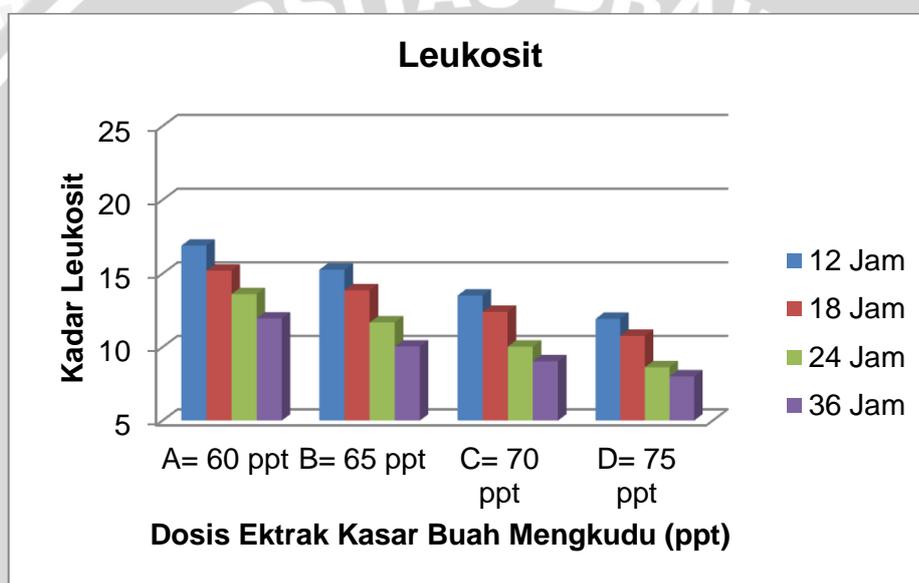
4. 1.2 Jumlah Leukosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan maka diperoleh jumlah leukosit ikan nila seperti pada Lampiran 4. Perlakuan yang digunakan adalah 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A=60 ppt, B=65 ppt, C=65 ppt dan D=70 ppt. Jumlah rata – rata leukosit dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 6.

Hasil total leukosit menunjukkan penurunan pada tiap jam pengamatan. Semakin tinggi dosis yang diberikan berdampak dengan penurunan jumlah leukosit. Hal ini diduga pemberian ekstrak kasar buah mengkudu mampu menjadi antibakteri dan mempengaruhi gambaran hematologi ikan nila.

Tabel 6. Jumlah Rata – Rata Leukosit ($\times 10^3$ sel/mm³) Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12	18	24	36
A= 60 ppt	16.9	15.20	13.61	11.95
B= 65 ppt	15.27	13.87	11.67	10.04
C= 70 ppt	13.51	12.40	10.03	9.04
D= 75 ppt	11.92	10.76	8.63	8.00



Gambar 6. Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu Terhadap Jumlah Leukosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan.

Berdasarkan Gambar 6 jumlah leukosit setelah 12 jam pemberian ekstrak kasar buah mengkudu mengalami perbedaan. Semakin tinggi dosis yang diberikan maka jumlah leukosit ikan semakin menurun.

Data hasil pengamatan leukosit kemudian dihitung sidik ragamnya. Perhitungan sidik ragam leukosit ikan nila selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh sangat nyata terhadap leukosit ikan nila pada tiap jam. Hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Sidik Ragam Leukosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
A = 60 ppt						
B = 65 ppt	18.79**	35.79**	70.82**	32.17**	4.07	7.59
C = 70 ppt						
D = 75 ppt						

Keterangan : * = Berbeda Nyata, ** = Berbeda Sangat Nyata

Tabel 7 menyatakan nilai F hitung dari jam ke 12 sampai ke 36 lebih besar dari F tabel 1% berbeda sangat nyata sehingga dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 8 berikut ini :

Tabel 8. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Leukosit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis Perlakuan	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A=60 ppt	a	a	a	a
B=65 ppt	a	b	b	b
C=70 ppt	b	c	c	c
D=75 ppt	c	d	d	d

Berdasarkan perhitungan BNT pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu jumlah leukosit ikan nila 12 jam pemeliharaan, perlakuan A dan B menunjukkan hasil yang sama. Namun perlakuan B berbeda sangat nyata pada perlakuan C dan D.

Pada perlakuan B, C dan D menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata tiap jamnya. Jumlah total leukosit menunjukkan penurunan dengan bertambahnya dosis yang diberikan. Perlakuan A dengan dosis 60 ppt didapatkan jumlah total leukosit sebesar $16,10 \times 10^3$ sel/mm³ merupakan hasil tertinggi. Hal ini diduga penginfeksiannya dari bakteri *Pseudomonas fluorescens*, berkaitan dengan fungsi sel darah putih sebagai alat pertahanan. Pada perlakuan D pengamatan 36 jam jumlah total leukosit sebesar 8×10^3 sel/mm³ merupakan jumlah terkecil. Diduga pemberian ekstrak kasar buah mengkudu mampu membunuh bakteri *Pseudomonas fluorescens* karena diduga zat aktif yang

berperan sebagai antibakteri dalam buah mengkudu berupa flavonoid. Sesuai dengan pernyataan Pratiwi (2008), flavonoid bersifat sebagai antibakteri, flavonoid merupakan komponen aktif tumbuhan yang bertindak sebagai antimikroba dan antivirus sebagai penampung yang baik bagi radikal hidroksil dan superoksida.

