

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *In Vivo***

SKRIPSI

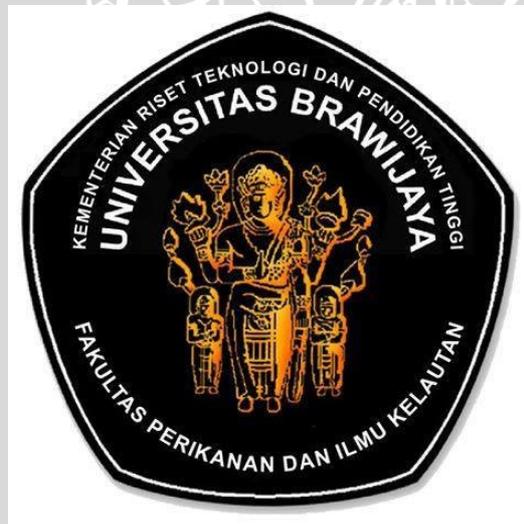
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

ANITA RAHMAWATI

NIM. 1150805011111037



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila* SECARA *In Vivo***

**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 :

**ANITA RAHMAWATI
NIM. 1150805011111037**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis
niloticus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla* SECARA *In Vivo***

Oleh :
ANITA RAHMAWATI
NIM. 115080501111037

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 11 juni 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

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

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

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

DOSEN PENGUJI II

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

DOSEN PEMBIMBING II

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

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

Dr. Ir. Arning Wilujeng Ekawati, MS
NIP. 19622825 198603 2 001
Tanggal :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



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, Juni 2015

Mahasiswa

Anita Rahmawati



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 bapak tercinta atas segala dukungan, motivasi, bimbingan dan do'anya, serta kakakku yang selalu mengingatkan.
3. Seluruh rekan-rekan tim parasiters yang telah banyak membantu penulis dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan skripsi ini.
4. Teman-teman terdekat (genk lapar) penulis yang selalu memotivasi dan mendukung (Tammy, Sherly, Bagus dan Bio).
5. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Juni 2015

Penulis

RINGKASAN

ANITA RAHMAWATI. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vivo*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. ARIEF PRAJITNO, MS** dan **Ir. Ellana Sanoesi, MP**

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan budidaya air tawar di Indonesia yang termasuk komoditas penting. Daging ikan nila (*O. niloticus*) memiliki rasa yang sangat khas sehingga banyak digemari oleh masyarakat, Selain itu ikan nila (*O. niloticus*) memiliki laju pertumbuhan dan perkembangan yang sangat cepat. Karenanya, di kalangan peternakan atau pembudidaya ikan air tawar ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan unggulan. Salah satu kendala dalam usaha peningkatan pengembangan perikanan adalah masalah penyakit-penyakit yang sering menyerang ikan. Salah satu bakteri yang sering menyerang ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila*. Penanggulangan penyakit pada sistem budidaya umumnya menggunakan antibiotik. Akan tetapi, penggunaan antibiotik saat ini sudah 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 daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi *A. hydrophila*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Februari 2015. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan 3 ulangan yaitu dengan menggunakan dosis A (200 ppm), B (400 ppm), C (600 ppm) dan D (800 ppm). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil), sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (pH, suhu dan DO).

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut: perhitungan sel darah merah (eritrosit) pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu $48,34 \times 10^6$ sel/mm³, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total eritrosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,936 dengan persamaan $y = 0,032x + 20,71$.

Pada perhitungan sel darah putih (leukosit) pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah leukosit terendah yaitu $38,36 \times 10^3$ sel/mm³, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total leukosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,913 dengan persamaan $y = -0,034x + 64,89$.

Pada perhitungan diferensial leukosit adalah sebagai berikut: limfosit pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah limfosit tertinggi yaitu 62,33%, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total limfosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R² mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,901 dengan persamaan $y = -0,020x + 66$. Monosit pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah monosit terendah yaitu 20,67%,

hubungan bahwa antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total monosit memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,915 dengan persamaan $y = -0,014x + 33,83$. Neutrofil pada perlakuan D (800 ppm) memiliki rata-rata jumlah neutrofil terendah yaitu 5,67%, hubungan antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan persentase total neutrofil memiliki hubungan yang nyata. Ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,936 dengan persamaan $y = -0,011x + 14,83$.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vivo*” Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Atas terselesainya skripsi ini, tak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku pembimbing 1 yang telah meluangkan waktu, selalu sabar dalam membimbing dan memberi motivasi kepada penulis.
- Ibu Ir Ellana Sanoesi, MP selaku pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini.

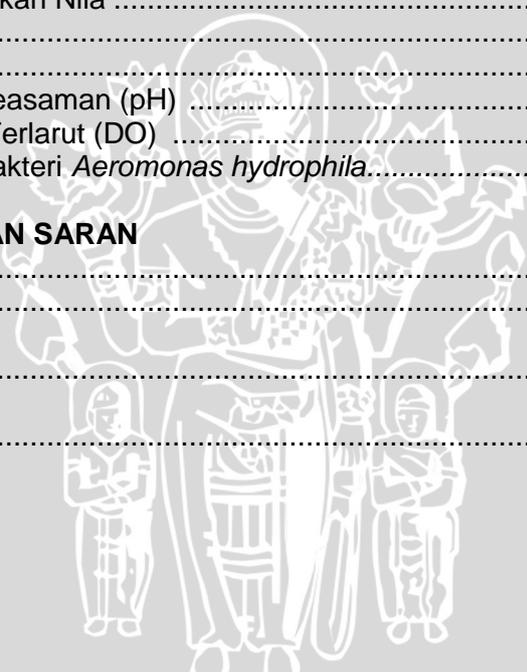
Malang, Juni 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan Penelitian	5
1.5 Hipotesis	5
1.6 Tempat dan Waktu	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	6
2.1.2 Habitat dan Penyebaran Ikan Nila	7
2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila	8
2.1.4 Penyakit pada Ikan Nila	9
2.2 Bakteri <i>A. hydrophila</i>	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	10
2.2.3 Patogenesis Bakteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.2.4 Infeksi Bacteri <i>A. hydrophila</i>	11
2.3 Daun Belimbing Wuluh (<i>Averhoa bilimbi</i> L.)	12
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Belimbing Wuluh (<i>Averhoa bilimbi</i> L.)	12
2.3.2 Kandungan Kimia Daun Belimbing Wuluh	13
2.3.3 Manfaat Belimbing Wuluh	14
2.4 Hematologi	14
2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)	15
2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)	15
2.4.3 Limfosit	16
2.4.4 Monosit	17
2.4.5 Neutrofil	18
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	19
3.1.1 Alat-alat Penelitian	19
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	20
3.2 Media Penelitian	21
3.3 Metode Penelitian	21

3.4 Pengambilan Data.....	21
3.5 Rancangan Penelitian	22
3.6 Prosedur Penelitian	24
3.6.1 Persiapan penelitian	24
3.6.2 Pelaksanaan Penelitian	24
3.7 Parameter Uji	28
3.7.1 Parameter Utama	28
3.7.2 Parameter Penunjang.....	28
3.8 Analisa Data.....	29
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Hematologi	29
4.1.1 Jumlah Eritrosit	29
4.1.2 Jumlah Leukosit.....	33
4.1.3 Diferensial Leukosit	36
a. Limfosit	36
b. Monosit.....	39
c. Neutrofil	41
4.2 Gejala Klinis Ikan Nila	44
4.3 Kualitas Air	45
4.3.1 Suhu	45
4.3.2 Derajat Keasaman (pH)	46
4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)	46
4.4 Identifikasi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	47
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	7
2. Bakteri <i>A. hydrophila</i>	10
3. Daun Belimbing Wuluh (<i>A. bilimbi</i> L.).....	13
4. Eritrosit (tanda panah)	15
5. Limfosit (tanda panah)	17
6. Monosit (tanda panah)	18
7. Neutrofil (tanda panah)	18
8. Denah Penelitian	23
9. Grafik Regresi Total Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	32
10. Grafik Regresi Total Leukosit Ikan Nila (<i>O. Niloticus</i>)	35
11. Grafik Regresi Total Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	38
12. Grafik Regresi Total Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	40
13. Grafik Regresi Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	43
14. Gejala Klinis Pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>) di Hari Ke- 4	45
15. Hasil Uji Gram Bakteri <i>A. hydrophila</i> dengan Perbesaran 10.000X .	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rata-rata Jumlah Eritrosit Ikan nila (<i>O. niloticus</i>).....	30
2. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	31
3. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	31
4. Rata-rata Jumlah Leukosit Pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	33
5. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
6. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	34
7. Rata-rata Jumlah Limfosit Pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	36
8. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	37
9. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	37
10. Rata-rata Jumlah Monosit Pada Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
11. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	39
12. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	40
13. Rata-rata Neutrofil Ikan nila (<i>O. niloticus</i>).....	41
14. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	42
15. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian.....	53
2. Bahan Penelitian.....	56
3. Pengamatan Hematologi	58
4. Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>).....	59
5. Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	63
6. Perhitungan Jumlah Limfosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	67
7. Perhitungan Jumlah Monosit Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	71
8. Perhitungan Jumlah Neutrofil Ikan Nila (<i>O. niloticus</i>)	75
9. Tabel Kualitas Air	79



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan, wilayah laut Indonesia dikelilingi oleh lautan yang lebih luas daripada daratannya, yang sangat potensial untuk mengembangkan agribisnis bidang perikanan. Kepulauan Indonesia sangat luas dan terbesar di dunia, jumlah pulau yang ada di Indonesia kurang lebih 17.000-an pulau terdiri dari pulau besar dan pulau kecil, selain itu Indonesia juga merupakan negara yang memiliki garis pantai terpanjang kedua di dunia setelah Australia yang mencapai 81.000 km. Karena dikelilingi oleh laut menjadikan Indonesia mempunyai sumberdaya alam laut yang besar, sumberdaya hayati dan non hayati (Ghufran dan Kordi, 2004).

Perairan umum merupakan sumberdaya perikanan yang sangat utama di dunia. Tipe perairan umum yaitu danau alam, danau buatan, sungai dan lebak lebung (rawa banjiran). Dilihat dari luas dan produksinya lebak lebung dengan sungai-sungainya merupakan perairan umum yang sangat penting. Potensi ini sangat mungkin untuk dikembangkan untuk industri budidaya perikanan. Semakin meningkatnya penduduk Indonesia saat ini semakin meningkat juga kebutuhan pangan protein tinggi. Sementara itu makin terbatasnya persediaan sumber protein hewan penting dari pihak sumberdaya ikan menjadikan akuakultur sebagai tumpuan harapan masa depan perikanan (Arsyad, Elok dan Akbar 2005).

Ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan budidaya air tawar di Indonesia yang termasuk komoditas penting. Daging ikan nila (*O. niloticus*) memiliki rasa yang sangat khas sehingga banyak digemari oleh masyarakat, Selain itu ikan nila (*O. niloticus*) memiliki laju pertumbuhan dan perkembangan yang sangat cepat.

Karenanya, di kalangan peternakan atau pembudidaya ikan air tawar ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan unggulan (Amri dan Khairumam, 2003).

Permintaan ikan nila (*O. niloticus*) relatif besar di tunjukan dengan hasil panen ikan nila (*O. niloticus*) semuanya terserap oleh pasar. Tingginya kesadaran masyarakat untuk mengonsumsi ikan sebagai sumber protein tinggi semakin meningkatkan permintaan ikan nila (*O. niloticus*) di pasar domestik maupun pasar ekspor. Permintaan ikan nila untuk pasar domestik meliputi kota besar seperti Yogyakarta, Klaten, Boyolali, dan Semarang. Sedangkan untuk pasar Internasional permintaan terbesar adalah Amerika Serikat, saat ini Indonesia sendiri belum sanggup untuk mencukupi permintaan pasar domestik (Galih, 2012). Sama seperti usaha budidaya perikanan lainnya, masalah utama dalam budidaya ikan nila (*O. niloticus*) adalah serangan penyakit yang akan mengakibatkan kematian dan kegagalan panen. Penyakit tersebut diakibatkan oleh parasit, jamur ataupun bakteri. Untuk menghindari keadaan ini perlu dilakukan upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit secara tepat.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu penyakit yang dapat menyerang binatang berdarah dingin dan berdarah panas (Wahab, 1996). Bakteri *A. hydrophila* biasanya menyerang ikan yang masih benih maupun sudah dewasa. Bakteri *A. hydrophila* menyerang seluruh tubuh ikan, serangan bakteri ini sangat ganas dan kerugian yang ditimbulkan akibat bakteri ini sangat besar karena dapat menimbulkan kematian ikan. Bakteri *A. hydrophila* dapat menular melalui air, alat-alat, bagian tubuh ikan yang sudah terinfeksi melalui hewan lain dan melalui tumbuhan air. Pengobatan untuk ikan yang sakit biasanya diberi obat antibiotik (Cahyono, 2001)

Penggunaan antibiotik dalam jumlah banyak dan secara terus menerus akan menimbulkan dampak negatif seperti resistensi bakteri terhadap bahan kimia dan dapat meninggalkan residu pada tubuh inangnya, sehingga tidak

aman apabila dikonsumsi oleh manusia, karena dapat menyebabkan efek resistensi pada bakteri yang bersifat *infectious* bagi manusia. Oleh karena itu diperlukan alternatif pengobatan lain yang lebih ramah lingkungan dan tidak menimbulkan efek resisten terhadap bakteri. Alternatif lainnya yang dapat digunakan adalah dengan memanfaatkan obat-obatan herbal (Kamaludin, 2011).

Bahan yang dapat digunakan untuk mengobati ikan nila (*O. niloticus*) yang terserang bakteri *A. hydrophila* salah satunya adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa aktif tersebut dapat digunakan sebagai antibakteri. Bahan aktif pada daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanin. Daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) juga mengandung senyawa peroksida yang dapat berpengaruh terhadap antipiretik, peroksida merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini mampu membunuh banyak mikroorganisme Walton (2008).

Kondisi paling rentan terhadap serangan hama dan penyakit biasanya terjadi pada fase pembenihan ikan nila, dari penetasan hingga pendederan. Penyakit ikan nila (*O. niloticus*) bisa ditularkan lewat aliran air, udara dan kontak langsung. Atau, terjadi karena kondisi lingkungan yang buruk. Pengobatan hama dan penyakit pada ikan cukup menyita sumber daya dan biayanya mahal. Dengan demikian, diperlukan metode lain untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan nila. Selain pengamatan morfologi dan gejala klinis yang tampak dari luar, diperlukan pemeriksaan parameter hematologi meliputi pemeriksaan jumlah eritrosit dan leukosit. Sementara Salasia, Sulanjari dan Ratnawati (2001) juga berpendapat bahwa nilai hematologi ikan diperlukan untuk menentukan status kesehatan dan membantu diagnosis penyakit pada ikan.

