

**PENGARUH EKSTRAK KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*)
TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN HISTOPATOLOGI HATI IKAN MAS
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

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

Oleh :
GEDE ANGGA KRISHNA FARIESTHA
NIM. 115080500111041



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**PENGARUH EKSTRAK KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*)
TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN HISTOPATOLOGI HATI IKAN MAS
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

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

Oleh :
GEDE ANGGA KRISHNA FARIESTHA
NIM. 115080500111041



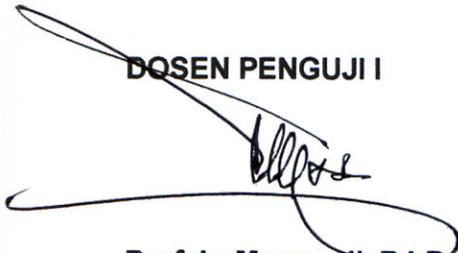
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016

**PENGARUH EKSTRAK KULIT POHON KETAPANG (*Terminalia catappa*)
TERHADAP KELULUSHIDUPAN DAN HISTOPATOLOGI HATI IKAN MAS
(*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Oleh :
GEDE ANGGA KRISHNA FARIESTHA
NIM. 115080500111041

Telah dipertahankan di depan penguji
pada tanggal :
dan dinyatakan memenuhi syarat

DOSEN PENGUJI I



Prof. Ir. Marsoedi, P.hD
NIP. 19460320 197303 1 001
Tanggal : 13 JAN 2016

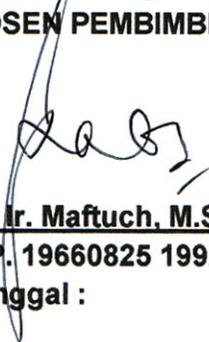
DOSEN PENGUJI II



M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc
NIP. 19860717 201504 1 001
Tanggal :

13 JAN 2016

MENYETUJUI,
DOSEN PEMBIMBING I



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

DOSEN PEMBIMBING II



Ir. Heny Suprastyani, MS
NIP. 19620904 198701 2 001
Tanggal :

MENGETAHUI,
KETUA JURUSAN MSP



13 JAN 2016

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

13 JAN 2016

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, Januari 2016

Mahasiswa

Gede Angga Krishna Fariestha



RINGKASAN

GEDE ANGGA KRISHNA FARIESTHA. Pengaruh Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) Terhadap Kelulushidupan dan Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dibawah bimbingan **Dr. Ir. Maftuch, M.Si** dan **Ir. Heny Suprastyani, MS**

Ikan mas termasuk salah satu komoditas sektor perikanan air tawar yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Ikan ini banyak disukai karena rasa dagingnya gurih, sehingga ikan ini sangat populer di kalangan masyarakat Indonesia. Jika ditinjau dari aspek pasar, permintaan ikan mas cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Peningkatan ini terutama terjadi di kota-kota besar seperti Jakarta, Surabaya, Bandung, dan beberapa kota besar lainnya di Indonesia (Khairuman, 2013). Namun masalah yang dianggap sering menjadi penghambat budidaya ikan mas adalah munculnya serangan penyakit akibat bakteri *A. hydrophila*. Karena serangan penyakit akibat baktei ini, sehingga dapat menimbulkan kerugian ekonomis, bahkan dapat menimbulkan kegagalan hasil panen (Kordi, 2004).

Menurut Sumino *et al.* (2013), pemakaian antibakteri telah banyak digunakan dalam perikanan budidaya dan dianggap sebagai solusi yang paling efektif dalam penanggulangan penyakit, akan tetapi penggunaan antibiotik yang berkepanjangan dapat berdampak yaitu bertambahnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan alternatif bahan antibakteri dari tanaman obat, salah satunya kulit kayu pohon ketapang (*Terminalia catappa*). Zat kimia dalam ekstrak pohon ketapang yang diduga bersifat antibakteri adalah tannin, saponin, fenol dan flavonoid. Sehingga diharapkan mampu menjadi bahan alami alternatif dalam pencegahan dan pengobatan penyakit terhadap serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* (Wahjuningrum *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, dan Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang pada bulan September 2015.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan masing-masing 3 kali ulangan yaitu dengan menggunakan dosis A (730 ppm), B (750 ppm) dan C (770 ppm). Parameter utama dalam penelitian ini adalah perhitungan kerusakan jaringan histopatologi hati meliputi kongesti, melanomakrofag dan nekrosis sedangkan untuk parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air (suhu, pH, dan DO), gejala klinis dan kelulushidupan.

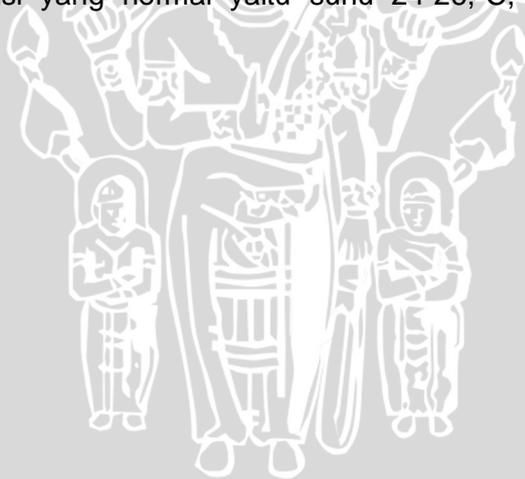
Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah: perhitungan kerusakan jaringan kongesti memiliki nilai kerusakan kongesti paling rendah yaitu 1,44 pada perlakuan C (770ppm). Hubungan antara dosis yang berbeda dengan kerusakan kongesti memiliki hubungan berbeda sangat nyata, ditunjukkan dengan nilai F hitung melebihi F tabel 5 % dan 1 %. Hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,9925 dengan persamaan $y = -0,0194x + 16,414$. Kerusakan melanomakrofag didapatkan nilai terendah yaitu 1,33 pada Perlakuan C (770 ppm). Hubungan antara dosis yang berbeda dengan kerusakan melanomakrofag memiliki hubungan tidak berbeda nyata karena perhitungan analisa keragaman mempunyai nilai F hitung nilainya lebih kecil dari pada nilai F 5% dan 1%, maka tidak dilanjutkan pada perhitungan selanjutnya. Perhitungan kerusakan jaringan nekrosis memiliki nilai kerusakan terendah yaitu 1,67 pada perlakuan C (770

ppm), hubungan dosis yang berbeda dengan kerusakan nekrosis memiliki hubungan berbeda sangat nyata, ditunjukkan dengan nilai F hitung melebihi F tabel 5 % dan 1 %, dengan hasil R^2 mendekati nilai satu yaitu sebesar 0,907 dengan persamaan $y = 0,025x + 20,89$.

Gejala klinis didapatkan gerakan ikan mas (*C. carpio*) yang berenang tidak normal, seperti berenang cepat tidak beraturan, terkadang ikan berenang sangat lemah dan ikan lebih sering berkumpul disumber udara, bagian fisik ikan dapat dilihat adanya bercak merah pada kulit yang mengeluarkan darah dan bagian perut membuncit tidak normal diikuti dengan lebam disekitar perut disertai dengan pendarahan serius. Uji kelulushidupan didapatkan nilai tebaik pada perlakuan A (730 ppm) sebesar 57,00. Hubungan antara dosis yang berbeda dengan kelulushidupan memiliki hubungan berbeda sangat nyata karena perhitungan analisa sidik ragam mempunyai nilai F hitung nilainya lebih besar dari pada nilai F 5% dan 1%, maka dilanjutkan pada perhitungan selanjutnya. Pengujian dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) didapatkan data pengaruh ekstrak tidak berbeda nyata terhadap kelulushidupan, sehingga tidak dilanjutkan perhitungan *polynomial orthogonal*.

Parameter kualitas air didapatkan data dari hasil penelitian yaitu suhu berkisar antara 24-26,^oC, pH 7-8, dan DO berkisar 4-4,8 ppm.

Dapat disimpulkan bahwa penggunaan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dapat mengurangi kerusakan pada histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) dosis 770 ppm (Perlakuan C) berupa penurunan kerusakan kongesti, melanomakrofag dan nekrosis yang hampir mendekati kontrol normal dan nilai kelulushidupan terbaik didapatkan 57,00 pada perlakuan A (730 ppm). Kualitas air menunjukkan kondisi yang normal yaitu suhu 24-26,^oC, pH 7-8, dan DO berkisar 4-4,8 ppm.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa, karena atas limpahan nikmat serta karunia-Nya, maka penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap Kelulushidupan dan Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” dapat diselesaikan dengan baik. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan tepat dan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Januari 2016

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

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

1. Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas limpahan rahmat serta karunia-Nya.
2. Bapak Dr. Ir. Maftuch, M.Si selaku dosen Pembimbing 1 dan Ibu Ir. Heny Suprastyani, MS selaku dosen Pembimbing 2 yang telah meluangkan waktu, senantiasa selalu memberi saran, motivasi dan dukungan.
3. Bapak Prof. Ir. Marsoedi, Ph.D selaku dosen Penguji 1 dan Bapak M. Fakhri, S.Pi, MP, M.Sc selaku dosen Penguji 2 yang telah meluangkan waktu, motivasi dan dukungan untuk penyempurnaan laporan skripsi ini.
4. Bapak Wayan Suarnata dan Ibu Ni Wayan Yani selaku orang tua serta Adik tercinta Kadek Cindy Dyah Larasati, atas segala dukungan, motivasi, dan do'anya.
5. Seluruh rekan-rekan "Team Ketapang" yang telah banyak membantu dan selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk terselesainya laporan Skripsi ini.
6. Teman-teman Aquatic Spartans BP 2011 yang telah ikut serta mendukung penyelesaian skripsi ini.
7. Seluruh pihak yang sudah membantu penulis selama penelitian, seperti Laboran dan Toko Alat Bahan Kimia.
8. Serta yang terakhir "Kartun Ngampus" yang selalu memberikan gambar-gambar yang memotivasi saya untuk semangat Berkuliah hingga Skripsi.

Malang, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMAKASIH	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biologi Ikan mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi	5
2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup	6
2.1.3 Penyakit Pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	6
2.2 Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>)	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Zat Antimikroba Tumbuhan Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>)	8
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan	10
2.3.3 Infeksi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	11
2.4 Histopatologi	11
2.4.1 Pengertian Histopatologi	11
2.4.2 Pengamatan Histopatologi	12
2.5 Histopatologi Hati	14
2.6 Hati dan Fungsinya	15
2.7 Kualitas Air	16
2.7.1 Derajat Keasaman (pH)	16
2.7.2 Suhu	17
2.7.3 Oksigen Terlarut (DO)	17

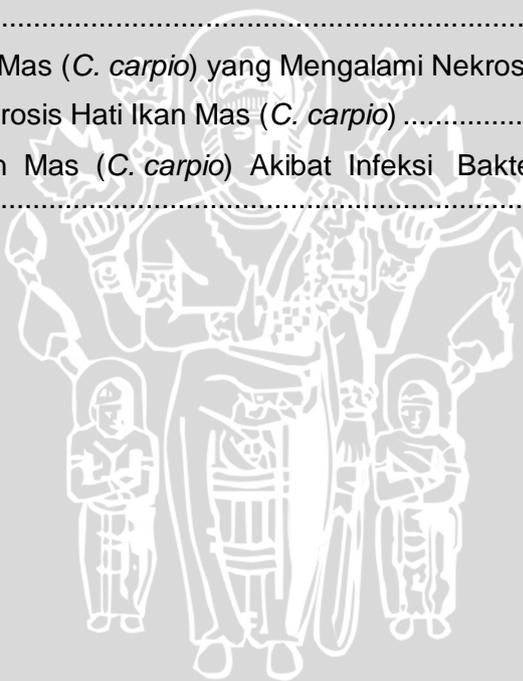


3. METODE PENELITIAN	18
3.1 Materi Penelitian	18
3.1.1 Alat Penelitian	18
3.1.2 Bahan Penelitian	19
3.2 Metode Penelitian	20
3.3 Rancangan Penelitian	20
3.4 Prosedur Penelitian	23
3.4.1 Persiapan Penelitian	23
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	27
3.5 Parameter Uji	31
3.5.1 Parameter Utama	31
3.5.2 Parameter Penunjang	31
3.6 Analisis Data	32
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Histopatologi Hati	33
4.1.1 Gambaran Histopatologi Hati Normal, Hati Ikan yang Diberi Ekstrak Kulit Pohon Ketapang dan yang Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	34
4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati yang Diberi Perlakuan	35
4.2 Gejala Klinis Pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	46
4.3 Kelulushidupan Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	47
4.4 Parameter Kualitas Air	50
4.4.1 Suhu	51
4.4.2 pH	51
4.4.3 Oksigen Terlarut	51
5. KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1 Kesimpulan	52
5.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2. Pohon Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>).....	8
3. Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
4. Denah Penelitian.....	22
5. (A) Jaringan Hati Normal, (B) Jaringan Hati Diberi Ekstrak dan (C) Jaringan Hati Terinfeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	34
6. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) yang Mengalami Kongesti.....	36
7. Grafik Regresi Kongesti Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	39
8. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) yang Mengalami Kerusakan Melanomakrofag.....	40
9. Jaringan Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) yang Mengalami Nekrosis.....	43
10. Grafik Regresi Nekrosis Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	46
11. Bagian Tubuh Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Akibat Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	47



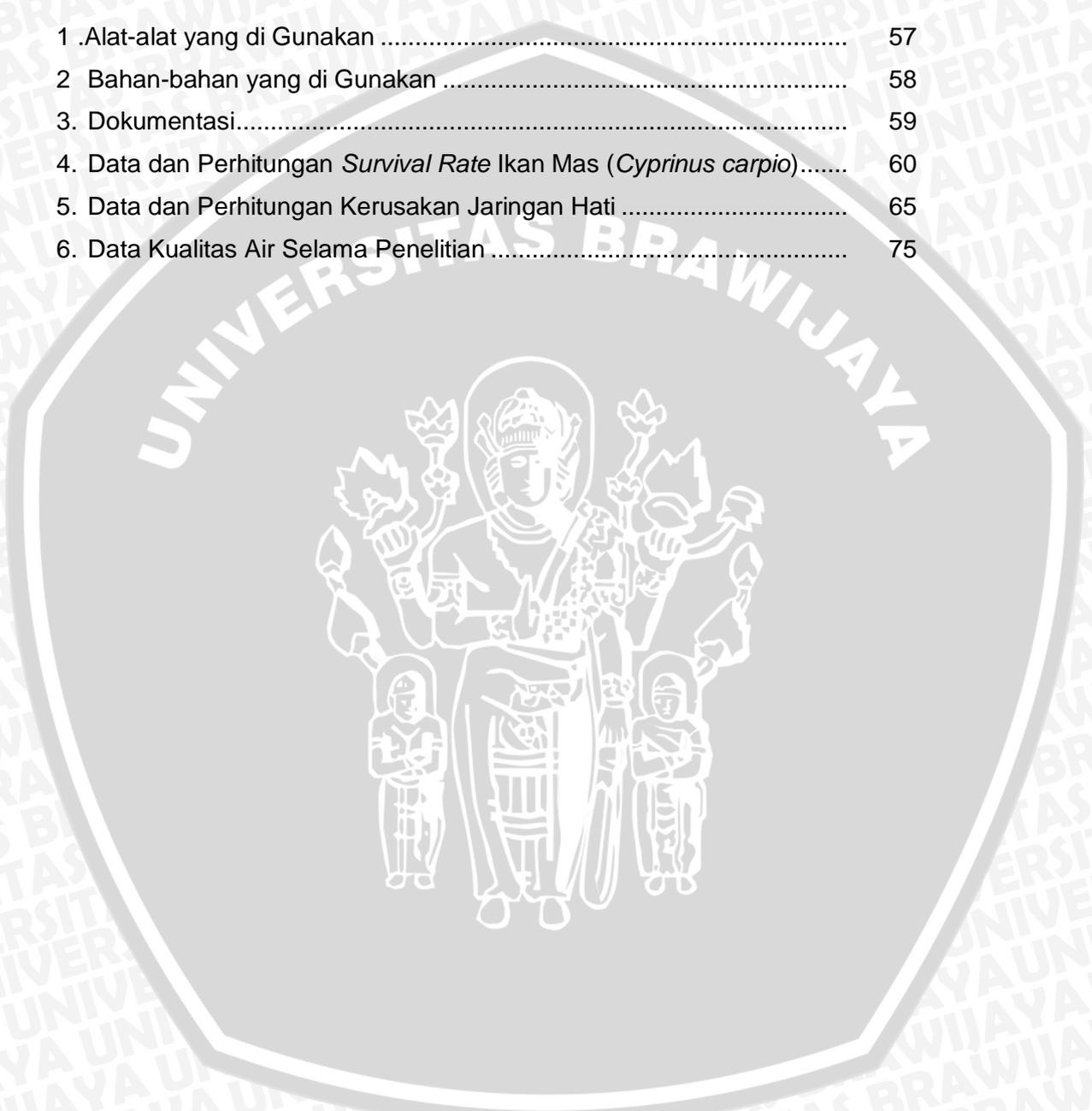
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai Uji MIC dengan Menggunakan Dosis Ekstrak Berbeda-beda	21
2. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Kongesti	37
3. Sidik Ragam Skoring Kongesti Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	37
4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kongesti	38
5. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Akibat Melanomakrofag	41
6. Sidik Ragam Skoring Melanomakrofag Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	42
7. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Akibat Nekrosis	44
8. Sidik Ragam Skoring Nekrosis Hati Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	44
9. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Nekrosis	45
10 Data Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	48
11 Rerata Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	48
12 Sidik Ragam Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	49
13 Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kelulushidupan Ikan Mas (<i>C. carpio</i>).....	49
14 Data Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan.....	50



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 .Alat-alat yang di Gunakan	57
2 Bahan-bahan yang di Gunakan	58
3. Dokumentasi.....	59
4. Data dan Perhitungan <i>Survival Rate</i> Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	60
5. Data dan Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati	65
6. Data Kualitas Air Selama Penelitian	75



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumber daya yang terdapat di perairan, khususnya di Indonesia, tentu saja memiliki potensi yang besar dan tidak kalah dibandingkan sumber daya yang terdapat di daratan. Wilayah perairan Indonesia lebih luas daripada daratan. Dengan kondisi perairan yang mendukung dan memiliki potensi, maka diperlukan campur tangan manusia untuk melakukan budidaya agar produksi dari sumber daya perairan menjadi optimal (Effendi, 2012).

Ikan mas termasuk salah satu komoditas sektor perikanan air tawar yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Ikan ini banyak disukai karena rasa dagingnya gurih, sehingga ikan ini sangat populer di kalangan masyarakat Indonesia. Jika ditinjau dari aspek pasar, permintaan ikan mas cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Peningkatan ini terutama terjadi di kota-kota besar seperti Jakarta, Surabaya, Bandung, dan beberapa kota besar lainnya di Indonesia (Khairuman, 2013).

Namun masalah yang dianggap sering menjadi penghambat budidaya ikan mas adalah munculnya serangan penyakit. Karena serangan penyakit dapat menimbulkan kerugian ekonomis, bahkan dapat menimbulkan kegagalan hasil panen. Penyakit ikan ini dapat didefinisikan sebagai segala sesuatu yang dapat menimbulkan gangguan suatu fungsi atau struktur dari alat tubuh, baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada prinsipnya penyakit yang menyerang ikan tidak datang begitu saja, melainkan melalui proses hubungan antara tiga faktor, yaitu kondisi lingkungan (kondisi dalam air), kondisi inang (ikan), dan adanya jasad pathogen (jasad penyakit). Dengan demikian, timbulnya penyakit itu merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara lingkungan, ikan dan jasad/organisme penyakit (Kordi, 2004).

