

**RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG
TERINFEKSI PARASIT *Myxobolus Sp.* MELALUI TREATMENT KUTUKLIN
UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN LINGKUNGAN PERAIRAN**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN JURUSAN
MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

Oleh:

NABILA

NIM. 155080107111047



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

**RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG
TERINFEKSI PARASIT *Myxobolus Sp.* MELALUI TREATMENT KUTUKLIN
UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN LINGKUNGAN PERAIRAN**

SKRIPSI

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN JURUSAN
MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

NABILA

NIM. 155080107111047



FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

SKRIPSI

**RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG
TERINFEKSI PARASIT *Myxobolus* Sp. MELALUI TREATMENT KUTUKLIN
UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN LINGKUNGAN PERAIRAN**

Oleh:

Nabila

NIM. 155080107111047

Telah dipertahankan didepan penguji

Pada tanggal 15 mei 2019

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengetahui,
Ketua Jurusan



Dr. Ir. M. Firdaus, MP

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal : 24 MAY 2019

Menyetujui,
Dosen Pembimbing

Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi.

NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal : 24 MAY 2019

HALAMAN IDENTITAS TIM PENGUJI

**Judul : RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*)
YANG TERINFEKSI PARASIT *Myxobulus* Sp.MELALUI
TREATMENT KUTUKLIN UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN
LINGKUNGAN PERAIRAN**

Nama Mahasiswa : Nabila

NIM : 155080107111047

Program Studi : Manajemen Sumberdaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING

Pembimbing : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Muhammad Musa, MS

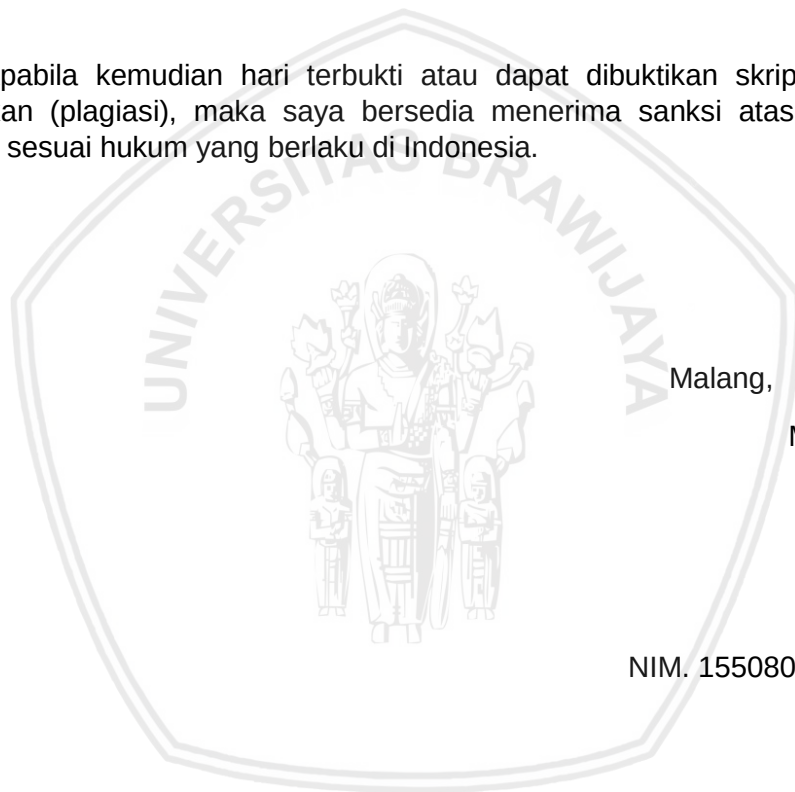
Dosen Penguji 2 : Sulastri Arsad, S.Pi, M.Sc. M.Si.