1.2 Rumusan Masalah

Menurut Wahab (1996), bakteri *A. hydrophila* merupakan salah satu bakteri gram negative yang ditemukan diperairan tawar dan perairan asin. Cahyono (2001) juga menyatakan bahwa infeksi *A. hydrophila* pada ikan ditandai dengan nafsu makan yang menurun, banyak ikan yang bergerombol di pintu pengeluaran, sirip dan sisik rusak, terdapat luka pada kulit, pendarahan pada tubuh, perut busung, insang rusak, ikan lemah dan timbul borok. Penyebab timbulnya penyakit ini di tunjang oleh kualitas air yang buruk, kadar organik perairan tinggi dan perubahan musim.

Pengendalian yang umumnya dilakukan untuk pencegahan dan pengobatan terhadap bakteri masih menggunakan bahan-bahan kimia ataupun antibiotik. Sementara penggunaan antibiotik memiliki kekurangan yaitu dapat menyebabkan residu di dalam tubuh ikan dan bakteri patogen menjadi resisten. Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah ini adalah dengan memanfaatkan senyawa bioaktif dari ekstrak kasar blimbing wuluh.

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan permasalahan apakah pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) bisa digunakan sebagai pengobatan sehingga berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L) terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Selain itu, diharapkan hasil penelitian ini juga dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang penyakit dan kesehatan ikan.

1.5 Hipotesa

Adapun hipotesa dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun blimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) tidak berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H1 : Diduga pemberian ekstrak kasar daun blimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) berpengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.6 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 8 - 24 Februari 2015, di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Malang.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (*O. niloticus*)

Klasifikasi ikan nila (*O. niloticus*) menurut Hardi (2011) adalah sebagai berikut :

Phylum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Percomorphi
Sub ordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Menurut Amri dan Khairumam (2003), berdasarkan morfologinya secara umum bentuk tubuh ikan nila (*O. niloticus*) panjang dan ramping, dengan sisik berukuran besar. Matanya besar, menonjol, dan bagian tepinya berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah badan kemudian berlanjut, tetapi letaknya lebih kebawah daripada letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi jumlahnya 34 buah. Sirip punggung, sirip perut, dan sirip dubur mempunyai jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggungnya berwarna hitam dan sirip dadanya nampak hitam. Bagian pinggir sirip punggung berwarna abu-abu atau hitam.

Menurut Rukmana (1997), Ikan nila (*O. niloticus*) memiliki tubuh panjang dan ramping perbandingannya panjang dengan tinggi badannya 3 : 1. Bentuk sisik ikan nila (*O. niloticus*) berbentuk etonoid dengan garis-garis vertical berwarna gelap pada siripnya. Jumlah sirip punggung yang dimiliki ikan nila (*O.*

niloticus) dengan rumus D XV, 10; sirip ekor C11, 15 dan sirip perut C 1,6. Mata ikan nila (*O. niloticus*) berbentuk bulat, menonjol dan bagian tepi berwarna putih.

Morfologi ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Gambar 1 berikut ini :



Gambar 1. Ikan Nila (*O. niloticus*) (Rukmana,1997)

2.1.3 Habitat dan Penyebaran Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Amri dan Khairuman (2003), pada dasarnya ikan nila (*O. niloticus*) mempunyai toleransi yang tinggi terhadap lingkungannya ikan nila (*O. niloticus*) dapat hidup pada air tawar juga dapat hidup pada perairan payau. Habitat hidup ikan nila (*O. niloticus*) sangat beragam, dapat di sungai, danau, waduk, rawa, sawah, kolam, atau tambak. Kisaran suhu untuk ikan nila (*O. niloticus*) dapat hidup dengan normal pada kisaran suhu 14-38 °C dan suhu untuk memijah berkisar antara suhu 22-37 °C. Suhu optimum ikan nila (*O. niloticus*) untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan adalah berkisar antara 25-30 °C. Saat suhu perairan lebih rendah dari 14 °C atau pada tingkat suhu di atas 38 °C maka pertumbuhan ikan nila (*O. niloticus*) akan terganggu. Dan ikan nila (*O. niloticus*) akan mengalami kematian pada suhu 6 °C atau 42 °C. Ikan nila (*O. niloticus*) bisa tumbuh dan berkembangbiak di perairan dengan salinitas 0-29 ‰. Ikan nila (*O. niloticus*) masih bisa tumbuh, tapi tidak bisa berproduksi di perairan dengan salinitas 29-35 ppt.

Keadaan pH yang dapat di toleransi oleh ikan nila (*O. niloticus*) berkisar antara 5-11, sedangkan pH yang optimum ikan nila (*O. niloticus*) untuk

pertumbuhan dan perkembangbiakan berkisar antara 7-8. Ikan nila (*O. niloticus*) dapat di budidayakan pada perairan tawar dan payau, karena pada kadar salinitas 0-35 ‰ ikan nila (*O. niloticus*) masih dapat tumbuh (Rukmana, 1997).

Ikan nila (*O. niloticus*) asli berasal dari Afrika bagian timur, seperti di Sungai Nil (Mesir), Danau Tanganyika, Chad, Nigeria, dan Kenya. Ikan ini lalu di bawa orang Eropa, Amerika, negara-negara Timur tengah, dan Asia. Konon jenis ini telah dibudidayakan di 110 negara. Di Indonesia, ikan nila (*O. niloticus*) telah dibudidayakan di seluruh propinsi (Suyanto, 2010).

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Partosuwiro dan Warseno (2011), ikan nila (*O. niloticus*) merupakan ikan pemakan segala (omnivora) sehingga ikan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali gulma pada perairan. Pada fase larva ikan nila (*O. niloticus*) lebih suka memakan rotifer (*Branciuonus sp.*), protozoa dan udang-udangan seperti *Moina* dan *Daphnia* karena menyesuaikan dengan ukuran bukaan mulutnya. Ikan nila (*O. niloticus*) akan memakan chironomidae, oliochaeta, epemenidae, tubificidae, molusca dan bahan organik lainnya saat tubuh ikan sudah mencapai 10 cm.

Ikan nila (*O. niloticus*) dapat cepat tumbuh saat persediaan pakan pada habitat sebanding dengan jumlah ikan. Pakan yang mengandung protein (cukup rendah) sebanyak 20-25 % ikan nila (*O. niloticus*) akan mampu tumbuh cepat. Ikan nila (*O. niloticus*) yang di pelihara pada sistem ekstensif (tradisional) tidak perlu diberi pakan tambahan. Pada pemeliharaan di sistem semiintensif perairan tersebut dipupuk untuk menumbuhkan pakan alami. Sedangkan pada pemeliharaan secara intensif tidak hanya dipupuk namun diberi pakan tambahan berupa pakan pellet dengan kadar protein 20-25 %. Pakan tambahan yang diberikan sebanyak 2-3 % berat ikan perhari. Dan ikan nila (*O. niloticus*) akan tumbuh dengan baik dan cepat bila dalam perairan tersebut ditumbuhi oleh

tumbuhan lunak seperti *hydrilla* ganggang sutera, plankton dan kelekap (Suyanto,2010).

2.1.4 Penyakit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*)

Menurut Amri dan Khairuman (2003) ikan nila (*O. niloticus*) yang terserang bakteri *A. hydrophila* biasanya secara morfologis maupun fisiologis akan menunjukkan gejala seperti tubuh ikan nila (*O. niloticus*) warnanya menjadi gelap, kemampuan berengnya menurun, mata rusak dan sedikit menonjol, sisik ikan terkeluapas, seluruh siripnya rusak, warna insang merah keputihan, ikan megap-megap di permukaan perairan, sulit bernafas karena insang rusak, kulit kasar, munculnya borok dan perut terlihat kembung. Apabila dilakukan pembedahan maka akan nampak perdarahan pada hati, ginjal, dan limpa.

2.2 Bakteri *A. hydrophila*

2.1.2 Klasifikasi dan Morfologi

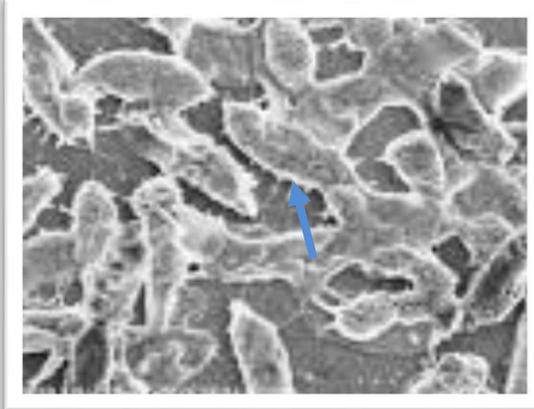
Menurut Holt *et al.* (1998), berikut adalah klasifikasi *A. hydrophila*:

Divisio	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Menurut Adam (2012), bakteri *A. hydrophila* adalah bakteri yang bersifat patogen dan dapat menyebabkan penyakit sistemik serta mengakibatkan kematian secara masal. Bakteri *A. hydrophila* ini seringkali mewabah di Asia Tenggara sampai sekarang. *A. hydrophila* merupakan bakteri hetertofik uniseluler, tergolong protista prokariotik yang dicirikan dengan tidak adanya

membran yang memisahkan inti dengan sitoplasma. Bentuk dari bakteri *A. hydrophila* di tunjukan pada (Gambar. 2).

Tanda-tanda klinis infeksi bakteri ini bervariasi, tetapi pada umumnya ditunjukkan adanya *hemorrhagic* pada kulit, insang, rongga mulut dan borok pada kulit yang dapat meluas ke jaringan otot. Sering pula tanda-tanda klinis ditunjukkan dengan adanya eksoptalmia, *acsites*, pembengkakan limfa dan ginjal. Secara histopatologis tampak terjadinya nekrosis pada limfa, hati, ginjal dan jantung. Seringkali bakterimia ditandai dengan penambahan sel-sel bakteri pada jaringan-jaringan tersebut (Irianto, 2004).



Gambar 2. Bakteri *A. hydrophila* (tanda panah) (Grandiosa, 2010)

Gejala yang ditimbulkan secara klinis yaitu ikan menjadi lemah, nafsu makan berkurang, kulit menjadi kering dan kasar, keseimbangan terganggu, sirip rusak, pada organ dalam terdapat perdarahan pada subkutis, insang, lubang kumlah kebengkakan pada bagian perut yang berisi cairan, adanya abses atau borok. Bentuk penyakit ini ada empat yaitu perakut (perubahan tubuh bersifat ringan), akut (penyakit yang datang tiba-tiba), subakut (penyakit yang berlangsung agak lama) dan kronis (penyakit yang menahun) (Sunartatie 1986).

2.2.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Menurut Agustin, (2005) menyatakan bahwa bakteri *A. hydrophila* tumbuh cepat di atas media buatan pada temperatur kamar. Suhu optimum untuk

pertumbuhannya adalah 20-30°C dan pH 5,5-9. Pada suhu 10°C tumbuh sangat lambat dan kira-kira pada suhu 35°C pertumbuhannya terhenti. Lince (2010), berpendapat bahwa pertumbuhan merupakan perubahan di dalam hasil panen sel (pertambahan total massa sel) dan bukan pertumbuhan individu organisme. Pertumbuhan bakteri harus didukung oleh tersedianya nutrisi dan status fisik yang mendukung bagi pertumbuhan bakteri tersebut.

Perkembangbiakan bakteri ini secara aseksual dengan memanjangkan sel diikuti pembelahan satu sel menjadi dua sel selama lebih kurang 10 menit (Volk dan Wheeler, 1993). Menurut Agustin, *et al.* (1996) genus *A. hydrophila* mempunyai habitat di lingkungan perairan tawar. Keberadaan *A. hydrophila* erat hubungannya dengan jumlah kandungan bahan organik di perairan atau sedimen dasar dan akan tumbuh tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair.

2.2.3 Patogenitas Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* adalah jenis bakteri pathogen dan dapat menyebabkan penyakit sistematik serta mengakibatkan kematian secara masal. Kematian yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* dapat mematikan hewan akuatik sampai 100 % dengan gejala klinis berupa lupa pada bagian tubuh ikan (Haryani, 2003).

Bakteri *A. hydrophila* selain menyerang ikan nila (*O. niloticus*) juga menyerang ikan air tawar lain seperti ikan mas (*cyprinus carpio*), gurami (*Osphronemus gouramy*) dan udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*) dan dapat menimbulkan wabah penyakit dengan tingkat kematian tinggi (80-100%) dalam waktu 1-2 minggu (Grandiosa, 2010).

2.2.4 Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* umumnya dapat menyebabkan infeksi pada seluruh tubuh disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh ikan. Penyakit yang

dapat ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* antara lain: timbulnya bercak merah pada permukaan tubuh, kulit beradang yang akhirnya terjadi ulkus-ulkus seperti bisul, pendarahan pada hati, pendarahan sirip, pendarahan otot, lendir berdarah pada rektum dan pembentukan cairan-cairan berdarah. Ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* biasanya dapat mati dalam waktu satu minggu. Bakteri *A. hydrophila* ternyata sangat patogenik bagi ikan air tawar (Prajitno, 2007).

Proses masuknya bakteri pada ikan nila (*O. niloticus*) atau infeksi bakteri dapat terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan makanan atau masuk melalui insang, kemudian masuk ke pembuluh darah dan akan menyebar pada organ dalam lainnya. Infeksi bakteri gram negatif ini bersifat laten (berkepanjangan), jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Organ yang dapat diserang antara lain insang, ginjal, pankreas, bahkan otot tulang (Kabata, 1985).

2.3 Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi Daun Belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)

Klasifikasi ilmiah tanaman daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) adalah Sunanto (2009), sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Superdivisio	: Spermatophyta
Kelas	: Rosidae
Ordo	: Geraniales
Familia	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.

Daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L) dapat dilihat pada (Gambar 3) merupakan golongan daun majemuk menyirip ganjil. Anak daun belimbing wuluh

ini tersusun rapih dan saling berhadapan atau berseling pada tangkai bersama atau tangkai majemuk. Dalam satu tangkai bersama jumlah daun pada umumnya ganjil. Bentuk daunnya lonjong sampai dengan pangkal daun melebar dan ujungnya meruncing, dan tulang daunnya menyirip. Saat masih muda daun berwarna kemerahan dan setelah tua berwarna hijau muda (Purwaningsih, 2000).