Menurut Sumino *et al.* (2013), pemakaian antibakteri telah banyak digunakan dalam perikanan budidaya dan dianggap sebagai solusi yang paling efektif dalam penanggulangan penyakit, seperti penggunaan *oxytetracycline*, *sulfonamide* dan *sulfamerazine* yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Penggunaan antibiotik dalam penanggulangan penyakit menunjukkan hasil yang menggembirakan, akan tetapi penggunaan antibiotik yang berkepanjangan dapat berdampak yaitu bertambahnya jenis bakteri yang resisten terhadap antibiotik dan dapat mencemari lingkungan. Selain itu, penggunaan antibiotik dalam budidaya skala besar kurang efisien karena harga antibiotik yang mahal. Sehingga diperlukan alternatif pengganti antibiotik sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit yang efektif tetapi murah, tidak menyebabkan resisten terhadap bakteri dan ramah lingkungan.

Pohon ketapang sudah dikenal sebagai salah satu bahan antibakteri yang bersifat alami. Menurut Wahjuningrum *et al.* (2008), daun ketapang biasanya dikenal berkhasiat untuk menjaga kualitas air pada kegiatan budidaya perikanan. Kulit kayu, buah, dan daun ketapang sudah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai penyakit termasuk penyakit kulit, disentri, sakit kepala dan sakit perut pada anak-anak. Zat kimia dalam ekstrak pohon ketapang yang diduga bersifat antibakteri adalah tannin, saponin, fenol dan flavonoid. Sehingga diharapkan mampu menjadi bahan alami alternatif dalam pencegahan dan pengobatan penyakit terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*.

1.2 Rumusan Masalah

Penggunaan antibiotik dan obat-obatan untuk ikan dapat mengakibatkan resistensi bakteri terhadap bahan kimia yang digunakan. Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif pengobatan dengan menggunakan bahan alami yang berasal dari tumbuhan (fitofarmaka). Berdasarkan latar belakang, masalah ini

belum diketahui pengaruh penggunaan ekstrak kulit kayu ketapang terhadap uji sensitivitas bakteri *Aeromonas hydrophila*. Berhubungan dengan hal tersebut, maka didapatkan rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

- Apakah pemberian ekstrak kulit kayu ketapang (*Terminalia cattapa*) berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* ?
- Berapakah dosis terbaik dari pemberian ekstrak kulit ketapang (*Terminalia cattapa*) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang sudah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian tentang pengaruh ekstrak dari kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* memiliki tujuan yaitu:

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit ketapang (*Terminalia catappa*) terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.
- Mengetahui dosis terbaik dari pemberian ekstrak kulit ketapang (*Terminalia catappa*) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.4 Hipotesis

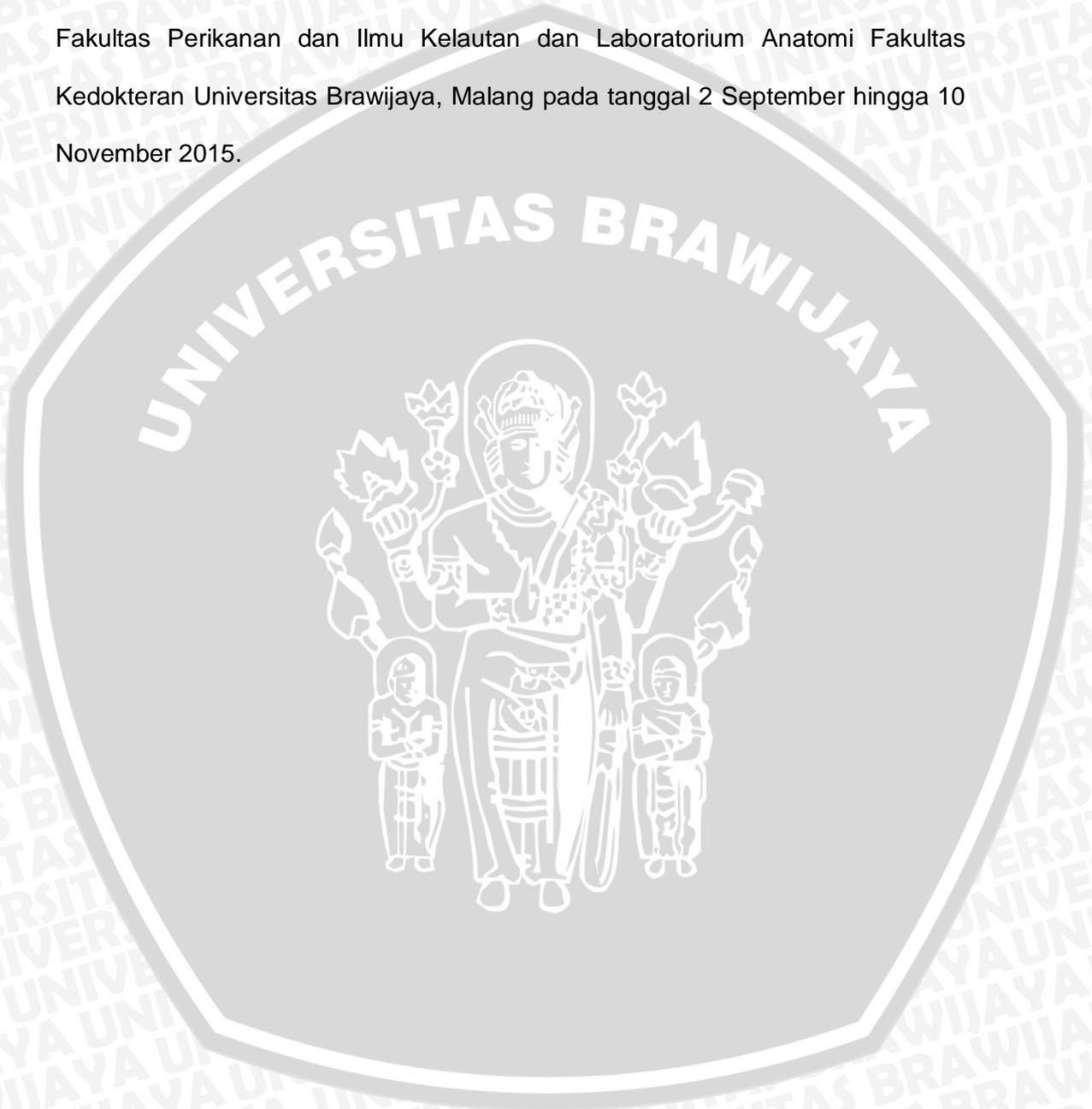
H₀ : Diduga pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) tidak berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

H₁ : Diduga pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*Terminalia catappa*) berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati

ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan Kesehatan Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan dan Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang pada tanggal 2 September hingga 10 November 2015.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Supriatna (2013), berdasarkan bentuk tubuh dan sifat-sifatnya, penggolongan atau klasifikasi ikan mas yakni sebagai berikut.

Filum : Chordata

Kelas : Osteichthyes

Ordo : Cypriniformes

Famili : Cyprinidae

Genus : *Cyprinus*

Spesies : *Cyprinus carpio*

Ciri-ciri morfologi adalah ciri-ciri yang menunjukkan bentuk dan struktur suatu organisme. Secara umum, karakteristik ikan mas memiliki bentuk tubuh yang agak memanjang dan sedikit memipih ke samping (*compressed*). Sebagian besar tubuh ikan mas ditutupi oleh sisik kecuali pada *strain* yang memiliki sedikit sisik. Moncongnya terletak di ujung tengah (*terminal*) dan dapat disembulkan (*protaktil*). Pada bibirnya yang lunak terdapat dua pasang sungut (*barbell*) dan tidak bergigi. Pada bagian dalam mulut terdapat gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) sebanyak tiga baris berbentuk geraham (Lentera, 2002). Adapun gambar dari ikan mas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) (Lentera, 2002).

Menurut Santoso (1993), ikan mas memiliki jari-jari sirip punggung (*dorsal*) yang mengeras seperti gergaji. Sedangkan letak antara kedua sirip punggung dan perut berseberangan. Sirip dada (*pectoral*) terletak di belakang tutup insang (*operculum*). Ikan mas tergolong sisik besar bertipe *cycloid*. Usus umumnya tidak begitu panjang jika dibandingkan dengan hewan pemakan tumbuh-tumbuhan asli. Ikan mas tidak memiliki lambung, juga tidak bergigi sehingga bila mencerna makanan menggunakan pharing yang mengeras.

2.1.2 Habitat dan Syarat Hidup

Ikan mas menyukai tempat hidup (habitat) berupa perairan tawar yang airnya tidak telalu dalam dan alirannya tidak terlalu deras, seperti di pinggiran sungai atau danau. Ikan ini hidup dengan baik di daerah dengan ketinggian 150-600 meter di atas permukaan laut dengan suhu air 25-30⁰ C. Walaupun tergolong ikan air tawar, ikan mas kadang-kadang juga ditemukan di perairan payau atau muara sungai dengan salinitas mencapai 25-30 ‰ (Khairuman dan Amri, 2008).

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

2.1.3 Penyakit Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Penyakit yang ditemukan pada ikan mas yaitu MAS (*Motil Aeromonas Septicemia*). Ikan yang terserang penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pertumbuhannya terganggu bahkan dapat menyebabkan kematian, sehingga menimbulkan kerugian yang besar. Penyakit bakterial ini disebabkan oleh *A. hydrophila*. Penyakit mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 1980 (Lukistyowati

dan Kurniasih, 2011). MAS atau penyakit bercak merah, serangannya dapat mematikan benih ikan dengan tingkat kematian mencapai 80% - 100% dalam waktu 1-2 minggu (Cipriano, 2001).

Menurut Maftuch dan Dalimunthe (2013), penyakit yang mewabah ikan mas dan ikan koi yaitu KHV (*Koi Herpes Virus*). Wabah ini dimulai di Amerika dan Israel pada tahun 1999 dan menyebabkan kematian masal. Di Indonesia terjadi di Blitar pada bulan Maret 2002 dan menyebar hingga Jawa, Bali dan Sumatra pada bulan Agustus 2002. Jumlah ikan yang mati akibat wabah ini diperkirakan mencapai 21.713 ton dengan kerugian mencapai 100 milyar. Gejala klinis pada penyakit ini yaitu nafsu makan mendadak hilang, gerakan tidak normal, pendarahan pada sirip dan badan, luka melepuh, megap-megap (operculum bergerak cepat), bercak putih pada insang, geripis pada ujung lamella, dan insang membusuk.

2.2 Ketapang (*Terminalia catappa*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Jagessar dan Alleyne (2011), klasifikasi dari pohon ketapang adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Keluarga	: Combretaceae
Genus	: Terminalia
Spesies	: <i>Terminalia catappa</i>

Pohon ketapang tersebar di daerah tropis dan subtropis dengan daerah penyebaran Asia, Amerika, daerah Laut Pasifik dan beberapa daerah di Afrika. Pohon ini memiliki tinggi 25-40 m (82-130 ft) dengan diameter batang 20-150 cm.

Pohon ketapang memiliki bunga kecil yang berwarna putih yang berbunga 2-3 tahun setelah ditanam dan terus berbunga setelah 18 bulan. Daunnya lebar yang berwarna hijau hingga berwarna kecoklatan dengan ditutupi oleh rambut halus yang berwarna coklat (Thomson dan Evans, 2006). Gambar dari pohon ketapang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) (Thomson dan Evans, 2006)

2.2.2 Zat Antimikroba Tumbuhan Ketapang (*Terminalia catappa*)

Menurut Muhammad dan Mudi (2011), di dalam ekstrak ketapang ditemukan banyak mengandung beberapa metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa metabolit yang tidak esensial bagi makhluk hidup. Metabolit sekunder diantaranya resin, steroid, alkaloid, tannin dan saponin serta flavonoid. Metabolit ini memiliki peran dalam dalam aktifitas antimikroba pada tanaman obat.

Menurut Sine (2012), dari hasil pengujian fitofarmaka didapatkan kandungan dari ketapang itu sendiri positif mengandung fenolik, tannin, flavonoid, alkaloid, terpen dan steroid. Senyawa fenol memiliki fungsi sebagai

faktor pertumbuhan pada tumbuhan, pigmen warna, pertahanan terhadap serangga pengganggu dan antibakteri. Selain itu senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan biasanya terdapat dalam vakuola sel. Tanin dapat digunakan sebagai antibakteri karena mempunyai gugus fenol, sehingga tanin mempunyai sifat-sifat seperti alkohol yaitu bersifat antiseptik yang dapat digunakan sebagai komponen antimikroba. Tanin merupakan senyawa yang dapat mengikat dan mengendapkan protein berlebih dalam tubuh, himpunan polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dari fenol-fenol lain karena kemampuannya untuk mengendapkan protein. Flavanoid dikenal sebagai antibakteri. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut dengan dinding sel mikroba. Kemungkinan lain adalah flavonoid berperan secara langsung dengan mengganggu fungsi sel mikroorganisme dan penghambatan siklus sel mikroba.

2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

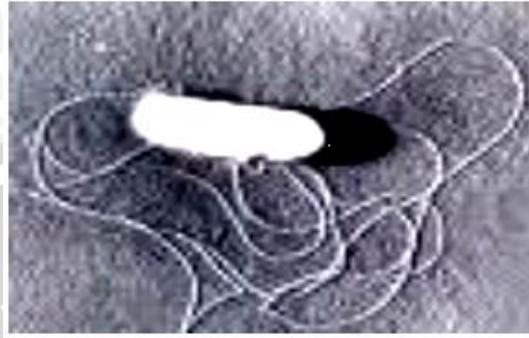
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Janda dan Abbott (2010), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* adalah sebagai berikut :

Filum	: Protophyta
Klas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonodal
Family	: Vibrionceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

Secara morfologis bakteri ini berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,0-1,5 mikrometer dan lebar 15,7-15,8 mikrometer, termasuk bakteri gram negatif, bersifat motil, bergerak dengan satu polar flagella, oksidatif fermentatif, termasuk

anaerobik dan merupakan bakteri yang merusak jaringan dan organ pembuat sel darah. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri ini adalah 37°C (Kabata, 1985). Untuk gambar dari bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat dilihat pada Gambar 3.



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

2.3.2 Pertumbuhan dan Perkembangbiakan

Menurut Prajitno (2007), bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri fakultatif anaerob, yaitu bakteri yang dapat berkembang dalam keadaan dengan atau tanpa oksigen, meskipun perkembangannya lebih cepat pada lingkungan yang ada oksigen. Bakteri fakultatif anaerob (tanpa ada oksigen) akan tersebar di seluruh medium jika diinokulasikan pada medium cair, bersifat heterotropik, yaitu mampu mengoksidasi bermacam-macam persenyawaan organik sebagai sumber karbon.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* sering muncul pada musim panas atau musim kemarau, karena di musim kemarau kandungan bahan organik di perairan tinggi. Kandungan oksigen yang rendah, suhu yang tinggi dan akumulasi bahan organik atau sisa metabolisme ikan, serta pola padat penebaran yang tinggi akan berkolerasi positif terhadap perkembangbiakan bakteri tersebut (Chauret *et al.*, 2001).

2.3.3 Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri septisemia sehingga penyebaran bakteri di dalam tubuh inang terjadi sangat cepat. Bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^6 cfu/ml dapat membuat ikan mengalami peradangan dan kematian mencapai 60% selama 12-24 jam pasca-injeksi bakteri. Penyakit ini biasanya menjadi wabah pada saat kondisi ikan lemah dan kualitas air yang buruk. Ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* mengalami pendarahan pada organ yang terinfeksi. Patologi anatomi organ luar ikan yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* antara lain sisik lepas, sirip gripis. Bakteri ini juga menyerang organ dalam seperti ginjal dan hati hingga membuat pendarahan serius (Hardi *et al.*, 2014),

Menurut Mulia (2003), bakteri *A. hydrophila* secara normal hidup di air tawar. Infeksi bakteri ini dapat terjadi akibat perubahan kondisi lingkungan, stres, perubahan temperatur, air yang terkontaminasi dan ketika host tersebut telah terinfeksi oleh virus, bakteri atau parasit lainnya (infeksi sekunder). Oleh karena itu bakteri ini disebut sebagai bakteri yang bersifat patogen oportunistik. Infeksi bakteri ini dapat menimbulkan penyakit dengan gejala-gejala di antaranya, kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna suram atau kebiruan, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), pendarahan sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor, juga terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan.

2.4 Histopatologi

2.4.1 Pengertian Histopatologi

Analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Selain itu, penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan dalam memonitoring lingkungan dengan mengamati organ-organ

tersebut yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh sehingga dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme (Setyowati *et al.*, 2010).

Dalam penentuan penyakit pada ikan, diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan. Pada proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi. Untuk mengetahui perubahan patologi pada ikan yang terserang penyakit, perlu dilakukan pemeriksaan histologi untuk mendeteksi adanya komponen-komponen patogen yang bersifat infeksi melalui pengamatan secara mikro anatomi terhadap perubahan abnormal tingkat jaringan (Asniatih *et al.*, 2013).

2.4.2 Pengamatan Histopatologi

Persiapan jaringan melalui tahap fiksasi, pemotongan jaringan, pelabelan spesimen, refiksasi, dan dekaflaso. Selanjutnya, pengolahan jaringan dilakukan dengan tahap dehidrasi, penjernihan, pemberian parafin dan pembuatan blok. Jaringan berparafin dalam bentuk blok yang akan dibuat irisan tipis jaringan dengan mikrotom sehingga menjadi preparat yang diwarnai dengan beberapa jenis pewarna jaringan, misalnya giemsa, eosin dan lain-lain

Untuk mempresentasikan keseluruhan organ hati, maka tiap sampel organ hati dibedah. Adapun prosedur dalam pembuatan preparat histologis menurut Setyowati *et al.* (2010), adalah:

- ✓ Ikan dibedah dan diambil bagian hatinya
- ✓ Diawetkan dengan formalin 4 % selama 24 jam.
- ✓ Fiksasi, memindahkan hati ke dalam larutan FAA selama 24 jam.
- ✓ Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, serta alkohol masing-masing 1 jam.

- ✓ *Clearing*, dilakukan selama 1 jam yaitu dimasukkan ke dalam larutan alkohol *xylol*, lalu memasukkannya ke dalam *xylol* murni I, II, III masing-masing selama 20 menit.
- ✓ Infiltrasi, menggunakan paraffin. Hati dimasukkan kedalam *xylol* : paraffin (1:1) cair selama 20 menit, kemudian memasukkan paraffin cair I, II, III masing-masing selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.
- ✓ *Embedding*, tahapan menanam jaringan atau sampel yang digunakan. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh kemudian membenamkan potongan organ ke dalam paraffin tersebut. Jaringan diletakkan pada posisi dasar tengah dengan posisi melintang.
- ✓ *Sectioning*, sampel dipotong menggunakan microtome dengan ketebalan 6-10 mikron.
- ✓ *Affixing*, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1, disimpan dalam kotak sediaan selama 1 hari. Deparafinisasi, untuk menghilangkan paraffin, sediaan dimasukkan ke dalam *xylol* selama 10 menit.
- ✓ *Staining* atau pewarnaan adalah proses pewarnaan dengan menggunakan *hematoxylin* dan eosin dengan langkah sebagai berikut :
 - a. Sediaan histologis dihisap *xylol*nya dengan menggunakan kertas saring. Kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40 % dan 30 % masing-masing selama 5 menit lalu ke aquades selama 5 menit. Dicuci dengan air mengalir kurang lebih 2 menit
 - b. Dimasukkan ke dalam *haemotoxylin* selama 4 menit
 - c. Dicuci dengan air mengalir selama 10 menit.
 - d. Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96% masing-masing beberapa celupan.
 - e. Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit.