Tanggal Ujian : 15 Mei 2019

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul “RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI PARASIT *Myxobolus* Sp. MELALUI TREATMENT KUTUKLIN UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN LINGKUNGAN PERAIRAN yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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



Malang, Mei 2019
Mahasiswa,

Nabila
NIM. 155080107111047

UCAPAN TERIMA KASIH**Disampaikan Terima Kasih Kepada :**

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Brawijaya

Yang Telah Membiayai :

Skema Doktor Mengabdi

Melalui Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak (PNBP) Universitas Brawijaya
Sesuai dengan Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Brawijaya
Nomor DIPA-042.01.2.400919/2018

Dengan Judul :

“ RESPON IMUN HUMORAL DARAH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG
TERINFEKSI PARASIT *Myxobolus Sp.* MELALUI TREATMENT KUTUKLIN
UNTUK MANAJEMEN KESEHATAN LINGKUNGAN PERAIRAN

Sebagai Ketua Peneliti **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si**

Anggota Tim Penelitian Sebagai Berikut:

1. Nico Caesar Rahman
2. Fery Setiawan
3. Muhammad Sumsanto
4. Saddam Langkung Djaduk
5. Nur Sakinah Juni Rahma
6. Kurnia Susilowati
7. Nabila
8. Megawati
9. Risky Diana Putri
10. Yohana Puspitasari
11. Biandi Balya
12. Dimas Bagus Pradana

Ketua Peneliti,

(Dr. Uun Yanuhar, S.Pi., M.Si)

NIP. 19730404 200212 2 001

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan laporan Skripsi sehingga dalam terselesaikan dengan baik. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat-Nya saya diberikan kesehatan sehingga dapat mengerjakan proposal skripsi ini.
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan bantuan dalam berbagai bentuk, memberikan dukungan semangat serta mendoakan penulis.
3. Dr. Uun Yanuhar S.Pi., M.Si atas waktunya dalam membimbing dan memberikan nasehat yang telah diberikan dalam penyusunan laporan skripsi ini.
4. Tim Kesayangan Bu Uun dari jaman PKM sampai skripsi yang telah bekerjasama dengan baik terhadap penyusunan dan pelaksanaan skripsi ini
5. Kepada para sahabatku erni, dhea, kania, vian yang telah memberikan dukungan, bantuan dan doa dalam penyusunan laporan skripsi
6. Teman-teman ARCANA 2015 yang selama ini telah berproses bersama-sama dalam perkuliahan kurang lebih 4 tahun dan yang tanpa sengaja turut membantu dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Malang, 29 April 2019

Penulis

RINGKASAN

Nabila. Respon Imun Humoral Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Terinfeksi Parasit *Myxobolus Sp.* Melalui Treatment Kutuklin Untuk Manajemen Kesehatan Lingkungan Perairan **Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si).**

Lingkungan air yang mengalami penurunan kualitas akan mengakibatkan aktifitas kehidupan biota air terganggu. Kualitas air di bawah ambang batas dapat menyebabkan ikan menjadi stress yang memudahkan ikan rentan terhadap penyakit infeksi. Kualitas air merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap fisiologi organisme perairan. Selain pada kualitas perairan yang buruk, kondisi stress dapat terjadi pada ikan yang terinfeksi patogen asing seperti parasit, bakteri dan virus. Ikan koi (*Cyprinus carpio*) merupakan ikan hias air tawar bernilai ekonomis tinggi baik di pasar nasional maupun internasional yang masih termasuk dalam kerabat ikan mas. Memiliki warna dan tubuh yang berwarna-warni serta bentuk tubuh yang indah menjadikan ikan koi sangat diminati oleh para kolektor ikan hias dan menjadi komoditas ikan hias unggulan di Indonesia. *Myxobolus Sp.* merupakan spesies parasit yang sering ditemui pada perairan tawar. Parasit ini menyerang benih-benih ikan hingga dapat menyebabkan kematian. *Myxobolus* sering menginfeksi pada benih ikan koi (*Cyprinus carpio*). Siklus hidup agen infeksi ini terjadi secara horizontal (tidak langsung) yang melibatkan invertebrata (*oligochaeta*) dan sejumlah vertebrata (ikan atau amfibi). Sedangkan kutuklin merupakan obat berbahan kimia yang mengandung senyawa deltamethrin yang dipercayai oleh pembudidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) khususnya di Kabupaten Blitar, Kecamatan Nglegok, Desa Kemloko sebagai cara alternatif obat antiparasit *Myxobolus sp.* akan tetapi hal tersebut belum teruji secara medis. Selain itu deltamethrin adalah senyawa penyusun pestisida, yang mana apabila penggunaannya berlebihan dapat menurunkan kualitas air dan dapat mengganggu sistem fisiologis dari ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian respon imun humoral darah terhadap ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan perlakuan pemberian kutuklin sebagai antiparasit. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen, yaitu penelitian dengan pengumpulan data berupa data primer dengan mengamati langsung objek data. Penelitian ini meliputi pemeliharaan dengan perlakuan dosis kutuklin selama 14 hari, kemudian dilakukan uji respon imun humoral darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan meliputi uji hematokrit, hemoglobin, jumlah eritrosit, jumlah leukosit dan persentase sel limfosit serta pengukuran kualitas air yakni suhu, pH, DO (oksigen terlarut) dan CO₂. Rancangan penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari tiga perlakuan dengan empat dosis (0 µl/g, pakan 1 µl/g pakan, 0,5 µl/g pakan dan 1,5 µl/g pakan), dua faktor kondisi ikan yaitu ikan sehat dan ikan yang terinfeksi *Myxobolus*, serta tiga kali pengulangan. Parameter utama dalam penelitian adalah analisis hematokrit, hemoglobin, eritrosit, leukosit dan limfosit ikan koi setelah masa pemberian perlakuan selama 14 hari dengan dosis yang berbeda, serta parameter penunjang yaitu terdapat