Gambar 3. Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.) (Anonymous, 2014)

2.3.2 Kandungan Kimia Daun Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Kandungan daun kimia daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L) mengandung bahan aktif seperti saponin, tannin dan perioksida (Muhlisah, 1999). Perbandingan kadar tanin pada bagian daun belimbing wuluh menunjukkan bahwa daun muda mengandung kadar tanin 1,60 % dan daun tua 1,28 % (Nurliana, 2006).

Menurut Walton (2008) menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Bahan aktif pada daun belimbing wuluh yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah tanin. Tanin ini juga digunakan sebagai astringent baik untuk saluran pencernaan maupun kulit dan juga dapat digunakan sebagai obat diare. Daun belimbing wuluh juga mengandung senyawa peroksida yang dapat berpengaruh terhadap antipiretik,

peroksida merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini mampu membunuh banyak mikroorganisme.

2.3.3 Manfaat Belimbing Wuluh (*A. bilimbi* L.)

Belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) banyak ditanam sebagai pohon buah. Rasa buahnya asam digunakan sebagai sirup dan bahan penyedap masakan. Selain itu juga berguna untuk membersihkan noda pada kain, mengilapkan barang-barang yang terbuat dari kuningan dan sebagai obat tradisional (Walton, 2008).

Daun belimbing wuluh berkhasiat untuk mengurangi rasa sakit atau nyeri dan pembunuh kuman serta dapat menurunkan kadar gula darah, bunganya juga dapat digunakan sebagai obat batuk dan perasan air buah sangat baik untuk asupan vitamin C dan di samping itu perasan buah juga dapat dipakai untuk keramas sebagai penghilang antiketombe, atau digosokkan sebagai penghilang panu (Arland, 2006).

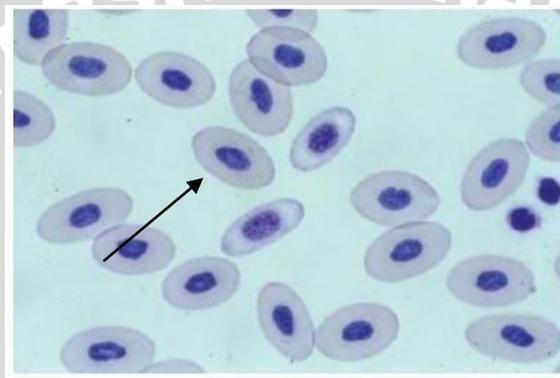
2.4 Hematologi

Hematologi merupakan disiplin ilmu yang mempelajari tentang komponen darah beserta kelainan fungsional dari sel darah. Kelainan fungsional dari sel darah tersebut merupakan indikator respon ikan terhadap kondisi lingkungan. Darah ikan tersusun atas dua kelompok besar yaitu sel dan plasma. Komponen plasma berupa fibrinogen, ion-ion anorganik dan bahan-bahan organik yang berperan untuk metabolisme (Fujaya, 2004).

2.4.1 Sel Darah Merah (Eritrosit)

Proses pembentukan eritrosit atau sel darah merah dipengaruhi oleh rangsangan hormone glikoprotein yaitu : eritropoientin, hormon ini 90% dihasilkan di sel interstisial ginjal (cairan disekitar sel ginjal), sedangkan 10% lagi

di hasilkan di hati dan tempat lainnya. Pembentukan eritropoientin dipengaruhi oleh keadaan hipoksia jaringan atau tekanan oksigen dalam ginjal yang disebabkan oleh faktor perubahan atmosfer, maka akan terjadi penurunan kadar oksigen dalam darah dan menurunnya konsentrasi hemoglobin. Produksi eritropoientin meningkat apabila terjadi gangguan metabolic dan structural pada anemia, hemoglobin yang tidak dapat melepaskan oksigen secara normal, oksigen atmosfer rendah dan terjadi kerusakan sirkulasi ginjal mempengaruhi pengiriman oksigen ke dalam ginjal. Eritrosit dapat dilihat pada Gambar 4:



Gambar 4. Eritrosit (tanda panah) (Campbell dan Ellis, 2007)

Besarnya presentase dari sel darah merah dapat digunakan sebagai indikator kondisi kesehatan ikan. Jumlah eritrosit pada ikan adalah tergantung spesies, kondisi stres dan suhu lingkungan. Umumnya jumlah eritrosit ikan sehat adalah berkisar antara $1,05 \times 10^6$ sel per mm^3 (Irianto, 2005) hingga $3,0 \times 10^6$ sel per mm^3 (Agustin, 2005).

2.4.2 Sel Darah Putih (Leukosit)

Jumlah total leukosit dalam darah menunjukkan kondisi kesehatan ikan. Ikan yang mengalami stress yang disebabkan oleh perubahan kondisi lingkungan maupun karena adanya benda asing sehingga terjadi peningkatan sel darah putih (Jawetz, 2008). Leukosit ikan juga merupakan sel darah yang tidak

berwarna yang disebut dengan leukosit. Seluruh tipe leukosit berbentuk lonjong hingga membulat (Fujaya, 2004).

Leukosit berada dalam sirkulasi darah hanya untuk melintas saja dan leukosit tidak mempunyai fungsi dalam pembuluh darah. Leukosit dibedakan berdasarkan ada tidaknya granula refraktif, leukosit dapat dibedakan menjadi 2 golongan : granulosit/polinuklear (terdiri dari netrofil, eosinofil, dan basofil) dan agranulosit/mononuclear (terdiri dari monosit dan limfosit (Bijanti *et al.*, 2010)

2.6.3 Limfosit

Limfosit merupakan sel yang sferis, garis tengah 6-8 um, 20-30% leukosit darah. Normal, inti relative besar, bulat sedikit cekungan pada satu sisi, kromatin inti padat, anak inti baru terlihat dengan elektron mikroskop. Klasifikasi lainnya dari limfosit terlihat dengan ditemuinya tanda-tanda molekuler khusus pada permukaan membran sel-sel tersebut. Beberapa diantaranya membawa reseptor seperti imunoglobulin yang mengikat antigen spesifik pada membrannya. Limfosit dalam sirkulasi darah normal dapat berukuran 10-12um ukuran yang lebih besar disebabkan sitoplasmanya yang lebih banyak (Effendi, 2003).

Limfosit berfungsi sebagai agen fagosit yang bersifat terbatas (hanya dapat memfagosit partikel yang ukurannya bersifat mikro) serta limfosit ini berhubungan dengan pembentukan antibodi humoral dan seluler (Bijanti *et al.*, 2010). Berikut adalah gambar limfosit ikan nila (*O. niloticus*).

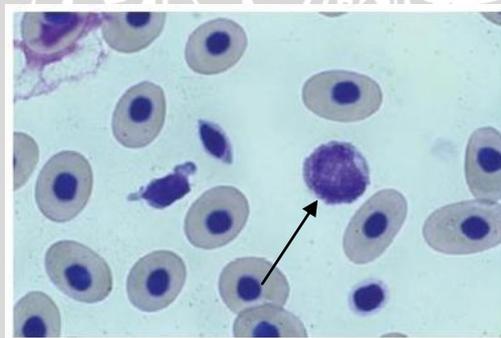


Gambar 5. Limfosit (tanda panah) (Campbell dan Ellis, 2007)

2.6.4 Monosit

Monosit ikan nila (*O. niloticus*) (Gambar 7) berasal dari jaringan hemopoietik ginjal. Secara morfologi bentuk monosit ikan serupa dengan monosit mamalia. Persentase monosit pada ikan sebanyak 0.1 % dari populasi leukosit total yang bersirkulasi. Namun demikian, jumlahnya akan bertambah dalam waktu singkat (\pm 48 jam) setelah disuntik dengan benda asing seperti karbon (Roberts, 2001).

Monosit berfungsi sebagai memfagosit partikel besar/makromolekuler seperti fungi dan protozoa serta fungsinya sebagai pembuang sel-sel yang rusak atau mati. Monosit dan makrofag jaringan merupakan sel yang sama namun lokasinya berbeda, saat setelah berada dalam jaringan makrofag membentuk organel dan enzim sehingga memungkinkan melakukan fagositosis dan mampu mempercepat aktivitas fagositik (Bijanti *et al.*, 2010).



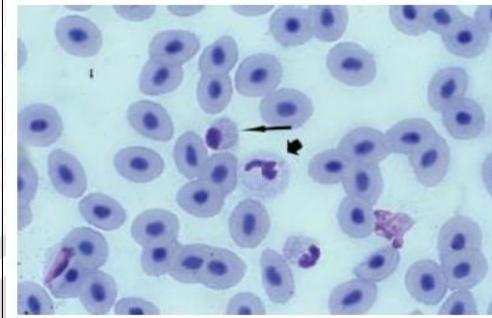
Gambar 6. Monosit (tanda panah) (Campbell dan Ellis, 2007)

2.6.5 Neutrofil

Neutrofil berperan dalam respon kekebalan terhadap serangan organisme patogen dan mempunyai sifat fagositik. Neutrofil dalam darah akan meningkat bila terjadi infeksi dan berperan sebagai pertahanan pertama dalam tubuh (Alamanda *et al.*, 2006).

Neutrofil merupakan salah satu pertahanan efektif terhadap mikroba terutama bakteri. Neutrofil berfungsi sebagai pertahanan anti bakteri melalui beberapa mekanisme efektif yaitu kemotaksis (kemampuan neutrofil tertarik

ketempat infeksi dan peradangan) dan sebagai fagositosis (kemampuan untuk memakan dan menghancurkan mikroba (Bijanti *et al.*, 2010).



Gambar 7. Neutrofil (tanda panah) (Campbell dan Ellis, 2007)



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Belimbing wuluh terhadap Hematologi Ikan nila (*O. niloticus*) yang Diinfeksi Bakteri *A. hydrophila*” 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
- Toples kaca
- Filter
- Heater akuarium
- Thermometer
- DO meter



- pH meter
- haemocytometer
- Objek glass
- Cover glass

3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ikan nila (*O. niloticus*) ukuran 8-12 cm
- Daun Belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)

- Kertas label
- Bakteri *A. hydrophila*

- 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



3.2 Media Penelitian

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah air tawar di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Air diperoleh dari sumur kemudian dialirkan lewat pipa menuju akuarium berukuran 40x40x40 cm sebanyak 14 buah dan diberi aerasi sebagai suplai oksigen.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Pada dasarnya metode eksperimen yang dilakukan untuk mengungkapkan hubungan sebab akibat dua variabel atau lebih, dengan mengendalikan pengaruh variabel yang lain. Metode eksperimen dilaksanakan dengan memberikan variabel bebas secara sengaja (bersifat induce) kepada objek penelitian untuk diketahui akibatnya di dalam variabel terikat (Zulnaidi, 2007).

3.4 Pengambilan Data

Teknik pengambilan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi langsung. Menurut Chariri (2009), Observasi partisipasi dilakukan dengan cara mengamati secara langsung perilaku individu dan interaksi yang ada dalam setting penelitian. Oleh karena itu, Peneliti harus terlibat langsung dalam kehidupan sehari-hari subyek yang dipelajari. Dengan cara ini peneliti dapat memperoleh data khusus di luar struktur dan prosedur formal organisasi. Dalam *participant observation*, peneliti melakukan kegiatan sebagai berikut :

- Melibatkan diri dalam aktivitas sehari-hari. Mencatat kejadian, perilaku dan setting social secara sistematis (apa yang terjadi, kapan, dimana, siapa, bagaimana). Adapun data yang dikumpulkan selama observasi adalah: deskripsi program, perilaku, perasaan, dan pengetahuan.

- Wujud data adalah catatan (*field note*): Apa yang terjadi, bagaimana terjadinya, siapa yang ada di sana.
- Catatan semua kejadian atau perilaku yang dianggap penting oleh peneliti (Bisa berupa *checklist* atau deskripsi rinci tentang peristiwa atau perilaku tertentu).

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap) karena media yang digunakan bersifat homogen, artinya keragaman antara satuan percobaan tersebut kecil, sehingga yang mempengaruhi hasil penelitian hanya faktor kebetulan.

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Keterangan :

μ = nilai rerata harapan (mean)

τ = pengaruh faktor perlakuan

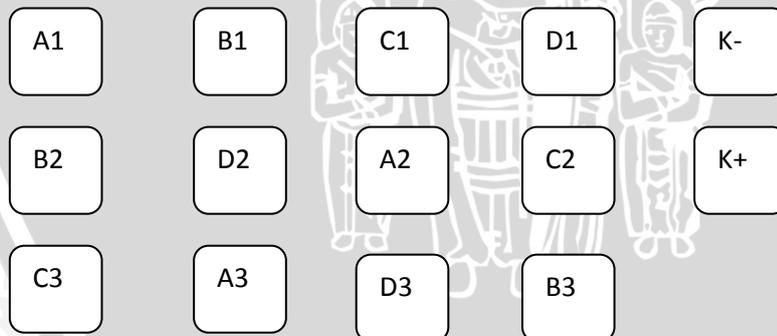
ε = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan dosis a, b, c dan d. Pada penelitian ini digunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol negatif dan kontrol positif, kontrol negatif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) murni. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, sedangkan kontrol negatif dan positif hanya sebagai pembanding. Dari

perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 14 sampel. Sehingga tiap perlakuan dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

- A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 200 ppm
- B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 400 ppm
- C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 600 ppm
- D : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman dengan dosis 800 ppm
- K(-) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* serta tanpa pemberian ekstrak kasar daun Belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)
- K(+) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan perendaman ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)

Untuk denah penelitian disajikan pada Gambar 9. berikut :



Gambar 8. Denah Penelitian

Keterangan:

- A-D : perlakuan
- K(-) : kontrol negatif
- K(+): kontrol positif
- 1-3 : ulangan

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Persiapan Penelitian

a. Persiapan perendaman (maserasi)

Serbuk daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) sebanyak 300 gram dimaserasi dalam etanol 96% selama 2 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dalam bentuk serbuk sebanyak 32 gr.

b. Persiapan Alat

- Pencucian Akuarium
- Persiapan Alat-alat pendukung (aerasi, pH meter, DO meter)
- Pengisian air pada akuarium

c. Persiapan Hewan Uji

Hewan Uji yang akan digunakan yaitu ikan nila (*O. niloticus*) sebanyak 140 ekor dengan panjang 7-12 cm. Masing-masing akuarium diisi dengan 10 ekor ikan uji. Wu *et al.*, (2010) menyatakan kepadatan ikan untuk uji *in vivo* eksperimen dapat dilakukan dengan jumlah 10 ekor/akuarium. Sehingga dalam uji *in vivo* dalam penelitian ini akuarium diisi dengan 10 ekor ikan uji.