- f. Dimasukkan ke dalam alkohol 70 %, 80%, 90%, 95%.
 - g. Preparat dikering-anginkan dan dimasukkan ke *xylol* selama 15 menit
 - h. Sediaan histologi ditetesi dengan *Canada balsam* lalu ditutup dengan cover glass.
- ✓ *Mounting* (Penutupan) dan *Labelling* (Pemberian Label) yaitu Penutupan preparat dengan menggunakan kaca penutup dan memberi identitas pada preparat.

2.5 Histopatologi Hati

Secara umum hati memiliki warna merah dan berada di rongga perut. Pada histopatologinya, hati memiliki sel yang bernama sel hepatosit. Sel hepatosit memiliki berat 80% dari berat hati dan memiliki inti sel baik tunggal maupun ganda. Hepatosit sangat aktif mensintesis protein dan lipid untuk disekresi, dan memiliki banyak retikulum endoplasma dan badan golgi. Hepatosit dipisahkan oleh sinusoid yang tersusun dengan melingkari *efferent vena hepatica* dan duktus hepatikus. Darah yang masuk ke dalam hati melalui arteri hepatica dan vena porta serta yang akan menuju ke vena sentralis akan mengalami pengurangan oksigen secara bertahap. Akibatnya beberapa jaringan akan sangat rentan terhadap kerusakan asinus. Di dalam organ hati, hepatosit terletak berhadapan dengan sinusoid yang mempunyai banyak mikrofil. Sinusoid hati memiliki lapisan endothelial berpori yang dipisahkan dari hepatosit oleh ruang disse (ruang sinusoida) (Julio *et al.*, 2013).

Kerusakan-kerusakan histopatologi pada ikan mas akibat penyakit *Aeromonas hydrophila* yaitu dikenal dengan nama degenerasi vakuola, kongesti, melanomakrofag dan nekrosis. Degenerasi pada hati merupakan reaksi peradangan akibat adanya kelainan sel tidak segera mematikan sel yang bermasalah, hal ini disebabkan oleh luka karena bakteri. Kongesti merupakan keadaan dimana terjadinya peningkatan jumlah darah pada jaringan ditandai

dengan warna merah yang tidak normal (Tresnati *et al.*, 2007). Kongesti merupakan penggumpalan darah yang terjadi di kelenjar sinusoid dan pembuluh darah kecil pada hati (Darmono, 1995). Kelainan lain yang terdapat pada organ hati adalah melanomakrofag. Melanomakrofag merupakan sejenis makrofag yang mempunyai banyak pigmen melanin didalam sitoplasmanya. Melanomakrofag berbentuk bulat padat yang memiliki jumlah pigmen bervariasi dan biasanya terdapat pada ikan sehat. Akan tetapi jumlahnya akan meningkat pada saat ikan mengalami stres. Melanomakrofag merupakan indikator stres kronis (Noga, 2010). Sedangkan nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi pada organisme hidup yang disebabkan oleh kecelakaan maupun infeksi. Pada nekrosis terjadi perubahan pada inti yang pada akhirnya dapat menyebabkan inti menjadi lisis dan membran plasma menjadi *rupture* atau pendarahan serius (Lumongga, 2008).

2.6 Hati dan Fungsinya

Hati merupakan organ vital bagi manusia dan hewan, yang mempunyai fungsi yang sangat kompleks. Hati memiliki kontribusi 2,5 % dari keseluruhan berat tubuh. Fungsi hepar sendiri adalah sebagai tempat berlangsungnya siklus urea (ornitin, sitrulin, arginine, sitrulin), pengaturan metabolisme lipida serta formasi bilirubin yang berkaitan dengan produksi empedu (Adji, 2009).

Menurut Lumongga (2008), liver merupakan salah satu organ yang cukup besar dan sangat penting peranannya di dalam tubuh. Bagian dalam liver yang paling penting adalah hepatosit, yang merupakan sel epitel dengan konfigurasi unik. Pada dasarnya liver ini merupakan kelenjar eksokrin, oleh karena mensekresikan cairan empedu yang dialirkan kedalam usus. Selain itu merupakan kelenjar endokrin dan penyaring darah. Organ hati mempunyai banyak fungsi antara lain:

- a. pembentukan dan sekresi empedu;
- b. tempat menyimpan glikogen yang merupakan buffer bagi glukosa darah;
- c. sintesa urea;
- d. metabolisme lemak dan kolesterol;
- e. detoksifikasi berbagai macam obat dan racun;
- f. membersihkan bakteri dari darah;
- g. katabolisme hemoglobin dari sel darah merah yang tidak terpakai lagi.

2.7 Kualitas Air

2.7.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman (pH) dalam suatu perairan merupakan salah satu parameter kimia yang penting dalam memantau kestabilan perairan. Perubahan nilai pH suatu perairan terhadap organisme akuatik mempunyai batasan tertentu dengan nilai pH yang bervariasi (Simanjuntak, 2012).

Menurut Barus (2002), nilai konsentrasi ion hidrogen terlarut dinyatakan sebagai pH. Nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7-8,5. Kondisi perairan yang bersifat sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi.

2.7.2 Suhu

Dalam kualitas air suhu memiliki peranan penting dalam terjadinya metabolisme dalam tubuh suatu organisme. Suhu lingkungan yang semakin tinggi maka kadar oksigen terlarut juga semakin menurun sedangkan pada saat suhu rendah, kecepatan metabolisme akan menurun. Sehingga sistem kekebalan tubuh juga akan mempengaruhi hidup organisme yang ada dalam perairan (Ahdiyah, 2011).

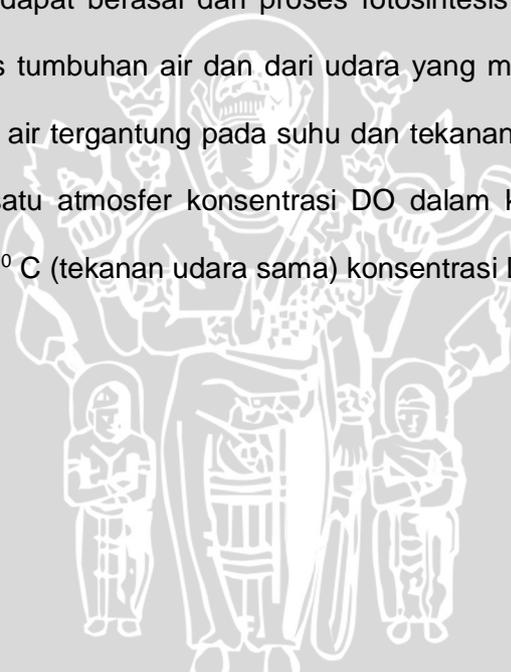
Menurut Effendi (2003), perubahan suhu berpengaruh terhadap proses fisika, kimia, dan biologi pada badan air. Suhu berperan mengendalikan kondisi

ekosistem perairan. Peningkatan suhu terbesar 10°C di perairan akan menyebabkan terjadinya peningkatan konsumsi oksigen oleh organisme akuatik sekitar 2-3 kali lipat dari keadaan normalnya.

2.7.3 Oksigen Terlarut (DO)

Menurut Swingle (1963) dalam Rudiyantri dan Ekasari (2009), yang menyatakan bahwa kandungan oksigen dalam suatu perairan minimum sebesar 2 mg/L, sudah cukup mendukung terhadap organisme perairan secara normal. Nilai kualitas air menunjukkan bahwa parameter ini masih dalam batas kelayakan untuk kehidupan ikan mas.

Oksigen terlarut dapat berasal dari proses fotosintesis tumbuhan air dan dari proses fotosintesis tumbuhan air dan dari udara yang masuk ke dalam air. Konsentrasi DO dalam air tergantung pada suhu dan tekanan udara. Pada suhu 20°C tekanan udara satu atmosfer konsentrasi DO dalam keadaan jenuh 9,2 ppm dan pada suhu 50°C (tekanan udara sama) konsentrasi DO adalah 5,6 ppm (Daulat *et al.*, 2014).



3. METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

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

- Akuarium ukuran 40x40x40 cm³
- Timbangan Digital
- Autoklaf
- Inkubator
- Aerator
- Selang Aerasi
- Batu Aerasi
- Selang Air
- Nampan
- Pipet tetes
- *Hand Tally Counter*
- Mikroskop
- Mikrotom
- Sesor
- Heater akuarium
- DO meter
- pH meter
- *Sectio set*
- Botol film



3.1.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) dari petani ikan di daerah kota Batu
- Kulit Kayu Ketapang (*Terminalia catappa*) dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.
- Bakteri *Aeromonas hydrophila* berasal dari Balai Karantina Ikan Juanda, Surabaya Jawa Timur
- NA (*Nutrien Agar*)
- NB (*Nutrien Broth*)
- Kertas label
- Methanol
- Alumunium Foil
- Sampel Hati Ikan Mas
- *Haematoxylin Eosin*
- Parafin
- Kertas Saring
- Akuades
- Alkohol 70%
- Kapas
- Tissue
- Etanol 96%
- Formalin 10 %



3.2 Metode Penelitian

Penelitian eksperimental atau *experimental research* merupakan penelitian yang paling menyeluruh terkait dengan pengujian sebab-akibat. Penelitian eksperimental yang dilakukan dalam bidang fisika, kimia maupun biologi hampir secara keseluruhan ditujukan untuk menguji hubungan sebab-akibat dari beberapa hal atau variabel. Penelitian eksperimental menguji secara langsung hubungan antara variabel satu dengan variabel yang lain dan menguji hipotesis atau dugaan hubungan sebab-akibat (Sukmadinata, 2005).

3.3 Rancangan Penelitian

Gambaran umum dari penelitian dapat kita lihat dari rancangan penelitiannya. Pada penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Menurut Hanafiah (2013), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan paling sederhana jika dibandingkan rancangan lainnya. Dalam rancangan ini tidak terdapat *local control*, sehingga sumber keragaman yang dapat diamati hanya perlakuan dengan galat. Kondisi ini hanya dicapai di ruangan-ruangan terkontrol seperti di laboratorium. Adapun Rancangan Acak Lengkap yang secara umum dinyatakan dalam model matematika adalah sebagai berikut.

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

Keterangan :

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

μ = nilai rerata umum (mean)

T_i = pengaruh faktor perlakuan ke-i

ε_{ij} = pengaruh galat

Sebelum melakukan penelitian *in vivo* menggunakan hewan uji ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*, dilakukan pengujian ekstrak kasar

kulit pohon ketapang (*T. catappa*) menggunakan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Fungsi pengujian MIC untuk mengetahui resistensi suatu mikroba terhadap antimikroba yang diberikan. Tingkat dosis yang dipakai dalam pengukuran ini adalah 0 ppm, 0,01 ppm, 0,1 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm serta K+ dan K-. Pengukuran menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 512 nm. Setelah menemukan ekstrak yang pertama bening akan dilanjutkan dengan uji MIC untuk menemukan dosis yang tepat. Hasil dari nilai uji MIC disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai Uji MIC dengan Menggunakan Dosis Ekstrak yang Berbeda-beda

No	Dosis	Hasil Spektrofotometri	Keterangan
1	0 ppm	0,024	Bening
2	0,01 ppm	0,591	Keruh
3	0,1 ppm	0,373	Keruh
4	1 ppm	0,368	Keruh
5	10 ppm	0,231	Bening
6	100 ppm	0,256	Bening
7	1000 ppm	0,263	Bening
8	Kontrol +	0,297	Bening
9	Kontrol -	1,273	Keruh

Tabel diatas didapatkan pengaruh ekstrak kulit kayu ketapang yang efektif untuk menghambat bakteri pada kisaran 1000 ppm karena nilai absorbansinya hampir mendekati kontrol positif (+), maka penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variabel bebas berupa perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar kulit ketapang (*T. catappa*) dengan dosis 730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm. Penelitian ini digunakan 3 kontrol pembanding yaitu kontrol normal, kontrol obat dan kontrol infeksi. Kontrol normal sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa perendaman ekstrak kasar kulit ketapang, kontrol obat yaitu sebagai perlakuan sampel tanpa penginfeksian bakteri *A. hydrophilla* namun dengan perendaman ekstrak kasar kulit pohon

ketapang sedangkan kontrol infeksi sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri. Dari perlakuan tersebut diperoleh total sampel sebanyak 18 sampel. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

A : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 730 ppm

B : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 750 ppm

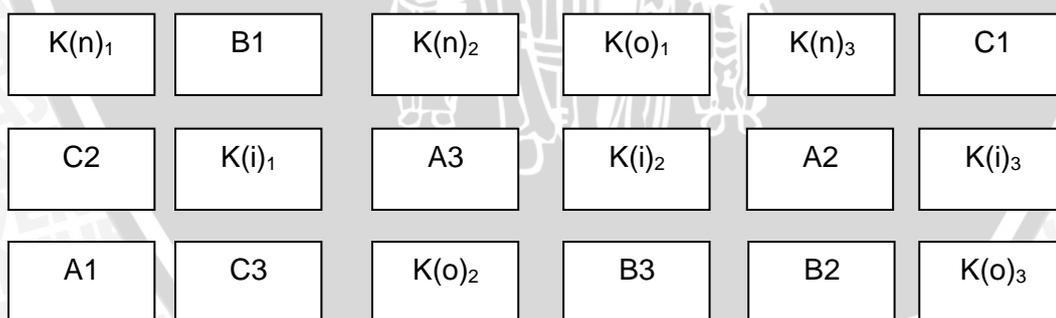
C : Perlakuan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan perendaman ekstrak 770 ppm

K (n) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* serta tanpa perendaman ekstrak

K (i) : Perlakuan sampel dengan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* namun tanpa perendaman ekstrak

K (o) : Perlakuan sampel tanpa penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* namun dengan perendaman ekstrak

Denah penelitian disajikan pada Gambar 4 berikut ini



Gambar 4. Denah Penelitian

Keterangan :

A-B-C : Perlakuan penelitian

K(i) : Kontrol infeksi

K(n) : Kontrol normal

K(o) : Kontrol obat

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Penelitian

a. Sterilisasi Alat Dan Bahan

- alat dicuci, dikeringkan kemudian dibungkus dengan koran dan diikat
- akuades dimasukkan ke dalam ruang sterilisasi autoklaf sampai menutup sistem pemanas untuk mencegah penimbunan kapur pada elemen pemanas
- keranjang yang berisi bahan atau alat yang akan disterilkan dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian tutup autoklaf
- pada saat menutup, selang dimasukkan ke posisi yang tepat. Tanda panah pada penutup sejajar dengan garis. Tuas ditutup secara diagonal agar seimbang kekuatan pada saat menutup autoklaf
- klep keluarnya uap diposisikan berdiri atau tegak
- tombol ditekan ke arah ON
- thermostat diputar pada posisi maksimal di angka 10
- tunggu hingga keluar uap air dari klep lalu tutup atau arahkan ke samping
- tunggu sampai jarum menunjukkan suhu sterilisasi, temperatur diturunkan sampai lampu pada sterilisasi berwarna kuning
- atur waktu pada posisi 15 menit
- alarm berbunyi tanda sterilisasi berakhir, turunkan temperatur pada posisi minimal, matikan autoklaf pada posisi kebawah (OFF)

b. Persiapan Ikan

Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diperoleh dari petani ikan di daerah kota Batu. Dipilih ikan mas yang sehat sebanyak 300 ekor ukuran 7-11 cm dan diaklimatisasi selama 7 hari pada akuarium. Proses aklimatisasi ini untuk mengetahui ikan yang digunakan adalah ikan yang benar-benar sehat dan telah beradaptasi dengan lingkungan barunya. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pelet secara ad libitum 2 kali sehari pada pagi hari

pukul 09.00 WIB dan sore hari pukul 15.00 WIB. Selain itu juga dilakukan penyiponan setiap pagi apabila kondisi air pada akuarium telah kotor akibat sisa pakan dan feses.

c. Persiapan Alat Penelitian

Wadah yang digunakan adalah akuarium dengan ukuran 40x40x40 cm³ sebanyak 18 buah. Akuarium dicuci dengan detergen kemudian direndam dengan klorin selama 30 menit dan kemudian dinetralsisir dengan Na-Thiosulfat. Selanjutnya akuarium dibilas dan dikeringkan selama 2 hari untuk kemudian siap diisi dengan air pemeliharaan. Kemudian air pemeliharaan ikan diisi hingga tinggi air mencapai 25 cm dengan volume air 20 liter untuk kepadatan 15 ekor ikan dengan ukuran 7-11 cm. Akuarium dilengkapi dengan instalasi aerasi untuk ketersediaan oksigen.

d. Pemiakan Bakteri *A. hydrophila*

1. Media Padat NA (*Nutrien Agar*)

- NA merk OXOID dengan dosis 40gram/L
- NA sebanyak 2,4 gram dilarutkan ke dalam 60 ml akuades pada erlemenyer
- media dipanaskan di atas hotplate hingga homogen
- Erlemenyer ditutup dengan kapas dan kertas perkamen/aluminium foil lalu ditali dengan benang
- media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas
- media dituang pada cawan petri lalu ditunggu hingga dingin dan digunakan atau disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label

2. Media Cair NB (*Nutrien Broth*)

- NB ditimbang 6 gram dilarutkan dalam 200 ml akuades dalam erlemneyer kemudian diaduk hingga larut sempurna berwarna kuning
- erlemneyer ditutup kapas dan aluminium foil lalu diikat menggunakan benang
- media sterilisasi dalam autoklaf dengan suhu 121 C, tekanan 1 atm selama 15 menit
- media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas

3. Pembiakan Bakteri *A. hydrophila*

- larutan NB disiapkan sebanyak 6 gram dalam erlemneyer sebanyak 220 ml
- jarum osse dipanaskan diatas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum osse disentuhkan ke biakan murni *A. hydrophila* kemudian dicelupkan pada NB sebanyak 2 osse
- larutan NB dibiarkan 12 - 24 jam dalam inkubator pada suhu 37 C
- disiapkan cawan petri yang berisi media NA
- setelah NB menjadi keruh, jarum osse dicelupkan ke NB dan digoreskan ke permukaan NA
- digoreskan ke dalam media NA secara zig zag dengan metode goresan sinambung, T, atau kuadran
- media NA di inkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

e. Pembuatan Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*T. catappa*)

Pembuatan ekstrak kasar kulit pohon ketapang dilakukan dengan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5. Kulit pohon ketapang seberat 1 kg dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian dihaluskan sampai berbentuk serbuk. Dari 1 kg bahan basah dapat menghasilkan serbuk kering sebanyak 200 gram. Serbuk kulit pohon ketapang 200 gram dimasukkan ke dalam toples dan diberi pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml dengan

perbandingan 1 : 5 (100 g serbuk : 500 ml etanol 96% selama 3 hari pada tempat yang gelap. Setelah 3 hari hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan larutan dengan endapannya. Setelah terpisah, larutan hasil saringan kemudian diuapkan untuk mendapatkan ekstrak murni dari kulit pohon ketapang. Proses penguapan ini menggunakan alat yang disebut *rotary evaporator* dengan suhu 45° C dengan kecepatan 80 rpm. Setelah diuapkan selama 1 jam maka akan dihasilkan ekstrak murni yang kental.

f. Pengenceran Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari Balai Karantina Ikan Juanda, Surabaya Jawa Timur. Bakteri yang diperoleh adalah bakteri dengan kepadatan 6×10^9 sel/ml. Bakteri yang digunakan adalah bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/ml. Untuk mendapatkan kepadatan 10^7 sel/ml dilakukan pengenceran. Perhitungan suspensi bakteri dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

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

Dimana :

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

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

V_1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V_2 : Volume media air dalam wadah pemeliharaan ikan

Peremajaan bakteri 10^9 sel/ml dilakukan dengan penanaman bakteri pada media NA (*Nutrien Agar*) dan diinkubasi selama 2 hari pada inkubator. Bakteri 10^9 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 20 liter (20.000 ml) adalah dengan memasukkan bakteri kepadatan 10^9 sel/ml sebanyak 200 ml ke dalam air sebanyak 20.000 ml.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

A. Sterilisasi Akuarium Penelitian

- akuarium ukuran 40 x 40 x 40 cm³ yang akan digunakan dipersiapkan terlebih dahulu
- akuarium dicuci dengan kaporit, didiamkan selama sehari kemudian dibilas dengan air bersih sampai bersih
- akuarium dikeringkan
- akuarium disusun berdasarkan denah percobaan
- masing-masing akuarium diisi air

B. Penginfeksian Bakteri Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Penginfeksian dilakukan dengan lama waktu maksimal 24 jam. Penginfeksian dilakukan menggunakan bakteri *A. hydrophila* dengan metode perendaman. Pada perendaman ikan dengan bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10⁷ sel/ml menggunakan satu akuarium berukuran 40 x 40 x 40 cm³ yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman ini dilakukan menggunakan kapasitas air 20 liter, sehingga dapat digunakan rumus pengenceran:

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 10^9 &= 20.000 \times 10^7 \\
 V_1 &= \frac{20.000 \times 10^7}{10^9} \\
 &= 200 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Hasil tersebut dapat diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan sebanyak 200 ml. Selanjutnya diambil sampel hati ikan mas sebelum perendaman dan diamati hati ikan tersebut dari warna, struktur, dan bentuknya. Ikan mas direndam masing – masing 15 ekor/akuarium, kemudian dilakukan perendaman dengan bakteri. Ditunggu ikan hingga gelisah pertama kalinya dengan ciri-ciri ikan bergerak tidak beraturan. Kemudian dipindahkan ke dalam akuarium yang berisi air tawar dan diamati gejala klinis ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A.*

hydrophila. Ikan dipelihara selama 10 hari. Pada setiap harinya dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore hari (pukul 08.00 dan 16.00 WIB).