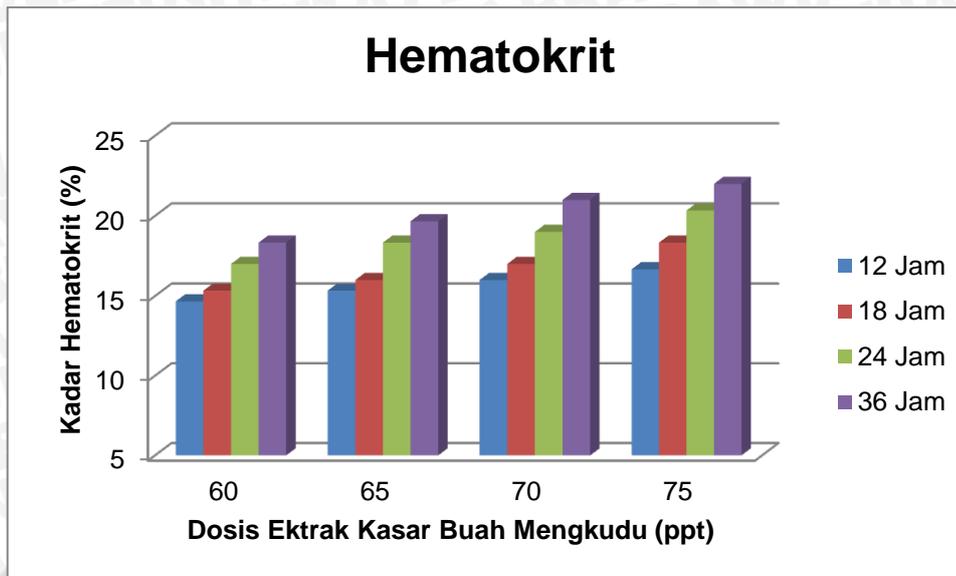
4. 1.3 Kadar Hematokrit

Pada pengamatan kadar hematokrit ikan nila yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dengan pengobatan pemberian ekstrak kasar buah mengkudu. Didapatkan jumlah rata – rata hematokrit ikan nila selama pemeliharaan dapat dilihat pada Gambar 7 dan Tabel 9.

Tabel 9. Jumlah Rata – Rata Kadar Hematokrit(%) Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12	18	24	36
A= 60 ppt	14.66	15.33	17.00	18.33
B= 65 ppt	15.33	16.00	18.33	19.67
C= 70 ppt	16	17.00	19.00	21.00
D= 75 ppt	16.66	18.33	20.33	22.00

Pada Tabel 9 menunjukkan bahwa kadar hematokrit mengalami peningkatan seiring dengan penambahan dosis yang diberikan. Dan pada perlakuan D = 75 ppt pengamatan 36 jam didapatkan hasil tertinggi untuk kadar hematokrit ikan nila yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dengan pemberian ekstrak kasar buah mengkudu yang diduga mampu meningkatkan kadar hematokrit ikan nila. Selanjutnya bisa dilihat pada Gambar 7 yang menunjukkan kadar hematokrit selama pemeliharaan.



Gambar 9. Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu Terhadap Kadar Hematokrit Ikan Nila Selama Pemeliharaan.

Berdasarkan Gambar 7 kadar hematokrit tiap jam mengalami peningkatan seiring dengan dosis yang diberikan. Hematokrit merupakan nilai perbandingan antara volume sel darah dengan plasma darah. Kadar hematokrit dapat digunakan untuk menunjukkan kesehatan ikan (Hastuti, 2004). Dari data tersebut lalu dilakukan sidik ragam pada Tabel 10 berikut.

Tabel 10. Sidik Ragam Kadar Hematokrit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
A = 60 ppt						
B = 65 ppt	8.88**	5.57*	8.66**	8.33**	4.07	7.59
C = 70 ppt						
D = 75 ppt						

Keterangan ** = Berbeda sangat nyata, * = Berbeda nyata

Tabel 10 menyatakan nilai F hitung 12 jam menunjukkan berbeda sangat nyata, namun F hitung pada 18 jam menunjukkan berbeda nyata karena hasilnya lebih kecil dari 1%. Pada pengamatan 24 jam dan 36 jam menunjukkan hasil

berbeda sangat nyata. Perhitungan dilanjutkan pada Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Nilai Nyata Terkecil (BNT) hematokrit ikan nila dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) hematokrit Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
Perlakuan				
A=60 ppt	a	a	a	a
B=65 ppt	a	a	a	a
C=70 ppt	b	a	b	b
D=75 ppt	c	b	c	c

Berdasarkan perhitungan BNT pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu terhadap jumlah hematokrit ikan nila selama pemeliharaan 12 jam pemeliharaan, Perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Perlakuan C berbeda nyata dengan perlakuan B. Dan pada perlakuan D berbeda nyata pada perlakuan B dan C. Pemeliharaan 18 jam menunjukkan hasil yang tidak jauh beda pada perlakuan sebelumnya, namun pada perlakuan D menunjukkan berbeda nyata pada perlakuan A, B, dan C.

Selanjutnya pada pada pemeliharaan 24 dan 36 jam menunjukkan hasil yang sama pada pengamatan pemeliharaan 12 jam, hal ini dapat dilihat pada Tabel 11 diatas. Perlakuan terbaik terdapat pada perlakuan D yakni dengan dosis 75 ppt. Hematokrit digunakan untuk mengukur perbandingan antara sel darah dengan plasma., sehingga hematokrit memberikan rasio total eritrosit dengan volume darah dalam tubuh. Nilai hematokrit pada ikan teleostei berkisar antara 20 – 30 % (B0nd, 1979). Menurut *Angka et al.*, (1985), nilai hematokrit adalah parameter yang berpengaruh terhadap pengukuran volume sel darah. Menurut Randall (1970) *dalam* Maryani (2003), nilai hematokrit yang lebih kecil dari 22%

