

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdarrifa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Oleh :

MUHAMMAD HASAN

NIM. 115080500111018



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2015

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdarrifa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*

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

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

Oleh :

**MUHAMMAD HASAN
NIM. 115080500111018**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2015

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KASAR BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdarrifa*) TERHADAP HEMATOLOGI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas fluorescens*

Oleh :

MUHAMMAD HASAN
NIM. 115080500111018

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 12 Agustus 2015
Dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I

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

DOSEN PENGUJI II

Dr. Ir. M. Fadjar, M.Sc
NIP. 19621014 198701 1 001

**MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I**

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

DOSEN PEMBIMBING II

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

**MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP**

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

PERNYATAAN ORISINALITAS

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

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

Malang, Agustus 2015
Mahasiswa

Muhammad Hasan



RINGKASAN

Muhammad Hasan. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Hematologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Dibawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Arief Prajitno, MS.** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS**

Indonesia merupakan salah satu negara dengan sumberdaya perikanan terbesar di dunia. Melihat prospek dari ikan hias air tawar yang begitu besar maka banyak orang mulai menekuni usaha budidaya ikan hias air tawar. Salah satu ikan hias air tawar yang mulai banyak di budidayakan di Indonesia adalah ikan koi (*Cyprinus carpio*). Salah satu kendala utama industri budidaya adalah munculnya serangan penyakit pada biota budidaya. Penyakit ikan adalah segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung, maupun tidak langsung. Salah satu penyakit yang menyerang industri budidaya air tawar adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

Penggunaan bahan kimia dalam kadar tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, tetapi residu dari bahan kimia yang digunakan itu nantinya akan mencemari lingkungan perairan disekitarnya. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk menciptakan obat yang berguna untuk mencegah dan mengobati ikan dari bahan alami dan mudah didapat. Salah satu tanaman yang mempunyai kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri adalah tanaman bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Parasit Dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 1 januari hingga 1 maret 2015. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) terhadap hematologi ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu metode penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap obyek penelitian serta adanya kontrol. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan percobaan acak lengkap (RAL) dengan menggunakan 4 perlakuan dosis ekstrak kasar bunga rosella yaitu dosis perlakuan (A) 6 ppm; (B) 10 ppm; (C) 14 ppm; dan (D) 18 ppm. Masing – masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa perhitungan eritrosit terbaik terdapat pada perlakuan C (14 ppm) memiliki rata-rata jumlah eritrosit tertinggi yaitu $17,06 \times 10^6$ sel/mm³. Perhitungan leukosit terbaik pada perlakuan C dengan dosis 14 ppm, jumlah leukosit sudah mendekati ikan kontrol yakni $9,78 \times 10^3$ sel/mm³. Sedangkan dari hasil perhitungan hematokrit perlakuan terbaik adalah perlakuan C yakni 14 ppm sebesar 23%. Sedangkan pada hasil hemoglobin terbaik didapatkan pada perlakuan C dengan dosis 14 ppm yakni sebesar 6%. Sedangkan pada parameter penunjang terdapat gejala klinis yang terlihat pada perlakuan A (6 ppm) yakni terdapat sisik yang mengelupas, dan juga gejala *haemoragic*.

Kualitas air yang didapat pada penelitian ini adalah suhu sebesar 25 - 27,4°C, pH 6 – 7,8 dan oksigen terlarut (DO) sebesar 2,2 - 3,3 mg/l. Kualitas air pada penelitian ini masih dalam kisaran normal untuk kelangsungan hidup ikan koi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang mana telah memberikan limpahan rahmat dan karuniaNya. Tak lupa shalawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap Hematologi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas fluorescens*”.

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

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

Malang, Agustus 2015

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Allah SWT atas segala limpahan rahmat serta karunia-Nya.
2. Orang tua tercinta, Alm Bapak Alwi Abdullah Al-kaff dan Ibu Hamidah, Adik tercinta Nurani Amalia yang selalu memberikan dukungan berupa doa, semangat, dan materi dalam menyelesaikan laporan ini ;
3. Sahabat tercinta Brother Bear, Nur Rizka, Ma'ruf Rifanda, Tedy Bagus, Bella Dwi R, Fahmi Arifianto, Reza, Lutfi, Richi, Necil dan Faridatus yang selalu sabar menemani dan menyemangati dengan canda tawa kalian sehingga laporan ini dapat terselesaikan.
4. Tim Parasiters Fajar, Yora, Ratna, Via, Dika, Tamy, Anita, Dian, Amel, Imam, Dita, Gabri, Nikita, Ima, Enwe, Indah, Buan, Maryati dan Maida.
5. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011, Yulis, Aji, Galih, Arum, Buncis, Prima, Nayaka, Randy, Mas Rizaldi, Feby, Cacink beserta teman – teman yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan semua.
6. Mbak Titin, Mbak Heny, Pak Udin, dan Pak Yit yang selalu membantu dan membimbing kami dalam hal penelitian di laboratorium.
7. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian.

Malang, Agustus 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Manfaat Peneliti.....	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	6
2.1.2 Habitat.....	7
2.1.3 Kualitas Air.....	8
a. Suhu.....	8
b. Oksigen Terlarut.....	9
c. pH.....	9
2.1.4 Penyakit Yang Menyerang Ikan Koi.....	10
2.2 Bunga Rosella (<i>H. sabdariffa</i>).....	10
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	10
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	12
2.2.3 Kandungan Bahan Aktif dan Manfaat.....	12
2.3 Bakteri <i>P. fluorescens</i>	13
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	13
2.3.2 Infeksi Bakteri <i>P. fluorescens</i> dan Tanda Penyerangan.....	15
2.4 Hematologi.....	15
2.4.1 Eritrosit.....	15
2.4.2 Leukosit.....	16
2.4.3 Hemoglobin.....	16
2.4.4 Hematokrit.....	17

3. METODE PENELITIAN	
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat-alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian	19
3.2 Metode Penelitian	20
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Persiapan Penelitian	23
a. Persiapan Ikan	23
b. Pembuatan Ekstrak Kasar Bunga Rosella (<i>H. sabdariffa</i>)	24
c. Persiapan Alat Penelitian	24
d. Pemiakan Bakteri <i>P. Fluorescens</i>	25
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	26
a. Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	26
b. Pemberian ekstrak Kasar Bunga Rosella	26
c. Penambilan Sampel Darah	27
d. Uji Hematologi	27
3.5 Parameter Uji	30
3.5.1 Parameter Utama	30
3.5.2 Parameter Penunjang	30
3.6 Analisa Data	30
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Hematologi	32
4.1.1 Jumlah Hemoglobin	32
4.1.2 Jumlah Hematokrit	35
4.1.3 Jumlah Eritrosit	38
4.1.4 Jumlah Leukosit	41
4.2 Pengamatan Gejala Klinis	44
4.3 Kualitas Air	46
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	47
5.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Koi (<i>C. carpio</i>)	7
2. Bunga Rosella (<i>H. sabdariffa</i>)	11
3. Bakteri <i>P. fluorescens</i>	14
4. Denah Penelitian	23
5. Gambar Diagram Hemoglobin	32
6. Gambar Diagram Hematokrit	36
7. Gambar Diagram Eritrosit	39
8. Gambar Diagram Leukosit	42
9. Gejala Klinis Ikan	46



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji MIC	22
2. Rancangan Perlakuan Uji	24
3. Jumlah Rata-Rata Hemoglobin (%) Ikan Koi Selama Pemeliharaan	32
4. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan	33
5. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Koi jam ke 12	33
6. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Koi jam ke 18	34
7. Jumlah Rata-Rata Hematokrit (%) ikan koi	35
8. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Koi	36
9. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hematokrit Ikan Koi	37
10. Jumlah Rata-Rata Eritrosit ($\times 10^5$ sel/ mm^3) Ikan Koi	38
11. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Koi	39
12. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit Ikan Koi	40
13. Jumlah Rataan Leukosit ($\times 10^3$ sel/ mm^3) Ikan Koi	41
14. Sidik Ragam Leukosit Ikan Koi	42
15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Leukosit Ikan Koi	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat Penelitian	51
2. Bahan Penelitian.....	53
3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian	55
4. Jumlah Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan.....	56
5. Perhitungan Jumlah Hemoglobin Ikan Koi	58
6. Jumlah Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan	61
7. Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Koi	63
8. Jumlah Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan	66
9. Perhitungan Jumlah Eritrosit Ikan Koi	68
10. Jumlah Leukosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan	71
11. Perhitungan Jumlah Leukosit Ikan Koi	73
12. Tabel Kualitas Air.....	76



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan sumberdaya perikanan terbesar di dunia. Baik dalam perairan darat maupun perairan laut komoditas perairan Indonesia memiliki prospek ekonomi yang sangat tinggi, permintaan akan sektor ini terus meningkat setiap tahunnya. Jumlah spesies ikan hias yang ada di Indonesia termasuk cukup banyak ditemukan, baik ikan hias air tawar maupun ikan hias air laut. Ikan hias air laut berkisar antara 650 spesies, dan untuk ikan hias air tawar berkisar antara 400 spesies yang ada dari 1.100 spesies ikan hias yang ada di seluruh dunia. Banyak sekali komoditas perairan Indonesia khususnya ikan hias air tawar yang di ekspor ke berbagai wilayah di Asia Tenggara (Bachtiar, 2007).

Ikan hias merupakan komoditas ikan yang sering di cari terus - menerus untuk memenuhi permintaan akan ikan hias di Indonesia. Ikan hias di Indonesia sendiri tidak hanya berasal dari tawar saja tetapi juga dari laut. Kurangnya usaha budidaya ikan hias air laut berimbang dengan meningkatnya penangkapan ikan hias ini, akan tetapi apabila terlalu banyak dilakukan penangkapan akan berakibat rusaknya ekosistem perairan laut. Sehingga peluang usaha di sektor ikan hias air tawar sangat besar. Tidak hanya permintaan dari pasar lokal tetapi permintaan akan ikan hias air tawar sendiri sudah masuk ke dalam pasar ekspor. Selama sepuluh tahun terakhir nilai ekspor untuk ikan hias mencapai 0,09 - 9% per tahun. Meskipun awalnya hanya mengekspor ke negara Singapura tetapi sekarang Indonesia sudah mengekspor ke lebih dari 60 negara di dunia dan menjadikan Indonesia sebagai pengeksport ikan hias nomor 2 di dunia (Twigg, 2008).

Melihat prospek dari ikan hias air tawar yang begitu besar maka banyak orang mulai menekuni usaha budidaya ikan hias air tawar. Salah satu ikan hias air tawar yang mulai banyak di budidayakan di Indonesia adalah ikan koi (*Cyprinus carpio*). Menurut Susanto (2000), Ikan koi termasuk golongan ikan mas atau ikan cyprinid. Ikan koi sendiri merupakan ikan hias asli dari Jepang. Ikan koi memiliki 13 varietas dengan ciri warna yang berbeda - beda. Ikan koi ini banyak di buru oleh para kolektor dikarenakan keindahan warnanya, bahkan karena keindahan warna dari ikan ini banyak diadakan kontes untuk mengadu keindahannya.

Lingkungan air tidak hanya menjadi habitat ikan, tetapi juga menjadi habitat bagi makhluk hidup maupun makhluk tak hidup, termasuk di dalamnya yaitu, bakteri, virus, parasit dan jamur. Karena itu pula di lingkungan tersebut dapat terjadi dua hubungan yakni hubungan yang saling menguntungkan atau yang saling merugikan (Kordi, 2004)

Penyakit pada ikan di alam dapat terjadi karena adanya interaksi antara inang, jasad pathogen, dan kondisi lingkungan. Apabila interaksi antara ketiga komponen tersebut tidak seimbang, maka akan mengakibatkan timbulnya penyakit pada ikan. Ikan mudah terserang penyakit apabila kondisi tubuhnya lemah atau stres. Beberapa faktor yang mempengaruhi kondisi tersebut adalah : kepadatan tinggi, makanan yang kurang baik, kualitas air yang buruk, perubahan suhu yang tinggi, serta penanganan yang buruk. Jasad pathogen dapat masuk ke dalam tubuh ikan melalui insang dan kulit yang luka atau bercampur dengan makanan (Prajitno, 2007). Salah satu jenis bakteri yang sering menginfeksi ikan air tawar adalah jenis bakteri *Aeromonas* dan *Pseudomonas* (Irianto, 2005).

Kurangnya informasi yang cukup dalam mencegah dan mengobati penyakit yang menyerang ikan air tawar akan mengakibatkan kerugian bagi para pembudidaya, sehingga perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk

memperluas pengetahuan kepada para pembudidaya ikan hias air tawar yang akhir - akhir ini sering sekali menggunakan obat - obatan yang mengandung bahan -bahan kimia. Penggunaan bahan kimia ini memang dalam kadar tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur, apabila ikan terserang penyakit yang berasal dari bakteri. Tetapi residu dari bahan kimia yang digunakan itu nantinya akan mencemari lingkungan perairan disekitarnya. Untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk menciptakan obat yang berguna untuk mencegah dan mengobati ikan dari bahan alami dan mudah didapat.

Salah satu tanaman yang mempunyai kandungan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri adalah tanaman bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*). Menurut Mahadevan, Shivali, dan Kamboj (2009), menyatakan bahwa kelopak bunga rosella mengandung beberapa senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai imunostimulator. Senyawa ini dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada organisme.

Sel dan cairan darah (plasma darah) merupakan aspek diagnosa yang penting untuk dikaji, karena kedua aspek tersebut mempunyai peran fisiologis yang sangat penting serta mampu menggambarkan kondisi kesehatan ikan. Svobodova dan Vyukusova (1991), menjelaskan bahwa pemeriksaan darah dapat membantu untuk memantapkan tujuan diagnostik, beberapa diantara tujuan tersebut adalah untuk mengevaluasi kondisi ikan, menguji efek zat beracun pada ikan, untuk menguji pantas tidaknya makanan untuk ikan dan mengevaluasi efek tekanan situasi.

1.2 Rumusan Masalah

Salah satu alternatif pengganti dari penggunaan antibiotik berbahan kimia pada usaha budidaya ikan adalah dengan menggunakan bahan alami yang

dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri yang menyerang ikan budidaya dan tidak menyebabkan perairan tercemar oleh residu. Kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa*), memiliki senyawa - senyawa antibakteri yang diduga dapat menghambat atau bahkan menghentikan pertumbuhan dari bakteri *P. fluorescens* yang menginfeksi ikan koi (*C. carpio*). Parameter kondisi kesehatan ikan yang di lihat adalah dari hematologi ikan itu sendiri. Dari uraian di atas, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak kasar kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa*) berpengaruh terhadap hematologi ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*?
2. Berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa*) pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kelopak bunga rosella (*H. sabdariffa*) terhadap hematologi ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.
2. Mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

1.4 Hipotesis Penelitian

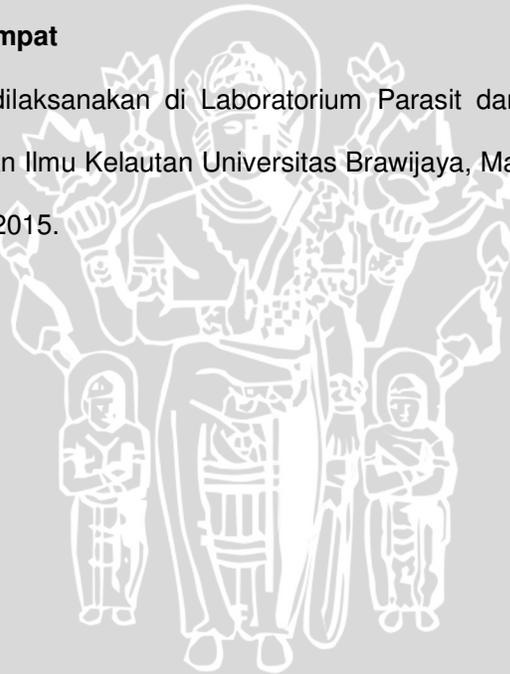
1. Ho : pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) dengan dosis yang berbeda diduga tidak memberikan pengaruh terhadap hematologi ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.
2. H1 : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) dengan dosis yang berbeda diduga berpengaruh nyata pengaruh terhadap hematologi ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

1.5 Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil dari penelitian ini nantinya mampu menjadi sumber informasi ilmiah untuk mengetahui bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) untuk menyembuhkan ikan melalui gambaran hematologi ikan. Hasil dari penelitian ini juga diharapkan dapat menambah informasi mengenai cara alternative untuk pencegahan maupun pengobatan infeksi penyakit ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *P. fluorescens* dengan menggunakan ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) sebagai pengganti dari probiotik maupun bahan kimia lainnya.

1.6 Waktu dan Tempat

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



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Koi (*C. carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Amri dan Khairuman (2002), Klasifikasi dari ikan koi adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Superclass	: Pisces
Kelas	: Osteichthyes
Subkelas	: Actinopterygii
Ordo	: Cypriniformes
Subordo	: Cyprinoidea
Family	: Cyprinidae
Subfamily	: Cyprininae
Marga	: Cyprinus
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i> L.