C. Pemberian Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Pemberian ekstrak kasar kulit ketapang dilakukan dengan cara akuarium ukuran 40x40x40 cm³ yang diisi air sebanyak 20 liter dan ditambahkan ekstrak kasar kulit ketapang sesuai dengan dosis (730 ppm, 750 ppm dan 770 ppm). Pengobatan dilakukan selama 6 menit hingga ikan gelisah pertama kali. Setelah ikan diobati dengan ekstrak kulit pohon ketapang, ikan dimasukkan ke dalam akuarium dengan ukuran 40 x 40 x 40 cm³ masing-masing 15 ekor. Akuarium yang digunakan telah diberi aerasi untuk meningkatkan kandungan oksigen terlarut. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 10 hari.

D. Uji Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Setelah selesai dilakukan penginfeksi bakteri *A. hydrophila* dan pemberian ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka ikan mas dipindahkan ke akuarium berukuran 40 x 40 x 40 cm³ yang berisi air 20 liter, sebelumnya akuarium sudah diberi aerator selama 24 jam. Kemudian akuarium tersebut diberi tanda setiap perlakuan seperti A (1,2,3), B (1,2,3), C (1,2,3), K_{normal} (1,2,3), K_{infeksi} (1,2,3), dan K_{obat} (1,2,3). Pengamatan dilakukan selama 10 hari masa pemeliharaan. Pengamatan yang dilakukan meliputi gejala klinis dari ikan dan jumlah ikan yang mati selama masa pemeliharaan. Saat pemeliharaan ikan diberi makan 2 kali yakni pada pagi dan sore hari secara adlibitum, dilakukan sifon sedikitnya dua hari sekali dan dilakukan pengukuran suhu, pH dan DO setiap hari pada pagi dan sore.

E. Pengambilan Jaringan Hati

Pengambilan hati dilakukan pada akhir penelitian. Ikan diambil hatinya untuk diamati histopatologi hati ikan. Sampel hati yang sudah diambil dimasukkan ke dalam toples kaca kecil dan diberi bahan pengawet berupa larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan preparat untuk histopatologi dan pengamatan preparat hasil histopatologi.

F. Pembuatan Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Setelah masa adaptasi selesai, hati ikan diambil sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Sampel hati dimasukkan ke dalam botol film dan diberi bahan pengawet yaitu larutan formalin 10%, dilanjutkan dengan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Tahapan - tahapannya yaitu:

- Tahap Fiksasi

Sampel hati yang diamati jaringannya diambil. Jaringan tersebut kemudian direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan penarikan air secara bertahap menggunakan alat *auto technicon* selama 20 jam. Tabung *auto technicon* terdiri atas alkohol 70% selama 1 jam, alkohol 80% selama 1 jam, alkohol 90% selama 2 jam, alkohol 96% selama 2 jam, alkohol *absolute* 1 selama 2 jam dan alkohol *absolute* 2 selama 2 jam.

- Tahap Clearing

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alkohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan kedalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam dan xylol 3 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan mencelupkan

bahan ke parafin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali kedalam parafin cair dengan suhu 56-60 °C selama 2 jam

- **Tahap *Embedding* (Pengeblokan)**

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 40 °C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass (untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*), sebelumnya obyek glass harus diolesi dengan perekat polylinis. Berikutnya, keringkan pada oven dengan suhu 50 – 60 °C kurang lebih selama 30 menit.

- **Teknik Pewarnaan Jaringan Dengan Menggunakan HE (*Haematoxylin Eosin*)**

Pewarnaan dengan menggunakan HE dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu deparafinisasi, hidrasi, cat utama, dehidrasi dan clearing.

- **Tahap *Mounting***

Tahapan ini merupakan prosedur akhir dalam pembuatan preparat sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat dilem dengan menggunakan DPX mounting medium, kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop. Dengan pewarnaan HE, inti yang bersifat asam akan berwarna ungu tua oleh *Haematoxylin* yang bersifat basa, sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan berwarna merah oleh *eosin* yang bersifat asam.

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Parameter Utama

Parameter utama yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengamatan histopatologi hati ikan mas. Pengamatan ini dilakukan untuk melihat perbedaan ikan mas yang sehat, yang terinfeksi bakteri dan ikan mas setelah diobati yaitu dengan melihat histopatologi jaringan hati ikan.

Hasil uji histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) menggunakan analisis secara deskriptif. Untuk mengetahui tingkat kerusakan sel hati, dilakukan uji skoring dengan metode semi kualitatif dan kuantitatif. Metode semi kualitatif digunakan untuk menghitung jumlah area yang terwarnai dan dilakukan secara manual. Pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi ujung preparat) ke arah kanan kemudian turun ke bawah dan bergeser ke arah ujung kembali (zig zag).

Pada metode semi kuantitatif dilihat dari tiga luas bidang lapang pandang sehingga mendapatkan hasil yang maksimal pada tingkat kerusakan sel pada jaringan hati. Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan selnya dengan kriteria kongesti, melanomakrofag, dan nekrosis. Persentase kerusakan setiap luas bidang lapang pandang dihitung berdasarkan jumlah sel yang mengalami kerusakan dengan rumus:

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Kemudian persentase yang telah didapatkan diberi skoring dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0 - 5%, angka 2 tingkat persentase kerusakan jaringan 6 - 25%, angka 3 tingkat persentase kerusakan jaringan 26 - 50% dan angka 4 tingkat persentase kerusakan jaringan >50%.

3.5.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati yang pertama yaitu kelulushidupan atau *Survival Rate* (SR) yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* selama 10 hari pemeliharaan di dalam akuarium. Rumus SR menurut Efendi (1993) dalam Marlina (2013), adalah sebagai berikut:

$$SR = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

SR : Kelangsungan hidup hewan uji (%)

Nt : Jumlah ikan uji akhir penelitian (ekor)

No : Jumlah ikan uji pada awal penelitian (ekor)

Dikarenakan hasil perhitungan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) berupa persentase sehingga diperlukan transformasi data menggunakan metode *Arcsin* untuk memudahkan dalam menghitung data untuk menentukan pengaruh ekstrak terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*). Parameter penunjang yang diamati adalah kualitas air yang meliputi :

- ✓ Suhu yang diukur menggunakan thermometer
- ✓ pH air yang diukur dengan pH meter
- ✓ Oksigen terlarut yang diukur menggunakan DO meter

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang dipergunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan (variable bebas) terhadap respon parameter yang diukur atau uji F. Apabila nilai uji F berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) untuk menentukan perbedaan antar dua perlakuan.

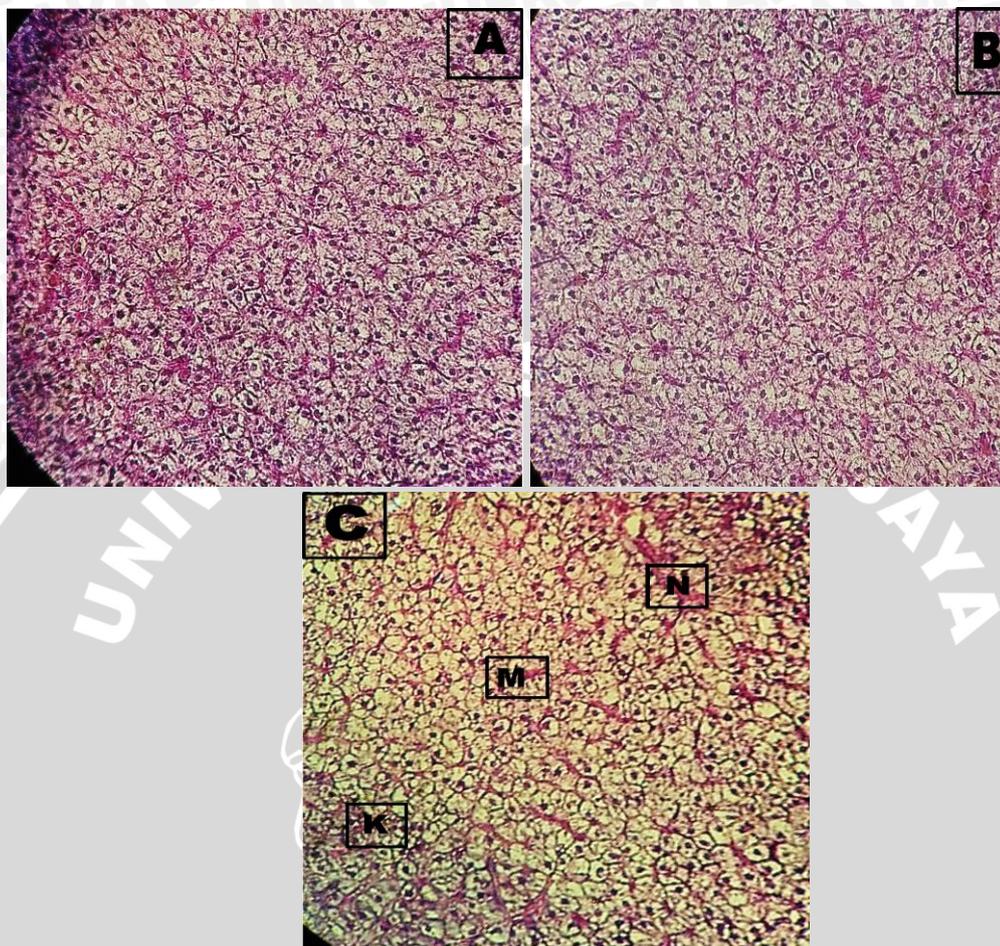
4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Histopatologi Hati

Menurut Hossain *et al.* (2007), histopatologi adalah suatu teknik yang mempelajari perubahan abnormal dari sel atau jaringan yang digunakan mendiagnosa penyakit. Pemeriksaan secara histopatologi mendukung dari suatu diagnosa dan menjadi pemeriksaan diagnosa utama dari suatu penyakit dengan ditemukannya perubahan sel atau jaringan spesifik pada penyakit tertentu. Pada saat bersamaan, pemeriksaan histopatologi digunakan untuk diagnosa penyakit ikan, akibat perubahan lingkungan (air pemeliharaan ikan) yang secara ekstrem maupun oleh bakteri dan parasit.

Hati pada ikan mempunyai fungsi hampir sama dengan vertebrata lainnya yaitu sebagai penetralisir zat-zat beracun di dalam tubuh (detoksifikasi), membantu kegiatan metabolisme di dalam tubuh, baik lemak, karbohidrat, bahkan protein sekalipun. Fungsi terpenting dari hati adalah mampu membersihkan darah serta melawan infeksi, hal itu dikarenakan hati juga sebagai penyaring darah yang beredar di dalam tubuh ikan serta memakan kuman dan bibit penyakit oleh sel didalam hati yang bernama sel kupler (Wijayakusuma, 2008). Oleh karena itu hati sering digunakan sebagai parameter untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan dan salah satu cara yang sering digunakan untuk mengetahui sehat atau terserang penyakit pada ikan digunakan metode uji histopatologi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Salikin *et al.* (2014), pengamatan histopatologi hati ikan mas dilakukan pengujian terhadap kerusakan akibat kongesti, melanomakrofag dan nekrosis dengan menganalisa gambaran dari histopatologi hati ikan melalui preparasi dan diamati melalui mikroskop.

4.1.1 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Normal, Diberi Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*) dan Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*



Gambar 5. (A) Jaringan Hati Normal Tanpa Perlakuan. (B) Jaringan Hati yang Diberi Ekstrak. (C) Jaringan Hati Terinfeksi Bakteri *A. hydrophila*, (K) Kongesti; (M) Melanomakrofag; (N) Nekrosis. Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler pembesaran 400x dan pewarnaan H-E.

Gambar 5 (A) perlakuan kontrol normal dan Gambar 5 (B) kontrol obat, memperlihatkan jaringan yang masih utuh serta sel-sel tertata rapi. Gambar 5 (C) dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* mulai terlihat dari sel pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*) sudah mulai berantakan dan ditemukan kerusakan-kerusakan seperti kongesti, yaitu penggumpalan darah yang terjadi di kelenjar sinusoid dan pembuluh darah kecil pada hati, melanomakrofag yaitu penumpukan pigmen melanin pada sel hati akibat kerusakan sel hati, dan

nekrosis yaitu kematian sel atau pendarahan yang diakibatkan oleh infeksi bakteri.

Kerusakan-kerusakan jaringan hati seperti pernyataan diatas, hal ini disebabkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila* yang sudah terjangkit pada kontrol infeksi. Hal ini sesuai dengan pernyataan El-Sayed (2006), *A. hydrophila* telah dihubungkan dengan beberapa penyakit pada ikan, termasuk pembusukan pada sirip dan ekor, dan *haemorrhagic septicaemia*. *Haemorrhagic septicaemia* ditandai oleh adanya luka kecil pada permukaan, sering mengarah pada pengelupasan sisik, pendarahan pada insang dan dubur, borok, bisul, *exophthalmia* (mata membesar), dan pembengkakan perut. Pada bagian dalam, dimungkinkan adanya cairan *ascitic* di dalam rongga peritoneal, kekurangan darah merah, serta pembengkakan dan kerusakan ginjal dan hati.

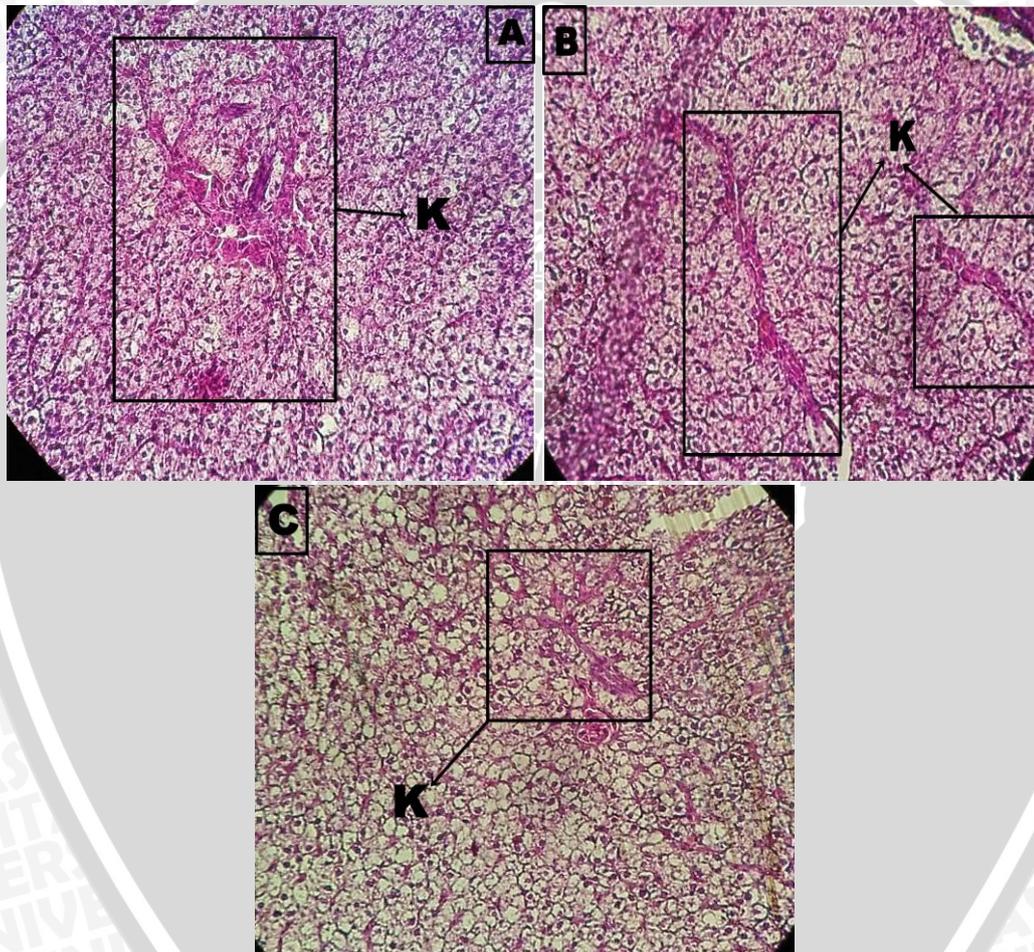
4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diberi Perlakuan Ekstrak Kasar Kulit Pohon Ketapang (*Terminalia catappa*)

Hasil penelitian, gambaran jaringan hati ikan mas (*C. carpio*) yang diberi perlakuan yang berbeda, dimana kondisi hati ikan mas (*C. carpio*) setelah diberi perlakuan perendaman dengan dosis yang berbeda memperlihatkan hasil histopatologi yang berbeda-beda pada tiap perlakuan. Meskipun tidak terlihat secara langsung bahwa pemberian obat dapat mempengaruhi pemulihan jaringan, tetapi perbedaan kerusakan yang terjadi pada jaringan hati dengan penambahan dosis ekstrak yang berbeda dapat ditunjukkan melalui nilai skoring.

Perlakuan A, B, dan C dengan dosis ekstrak berturut-turut adalah 730 ppm, 750 ppm, dan 770 ppm rata-rata mengalami kerusakan jaringan yang sama yaitu kongesti, menanomakrofag dan nekrosis. Namun hasil skoring terlihat perbedaan hasil pada masing-masing perlakuan. Analisis data kerusakan pada jaringan hati yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* dan dengan pemberian perendaman ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) sebagai berikut.