3.6.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Penginfeksi Bakteri *A. hydrophila*

- Persiapan bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara, Jawa tengah. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^8 sel/ml, *A. hydrophila* untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

N1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)

N2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)

V1 : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2 : Volume yang diinginkan

Dilakukan infeksi bakteri *A. hydrophila* selama 20 jam, kemudian dihitung total eritrosit, total leukosit dan diferensial leukosit ikan nila (*O. niloticus*) sesudah diinfeksi.

- Dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar
 - Diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila*
 - Dipelihara selama 1 minggu
 - Dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB)
- b. Perendaman Ikan Uji
- Akuarium diisi air sebanyak 10 liter dan ditambahkan ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.)
 - Sesuai dengan dosis (a, b,c,d).
 - Akuarium diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut.
 - Diambil sampel darah ikan nila (*O. niloticus*) terinfeksi sebelum perendaman, dihitung total eritrosit, total leukosit dan diferensial leukosit.
 - Direndam ikan nila (*O. niloticus*) masing-masing 10 ekor/akuarium selama 41 jam
 - Dipindahkan ke akuarium yang berisi air tawar dan dipelihara selama 1 minggu, kemudian diamati total eritrosit, total leukosit dan diferensial leukosit pada ikan selama 2 hari satu kali.

c. Pengambilan Sampel Darah Ikan Nila

Ikan nila (*O. niloticus*) diambil sampel darahnya dengan spuit *disposable* yang telah berisi Na Citrat 3,8% sebagai anti koagulan di *caudal peduncle*. Disuntik dengan posisi jarum 45° dan tarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit.

d. Uji Hematologi

- Penghitungan Jumlah Eritrosit

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

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

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak hemositometer yang diamati

V = volume hemositometer

Fp = 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 haemositometer ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan.

- 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 haemositometer, 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 haemositometer ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan.

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

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

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

A = jumlah sel darah putih yang terhitung

N = jumlah kotak hemositometer yang diamati

V = volume haemositometer

Fp = faktor pengenceran

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

- Penghitungan Jumlah Diferensial Leukosit

Pengamatan diferensial leukosit dilakukan untuk menentukan persentase tiap jenis leukosit yang ada di dalam darah. Pengamatan ini dilakukan dengan mengamati preparat ulas darah di bawah mikroskop. Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan menempatkan setetes darah pada gelas obyek. Gelas obyek kedua diletakkan dengan sudut 45⁰ di atas gelas obyek pertama, lalu digeser ke belakang menyentuh darah sehingga darah menyebar. Gelas obyek kedua kemudian digeser ke arah yang berlawanan sehingga membentuk suatu lapisan tipis darah. Preparat ulas darah dibiarkan kering di udara, kemudian difiksasi dengan cara merendam preparat ulas darah di dalam methanol selama 5 menit dan dikeringkan. Setelah itu preparat diwarnai dengan cara dimasukkan ke dalam larutan Giemsa 10% selama 30 menit, dicuci, kemudian dikeringkan. Preparat ulas darah yang telah diwarnai kemudian diamati dan dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x hingga mencapai jumlah 100 sel leukosit (Blaxhall 1972).

3. 7 Parameter Uji

3.7.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan nila (*O. niloticus*) yang meliputi :

- Penghitungan sel darah merah (eritrosit)
- Penghitungan sel darah putih (leukosit)
- Diferensial leukosit (Limfosit, Neutrofil dan Monosit)

3.7.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air (suhu, DO dan pH).

3.8 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*A. bilimbi L*) terhadap hematologi ikan nila, maka data yang diperoleh dari hasil penelitian akan diuji normalitasnya untuk mengetahui kenormalan dari sebuah data, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap (RAL). Apabila dari data sidik ragam diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (*significant*) atau berbeda sangat nyata (*highly significant*) ($F \text{ hitung} > F \text{ tabel}$), maka untuk membandingkan nilai antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata terkecil (BNT) dan polynomial orthogonal untuk mengetahui uji responnya.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Hematologi

Pemeriksaan darah atau hematologi untuk mengetahui penyebab serangan penyakit dan pemeriksaan darah telah menjadi bagian penting dalam proses diagnosa penyakit. Pada pengamatan hematologi yang diamati meliputi jumlah sel darah merah (eritrosit), sel darah putih (leukosit) dan deferensial leukosit. Hasil dari pengamatan hematologi disajikan pada Lampiran 3.

4.1.1 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah rata-rata eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-Rata Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*) dalam Penelitian (10^6 sel/mm)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	27,92	23,04	25,2	76,16	25,39	2,45
B	31,25	30,42	30,28	91,95	30,65	0,52
C	39,89	36,4	38,03	114,32	38,11	1,75
D	52,75	43,75	48,51	145,01	48,34	4,50
Total				441,44		

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 1 di atas menunjukkan bahwa pada perlakuan D memiliki jumlah rata-rata eritrosit tertinggi yaitu sebesar $48,34 \times 10^6$ sel/mm³, sedangkan pada perlakuan A memiliki jumlah rata-rata eritrosit terendah yaitu $25,39 \times 10^6$ sel/mm³ dan dengan perbandingan K (-) dan K (+) masing-masing nilainya K (-) adalah $46,73 \times 10^6$ sel/mm³ dan K (+) nilainya adalah $13,46 \times 10^6$ sel/mm³. Langkah selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) yang hasilnya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Analisis Sidik Ragam Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	891,95	297,31	40,21**	4,07	7,59
Acak	8	59,15	7,39			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan analisis sidik ragam pada Tabel 2 di atas menunjukkan nilai F hitung = 40,21 lebih besar dari F tabel 5% tetapi kurang F tabel 1%, hal ini berarti pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey / BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 3.

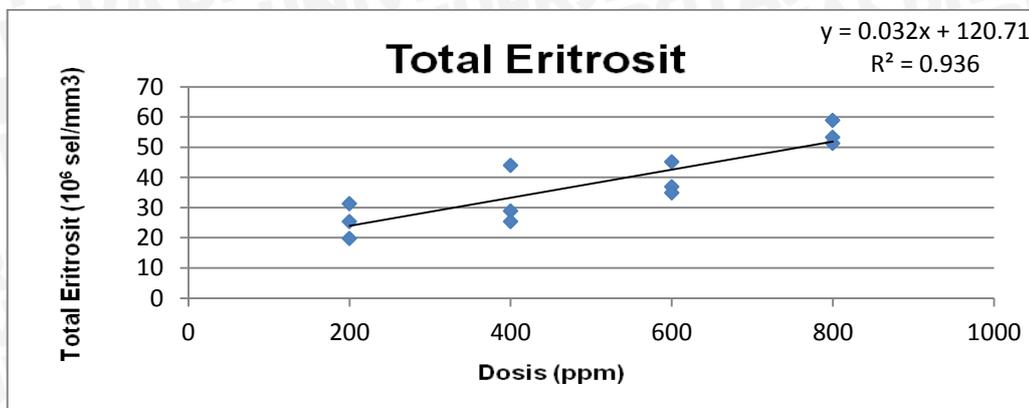
Tabel 3. Uji BNT Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	D	Notasi
		25,39	30,65	38,11	48,34	
A	25,39	—				a
B	30,65	5,26 ^{ns}	—			b
C	38,11	12,72*	7,46 ^{ns}	—		c
D	48,34	22,95**	17,69**	10,23*	—	c

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan A hasilnya berbeda nyata sehingga notasinya a, pada perlakuan B hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan A sehingga notasinya b, sedangkan pada perlakuan C dan D hasilnya tidak berbeda nyata sehingga notasinya c.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal (Lampiran 4). Hasil regresi dari perhitungan uji polinomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing

wuluh terhadap jumlah eritrosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik Regresi Total Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Grafik pada Gambar 9 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut berupa grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah eritrositnya semakin meningkat. Antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total eritrosit memiliki hubungan yang nyata, ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,936 dengan persamaan $y = 0.032x + 20.71$.

Jumlah eritrosit pada perlakuan D merupakan perlakuan yang jumlah eritrositnya normal dengan nilai rata-rata $48,34 \times 10^6$ sel/mm³. Hal ini sesuai dengan pernyataan Salasia, Sulanjari dan Ratnawati (2001), bahwa jumlah eritrosit normal ikan (mas, nila, kowan dan lele) berkisar antara $40,76-94,37 \times 10^6$ sel/mm³.

Total eritrosit paling rendah pada perlakuan A dengan nilai rata-rata $25,39 \times 10^6$ sel/mm³ hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A dengan dosis 200 ppm ikan nila (*O. niloticus*) masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*, sehingga diduga pada dosis tersebut bakteri *A. hydrophila* masih dapat menginfeksi ikan nila, dan dapat menyebabkan ikan nila (*O. niloticus*) tersebut semakin stress dan mengalami peradangan, sedangkan pada perlakuan D ($48,34 \times 10^6$ sel/mm³) total eritrositnya paling tinggi, peningkatan eritrosit diduga ekstrak daun belimbing wuluh mampu mengobati serta membunuh bakteri *A.*

hydrophila karena di dalam daun belimbing wuluh mengandung senyawa aktif flavonoid. Sesuai dengan pernyataan Rahayu (2003), bahwa senyawa flavonoid merupakan salah satu antimikroba yang bekerja dengan mengganggu fungsi membrane sitoplasma. Flavanoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, butanol, dan aseton. Flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Flavanoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat mentebabkan meningkatnya permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakann sel bakteri. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel bakteri.

Purabak (2003), juga menyatakan bahwa senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responsnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme.

4.1.2 Jumlah Leukosit

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah rata-rata leukosit ikan nila (*O. niloticus*) disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-Rata Jumlah Leukosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*) dalam Penelitian (10^3sel/mm^3)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	69,34	58,07	60,35	187,76	62,92	5,96
B	52,45	49,06	51,4	154,91	50,64	2,70
C	42,1	35,13	40,27	121,5	40,50	1,50
D	41,72	36,24	38,13	115,09	38,36	2,25
Total				572,26		

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 4 di atas menunjukkan bahwa perlakuan A memiliki nilai rata-rata nilai leukosit yang tertinggi yaitu sebesar $62,59 \times 10^3 \text{sel/mm}^3$, sedangkan pada perlakuan D memiliki nilai leukosit paling rendah yaitu $38,36 \times 10^3 \text{sel/mm}^3$. Dan dengan perbandingan K (-) dan K (+) masing-masing nilainya K (-) adalah $29,63 \times 10^3 \text{sel/mm}^3$ dan K (+) nilainya adalah $74,54 \times 10^3 \text{sel/mm}^3$. Langkah selanjutnya dilakukan perhitungan analisis sidik ragam jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) yang hasilnya disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Analisis Sidik Ragam Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	1124,45	374,82	29.92**	4,07	7,59
Acak	8	100,23	12,53			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

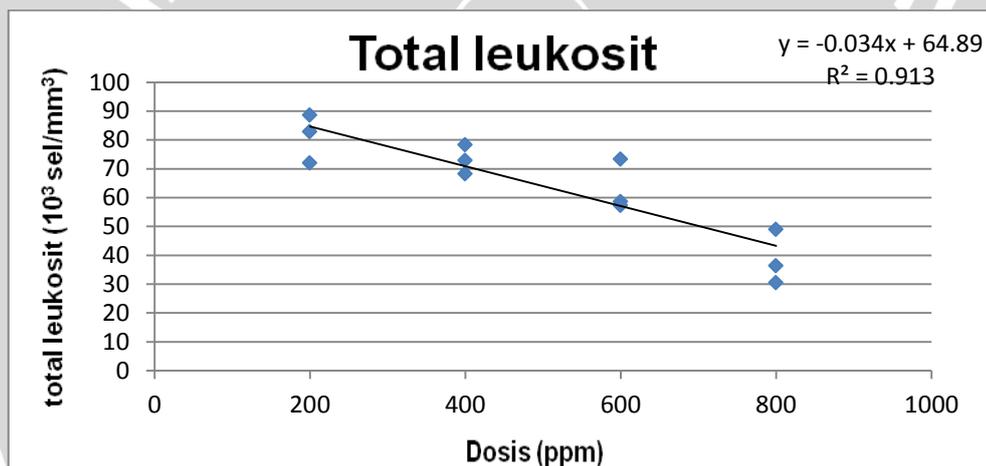
Perhitungan analisis sidik ragam pada Tabel 5 di atas menunjukkan nilai F hitung = 29.92 lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah leukosit ikan nila. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey / BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji BNT Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		38,36	40,50	51,64	62,59	
D	38,36	—				a
C	40,50	2,14 ^{ns}	—			a
B	51,64	13,27*	11,14**	—		b
A	62,59	24,22**	22,09**	10,95 ^{ns}	—	b

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan D dan C hasilnya tidak berbeda nyata sehingga notasinya a, perlakuan B dengan C hasilnya berbeda nyata sehingga notasinya b dan pada perlakuan B dan A hasilnya tidak berbeda nyata sehingga notasinya tetap b.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal (Lampiran 5). Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing wuluh terhadap jumlah leukosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi disajikan pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik Regresi Total Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Grafik pada Gambar 10 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut berupa grafik linier grafik tersebut berupa grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah leukositnya semakin menurun. Antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total leukosit memiliki hubungan yang nyata, ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,913 dengan persamaan $y = -0.034x + 64.89$.

Total leukosit paling tinggi pada perlakuan A dengan nilai rata-rata $62,59 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A dengan dosis 200 ppm ikan nila (*O. niloticus*) masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri A.

hydrophila. Sehingga leukosit pada perlakuan A menyediakan pertahanan yang lebih kuat serta cepat untuk sistem tanggap kebal tubuh. Sesuai dengan pernyataan Moyle and Cech (2004), faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan. Leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Ikan yang sakit akan menghasilkan banyak leukosit untuk memfagosit bakteri dan mensintesa antibodi.

Penurunan jumlah leukosit pada ikan nila (*O. niloticus*) di duga karena senyawa aktif flavonoid yang ada dalam daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Sesuai dengan pernyataan Pratiwi (2008), flavonoid bersifat antibakteri, flavonoid merupakan komponen aktif tumbuhan yang bertindak sebagai antimikroba dan antivirus serta sebagai penampung yang baik bagi radikal hidroksil dan superoksida.

4.1.3 Diferensial Leukosit

a. Limfosit

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah rata-rata limfosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-Rata Jumlah Limfosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*) dalam Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	45	46	45	187	45,33	0,58
B	55	51	52	178	52,67	2,08
C	62	57	59	158	59,33	2,52
D	66	58	63	136	62,33	4,04
Total				668		

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 7 di atas menunjukkan bahwa perlakuan D memiliki nilai rata-rata nilai

limfosit yang tertinggi yaitu sebesar 62,33 %, sedangkan ada perlakuan A memiliki rata-rata nilai limfosit yang terendah yaitu 45,33 %. Dan dengan perbandingan K (-) dan K (+) masing-masing nilainya K (-) adalah 64,97 % dan K (+) nilainya adalah 47 %. Langkah selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) hasilnya disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Analisis Sidik Ragam Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	514.25	171.42	25.08**	4,07	7,59
Acak	8	54.67	6.83			
Total	11					

Keterangan: * = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan analisis sidik ragam pada Tabel 8 di atas menunjukkan nilai F hitung = 25,08 besar dari F tabel 5% dan kurang dari F tabel 1%. Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah limfosit ikan nila. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey/BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 9.