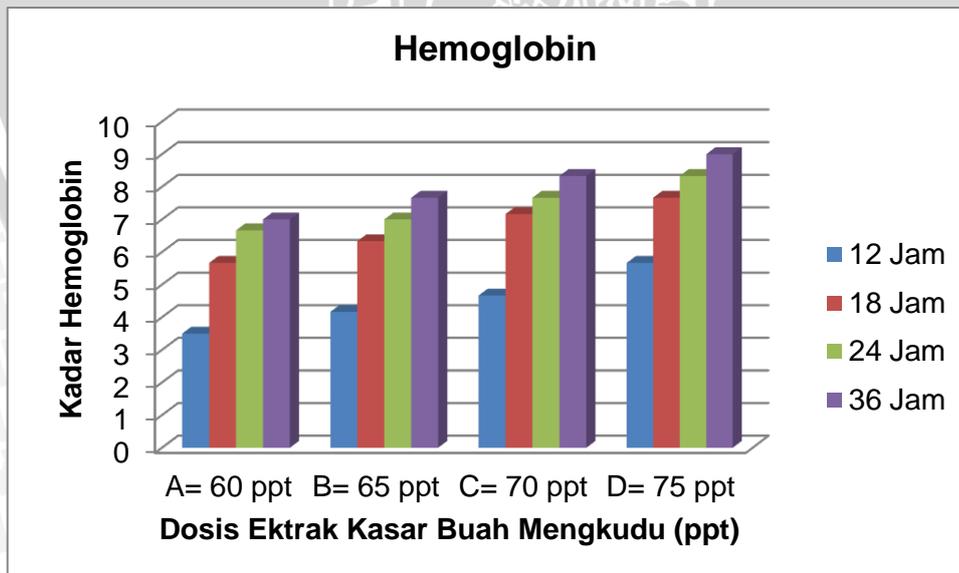
menunjukkan bahwa ikan mengalami anemia dan kemungkinan terinfeksi penyakit.

4. 1.4 Kadar Hemoglobin

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan maka diperoleh kadar hemoglobin ikan nila seperti pada Lampiran 6 Perlakuan yang digunakan adalah 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A=60 ppt, B=65 ppt, C=65 ppt dan D=70 ppt .Jumlah Jumlah rata – rata Hemoglobin dapat dilihat pada Tabel 12.dan Gambar 8

Tabel 12. Jumlah Rata – Rata Hemoglobin (Hb/100ml) Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12	18	24	36
A= 60 ppt	3.5	5.67	6.67	7.00
B= 65 ppt	4.16667	6.33	7.00	7.67
C= 70 ppt	4.66667	7.17	7.67	8.33
D= 75 ppt	5.66667	7.67	8.33	9.00



Gambar 8. Diagram Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu Terhadap Hemoglobin Ikan Nila.

Semakin tinggi dosis yang diberikan maka nilai hemoglobin juga semakin tinggi dan semakin tinggi hemoglobin pada pengamatan darah maka kondisi ikan mendekati normal atau sehat. Hastuti dan Subandiyo (2011), menyatakan juga bahwa besar kecilnya hemoglobin yang terkandung pada eritrosit menunjukkan kapasitas pengangkutan oksigen oleh darah. Berdasarkan jumlah rata – rata hemoglobin yang diperoleh saat pengamatan dapat dilihat pada lampiran 6. Dari hasil tersebut maka dilakukan perhitungan sidik ragam dan diperoleh hasil pada Tabel 13, sebagai berikut.

Tabel 13. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam	5%	1%
A = 60 ppt						
B = 65 ppt	10**	8.69**	8.66**	3.22 ^{ns}	4.07	7.59
C = 70 ppt						
D = 75 ppt						

Keterangan ** = Berbeda sangat nyata, ^{ns} = tidak berbeda nyata

Tabel 13 menyatakan bahwa nilai F hitung pada 12 dan 18 jam lebih besar dari F tabel 5% dan 1% berbeda sangat nyata. Pada jam ke 24 hasil juga menunjukkan hal yang sama. Namun pada jam ke 36 menunjukkan hasil ^{ns} tidak berbeda nyata karena F hitung kurang dari F 1%. Perhitungan dilanjutkan pada uji beda nyata terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 14 berikut ini :

Tabel 14. Uji Beda Nyata (BNT) Hemoglobin Ikan Nila Selama Pemeliharaan

Dosis	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
Perlakuan				
A=60 ppt	a	a	a	a
B=65 ppt	b	a	b	a
C=70 ppt	c	b	c	b
D=75 ppt	d	c	d	c

Berdasarkan perhitungan BNT pengaruh pemberian ekstrak kasar buah mengkudu terhadap jumlah hemoglobin ikan nila selama 12 jam menunjukkan berbeda nyata tiap dosis yang diberikan. Namun, pada pengamatan 18 jam perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B.

Sedangkan pada pengamatan 24 jam hasil yang didapatkan menunjukkan berbeda nyata pada tiap perlakuan yang diberikan. Pengamatan pada 36 jam menunjukkan bahwa perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B. Jumlah kadar hemoglobin ikan nila selama pemeliharaan berkisar antara 3.5 sampai 9. Konsentrasi hemoglobin ikan nila normal adalah 9 – 12 Hb/ml (Pratiwi, 2003).