A. Kongesti

Menurut Tabbu (2000), kongesti atau hiperemi mempunyai pengertian yang sama yaitu adanya peningkatan volume darah pada jaringan. Kongesti terjadi karena darah berakumulasi secara berlebihan (peningkatan jumlah darah) di dalam pembuluh darah pada daerah tertentu akibat penyumbatan pembuluh darah oleh suatu peradangan. Lebih jelasnya struktur sel hati yang mengalami kongesti dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (K) Kongesti (A) Perlakuan A (730 ppm), (B) Perlakuan B (750 ppm) dan (C) Perlakuan C (770 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler pembesaran 400x dan pewarnaan H-E.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rata-rata yang berbeda terhadap

kerusakan akibat kongesti yang terjadi pada jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring dikumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan di lakukan 3 kali ulangan (Lampiran 5). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di dapatkan data rerata nilai skoring kongesti dari kerusakan hati yang dapat di lihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (730 ppm)	2,00	2,33	2,33	6,66	2,22
B (750 ppm)	2,00	1,67	2,00	4,98	1,89
C (770 ppm)	1,67	1,33	1,33	4,33	1,44
Kontrol Normal	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00
Kontrol Obat	1,33	1,33	1,00	3,66	1,22
Kontrol Infeksi	3,00	3,67	3,00	9,67	3,22

Berdasarkan Tabel 2 diketahui semakin tinggi ekstrak dari kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka semakin rendah nilai kerusakan yang terjadi. Diketahui pada pemberian ekstrak dengan dosis 770 ppm (Perlakuan C) memiliki nilai rerata kerusakan yang paling rendah yaitu sebesar 1,44, diikuti dengan dosis 750 ppm (Perlakuan B) dengan nilai rerata sebesar 1,89 dan nilai kerusakan yang paling tertinggi didapat dari Perlakuan A sebesar 2,22 dengan dosis 730 ppm.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon Ketapang (*T. catappa*) terhadap kerusakan kongesti pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Sidik Ragam Skoring Kongesti Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,91	0,455	12,30**	5,14	10,92
Acak	6	0,22	0,037			
Total	8	1,13	-			

Keterangan : ** berbeda sangat nyata

Tabel 3 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan kongesti pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kongesti

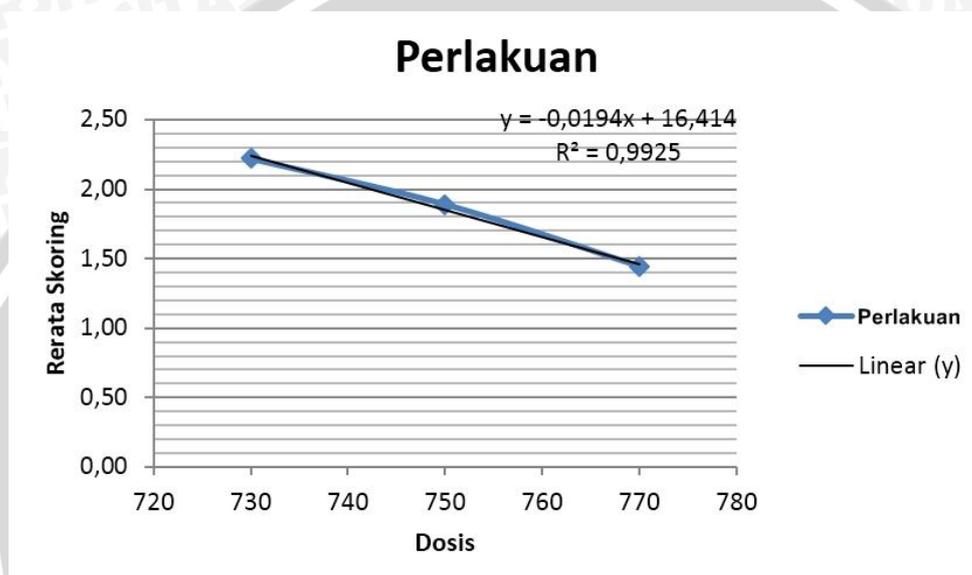
	Rerata Perlakuan	1	2	3	Notasi
		1,44	1,89	2,22	
1	1,44	0 ^{ns}	-	-	a
2	1,89	0,45*	0 ^{ns}	-	b
3	2,22	0,78**	0,33*	0 ^{ns}	c

Keterangan ns = tidak berbeda nyata
 (*) = berbeda nyata
 (**) = berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 4, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami kongesti ditandai dengan notasi a, b dan c. Pemberian dosis ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang berbeda pada perlakuan A (730 ppm) sangat berbeda nyata dengan perlakuan B (750 ppm) ditandai dengan notasi a, serta perlakuan A (730 ppm) dan perlakuan B (750 ppm) sangat berbeda nyata dengan perlakuan C (770 ppm) ditandai dengan notasi b dan c. Hal ini dikarenakan pada kulit kayu ketapang terdapat bahan antibakteri seperti fenol dan zat antibakteri lainnya yang terbukti mampu menghambat perkembangan bakteri *A. hydrophila* dalam hati ikan mas (*C. carpio*). Pernyataan ini didukung oleh Volk dan Wheeler (1984), senyawa fenol dan turunannya flavonoid merupakan salah satu antibakteri yang bekerja mengganggu fungsi membran sitoplasma. Pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting sebagai pengaktif sistem enzim

bakteri, sedangkan pada konsentrasi tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji *polynomial orthogonal* yang dapat dilihat pada Gambar 7 didapatkan pola hubungan linier dengan persamaan garis yaitu $y = -0,0194x + 16,414$ dan $R^2 = 0,9925$



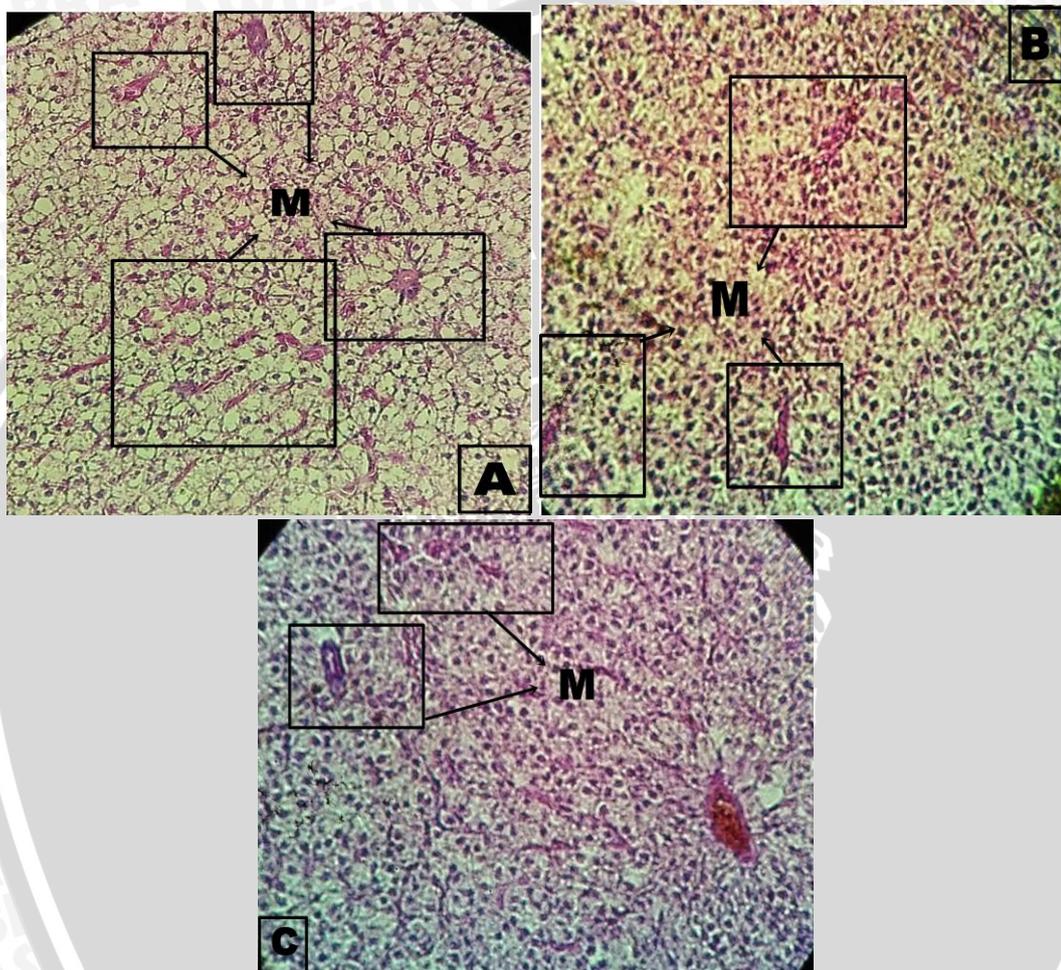
Gambar 7. Grafik Regresi Kongesti Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Grafik diatas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan pemberian dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun dan didapatkan persamaan $y = -0,0194x + 16,414$ yang memiliki koefisien determinasi (R^2) yakni 0,9925 menunjukkan dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang diberikan pengaruh terhadap presentase kerusakan hati akibat kongesti mendekati 1.

B. Melanomakrofag

Hasil histologi organ hati yang diamati ditemukan kerusakan jaringan berupa melanomakrofag. Melanomakrofag merupakan sejenis makrofag yang mempunyai banyak pigmen melanin di dalam sitoplasmanya. Melanomakrofag

berbentuk bulat padat yang memiliki jumlah pigmen bervariasi dan biasanya terdapat pada ikan sehat. Akan tetapi jumlahnya akan meningkat pada saat ikan mengalami stres. Melanomakrofag merupakan indikator stres kronis (Noga, 2010). Untuk mengetahui lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (M) Melanomakrofag (A) Perlakuan A (730 ppm), (B) Perlakuan B (750 ppm) dan (C) Perlakuan C (770 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler pembesaran 400x dan pewarnaan H-E (hasil pengamatan).

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* yang diberikan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan jaringan akibat melanomakrofag yang terjadi pada histologi hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring di

kumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan di lakukan 3 kali ulangan (Lampiran 5). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rata-rata nilai skoring melanomakrofag dari kerusakan hati yang dapat di lihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Akibat Melanomakrofag

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (730 ppm)	2,00	2,33	1,67	5,67	1,89
B (750 ppm)	2,33	1,67	1,67	4,67	1,56
C (770 ppm)	1,67	1,33	1,00	4,00	1,33
Kontrol Normal	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00
Kontrol Obat	1,67	1,33	1,33	4,66	1,44
Kontrol Infeksi	2,67	3,00	2,33	8,01	2,67

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui semakin tinggi ekstrak dari kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka semakin rendah nilai kerusakan yang terjadi. Diketahui pada pemberian ekstrak dengan dosis 770 ppm (Perlakuan C) memiliki nilai rerata kerusakan yang paling rendah yaitu sebesar 1,33, diikuti dengan dosis 750 ppm (Perlakuan B) dengan nilai rerata sebesar 1,56 dan nilai kerusakan yang paling tertinggi didapat dari Perlakuan A sebesar 1,89 dengan dosis 730 ppm. Kerusakan jaringan ini diduga diakibatkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila* yang sudah terinfeksi pada ikan mas (*C. carpio*). Hal ini didukung dengan pernyataan Salikin *et al.* (2014), serangan bakteri *A. hydrophila* dapat menyebabkan kerusakan jaringan histopatologi hati ikan mas. Salah satu kerusakan yang ditimbulkan adalah melanomakrofag. Melanomakrofag yaitu jenis makrofag yang mempunyai banyak pigmen melanin yang terakumulasi didalam sitoplasma. Melanomakrofag merupakan indikator ikan yang mengalami stres yang sangat berat (kronis) akibat terkena infeksi tertentu. Maka, dapat disimpulkan serangan bakteri *A. hydrophila* berpengaruh terhadap kerusakan melanomakrofag pada hati ikan mas (*C. carpio*) yang sudah terinfeksi bakteri.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap kerusakan kongesti pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Skoring Melanomakrofag Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

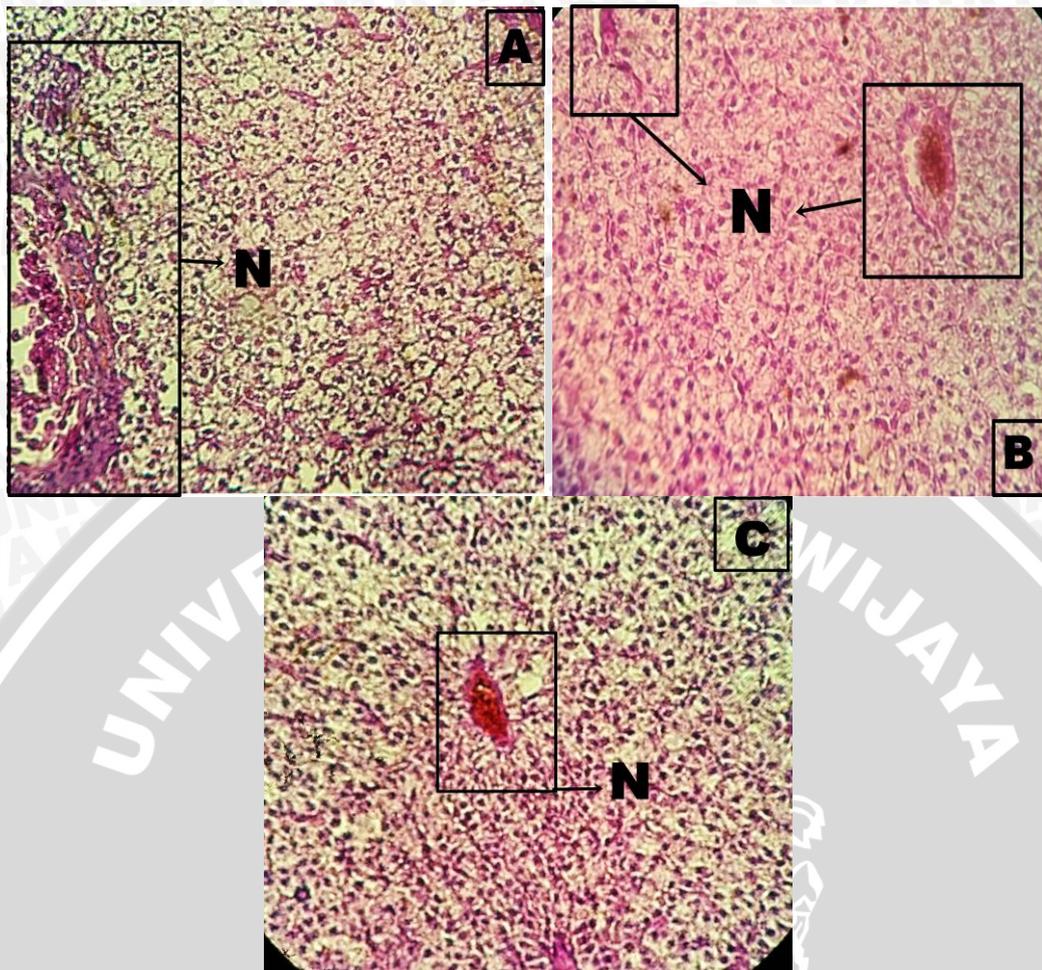
Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,47	0,235	3,77 ^{ns}	5,14	10,92
Acak	6	0,37	0,062			
Total	8	0,84	-			

Keterangan (^{ns}) = Tidak berbeda nyata

Pada Tabel 6 menunjukkan bahwa hasil F hitung < F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) tidak berbeda nyata terhadap kerusakan melanomakrofag pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Maka dari itu, perhitungan tidak dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

C. Nekrosis

Pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x ditemukan kerusakan jaringan hati akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* yaitu nekrosis. Menurut Ersa (2008), nekrosis pada hati ikan dapat disebabkan oleh agen-agen biologis (virus, bakteri, jamur dan parasit), atau terjadinya gangguan terhadap penyediaan darah pada suatu daerah jaringan tertentu. Nekrosis pencekungan adalah nekrosis yang umum terjadi pada ikan dimana enzim-enzim dalam sel akan menghancurkan sel yang terjadi pada epitelium atau sel otot pada ikan, sehingga jaringan yang mengalami nekrosis akan terkelupas. Untuk lebih jelasnya, struktur dari sel hati yang mengalami nekrosis dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Jaringan Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Mengalami (N) Nekrosis (A) Perlakuan A (730 ppm), (B) Perlakuan B (750 ppm) dan (C) Perlakuan C (770 ppm). Pengamatan menggunakan Mikroskop Binokuler pembesaran 400x dan pewarnaan H-E.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) memberikan hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan jaringan akibat nekrosis yang terjadi di jaringan hati ikan mas (*C. carpio*). Sebelum data diolah menggunakan regresi, data skoring di kumpulkan kerusakan dan setiap perlakuan di lakukan 3 kali ulangan (Lampiran 5). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di dapatkan data rerata nilai skoring nekrosis dari kerusakan hati yang dapat di lihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Nilai Skoring Kerusakan Akibat Nekrosis.

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (730 ppm)	2,33	2,33	3,00	7,66	2,55
B (750 ppm)	2,00	2,00	2,00	6,00	2,00
C (770 ppm)	1,67	1,67	1,67	5,01	1,67
Kontrol Normal	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00
Kontrol Obat	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00
Kontrol Infeksi	3,67	3,33	3,33	10,33	3,44

Berdasarkan Tabel 7 dapat diketahui semakin tinggi ekstrak dari kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka semakin rendah nilai kerusakan yang terjadi. Diketahui pada pemberian ekstrak dengan dosis 770 ppm (Perlakuan C) memiliki nilai rerata kerusakan yang paling rendah yaitu sebesar 1,76, diikuti dengan dosis 750 ppm (Perlakuan B) dengan nilai rerata sebesar 2,00 dan nilai kerusakan yang paling tertinggi didapat dari Perlakuan A sebesar 2,55 dengan dosis 730 ppm.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap kerusakan nekrosis pada jaringan hati dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Sidik Ragam Skoring Nekrosis Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*).

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,20	0,595	11,66**	5,14	10,92
Acak	6	0,30	0,051			
Total	8	1,50	-			

Keterangan : **berbeda sangat nyata

Tabel 8 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) berpengaruh sangat nyata terhadap kerusakan nekrosis pada histopatologi hati ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Untuk

mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), seperti pada Tabel 9.

Tabel 9. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Nekrosis.

	Rerata Perlakuan	1	2	3	Notasi
		1,67	2,00	2,55	
1	1,67	0 ^{ns}	-	-	a
2	2,00	0,38*	0 ^{ns}	-	b
3	2,55	0,88**	0,55*	0 ^{ns}	c

Keterangan ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

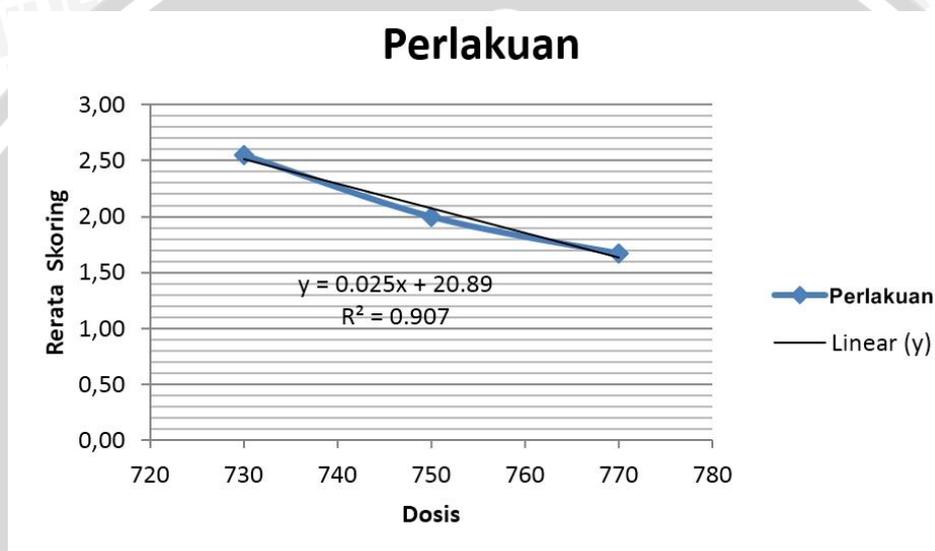
(**) = berbeda sangat nyata

Berdasarkan Tabel 9, diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan sel yang mengalami nekrosis ditandai dengan notasi a, b dan c. Hal ini berarti pemberian dosis ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang berbeda pada perlakuan A (730 ppm) sangat berbeda nyata dengan perlakuan B (750 ppm) ditandai dengan notasi a, serta perlakuan A (730 ppm) dan perlakuan B (750 ppm) sangat berbeda nyata dengan perlakuan C (770 ppm) ditandai dengan notasi b dan c. Nekrosis pada hati ikan disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila* yang sudah terinfeksi pada ikan mas. Menurut Takashima dan Hibiya (1995), nekrosis pada sel hati disebabkan oleh aktivitas sitolisis dan fagositosis dari limfosit yang menyebabkan pengecilan ukuran nukleus secara menyeluruh.