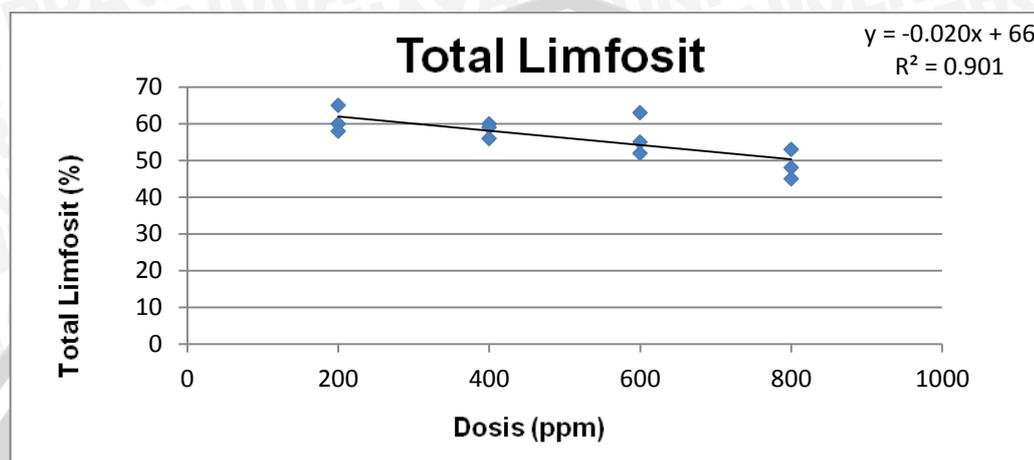
Tabel 9. Uji BNT Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	D	Notasi
		45,33	52,67	59,22	62,33	
A	45,33	—				a
B	52,67	7.34**	—			b
C	59,22	14,00*	6,66**	—		b
D	62,33	17,00**	9,66 ^{ns}	3,00 ^{ns}	—	b

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan A hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan B sehingga notasinya a, sedangkan pada perlakuan B, C dan D tidak berbeda nyata dan notasinya b.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial

orthogonal (Lampiran 6). Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing wuluh terhadap jumlah limfosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik Regresi Total Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Grafik pada Gambar 11 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut berupa grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah limfositnya semakin meningkat. Antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan total limfosit memiliki hubungan yang nyata, ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,901 dengan persamaan $y = -0.020x + 66$.

Total limfosit paling tinggi pada perlakuan D dengan nilai rata-rata 62,33 %, hal tersebut menunjukkan semakin tinggi dosis yang diberikan maka nilai limfosit pada ikan nila (*O. niloticus*) semakin meningkat. Nilai tersebut memiliki total limfosit yang normal. Sesuai dengan pernyataan Utami, Prayitno, Hastuti dan Santika (2013), menyatakan bahwa kisaran normal total limfosit pada ikan nila (*O. niloticus*) sebesar 60 – 67%.

b. Monosit

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah rata-rata monosit ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkan pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata Jumlah Monosit Pada Ikan Nila (*O. niloticus*) dalam Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	30	32	33	95	31,67	1,53
B	28	29	28	85	28,33	0,58
C	24	25	25	74	24,67	0,58
D	23	18	21	62	20,67	2,52
Total				316		

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 10 di atas menunjukkan bahwa perlakuan A memiliki nilai rata-rata nilai monosit yang tertinggi yaitu sebesar 31,67 % dan pada perlakuan D memiliki rata-rata nilai monosit yang terendah yaitu 20,67 %. Dan dengan perbandingan K (-) dan K (+) masing-masing nilainya K (-) adalah 12 % dan K (+) nilainya adalah 38,65 %. Langkah selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*), hasilnya disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Analisis Sidik Ragam Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F,Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	202	67,33	28,85**	4,07	7,59
Acak	8	28,67	2,33			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

Perhitungan analisis sidik ragam pada Tabel 11 di atas menunjukkan nilai F hitung = 28.85 besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah monosit ikan nila. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey / BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing

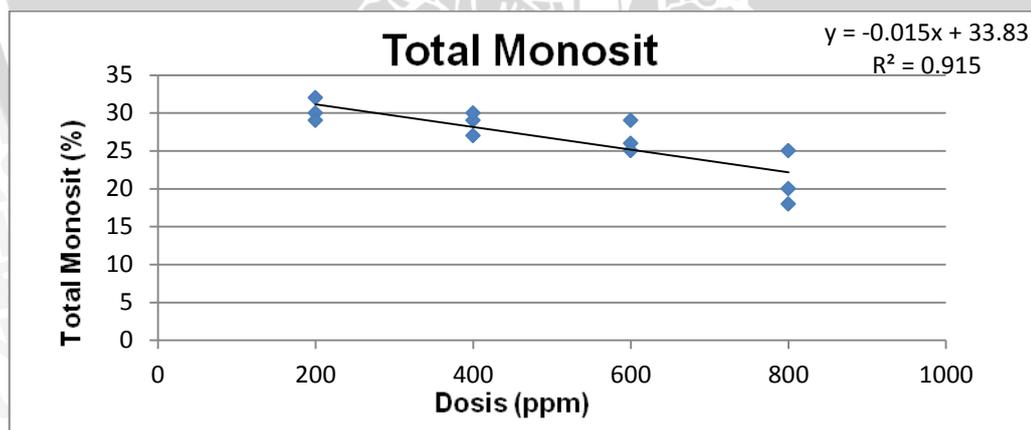
perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji BNT Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		20.67	24.67	28.33	31.67	
D	20.67	—				a
C	24.67	4.00*	—			b
B	28.33	7,67**	3.67 ^{ns}	—		b
A	31.67	11.00**	7,00**	3,33*	—	b

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan D hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan C sehingga notasinya a, sedangkan pada perlakuan C, B dan A tidak berbeda nyata dan notasinya b.

. Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal (Lampiran 7). Hasil regresi dari perhitungan uji polinomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing wuluh terhadap jumlah monosit ikan nila (*O. niloticus*) grafik regresi disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik Regresi Total Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Grafik pada Gambar 12 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut berupa grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah monositnya semakin menurun. Antara dosis yang berbeda dalam

perlakuan dengan total monosit memiliki hubungan yang nyata, itunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,915 dengan persamaan $y = -0,014x + 33,83$.

Total monosit paling tinggi pada perlakuan A dengan nilai rata-rata 31,67 % hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A ikan nila (*O. niloticus*) masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*. Sedangkan pada perlakuan B, C dan D jumlah monositnya semakin menurun, hal ini diduga karena senyawa aktif flavonoid yang ada didalam daun belimbing wuluh mampu menghambat dan membunuh bakteri *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahayu (2003), flavanoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Fungsi membran sel yang terganggu dapat menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakann sel bakteri. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel bakteri.

c. Neutrofil

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan yang dilakukan selama penelitian diperoleh jumlah rata-rata neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) seperti ditunjukkam pada Tabel 13.

Tabel 13. Rata-Rata Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*) dalam Penelitian (%)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	1	2	3			
A	14	13	13	39	13.33	1.00
B	11	8	9	28	9.33	1.53
C	8	8	7	23	7.67	0.58
D	5	7	5	17	5.67	1.15
Total				107		

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) pada Tabel 13 di atas menunjukkan bahwa perlakuan A memiliki nilai rata-rata nilai

limfosit yang tertinggi yaitu sebesar 13.33 % dan pada perlakuan D memiliki rata-rata nilai neutrofil yang terendah yaitu 5.67 %. Dan dengan perbandingan K (-) dan K (+) masing-masing nilainya K (-) adalah 8,37 % dan K (+) nilainya adalah 17 %.Langkah selanjutnya dilakukan analisis sidik ragam jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*) yang hasilnya disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Analisis Sidik Ragam Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	95,33	31,78	29,33**	4,07	7,59
Acak	8	8,67	1,08			
Total	11					

Keterangan: ** = Berbeda Sangat Nyata

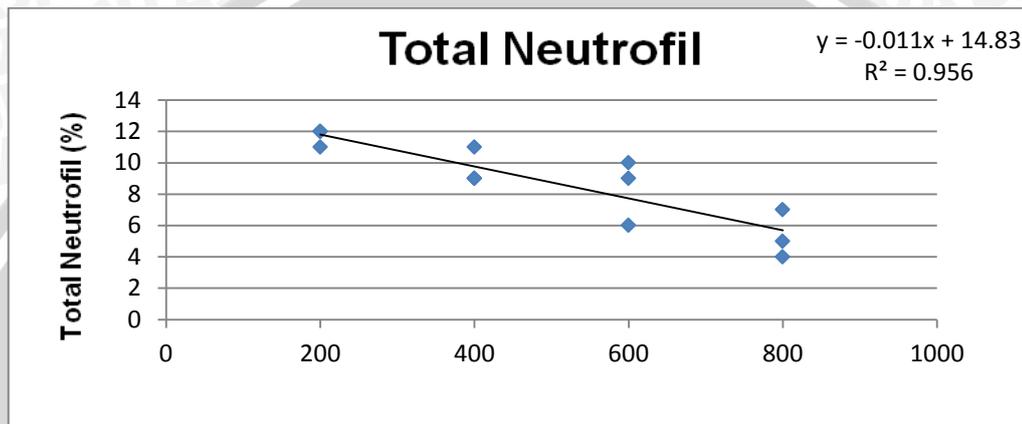
Perhitungan analisis sidik ragam pada Tabel 14 di atas menunjukkan nilai F hitung = 29.33 besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%. Hal ini berarti, pemberian perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap jumlah neutrofil ikan nila. Sehingga perhitungan dilanjutkan dengan uji Tukey / BNT untuk mengetahui perbedaan pengaruh yang diberikan oleh masing-masing perlakuan terhadap jumlah eritrosit ikan nila. Hasil Uji BNT ditunjukkan pada Tabel 15.

Tabel 15. Uji BNT Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		5.67	7.67	9.33	13.33	
D	5.67	—				a
C	7.67	2,00*	—			b
B	9.33	3,67**	1,67 ^{ns}	—		cb
A	13.33	7,33**	5,67**	4,00 ^{ns}	—	d

Berdasarkan notasi di atas dapat diketahui bahwa perlakuan D hasilnya berbeda nyata sehingga notasinya a, pada perlakuan C hasilnya berbeda nyata dengan perlakuan D sehingga notasinya b, sedangkan pada perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan C notasinya berupa cb dan perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B notasinya d.

Kemudian untuk mengetahui bentuk hubungan (regresi) antara perlakuan dengan parameter yang diuji maka dilakukan perhitungan uji polinomial orthogonal (Lampiran 8). Hasil regresi dari perhitungan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui uji respon pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing wuluh terhadap jumlah neutrofil ikan nila (*O. niloticus*), grafik regresi disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Regresi Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Grafik pada Gambar 13 di atas menunjukkan bahwa grafik tersebut berupa grafik linier yaitu ditandai dengan semakin banyak dosis yang diberikan jumlah neutrofilnya semakin menurun. Antara dosis yang berbeda dalam perlakuan dengan jumlah neutrofil memiliki hubungan yang nyata, ditunjukkan dengan hasil R^2 mendekati nilai satu (karena nilai kolerasi yang didapat dapat dikatakan memiliki hubungan yang kuat karena mendekati 100%) yaitu sebesar 0,956 dengan persamaan $y = -0.011x + 14.83$.

Total neutrofilnya paling tinggi pada perlakuan A dengan nilai rata-rata 13,33 % hal tersebut dikarenakan pada perlakuan A ikan nila (*O. niloticus*) masih belum mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila*. Sedangkan pada perlakuan B, C dan D jumlah neutrofilnya semakin menurun. Sesuai dengan pernyataan Sukenda, Jamal, Wahyuningrum dan Hasan (2008), penurunan jumlah neutrofil diduga karena dalam tubuh ikan telah terbentuk sistem

pertahanan tubuh sehingga saat infeksi bakteri maka neutrofil diproduksi oleh limfa untuk dikirim ke tempat infeksi. Semakin hari jumlah neutrofil menurun karena tubuh tidak memerlukan neutrofil lagi dan perannya sudah banyak diambil alih oleh sistem pertahanan spesifik.

4.2 Gejala Klinis Ikan Nila (*O. niloticus*) Selama Penelitian

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 (+) terdapat perdarahan di daerah insang, bercak merah pada sirip mata pucat dan bagian perut bengkak. Pada perlakuan A sisik terlepas, mata terlihat pucat, perut terlihat bengkak dan terjadi kematian. Pada perlakuan B, sisik terlepas, mata terlihat pucat. Perlakuan C beberapa sisik masih terkelupas, ikan mulai merespon sentuhan dan mulai bergerak aktif, tetapi nafsu makan masih menurun. Sedangkan pada perlakuan D ikan sudah berenang cepat, ikan terlihat sehat dan respon terhadap makanan sudah membaik. Haryani *et al.*, (2012), menyatakan bahwa ikan nila (*O. niloticus*) yang bertahan hidup pada akhirnya mengalami proses penyembuhan, baik sembuh secara total (tidak terlihat gejala klinis lagi) maupun hanya sembuh parsial (masih terlihat gejala klinis). Gejala klinis yang masih teramati pada ikan yang bertahan hidup (sembuh parsial) adalah berupa sisik yang rontok dan warna kemerahan pada kulit ikan tetapi tidak menunjukkan perbaikan terutama respon terhadap pakan yang sudah mulai kembali normal seperti ikan sehat.

Berdasarkan gejala klinis di atas, dapat diduga bahwa ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophila* kemudian diberi pengobatan dengan ekstrak kasar daun belimbing wuluh menunjukkan respon yang berbeda. Pada dosis yang rendah pada perlakuan A ikan masih belum sembuh dari infeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat dari gejala klinisnya, tetapi pada dosis yang lebih tinggi pada

perlakuan D ikan mampu diobati dari infeksi bakteri *A. hydrophila* terlihat dari respon yang semakin membaik dan nafsu makan mulai bertambah. Gejala klinis yang terlihat pada ikan ila (*O. niloticus*) dari pengamatan selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Gejala Klinis Pada Ikan Nila (*O. niloticus*) di Hari Ke- 4.