Menurut Khairuman, Sudenda dan Gunadi (2002), ikan mas memiliki tubuh agak memanjang dan memipih tegak. Mulutnya dapat disembulkan (*Protaktil*) dan mempunyai dua pasang sungut di ujung mulutnya. Ikan mas memiliki gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang tersusun tiga atas tiga baris gigi geraham.

Menurut Susanto (2000), bentuk tubuh ikan koi seperti torpedo dengan alat gerak berupa sirip. Sirip – sirip yang melengkapi bentuk morfologinya adalah sebuah sirip punggung, sepasang sirip dada, sepasang sirip perut, sebuah sirip anus, dan sebuah sirip ekor. Sirip - sirip ini terdiri dari jari – jari keras, jari – jari

lunak, dan selaput sirip. Gambar ikan Koi (*C. carpio*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan koi (*C. carpio*) (Dokumentasi Penelitian)

Khairuman, Sudenda dan Gunadi (2002), menyatakan bahwa golongan ikan mas memiliki tubuh agak memanjang dan memipih tegak. Mulutnya dapat disembulkan (*Protaktil*) dan mempunyai dua pasang sungut di ujung mulutnya. Ikan mas memiliki gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang tersusun tiga atas tiga baris gigi geraham. Sedangkan menurut Amri dan Khairuman (2002), tubuh ikan koi ditutupi oleh kulit yang terdiri dari kulit epidermis dan kulit dermis. Kulit dermis atau kulit luar memiliki fungsi sebagai pelindung dari kotoran yang ada dilingkungan yang menempel di permukaan tubuh serta mencegah masuknya hama dan penyakit. Kulit ikan koi mempunyai berbagai macam zat warna (pigmen) yakni, *melanofora* (hitam), *santofora* (kuning), *guanofora* (putih berkilauan), dan *eritofora* (merah). Semua pigmen warna diatas yang berperan atas warna tubuh ikan koi yang bervariasi.

2.1.2 Habitat

Ikan koi hidup di perairan tawar yang memiliki kedalaman tidak terlalu dalam dan aliran airnya tidak terlalu deras, sebagai contoh di pinggiran sungai, pinggir sawah atau danau. Ikan koi dapat hidup baik pada daerah dengan

ketinggian 150 – 600 m di atas permukaan laut. Meskipun tergolong ikan air tawar, ikan koi juga kadang ditemukan di daerah air payau atau di muara sungai (Khairruman, 2000).

Koi merupakan salah satu jenis ikan yang mudah untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Ikan koi hampir dapat menempati semua media pemeliharaan, baik kolam maupun akuarium. Ikan koi dapat mengalami stres apabila saat proses transportasi mengalami perubahan suhu secara drastis atau secara mendadak. Ikan koi dapat hidup hingga 70 tahun, bahkan bisa hidup selama 200 tahun. (Susanto, 2000).

2.1.3 Kualitas Air

Air merupakan media internal dan eksternal bagi kehidupan ikan. Air mempunyai berbagai macam fungsi, sebagai media yang bersifat internal air berfungsi sebagai bahan baku untuk reaksi di dalam tubuh, sebagai pengangkut bahan makanan ke seluruh tubuh, pengangkut sisa metabolisme, dan pengatur atau penyangga suhu tubuh. Sedangkan sebagai media eksternal air berfungsi sebagai habitat dari ikan itu sendiri. Oleh karena peranan air yang vital bagi kelangsungan hidup ikan sehingga kualitas dan kuantitas dari air itu perlu untuk di jaga (Kordi, 2005).

a. Suhu

Aktivitas metabolisme organisme akuatik sangat dipengaruhi oleh suhu, baik di perairan tawar maupun perairan laut. Suhu juga mempengaruhi pertumbuhan dan kehidupan ikan. Umumnya laju pertumbuhan ikan akan meningkat sesuai dengan peningkatan suhu, dan dapat membuat ikan mengalami tekanan atau stress bahkan mengalami kematian apabila suhu berubah sangat ekstrim (drastis) (Kordi, 1996).

b. Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut merupakan parameter kunci kualitas air. Tersedianya oksigen terlarut dalam air sangat menentukan kehidupan udang dan ikan. Oksigen terlarut dalam suatu perairan diperoleh melalui difusi dari udara ke dalam air, aerasi mekanis, dan fotosintesis tanaman akuatik. Sementara itu, oksigen terlarut dalam air dapat berkurang akibat adanya respirasi dan pembusukan bahan organik pada dasar perairan (Effendy, 2003).

Kandungan oksigen terlarut (DO) sangat penting bagi kehidupan organisme air, terutama ikan. Perairan dikatakan baik apabila kandungan oksigen terlarut cukup banyak. Oksigen terlarut di air dapat disebabkan oleh difusi udara, proses asimilasi tanaman air hijau, aliran air yang masuk, dan hujan. Ikan jenis *carp* mempunyai batas minimum oksigen yang dibutuhkan untuk hidup di suatu perairan, yakni sebesar 4,5 ppm. Apabila jumlah oksigen terlarut tinggi tidak mempengaruhi kehidupan ikan karper. Akan tetapi dalam kadar tertentu terlalu tinggi kadar oksigen terlarut dapat menyebabkan kematian pada ikan karper. Terjadi proses emboli gas dalam pembuluh darah ikan (Murtidjo, 2004).

c. pH

pH merupakan kepekatan dari ion - ion H (hidrogen) yang lepas dalam suatu perairan. pH disebut juga dengan derajat keasaman. Air murni (H_2O) berasosiasi sempurna sehingga memiliki ion H^+ dan H^- dalam konsentrasi yang sama, sehingga dalam keadaan demikian pH air murni bernilai 7 (Kordi dan Trancung, 2007).

pH air berpengaruh terhadap tingkat kesuburan suatu perairan. Perairan yang memiliki kandungan pH rendah atau asam, akan kurang produktif dan dapat membahayakan organisme budidaya karena kandungan oksigen terlarut akan berkurang dalam keadaan asam, akibatnya konsumsi oksigen menurun,

aktivitas pernafasan naik, dan selera makan akan berkurang. Kandungan pH yang baik dalam usaha budidaya perairan berkisar antara 6,5 - 9,0 (Kordi, 2009).

2.1.4 Penyakit Yang Menyerang Ikan Koi

Menurut Susanto (2000), penyakit yang menyerang ikan koi adalah *White spot*, kutu ikan, jamur (kapas putih), cacing jangkar, penyakit gelembung renang, dan penyakit gelembung gas, namun pada kenyataannya dalam lapangan, penyakit yang menyerang pada benih adalah penyakit parasit, yaitu *Mixobolus*, sp, penyakit ini menyerang insang dan akhirnya insang membengkak. Karena insang membengkak, ikan pun jadi sulit bernafas dan ikan koi mati. Penyakit ini diduga karena saat persiapan kolam tidak menggunakan desinfeksi. Cara penanggulangannya adalah ikan ini dimusnahkan atau ikan yang mati ini dibuang. Ada pula petani yang mencoba menggunakan perendaman dengan NaCl 2% selama 30 menit. Cara ini juga masih belum ada hasilnya.

Menurut Prajitno (2007), penyakit yang biasa menyerang ikan koi adalah jenis bakteri *A. hydrophylla*. Biasanya secara morfologis maupun fisiologis akan menunjukkan tanda - tanda sebagai berikut : warna tubuh menjadi agak pucat, kulit kasar dan timbul pendarahan pada organ dalam seperti hati, ginjal, maupun limpa, sehingga mengakibatkan terjadinya borok (*Haemoragic*). Sedangkan menurut Cahyono (2007), bakteri *P. fluorescens* juga menyerang golongan ikan karper meskipun tidak bersifat mematikan seperti *A. hydrophylla*. serangannya seperti borok, insang rusak berwarna keputihan, luka pada sirip, sisik rusak dan perdarahan pada tubuh.

2.2 Bunga Rosella (*H. sabdariffa*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Hamdani (2013), Klasifikasi bunga rosella adalah sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophita
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilleniidae
Bangsa : Malvaceae
Suku : Malvaceae
Genus : Hibiscus
Species : *Hibiscus sabdariffa*

Rosella (*H. sabdariffa*) merupakan tanaman yang mempunyai tinggi 0,5 - 3 meter, mempunyai batang bulat panjang, bunganya berwarna merah, daunnya tunggal berbentuk bulat, tulang daunnya berjari - jari tetapi ujungnya tumpul, tepi bergerigi dan dibagian pangkalnya berlekuk. Panjang daunnya dapat mencapai 6 - 15 cm, dan lebarnya 5 - 8 cm. Tangkai daunnya bulat dan berwarna hijau dengan panjang kira - kira 4 - 7 cm. (Mahadevan, 2009). Gambar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) (Dokumen Penelitian)

Bunga rosella yang keluar dari ketiak daun merupakan bunga tunggal, jadi pada tiap tangkainya hanya terdapat satu bunga saja. Setiap satu bunga mempunyai 8 - 11 kelopak yang berbulu, yang panjangnya mencapai 1 cm, pangkalnya saling melekat satu dengan lainnya, dan bunganya berwarna merah.

Kelopak bunga rosella sering dianggap sebagian masyarakat sebagai bunga rosella (Astuti, 2011).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bunga rosella yang tumbuh di Indonesia umumnya yang berwarna merah, untuk bunga jenis ini dapat tumbuh optimal di daerah yang mempunyai ketinggian 600 meter di atas permukaan laut. Semakin tinggi dari permukaan laut, maka pertumbuhan tanaman ini akan terganggu. Bunga rosella dapat tumbuh didaerah tropis dan subtropis dengan suhu rata - rata 24 - 32°C, tetapi bunga rosella masih toleran pada suhu 10-36°C. Bunga rosella memerlukan waktu 4 - 5 bulan untuk tumbuh dan berkembang dengan baik (Maryani, 2006).

Tanaman rosella dapat tumbuh dengan baik di musim penghujan, namun apabila curah hujan tidak terlalu tinggi dapat di berikan penyiraman yang teratur dalam masa pemeliharanya. Induksi pembungaan bunga rosella memerlukan waktu selama kurang lebih 12 jam. Pada bulan April - Mei adalah waktu yang baik untuk panen bunga rosella meskipun rosella dapat di tanam di *green house* dan dapat sewaktu - waktu ditanam. Pertumbuhan rosella yang baik juga dipengaruhi oleh cahaya yang cukup di lingkungannya. Tanaman rosella tahan tumbuh ditanah yang memiliki kadar pH 5,5 – 7, dan masih toleran pada kisaran pH 4,5 - 8,5 (Mardiah, 2009).

2.2.3 Kandungan Bahan Aktif dan Manfaat

Bunga rosella dapat mengatasi berbagai macam penyakit, seperti : menurunkan asam urat (*gout*), meredakan peradangan sendi (*arthritis*), dapat membantu menurunkan tekanan darah tinggi (*hypertensi*), melancarkan buang air kecil (*diuretic*), sebagai anti *inflammantory* yang kuat, mempunyai unsur antipyretic yang menurunkan panas dalam, mempercepat pemecahan darah beku di otak. *Asiaticosides* diklarifikasikan juga sebagai antibiotik,

mengandung vitamin C, B, D, K, beberapa mineral penting termasuk magnesium, kalsium dan sodium, dapat meredakan dan menghilangkan batuk kronis, menurunkan kolesterol, menghancurkan lemak, mencegah *stroke* dan *hypertensi*, mengurangi stres, memperbaiki pencernaan, menghilangkan wasir, menurunkan kadar gula, bersifat penetral racun, mencegah kanker, tumor, kista dan sejenisnya (Suwandi, 2012).

Bunga rosella memiliki kandungan bahan aktif seperti *flavonoid*, *saponin*, *tanin*, *fenol* atau *polifenol*, anti oksidan seperti *gossyptin*, *anthocyanin*, *glucide hibiscin*, Vitamin A, Vitamin B, Vitamin C kadar tinggi, kalsium, pospor, zat besi, niasin, karoten, *theaflavins*, dan *cathecin* dan 18 asam amino, salah satunya *arginin* yang berfungsi sebagai peremajaan sel. Selain *arginin*, bunga rosella juga mengandung senyawa flavonoid, dimana flavonoid berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan mikroorganisme, karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. Kemudian ada polifenol atau fenol yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel dan merusak membran plasma bakteri, dan juga vitamin C yang membantu penyerapan semua vitamin dan mineral sehingga membantu metabolisme tubuh (Suwandi, 2012).

2.3 Bakteri *P. fluorescens*

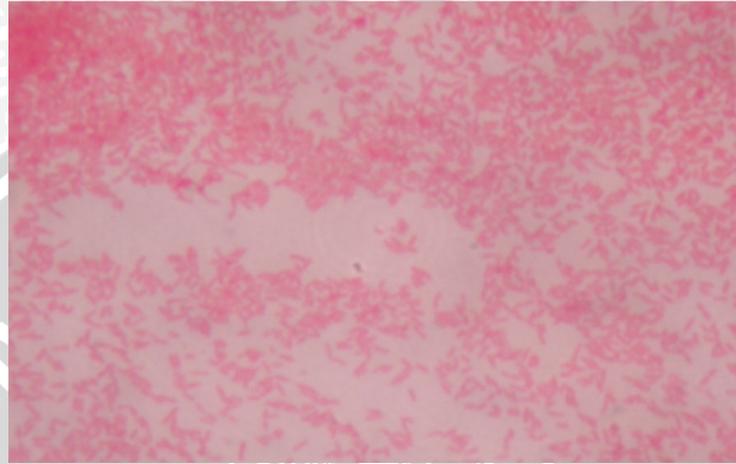
2.3.1 Klassifikasi dan Morfologi

Menurut Anonymous (2013), Klassifikasi bakteri *P. fluorescens* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas
Species : *Pseudomonas fluorescens*

Gambar bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Bakteri *P. fluorescens* Dengan Perbesaran 1000x

Bakteri *P. fluorescens* termasuk bakteri gram negatif, dimana bentuk dari bakteri ini seperti batang yang lurus atau sedikit bengkok dan mempunyai ukuran 0,5-1,0 x 1,5-5,0 μm (Inglis, Roberts dan Bromage, 2001). Bakteri *P. fluorescens* memiliki karakteristik tersendiri, yakni memiliki 1 - 3 flagela dan juga merupakan bakteri aerob. Pertumbuhan bakteri ini yang optimal terjadi pada suhu 30 - 37°C (Suwarsih, 2011).

Menurut Richard dan Roberth (1978), hampir selalu ada bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan (pathogen) di air kolam, tambak, atau perairan umum dan laut, di permukaan tubuh ikan dan juga pada bagian dalam tubuh ikan itu sendiri. Contoh bakterinya antara lain : *Flexibacter columnaris*, *F. psychrophila*, *P. fluorescens*, *Vibrio anguillarum*, *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Streptococcus faecalis*, *Microbacterium marinum*, dan lain - lain.

Salah satu bakteri yang banyak terdapat diperairan adalah bakteri *Pseudomonas*. Bakteri jenis ini kuat dan tahan terhadap suhu dingin dan panas bahkan hingga kering. Bakteri ini juga tahan terhadap desinfektan. Infeksi bakteri *Pseudomonas* ini berbahaya bagi ikan kecuali terhadap ikan dengan kondisi yang sehat. Bakteri ini menyerang ikan apabila kondisi tubuhnya menurun dan kondisi lingkungannya kurang baik. Bakteri *P. fluorescens* dalam jumlah banyak dapat mengeluarkan zat racun yang tercampur dalam air sehingga akan meracuni ikan (Lesmana, 2003).

2.3.2 Infeksi Bakteri *P. fluorescens* dan Tanda Penyerangan

Bakteri *P. fluorescens* menyerang golongan ikan air tawar, bakteri ini merupakan jenis bakteri pathogen oportunistis. Tanda - tanda penyerangannya secara umum infeksi *P. fluorescens* mirip dengan *A. hydrophila* antara lain terjadinya *hemoragik septicemia*, *hemoragik* pada insang dan ekor, serta terdapat borok pada kulit ikan (Irianto, 2005)

Gejala penyakit pada ikan yang disebabkan oleh bakteri *P. fluorescens* ada beberapa macam yakni seperti ikan memiliki bisul pada kulit, sirip, rongga perut, dan organ-organ dalam. Aktivitas dari bakteri jenis ini dapat menyebabkan ikan mengalami anemia dan kematian masal (Kordi, 2004).

Serangan bakteri jenis *A. hidrophyla* dan *P. fluorescens* hampir sama, yakni pada golongan ikan air tawar, dan serangan penyakit oleh bakteri ini dapat terjadi karena kondisi kualitas air di kolam buruk, kualitas pakan yang buruk dan menyebabkan ikan stres sehingga mudah terserang penyakit.

2.4 Hematologi

2.4.1 Eritrosit

Sel darah merah (eritrosit) ikan mempunyai inti, umumnya berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa. Jumlah

eritrosit berbeda-beda pada berbagai spesies dan juga sangat dipengaruhi oleh suhu, namun umumnya berkisar antara 1 - 3 juta sel/mm³ (Takashima & Hibiya, 1995).