Nilai yang didapat diyakini karena selain kulit kayu ketapang terdapat bahan antibakteri seperti fenol dan flavonoid, ekstrak juga mengandung saponin dan tanin sebagai antibakteri. Hal ini didukung oleh pernyataan Alabi *et al.* (2012), sebagai antibakteri tannin bekerja menggumpalkan sel sitoplasma bakteri sehingga metabolisme bakteri terganggu. Setelah itu dilanjutkan dengan bahan aktif saponin yang bekerja memberikan jalan masuk untuk materi toksik ke dalam sel bakteri atau dengan kata lain membuka jalan kebocoran kandungan sitoplasma sel yang sebelumnya digumpalkan oleh tanin. Maka dari itu bahan

aktif dari ekstrak kulit pohon ketapang (*T. catappa*) dengan semakin tinggi dosis yang diberikan mampu mengurangi dan menghambat dampak nekrosis yang diakibatkan oleh serangan bakteri *A. hydrophila*.

Untuk mengetahui hubungan antara pemberian ekstrak terhadap nilai skoring kerusakan maka dilakukan analisa regresi dan uji polynomial orthogonal yang dapat dilihat pada (Gambar 10) didapatkan pola hubungan linier dengan persamaan garis yaitu $y=0,025x + 20.89$ dan $R^2=0,907$



Gambar 10. Grafik Regresi Nekrosis Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Grafik diatas menunjukkan bahwa hubungan antara rerata nilai skoring dan dosis berbanding terbalik, yakni semakin tinggi ekstrak yang diberikan, maka nilai kerusakan semakin menurun dan didapatkan persamaan $y = 0,025x + 20,89$ yang memiliki koefisien determinasi (R^2) yakni 0,907 menunjukkan dosis ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) yang diberikan pengaruh terhadap presentase kerusakan hati akibat nekrosis hingga mendekati 1.

4.2 Gejala Klinis Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Pengamatan terhadap gejala klinis ikan mas (*C. carpio*) yang telah terinfeksi bakteri *A. hydrophila* meliputi kerusakan tubuh ikan dan tingkah laku ikan mas (*C. carpio*). Pengamatan dimulai sejak 24 jam setelah ikan uji diinfeksi

bakteri hingga akhir penelitian. Gejala klinis yang terjadi selama pemeliharaan diawali dengan gerakan ikan mas (*C. carpio*) yang berenang tidak normal, seperti berenang cepat tidak beraturan, terkadang ikan berenang sangat lemah dan ikan lebih sering berkumpul mendekati sumber udara. Sedangkan bagian fisik ikan dapat dilihat bercak merah pada kulit ikan Gambar 11 (A) yang mengeluarkan darah. Pada bagian perut membuncit tidak normal diikuti dengan lebam disekitar perut disertai dengan pendarahan yang serius Gambar 11 (B).



Gambar 11. Bagian Tubuh Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Akibat Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* (A) Bercak Merah di Sekitar Tubuh Ikan dan (B) Perut Ikan Membesar Tidak Normal Disertai Keluar Darah.

Gejala klinis diatas dapat dikatakan infeksi bakteri *A. hydrophila* ini sangat berbahaya karena dapat menyebabkan luka serius bahkan borok. Hal ini sesuai dengan pernyataan Maleej *et al.* (2004), gejala ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* adalah, abnormalitas berenang, insang pucat, perut kelihatan bengkak, dan borok pada kulit. Borok pada kulit tersebut dikelilingi lingkaran jaringan berwarna merah dan terdapat di beberapa tempat diseluruh tubuh ikan.

4.3 Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Berdasarkan hasil penelitian berikut ini data kelulushidupan ikan mas (*C. Carpio*) selama pemeliharaan 10 hari dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Data Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan	Σ Ikan awal penelitian	Σ Ikan akhir penelitian (10 hari)	SR (%)	ARCSIN
A (730 ppm)	1	10	8	80	63,44
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
B (750 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
C (770 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	5	50	45,00
	3	10	3	30	33,21
Kontrol Normal	1	10	10	100	90,00
	2	10	10	100	90,00
	3	10	10	100	90,00
Kontrol Infeksi	1	10	3	30	33,21
	2	10	2	20	26,56
	3	10	0	0	0
Kontrol Obat	1	10	7	70	56,79
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79

Pernyataan tabel diatas, untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit kayu ketapang (*T. catappa*) terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*), maka dilakukan uji sidik ragam. Sebelum data diolah menggunakan regresi, data nilai kelulushidupan dan setiap perlakuan di lakukan 3 kali ulangan. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di dapatkan data rerata nilai kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) yang dapat di lihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Rerata Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*).

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A (730 ppm)	63,44	50,77	56,79	171,00	57,00
B (750 ppm)	50,77	50,77	56,79	158,33	52,78
C (770 ppm)	50,77	45,00	33,21	128,98	43,00
Kontrol Normal	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
Kontrol Obat	56,79	50,77	56,79	164,35	54,78
Kontrol Infeksi	33,21	26,56	0	59,77	19,92

Berdasarkan Tabel 11 diketahui semakin tinggi ekstrak dari kulit pohon ketapang (*T. catappa*) maka semakin rendah nilai kelulushidupannya. Diketahui pada pemberian ekstrak dengan dosis 770 ppm (Perlakuan C) memiliki nilai kelulushidupan yang paling rendah yaitu sebesar 43,00, diikuti dengan dosis 750 ppm (Perlakuan B) dengan nilai rerata sebesar 52,78, dan nilai kelulushidupan yang paling tertinggi didapat dari Perlakuan A sebesar 57,00 dengan dosis 730 ppm. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*) dilakukan uji sidik ragam yang disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Sidik Ragam Nilai Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F.Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3745,46	1248,49	37,73**	4,07	7,59
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11	4010,16	-			

Keterangan (**)= berbeda sangat nyata

Tabel 12 menunjukkan bahwa hasil F hitung > F5% dan F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak kasar kulit pohon ketapang (*T. catappa*) berpengaruh sangat nyata terhadap kelulushidupan ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak yang berbeda, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), seperti Tabel 13.

Tabel 13. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) Kelulushidupan Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata	1	2	3	K _{normal}	Notasi
		43,00	52,78	57,00		
C	43,00	0 ^{ns}	-	-	-	a
B	52,78	9,78 ^{ns}	0 ^{ns}	-	-	a
A	57,00	14,01 ^{ns}	4,22 ^{ns}	0 ^{ns}	0 ^{ns}	a
K _{normal}	90,00	47,01**	37,22*	33,00*	0 ^{ns}	c

Keterangan ns = tidak berbeda nyata

(*) = berbeda nyata

(**) = berbeda sangat nyata

Hasil uji BNT didapatkan data tidak berbeda nyata pada perlakuan sehingga tidak perlu dilakukan Uji *Polinomial Orthogonal* untuk mengetahui pengaruh pemberian dosis ekstrak kulit ketapang yang berbeda terhadap kelulushidupan ikan mas (*C. carpio*).

Data didapatkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka dapat menurunkan nilai kelulushidupan dari ikan mas (*C. carpio*). Kandungan alami yang terdapat pada ekstrak seperti tanin di dalam kulit kayu ketapang akan bersifat racun jika kadarnya tinggi dalam media. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ajizah (2004), tanin yang masuk secara berlebihan ke dalam tubuh memiliki sifat mengerutkan usus sehingga gerak peristaltik atau gerakan pada otot-otot saluran pencernaan menjadi tidak maksimal. Sehingga nafsu makan menurun sehingga dapat menimbulkan kematian.

4.4 Parameter Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor yang sangat penting untuk budidaya. Kualitas air yang berada di luar kisaran optimum untuk kebutuhan ikan akan menyebabkan ikan akan mudah stres dan nafsu makan menurun. Akibatnya ikan akan mudah terserang penyakit. Oleh karena itu kondisi kualitas perairan selama pemeliharaan harus diperhatikan dan dijaga dengan baik, agar tetap berada pada kisaran normal. Parameter kualitas air selama penelitian meliputi pH, DO, dan suhu. Hasil pengukuran kualitas air (Lampiran 6) dalam penelitian tersebut dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 14. Data Kisaran Kualitas Air Selama Pemeliharaan

No.	Parameter yang Diamati	Kisaran Pemeliharaan Kualitas Air Pada Perlakuan
1	Suhu	24 – 26,7 °C
2	pH	7 – 8
3	Oksigen Terlarut (DO)	4 - 4,8 ppm

4.4.1 Suhu

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan pengamatan selama 10 hari, didapatkan hasil nilai terendah yaitu 24 °C sedangkan nilai yang tertinggi didapatkan nilai sekitar 26,7 °C. Hal ini membuktikan bahwa nilai suhu di media akuarium dapat dikatakan normal dan sangat layak untuk kehidupan ikan mas (*C. carpio*) dan bisa dikatakan nilai suhu ini sesuai dengan habitat hidupnya. Menurut Prihatman (2000), untuk kehidupan ikan mas diperlukan air tidak terlalu keruh, kadar oksigen cukup dan suhu air yang baik berkisar antara 24-27°C.

4.4.2 pH

Dalam penelitian yang dilakukan selama 10 hari didapatkan data kualitas air pada media akuarium yang ditinjau dari nilai pHnya, didapatkan kisaran rata-rata pH sebesar 7-8. Hal ini masih dikatakan cukup normal untuk media pemeliharaan ikan mas (*C. carpio*). Hal ini sesuai dengan pernyataan Barus (2002), Nilai pH yang ideal bagi kehidupan organisme air pada umumnya terdapat antara 7-8,5. Kondisi perairan yang bersifat sangat asam maupun sangat basa akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan menyebabkan terjadinya gangguan metabolisme dan respirasi.

4.4.3 Oksigen Terlarut (DO)

Penelitian yang dilakukan selama 10 hari didapatkan data oksigen terlarut (DO) dengan nilai tertinggi sebesar 4,8 ppm dan nilai yang terendah yaitu 4 ppm. Nilai oksigen terlarut ini juga masih dikatakan layak untuk media hidup ikan mas (*C. carpio*) dan sesuai dengan pernyataan Sutisna dan Retno (1995), konsentrasi oksigen terlarut yang optimal dalam perairan untuk hidup organisme perairan adalah 4-5 ppm. Konsentrasi oksigen kurang dari 3 ppm akan berbahaya karena suplai oksigen untuk organisme perairan akan kurang.

5. PENUTUP

5.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari pembahasan penelitian, maka diperoleh kesimpulan yaitu:

- Pemberian ekstrak kulit kayu ketapang (*T. catappa*) berpengaruh terhadap kelulushidupan dan histopatologi hati ikan mas (*C. carpio*) yang dibuktikan melalui uji kerusakan kongesti, nekrosis, dan kelulushidupan, akan tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap kerusakan jaringan melanomakrofag ikan mas (*C. carpio*).
- Dosis yang efektif untuk mengurangi dampak kerusakan jaringan hati yang diakibatkan karena infeksi oleh bakteri *A. hydrophila* adalah 770 ppm pada perlakuan C. Analisa kelulushidupan sebagai parameter penunjang didapatkan hasil yang terbaik adalah 57,00 pada perlakuan A. Parameter kualitas air menunjukkan kondisi normal yaitu suhu 24-26,0°C, pH 7-8, dan DO berkisar 4-4,8 ppm.

5.2 SARAN

Saran yang didapatkan yaitu menggunakan ekstrak kasar kulit kayu ketapang (*T. catappa*) diharapkan dilakukan pengujian histopatologi selain hati ikan mas seperti kulit, ginjal, hematologi maupun saluran pencernaan, agar bisa mengetahui pengaruh ekstrak uji terhadap hematologi dan bagian histologi yang berbeda dari ikan mas (*C. carpio*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D. 2009. Perubahan Fungsi Hepar dan Ekspresi C-Reaktif Protein (CRP) Pasca Operasi Laparatomi. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Ahdiyah, U.L. 2011. Penggunaan Jerami Dan Serbuk Gergaji Sebagai Media Pengisi Pada Penyimpanan Udang Galah (*Macrobrachium Rosenbergii*) Tanpa Media Air. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. 65 hlm.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L. Program Studi Pendidikan Biologi. FKIP Universitas Lambung Mangkurat. 1 (1): 31-38.
- Alabi, O. A., M. T. Haruna, C. P. Anokwuru, T. Jagede, H. Abia, V. E. Okegbe and B. E. Esan. 2012. Comperative Studies on Antimicrobial Properties of Extracts of Fresh and Dried Leaves of *Carica papaya* L. on *Clinical* Bacterial and Fungi Isolates. *Advences in Applied Science Research* 3(5): 3107-3114.
- Asniatih, M. Idris dan K. Sabilu. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Mina Laut Indonesia*. 3(12): 13-21.
- Aberoum, A. and H. Jooyandeh. 2010. A Review on Occurrence and Characterization of the *Aeromonas* Species from Marine Fishes. *World Journal of Fish and Marine Sciences*. 2(6): 519-523
- Barus, T. A. 2002. Pengantar Limnologi. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara. USU Press Medan. 112 hlm.
- Chauret, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J. and C. Warnes. 2001. Detection of *Aeromonas hydrophila* In A Drinking-Water Distribution System: A Field And Pilot Study. *Journal Microbiology*. 47(8): 782-786.
- Cipriano, R.C. 2001. *Aeromonas hydrophila* and *Motile Aeromonand Septicemias* of Fish. Disease Leaflet 68. Washingron DC. 20 hlm.
- Darmono. 1995. Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup. UI Press. Jakarta.140 hlm.
- Daulat, A., M.A. Kusumaningtyas., R. A. Adi dan W. S. Pranowo. 2014. Sebaran Kandungan CO2 Terlarut di Pesisir Selatan Kepulauan Natuna. *Jurnal Depik*. 3(2): 1-12.
- Effendi, H. 2003. Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Kanisius. Yogyakarta. 249 hlm.
- Effendi, I. 2012. Pengantar Akuakultur. Penebar Swadaya. Jakarta. 188 hlm.
- El-Sayed, A. F. 2006. Tilapia Culture. CABI Publishing. London. 275 hlm
- Ersa, E. M. 2008. Gambaran Histopatologi Insang, Usus, dan Otot Pada Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) di Daerah Ciampea Bogor. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Hanafiah, K. 2013. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi Edisi 3. PT Raja Grafindo Prasada. Jakarta. 259 hlm.
- Hardi, E., C.A. Pebrianto. T. Hidayanti dan R. Handayani. 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophila* Melalui Jalur Yang Berbeda Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kertanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8(2): 130-133.
- Jagessar, R.C. and R. Alleyne. 2011. Antimikroba Potensi dari Ekstrak Berair Daun *Terminalia catappa*. *Jurnal Peneliti Akademis Internasional*. 1(3): 362-371.
- Janda, J. M. dan S. Abbott. 2010. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 23(2): 35-73.
- Julio, E., H. Busman dan N. Nurcahyani. 2013. Struktur Histologis Hati Mencit (*Mus musculus* L.) Sebagai Respon Terhadap Kebisingan. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi V Lembaga Penelitian Universitas Lampung*. Universitas Lampung. Lampung.
- Junaidi dan J. Hartono. 2010. Faktor Non Keuangan Pada Opini *Going Concern*. Sipsosium Nasional Akutansi. Purwekerto.
- Kabata, Z. 1985. Parasiter and Disease of Fish Cultured in the Tropic. Taylor. In Francis Inc. 242. Chery St. Phidelphia. 318 hlm.
- Kartolani, A. 2012. Guruhnya Laba Bisnis Ikan Konsumsi. Areska. Yogyakarta. 144 hlm
- Khairuman, S. P. dan K. Amri. 2008. Buku Pintar Budi Daya 15 Ikan Konsumsi. Coremap Lipi. Jakarta. 358 hlm.
- Kordi, M. G. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakitnya. PT Rineka Cipta dan PT Bina Adiaksara. Jakarta. 194 hlm.
- Kordi, S. P. 2013. Budi Daya Ikan Mas. PT AgroMedia Pustaka: Jakarta. 88 hlm.
- Lentera. 2002. Pembesaran Ikan Mas di Kolam Air Deras. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta. 100 hlm
- Lukistyowati, I. dan Kurniasih. 2011. Kelangsungan Hidup Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) yang Diberi Pakan Ekstraksi Bawang Putih (*Allium sativum*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 16(1): 144-160
- Lumongga, F. 2008. Apoptosis. Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- _____. 2008. Struktur Liver. Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Maftuch dan S. Dalimunthe. 2013. Penyakit Hewan Akuakultur. UB Press. Malang. 151 hlm.
- Maleej, S., M. Denis and S. Dukan. 2004. Temperature and Growth, Phase Effect on *Aeromonas hydrophila* Survival in Natural Sea Water Microcosms : Role of protein synthesis and Nucleid Acid Content on Viable but Temporarily non Culturable Response. *Microbiology*. 150 : 181-187.

- Marlina, E. 2013. Efektifitas Ekstrak Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Benih ikan Mas (*Cyprinus capio*). Skripsi. Universitas Padjajaran. Jatinangor. Jawa Barat.
- Muhammad, A. dan S.Y. Mudi. 2011. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Terminalia catappa*, Leaf Extracts. Department of Pure and Industrial Chemistry, Bayero University, Kano. 23 (1): 35-39.
- Mulia, D.S. 2003. Pengaruh Vaksin *Debris* Sel *Aeromonas hydrophila* Dengan Kombinasi Cara Vaksinasi dan Booster Terhadap Respons Imun dan Tingkat Perlindungan Relatif Pada Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* Burchell). Tesis. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Noga, E.J. 2010. Fish Disease Diagnosis and Treatment. Iowa State University Press. A Blackwell Publishing Company. 54 hlm.
- Prajitno, A. 2007. Penyakit Ikan – Udang Bakteri. UM Press. Malang. 113 hlm.
- Prihatman, K. 2000. Budidaya Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). Proyek Pengembangan Ekonomi Masyarakat Pedesaan, Bappenas. <http://www.ristek.go.id>.
- Rudiyanti, S. dan D. Ekasari. 2009. Pertumbuhan Dan *Survival Rate* Ikan Mas (*Cyprinus Carpio Linn*) Pada Berbagai Konsentrasi Pestisida Regent 0,3 G. *Jurnal Saintek Perikanan* .Vol. 5, No. 1 : hlm 49 - 54
- Salikin, R. Q., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Bihanong (*Anhedera cordifolia*) Terhadap Mortalitas dan Histologi Hati Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas carviae*. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 43-50
- Santoso, B. 1993. Petunjuk Praktis Budidaya Ikan Mas. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 80 hlm.
- Setyowati, A., D. Hidayati, P. Awik dan N. Abdulgani. 2010. Studi Histopatologi Hati Ikan Belanak (*Mugil cephalus*) Di Muara Sungai Aloo Sidoarjo. *Jurnal Akuakultur*. 1.(1): 1-10.
- Simanjuntak, M. 2012. Kualitas Air Laut Ditinjau Dari Aspek Zat Hara, Oksigen Terlarut Dan Ph Di Perairan Banggai, Sulawesi Tengah. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*. Vol. 4, No. 2: hlm. 290-303
- Sine, Y. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstak Daun Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dan Daun Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Universitas Nusa Cendana, Kupang. Nusa Tenggara Timur.
- Sukmadinata, N. 2005. Metode Penelitian Pendidikan. PT Remaja Rosdakarya. Bandung. 326 hlm
- Sumino, A. Supriyadi dan Wardiyanto. 2013. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalian cattapa* L.) untuk Pengobatan Infeksi *Aeromonas salmonicida* pada Ikan Patin (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Sain Veteriner*. 31 (1): 79-88.
- Supriatna, Y. 2013. Budi Daya Ikan Mas di Kolam Hemat Air. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta. 78 hlm.