Keterangan : a. Mata Pucat
b. Terjadi pembengkakan

4.3 Kualitas Air Selama Penelitian

Dalam penelitian ini kualitas air merupakan parameter penunjang yang perlu diamaati meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Kualitas air merupakan salah satu faktor yang memegang peranan penting dalam kegiatan penelitian karena digunakan sebagai media hidup ikan yang diteliti. Kualitas air yang diuji meliputi faktor fisika dan kimia, diantaranya adalah suhu, kandungan oksigen terlarut dan pH. Pengukuran kualitas air dilakukan pada setiap pagi dan sore. Data pengukuran parameter kualitas air ditunjukkan pada Lampiran 9.

4.3.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang sangat penting bagi kehidupan organisme perairan karena suhu mempengaruhi baik aktivitas dan metabolismenya. Suhu yang optimal sangat dibutuhkan dalam suatu perairan organisme, saat suhu perairan optimal maka ikan akan memiliki selera makan

yang baik. Bila suhu rendah ikan akan kehilangan nafsu makan, sehingga pertumbuhannya terhambat, sebaliknya bila suhu terlalu tinggi ikan akan stress bahkan mati.

Berdasarkan hasil pengukuran, kisaran suhu selama pemeliharaan berkisar antara 25-27°C. Pada kisaran tersebut nilai suhu normal, sesuai dengan pernyataan Khairuman (2003), bahwa untuk pertumbuhan dan perkembangan ikan nila, suhu optimal bagi ikan nila adalah 25-30°C. Pertumbuhan ikan nila biasanya akan terganggu jika suhu habitatnya lebih rendah dari 14°C atau pada suhu tinggi 38°C. Ikan nila akan mengalami kematian pada suhu 6°C atau 42°C.

4.3.2 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH adalah biasanya digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan suatu larutan. Ukuran konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan keasaman atau kebasaan suatu zat. Nilai pH bervariasi dari 1 hingga 14. Sebuah larutan yang netral memiliki pH = 7, larutan asam memiliki pH kurang dari 7, dan larutan basa memiliki pH lebih dari 7.

Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) selama pemeliharaan berkisar antara 6,93-8,5. Nilai tersebut masih termasuk dalam kisaran normal, sesuai dengan pernyataan Ghufran dan Kordi (2004), pH yang cocok untuk ikan nila adalah 6-8,5.

4.3.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut (DO) di suatu perairan sangat berperan dalam proses penyerapan makanan oleh makhluk hidup dalam air. Semakin banyak oksigen terlarut (DO) maka perairan tersebut kualitas airnya baik.

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama pemeliharaan berkisar antara ,11-7,87 mg/l. Nilai tersebut masih dalam kisaran normal, karena menurut

Mantau dan Sumarty (2011) menyatakan bahwa ikan nila (*O. niloticus*) hidup pada kandungan oksigen terlarut lebih besar 5 ppm.

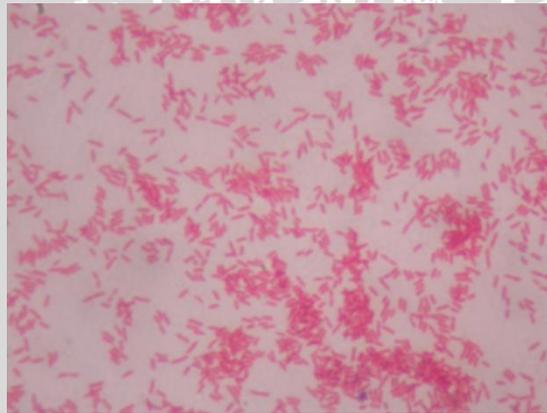
4.4 Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Pada penelitian ini bakteri yang digunakan adalah isolat murni yang diperoleh dari Balai Budidaya Air Payau Jepara. Langkah selanjutnya yang dilakukan adalah peremajaan kembali bakteri *A. hydrophila* yang sudah ada. Media yang digunakan untuk meremajakan bakteri ini, yaitu dengan metode gores dan media cair TSB yaitu (*Tryptone Soya Broth*) dimana media ini merupakan substrat untuk menumbuhkan bakteri, isolasi, dan perhitungan jumlah mikroba. Dalam pembuatan media ini harus dilakukan sterilisasi pada alat-alat dan bahan yang akan digunakan untuk menghindari kontaminasi pada media.

Proses pengidentifikasian bakteri digunakan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah *A. hydrophila*, maka perlu dilakukan beberapa pengujian biokimia yakni antara lain adalah uji gram, uji oksidase, uji motilitas dan uji O/F (Oksidasi/Fermentatif). Namun pada penelitian ini hanya menggunakan uji gram dimana untuk menentukan bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif atau bakteri gram positif. Menurut Kismiyati, Subekti, Yusuf dan Kusdarwati (2009), pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Cara kerja dari pewarnaan gram yaitu suspensikan bakteri dengan ose, kemudian letakkan pada obyek dan difiksasi, tetesi dengan larutan gram A yang mengandung kristal violet, kemudian tetesi dengan larutan gram B yang mengandung lugol, tetesi dengan larutan gram C yang mengandung alkohol, dan yang terakhir tetesi dengan larutan gram D yang mengandung safranin. Selanjutnya uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan paper oksidase yang dapat dilihat perubahan

warna yang terjadi pada paper oksidase. Uji motilitas bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut motil atau tidak dan untuk mengetahui produksi indol dari Tryptophane. Uji ini menggunakan media MIO (*Motility Indole Ornitin*).

Menurut Hayward (1994) dalam Liestiany, Fikri dan Susilowati (2012), uji oksigen (OF = Oksidasi Fermentasi) dalam pengujian oksidasi fermentasi, suspensi bakteri diinokulasi pada media untuk OF test dalam tabung rekasi. Salah satu tabung yang telah diinokulasi, permukaan medianya ditutup agar atr setinggi 1 cm. Pengamatan dilakukan 3 - 4 hari setelah dilakukan inokulasi. Bakteri yang bersifat oksidatif hanya tumbuh pada media yang tidak ditutup agar air, yang ditunjukkan dengan perubahan warna koloni media dari hijau menjadi kuning. Adapun gambar dari hasil uji gram bakteri disajikan pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil Uji Gram Bakteri *A. hydrophila* dengan Perbesaran 10.000X (Dokumentasi Pribadi)

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa, pemberian dosis ekstrak kasar daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang berbeda memberikan pengaruh terhadap hematologi ikan nila (*O. niloticus*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dimana dosis (800 ppm) mampu menyembuhkan ikan nila karena hasilnya mendekati ikan kontrol negatif K(-).

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disarankan:

- Untuk mengobati ikan nila (*O. niloticus*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dapat menggunakan daun belimbing wuluh (*A. bilimbi* L.) dengan dosis (800 ppm).
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan dosis yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 2014. Mengenal Daun Belimbing Wuluh dan Manfaatnya. <http://kitapunya.info/2014/05/24/mengenal-daun-belimbing-wuluh/>. Diakses pada Februari 2015.
- Affandi, R dan Tang U. M. 2002. Fisiologi Hewan Air. Universitas Riau Press. Riau. 217 hlm.
- Agustin, D. W. 2005, Perbedaan khasiat antibakteri bahan irigasi antara hydrogen peroksida 3% dan infusum daun sirih 20% terhadap bakteri mix, Majalah Kedokteran Gigi. (Dent. J.), Vol. 38. No. 1. Hal 45-47.
- Amri, K. dan Khairuman, 2003. Budidaya Ikan nila (*O. niloticus*) Secara Intensif. Agromedia Pustaka, Depok. 75 hlm.
- Arland. 2006. Belimbing wuluh. BPPT, Jakarta. Hal 7.
- Blaxhall, P.C. 1972. The Hematological Assessment Of The Health Of Freshwater Fish. Jurnal Fish Biology. 4: 593-604
- Cahyono, B. 2001. Budi Daya Ikan di Perairan Umum. Kanisius. Yogyakarta. 86 hlm.
- Campbell Terry W. dan Christine K. Ellis 2007. Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology, 3rd Edition. 286 hlm.
- Chariri, A. 2009. Landasan Filsafat dan Metode Penelitian Kualitatif, Paper disajikan pada Workshop Metodologi Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif, Laboratorium Pengembangan Akuntansi (LPA), Fakultas Ekonomi Universitas Diponegoro Semarang. Hal 13-14.
- Effendi, Zukesti. 2003. Peranan Leukosit Sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatera Utara. Medan. Hal 13-67
- Fujaya, Y. 2004. Fisiologi Ikan. Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. Rineka Cipta. Jakarta. 179 hlm.
- Grandiosa, Roffi. 2010. Efektivitas Penggunaan Larutan Filtrat Jintan Hitam (*Nigella sativa*) dengan Konsentrasi Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Secara In-Vitro dan Uji Toksisitasnya Terhadap Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Skripsi. Universitas Padjajaran. Jatinangor.
- Hardi, E.H., 2011. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Disertasi. Insitut Pertanian Bogor. Bogor. 177 hlm.
- Haryani, A. Grandiosa, R. Buwono, I. D, dan Santika, A. 2003. Uji Efektivitas Daun Pepaya untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*

- pada Ikan nila (*O. niloticus*) Koki. Jurnal Perikanan dan Kelautan. Vol. 3, No 3: 213-220.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. A Waverly Company. London. 992 hlm.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008, Mikrobiologi Kedokteran, Ed ke-23, Jakarta, EGC. Hal 311-316
- Kabata, M. 1985. Zat-zat Toksik yang Secara Alamiah Ada pada Bahan Makanan Nabati. Cermin Dunia Kedokteran. Jurnal Biologi Vol. 2 No. 3: 24-30.
- Kordi, K. M. Ghufuran. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Cetakan Perama. Jakarta: PT Rineka Cipta. 143 hlm
- Kidd, E. A. M. dan Bechal, S. J. 1992, Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya, Ed ke-2, Jakarta, EGC. Hal 31-45.
- Mones, R. A. 2008. Gambaran Darah pada Ikan mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea. Skripsi. IPB. Bogor. Hal 19-33
- Moyle, P. B and J.J Cech. 2004. Fishes. An Introduction to Ichthyology. 5th ed. USA: Prentice Hall, Inc. 246 hlm.
- Nurliana DR. 2006. Perbandingan kadar tanin pada daun tua dan daun muda belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dengan metode spektrofotometri visibel. <http://etd.library.ums.ac.id>. Diakses pada Maret 2015
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan-Udang Bakteri. UM Press. Malang. 115 hlm
- Partosuwiryo, S dan Y. Warseno. 2011. Kiat Sukses Budidaya Ikan Mas. PT. Citra Aji Parama, Yogyakarta. 60 hlm
- Pubarak, A.S. 2013. Senyawa Flavonoid yang Bersifat Antibaktei dari Akway (*Drimys becariana. Gibbs*). Universitas Negeri Papua. Hal 36-37
- Purwaningsih, Eko. 2000. Multiguna Belimbing wuluh. Ganeca, Bekasi. 32 hlm.
- Rukmana, H, R. 1997. Ikan nila (*O. niloticus*) Budidaya dan Prospek Agribisnis. Kanisius. Yogyakarta. 90 hlm.
- Salasia, S.I.O., D. Sulanjari, A. Ratnawati. 2001. Studi hematologi ikan air tawar. Biologi 2(12): 710-723
- Sukenda, L. Jamal., D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. Penggunaan Kitosan untuk Pencegahan Infeksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias* sp. Jurnal Akuakultur Indonesia. 7(2): 159-169.
- Sunsanto, H. 2009. 100 Resep Sembuhkan Hipertensi, Obesitas dan Asam Urat. PT. Elex Media Komputerindo. Jakarta. Hal 78-88
- Suyanto, S.R. 2010. Pembenihan dan Pembesaran Ikan Nila. Penerbit Swadaya, Jakarta. Hal 22-62

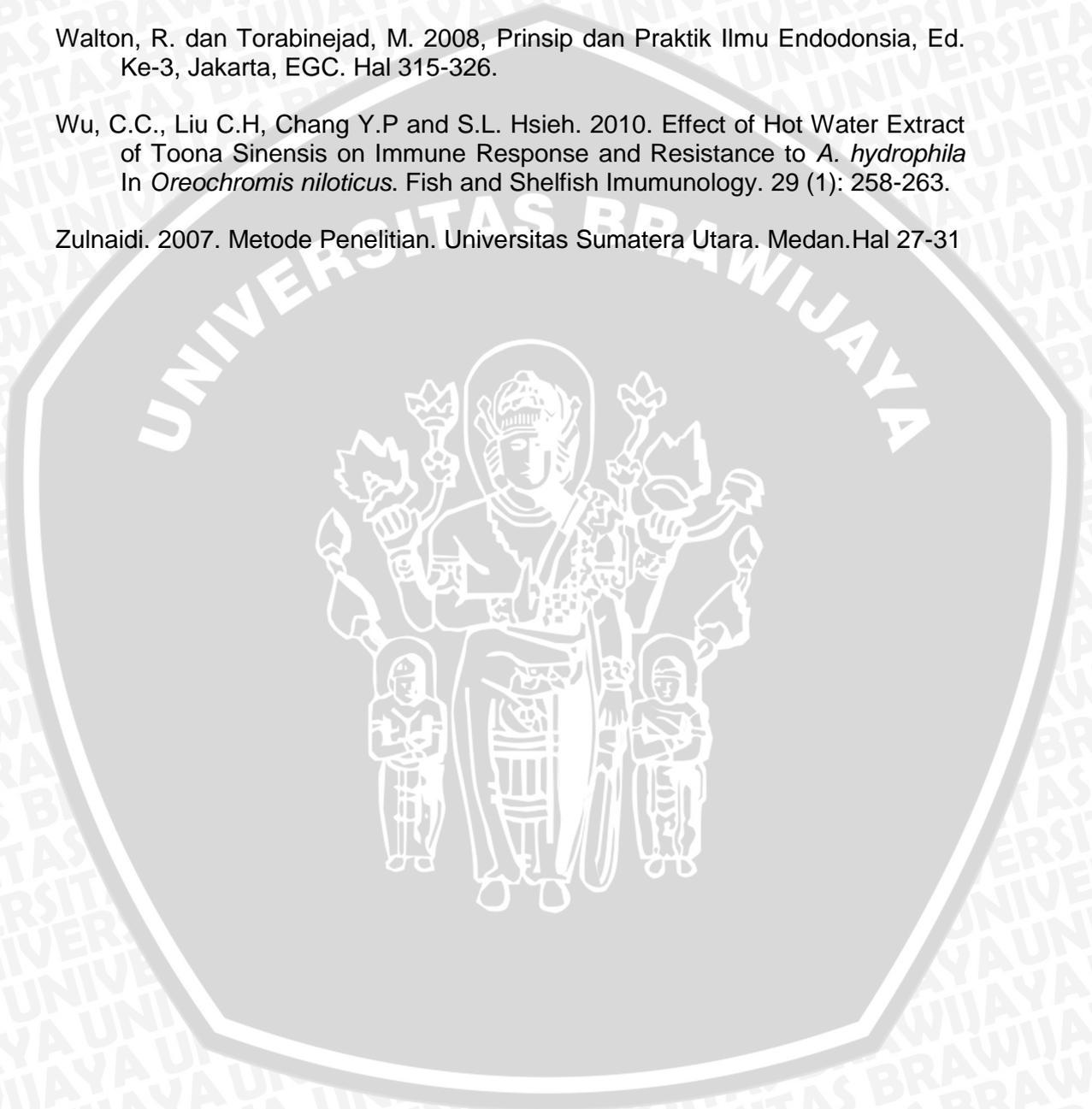
Volk dan Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar Jasad V. Jakarta : Erlangga. 712 hlm.