Eritrosit yang matang pada ikan akan memiliki bentuk oval atau elips, dengan sitoplasma eosinofilik dan intinya berbentuk oval atau elips. Inti eritrosit pada ikan ukurannya relative lebih besar dari volume sel eritrosit, kurang lebih seperempatnya. Butir kromatin intinya padat dan berwarna ungu gelap. Bentuk maupun jumlah dari sel eritrosit setiap spesies ikan berbeda-beda tergantung pada kondisi fisiologisnya (Yuliani, 2008).

2.4.2 Leukosit

Selain terdapat sel darah merah terdapat juga sel darah putih (Leukosit) dalam darah ikan. Sel-sel darah putih ikan jumlahnya lebih banyak daripada manusia. Sel darah putih dalam darah ikan terdiri atas 7 bentuk, yaitu dua tipe eosinofil, dan granulosit, dan masing - masing satu tipe neutrofil, granulosit, limposit, monosit, dan trombosit (Fujaya, 2008).

Eosinofil, neutrofil, dan monosit merupakan leukosit yang bersifat fagosit. Eosinofil akan masuk kedalam darah dengan jumlah tinggi apabila terjadi infeksi yang disebabkan oleh benda asing, dan juga sebagai detoksikasi protein. Namun ternyata neutrofil dan monosit jauh bersifat lebih fagosit daripada eosinofil. Monosit lebih kuat dibandingkan dengan neutrofil dalam hal memfagositasi bakteri, 1 monosit yang matang atau yang biasa disebut makrofag mampu memfagosit 100 bakteri (Fujaya, 2008).

2.4.3 Hemoglobin

Kadar hemoglobin dalam eritrosit pada golongan ikan teleostei pada umumnya sama seperti vertebrata lain. Laju pertukaran gas pada insang sangat ditentukan oleh laju pertukaran gas pada hemoglobin. Macam dan tingkat

perkembangan hemoglobin pada tiap ikan bervariasi tergantung dari spesies ikan itu sendiri (Irianto, 2005).

Alamanda, Handajani, dan Budiharjo (2007), menyatakan bahwa, umumnya kadar hemoglobin darah ikan sehat berkisar antara 12 - 14 Hb/100 ml. Sedangkan menurut Wahjuningrum, Ashry, dan Suryati (2008), hemoglobin yang terkandung dalam sel darah merah berfungsi untuk mengangkut oksigen dari insang menuju ke jaringan. Hemoglobin adalah jumlah hematokrit dan jumlah hemoglobin dalam darah. Semakin rendah hematokrit maka hemoglobin semakin rendah. Kadar hemoglobin yang rendah mengindikasikan bahwa ikan sedang dalam kondisi sakit. Sedangkan dalam jumlah tinggi menunjukkan ikan dalam kondisi stres.

2.4.4 Hematokrit

Hematokrit merupakan perbandingan antara volume sel darah merah dengan plasma darah. Hematokrit pada ikan jumlahnya bervariasi tergantung faktor nutrisi serta umur dari ikan itu sendiri. Penurunan nilai hematokrit merupakan pertanda rendahnya kandungan protein pada pakan atau dapat juga berarti ikan terkena infeksi (Laelawati, 2008).

Menurut Wahjuningrum, *et al.* (2008), apabila nilai hematokrit dibawah 30% maka dapat di ketahui bahwa ikan mengalami defisiensi vitamin, rendahnya protein dalam pakan dan ikan terkena infeksi. Sedangkan menurut Dayani, Lukistyowati, dan Riauwaty (2012), menyatakan apabila kandungan hematokrit turun dari kondisi normal maka ikan mengalami anemia, sedangkan apabila presentasi hematokrit diatas normal maka ikan mengalami stres atau terkena infeksi.



3. METODE PENELITIAN

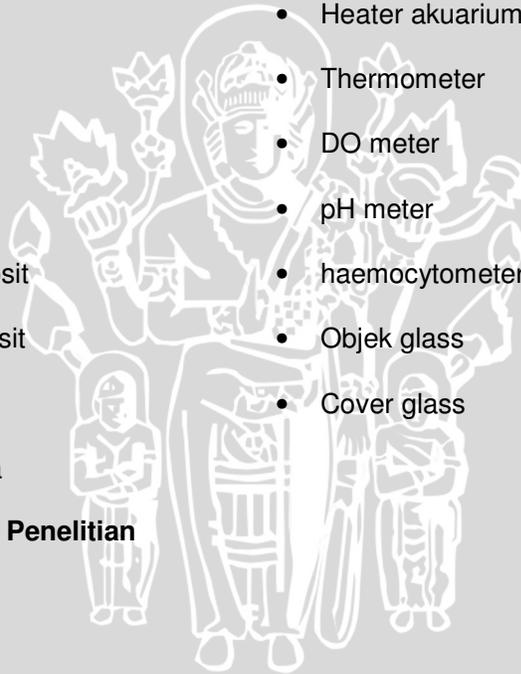
3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 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 Koi (*C. carpio*)
- Bunga rosella (*H.sabdariffa*)
- Kertas label
- Bakteri *P. fluorescens*
- Kertas label
- Methanol
- Alumunium Foil
- Sampel darah Ikan Koi
- Na sitrat 3,8%
- Larutan Giemsa
- Kertas Saring
- Akuades
- Hayem
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- **Kapas**
- **Tissue**
- **Etanol96%**

3.2 Metode Penelitian

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



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

3.3 Rancangan Penelitian

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

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

Keterangan :

μ = nilai rata-rata (mean)

T = pengaruh faktor perlakuan

ε = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar bunga rosella dengan dosis 200 ppm, 225 ppm, 250 ppm, dan 275 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan in vitro ekstrak bunga rosella terhadap bakteri *P. fluorescens*. Pada penelitian ini digunakan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri

dan tanpa pemberian ekstrak kasar bunga rosella, sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 14 sampel. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada tabel 1. sebagai berikut :

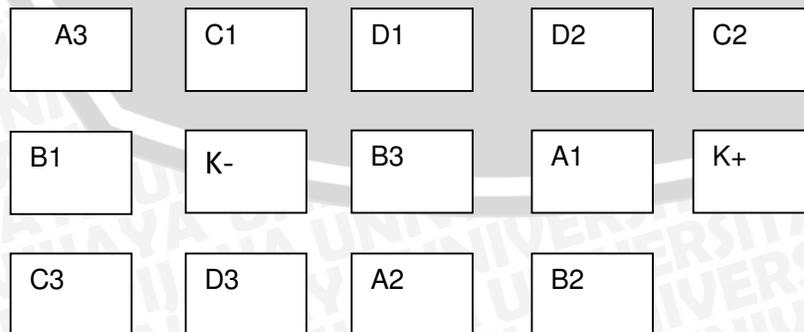
Tabel 1. Rancangan Perlakuan Uji

Perlakuan	Ulangan		
	1	2	3
A	A ₁	A ₂	A ₃
B	B ₁	B ₂	B ₂
C	C ₁	C ₂	C ₃
D	D ₁	D ₂	D ₄

Keterangan :

- A : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 200 ppm
- B : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 225 ppm
- C : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 250 ppm
- D : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 275 ppm

Penempatan perlakuan disajikan pada gambar berikut :



Gambar 8. Denah Penelitian

Keterangan:

A,B,C,D : Perlakuan

K(-) : Kontrol Negatif

K(+) : Kontrol Positif

1, 2, 3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a) Persiapan Ikan

Hewan yang akan di uji yaitu ikan koi sebanyak 140 ekor dengan panjang 7-11 cm. Ikan koi diperoleh dari petani ikan koi di kota batu, dari masing-masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor ikan uji. Menurut Mawan (2009) kepadatan ikan untuk uji *invivo* eksperimen dapat disesuaikan sesuai kebutuhan penelitian. Dalam penelitian ini kepadatan ikan uji berjumlah 10 ekor/akuarium. Ikan uji sebelumnya diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk mengkondisikan ikan agar ikan benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Ikan diberi pakan pelet sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB, dan juga dilakukan penyiponan apabila kondisi air pada akuarium telah kotor karena sisa pakan dan feses. Setelah ikan siap dan kondisinya baik, maka ikan siap untuk diuji tantang..

b) Pembuatan Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*)

Bunga rosella kering didapatkan di Balai Penelitian Tanaman Obat (Medica) kota Batu. Kemudian 1 kg bunga rosella kering tersebut di blender hingga menjadi serbuk. Serbuk rosella tadi kemudian dicampur dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5. Serbuk bunga rosella kering 150 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 750 ml

kemudian dihomogenkan dengan diaduk menggunakan spatula. Toples ditutup dengan aluminium foil agar etanol tidak menguap. Proses maserasi ini didiamkan selama 2 hari pada tempat yang gelap. Setelah 2 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan selama kurang lebih 2 jam untuk mendapatkan ekstrak murni dari bunga rosella. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator*. Setelah diuapkan maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental berwarna merah kehitaman. Kemudian dilakukan pengenceran menggunakan DMSO 10% untuk perlakuan dosis yang diinginkan.

c) Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan dalam uji tantangan ini adalah akuarium berukuran 30x30x30 cm sebanyak 14 buah. Akuarium sebelumnya dicuci dengan detergen dan kemudian direndam dengan khlorin selama 30 menit, kemudian diberi Na-Thiosulfat untuk menetralkan. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari sebelum diisi dengan air tawar. Air diisi sebanyak 2 liter dan dilengkapi dengan aerasi juga heater untuk menjaga kandungan oksigen dalam air serta untuk menjaga suhu air.

d) Pengenceran Bakteri

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

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Penginfeksian bakteri *P. fluorescens* dengan kepadatan 10^7 sel/ml kepada ikan uji dilakukan dengan cara perendaman selama 24 jam. Bakteri yang telah ada kemudian diencerkan dengan air media pemeliharaan. Setelah perendaman dengan bakteri, kemudian ikan dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Ikan dipelihara selama 1 minggu. Selama 1 minggu pemeliharaan, dilakukan pengamatan total eritrosit, leukosit dan differensial leukosit setiap 2 hari sekali. Pengukuran suhu, pH dan DO dilakukan setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB)

b) Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) pada Ikan Koi

Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) dilakukan dengan cara pertama akuarium diisi air sebanyak 15 liter dan kemudian tambahkan ekstrak kasar bunga rosella sesuai dosis yang telah ditentukan (a, b, c, d). Akuarium diberi aerasi untuk menambah kandungan oksigen terlarut. Selanjutnya sampel darah ikan koi yang terinfeksi bakteri diambil sebelum perendaman dan dihitung total eritrosit, total leukosit dan difensial leukosit. Kemudian direndam ikan koi masing-masing sebanyak 10 ekor/akuarium selama kurang lebih 24 jam. Selanjutnya dipindahkan ke akuarium baru yang berisi air tawar dan dipelihara selama 1 minggu untuk diamati total eritrosit, total leukosit dan deferensial leukosit pada ikan setiap 2 hari sekali.

c) Pengambilan sampel darah

Menurut Maswan (2009), Ikan ujiantang dan yang telah di beri perlakuan diambil darahnya dilakukan setiap satu kali selama seminggu. Ikan diletakkan pada wadah, kemudian diambil darahnya dengan spuit yang sebelumnya dibilas dengan Na-sitrat sebagai anti koagulan. Darah diambil pada bagian caudal peduncle. Spuit dimasukkan perlahan dengan posisi 45° dan tarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Kemudian darah dimasukkan kedalam *appendorf*.

d) Uji Hematologi

• Penghitungan Jumlah Eritrosit

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

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

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

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 ditetaskan ke

haemositometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

- **Penghitungan Jumlah Leukosit**

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

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

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

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

- A = jumlah sel darah putih yang terhitung
N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati
V = volume *haemocytometer*
Fp = faktor pengenceran

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

- **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 menurut Svobodova & Vyukusova (1991) dalam Maswan. (2007), Gelas objek yang akan digunakan, direndam dalam metanol untuk menghilangkan lemak yang menempel. Pembuatan preparat ulas darah dilakukan dengan menempatkan setetes darah pada gelas objek, gelas objek kedua diletakkan dengan sudut 45° terhadap gelas objek pertama, kemudian digeser ke belakang sehingga menyentuh darah. Selanjutnya gelas objek kedua digeser berlawanan arah sehingga membentuk lapisan tipis darah. Preparat dikering udarakan dan selanjutnya difiksasi dengan metanol selama 5 menit. Preparat dibilas dengan akuades dan dikeringudarakan kembali sebelum diwarnai dengan pewarna Giemsa 10% selama 15 menit. Preparat dicuci kembali dengan akuades untuk mengurangi kelebihan warna dan dikeringkan dengan tisu. Preparat ulas darah yang telah dibuat selanjutnya diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x. Aktivitas fagositosis dihitung berdasarkan persentase sel yang menunjukkan proses fagositosis dari 100 sel fagosit yang teramati.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan mas yang meliputi penghitungan sel darah merah (eritrosit), penghitungan sel darah putih (leukosit), dan diferensial leukosit (Limfosit, Neutrofil dan Monosit). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan koi yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan mas setelah diobati yaitu dengan melihat jumlah, leukosit, diferensial leukosit, eritrosit, ikan koi.

3.5.2 Parameter Penunjang

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

3.6 Analisa Data

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

3.7 Jadwal Kegiatan

Jadwal Kegiatan Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Januari – April 2015. Rincian jadwal penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jadwal Kegiatan Pelaksanaan Penelitian

No	Kegiatan	Januari				Februari				Maret				April				
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
1.	Persiapan	√	√	√	√													
2.	Pelaksanaan Penelitian					√	√	√	√									
3.	Analisa Data									√	√	√						
4.	Penyusunan Laporan											√	√	√	√			



DAFTAR PUSTAKA

- Andy., Muhammad, H. A. 2011. Penambahan Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Untuk Peningkatan Kualitas Yogurt. *Jurnal Agrisistem*. 7 (2) : 96 – 105
- Azizah, N.N., Triwidodo, A., Yms, M. 2007. Sifat-sifat Fenotipik *Pseudomonas fluorescens* Agensia Pengendalian Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung. *Biodeversitas*. 8 (2) : 147 – 151
- Google Image. 2014. Contoh Gambar Bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Diakses pada tanggal 8 November pukul 12.00 Wib.
- Hendriane, N., Hita, H., Elysa, D., S.R Julianti. 2012. Peran Mikroorganisme *Azotobacter chroococcum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Aspergillus niper* pada Pembuatan Kompos Limbah Sludge Industri Pengolahan Susu. *Jurnal Teknik Pomits*. 1 (1) : 1 – 5
- Kusuma, S.A., Ade, Z., Rini, H. 2009. Pemanfaatan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Asal Kabupaten Bandung Barat Sebagai Antiinfeksi Terhadap Beberapa Genus Bakteri *Staphylococcus*. Universitas Pandjajaran : Jatinangor
- Rahayuniati, R.F., Loekas, S., Endang, M. 2014. Kajian Aplikasi Formula Cair *Pseudomonas fluorescens* P60 Terhadap Penyakit Laju Bakteri Serta Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kentang. UNSOED : Purwokerto
- Susilowati, A. E. 2009. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Kerusakan Sel-sel Hepra Mencit (*Mus musculus*) Akibat Paparan Paracetamol. Universitas Sebelas Maret : Surakarta
- Sutono., Shodiq, E.A., Dwi, S. 2012. Peningkatan Pendapatan Masyarakat Melalui Budidaya Tanaman Obat “Rosella” Di Kabupaten Kudus
- Suwandi, T. 2012. Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Menurunkan Malondialdehid Pada Tikus Yang Diberi Minyak Jelantah. Universitas Undayana : Denpasar

LAMPIRAN

Lampiran 1

PERHITUNGAN RAL

Tabel :

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A	A ₁	A ₂	A ₃	ΣA	R _A
B	B ₁	B ₂	B ₃	ΣB	R _B
C	C ₁	C ₂	C ₃	ΣC	R _C
D	D ₁	D ₂	D ₃	ΣD	R _D
Total	Σ1	Σ2	Σ3	G	-
Rata-rata	R ₁	R ₂	R ₃		

Jadi : $JK = FK = \frac{G^2}{n}$

1) $JK_{total} = (A_1^2 + A_2^2 + A_3 + B_1^2 + B_2^2 + B_3^2 + C_1^2 + \dots + D_3^2) - FK = P$

2) $JK_{perlakuan} = \frac{\Sigma A^2 + \Sigma B^2 + \Sigma C^2 + \Sigma D^2}{3} - FK = Q$

3) $JK_{acak} = P - Q = R$

Tabel Sidik Ragam :

	Db	JK	KT	F _{hitung}	F5%	F1%
Perlakuan	3	Q	Q/3	Δ**		
Acak	8	R	R/8	-	-	-
Total	11	P	-	-	-	-

Keterangan :

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

$F_{hitung} = \frac{KT}{KT_{acak}}$

$F_{hitung\ perlakuan} = \frac{KT\ perlakuan}{KT\ acak} = q$

Selanjutnya dibandingkan dengan nilai F_{tabel} 5% dan F_{tabel} 1% dengan ketentuan :

*) Bila F_{hitung} < F_{tabel} 5% (ns atau tidak berbeda nyata)

) Bila F_{tabel} 5% < F_{hitung} < F_{tabel} 1% (atau berbeda nyata)

*) Bila $F_{hitung} > F_{tabel}$ 1% (** atau berbeda sangat nyata)

Jika hasilnya berbeda nyata atau sangat berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji BNT yaitu :

$$SED = \sqrt{\frac{2 K T_{acak}}{r}}$$

Untuk perlakuan : $SED = \sqrt{\frac{2 K T_{acak}}{r}} = T$

BNT 5% = $t_{5\%}(db_{acak}) \times SED = \Delta \times T = \square$

BNT 1% = $t_{1\%}(db_{acak}) \times SED = \Delta \times T = \square$

Tabel uji BNT perlakuan :

RerataPerlakuan	R _A	R _B	R _C	R _D	Notasi
R _A	-	-	-	-	a
R _B	Δ ^{ns}	-	-	-	a
R _C	○	○	-	-	b
R _D	□ ^{**}	○ [*]	□ ^{**}	-	c

POLINOMIAL ORTHOGONAL

Perlakuan	Hasil (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linear	Kuadratik	Kubik
A	ΣA	-3	1	-1
B	ΣB	-1	-1	3
C	ΣC	1	-1	-3
D	ΣD	3	1	1

❖ Perhitungan Q

Linear = $\sum Ti \times Ci$
 = $(\sum A \times (-3)) + (\sum B \times (-1)) + (\sum C \times (1)) + (\sum D \times (3))$

Kuadratik = $\sum Ti \times Ci$
 = $(\sum A \times (1)) + (\sum B \times (-1)) + (\sum C \times (-1)) + (\sum D \times (1))$

Kubik = $\sum Ti \times Ci$
 = $(\sum A \times (-1)) + (\sum B \times (3)) + (\sum C \times (-3)) + (\sum D \times (1))$

❖ Perhitungan KR

Linear = $(\sum Ci)^2 \times r_{ulangan}$

Kuadratik = $(\sum Ci)^2 \times r_{ulangan}$

Kubik = $(\sum Ci)^2 \times r_{ulangan}$

❖ Perhitungan JK

Linear = $\frac{Q^2}{Kr}$
 = **U**

Kuadratik = $\frac{Q^2}{Kr}$
 = **V**

Kubik = $\frac{Q^2}{Kr}$

= W

Dijumlahkan antara U dan V sehingga mendapatkan hasil dari perhitungan JK.