- Sutisna, D. H. dan Retno S. 1995. *Pembenihan Ikan Air Tawar*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 135 hlm.
- Tabbu, C. R. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya - Volume 1*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 406 hlm.
- Takashima, F. and T. Hibiya. 1995. *An Atlas of Fish Histology Normal and Phatology Feature*. Tokyo Kodansha Ltd. 108 hlm.
- Thomson, A.J. and B. Evans. 2006. *Terminalia cattapa* (Tropic Almonds). *Species Profiles for Pasific Island Agroforestry*. Versi 2.2
- Tresnati J., M. Djawad dan Bulqys A. 2007. Kelainan Ginjal Ikan Pari Kembang (*Dasyatis kuhlii*) yang Diakibatkan oleh Logam Berat Timbal (Pb). *J Sains Teknol* 7 (3): 153-160).
- Volk, W. A. dan M. F. Wheeler. 1984. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Erlangga. Jakarta. 343 hlm
- Wahjuningrum, D. N. Ashry dan S Nuryati. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* Untuk Pencegahan dan Pengobatan Ikan Patin *Pangasionodion hypophthalmus* yang Terinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 7(1): 79-94.
- Wijayakusuma, H. M. 2008. *Tumpas Hepatitis dengan Ramuan Herbal*. Pustaka Bunda. Jakarta. 86 hlm.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan



Section set



Aquarium



pH meter



DO meter



Hand tally counter



Aerator



Mikrotom



Seser



Botol Film



Mikroskop



Timbangan Digital



Preparat

Lampiran 2. Bahan – bahan yang digunakan



Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)



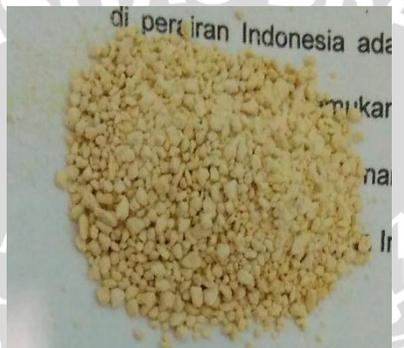
Hati Ikan Mas



Ekstrak Kulit Pohon Ketapang



Larutan Formalin 10%



Bubuk NB



Bakteri *A. hydrophila*



Akuades



Alkohol 70%



Etanol 96%

Lampiran 3. Dokumentasi



Penginfeksi Bakteri *A. hydrophila*



Perendaman Ikan dengan Ekstrak Ketapang



Pembedahan Ikan Mas



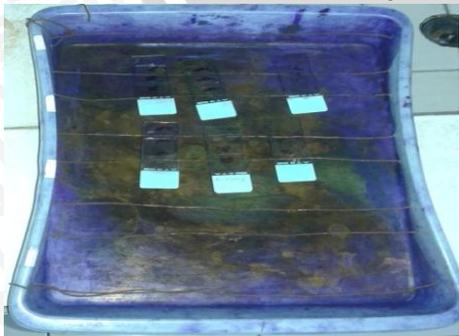
Pengawetan Sampel Hati pada Botol Film



Pembuatan Blok Sampel dengan Parafin



Pemotongan Sample dengan Mikrotom



Pewarnaan Preparat



Pengamatan Histologi di Mikroskop



Lampiran 4. Data dan Perhitungan *Survival Rate* (SR) Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

1. Data Nilai Kelulushidupan Per-Hari

Hari	Perlakuan	Ulangan		
		1	2	3
Sabtu, 10 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	10	10	9
	K. Obat	10	10	10
	A (730 ppm)	10	10	10
	B (750 ppm)	10	10	10
	C (770 ppm)	9	9	10
Minggu, 11 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	10	9	9
	K. Obat	9	10	9
	A (730 ppm)	10	10	10
	B (750 ppm)	10	10	10
	C (770 ppm)	8	8	8
Senin, 12 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	8	8	7
	K. Obat	8	7	8
	A (730 ppm)	9	8	8
	B (750 ppm)	9	8	7
	C (770 ppm)	7	6	6
Selasa, 13 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	5	6	4
	K. Obat	8	7	7
	A (730 ppm)	8	7	8
	B (750 ppm)	8	7	8
	C (770 ppm)	6	5	5
Rabu, 14 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	4	4	3
	K. Obat	7	7	7
	A (730 ppm)	8	7	7
	B (750 ppm)	7	7	7
	C (770 ppm)	6	5	4
Kamis, 15 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	3	3	1
	K. Obat	7	6	7
	A (730 ppm)	8	7	7
	B (750 ppm)	7	7	7
	C (770 ppm)	6	5	4

Lampiran 4. (Lanjutan)

Jumat, 16 Oktober 2015	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	3	3	2
	K. Obat	7	6	7
	A (730 ppm)	8	7	7
	B (750 ppm)	6	7	7
Sabtu, 17 Oktober 2015	C (770 ppm)	6	5	3
	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	3	2	2
	K. Obat	7	6	7
	A (730 ppm)	8	6	7
Minggu, 18 Oktober 2015	B (750 ppm)	6	6	7
	C (770 ppm)	6	5	3
	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	3	2	2
	K. Obat	7	6	6
Senin, 19 Oktober 2015	A (730 ppm)	8	6	7
	B (750 ppm)	6	6	7
	C (770 ppm)	6	5	3
	K. Normal	10	10	10
	K. Infeksi	3	2	0
	K. Obat	7	6	6
	A (730 ppm)	8	6	7
	B (750 ppm)	6	6	7
	C (770 ppm)	6	5	3



Lampiran 4. (Lanjutan)

2. Data Rata-Rata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan	Σ Ikan awal penelitian	Σ Ikan akhir penelitian (10 hari)	SR (%)	ARCSIN
A (730 ppm)	1	10	8	80	63,44
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
B (750 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79
C (770 ppm)	1	10	6	60	50,77
	2	10	5	50	45,00
	3	10	3	30	33,21
Kontrol Normal	1	10	10	100	90,00
	2	10	10	100	90,00
	3	10	10	100	90,00
Kontrol Infeksi	1	10	3	30	33,21
	2	10	2	20	26,56
	3	10	0	0	0
Kontrol Obat	1	10	7	70	56,79
	2	10	6	60	50,77
	3	10	7	70	56,79

Lampiran 4. (Lanjutan)

3. Uji Sidik Ragam Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

- Tabel Rerata Kelulushidupan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
Kontrol	90	90	90	270	90
A	63,44	50,77	56,79	171	57
B	50,77	50,77	56,79	158,33	53
C	50,77	45,00	33,21	128,98	43
				728,31	

- Perhitungan Sidik Ragam

1. Faktor Koreksi (FK) = $\frac{G^2}{N}$

$$= \frac{728,31^2}{12}$$

$$= 44202,95$$

2. Jumlah Kuadrat (JK Total) = (A1² + A2² + A3² + ... + C3²) – FK

$$= (90^2 + 90^2 + 90^2 + \dots + 33,21^2) - 44202,95$$

$$= 48213,11 - 44202,95$$

$$= 4010,16$$

3. JK Perlakuan = $\frac{\sum(\sum xi)^2}{r}$ – FK

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(21,00^2 + 19,00^2 + 14,00^2)}{3} - 324$$

$$= 47948,41 - 44202,95$$

$$= 3745,46$$

4. JK galat/acak = JK Total – JK perlakuan

$$= 4010,16 - 3745,46$$

$$= 264,71$$

Lampiran 4. (Lanjutan)

- Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	3745,46	1248,49	37,73**	4,07	7,59
Acak	8	264,71	33,09			
Total	11	4010,16				

Keterangan (**) = Berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar daripada F tabel 5% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan Beda Nyata Terkecil (BNT).

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 33,09}{3}} \\ &= 4,696 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= T \text{ tabel 5\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 5,14 \times 4,696 \\ &= 24,14 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT 1\%} &= T \text{ tabel 1\% (db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 10,92 \times 4,696 \\ &= 41,29 \end{aligned}$$

- Tabel BNT

Rerata Perlakuan		C	B	A	K _{normal}	Notasi
		43,00	52,78	57,00	90,00	
C	43,00	0 ^{ns}	-	-	-	a
B	52,78	9,78 ^{ns}	0 ^{ns}	-	-	a
A	57,00	14,01*	4,22 ^{ns}	0 ^{ns}	-	a
K_{normal}	90,00	47,01**	37,22*	33,00*	0 ^{ns}	c

Keterangan (*) = Berbeda nyata

(**) = Berbeda sangat nyata

(^{ns}) = Tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh tidak berbeda nyata pada perlakuan, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan tidak dilanjutkan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

Lampiran 5. Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati

1. Kongesti

- Tabel Skoring Kongesti

Organ Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang			Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3		
Kongesti	A	1	2	3	1	2,00	2,22
		2	2	3	2	2,33	
		3	3	2	2	2,33	
	B	1	1	3	2	2,00	1,89
		2	1	2	2	1,67	
		3	2	2	2	2,00	
	C	1	2	1	2	1,67	1,44
		2	1	2	1	1,33	
		3	2	1	1	1,33	
Kongesti	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
		2	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1,00	
	KO	1	1	2	1	1,33	1,22
		2	1	2	1	1,33	
		3	1	1	1	1,00	
	KI	1	3	3	3	3,00	3,22
		2	4	3	3	3,67	
		3	3	3	3	3,00	

- Perhitungan Kongesti

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,00+2,33+2,33 & \text{A rata-rata} &= \frac{6,66}{3} \\ &= 6,66 & &= 2,22 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 2,00+1,67+2,00 & \text{B rata-rata} &= \frac{5,67}{3} \\ &= 5,67 & &= 1,89 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 1,67+1,33+1,33 & \text{C rata-rata} &= \frac{4,33}{3} \\ &= 4,33 & &= 1,44 \end{aligned}$$

- Tabel Rerata Kerusakan Kongesti Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,00	2,33	2,33	6,66	2,22
B	2,00	1,67	2,00	5,67	1,89
C	1,67	1,33	1,33	4,33	1,44
				16,66	

Lampiran 5. (Lanjutan)

- Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{16,66^2}{9} \\
 &= 30,83
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK \\
 &= (2,00^2 + 2,33^2 + 2,33^2 + \dots + 1,33^2) - 30,83 \\
 &= 31,96 - 30,83 \\
 &= 1,13
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{(6,66^2 + 5,67^2 + 4,33^2)}{3} - 35,96 \\
 &= 31,74 - 30,83 \\
 &= 0,91
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK perlakuan} \\
 &= 1,13 - 0,91 \\
 &= 0,22
 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,91	0,455	12,30**	5,14	10,92
Acak	6	0,22	0,037			
Total	8	1,13				

Keterangan (**)= berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar daripada F tabel 5% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 5. (Lanjutan)

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

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

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,22}{3}}$$

$$= 0,15$$

$$BNT 5\% = T \text{ tabel } 5\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 1,943 \times 0,15$$

$$= 0,31$$

$$BNT 1\% = T \text{ tabel } 1\% (db_{acak}) \times SED$$

$$= 3,143 \times 0,15$$

$$= 0,49$$

- Tabel BNT

Rerata Perlakuan		C	B	A	Notasi
		1,44	1,89	2,22	
C	1,44	0 ^{ns}	-	-	a
B	1,89	0,45*	0 ^{ns}	-	b
A	2,22	0,78**	0,33*	0 ^{ns}	c

Keterangan (*) = Berbeda nyata
 (**) = Berbeda sangat nyata
 (ns) = Tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

- Perhitungan *Polynomial Orthogonal*

- Tabel *Polynomial Orthogonal*

Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	6,66	-3	1	-1
B	5,67	-1	-1	3
C	4,33	1	-1	-3
Q= Σci*Ti		-21,32	-3,34	-2,64
Hasil Kuadrat		11	3	19
Kr= (Σci^2)*r		33	9	57
JK=Q^2/Kr		13,77	1,24	0,12

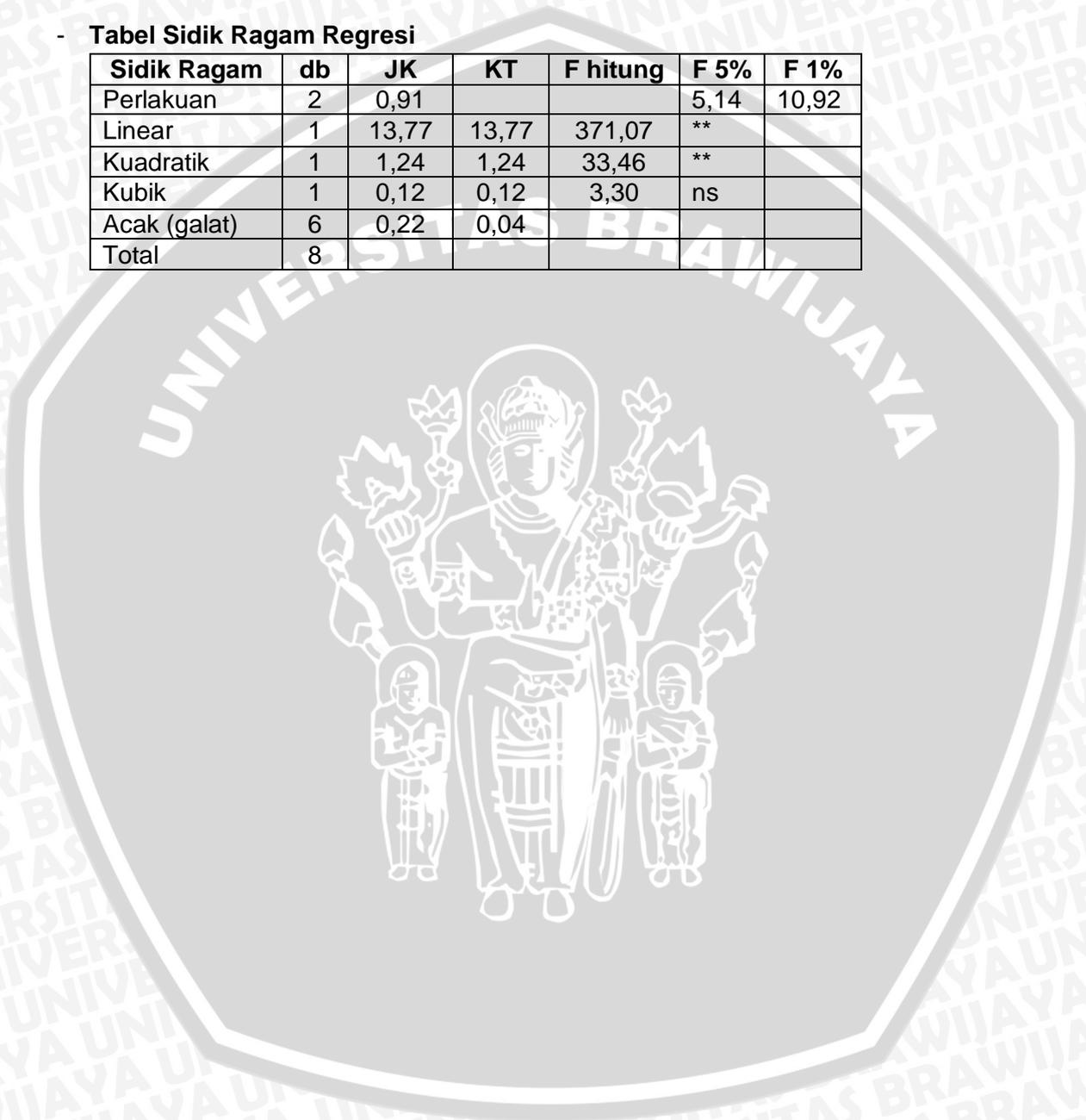


Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK regresi total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 13,77 + 1,24 + 0,12 \\ &= 15,14 \end{aligned}$$

- Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,91			5,14	10,92
Linear	1	13,77	13,77	371,07	**	
Kuadratik	1	1,24	1,24	33,46	**	
Kubik	1	0,12	0,12	3,30	ns	
Acak (galat)	6	0,22	0,04			
Total	8					



Lampiran 5. (Lanjutan)

2. Melanomakrofag

- Tabel Skoring Melanomakrofag

Organ Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang			Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3		
Melanomakrofag	A	1	2	2	2	2,00	1,89
		2	2	1	3	2,00	
		3	2	2	1	1,67	
	B	1	1	1	2	1,33	1,56
		2	1	2	2	1,67	
		3	2	1	2	1,67	
	C	1	2	1	2	1,67	1,33
		2	1	2	1	1,33	
		3	1	1	1	1,00	
	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
		2	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1,00	
	KO	1	2	2	1	1,67	1,44
		2	1	2	1	1,33	
		3	2	1	1	1,33	
KI	1	3	3	2	2,67	2,67	
	2	3	3	3	3,00		
	3	3	2	2	2,33		

- Perhitungan Melanomakrofag

$$\begin{aligned} \text{Total A} &= 2,00 + 2,00 + 1,67 \\ &= 5,67 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{A rata-rata} &= \frac{5,67}{3} \\ &= 1,89 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total B} &= 1,33 + 1,67 + 1,67 \\ &= 4,67 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{B rata-rata} &= \frac{4,67}{3} \\ &= 1,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total C} &= 1,67 + 1,33 + 1,00 \\ &= 4,00 \end{aligned} \quad \begin{aligned} \text{C rata-rata} &= \frac{4,00}{3} \\ &= 1,33 \end{aligned}$$

- Tabel Rerata Kerusakan Melanomakrofag Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,00	2,00	1,67	5,67	1,89
B	1,33	1,67	1,67	4,67	1,56
C	1,67	1,33	1,00	4,00	1,33
				14,34	

Lampiran 5. (Lanjutan)

- Perhitungan Sidik Ragam

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} &= \frac{G^2}{N} \\
 &= \frac{14,34^2}{9} \\
 &= 22,85
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} &= (A1^2 + A2^2 + A3^2 + \dots + C3^2) - FK \\
 &= (2,00^2 + 2,00^2 + 1,67^2 + \dots + 1,00^2) - 22,85 \\
 &= 23,7 - 22,85 \\
 &= 0,84
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 3. \text{ JK Perlakuan} &= \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK \\
 &= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK \\
 &= \frac{(5,67 + 4,67^2 + 4,00^2)}{3} - 22,85 \\
 &= 23,32 - 22,85 \\
 &= 0,47
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ JK galat/acak} &= \text{JK Total} - \text{JK perlakuan} \\
 &= 0,84 - 0,47 \\
 &= 0,37
 \end{aligned}$$

- Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	0,47	0,235	3,77 ^{ns}	5,14	10,92
Acak	6	0,37	0,062			
Total	8	0,84				

Keterangan (^{ns}) = Tidak berbeda nyata

Dikarenakan nilai F hitung memiliki nilai yang lebih kecil daripada F tabel 5% maka perhitungan tidak dilanjutkan pada proses perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT).