kualitas air yang meliputi parameter fisika (suhu) dan parameter kimia (pH, DO dan CO₂).

Hasil penelitian dalam perlakuan pemberian kutuklin dengan dosis yang berbeda-beda yaitu pada P1 ikan myxobolus dengan kutuklin dosis 1 µl/g pakan, P2 ikan myxobolus dengan kutuklin dosis 0,5µl/g pakan, P3 ikan myxobolus dengan kutuklin dosis 1,5 µl/g pakan, P4 ikan sehat dengan kutuklin dosis 1 µl/g pakan, P5 ikan myxobolus dengan kutuklin dosis 0,5 µl/g pakan, P6 ikan myxobolus dengan kutuklin dosis 1,5 µl/g pakan. Pada ikan yang terinfeksi *Myxobolus* pemberian kutuklin 0.5 µl/g pakan memiliki nilai yang mendekati kontrol negatif, dimana artinya ketahanan respon imun humoralnya dengan uji BNT lebih besar merupakan dosis yang optimal sehingga penurunan ketahanan respon imun humoral ikan koi lebih sedikit dibandingkan dosis yang lain. Nilai dari respon imun humoral darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* speritrosit rata-rata 1.663.333 sel/mm³, leukosit 125040 sel/mm³, hemoglobin 6.5% dan hematokrit 23 % serta limfosit dengan nilai 79 %. Hasil kualitas air selama 14 hari pemeliharaan dengan dilakukan pengukuran 2 kali yaitu hari pertama dan hari ke-14. Hasil yang diperoleh termasuk optimal untuk kehidupan ikan koi pada setiap perlakuan yaitu suhu 24 – 26°C, pH 6,12 – 6,25, DO 6,15–6,21 mg/l dan CO₂ 6,12 – 6,25 mg/l.

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kutuklin dengan dosis 0.5µl/g pakan sangat berpengaruh terhadap ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terkena *Myxobolus* sp. dengan hasil ditunjukkannya respon imun humoral darah yang masih berada di kisaran optimal. Sedangkan untuk perlakuan lain menunjukkan adanya penurunan respon imun humoral darah dan adanya proliferasi limfosit. Dengan demikian perlakuan pemberian kutuklin dengan dosis 0.5µl/g pakan merupakan dosis terbaik dalam mempertahankan respon imun humoral darah tetap dalam kondisi optimal. Sedangkan untuk kualitas air bak perlakuan yang telah di beri perlakuan kutuklin tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata antara pemberian dosis kutuklin dengan kualitas air bak pengamatan.

Kata kunci: Ikan Koi, *Myxobolus* sp, Respon imun humoral darah.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT. yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan penelitian skripsi yang berjudul **“Respon Imun Humoral Darah Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Terinfeksi Parasit *Myxobulus Sp.* Melalui Treatment Kutuklin Untuk Manajemen Kesehatan Lingkungan Perairan.”**. Dibuatnya laporan penelitian skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi selaku dosen pembimbing Skripsi serta semua pihak terkait yang mendukung proses penyusunan Laporan penelitian skripsi. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dari Laporan ini, baik dari materi maupun teknik penyajiannya karena kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan Kritik dan saran yang membangun sehingga laporan penelitian skripsi ini dapat lebih bermanfaat.