U + V + W = X

Tabel Sidik Ragam Regresi

SK	Db	JK	KT	Fhitung	Ftabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	Q	$Q/3$	$\Delta 0^{**}$	J	K
Linear	1	$\Delta 1$	$\Delta 1$	$\Delta 1^{**}$	J	K
Kuadratik	1	$\Delta 2$	$\Delta 2$	$\Delta 2^{ns}$	J	K
Kubik	1					
Acak	5	R	$R/5$	-	-	-
Total	11	P	-	-	-	-

Keterangan : * = berbeda nyata
 ** = berbeda sangat nyata
 ns = Fhitung > Ftabel

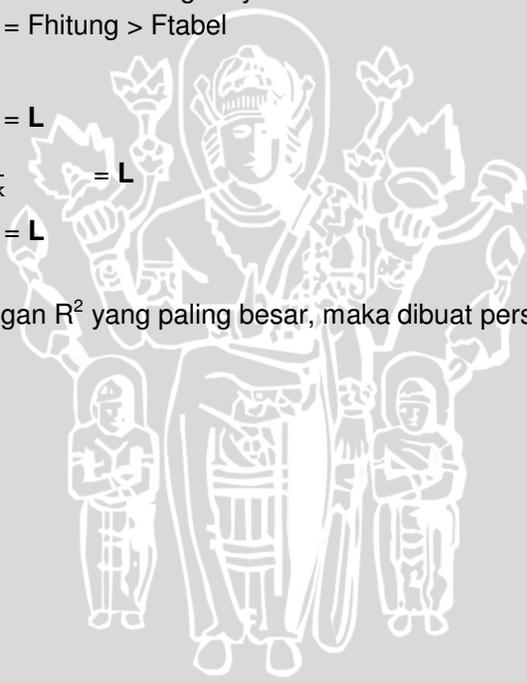
❖ Perhitungan R^2

$$\frac{JK \text{ linear}}{JK \text{ linear} + JK \text{ acak}} = L$$

$$\frac{JK \text{ kuadratik}}{JK \text{ kuadratik} + JK \text{ acak}} = L$$

$$\frac{JK \text{ kubik}}{JK \text{ kubik} + JK \text{ acak}} = L$$

Karena perhitungan R^2 yang paling besar, maka dibuat persamaan regresi tersebut.



Effendy, Hersanto. 1993. *Mengenal Beberapa Jenis Koi*. Kanisius. Yogyakarta

Khairuman, dkk. 2000. *Budidaya Ikan Mas Secara Intensif*. Agromedia Pustaka.

Subang.

Narbuko, C dan Achmadi. 2001. *Metode Penelitian*. Bumi Aksara. Jakarta.

Nazir, M. 1985. *Metodologi Penelitian*. Ghalia. Jakarta

Prihartono, Eko. 2004. *Permasalahan Ikan Koi dan Solusinya*. Penebar Swadaya.

Jakarta.

Subagyo, M. 1991. *Metode Penelitian dalam Teori dan Praktek*. Bumi Aksara.

Jakarta.

Suryabrata. 1997. *Metode Penelitian*. Raya Grafindo Persada. Jakarta

Susanto, Heru. 2000. *Koi*. Penebar Swadaya. Cipondoh.



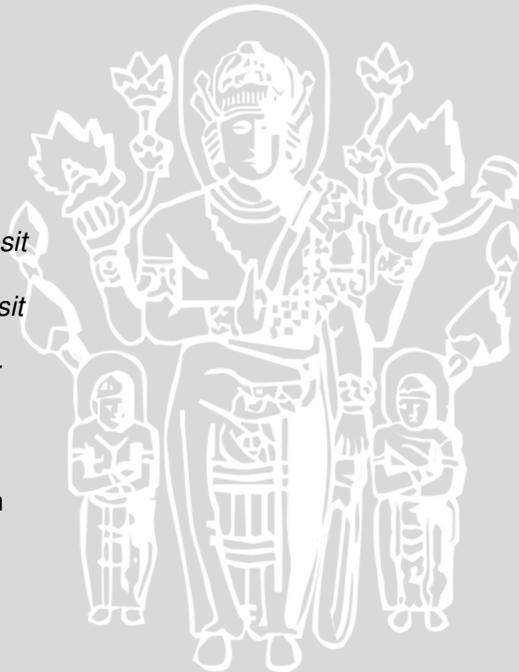
3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat - alat Penelitian

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Akuarium 30 x 30 x 30 cm
- Timbangan Digital
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- *Pipet thoma leukosit*
- *Pipet thoma eritrosit*
- *Handtally Counter*
- Mikroskop
- Serok (jaring) Ikan
- Ember plastik
- Toples kaca
- Filter
- *Heater* akuarium
- *Thermometer*
- DO Meter
- pH Meter
- *Haemocytometer*



- Objek glass
- Cover glass
- *Appendorf*

3.1.2 Bahan - bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Ikan Koi (*C. carpio*) ukuran 7 - 11 cm yang berasal dari pasar Ikan Koi Batu
- Bunga rosella (*H. sabdariffa*) berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat (Medica) kota Batu
- Kertas label
- Bakteri *P. fluorescens*
- Kertas label
- Methanol
- Larutan Giemsa
- Larutan Turk
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Kertas Saring
- Akuades
- Larutan Hayem
- Anti Koagulan (Na - sitrat 3.8%)
- Sampel Darah Ikan Koi
- Alumunium Foil



3.2 Metode Penelitian

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

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

3.3 Rancangan Penelitian

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

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

Keterangan :

μ = nilai rata - rata (mean)

T = pengaruh faktor perlakuan

ϵ = pengaruh galat

Penelitian ini akan dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) dengan dosis 6 ppm, 10 ppm, 14 ppm, dan 18 ppm. Dosis ini berdasarkan dari percobaan *in vitro* ekstrak bunga rosella terhadap bakteri *P. fluorescens*. Untuk penentuan dosis diperoleh dari uji MIC.

Uji MIC dilakukan untuk mengetahui dosis minimum yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *P. flourescens* dengan menggunakan ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*). *Minimum inhibitory concentration* atau yang biasa disebut MIC adalah uji konsentrasi antimikroba terendah yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam. Nilai MIC yang terlihat ditentukan oleh sejumlah prosedur pengujian standar (Wahi, Arti dan Ajit, 2011). Hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 1 .

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

Dosis	Hasil Spektrofotometri	keterangan
5 ppm	1,082	Keruh
6 ppm	1,162	Bening
8 ppm	0,883	Keruh
9 ppm	0,917	Keruh
10 ppm	1,097	Bening
11 ppm	0,785	Bening
13 ppm	1,134	Bening
Kontrol +	2,096	Bening
Kontrol -	1,060	Keruh

Dari hasil uji MIC yang menunjukkan jernih pertama kali adalah pada dosis 6 ppm yaitu dengan hasil spektrofotometer sebesar 1,162 dan mendekati nilai kontrol + yaitu sebesar 2,096. Uji MIC dilakukan dengan cara melihat perubahan warna bening pertama kali dan pengukuran nilai absorbansi dengan spektrofotometer. Dosis 6 ppm sudah bisa menghambat pertumbuhan dari bakteri *P. fluorescens*

Penelitian ini menggunakan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar bunga rosella, sedangkan kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak. Dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Sehingga total sampel yang diamati sebanyak 18 sampel. Rancangan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. sebagai berikut:

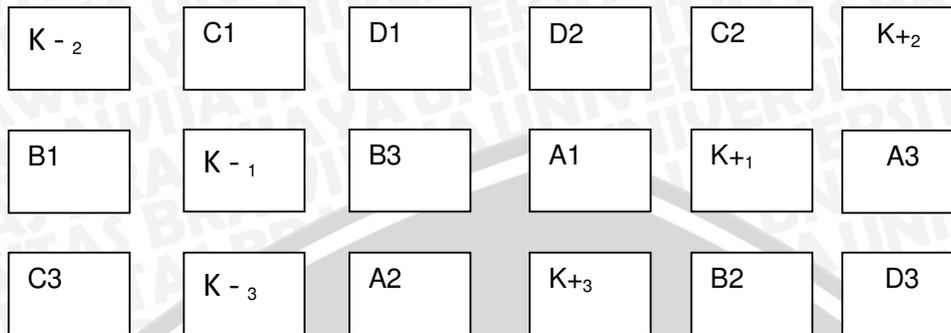
Tabel 2. Rancangan Perlakuan Uji

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

Keterangan:

- A : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 6ppm
- B : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 10 ppm
- C : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 14 ppm
- D : Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) 18 ppm

Penempatan perlakuan disajikan pada Gambar 4 berikut :



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan:

A,B,C,D : Perlakuan

K(-) : Kontrol Negatif

K(+) : Kontrol Positif

1,2,3 : Ulangan

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a) Persiapan Ikan

Hewan yang akan di uji yaitu ikan koi sebanyak 200 ekor dengan panjang 7 - 11 cm. Ikan koi diperoleh dari Pasar ikan koi di kota Batu, dari masing - masing akuarium diisi sebanyak 10 ekor ikan uji dimana volume akuarium sebanyak 27 liter. Menurut Mawan (2009), kepadatan ikan untuk uji *in vivo* eksperimen dapat disesuaikan sesuai dengan kebutuhan penelitian. Dalam penelitian ini kepadatan ikan uji berjumlah 15 ekor / akuarium. Ikan uji sebelumnya diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk mengkondisikan ikan agar ikan benar - benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Ikan diberi pakan pelet sebanyak 2 kali sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB, dan juga

dilakukan penyiponan apabila kondisi air pada akuarium telah kotor karena sisa pakan dan feses. Setelah ikan siap dan kondisinya baik, maka ikan siap untuk diujiantang.

b) Pembuatan Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*)

Proses pembuatan ekstrak dimulai dengan menyiapkan bunga rosella kering yang didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat (Medica) Batu, Jawa Timur sebanyak 1 kg. Selanjutnya bunga rosella kering tersebut di giling dengan menggunakan *blender* sampai halus. Kemudian bunga tersebut diambil sebanyak 100 gr dengan cara ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

Persiapan perendaman (*maserasi*) dimana serbuk bunga rosella kering sebanyak 150 gr di dimaserasi dalam etanol 95% sebanyak 500 ml selama 4 x 24 jam dalam suhu kamar. Larutan yang didapat kemudian disaring dengan kertas saring lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga dihasilkan ekstrak bunga rosella sebanyak 42.58 gram dengan nilai rendemen sebesar 28,38%

c) Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan dalam ujiantang ini adalah akuarium berukuran 30 x 30 x 30 cm sebanyak 18 buah. Akuarium sebelumnya dicuci dengan detergen dan direndam dengan khlorin selama 30 menit, lalu diberi Na - Thiosulfat untuk menetralkan *khlorin*. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 1 hari, sebelum diisi dengan air tawar. Air diisi sebanyak 2 liter dan dilengkapi dengan aerasi juga heater untuk menjaga kandungan oksigen dalam air serta untuk menjaga suhu air. Alat dan bahan penelitian dapat di lihat pada Lampiran 1 dan Lampiran 2.

d) Pembiakan Bakteri *P. fluorescens*

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

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

Perhitungan :

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

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

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

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

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

Keterangan :

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

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

V_1 : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume yang diinginkan

Penginfeksian bakteri $6 \cdot 10^8$ sel/ml dilakukan dengan cara, pertama bakteri ditanam pada media PSA (*Pseudomonas Selective Agar*) dan diinkubasi selama 1 hari pada inkubator. Bakteri $6 \cdot 10^8$ sel/ml tersebut kemudian diencerkan menggunakan air pada media infeksi dengan perbandingan yang dihitung menggunakan rumus di atas. Berdasarkan rumus di atas didapatkan bahwa untuk mendapatkan bakteri kepadatan 10^7 sel/ml sebanyak 12 liter (12.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan $6 \cdot 10^8$ sel/ml sebanyak 200 ml ke dalam air sebanyak 11.800 ml.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a) Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Penginfeksian bakteri *P. fluorescens* dengan kepadatan 10^7 sel/ml kepada ikan uji dilakukan dengan cara perendaman selama 48 jam. Bakteri yang telah ada kemudian diencerkan dengan air media pemeliharaan. Setelah perendaman dengan bakteri, kemudian ikan dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *P. fluorescens* Ikan dipelihara selama 1 minggu. Selama 1 minggu pemeliharaan, dilakukan pengamatan total eritrosit, leukosit, hematokrit, dan hemoglobin setiap 6 jam sekali selama 2 hari setelah 12 jam penginfeksian (12, 18, 24, 36 jam). Pengukuran suhu, pH dan DO dilakukan setiap pengamatan (12 jam, 18 jam, 24 jam, 36 jam)

b) Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) pada Ikan Koi

Pemberian ekstrak kasar bunga rosella (*H. sabdariffa*) dilakukan dengan cara pertama akuarium diisi air sebanyak 12 liter dan kemudian tambahkan ekstrak kasar bunga rosella sesuai dosis yang telah ditentukan (a, b, c, d). Akuarium diberi aerasi untuk menambah kandungan oksigen terlarut. Selanjutnya sampel darah ikan koi yang terinfeksi bakteri diambil sebelum perendaman dan dihitung total eritrosit, total leukosit, hematokrit dan hemoglobin. Kemudian direndam ikan koi dengan ekstrak bunga rosella sesuai dengan dosis yang ditentukan sampai ikan terlihat gelisah pertama kali, sekitar 6 jam. Setelah pemberian ekstrak. Masing - masing akuarium berisi ikan koi sebanyak 10 ekor / akuarium. Setelah direndam dengan ekstrak, ikan kemudian dipindahkan ke akuarium baru yang berisi air tawar dan dipelihara selama 5 hari, dan selama 36 jam diamati total eritrosit, leukosit, hemoglobin, dan hematokritnya. Darah ikan diambil setelah penginfeksian selama 12, 18, 24, 36 jam.

c) Pengambilan sampel darah

Menurut Maswan (2009), Ikan ujiantang dan yang telah di beri perlakuan diambil darahnya dilakukan setiap satu kali selama seminggu. Ikan diletakkan pada wadah, kemudian diambil darahnya dengan spuit yang sebelumnya dibilas dengan Na - sitrat 3,8% sebagai anti koagulan. Darah diambil pada bagian *caudal peduncle*. Spuit dimasukkan perlahan dengan posisi 45° dan tarik perlahan - lahan sampai darah masuk kedalam spuit. Kemudian darah dimasukkan kedalam *appendorf*.

d) Uji Hematologi

• Penghitungan Jumlah Eritrosit

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

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

Keterangan :

SDM = jumlah sel darah merah

A = jumlah sel darah merah yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

Fp = faktor pengenceran

Jumlah sel darah merah dihitung dengan cara pertama - tama sampel darah yang telah bercampur antikoagulan dihisap menggunakan pipet *thoma* eritroisit 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

haemocytometer, hal ini dilakukan karena diperkirakan pada tetesan ke lima, darah dan larutan hayem telah tercampur rata. Kemudian *haemocytometer* ditutup dengan cover glass, lalu diamati di bawah mikroskop dengan cara lensa kondensor diturunkan atau diafragma diturunkan secara perlahan. Diamati sel darah dengan perbesaran 400x dan dihitung jumlah sel eritrosit pada 5 kotak besar yang terdapat pada kamar hitung.