Lampiran 5. (Lanjutan)

3. Nekrosis

- Tabel Skoring Nekrosis

Organ Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Area Lapang Pandang			Rerata LP	Rerata Sampel	
			1	2	3			
Nekrosis	A	1	1	3	3	2,33	2,55	
		2	2	2	3	2,33		
		3	3	3	3	3,00		
	B	1	2	2	2	2,00	2,00	
		2	2	2	2	2,00		
		3	2	2	2	2,00		
	C	1	1	2	2	1,67	1,67	
		2	2	2	1	1,67		
		3	2	1	2	1,67		
	Nekrosis	KN	1	1	1	1	1,00	1,00
			2	1	1	1	1,00	
			3	1	1	1	1,00	
KO		1	2	2	2	2,00	1,33	
		2	1	1	1	1,00		
		3	1	1	1	1,00		
KI		1	3	4	4	3,67	3,44	
		2	4	3	3	3,33		
		3	3	4	3	3,33		

- Perhitungan Nekrosis

$$\begin{aligned}
 \text{Total A} &= 2,33+2,33+3,00 & \text{A rata-rata} &= \frac{7,66}{3} \\
 &= 7,66 & &= 2,55 \\
 \text{Total B} &= 2,00+2,00+2,00 & \text{B rata-rata} &= \frac{6,00}{3} \\
 &= 6,00 & &= 2,00 \\
 \text{Total C} &= 1,67+1,67+1,67 & \text{C rata-rata} &= \frac{5,01}{3} \\
 &= 5,01 & &= 1,67
 \end{aligned}$$

- Tabel Rerata Kerusakan Nekrosis Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata
	1	2	3		
A	2,33	2,33	3,00	7,66	2,55
B	2,00	2,00	2,00	6,00	2,00
C	1,67	1,67	1,67	5,01	1,67
				18,67	

Lampiran 5. (Lanjutan)

- Perhitungan Sidik Ragam

$$1. \text{ Faktor Koreksi (FK)} = \frac{G^2}{N}$$

$$= \frac{18,67^2}{9}$$

$$= 38,73$$

$$2. \text{ Jumlah Kuadrat (JK Total)} = (A^2 + A^2 + A^3 + \dots + C^3) - FK$$

$$= (2,33^2 + 2,33^2 + 3,00^2 + \dots + 1,67^2) - 38,73$$

$$= 40,23 - 38,73$$

$$= 1,49$$

$$3. \text{ JK Perlakuan} = \frac{\sum(\sum xi)^2}{r} - FK$$

$$= \frac{(TA^2 + TB^2 + TC^2)}{r} - FK$$

$$= \frac{(7,66^2 + 6,00^2 + 5,01^2)}{3} - 38,73$$

$$= 39,93 - 38,73$$

$$= 1,19$$

$$4. \text{ JK galat/acak} = \text{JK Total} - \text{JK perlakuan}$$

$$= 1,49 - 1,19$$

$$= 0,30$$

- Analisa Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Uji F		
				F. hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1,19	0,595	11,66**	5,14	10,92
Acak	6	0,30	0,051			
Total	8	1,50				

Keterangan (**)= berbeda sangat nyata

Dikarenakan nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar daripada F tabel 5% maka perhitungan dilanjutkan pada proses perhitungan Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 5. (Lanjutan)

- Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil

$$\begin{aligned} \text{SED} &= \sqrt{\frac{2 \text{KT}_{\text{acak}}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{2 \times 0,51}{3}} \\ &= 0,18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= T \text{ tabel } 5\% (\text{db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 1,943 \times 0,18 \\ &= 0,35 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= T \text{ tabel } 1\% (\text{db}_{\text{acak}}) \times \text{SED} \\ &= 3,143 \times 0,18 \\ &= 0,57 \end{aligned}$$

- **Tabel BNT**

Rerata Perlakuan		C	B	A	Notasi
		1,67	2,00	2,55	
C	1,67	0 ^{ns}	-	-	a
B	2,00	0,33*	0 ^{ns}	-	b
A	2,55	0,88**	0,55*	0 ^{ns}	c

Keterangan (*) = Berbeda nyata
 (**) = Berbeda sangat nyata
 (^{ns}) = Tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata, dalam hal ini maka dilakukan perhitungan lanjutan dengan menggunakan *Polynomial Orthogonal*.

- Perhitungan Polynomial Orthogonal

- **Tabel Polynomial Orthogonal**

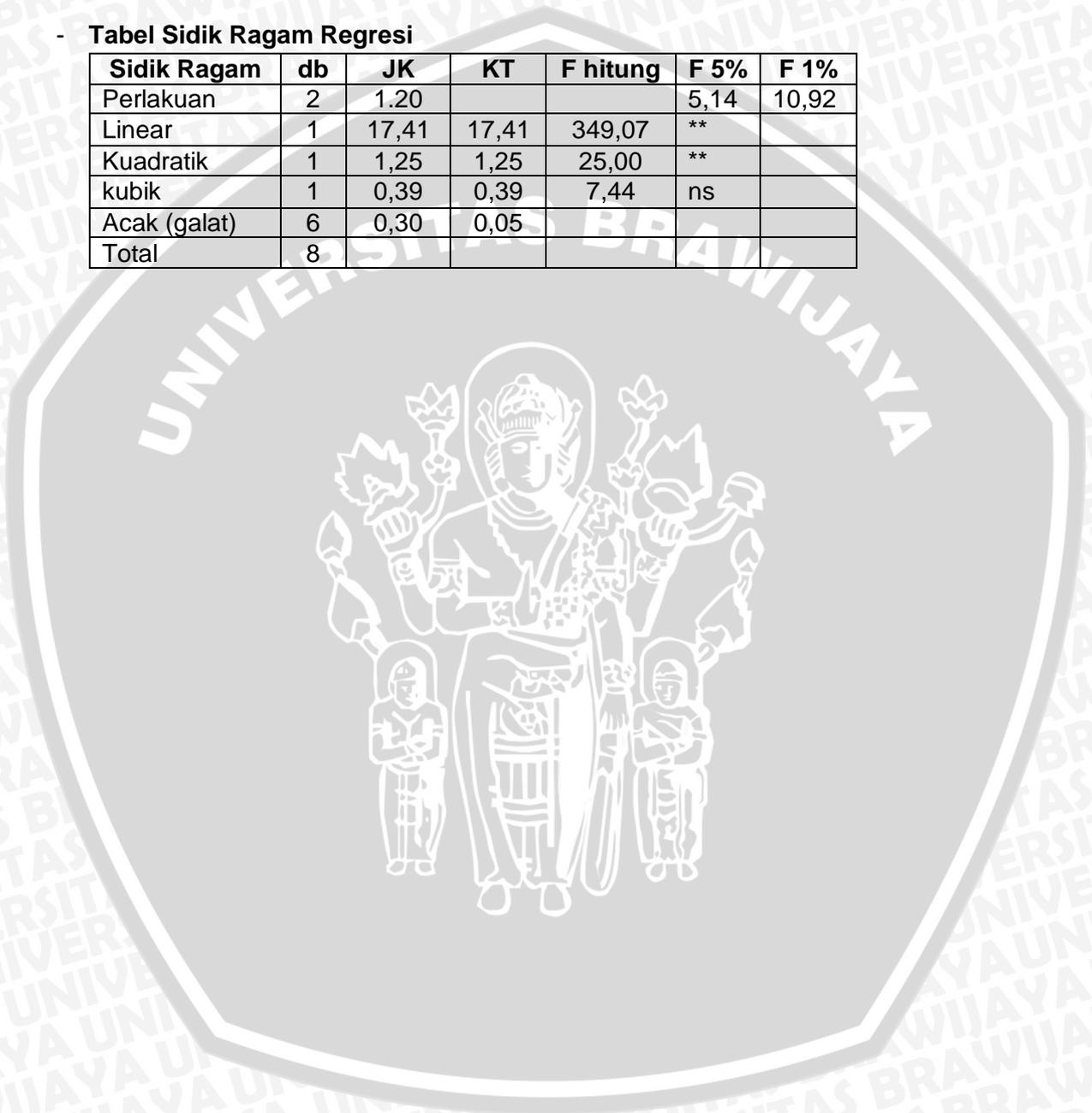
Perlakuan	Total	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	7,66	-3	1	-1
B	6,00	-1	-1	3
C	5,01	1	-1	-3
Q= $\sum \text{ci} \cdot \text{Ti}$		-23,91	-3,35	-4,69
Hasil Kuadrat		11	3	19
Kr= $(\sum \text{ci}^2) \cdot r$		33	9	57
JK= Q^2 / Kr		17,41	1,24	0,39

Lampiran 5. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK regresi total} &= \text{JK Linear} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\ &= 17,41 + 1,24 + 0,39 \\ &= 19,04 \end{aligned}$$

- Tabel Sidik Ragam Regresi

Sidik Ragam	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	2	1.20			5,14	10,92
Linear	1	17,41	17,41	349,07	**	
Kuadratik	1	1,25	1,25	25,00	**	
kubik	1	0,39	0,39	7,44	ns	
Acak (galat)	6	0,30	0,05			
Total	8					



Lampiran 6 : Kualitas Air Selama Masa Pemeliharaan

Hari Ke-	Kualitas air	Waktu	KONTROL									PERLAKUAN								
			Normal			Obat			Infeksi			A (730 ppm)			B (750 ppm)			C (770 ppm)		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.7	7.5	7.4	7.2	7.4	7.5	7.3	7.4	7.3	7.5	7.2	7.3
		Sore	7.3	7.6	7.5	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.4	7.3	7.5	7.5	7.2	7.3	7.5	7	7.4
	Suhu (°C)	Pagi	24.2	24.6	24.2	24.2	24.7	24.6	24.2	24.5	24.6	24.2	24	24.3	24.2	24.6	24.6	24.2	24.2	24.2
		Sore	25	25.6	25	25	25.3	25.2	25	25.7	26	25	25.3	25.3	25	25.9	25.4	25.1	25	25.4
	DO (ppm)	Pagi	4	4.3	4.2	4.3	4	4.5	4.7	4	4.2	4.5	4	4.5	4.3	4	4.5	4.2	4.5	4
		Sore	4.7	4.2	4.5	4.5	4.7	4.2	4.5	4.5	4	4.2	4.3	4.5	4.7	4.5	4.2	4	4.3	4.2
2	pH	Pagi	7.5	7.6	7.4	7.6	7.6	7.7	7.4	7.5	7.6	7.4	7.4	7.5	7.3	7.3	7.2	7.3	7.2	7.5
		Sore	7.7	7.4	7.7	7.5	7.4	7.5	7.5	7.6	7.7	7.5	7	7.3	7.8	7.1	7.5	7.3	7	7.2
	Suhu (°C)	Pagi	24.2	24.4	24.5	24.6	24.5	24.2	24	24.5	24.3	24.6	24.5	24.2	24.5	24.5	24.7	24.5	24.2	24.5
		Sore	24.9	25.1	25.6	25.7	25.1	25.6	24.9	25.7	25.3	25.1	25.3	25.6	24.9	25.7	25.1	25.6	25.7	24.9
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4.5	4	4.2	4.8	4	4.8	4.3	4.5	4.7	4.3	4.5	4.7	4.8	4	4.2	4.7	4.3
		Sore	4.8	4.3	4	4.8	4.5	4.5	4.7	4	4.7	4.6	4.7	4.2	4.3	4.6	4.5	4.3	4.5	4.5
3	pH	Pagi	7.4	7.5	7.6	7	7.7	7.4	7.8	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.4	7.2	7	7.4	7.2	7
		Sore	7.6	7.5	7.5	7.4	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5	7.4	7.5	7.5	7.2	7.3	7.2	7	7.4
	Suhu (°C)	Pagi	24.1	24.5	24.3	24.2	24.6	24.7	24.2	24.5	24.3	24.1	24.7	24.6	24.7	24.5	24.3	24.6	24.5	24.3
		Sore	25.1	24.9	25.7	25.1	25.7	24.9	25.6	25.7	25.6	25.1	25.7	24.9	25.4	25.7	25.1	25.1	25.6	24.9
	DO (ppm)	Pagi	4.2	4.7	4.5	4	4.2	4.5	4.8	4.7	4.2	4.3	4.5	4.8	4.5	4.8	4.3	4	4.5	4.5
		Sore	4.5	4.2	4.7	4.5	4.8	4.2	4	4.3	4.5	4.8	4.8	4	4.5	4.7	4.8	4.5	4.7	4.3
4	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.7	7.4	8	7.7	7.4	7.5	7.4	7.4	7.5	7.4	7.5	7.5	7.4	7.2	7
		Sore	7.5	7.4	7.6	7.7	7.6	7.5	7.4	7.5	7.6	7.4	7.2	7.4	7.3	7.4	7.4	7.4	7.3	7.4
	Suhu (°C)	Pagi	24.6	24.1	24.3	24.7	24.3	24.6	24.1	24.7	24.7	24.3	24.1	24.6	24.6	24.3	24.3	24.5	24.3	24.6
		Sore	25.7	24.9	25.7	25.1	25.7	24.9	25.7	25.7	25.4	24.9	25.7	24.9	24.9	25.1	25.7	24.9	25.6	25.1

	DO (ppm)	Pagi	4.3	4.5	4	4.2	4.5	4.6	4.6	4.5	4.3	4.7	4.2	4.2	4.3	4.6	4	4.7	4.3	4.7
		Sore	4.2	4.6	4.3	4.6	4.6	4.3	4.2	3.9	4	4.7	4.6	4.5	4.6	3.7	4.2	4.2	4.7	4.6
5	pH	Pagi	7.6	7.5	7.7	7.4	7.6	7.7	7.6	7.5	7.6	7.4	7.7	7.4	7.2	7.1	7.2	7.4	7.2	7
		Sore	7.5	7.4	7.7	7.6	7.7	7.6	7.5	7.4	7.7	7.2	7.4	7.2	7.3	7.4	7.2	7.2	7.3	7.6
	Suhu (°C)	Pagi	24.6	24.3	24.3	24.3	24.5	24.3	24.6	24.3	24.6	24.3	24.3	24.5	24.5	24.3	24.1	24.3	24.3	24.6
		Sore	25.7	25.1	25.1	25.1	25.7	25.4	24.9	26.4	25.7	25.1	25.4	25.1	26.5	25.7	25.7	24.9	25.7	25.7
	DO (ppm)	Pagi	4.8	4.5	4.3	4	4.8	4.5	4.7	4.5	4.3	4.2	4.5	4	4.8	4.7	4.5	4.3	4.6	4
		Sore	4.5	4	4.2	4.7	4.2	4.2	4.6	4	4.6	4.8	4.7	4.5	4.3	4.5	4.6	4	4.7	4.5
6	pH	Pagi	7.6	7.4	7.6	7.4	7.6	7.7	7.6	7.4	7.5	7	7	7.4	7.1	7.2	7.2	7.5	7.2	7.3
		Sore	7.6	7.6	7.4	7.5	7.6	7.6	7.4	7.6	7.5	7	7	7	7.3	7.2	7.4	7.2	7	7
	Suhu (°C)	Pagi	24.3	24.1	24.3	24.5	24.6	24.3	24.6	24.5	24.1	24.6	24.3	24.1	24.3	24.1	24.6	24.3	24.6	24.6
		Sore	25.7	25.1	25.7	24.9	25.7	25.4	24.9	26.1	25.1	25.7	25.1	25.7	25.4	24.9	25.7	25.1	24.9	25.7
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4	4.4	4.2	4	4.5	4.5	4.3	4.4	4.2	4.5	4.7	4	4.7	4.3	4.7	4.5	4.7
		Sore	4.5	4.3	4.2	4	4.3	4.4	4.2	4	4.7	4.5	4.4	4.2	4.7	4.3	4.7	4.2	4	4.2
7	pH	Pagi	7.4	7.6	7.5	7.5	7.4	7.7	7.6	7.6	7.4	7.7	7.4	7.4	7.5	7.2	7.1	7.2	7.2	7.4
		Sore	7.5	7.6	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.4	7.7	7.4	7.2	7.2	7.3	7.3	7.4	7.4	7	7.2
	Suhu (°C)	Pagi	24.3	24.6	24.1	24.3	24.1	24.6	24.3	24.1	24.5	24.6	24.3	24.1	24.6	24.5	24.1	24.3	24.6	24.3
		Sore	25.1	24.9	25.8	24.9	24.9	25.1	24.9	26.2	25.4	24.9	25.4	25.1	25.4	25.4	26	25.1	24.9	26.2
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4.2	4.5	4.3	4.5	4.4	4.3	4.7	4.2	4.4	4.5	4.3	4.2	4	4.3	4.4	4.5	4.3
		Sore	4.5	4.3	4.2	4	4.7	4.2	4.3	4.5	4.3	4.2	4.4	4.3	4.2	4.4	4.5	4.3	4.2	4.3
8	pH	Pagi	7.5	7.5	7.5	7.4	7.5	7.7	7.6	7.5	7.5	7.5	7.6	7.4	7.1	7.2	7.2	7.1	7.2	7.5
		Sore	7.5	7.4	7.3	7.6	7.7	7.6	7.2	7.1	7.4	7.5	7.5	7.9	7.7	7.4	7.6	7.4	7.3	7.6
	Suhu (°C)	Pagi	24.3	24.3	24.3	24.5	24.5	24.3	24.2	24.3	24.4	24.3	24.3	24.3	24.4	24.3	24.2	24.3	24.5	24.3
		Sore	25.7	25.7	25.6	25.6	25.7	25.6	24.9	26.4	25.6	25.7	25.7	25.5	26.7	25.7	25.7	24.9	25.8	25.9
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4.5	4.3	4.6	4.8	4.5	4.7	4.5	4.4	4.2	4.3	4.2	4.2	4.5	4.5	4.3	4.5	4.4
		Sore	4.5	4.3	4.2	4.7	4.2	4.2	4.6	4	4.6	4.8	4.7	4.5	4.3	4.5	4.6	4	4.7	4.5

9	pH	Pagi	7.4	7.3	7.5	7.4	7.6	7.7	7.6	7.4	7.5	7.7	7.7	7.8	7.5	7.7	7.5	7.5	7.6	7.6
		Sore	7.2	7.3	7.4	7.4	7.5	7.5	7.4	7.4	7.3	7.5	7.3	7.2	7.3	7.2	7.3	7.4	7.2	7.3
	Suhu (°C)	Pagi	24.2	24.2	24.3	24.3	24.4	24.3	24.4	24.4	24.1	24.3	24.3	24.1	24.3	24.1	24.3	24.4	24.3	24.5
		Sore	25.7	25.5	25.7	25.4	25.7	25.4	25.7	26.1	25.5	25.4	25.4	25.7	25.4	25	25.7	25	25	25
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4	4.4	4.2	4.3	4.5	4.5	4.3	4.4	4.2	4.5	4.7	4	4.7	4.3	4.7	4.5	4.7
		Sore	4.5	4.3	4.2	4.2	4.3	4.4	4.2	4.4	4.4	4.5	4.4	4.2	4.7	4.3	4.7	4.2	4	4.2
10	pH	Pagi	7.4	7.4	7.4	7.5	7.4	7.5	7.4	7.6	7.4	7.5	7.4	7.3	7.5	7.2	7.4	7.4	7.5	7.4
		Sore	7.5	7.4	7.4	7.3	7.2	7.3	7.2	7.4	7.3	7.4	7.2	7.3	7.3	7.1	7.3	7.4	7.2	7.2
	Suhu (°C)	Pagi	24.3	24.4	24.3	24.3	24.4	24.4	24.3	24.2	24.4	24.3	24.3	24.3	24.4	24.2	24.4	24.3	24.4	24.3
		Sore	25	25	25.4	25.5	25.3	25.1	24.9	26.2	25.4	25	25.4	25	25.4	25.4	26	26	25.6	26
	DO (ppm)	Pagi	4.3	4.2	4.4	4.3	4.3	4.4	4.3	4.5	4.2	4.5	4.5	4.3	4.5	4.4	4.3	4.4	4.5	4.5
		Sore	4.4	4.4	4.5	4.5	4.6	4.4	4.4	4.4	4.4	4.3	4.2	4.3	4.4	4.4	4.2	4.3	4.2	4.3