4.2 Pengamatan Gejala Klinis

Selama masa pemeliharaan satu minggu, gejala klinis yang terlihat dari ikan yang dipelihara diantaranya adalah pada kontrol negatif K (-) ikan masih terlihat sehat dan tidak terlihat gejala klinis yang nyata, tetapi pada kontrol positif K (+) terlihat mata pucat dan menonjol, sisik mengelupas, insang terlihat pucat, pergerakan lamban, nafsu makan menurun, berenang di permukaan, adanya kematian pada ikan nila, terjadi pembengkakan pada bagian perut. Pada perlakuan A (65 ppt) insang terlihat pucat, mata terlihat pucat dan

menonjol, berenang di permukaan, terjadi penurunan nafsu makan, pergerakan lamban, adanya kematian pada ikan nila. Pada perlakuan B (65 ppt) insang terlihat pucat, mata terlihat pucat, nafsu makan menurun, berenang di permukaan, adanya kematian pada ikan nila. Perlakuan C (70 ppt) ikan lebih aktif dibandingkan dengan perlakuan A (60 ppt) dan B (65 ppt), nafsu makan menurun. Pada perlakuan D (75 ppt) ikan lebih aktif dibandingkan perlakuan A (60 ppt), B (65 ppt) dan C (70 ppt), ikan terlihat lebih sehat dan respon terhadap makanan baik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ramdan (2009), ikan yang terserang *Pseudomonas fluorescens* biasanya akan memperlihatkan tanda-tanda sebagai berikut: warna tubuhnya berubah menjadi agak gelap, kulitnya menjadi kasar dan timbul pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok (*haemorrhagic*), sering terjadi pendarahan pada organ bagian dalam seperti hati, ginjal, maupun limfa. Sering juga terlihat perutnya gak kembung (*dropsy*), seluruh siripnya rusak dan insangnya menjadi berwarna keputih-putihan serta mata rusak dan agak menonjol (*exophthalmia*).

Berdasarkan gejala klinis di atas, dapat diduga bahwa ikan yang sudah diinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens* kemudian diberi pengobatan dengan ekstrak kasar buah mengkudu menunjukkan respon yang berbeda. Pada dosis A (60 ppt) ikan masih belum sembuh dari infeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens*, tetapi pada dosis yang lebih tinggi yaitu dosis D (75 ppt) ikan mampu diobati dari infeksi *Pseudomonas fluorescens*. Gejala klinis yang terlihat pada ikan nila dari penelitian ini disajikan pada Gambar 9 berikut ini:



(a)

Gambar 9. Sisik Mengelupas (a)

4.3 Kualitas Air

Kualitas air memegang peranan yang sangat penting dan harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan, karena sangat berpengaruh bagi kelangsungan hidup ikan tersebut. Beberapa parameter yang diamati dalam penentuan kualitas air selama penelitian adalah suhu, derajat keasaman (pH) dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran kualitas air dilakukan pada setiap pagi dan sore. Data pengukuran parameter kualitas air ditunjukkan pada tabel dalam lampiran 8.

4.3.1 Suhu

Suhu merupakan faktor pembatas dalam lingkungan air. Suhu air adalah variable lingkungan yang paling penting. Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme, pertumbuhan, makan, reproduksi, distribusi dan perilaku migrasi organisme air. Suhu juga mempengaruhi kelarutan gas, kelarutan gas menurun dengan adanya peningkatan suhu (Lawson, 2011).

Berdasarkan hasil pengukuran kualitas air, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 25^oC -26,62^oC. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Safitri, Sugito dan Sumarti (2012), suhu optimal untuk pertumbuhan ikan nila antara 25^oC -30^oC. Tingkat pertumbuhan

ikan nila biasanya akan terganggu jika nilai suhu habitatnya lebih rendah dari 14°C atau pada tingkat suhu di atas 38°C. pada suhu 6°C atau 42°C ikan nila akan mengalami kematian.

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) air dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan. Derajat keasaman air yang sangat rendah atau sangat asam dapat menyebabkan kematian ikan dengan gejala gerakannya tidak teratur, tutup insang bergerak sangat aktif dan berenang sangat cepat dipermukaan air. Keadaan air yang sangat basa juga dapat menyebabkan pertumbuhan ikan terhambat (Cahyono, 2000).

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 7,96-8,04. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, sesuai pernyataan Safitri *et al*, (2012), pH yang optimal untuk pertumbuhan ikan nila adalah berkisar 7-8.

4.3.3 Oksigen terlarut

Oksigen sangat penting untuk kehidupan ikan dan hewan air lainnya. Karena kalau oksigen terlarut di suatu perairan sangat sedikit maka perairan tersebut tidak baik bagi ikan dan hewan air lainnya. Tetapi kalau oksigen terlarut dalam jumlah banyak, ikan memang jarang sekali mati, tetapi dalam keadaan tertentu dapat mematikan ikan (Suhaili, 1984).

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara 4,1-5,06 mg/l. nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena sesuai dengan pernyataan Mantau dan Sumarty (2011) bahwa ikan nila dapat hidup pada kandungan oksigen terlarut berkisar antara 4,00-5,50 mg/l.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Buah Mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap Hematologi Ikan Nila (*O.niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *P.fluorescens*” adalah sebagai berikut :

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pengamatan darah ikan nila pada 36 jam dengan dosis 75 ppt menunjukkan jumlah eritrosit, leukosit, kadar hematokrit dan hemoglobin sudah dalam kisaran normal. Hasil yang diperoleh pada total eritrosit perlakuan D sebesar $18,60 \times 10^6$ sel/mm³. Total leukosit diperoleh hasil pada perlakuan D $8,00 \times 10^3$ sel/mm³. Sedangkan kadar hasil hematokrit pada perlakuan D pengamatan 36 jam sebesar 22%. Dan nilai hemoglobin ikan nila perlakuan D sebesar 9 Hb/100 ml.