- **Penghitungan Jumlah Leukosit**

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

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

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

Keterangan :

SDP = jumlah sel darah putih

A = jumlah sel darah putih yang terhitung

N = jumlah kotak *haemocytometer* yang diamati

V = volume *haemocytometer*

Fp = faktor pengenceran

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

- **Pengukuran Hematokrit**

Menurut Kor-Siakpere, Gbemi, dan Ikomi (2009), pengukuran kadar hematokrit dilakukan dengan metode sebagai berikut :

- Disiapkan tabung kapiler hematokrit dan diisi dengan darah yang telah dibilas dengan antikoagulan .
- Kedua ujung tabung kapiler di tutup dengan plastisin setelah $\frac{3}{4}$ bagian tabung kapiler terisi darah.
- Pipa kapiler diletakkan di atas lempengan dan dimasukkan ke dalam *haemofuse* (kecepatan 12000 rpm selama 5 menit)
- Setelah disentrifuge kemudian cocokkan dengan table hematokrit dan diperoleh hasil

- **Pengukuran Hemoglobin**

Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan metode Sahli. Metode ini didasarkan atas terbentuknya asam hematin (Hb darah dirombak menjadi asam hematin oleh asam klorida 0,1N) dengan satuan pengukuran dalam gram, sesuai dengan prosedur Fagbenro, Adeparusi, dan Jimoh (2013), sebagai berikut:

- Darah dihisap menggunakan pipet sahli 20 mm³
- Dibersihkan bagian ujung pipet dari sisa darah.
- Tabung sahli diisi dengan larutan 0,1 N HCl

- Darah dipindahkan ke dalam tabung sahli yang telah berisi 0,1 N larutan HCl.
- Tabung sahli dihomogenkan dan dibiarkan selama 5 menit agar terbentuk asam hermatin (berwarna kuning kecoklatan).
- Aquades ditambahkan pada tabung sahli hingga warna sampel sama dengan warna standar tabung sahli.
- Dicocokkan tinggi permukaan larutan sampel dengan skala lajur gram (%) yang berarti banyaknya hemoglobin dalam gram per 100 ml darah.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan terhadap sel darah yang terdapat pada ikan mas yang meliputi penghitungan sel darah merah (eritrosit), penghitungan sel darah putih (leukosit), dan diferensial leukosit (Limfosit, Neutrofil dan Monosit). Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan koi yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan koi setelah diobati yaitu dengan melihat jumlah, leukosit, diferensial leukosit, eritrosit, ikan koi.

3.5.2 Parameter Penunjang

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

3.6 Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan analisa secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ini dilakukan untuk

mengetahui pengaruh perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan hasil terbaik taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95%). Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipergunakan, digunakan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan terbaik.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

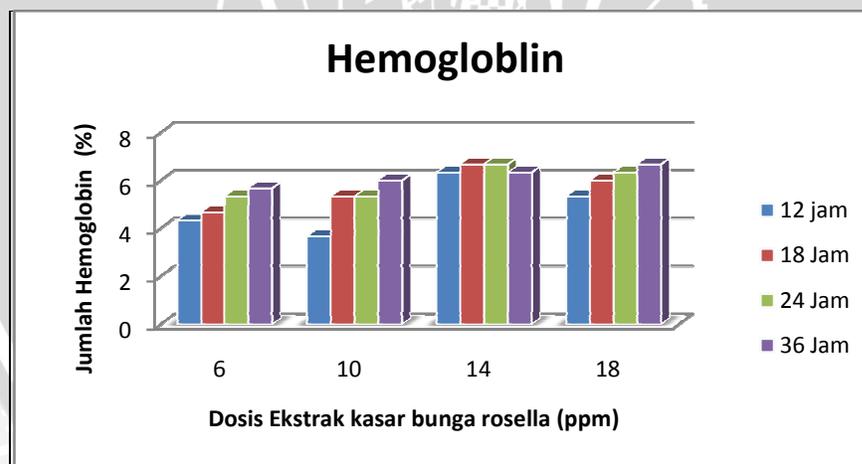
4.1 Analisis Hematologi

4.1.1 Jumlah Hemoglobin

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan diperoleh jumlah hemoglobin ikan koi seperti pada lampiran 4. Pada penelitian ini digunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A = 6 ppm, B = 10 ppm, C = 14 ppm, dan D = 18 ppm. Hasil dari pengamatan hemoglobin dapat dilihat pada Gambar 5, dan jumlah rata-rata hemoglobin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Rata - Rata Hemoglobin (%) Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Perlakuan	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 6 ppm	4.33	4.67	5.33	5.67
B = 10 ppm	3.67	5.33	5.33	6
C = 14 ppm	6.33	6.67	6.67	6.33
D = 18 ppm	5.33	6	6.33	6.67



Gambar 5. Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) Terhadap Jumlah Hemoglobin Ikan Koi (*C. carpio*) Selama Pemeliharaan

Keterangan :

- Perlakuan A : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 6 ppm
- Perlakuan B : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 10 ppm
- Perlakuan C : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 14 ppm
- Perlakuan D : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 18 ppm

Data hasil pengamatan hemoglobin kemudian dihitung sidik ragamnya. Perhitungan jumlah hemoglobin ikan koi selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap hemoglobin ikan koi pada jam ke 12 dan 18, hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Sidik Ragam Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 jam	18 jam	24 jam	36 jam	5%	1%
A = 6 ppm						
B = 10 ppm	4.9*	4.44*	2.42 ^{ns}	1.58 ^{ns}	4.07	7.59
C = 14 ppm						
D = 18 ppm						

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

Tabel 4 menyatakan bahwa nilai F hitung 12 jam dan 18 jam lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1 % sehingga dinyatakan berbeda nyata, kemudian dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui hubungan antar perlakuan. Sedangkan F hitung 24 jam dan 36 jam lebih kecil dari F tabel 5 % dan 1 % atau tidak berbeda nyata sehingga tidak dilanjutkan dengan uji BNT. Pada hasil uji BNT pada jam ke 12 didapatkan nilai BNT 5 % sebesar 1.386 dan BNT 1 % 2.158. Sedangkan hasil uji BNT pada jam ke 12 didapatkan nilai BNT 5 % sebesar 1.07 dan BNT 1 % sebesar 1.67. Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6 dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan Pada Jam ke 12

Perlakuan	Rerata	B	A	D	C	Notasi
		3.67	4.33	5.33	6.33	
B	3.67	—				a
A	4.33	0.66 ^{ns}	—			a
D	5.33	1.66*	1.00 ^{ns}	—		ab
C	6.33	2.66**	2.00*	1.00 ^{ns}	—	bc

Tabel 6. Hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan Pada Jam ke 18

Perlakuan	Rerata	A	B	D	C	Notasi
		4.67	5.33	6.00	6.67	
A	4.67	—				a
B	5.33	0.67 ^{ns}	—			a
D	6.00	1.33*	0.67 ^{ns}	—		ab
C	6.67	2.00**	1.33*	0.67 ^{ns}	—	bc

Berdasarkan Gambar 5. diatas jumlah hemoglobin ikan koi pada perlakuan A, B, dan D di jam ke 12 setelah pemberian ekstrak kasar bunga rosella masih di bawah kisaran normal dari ikan kontrol negatif yakni dibawah 6%, sedangkan pada perlakuan C kadar hemoglobin ikan koi mendekati jumlah hemoglobin ikan kontrol negatif yakni sebesar 6 %, dimana kondisi hemoglobin ikan kontrol negatif sebesar 7 %. Nilai hemoglobin pada perlakuan A dan B memiliki kesamaan yakni hemoglobin mengalami kenaikan pada jam ke 18, 24 dan 36, akan tetapi nilai hemoglobin tidak kembali normal pada jam ke 36. Sedangkan nilai hemoglobin pada perlakuan C nilai hemoglobin sudah mulai mendekati normal pada jam ke 12, dan sudah kembali normal pada jam ke 18 dan 24, namun sedikit mengalami penurunan pada jam ke 36. Pada perlakuan D nilai hemoglobin naik pada tiap pengamatan, dan sudah mencapai nilai normal pada jam ke 18.

Sedangkan dari hasil perhitungan uji BNT pengaruh ekstrak kasar bunga rosella terhadap hemoglobin ikan koi pada jam ke 12 perlakuan A tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan B, perlakuan D berbeda nyata terhadap perlakuan B tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A. Sedangkan hasil uji BNT pada jam ke 18 perlakuan B tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A, perlakuan D berbeda nyata terhadap perlakuan A tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B. Sedangkan perlakuan C jam ke 12 dan 18 keduanya

berbeda nyata terhadap perlakuan A dan B tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D.

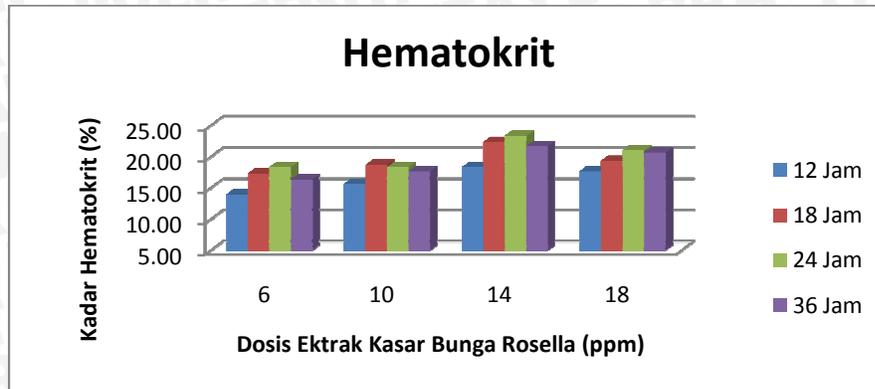
Perlakuan C yakni dengan dosis 14 ppm merupakan perlakuan terbaik dalam analisa hemoglobin ini karena pada jam ke 12 setelah perendaman nilai hemoglobin sudah kembali ke jumlah normal dan diduga pada dosis 14 ppm ini ekstrak bunga rosella yang diberikan sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P. fluorescens* dan membantu dalam menormalkan kembali kadar hemoglobin ikan koi. Dosis 14 ppm sudah efisien dibanding dosis 18 ppm. Hemoglobin sendiri bertugas membawa oksigen dari insang menuju ke jaringan. Jumlah hemoglobin dan hematokrit pada darah saling berhubungan yakni apabila jumlah hemoglobin rendah maka jumlah hematokrit akan rendah juga (Fujaya, 2008). Sedangkan Menurut Svobodova dan vyukusova (1991), kadar hemoglobin pada ikan mas berkisar antara 6 - 10 %.

4.1.2 Jumlah Hematokrit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan diperoleh jumlah hematokrit ikan koi seperti pada lampiran 6. Pada penelitian ini digunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A = 6 ppm, B = 10 ppm, C = 14 ppm, dan D = 18 ppm. Hasil dari pengamatan hematokrit dapat dilihat pada Gambar 6, sedangkan jumlah rata-rata hematokrit dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Jumlah rata - rata hematokrit (%) ikan koi selama pemeliharaan

Dosis	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 6 ppm	14.00	17.33	18.33	16.33
B = 10 ppm	15.67	18.67	18.33	17.67
C = 14 ppm	18.33	22.33	23.33	21.67
D = 18 ppm	17.67	19.33	21.00	20.67



Gambar 6. Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella Terhadap Jumlah Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Keterangan :

- Perlakuan A : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 6 ppm
- Perlakuan B : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 10 ppm
- Perlakuan C : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 14 ppm
- Perlakuan D : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 18 ppm

Data hasil pengamatan hematokrit kemudian dihitung sidik ragamnya.

Perhitungan jumlah hematokrit ikan koi selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap hematokrit ikan koi hanya pada jam ke 36, hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Sidik Ragam Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 jam	18 jam	24 jam	36 jam	5%	1%
A = 6 ppm						
B = 10 ppm						
C = 14 ppm	2.02 ^{ns}	2.11 ^{ns}	2.17 ^{ns}	4.09 [*]	4.07	7.59
D = 18 ppm						

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

Berdasarkan Tabel 8 nilai F hitung 36 jam lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1 % sehingga dinyatakan berbeda nyata, kemudian dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui hubungan antar perlakuan. Sedangkan F hitung 12 jam, 18 jam, dan 24 jam lebih kecil dari

F tabel 5 % dan 1 % atau tidak berbeda nyata sehingga tidak dilanjutkan dengan uji BNT. Pada hasil uji BNT pada jam ke 12 didapatkan nilai BNT 5 % sebesar 3.25 dan BNT 1 % 5.06 Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 9. dibawah ini.

Tabel 9. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan pada jam ke 36.

Perlakuan	Rerata	A	B	D	C	Notasi
		16.33	17.67	20.67	21.67	
A	16.33	—				a
B	17.67	1.34 ^{ns}	—			a
D	20.67	4.34*	3.00 ^{ns}	—		ab
C	21.67	5.34**	4.00*	1.0 ^{ns}	—	bc

Pada hasil perhitungan uji BNT pengaruh ekstrak kasar bunga rosella terhadap hematokrit ikan koi pada jam ke 36 perlakuan B tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A, perlakuan D berpengaruh nyata terhadap perlakuan B tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan A. Kemudian perlakuan C berpengaruh nyata terhadap perlakuan A dan B, tetapi tidak berpengaruh terhadap perlakuan D.

Sedangkan pada Gambar 6 diatas dapat dilihat bahwa pada perlakuan A dan B selama masa pemeliharaan 36 jam nilai hematokrit belum mendekati nilai ikan kontrol negatif yakni sebesar 22 %, kisaran nilai perlakuan A dan B adalah 14 – 18 %. Pada perlakuan C nilai hematokrit pada jam ke 12 masih di bawah normal yakni 18 % tetapi pada jam ke 18, 24, dan 36 nilainya kembali normal yakni diatas ikan kontrol sebesar 23 %. Sedangkan pada perlakuan D nilai hematokrit pada jam ke 12 dan 18 masih belum mencapai nilai normal, tetapi pada jam ke 24 sudah mencapai normal yakni 21 %.

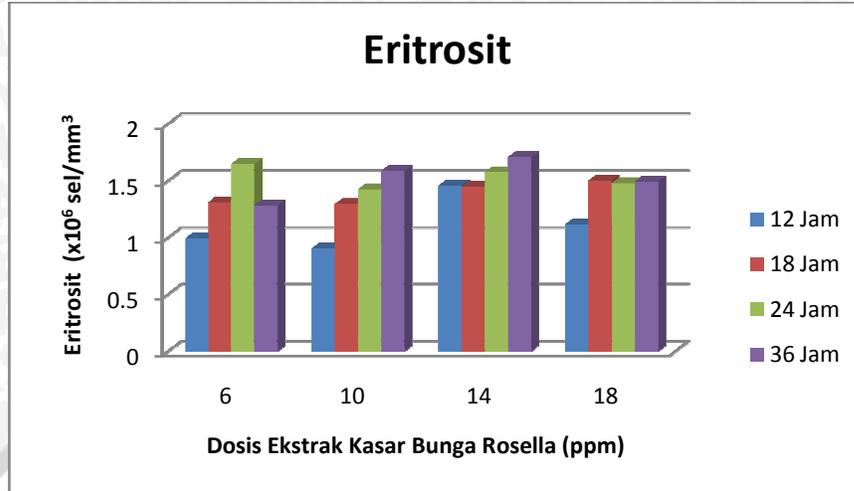
Perlakuan C dengan dosis 14 ppm adalah perlakuan terbaik pada perlakuan hematokrit ini, karena nilai hematokrit ikan koi meningkat dan mendekati nilai normal pada jam ke 12 dan juga dosis 14 ppm lebih efisien dibandingkan dengan dosis 18 ppm. Ekstrak kasar bunga rosella mampu meningkatkan nilai hematokrit ikan koi yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Hematokrit sendiri adalah nilai perbandingan antara volume sel darah dengan plasma darah. Nilai hematokrit yang rendah mengindikasikan ikan dalam keadaan stres. Nilai hematokrit dapat digunakan sebagai indikasi kesehatan ikan (Hastuti, 2004). Nilai hematokrit untuk ikan koi adalah sebesar 22 % (Andayani, Marsoedi, Sanoesi, dan Suprastyani, 2014).