Wahjuningrum, D., N. Ashry dan S. Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* untuk Pencegahan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodon hydrophila* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Akuakultur Indonesia. 7 (1): 79-94

Walton, R. dan Torabinejad, M. 2008, Prinsip dan Praktik Ilmu Endodonsia, Ed. Ke-3, Jakarta, EGC. Hal 315-326.

Wu, C.C., Liu C.H, Chang Y.P and S.L. Hsieh. 2010. Effect of Hot Water Extract of *Toona Sinensis* on Immune Response and Resistance to *A. hydrophila* In *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology. 29 (1): 258-263.

Zulnaidi. 2007. Metode Penelitian. Universitas Sumatera Utara. Medan. Hal 27-31



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Akuarium



Timbangan Digital



Aerator



Selang dan Batu Aerasi



Haemocytometer dan Pipet Toma



Handtally counter

Lampiran 1. (lanjutan)



Sahli Meter



Pipet Tetes



pH Meter



DO Meter



Mikroskop



Objek glass

Lampiran 1. (lanjutan)



Sprit



Appendorf



Rotary Evaporator

Lampiran 2. Bahan Penelitian



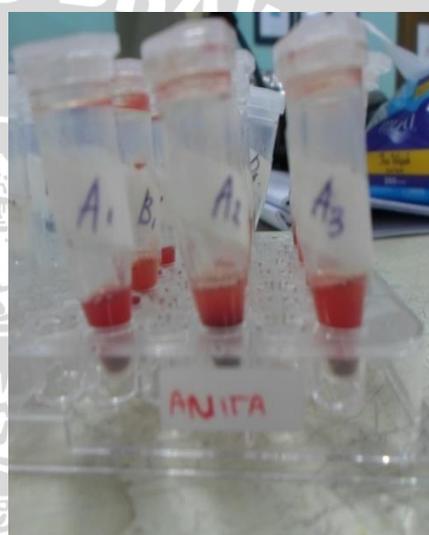
Ikan Nila (*O. niloticus*)



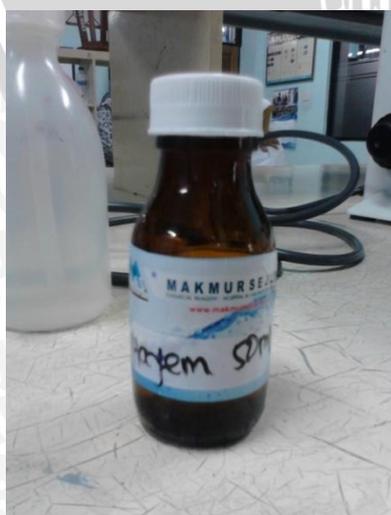
Ekstak Daun Belimbing Wuluh (*A. blimbi* L.)



Bakteri *A. hydrophila*



Sampel Darah Ikan Nila (*O. niloticus*)



Hayem



Turk

Lampiran 2. (lanjutan)



Etanol 96 %



NaOCl



Tisu



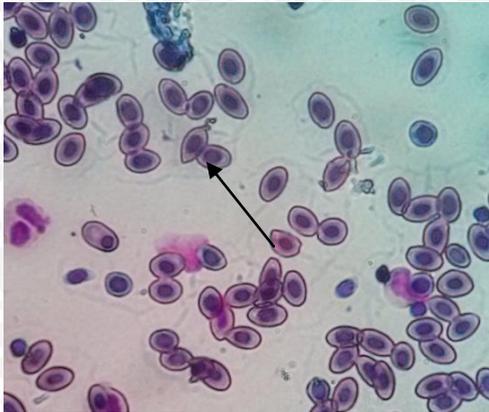
Kapas



Kertas Saring

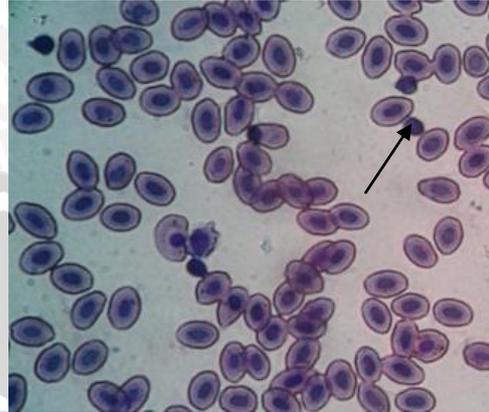
Lampiran 3. Pengamatan Hematologi

a. Eritrosit



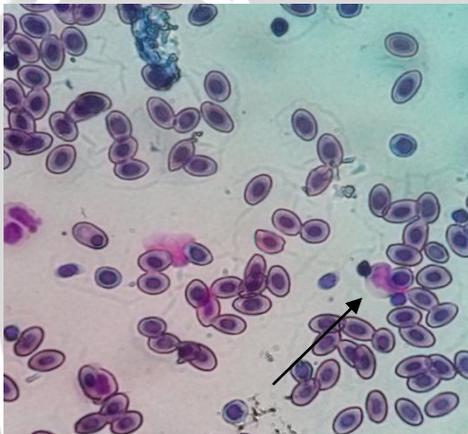
Eritrosit (tanda panah) Perbesaran 100X

b. Limfosit



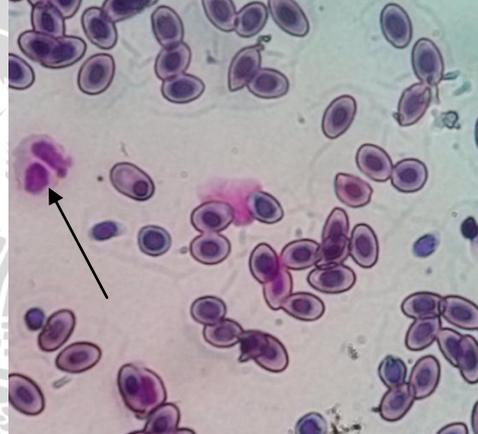
Limfosit (tanda panah) Perbesaran 400X

c. Monosit

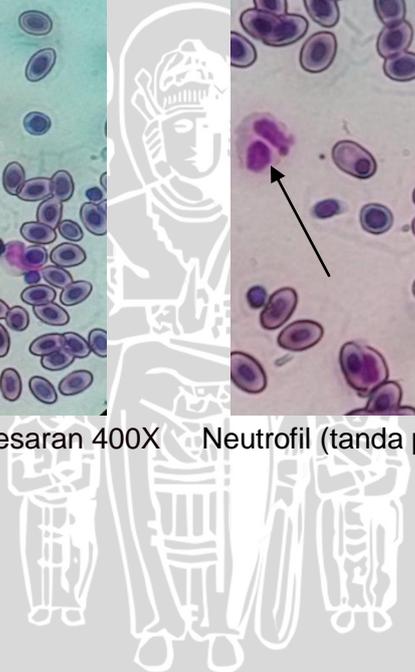


Monosit (tanda panah) Perbesaran 400X

d. Neutrofil



Neutrofil (tanda panah) Perbesaran 400X



Lampiran 4. Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 27,92 + 23,04 + 25,2 \\ &= 76,16 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{A rata-rata} &= \frac{76,16}{3} \\ &= 25,39 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 31,25 + 30,42 + 30,28 \\ &= 91,95 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{B rata-rata} &= \frac{91,95}{3} \\ &= 30,65 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 39,89 + 36,4 + 38,03 \\ &= 114,03 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{C rata-rata} &= \frac{114,03}{3} \\ &= 38,11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 52,75 + 43,75 + 48,51 \\ &= 145,01 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{D rata-rata} &= \frac{145,01}{3} \\ &= 48,34 \end{aligned}$$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	27,92	23,04	25,2	76,16	25,39
B	31,25	30,42	30,28	91,95	30,65
C	39,89	36,4	38,03	114,32	38,11
D	52,75	43,75	48,51	145,01	48,34
Total				427,44	

Perhitungan Sidik Ragam:

1. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{427,44^2}{12} \\ &= 15225,41 \end{aligned}$$

2. Jumlah Kuadrat (JK total) = $\sum x_{ij}^2 - FK$

$$\begin{aligned} &= (A^2 + B^2 + C^2 + \dots + D^2) - FK \\ &= (27,92^2 + 23,04^2 + 25,2^2 + \dots + 48,51^2) - 15225,41 \\ &= 951,11 \end{aligned}$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2+TB^2+TC^2+TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{76,16^2+91,95^2+114,03^2+145,01^2}{3} - 15225,41 \\
 &= 891,96
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 951,11 - 891,95 \\
 &= 59,15
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{819,95}{3} \\
 &= 297,31
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{59,15}{8} \\
 &= 7,39
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{297,31}{6,83} \\
 &= 40,21
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Eritrosit Ika Nila (*O. niloticus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	891,95	297,31	40,21**	4,07	7,59
Acak	8	59,15	7,39			
Total	11					

Keterangan: **= Berbeda Sangat Nyata



Lampiran 4. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,67}{3}} = 2,22$$

BNT 1% = T tabel 1% (db Acak) x

SED

BNT 5% = T tabel 5% (db Acak) x SED

$$= 2,31 \times 2,22$$

$$= 5.12$$

$$= 3,36 \times 2,22$$

$$= 7,34$$

➤ Hasil Uji BNT Eritrosit Ika Nila (*O. niloticus*)

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	D	Notasi
		25,39	30,65	38,11	48,34	
A	25,39	–				a
B	30,65	5,26*	–			b
C	38,11	12,72**	7,46**	–		c
D	4834	22,95**	17,69**	10,23**	–	c

Keterangan : ns → Non Signifikan
 ** → Sangat Berbeda Nyata

➤ Tabel Uji Polinomial Orthogonal

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	76,16	-3	1	-1
B	91,95	-1	-1	3
C	114,32	1	-1	-3
D	145,01	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		228,92	14,9	1,74
Hasil kuadrat		20	4	20
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		873,41	18,50	0,05

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{\text{db Linear}}$$

$$= \frac{873,40}{1}$$

$$= 873,40$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{873,40}{7,39}$$

$$= 118,12$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\ &= \frac{18,50}{1} \\ &= 18,50 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\ &= \frac{0,05}{1} \\ &= 0,05 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\ &= \frac{59,15}{8} \\ &= 7,39 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kuadrat} = \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{18,50}{7,39} \\ &= 2,50 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kubik} = \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{0,05}{7,39} \\ &= 0,006 \end{aligned}$$

➤ Tabel Sidik Ragam Regresi Eritrosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	891,95			4,07	7,59
Linear	1	873,40	873,40	118,12**		
Kuadrat	1	18,50	18,50	2,50 ^{ns}		
Kubik	1	0,05	0,05	0,006 ^{ns}		
Acak	8	59,1532	7,39415			
Total	11					

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{78870,67 - \frac{142,48}{4}}{1200000 - \frac{4000000}{4}} \\ &= 0,014 \end{aligned}$$

$$a = \bar{y} - 0,083 \bar{x}$$

$$\begin{aligned} &= 35,62 - 0,014 \times 50 \\ &= 33,83 \end{aligned}$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{JK Total}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{891,95}{951,11} \\ &= 0,936 \end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 69,34 + 58,07 + 60,35 & \text{A rata-rata} &= \frac{187,76}{3} \\ &= 187,76 & &= 62,59 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 54,45 + 49,06 + 51,4 & \text{B rata-rata} &= \frac{154,91}{3} \\ &= 154,91 & &= 51,64 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 42,1 + 39,13 + 40,27 & \text{C rata-rata} &= \frac{114,03}{3} \\ &= 114,03 & &= 40,50 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 40,72 + 36,24 + 38,13 & \text{D rata-rata} &= \frac{115,09}{3} \\ &= 115,09 & &= 38,36 \end{aligned}$$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	69,34	58,07	60,35	187,76	62,59
B	54,45	49,06	51,4	154,91	51,64
C	42,1	39,13	40,27	121,5	40,50
D	40,72	36,24	38,13	115,09	38,36
Total				579,26	

Perhitungan Sidik Ragam:

- Faktor Koreksi (FK) $= \frac{G^2}{N}$
 $= \frac{579,26^2}{12}$
 $= 27961,84$
- Jumlah Kuadrat (JK total) $= \sum x_{ij}^2 - FK$
 $= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$
 $= (69,34^2 + 58,07^2 + 60,35^2 + \dots + 38,13^2) - 27961,84$
 $= 1224,68$

Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{62,59^2 + 51,64^2 + 40,50^2 + 38,36^2}{3} - 27961,84 \\
 &= 1124,44
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1224,67 - 1124,44 \\
 &= 100,23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{1124,44}{3} \\
 &= 374,82
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{100,23}{8} \\
 &= 12,53
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{1124,44}{12,52} \\
 &= 29,92
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1124,45	374,82	29.92**	4,07	7,59
Acak	8	100,23	12,53			
Total	11					

Keterangan: **= Berbeda Sangat Nyata



Lampiran 5. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan} (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 12,52}{3}} = 2,89$$

BNT 1% = T tabel 1% (db Acak) x

SED

BNT 5% = T tabel 5% (db Acak) x SED

$$= 2,31 \times 2,89$$

$$= 6,67$$

$$= 3,36 \times 2,89$$

$$= 9,71$$

➤ **Hasil Uji BNT Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		38.36	40.50	51.64	62.59	
A	38,36	—				a
B	40,50	2,14 ^{ns}	—			a
C	51,64	13,27**	11,14**	—		b
D	62,59	24,22**	22,09**	10,95**	—	b

Keterangan : ns → Non Signifikan
 ** → Sangat Berbeda Nyata

➤ **Tabel Uji Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	187,76	-3	1	-1
B	154,91	-1	-1	3
C	121,5	1	-1	-3
D	115,09	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		251,42	26,44	27,56
Hasil kuadrat		20	4	20
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		1053,53	58,25	12,66