5.2 Saran

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlu dilakukan penelitian lanjutan, karena pada pengamatan 12, 18, dan 24 jam kadar hemoglobin, hematokrit, leukosit dan eritrosit masih dibawah kisaran normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Amar A, Sumarmo L, Makosim S, Magdalena M, dan Yulianto DT. 2004. Analisis mikroorganisme, kandungan alkohol dan asam lemak sari buah mengkudu dengan gas chromatography . Proseding Seminar Nasional dan Kongres Perhim - punan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI) di Jakarta 17-18 Desember 2004.
- Anonymous, 2013 .Bakteri Penyebab Penyakit Pada Ikan. <http://imi-jogja.blogspot.com/2012/11/bakteri-penyebab-penyakit-pada-ikan.html>. Diakses pada 13 Februari 2015.
- Attia, A., S. Mesalhy, Y. A. Galil dan M. Fathi. 2012. Effect of Injection Vaccination against *Pseudomonas fluorescens* on Specific and Non-Specific Immune Response of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Using Different Prepared Antigens. *Open Acces Scientific Reports*. **1** (12): 1-7.
- Baehaki, A., M. T. Suhartono, N. S. Palupi dan T. Nurhayati. 2008. Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal. Teknol. dan Industri Pangan*. **19** (1): 80-87.
- Batubara, U. Mardhiah. 2009. Pembuatan pakan ikan dari protein sel tunggal bakteri fotosintetik anoksigenik dengan memanfaatkan limbah cair tepung tapioca yang diuji pakan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. USU Medan. 56 Hlm
- Bijanti, R, M. G. A. Yuliani, R. S. Wahjuni, R. B. Utomo. 2010. Buku Ajar Patologi Klinik Veteriner. Universitas Airlangga Press. Surabaya. 97 hlm.
- Budhie, D.S. 2011. Potensi Buah Mengkudu Sebagai Pelarut Untuk Memisahkan Gas Co₂ Dari Gas Alam Melalui Kontaktor Membran Serat Berlubang. Fakultas Teknik Program Studi Teknik Kimia Depok.
- Cahyono, B. 2001. Budidaya Ikan di Perairan Umum. Kanisius.Yogyakarta. 68hlm.
- Dewi , F.K . 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia*, Linnaeus) Terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Djauhariya, E. 2003. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Tanaman Obat Potensial. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. *Pengembangan Teknologi TRO*. **15** (1) : 1-16.
- Dopongtonung, A.2008. Gambaran Darah Ikan Lele (*Clarias spp*) yang berasal dari Daerah Lalaladon – Bogor. *Skripsi*.IPB.56 hlm.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air. Kanisius. Yogyakarta. 259hlm.
- Elyana, P. 2011. Pengaruh penambahan ampas kelapa hasil fermentasi *Aspergillus oryzae* dalam pakan komersial terhadap pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Teknik Pengembangan Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Galuh, Rahmania. 2010. Mengkudu Budidaya dan Prospek Agribisnis. Penerbit Kanisius. 87 hlm.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J. T. Staley dan S.T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. A Waverly Company. London. 992pp.
- Irianto, A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gajah Mada Universitas Press. Yogyakarta. 256 hlm.
- Israk, G. 2003. Tingkah laku ikan nila ketika menerobos mata jarring dengan bentuk dan ukuran yang berbeda. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. 58 hlm.
- Jhony, F., Zafran, D. Roza dan K. Mahardika. 2003. Hematologi Beberapa Spesies Ikan Laut Budidaya. *J. Penelitian Perikanan Budidaya*. 9 (4): 123 – 130.
- Khairuman dan K. Amri. 2008. Budidaya Ikan Nila Secara Intensif. Agromedia Pustaka. Jakarta. 146 hlm.
- Kordi, M. G. H. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Penerbit Rineka Cipta dan Penerbit Bina Adiaksara. Jakarta. 190 hlm.
- Kordi, M. G. 2009. Budidaya Perairan. Buku ke-2. PT. Citra Aditya Bakti : Yogyakarta. 968 hlm.
- Kresno, S. B. 1991. Imunologi Diagnosis dan Prosedur Laboratorium. Edisi kedua. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 288 hlm.
- Lagler, K.F, Bardach J.E, R.R Miller dan D.R.M Passino. 1977. *Ichthyology*. New York – London: John Willey and Sons. 522 pp.
- Lesmana, D. S. 2003. Mencegah dan Menanggulangi Penyakit Ikan Hias. Penebar Swadaya. Jakarta. 80 hlm.
- Mastan, S.A. 2013. Pseudomonas Septicemia in *Labeo Rohita* (Ham.) and *Cyprinus Carpio* (Linn.) in Andra-Natural Occurrence and Artificial Challenge. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5 (2): 564-568.
- Nursida, N.F. 2011. Polimorfisme Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) yang Tahan Bakteri *Vibrio alginoliticus* dan Toleran Salinitas Rendah Serta Salinitas Tinggi. *Skripsi*. UNHAS. Makassar.
- Partosuwiro, S dan Y. Warseno. 2011. Kiat Sukses Budidaya Ikan Nila. Intan Sejati. Klaten. 137 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Qnoze, F. E. D. 2011. Hama Dan Penyakit Pada Ikan. Ghalia Indonesia. Jakarta. 39 hlm.

- Radiarta, N. 2002. Pemanfaatan Penginderaan Jauh dan Sistem Informasi Geografis Untuk Manajemen sumber Daya Perikanan Budidaya Di Indonesia. *Jurnal Akuakultur*. **3**(1):2 – 11.
- Salsabila, A., F. Basuki, dan S. Hastuti. 2013. Performa pertumbuhan strain ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) yang berbeda pada sistem budidaya minapadi. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2** (4):1-6
- Sastrahidayat, I. R. 1990. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya bekerjasama dengan "Usaha Nasional: Surabaya. 365 hlm.
- Setyo B. P. 2006. Efek konsentrasi kromium (Cr+3) dan salinitas berbeda terhadap efisiensi pemanfaatan pakan untuk pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Skripsi*. UNDIP: Semarang. 118 hlm
- Suryowinoto, S. M. 1997. Flora Eksotika, Tanaman Peneduh. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Syahida, I.E.A., Sarjito, S.B. Prajitno dan A. Mariana. 2013. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Profil Darah dan Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *A.hydropilla*. *Journal .of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4):94 – 107.
- Twigg, D. 2008. Buku Pintar Koi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 133 hlm.
- Yuliati, P., T. Kadarini., Rusmaedi, dan S. Subandiyah. 2003. Pengaruh padat penebaran terhadap pertumbuhan dan sintasan dederan ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*) di kolam. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. **3** (2):63-66
- Yulvizar, C., I. Dewiyanti, dan C. N. N. Defira. 2014. Seleksi Bakteri Berpotensi Probiotik Dari Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Indegenous Jantho Berdasarkan Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. **6** (2): 20-24.