4.1.3 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan diperoleh jumlah Eritrosit ikan koi seperti pada Lampiran 8. Penelitian ini digunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A = 6 ppm, B = 10 ppm, C = 14 ppm, dan D = 18 ppm. Hasil dari pengamatan eritrosit dapat dilihat pada Gambar 8, sedangkan jumlah rata-rata Eritrosit dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Jumlah rata-rata Eritrosit ($\times 10^5$ sel/mm³) ikan koi selama pemeliharaan

Dosis	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 6 ppm	9.93	13.1	16.47	12.83
B = 10 ppm	9.03	12.93	14.23	15.83
C = 14 ppm	14.57	14.47	15.73	17.07
D = 18 ppm	11.17	15	14.77	14.93



Gambar 7. Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella Terhadap Jumlah Eritrosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Keterangan :

- Perlakuan A : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 6 ppm
- Perlakuan B : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 10 ppm
- Perlakuan C : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 14 ppm
- Perlakuan D : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 18 ppm

Data hasil pengamatan eritrosit kemudian dihitung sidik ragamnya. Perhitungan jumlah eritrosit ikan koi selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 9. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap eritrosit ikan koi hanya pada jam ke 12, hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Sidik Ragam Eritrosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 jam	18 jam	24 jam	36 jam	5%	1%
A = 6 ppm						
B = 10 ppm						
C = 14 ppm	4.89*	0.62 ^{ns}	0.20 ^{ns}	1.08 ^{ns}	4.07	7.59
D = 18 ppm						

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

Berdasarkan Tabel 10 nilai F hitung 12 jam lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1 % sehingga dinyatakan berbeda nyata, kemudian dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui hubungan antar perlakuan. Sedangkan F hitung 18 jam, 24 jam, dan 36 jam lebih kecil dari F tabel 5 % dan 1 % atau tidak berbeda nyata sehingga tidak dilanjutkan dengan uji BNT. Pada hasil uji BNT pada jam ke 12 didapatkan nilai BNT 5 % sebesar 0.33 dan BNT 1 % 0.21. Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Eritrosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan Pada Jam Ke 12

Perlakuan	Rerata	B	A	D	C	Notasi
		0.90	0.99	1.12	1.32	
B	0.90	—	—	—	—	a
A	0.99	0.09 ^{ns}	—	—	—	a
D	1.12	0.22*	1.3 ^{ns}	—	—	ab
C	1.32	0.42**	0.33*	0.20 ^{ns}	—	bc

Dari Gambar 7 diatas dapat dilihat bahwa pada perlakuan A dan B pada jam ke 12 jumlah eritrositnya masih di bawah angka normal, yakni di bawah $1,0 \times 10^6$ sel/mm³. Nilai rata - rata eritrosit ikan kontrol negatif saat pengamatan adalah $1,7 \times 10^6$ sel/mm³. Jumlah eritrosit pada perlakuan C dan D pada jam ke 12 sudah mendekati normal yakni sebesar $1,4 \times 10^6$ sel/mm³ dan $1,1 \times 10^6$ sel/mm³. Sedangkan pada jam ke 18, 24, dan 36 jumlah eritrosit sudah kembali normal, yakni berkisar antara $1,2 \times 10^6$ sel/mm³ – $1,7 \times 10^6$ sel/mm³.

Berdasarkan perhitungan Uji BNT eritrosit jam ke 12 didapatkan bahwa perlakuan A tidak berbeda terhadap perlakuan B. Perlakuan D berbeda nyata terhadap perlakuan B tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan A. Kemudian pada perlakuan C berbeda nyata terhadap perlakuan A dan B, tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D. Perlakuan C adalah perlakuan terbaik dengan dosis 14 ppm karena nilainya sudah kembali normal dan lebih efisien.

Pengamatan eritrosit bertujuan untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan. Perlakuan C adalah perlakuan terbaik selama pengamatan karena jumlah eritrosit ikan koi mencapai nilai tertinggi yakni 17.06×10^6 sel/mm³ pada jam ke 36. Perlakuan C yakni dengan pemberian dosis ekstrak kasar bunga rosella sebesar 14 ppm. Pemberian ekstrak kasar bunga rosella mampu meningkatkan jumlah eritrosit ikan koi yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Jumlah eritrosit ikan koi mencapai nilai tertinggi yakni 17.06×10^6 sel/mm³ pada jam ke 36.

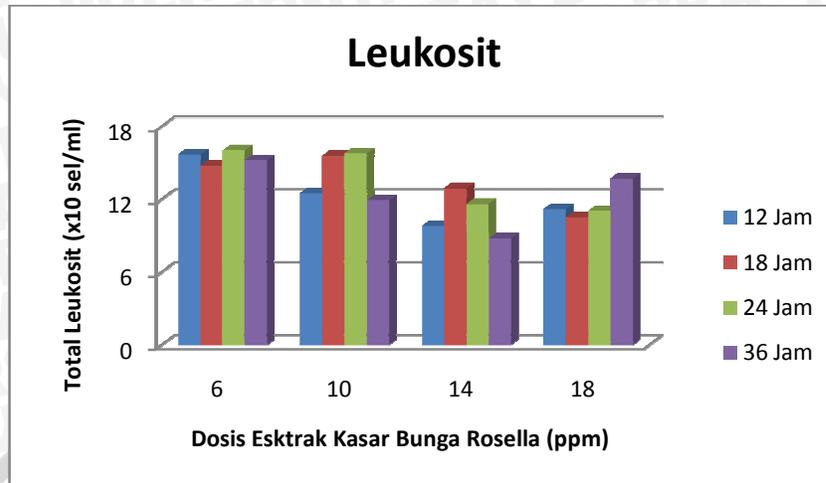
Pemberian ekstrak kasar bunga rosella mampu meningkatkan jumlah eritrosit ikan koi yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Irianto (2005), bahwa jumlah eritrosit ikan pada umumnya berkisar antara $1,05 - 3.0 \times 10^6$ sel/mm³. Eritrosit berperan untuk mengangkut oksigen di dalam tubuh, rendahnya jumlah eritrosit mengindikasikan bahwa ikan mengalami anemia (Nabib dan Pasaribu, 1989).

4.1.4 Jumlah Leukosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan diperoleh jumlah leukosit ikan koi seperti pada Lampiran 10. Pada penelitian ini digunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan yaitu perlakuan A = 6 ppm, B = 10 ppm, C = 14 ppm, dan D = 18 ppm. Hasil dari pengamatan Leukosit dapat dilihat pada Gambar 8, sedangkan jumlah rata-rata leukosit dapat dilihat pada Tabel 13 dibawah ini.

Tabel 13. Jumlah Rataan Total Leukosit ($\times 10^3$ sel/mm³) Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Dosis	12 Jam	18 Jam	24 Jam	36 Jam
A = 6 ppm	15.69	14.77	16.01	15.19
B = 10 ppm	12.49	15.57	15.78	11.91
C = 14 ppm	9.78	12.9	11.6	8.78
D = 18 ppm	11.19	10.52	11.03	13.7



Gambar 8. Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella Terhadap Jumlah Leukosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Keterangan :

- Perlakuan A : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 6 ppm
- Perlakuan B : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 10 ppm
- Perlakuan C : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 14 ppm
- Perlakuan D : Dosis Ekstrak Bunga Rosella 18 ppm

Data hasil pengamatan leukosit kemudian dihitung sidik ragamnya. Perhitungan leukosit ikan koi selama pemeliharaan dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis keragaman selama pemeliharaan memberikan pengaruh nyata terhadap leukosit ikan koi hanya pada jam ke 12 dan 36, hasil sidik ragam dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Sidik Ragam leukosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Perlakuan	Nilai F Hitung Sidik Ragam				F Tabel	
	12 jam	18 jam	24 jam	36 jam	5%	1%
A = 6 ppm						
B = 10 ppm	4.89*	3.87 ^{ns}	2.69 ^{ns}	4.01 ^{ns}	4.07	7.59
C = 14 ppm						
D = 18 ppm						

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

Berdasarkan Tabel 15 nilai F hitung 12 jam lebih besar dari F tabel 5% dan lebih kecil dari F tabel 1 % sehingga dinyatakan berbeda nyata, kemudian

dilanjutkan pada uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui hubungan antar perlakuan. Sedangkan F hitung 18 jam, 24 jam, dan 36 jam lebih kecil dari F tabel 5 % dan 1 % atau tidak berbeda nyata sehingga tidak dilanjutkan dengan uji BNT. Pada hasil uji BNT pada jam ke 12 didapatkan nilai BNT 5 % sebesar 0.33 dan BNT 1 % 0.21. Hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dapat dilihat pada Tabel 15 dibawah ini.

Tabel 15. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Leukosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan Pada Jam ke 12.

Perlakuan	Rerata	C	D	B	A	Notasi
		29.33	33.55	37.46	44.07	
C	29.33	—				a
D	33.55	1.40 ^{ns}	—			a
B	37.46	2.71*	1.31 ^{ns}	—		b
A	44.07	4.91**	3.51*	2.20 ^{ns}	—	bc

Berdasarkan perhitungan BNT leukosit 12 jam pada perlakuan D tidak berbeda nyata terhadap perlakuan C, perlakuan B berbeda nyata terhadap perlakuan C tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan D. Perlakuan A berbeda sangat nyata terhadap perlakuan C dan berbeda nyata terhadap perlakuan D tetapi tidak berbeda nyata terhadap perlakuan B. dari data diatas dapat diketahui bahwa jumlah leukosit pada perlakuan A dan B masih tinggi dibandingkan dengan perlakuan D maupun C.

Berdasarkan Gambar 8 diatas dapat dilihat bahwa pada perlakuan A jumlah leukosit selama pemeliharaan tinggi dibandingkan dengan perlakuan B, C, dan D yakni antara $14 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ – $16 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, dimana jumlah leukosit ikan kontrol negatif sebesar $8.5 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ jumlahnya hampir 2 kali dari ikan kontrol. Menurut Alamanda *et al.* (2007), kisaran leukosit ikan normal bervariasi antara $20 - 150 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$. Pada perlakuan B pada jam ke 12 jumlah leukosit sebesar $12.49 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ tetapi kemudian naik menjadi $15.12.49 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ pada jam ke 18 dan 24. Kemudian pada jam ke 36 turun

menjadi 11.90×10^3 sel/mm³. Sedangkan untuk perlakuan C pada jam ke 12 jumlah leukosit hampir mendekati ikan kontrol yakni sebesar 9.78×10^3 sel/mm³ akan tetapi pada jam ke 18 jumlahnya naik menjadi 12.9×10^3 sel/mm³ dan kemudian terus turun pada jam ke 24 dan 36. Pada perlakuan D jumlah leukosit cenderung tetap pada jam ke 12, 18, dan 24 yakni dengan jumlah antara 10×10^3 sel/mm³ – 11×10^3 sel/mm³ dan kemudian naik menjadi 13.7×10^3 sel/mm³ pada jam ke 36. Peningkatan jumlah leukosit pada perlakuan A dan B diduga karena adanya respon perlawanan tubuh terhadap zat asing yang menyerang ikan sehingga menyebabkan ikan *stress* atau sakit (Hadilawati, Siregar, dan Sulisty, 2013).

Perlakuan terbaik adalah Dosis C yakni dengan 14 ppm karena pada perlakuan ini jumlah leukosit pada ikan koi sudah turun mendekati ikan kontrol negative dan dosis 14 ppm ini sudah efisien untuk perlakuan ini. Pemberian ekstrak kasar bunga rosella mampu menurunkan jumlah leukosit ikan koi yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*. Penurunan jumlah leukosit mengindikasikan bahwa ikan yang terkena bakteri sedang mengalami proses penyembuhan, karena leukosit merupakan salah satu komponen darah yang memiliki fungsi sebagai sistem pertahanan tubuh non - spesifik yang akan melokalisasi dan meminimalisasi pathogen melalui proses fagositosis (Sukenda, Jamal, Wahjuningrum, dan Hasan, 2008).

4.2 Pengamatan Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis yang dialami oleh ikan Koi (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens* dilakukan selama 5 hari setelah perendaman bakteri yakni terdapat pada ikan uji Kontrol positif (K+) dengan gejala seperti ikan berenang tidak beraturan, menggesek - gesekkan badannya ke dinding akuarium, warna semakin lama semakin pudar atau ikan terindikasi mengalami

stress dengan mengeluarkan banyak lendir, *haemorargic* pada bagian ekor dan insang, hingga sisik yang banyak terkelupas. Hal ini diduga disebabkan oleh serangan yang dilakukan oleh bakteri *P. fluorescens*. dikarenakan ikan Kontrol Positif (K+) merupakan ikan yang diinfeksi bakteri *P. fluorescens* yang tidak diberi perlakuan perendaman ekstrak bunga rosella.

Pada ikan Kontrol negatif (K -) atau ikan koi yang hidup dengan keadaan normal, tidak terlihat adanya gejala klinis, kondisi ikan sehat, berenang dengan aktif, Hal ini sesuai dengan pernyataan Khalil, Khalil, Saad, dan Safaa (2010), bahwa *P. fluorescens* merupakan bakteri penyebab penyakit *red spot disease* pada beberapa ikan air tawar, salah satunya yakni golongan ikan mas. Bakteri ini juga diketahui merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit *bacterial haemorargic septicemia* pada ikan.

Pada perlakuan dosis A ekstrak kasar bunga rosella (6 ppm), ikan masih menunjukkan gejala serangan bakteri *P. fluorescens* yakni dengan masih banyaknya sisik yang terkelupas, dan warna ikan menjadi pucat. Pada perlakuan dosis B ekstrak kasar bunga rosella (10 ppm) ikan koi yang dipelihara juga masih menunjukkan gejala klinis yang hampir serupa pada perlakuan A, yakni sisik yang terkelupas dan warna ikan yang menjadi pucat. Sedangkan pada perlakuan dosis C dan D ekstrak kasar bunga rosella 14 ppm dan 18 ppm, kondisi ikan mulai terlihat membaik dengan tanda hanya beberapa ikan yang terlihat stres dan warnanya pudar sedangkan ikan lainnya terindikasi dalam keadaan sehat, dan tidak terlihat adanya sisik dari ikan yang terkelupas. Gejala klinis ikan koi yang terserang bakteri *P. fluorescens* dapat dilihat pada Gambar 9 di bawah ini :



Gambar 9. Gejala Klinis Ikan Koi (a) Haemorargic, (b) Sisik Mengelupas

Pemberian ekstrak kasar bunga rosella terbukti mampu mengobati ikan koi yang terserang bakteri *P. fluorescens* hal ini dikarenakan bunga rosella mempunyai banyak senyawa antibakteri yakni fenol. Fenol merupakan senyawa *acetogenins* yaitu bersifat antibakteri. Menurut Hermawan dan Laksono (2013), mekanisme senyawa fenol dalam menyerang bakteri yakni dengan menghancurkan dinding sel dan presipitasi (pengendapan) dari protein sel bakteri sehingga terjadi koagulasi dan terjadilah kegagalan fungsi dari mikroorganisme tadi. Sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas dari senyawa yang terkandung dalam ekstrak bunga rosella mampu untuk menghambat dan menyembuhkan infeksi dari serangan bakteri *P. fluorescens*.

4.3 Pengamatan Kualitas Air

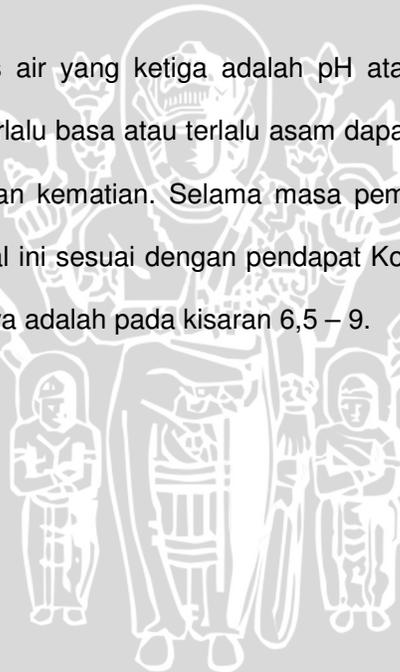
Air merupakan media hidup hewan akuatik, ikan akan hidup pada perairan yang sesuai agar proses pertumbuhan dan kelangsungan hidupnya terjaga dengan baik. Kualitas air merupakan salah satu faktor yang memegang peranan penting dalam pemeliharaan hewan akuatik. Dalam penelitian ini kualitas air merupakan parameter penunjang yang perlu diamati, yakni meliputi suhu, DO, dan pH yang dapat dilihat pada Lampiran 12.

Pada pengamatan kualitas air yang pertama yakni suhu. Suhu media pemeliharaan selama penelitian berada dalam kisaran normal yakni antara 25 - 27,4 °C. Hal ini sesuai dengan pendapat Khairuman, *et al.* (2008), bahwa suhu

yang dibutuhkan untuk kehidupan ikan mas adalah antara 25 - 30°C. Sedangkan menurut Kordi (2009), suhu dapat berpengaruh terhadap kehidupan, pertumbuhan maupun aktivitas metabolisme organisme akuatik. Kenaikan maupun penurunan suhu secara drastis dapat menyebabkan kematian.

Parameter kualitas air yang kedua adalah kandungan oksigen terlarut (DO). Selama pemeliharaan kisaran oksigen terlarut antara 2,2 – 3,3 mg/l. Menurut Irianto (2005), oksigen menjadi kebutuhan yang sangat penting bagi kehidupan organisme, termasuk ikan. Ikan membutuhkan oksigen terlarut dalam air untuk aktivitas dan kehidupannya. Kebutuhan oksigen terlarut untuk golongan ikan mas adalah 3 mg/l.