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{\text{db Linear}}$$

$$= \frac{1053,53}{1}$$

$$= 1053,53$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{1053,53}{100,23}$$

$$= 84,09$$



Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\
 &= \frac{58,25}{1} \\
 &= 58,25
 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kuadrat} = \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{58,25}{12,53} \\
 &= 4,09
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{12,65}{1} \\
 &= 12,65
 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kubik} = \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{12,66}{12,53} \\
 &= 1,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{100,23}{8} \\
 &= 12,53
 \end{aligned}$$

➤ Tabel Sidik Ragam Regresi Leukosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	891,95			4,07	7,59
Linear	1	873,40	873,40	118,12*		
Kuadrat	1	18,50	18,50	2,50 ^{ns}		
Kubik	1	0,05	0,05	0,006 ^{ns}		
Acak	8	59,1532	7,39415			
Total	11					

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$\begin{aligned}
 a &= \bar{y} - 0,034 \bar{x} \\
 &= 48,27 - 0,034 \times 500 \\
 &= 64,89
 \end{aligned}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{88162,67 - \frac{2000 - 193,09}{4}}{1200000 - \frac{4000000}{4}} \\
 &= 0,034
 \end{aligned}$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{JK Total}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1124,45}{1224,67} \\
 &= 0,913
 \end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan Jumlah Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 45 + 46 + 45 \\ &= 136 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{A rata-rata} &= \frac{136}{3} \\ &= 45,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 55 + 51 + 52 \\ &= 158 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{B rata-rata} &= \frac{158}{3} \\ &= 52,67 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 62 + 57 + 59 \\ &= 178 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{C rata-rata} &= \frac{178}{3} \\ &= 59,33 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total D} &= 66 + 58 + 63 \\ &= 187 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{D rata-rata} &= \frac{187}{3} \\ &= 62,33 \end{aligned}$$

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	45	46	45	136	45.33
B	55	51	52	158	52.67
C	62	57	59	178	59.33
D	66	58	63	187	62.33
Total				659	

Perhitungan Sidik Ragam:

1. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} &= \frac{G^2}{N} \\ &= \frac{659^2}{12} \end{aligned}$$

$$= 36190,08$$

2. Jumlah Kuadrat (JK total) = $\sum x_{ij}^2 - FK$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$$

$$= (45^2 + 46^2 + 45^2 + \dots + 63^2) - 36190,08$$

$$= 568,92$$

Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2+TB^2+TC^2+TD^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{62,33^2+59,33^2+52,67^2+45,33^2}{3} - 36190,08 \\
 &= 514,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 568,92 - 514,25 \\
 &= 54,66
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{514,25}{3} \\
 &= 171,41
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{54,67}{8} \\
 &= 12,53
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{171,41}{12,53} \\
 &= 25,08
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	514,25	171,42	25,08**	4,07	7,59
Acak	8	54,67	6,83			
Total	11					

Keterangan: **= Berbeda Sangat Nyata



Lampiran 6. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan} (r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 6,83}{3}} = 2,13$$

BNT 1% = T tabel 1% (db Acak) x

SED

BNT 5% = T tabel 5% (db Acak) x SED

$$= 2,31 \times 2,13$$

$$= 4,93$$

$$= 3,36 \times 2,13$$

$$= 7,17$$

➤ **Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rata-rata	A	B	C	D	Notasi
		45.33	52.67	59.33	62.33	
A	45,33	—				a
B	52,67	7,34**	—			b
C	59,33	14,00**	6,66**	—		b
D	62,33	17,00**	9,66**	3,00ns	—	b

Keterangan : ns → Non Signifikan
 ** → Sangat Berbeda Nyata

➤ **Tabel Uji Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	187	-3	1	-1
B	178	-1	-1	3
C	158	1	-1	-3
D	136	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		173	13	9
Hasil kuadrat		20	4	20
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		498,82	14,08	1,35

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{\text{db Linear}}$$

$$= \frac{498,81}{1}$$

$$= 498,81$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{498,81}{6,83}$$

$$= 72,99$$



Lampiran 6. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\
 &= \frac{14,08}{1} \\
 &= 14,08
 \end{aligned}$$

$$\text{F Hitung Kuadrat} = \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{14,08}{6,83} \\
 &= 2,06
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{12,65}{1} \\
 &= 12,65
 \end{aligned}$$

$$\text{F Hitung Kubik} = \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1,35}{6,83} \\
 &= 0,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{54,67}{8} \\
 &= 6,83
 \end{aligned}$$

➤ **Tabel Sidik Ragam Regresi Limfosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	514,25			4,07	7,59
Linear	1	498,82	498,82	72,99**		
Kuadrat	1	14,08	14,08	2,06 ^{ns}		
Kubik	1	1,35	1,35	0,19 ^{ns}		
Acak	8	54,67	6,83			
Total	11					

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$\begin{aligned}
 a &= \bar{y} - 0,020 \bar{x} \\
 &= 54,92 - 0,020 \times 500 \\
 &= 66
 \end{aligned}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{JK Total}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{104066,7 - \frac{2000 \cdot 219,67}{4}}{1200000 - \frac{4000000}{4}} \\
 &= 0,020
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{514,25}{568,91} \\
 &= 0,901
 \end{aligned}$$



Lampiran 7. Perhitungan Jumlah Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)

Total A = 30 + 32 + 33
= 95

A rata-rata = $\frac{95}{3}$
= 31,67

Total B = 28 + 29 + 28
= 85

B rata-rata = $\frac{85}{3}$
= 28,33

Total C = 24 + 25 + 25
= 74

C rata-rata = $\frac{74}{3}$
= 24,67

Total D = 23 + 18 + 21
= 62

D rata-rata = $\frac{62}{3}$
= 20,67

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	30	32	33	95	31.67
B	28	29	28	85	28.33
C	24	25	25	74	24.67
D	23	18	21	62	20.67
Total				316	

Perhitungan Sidik Ragam:

1. Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{316^2}{12}$$

$$= 8321,33$$

2. Jumlah Kuadrat (JK total)

$$= \sum x_{ij}^2 - FK$$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$$

$$= (33^2 + 32^2 + 33^2 + \dots + 21^2) - 8321,33$$

$$= 568,92$$



Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{31,67^2 + 28,33^2 + 24,67^2 + 20,67^2}{3} - 8321,33 \\
 &= 202
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 568,92 - 202 \\
 &= 18,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{202}{3} \\
 &= 67,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{18,67}{8} \\
 &= 2,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{202}{2,33} \\
 &= 28,85
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	202	67,33	28,86**	4,07	7,59
Acak	8	18,67	2,33			
Total	11					

Keterangan: **= Berbeda Sangat Nyata



Lampiran 7. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 2,33}{3}} = 1,24$$

BNT 1% = T tabel 1% (db Acak) x

SED

BNT 5% = T tabel 5% (db Acak) x SED

$$= 2,31 \times 1,24$$

$$= 2,88$$

$$= 3,36 \times 1,24$$

$$= 4,19$$

➤ **Hasil Uji BNT Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		20.67	24.67	28.33	31.67	
A	20.67	—				a
B	24.67	4.00**	—			b
C	28.33	7.67**	3.67**	—		b
D	31.67	11.00**	7.00**	3.33*	—	b

Keterangan : ns → Non Signifikan
 ** → Sangat Berbeda Nyata

➤ **Tabel Uji Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	187	95	-3	1
B	178	85	-1	-1
C	158	74	1	-1
D	136	62	3	1
Q=∑Ci*Ti		110	2	0
Hasil kuadrat		20	4	20
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		201,67	0,33	0

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{db \text{ Linear}}$$

$$= \frac{201,67}{1}$$

$$= 201,67$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{201,67}{2,33}$$

$$= 86,43$$



Lampiran 7. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\
 &= \frac{0,33}{1} \\
 &= 0,33
 \end{aligned}$$

$$\text{F Hitung Kuadrat} = \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,33}{2,33} \\
 &= 0,14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\
 &= \frac{0}{1} \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

$$\text{F Hitung Kubik} = \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0}{2,33} \\
 &= 0
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\
 &= \frac{18,67}{8} \\
 &= 2,33
 \end{aligned}$$

➤ **Tabel Sidik Ragam Regresi Monosit Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	202			4,07	7,59
Linear	1	201,67	201,67	86.43**		
Kuadrat	1	0,33	0,33	0,14 ^{ns}		
Kubik	1	0	0	0 ^{ns}		
Acak	8	18,67	2,33			
Total	11					

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$\begin{aligned}
 a &= \bar{y} - 0,083 \bar{x} \\
 &= 35,62 - 0,014 \times 50 \\
 &= 33,83
 \end{aligned}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{JK Total}}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{16533,33 - \frac{2000 - 105,33}{4}}{1200000 - \frac{4000000}{4}} \\
 &= 0,014
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{891,95}{951,11} \\
 &= 0,936
 \end{aligned}$$



Lampiran 8. Perhitungan Jumlah Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)

Total A = 14 + 13 + 13
= 40

A rata-rata = $\frac{40}{3}$
= 13,33

Total B = 11 + 8 + 9
= 28

B rata-rata = $\frac{28}{3}$
= 9,33

Total C = 8 + 8 + 7
= 23

C rata-rata = $\frac{23}{3}$
= 7,67

Total D = 5 + 7 + 5
= 17

D rata-rata = $\frac{17}{3}$
= 5,67

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	14	13	13	40	13,33
B	11	8	9	28	9,33
C	8	8	7	23	7,67
D	5	7	5	17	5,67
Total				108	

Perhitungan Sidik Ragam:

1. Faktor Koreksi (FK)

$$= \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{108^2}{12}$$

$$= 972$$

2. Jumlah Kuadrat (JK total) = $\sum x_{ij}^2 - FK$

$$= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + D3^2) - FK$$

$$= (14^2 + 13^2 + 13^2 + \dots + 5^2) - 972$$

$$= 104,00$$

Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2)}{r} - \text{FK} \\
 &= \frac{31,67^2 + 28,33^2 + 24,67^2 + 20,67^2}{3} - 972 \\
 &= 95,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 104,00 - 95,33 \\
 &= 8,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 5. \text{ db Perlakuan} &= n - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 6. \text{ KT Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{95,33}{3} \\
 &= 31,78
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 7. \text{ db Galat} &= n - 1 \\
 &= 11 - 3 \\
 &= 8
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 8. \text{ KT Galat} &= \frac{\text{JK Galat}}{\text{db Galat}} \\
 &= \frac{8,67}{8} \\
 &= 1,08
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 9. \text{ db Total} &= \text{db Total} - \text{db Perlakuan} \\
 &= 14 - 3 \\
 &= 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 10. \text{ F hitung} &= \frac{\text{KT perlakuan}}{\text{KT Galat}} \\
 &= \frac{31,78}{1,08} \\
 &= 29,33
 \end{aligned}$$

➤ **Analisa Sidik Ragam dengan Uji F tabel dalam Statistik Rancangan Percobaan Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	95,33	31,78	29,33**	4,07	7,59
Acak	8	8,67	1,08			
Total	11					

Keterangan: **= Berbeda Sangat Nyata



Lampiran 8. (Lanjutan)

Perhitungan Uji BNT:

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ acak}}{\text{ulangan}(r)}} = \sqrt{\frac{2 \times 21,08}{3}} = 0,85$$

BNT 1% = T tabel 1% (db Acak) x

SED

BNT 5% = T tabel 5% (db Acak) x SED

$$= 2,31 \times 0,85$$

$$= 1,96$$

$$= 3,36 \times 0,85$$

$$= 2,85$$

➤ **Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Perlakuan	Rata-rata	D	C	B	A	Notasi
		5.67	7.67	9.33	13.33	
A	5,67	—				a
B	7,67	2,00*	—			b
C	9,33	3,67**	1,67*	—		cb
D	13,33	7,67**	5,67**	4,00**	—	d

Keterangan : ns → Non Signifikan
 ** → Sangat Berbeda Nyata

➤ **Tabel Uji Polinomial Orthogonal**

Perlakuan	Data (Ti)	Perbandingan Ci		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	40	-3	1	-1
B	28	-1	-1	3
C	23	1	-1	-3
D	17	3	1	1
Q=∑Ci*Ti		74	6	-8
Hasil kuadrat		20	4	20
Kr=(∑Ci^2)*r		60	12	60
JK=Q^2/Kr		91,27	3	1,07

Perhitungan Sidik Ragam Regresi:

$$KT \text{ Linear} = \frac{JK \text{ Linear}}{\text{db Linear}}$$

$$= \frac{91,27}{1}$$

$$= 91,27$$

$$F \text{ Hitung Linear} = \frac{KT \text{ Linear}}{KT \text{ Acak}}$$

$$= \frac{91,27}{1,08}$$

$$= 84,25$$



Lampiran 8. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{KT Kuadrat} &= \frac{\text{JK Kuadrat}}{\text{db Kuadrat}} \\ &= \frac{3}{1} \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kuadrat} = \frac{\text{KT Kuadrat}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{3}{1,08} \\ &= 2,77 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{db Kubik}} \\ &= \frac{0,98}{1} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

$$F \text{ Hitung Kubik} = \frac{\text{KT Kubik}}{\text{KT Acak}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{0,98}{1,08} \\ &= 0,98 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KT Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} \\ &= \frac{8,67}{8} \\ &= 1,08 \end{aligned}$$

➤ **Tabel Sidik Ragam Regresi Neutrofil Ikan Nila (*O. niloticus*)**

Sumber keragaman	Db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	95,33			4,07	7,59
Linear	1	91,27	91,27	84,25		
Kuadrat	1	3	3	2,77		
Kubik	1	1,07	1,07	0,98		
Acak	8	8,67	1,08			
Total	11					

$$a = \bar{y} - b \bar{x}$$

$$\begin{aligned} a &= \bar{y} - 0,011 \bar{x} \\ &= 9,00 - 0,011 \times 500 \\ &= 14,83 \end{aligned}$$

$$b = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{78870,67 - \frac{2000 - 36,00}{4}}{1200000 - \frac{4000000}{4}} \\ &= 0,011 \end{aligned}$$

$$R^2 = \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{JK Total}}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{95,33}{104} \\ &= 0,913 \end{aligned}$$



Lampiran 9. Tabel Kualitas Air

Perlakuan	Pagi			Sore		
	pH	Suhu ($^{\circ}$ C)	DO (ppm)	pH	Suhu ($^{\circ}$ C)	DO (ppm)
A	6,93	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	8,5	26,23	5,06	8,02	25,97	4,21
K-	7,94	26,48	4,22	7,70	26,40	4,10
K+	8,04	25,62	4,25	7,81	25,72	4,30