LAMPIRAN

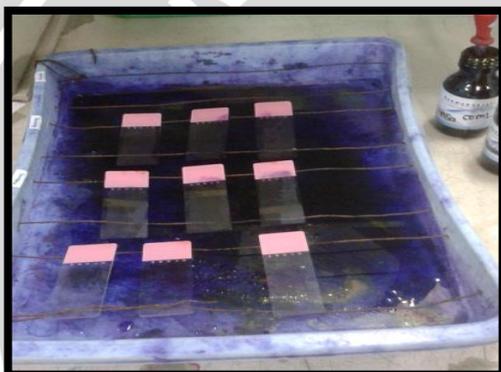
Lampiran 1. Alat-alat Penelitian



Rotary Evaporator



Aquarium



Objek Glass



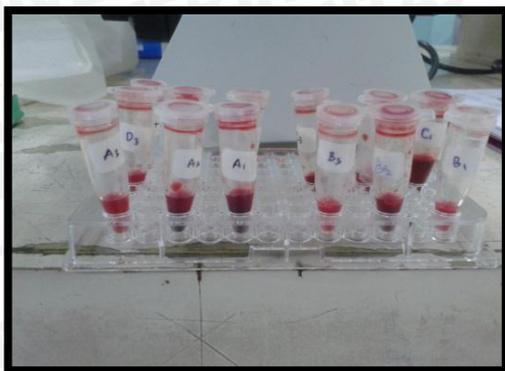
Selang Aerasi dan Aerator



Timbangan Analitik



Sahli Meter



Appendorf



Nampan dan Pipet Tetes



pH meter



DO meter



Sprit disposable



Haemositometer



Washing botle



Handtally counter



Timbangan digital



Mikroskop



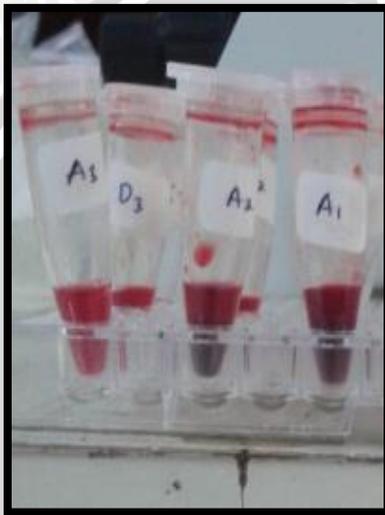
Lampiran 2. Bahan-bahan Penelitian



Ikan Nila (*O. niloticus*)



Ekstrak Kasar Buah Mengkudu



Sampel Darah Ikan Nila



Turk



Hayem



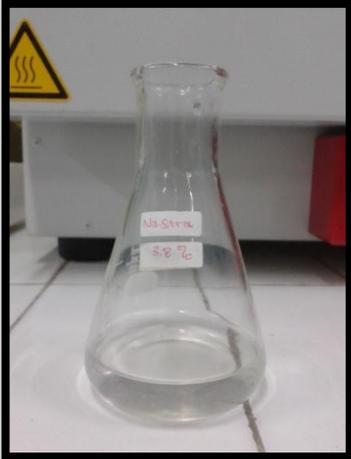
Giemsa



HCl 0,1 N



Methanol



Na Sitrat



Lampiran 3. Perhitungan BNT Eritrosit

a. Rataan Eritrosit 12 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	9.2	9.21	9.1	27.51	9.17	0.06
B	9.8	9.6	9.5	28.9	9.63	0.15
C	11.5	11.3	10.9	33.7	11.63	0.31
D	13.4	11.2	12.3	36.9	12.30	1.10
				127.01		

Fk 1344.295

Jk Total 21.469

Jk Perlakuan 18.80

Jk Acak 2.66

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	18.80	6.26	18.85	4,07	7,59
Acak	8	2.66	0.33	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$ = 0.4708

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 1.0858

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1.5798

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		9.17	9.63	11.63	12.30	
A	9.17	—				A
B	9.63	0.46	—			B
C	11.63	2.06	1.06	—		C
D	12.30	3.13	2.67	1.07	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Eritrosit 18 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	11.4	12.7	9.6	33.7	11.23	1.56
B	13.5	11.7	13.6	38.8	12.93	1.07
C	14.5	14.8	14.1	43.3	14.47	0.35
D	16.4	17.2	16.9	50.5	16.33	0.40
				166.4		

Fk 2307.413

Jk Total 58.606

Jk Perlakuan 50.9

Jk Acak 7.706

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	50.9	16.966	17.612	4,07	7,59
Acak	8	7.7067	0.963	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 0.80138

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 1.84800

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 2.68866

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		11.23	12.93	14.47	16.33	
A	11.23	—				A
B	12.93	1.70	—			B
C	14.47	3.23	1.53	—		C
D	16.33	5.60	3.90	2.37	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Eritrosit 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	13.8	13.2	14.4	41.4	13.8	0.60
B	15.2	14.8	15.7	45.7	15.23	0.45
C	16.9	16.4	15.9	49.2	16.40	0.50
D	18.2	19.3	17.8	55.3	18.43	0.78
				191.6		