Parameter kualitas air yang ketiga adalah pH atau derajat keasaman. Keadaan perairan yang terlalu basa atau terlalu asam dapat mengakibatkan ikan stres bahkan menyebabkan kematian. Selama masa pemeliharaan pH berada dalam kisaran 6 - 7,8. Hal ini sesuai dengan pendapat Kordi (2009), bahwa pH yang sesuai untuk budidaya adalah pada kisaran 6,5 – 9.



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Bunga Rosella (*H. sabdariffa*) terhadap Hematologi Ikan Koi (*C. carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *P. fluorescens*” adalah sebagai berikut:

- Pemberian ekstrak kasar bunga rosella dengan dosis 14 ppm berpengaruh terhadap hematologi ikan koi yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas fluorescens* dibandingkan dengan dosis lainnya. Nilai eritrosit, hemoglobin, dan hematokrit sudah mendekati angka normal pada pengamatan jam ke 12. Sedangkan untuk leukosit nilainya sudah mengalami penurunan pada pengamatan jam ke 12.
- Dosis yang terbaik dari keempat dosis yang diberikan adalah dosis pada perlakuan C yakni 14 ppm. Pada dosis ini parameter hematologi seperti total eritrosit, total leukosit, hematokrit dan hemoglobin mendekati nilai ikan kontrol negatif.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini untuk penelitian selanjutnya adalah diharapkan menggunakan dosis ekstrak bunga rosella sebesar 14 ppm karena sudah dapat mengobati ikan yang terkena infeksi bakteri *P. fluorescens*, dan juga perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis lebih tinggi untuk mengetahui dosis yang optimal untuk pemberian ekstrak bunga rosella untuk pengobatan ikan koi yang terinfeksi bakteri *P. fluorescens*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamanda, I. E., N. S. Handajani, dan A. Budiharjo. 2007. **Penggunaan Metode Hematologi dan endoparasit Darah untuk Penetapan Kesehatan Ikan Lele Dumbo (*C. gariepinus*) di Kolam Budidaya Desa Mangkubumen Boyolali.** Biodiversitas. 8(1): 34-38
- Amri, K. dan Khairuman. 2002. **Menanggulangi Penyakit Pada Ikan Mas Dan Koi.** Agro Media Pustaka Jakarta.
- Astuti, Dewi. 2011. **Efek Antihiperurisemia Kombinasi Ekstrak Air Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica*) pada Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Kalium Oksinat.** Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Program Studi Ekstensi. Departemen Farmasi. Depok
- Bachtiar, Yusuf. 2007 **Budidaya Ikan Hias Air Tawar Untuk Ekspor.** Agro Media Pustaka, Jakarta
- Dayanti, R., I. lukistyowati dan M. Riauваты. 2012. **Ketahanan Non-spezifk Ikan Mas (*C.carpio*) yang diberi Larutan Temulawak (*Curcuma xanthirrizha Roxb*) terhadap *A. hydrophyla*.** Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. 9 hlm.
- Effendy, Hersanto. 1993. **Mengenal Beberapa Jenis Koi.** Kanisius. Yogyakarta
- Effendy, Hefni. 2003. **Telaah Kualitas Air : Bagi pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan.**Kanisius. Yogyakarta.
- Fujaya, Y. 2008. **Fisiologi Ikan.** Dasar Pengembangan Teknik Perikanan. PT. Rineka Cipta Jakarta. 179 hlm.
- Hadilawati, D., A. S. Siregar dan I. Sulisty. 2013. **Efek letal (LC50-96 Jam). dan Subletal Ekstrak Daun Kayu Putih Terhadap Ikan Bandeng (*Chanos chanos*).** Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Ilmu Kelautan, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Jenderal Soedirman. 10 hlm.
- Hamdani, 2013. **Daya Hambat Air Rebusan Bunga Rosella (*Hibiscus Sabdariffa L.*) Terhadap Koloni Bakteri Pada Sikat Gigi.** Skripsi, Fakultas Kedokteran Gigi Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Universitas Hasanuddin Makassar.
- Hastuti, S. dan Subandiyono, 2011. **Peforma Hematologis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) dan kualitas Air Media Pada Sistem Budidaya Dengan Penerapan Kolam Biofiltrasi.** Jurnal Saintek Perikanan Vol. 6 (2) 1-5
- Irianto A. 2005. **Patologi Ikan Teleostei.** Gajah Mada Universitas Press, Yogyakarta. 256 hlm.

- Khairurman, 2000. **Budidaya Ikan Mas Secara Intensif**. Agromedia Pustaka. Subang.
- Khairurman., D. Sudenda dan B. Gunadi. 2008. **Budidaya Ikan Mas secara Intensif**. Agromedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm
- Kordi, K.M.G , 1996. **Parameter Kualitas Air** : Karya Anda, Surabaya.
- _____ . 2000 . **Budidaya Ikan Nila**. Dahara Prize. Jakarta.
- _____ . 2004. **Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan**. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta, 190 hlm.
- _____ . 2005 . **Pengelolaan Kualitas Air**. Rineka Cipta. Jakarta.
- _____ , 2009. **Budidaya Perairan** Buku Kedua. PT Citra Aditya Bakti. Bandung. 964 hlm.
- Kordi, dan A.B. Tancung. 2007. **Pengelolaan Kualitas Air dalam Budidaya Perairan**. Penervit Rineka Cipta. Jakarta. 210. hlm.
- Laelawati, E. 2008. **Respon Tanggap Kebal Ikan Mas *C. carpio* terhadap vaksin Koi HerpesVirus Yang Diberikan Melalui Injeksi Dengan Dosis Berbeda**. Skripsi. Institute Pertanian Bogor. Bogor. 68 hlm
- Murtidjo, B.A. 2004. **Budidaya Karper Dalam Jaring Apung Karamba**. Kanisius. Yogyakarta. 76 hlm.
- Mahadevan, N., Shivali, and Kamboj, P., 2009, ***Hibiscus sabdariffa* Linn.- An Overview**, *Review Paper Natural Product Radiance*, 8(1), 77-78.
- Maryani, H. 2005. **Khasiat dan Manfaat Rosella**. Jakarta ; Agromedia pustaka. Hal. 3-33.
- Mones, R. A. 2008. **Gambaran Darah pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Strain Majalaya yang Berasal dari Daerah Ciampea**. Skripsi. IPB. Bogor.
- Nabib, R . dan Pasaribu, F.H. 1989. **Patologi dan Penyakit Ikan**. DEPDIKBUD. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. 158 hlm.
- Narbuko, C dan Achmadi. 2001. **Metode Penelitian**. Bumi Aksara. Jakarta.
- Nazir, M. 1985. **Metodologi Penelitian**. Ghalia. Jakarta. 543 hlm.
- Pajitno, A. 2007. **Penyakit Ikan-Udang. : Bakteri**. UM Press. Malang. 115 hlm.
- Prihartono, Eko. 2004. **Permasalahan Ikan Koi dan Solusinya**. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Subagyo, M. 1991. **Metode Penelitian dalam Teori dan Praktek**. Bumi Aksara. Jakarta

- Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum dan A. Hasan. 2008. **Penggunaan Kitosan untuk pencegahan infeksi *A. hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias sp.*)**. Jurnal Akuakultur Indonesia. 7(2): 159-169
- Suryabrata. 1997. **Metode Penelitian**. Raya Grafindo Persada. Jakarta
- Susanto, Heru. 2000. **Koi**. Penebar Swadaya. Cipondoh : Jakarta. 189 hlm
- Suwandi, Trijani , 2012. **Pengembangan Potensi Antibakteri Kelopak Bunga Rosella (*Hisbiscus sabdariffa*) terhadap *Streptococcus anguinis* penginduksi Gingivitis menuju Obat Herbal Terstandar**. Desertasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Program Dokter Ilmu Kedokteran Gigi, Jakarta.
- Suwarsih, 2011. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogutatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan** Prospek 1:48-55
- Svobodova Z, Vyukusova B. 1991. **Diagnostik, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication**. Research Institute of fish Culture and Hydrobiology Vodnany Czechoslovakia
- Twigg, David. 2008. **Buku Pintar Koi**. Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Wahjuningrum, D., S. L. Angka, W. Lesmanawati, Sa'diyah, dan M. Yuhana. 2007. **Prospek Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) untuk Pencegahan Penyakit motile *Aeromonas septicemia* pada ikan Patin *Pangasianodon hypophthalmus***. Jurnal Akuakultur Indonesia. 6(1): 109-117.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat Penelitian



Mikroskop



Akuarium



Rotary Evapor



Haemofuge



Haemocytometer



Selang Aerasi dan Aerator



Timbangan Digital



Sahli Meter

Lampiran Lanjutan 1



Appendorf



Nampan dan Pipet Tetes



pH meter



DO meter



Spuit disposable



Handtally counter

Lampiran 2. Bahan Penelitian



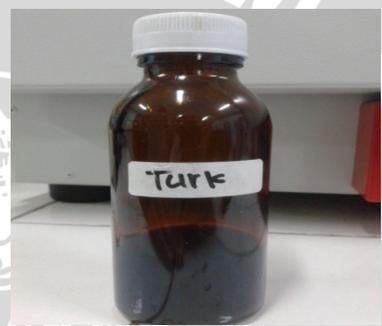
Ekstrak Kasar Bunga Rosella



Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)



Sampel Darah Ikan Koi



Turk



Hayem



Giemsa



HCl 0,1 N



Methanol

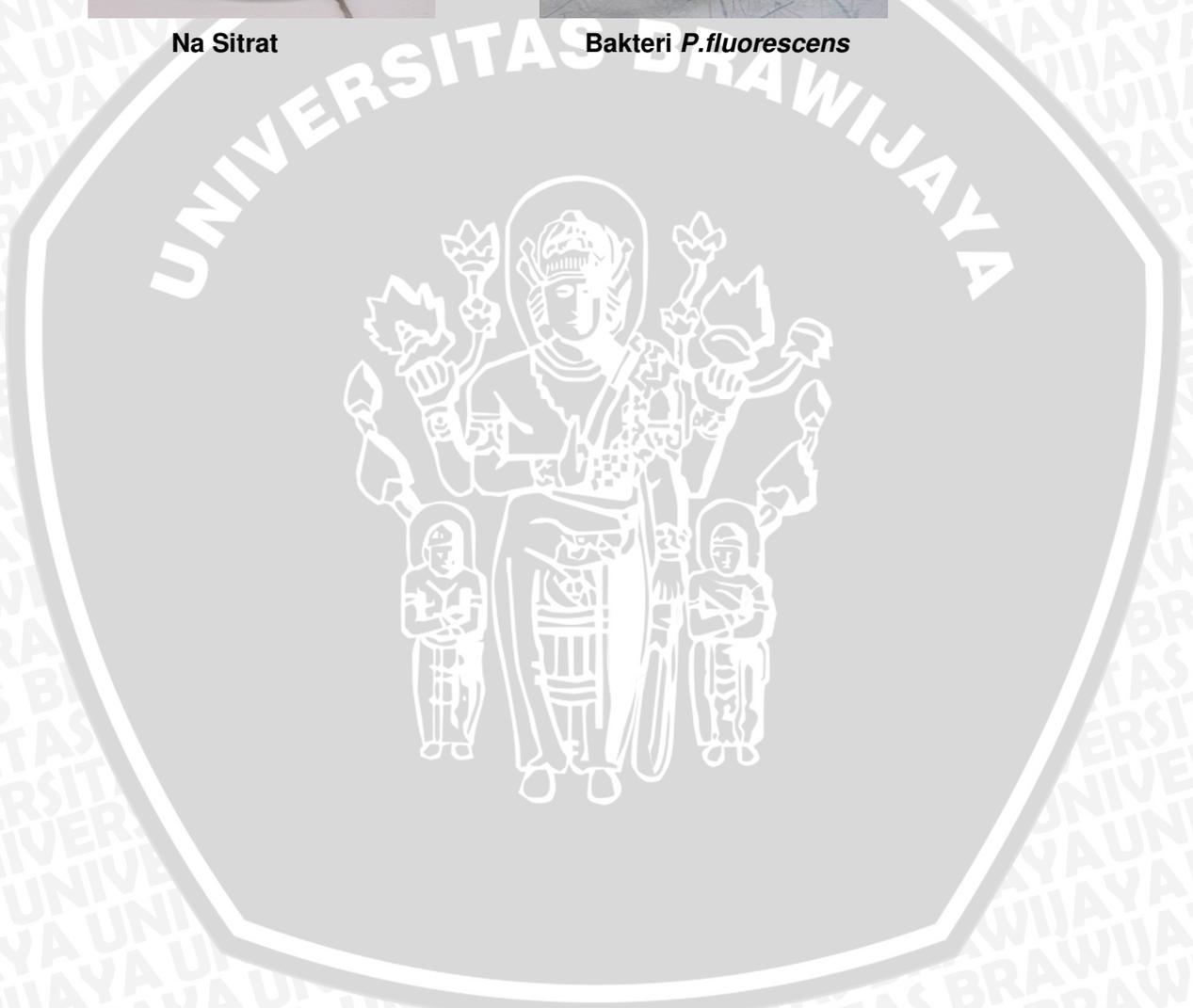
Lampiran Lanjutan 2



Na Sitrat



Bakteri *P.fluorescens*



Lampiran 3. Dokumentasi Kegiatan Penelitian



Infeksi Bakteri *A. hydrophila*



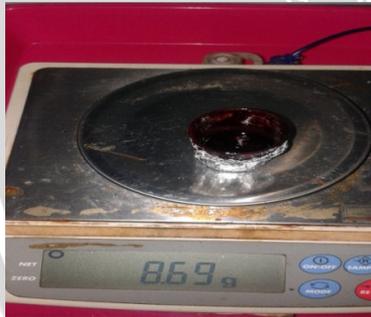
Pembuatan Preparat



Pengambilan Sampel Darah



Pengamatan Di bawah Mikroskop



Penimbangan Ekstrak



Perendaman Ekstrak Bunga Rosella



Proses Maserasi



Penyaringan Setelah Maserasi



Lampiran 4. Jumlah Hemoglobin Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Jumlah Hemoglobin Ikan Koi 12 Jam Setelah Pemeliharaan.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	3	6	4	13	4.33	169.00	1.53
B	4	4	3	11	3.67	121.00	0.58
C	7	6	6	19	6.33	361.00	0.58
D	5	5	6	16	5.33	256.00	0.58
K+	4	4	5	13	4.33		
K-	7	6	7	20	6.33		
Jumlah				59		907.00	

Jumlah Hemoglobin Ikan Koi 18 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	4	5	5	14	4.67	196.00	0.58
B	6	5	5	16	5.33	256.00	0.58
C	7	7	6	20	6.67	400.00	0.58
D	5	6	7	18	6.00	324.00	1.0
K+	4	3	4				
K-	6	7	7				
Jumlah				68		1176.00	

Jumlah Hemoglobin Ikan Koi 24 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	4	6	6	16	5.33	256.00	1.15
B	6	5	5	16	5.33	256.00	0.58
C	7	6	7	20	6.67	400.00	0.58
D	6	6	7	19	6.33	361.00	0.58
K+	4	6	6	16	5.33		
K-	7	7	7	21	7		
Jumlah				71		1273.00	

Jumlah Hemoglobin Ikan Koi 36 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	6	6	5	17	5.67	289.00	0.58
B	6	6	6	18	6.00	324.00	0.00
C	6	6	7	19	6.33	361.00	0.58
D	7	6	7	20	6.67	400.00	0.58
K+	4	4	4	12	4		
K-	7	7	7	21	7		
Jumlah				74		1374.00	

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 5. Perhitungan Jumlah Hemoglobin

a. Rataan Hemoglobin perlakuan 12 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	3	6	4	13	4.33	1.53
B	4	4	3	11	3.67	0.58
C	7	6	6	19	6.33	0.58
D	5	5	6	16	5.33	0.58
				59		

Fk 290.083
Jk Total 18.917
Jk Perlakuan 12.250
Jk Acak 6.667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	12.25	4.083333	4.9	4,07	7,59
Acak	8	6.6667	0.833333	*		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 0.745
 BNT 5% = t tabel 5%*SED = 1.386
 BNT 1% = t tabel 1%*SED = 2.158

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	B	A	D	C	Notasi
		3.67	4.33	5.33	6.33	
B	3.67	—				a
A	4.33	0.66 ^{ns}	—			a
D	5.33	1.66*	1.00 ^{ns}	—		ab
C	6.33	2.66**	2.00*	1.00 ^{ns}	—	bc

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

a. Rataan Hemoglobin perlakuan 18 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	4	5	5	14	4.67	0.58
B	6	5	5	16	5.33	0.58
C	7	7	6	20	6.67	0.58
D	5	6	7	18	6.00	1.00
				68		

Fk 385.33
 Jk Total 10.67
 Jk Perlakuan 6.67
 Jk Acak 4.00

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	6.67	2.222222	4.44	4,07	7,59
Acak	8	4.000	0.5	*		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 0.5773
 BNT 5% = t tabel 5%*SED = 1.0738
 BNT 1% = t tabel 1%*SED = 1.6720

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	D	C	Notasi
		4.67	5.33	6.00	6.67	
A	4.67	—				a
B	5.33	0.67 ^{ns}	—			a
D	6.00	1.33*	0.67 ^{ns}	—		ab
C	6.67	2.00**	1.33*	0.67 ^{ns}	—	bc

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

a. Rataan Hemoglobin perlakuan 24 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	4	6	6	16	5.33	1.15
B	6	5	5	16	5.33	0.58
C	7	6	7	20	6.67	0.58
D	6	6	7	19	6.33	0.58
				71		

Fk 420.0833
 Jk Total 8.916667
 Jk Perlakuan 4.25
 Jk Acak 4.666667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	4.25	1.4166667	2.428571	4.07	7.59
Acak	8	4.667	0.5833333	-		
Total	11					

a. Rataan Hemoglobin perlakuan 36 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	6	6	5	17	5.67	0.58
B	6	6	6	18	6.00	0.00
C	6	6	7	19	6.33	0.58
D	7	6	7	20	6.67	0.58
				74		

Fk 456.33
 Jk Total 3.667
 Jk Perlakuan 1.667
 Jk Acak 2.000

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.67	5.5556	2.222	4,07	7,59
Acak	8	2.00	0.25	-		
Total	11					

Lampiran 6. Jumlah Hematokrit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Jumlah Hematokrit Ikan Koi 12 Jam Setelah Pemeliharaan.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	10	15	17	42	14.00	1764.00	3.61
B	15	15	17	47	15.67	2209.00	1.15
C	17	20	18	55	18.33	3025.00	1.53
D	20	15	18	53	17.67	2809.00	2.52
K+	10	12	12	32	10.1		
K-	20	22	20	62	20		
Jumlah				197		9807.00	

Jumlah Hematokrit Ikan Koi 18 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	15	15	22	52	17.33	2704.00	4.04
B	18	18	20	56	18.67	3136.00	1.15
C	25	22	20	67	22.33	4489.00	2.52
D	20	20	18	58	19.33	3364.00	1.15
K+	10	14	15	39	13		
K-	20	22	25	67	23		
Jumlah				233		13693.00	

Jumlah Hematokrit Ikan Koi 24 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	18	20	17	55	18.33	3025.00	1.53
B	20	15	20	55	18.33	3025.00	2.89
C	20	25	25	70	23.33	4900.00	2.89
D	25	20	18	63	21.00	3969.00	3.61
K+	12	10	15	37	13		
K-	15	20	25	60	20		
Jumlah				243		14919.00	

Jumlah Hematokrit Ikan Koi 36 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	15	18	16	49	16.33	2401.00	1.53
B	18	15	20	53	17.67	2809.00	2.52
C	20	20	25	65	21.67	4225.00	2.89
D	20	22	20	62	20.67	3844.00	1.15
K+	10	12	12	34	11		
K-	20	20	20	60	20		
Jumlah				229		13279.00	

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 7 . Perhitungan Jumlah Hematokrit

a. Rataan Hematokrit perlakuan 36 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	15	18	16	49	16.33	1.53
B	18	15	20	53	17.67	2.52
C	20	20	25	65	21.67	2.89
D	20	22	20	62	20.67	1.15
				229		

Fk	4370.083
Jk Total	92.91667
Jk Perlakuan	56.25
Jk Acak	36.66667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	56.25	18.75	4.09	4,07	7,59
Acak	8	36.67	4.583	*		
Total	11					

SED	= $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$	= 1.7480
BNT 5%	= t tabel 5%*SED	= 3.2513
BNT 1%	= t tabel 1%*SED	= 5.0622

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	D	C	Notasi
		16.33	17.67	20.67	21.67	
A	16.33	—				a
B	17.67	1.34 ^{ns}	—			a
D	20.67	4.34*	3.00 ^{ns}	—		ab
C	21.67	5.34**	4.00*	1.0 ^{ns}	—	bc

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

a. Rataan Hematokrit perlakuan 12 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	10	15	17	42	14.00	3.61
B	15	15	17	47	15.67	1.15
C	17	20	18	55	18.33	1.53
D	20	15	18	53	17.67	2.52
				197		

Fk 3234.083

Jk Total 80.92

Jk Perlakuan 34.92

Jk Acak 46

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	34.9167	11.63889	2.024155	4.07	7.59
Acak	8	46	5.75	-		
Total	11					

a. Rataan Hematokrit perlakuan 18 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	15	15	22	52	17.33	4.04
B	18	18	20	56	18.67	1.15
C	25	22	20	67	22.33	2.52
D	20	20	18	58	19.33	1.15
				233		

Fk 4524.083

Jk Total 90.92

Jk Perlakuan 40.25

Jk Acak 50.67

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	40.25	13.4167	2.118421	4.07	7.59
Acak	8	50.66666667	6.33	-		
Total	11					

a. Rataan Hematokrit perlakuan 24 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	18	20	17	55	18.33	1.53
B	20	15	20	55	18.33	2.89
C	20	25	25	70	23.33	2.89
D	25	20	18	63	21.00	3.61
				243		

Fk 4920.75
 Jk Total 116.25
 Jk Perlakuan 52.25
 Jk Acak 64

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	52.25	17.4167	2.177083	4.07	7.59
Acak	8	64	8	-		
Total	11					



Lampiran 8. Jumlah Eritrosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Jumlah Eritrosit Ikan Koi 12 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	0.85	1.11	1.01	2.97	0.99	8.82	0.13
B	0.9	0.96	0.85	2.71	0.90	7.34	0.06
C	1.45	1.23	1.29	3.97	1.32	15.76	0.11
D	1.34	1.11	0.9	3.35	1.12	11.22	0.22
K+	0.75	0.95	0.9	2.6	0.8		
K-	1.5	2.2	1.4	4.1	1.3		
Jumlah				13		43.15	

Jumlah Eritrosit Ikan Koi 18 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	1.7	1.27	0.96	3.93	1.31	15.44	0.37
B	1.45	0.77	1.66	3.88	1.29	15.05	0.47
C	2.1	0.98	1.21	4.29	1.43	18.40	0.59
D	1.1	4.4	1.29	6.79	2.26	46.10	1.85
K+	0.85	0.90	0.75	2.5	0.8		
K-	1.5	2	2	5.5	1.75		
Jumlah				18.89		95.01	

Jumlah Eritrosit Ikan Koi 24 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	1.58	2.02	1.34	4.94	1.65	24.40	0.34
B	1.02	1.28	1.97	4.27	1.42	18.23	0.49
C	1.19	1.64	1.89	4.72	1.57	22.28	0.35
D	1.72	1.13	1.58	4.43	1.48	19.62	0.31
K+	0.8	1	0.9	2.7	0.9		
K-	2	2	2	6	2		
Jumlah				18.36		84.54	

Jumlah Eritrosit Ikan Koi 36 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	1.37	1.53	0.95	3.85	1.28	14.82	0.30
B	1.45	1.31	1.99	4.75	1.58	22.56	0.36
C	1.82	1.66	1.64	5.12	1.71	26.21	0.10
D	1.8	1.11	1.57	4.48	1.49	20.07	0.35
K+	0.9	1	0.7	2.6	0.8		
K-	1.5	1.5	1.2	3.7	1.3		
Jumlah				18.2		83.67	



Lampiran 9 . Perhitungan Jumlah Eritrosit

a. Rataan Eritrosit perlakuan 12 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	0.85	1.11	1.01	2.97	0.99	0.13
B	0.9	0.96	0.85	2.71	0.90	0.06
C	1.45	1.23	1.29	3.97	1.32	0.11
D	1.34	1.11	0.9	3.35	1.12	0.22
				13		

Fk 14.08333333
 Jk Total 0.462666667
 Jk Perlakuan 0.299466667
 Jk Acak 0.1632

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	56.25	18.75	4.09	4,07	7,59
Acak	8	36.67	4.583	*		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 1.1166
 BNT 5% = t tabel 5%*SED = 0.2169
 BNT 1% = t tabel 1%*SED = 0.3377

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	B	A	D	C	Notasi
		0.90	0.99	1.12	1.32	
B	0.90	—				a
A	0.99	0.09 ^{ns}	—			a
D	1.12	0.22*	1.3 ^{ns}	—		ab
C	1.32	0.42**	0.33*	0.20 ^{ns}	—	bc

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

a. Rataan Eritrosit perlakuan 18 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	1.7	1.27	0.96	3.93	1.31	0.37
B	1.45	0.77	1.66	3.88	1.29	0.47
C	2.1	0.98	1.21	4.29	1.43	0.59
D	1.1	4.4	1.29	6.79	2.26	1.85
				18.89		

Fk 29.7360
Jk Total 10.2081
Jk Perlakuan 1.93315
Jk Acak 8.2749

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1.933158	0.644386	0.62	4.07	7.59
Acak	8	8.274933	1.034367	-		
Total	11					

a. Rataan Eritrosit perlakuan 24 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	1.58	2.02	1.34	4.94	1.65	0.34
B	1.02	1.28	1.97	4.27	1.42	0.49
C	1.19	1.64	1.89	4.72	1.57	0.35
D	1.72	1.13	1.58	4.43	1.48	0.31
				18.36		

Fk 28.091
Jk Total 1.2508
Jk Perlakuan 0.089133
Jk Acak 1.16167

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.089133	0.029711	0.20461	4.07	7.59
Acak	8	1.161667	0.145208	-		
Total	11					

a. Rataan Eritrosit perlakuan 36 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	1.37	1.53	0.95	3.85	1.28	0.30
B	1.45	1.31	1.99	4.75	1.58	0.36
C	1.82	1.66	1.64	5.12	1.71	0.10
D	1.8	1.11	1.57	4.48	1.49	0.35
				18.2		

Fk 27.60333333
 Jk Total 0.990266667
 Jk Perlakuan 0.2866
 Jk Acak 0.703666667

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.2866	0.095533	1.09	4.07	7.59
Acak	8	0.703667	0.087958	-		
Total	11					



Lampiran 10. Jumlah Leukosit Ikan Koi Selama Pemeliharaan

Jumlah Leukosit Ikan Koi 12 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	13.15	13.56	17.36	44.07	14.69	1942.16	2.32
B	12.72	13.33	11.41	37.46	12.49	1403.25	0.98
C	8.33	9.08	11.92	29.33	9.78	860.25	1.89
D	11.18	12.05	10.32	33.55	11.18	1125.60	0.87
K+							
K-							
Jumlah				144.41		5331.27	

Jumlah Leukosit Ikan Koi 18 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	16.68	14.97	12.65	44.3	14.77	1962.49	2.02
B	13.73	18.56	14.41	46.7	15.57	2180.89	2.61
C	13.37	14.33	10.98	38.68	12.89	1496.14	1.73
D	11.81	10.56	9.175	31.545	10.52	995.09	1.32
K+	13.7	15.8	16.7	46.3	15.43		
K-	4.36	5.57	4.85	14.78	5.90		
Jumlah				161.22		6634.61	

Jumlah Leukosit Ikan Koi 24 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	19.87	13.35	14.8	48.02	16.01	2305.92	3.42
B	13.56	15.43	18.32	47.31	15.77	2238.24	2.40
C	11.51	13.37	9.91	34.79	11.60	1210.34	1.73
D	7.6	11.27	14.2	33.07	11.02	1093.62	3.31
K+	12	11.4	13.2	36.2	12		
K-	6.7	8	7	21.7	7.01		
Jumlah				163.19		6848.13	

Jumlah Leukosit Ikan Koi 36 Jam Setelah Pemeliharaan

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	Total ²	STD
	1	2	3				
A	16.06	13.2	16.31	45.57	15.19	2076.62	1.73
B	14.17	9.21	12.33	35.71	11.90	1275.20	2.51
C	9.72	7.75	8.85	26.32	8.77	692.74	0.99
D	12.45	17.7	10.95	41.1	13.70	1689.21	2.54
K+	12.2	15.5	10	37.7	12		
K-	8.8	7.9	9.1	25.8	8.4		
Jumlah				148.7		5733.78	



Lampiran 11 . Perhitungan Jumlah Leukosit

a. Rataan Leukosit perlakuan 12 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	13.15	13.56	17.36	44.07	14.69	2.32
B	12.72	13.33	11.41	37.46	12.49	0.98
C	8.33	9.08	11.92	29.33	9.78	1.89
D	11.18	12.05	10.32	33.55	11.18	0.87
				144.41		

Fk 1737.854
 Jk Total 60.60609
 Jk Perlakuan 39.23529
 Jk Acak 21.371

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	39.23529	13.07843	4.90	4.07	7.59
Acak	8	21.3708	2.67135	*		
Total	11					

SED = $\sqrt{2 \text{ KT acak/r}}$ = 1.3345
 BNT 5% = t tabel 5%*SED = 2.4821
 BNT 1% = t tabel 1%*SED = 3.8647

c. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	C	D	B	A	Notasi
		29.33	33.55	37.46	44.07	
C	29.33	—				a
D	33.55	1.40 ^{ns}	—			a
B	37.46	2.71*	1.31 ^{ns}	—		b
A	44.07	4.91**	3.51*	2.20 ^{ns}	—	bc

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

a. Rataan Leukosit perlakuan 18 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	16.68	14.97	12.65	44.3	14.77	2.02
B	13.73	18.56	14.41	46.7	15.57	2.61
C	13.37	14.33	10.98	38.68	12.89	1.73
D	11.81	10.56	9.175	31.545	10.52	1.32
				161.22		

Fk 2166.125
Jk Total 76.69187
Jk Perlakuan 45.41142
Jk Acak 31.28045

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	45.41142	15.13714	3.871336	4.07	7.59
Acak	8	31.28045	3.910056	-		
Total	11					

a. Rataan Leukosit perlakuan 24 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	19.87	13.35	14.8	48.02	16.01	3.42
B	13.56	15.43	18.32	47.31	15.77	2.40
C	11.51	13.37	9.91	34.79	11.60	1.73
D	7.6	11.27	14.2	33.07	11.02	3.31
				163.19		

Fk 2219.248
Jk Total 126.2703
Jk Perlakuan 63.46049
Jk Acak 62.8098

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	63.46049	21.1535	2.694293	4.07	7.59
Acak	8	62.8098	7.851225	-		
Total	11					

a. Rataan Leukosit perlakuan 36 jam

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	SD
	1	2	3			
A	16.06	13.2	16.31	45.57	15.19	1.73
B	14.17	9.21	12.33	35.71	11.90	2.51
C	9.72	7.75	8.85	26.32	8.77	0.99
D	12.45	17.7	10.95	41.1	13.70	2.54
				148.7		

Fk 27.60
Jk Total 0.99
Jk Perlakuan 0.28
Jk Acak 0.70

b. Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	0.2866	0.095533	1.09	4.07	7.59
Acak	8	0.703667	0.087958	-		
Total	11					



Lampiran 12. Tabel Kualitas Air
Jam Ke 12

Perlakuan	pH			Suhu			DO		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	7,8	6,3	7,1	26	25	25	2,8	2,8	3,2
B	6,5	6,8	7,5	27	27	25	2,8	3,3	3,2
C	6,8	6,2	6,7	27	25	25	3,0	2,9	3,2
D	6,9	7,1	7,0	27	27	25	2,8	3,3	3,1
K-	7,2	7,0	6,6	27	27	27	2,9	2,8	2,9
K+	6,3	7,1	6,2	25	25	25	3,0	3,0	2,8

Jam Ke 18

Perlakuan	pH			Suhu			DO		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	6,3	6,6	7	27	25	27	2,8	2,4	2,6
B	6,2	6,3	6	27	25	25	2,8	2,6	2,6
C	7,0	6,1	6,3	26	27	26	3	2,6	2,8
D	7,2	6,9	6	25	25	26	3	2,9	2,8
K-	7,2	6,1	6,4	26	26	26	2,8	2,8	2,8
K+	6,8	6,8	6	25	27	26	3	3,3	3

Jam Ke 24

Perlakuan	pH			Suhu			DO		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	7,6	6,5	7,1	25	26	26	2,2	2,5	2,4
B	6,4	7,6	7,3	25	26	26	2,4	2,9	2,5
C	6,0	6,7	7,2	25	25	26	2,8	3,1	3,2
D	7,2	7,8	6,0	27	25	25	2,6	3,1	2,3
K-	6,1	7,5	6,1	27	27	25	2,4	2,3	2,8
K+	6,8	6,4	6,8	25	25	27	2,5	3,3	2,4

Jam Ke 36

Perlakuan	pH			Suhu			DO		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	7,7	7,5	7,2	25	27	27	2,9	2,2	2,4
B	7,5	6,6	6,6	25	27	27	2,7	2,5	2,9
C	6,2	6,0	6,7	25	25	25	2,3	2,4	2,7
D	6,1	7,3	7,2	27	26	25	2,3	3,1	3,0
K-	7,7	6,6	7,3	26	26	26	2,8	2,8	2,8
k+	7,3	7,1	6,7	25	26	25	3	3,3	3