Fk	3059.2133
Jk Total	37.3467
Jk Perlakuan	34.5113
Jk Acak	2.833

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	34.51	11.50	32.481	4,07	7,59
Acak	8	2.83	0.35	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0.4859
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.1205
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.6302

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		13.8	15.23	16.40	18.43	
A	13.8	—				A
B	15.23	1.43	—			B
C	16.40	2.60	1.17	—		C
D	18.43	4.63	3.20	2.03	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Eritrosit 36 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	14.8	15.3	15.5	45.6	15.20	0.36
B	16.5	16.1	17.9	50.5	16.38	0.95
C	18.2	17.6	18.1	53.9	17.97	0.32
D	18	19.1	18.7	55.8	18.60	0.56
				205.8		

Fk	3529.47
Jk Total	22.89
Jk Perlakuan	20.01
Jk Acak	2.87

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	20.01	6.66	18.15	4,07	7,59
Acak	8	2.87	0.35	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0.4893
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.1283
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.6470

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		15.20	16.38	17.97	18.60	
A	15.20	—				A
B	16.38	1.63	—			B
C	17.97	2.77	1.73	—		C
D	18.60	3.40	1.77	0.63	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 4. Perhitungan BNT Leukosit

a. Rataan Leukosit 12 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	14.8	15.3	15.5	45.6	15.20	0.36
B	16.5	16.1	17.9	50.5	16.38	0.95
C	18.2	17.6	18.1	53.9	17.97	0.32
D	18	19.1	18.7	55.8	18.60	0.56
				205.8		

Fk	3529.47
Jk Total	22.89
Jk Perlakuan	20.01
Jk Acak	2.87

a. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	20.01	6.66	18.15	4,07	7,59
Acak	8	2.87	0.35	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0.4893
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.1283
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.6470

b. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		15.20	16.38	17.97	18.60	
A	15.20	—				A
B	16.38	1.63	—			B
C	17.97	2.77	1.73	—		C
D	18.60	3.40	1.77	0.63	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Leukosit 18 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	16.01	17.96	16.75	50.72	16.91	0.98
B	15.98	14.35	15.5	45.83	15.28	0.84
C	13.7	12.52	14.32	40.55	13.52	0.91
D	11.56	11.49	12.71	35.76	11.92	0.69
				205.8		

Fk	2490.0483
Jk Total	47.8979
Jk Perlakuan	41.9475
Jk Acak	5.9504

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	41.9475	13.982	18.798	4,07	7,59
Acak	8	5.95	0.743	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0.7041
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.6238
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 2.3625

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		11.92	13.52	15.28	16.91	
D	11.92	—				A
C	13.52	1.60	—			A
B	15.28	3.36	1.76	—		B
A	16.91	4.99	3.89	1.63	—	C

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Leukosit 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	13.5	13.65	13.67	40.82	13.61	0.09
B	11.65	11.97	11.4	35.02	11.67	0.29
C	9.48	10.9	9.7	30.09	10.03	0.76
D	8.37	8.51	9	25.88	8.63	0.33
				205.8		

Fk	1477.823
Jk Total	43.0233
Jk Perlakuan	41.4620
Jk Acak	1.561

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	41.46209	13.820	70.820	4,07	7,59
Acak	8	1.5612	0.1951	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0.3606
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 0.8317
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.2101

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		8.63	10.03	11.67	13.61	
D	8.63	—				A
C	10.03	1.40	—			B
B	11.67	3.05	1.65	—		C
A	13.61	4.98	3.58	1.93	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Leukosit 36 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	12.17	11.35	12.33	35.84	11.95	0.52
B	10.95	9.75	9.43	30.12	10.04	0.81
C	9.08	9.01	9.03	27.12	9.04	0.04
D	8.35	7.63	8.03	24.01	8.00	0.36
				117.9		

Fk	1142.5056
Jk Total	27.4972
Jk Perlakuan	25.3924
Jk Acak	2.1047

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	25.3924	8.464	32.171	4,07	7,59
Acak	8	2.1047	0.26	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2}$ KT acak/r	= 0.4188
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 0.9657
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.4050

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	D	C	B	A	Notasi
		8.00	9.04	10.04	11.95	
D	8.00	—				A
C	9.04	1.04	—			B
B	10.04	2.04	1.00	—		C
A	11.95	3.95	2.91	1.91	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 5. Perhitungan BNT Hematokrit

a. Rataan Hematokrit 12 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	14	15	15	44	14.67	0.58
B	15	15	16	46	15.33	0.58
C	16	16	16	48	16.00	0.00
D	17	16	17	50	16.07	0.58
				188		

Fk 2945.333

Jk Total 8.667

Jk Perlakuan 6.667

Jk Acak 2.000

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6.6667	2.222	8.8889	4,07	7,59
Acak	8	2.000	0.25	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$ = 0.4082

BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0.9414

BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1.3696

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		14.67	15.33	16.00	16.07	
A	14.67	—				A
B	15.33	0.67	—			A
C	16.00	1.33	0.67	—		C
D	16.07	2.00	1.33	0.67	—	D

Keterangan: ns = Non Significant (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hematokrit 18 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	15	17	14	46	15.33	1.53
B	16	15	17	48	16.00	1.00
C	17	17	17	51	17.00	0.00
D	18	18	19	55	18.33	0.58
				200		

Fk	3333.334
Jk Total	22.667
Jk Perlakuan	15.333
Jk Acak	7.333

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	15.333	5.111	5.575	4,07	7,59
Acak	8	7.333	0.916	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0.7817
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.8026
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 2.6227

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		15.33	16.00	17.00	18.33	
A	15.33	—				A
B	16.00	0.67	—			A
C	17.00	1.33	0.67	—		A
D	18.33	3.00	2.33	1.67	—	B

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hematokrit 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	18	16	17	51	17.00	1.00
B	18	19	18	55	18.83	0.58
C	18	19	20	57	19.00	1.00
D	20	21	20	61	20.33	0.58
				224		

Fk	4181.333
Jk Total	22.667
Jk Perlakuan	17.333
Jk Acak	5.333

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	17.333	5.778	8.667	4,07	7,59
Acak	8	5.333	0.667	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0.6667
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.5373
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 2.2367

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		17.00	18.83	19.00	20.33	
A	17.00	—				A
B	18.83	1.33	—			A
C	19.00	2.00	0.67	—		B
D	20.33	3.33	2.00	1.33	—	C

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hematokrit 36 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	19	19	17	55	18.83	1.15
B	19	20	20	59	19.67	0.58
C	20	21	22	63	21.00	1.00
D	22	23	21	66	22.00	1.00
				243		

Fk 4920.75
Jk Total 30.250
Jk Perlakuan 22.916
Jk Acak 7.333

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	22.916	7.638	8.333	4,07	7,59
Acak	8	7.333	0.916	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$ = 0.7817
BNT 5% = t tabel 5%*SED = 1.8026
BNT 1% = t tabel 1%*SED = 2.6227

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		18.83	19.67	21.00	22.00	
A	18.83	—				A
B	19.67	1.33	—			A
C	21.00	2.67	1.33	—		B
D	22.00	3.67	2.33	1.00	—	C

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 6. Perhitungan BNT Hemoglobin

a. Rataan Hemoglobin 12 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	3	3.5	4	10.5	3.50	0.50
B	4	4	4.5	12.5	4.17	0.29
C	5	5	4	14	4.67	0.58
D	6	6	5	17	5.67	0.58
				54		

Fk 243
 Jk Total 9.50
 Jk Perlakuan 7.5
 Jk Acak 2.00

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	7.5	2.5	10	4,07	7,59
Acak	8	2.00	0.25	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 0.4082
 BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0.8311
 BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1.3696

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3.50	4.17	4.67	5.67	
A	3.50	—				A
B	4.17	2.00	—			B
C	4.67	3.50	1.50	—		C
D	5.67	6.50	4.50	3.00	—	D

Keterangan: ns = Non Significant (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hematokrit 18 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	6	5	6	17	5.67	0.58
B	7	6	6	19	6.63	0.58
C	7	7	7.5	21.5	7.17	0.29
D	8	8	7	23	7.67	0.58
				80.5		

Fk	540.0208
Jk Total	9.2292
Jk Perlakuan	7.0625
Jk Acak	2.1667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	7.0625	2.354	8.692	4,07	7,59
Acak	8	2.1667	0.270	**		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0.4249
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 0.9786
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.4256

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		5.67	6.63	7.17	7.67	
A	5.67	—				A
B	6.63	0.66	—			A
C	7.17	1.50	0.84	—		B
D	7.67	2.00	1.34	0.50	—	C

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hemoglobin 24 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	7	6	7	20	6.67	0.58
B	7	8	6	21	7.00	1.00
C	8	8	7	23	7.67	0.58
D	9	8	8	25	8.33	0.58
				243		

Fk	660.0833
Jk Total	8.9167
Jk Perlakuan	4.9166
Jk Acak	4.000

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4.91667	1.6388	3.27	4,07	7,59
Acak	8	4.000	0.5	ns		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$	= 0.5773
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 1.1331
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 1.9370

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		6.67	7.00	7.67	8.33	
A	6.67	—				A
B	7.00	0.33	—			B
C	7.67	1.00	0.67	—		C
D	8.33	1.67	1.33	0.66	—	D

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

a. Rataan Hemoglobin 36 Jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	7	9	7	21	7.00	0.00
B	7	8	8	23	7.67	0.58
C	8	9	8	25	8.33	0.58
D	9	9	9	27	9.00	0.00
				96		

Fk = 768
Jk Total = 8.00
Jk Perlakuan = 6.667
Jk Acak = 1.334

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6.667	2.222	13.33	4,07	7,59
Acak	8	1.334	0.166	**		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak}/r}$ = 0.3333
BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0.7686
BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1.1183

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		7.00	7.67	8.33	9.00	
A	7.00	—				A
B	7.67	0.67	—			A
C	8.33	1.33	0.67	—		B
D	9.00	2.00	1.33	0.67	—	C

Keterangan: ns = *Non Significant* (tidak berbeda nyata), * = berbeda nyata, ** = berbeda sangat nyata

Lampiran 7. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Infeksi Bakteri *P. fluorescens*



Pembuatan Preparat pada Haemositometer



Pengambilan Sampel Darah



Pengamatan Di bawah Mikroskop



Pembuatan Preparat Ulas Darah



Penimbangan Ekstrak

Lampiran 8. Tabel Kualitas Air

Perlakuan	Pagi			Sore		
	pH	Suhu (t°)	DO	pH	Suhu (t°)	DO
A	7,96	26,22	4,40	7,68	26,61	4,19
B	8,02	26,27	4,08	7,77	26,64	4,50
C	8,01	25,16	4,10	7,75	25,54	4,42
D	8,00	26,23	5,06	7,80	25,97	4,21
K-1	7,94	26,48	4,22	7,70	26,40	4,10
K-2	7,68	26,56	4,29	7,76	26,60	4,56
K- 3	8,94	25,48	4,92	7,80	26,70	4,34
K+1	8,04	24,62	4,25	7,81	25,72	4,30
K+2	8,03	23,62	5,25	7,50	24,72	5,30
K+3	8,02	24,52	4,65	6,81	25,76	4,38