Malang, 29 Maret 2019

Penulis

DAFTARISI

I.PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan penelitian.....	2
1.4 Kegunaan	3
1.5 Tempat dan Waktu.....	3
II.TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 IKAN KOI (<i>Cyprinus carpio</i>)	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Tingkah laku dan kebiasaan makan	6
2.1.4 Habitat.....	6
2.1.5 Kualitas Air	7
2.2 <i>Myxobolus</i> sp.	8
2.2.1 Klasifikasi <i>Myxobolus</i> sp.	8
2.2.2 Penyebaran dan Gejala.....	9
2.2.3 Siklus Hidup	10
2.3 Respon Imun Darah	12
2.3.1 Hematokrit	14
2.3.2 Haemoglobin	16
2.3.3 Eritrosit	18
2.3.4 Leukosit.....	19
2.3.5 Limfosit.....	21
2.4 Kutuklin.....	23
III.METODE PENELITIAN	24
3.1 Materi dan Metode Penelitian.....	24
3.2 Alat dan Bahan	24
3.3 Metode Penelitian	24
3.3.1 Data Primer	25
3.3.2 Data Sekunder	25
3.4 Teknik Pengambilan Data	25
3.4.1 Observasi	26
3.4.2 Wawancara	26
3.4.3 Partisipasi Aktif.....	26
3.5 Prosedur Praktek Kerja	26
3.5.1 Uji In-vivo Kutuklin pada Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>).....	26
3.5.2 Pengambilan Sampel Darah Ikan	27
3.5.3 Metode Mikrohematokrit	28
3.5.4 Hemoglobin dengan Metode Sahli.....	29
3.5.5 Jumlah Eritrosit.....	29
3.5.6 Leukosit.....	29

3.5.7	Limfosit.....	30
3.5.8	Kualitas air.....	31
a.	Suhu	31
a.	pH	31
b.	DO	32
c.	CO ₂	33
3.6	Analisa Data.....	34
iv.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37.
4.1	Respon Komponen Imun Darah.....	37
4.1.1	Hematokrit.....	39
4.1.2	Hemoglobin.....	39
4.1.3	Eritrosit.....	41
4.1.4	Leukosit.....	44
4.1.5	Limfosit.....	46
4.2	Respon Molekuler Perlakuan Kutuklin terhadap Pertahanan.....	48
4.3	Kualitas Air.....	51
4.3.1	Suhu.....	51
4.3.2	pH.....	52
4.3.3	DO.....	53
4.3.4	CO ₂	54
v.	KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1	Kesimpulan.....	56
5.2	Saran.....	56
	Daftar Pustaka.....	57
	LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1..Waktu Penelitian.....	3
2. Analisis Sidik Ragam.....	36
3. Analisis Of Varian (ANOVA)	37
4. Nilai Hematokrit.....	39
5. ANOVA Hematokrit.....	39
6. Uji BNT Hematokrit.....	39
7. Nilai Hemoglobin.....	41
8.ANOVA Hemoglobin.....	42
9.Uji BNT Hemoglobin.....	42
10.Nilai Eritosit.....	43
11.ANOVA Eritosit.....	43
12.Uji BNT Eritosit.....	45
13.Nilai Leukosit.....	46
14.ANOVA Leukosit.....	46
15. Uji BNT Leukosit.....	47
16. Nilai Limfosit.....	48
17 ANOVA Limfosit.....	49
18. Uji BNT Limfosit.....	49
19 Data Pengamatan Dot Blot.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	5
2. <i>Myxobolus</i> dan ikan yang terinfeksi.....	8
3. Siklus Hidup <i>Myxobolus</i>	10
4. Eritrosit Darah Ikan	14
5. Leukosit Darah Ikan	15
6. Senyawa dan enantiomer Deltamethrin	23
7. Bagan konsep kutuklin menyembuhkan ikan terinfeksi <i>Myxobolus</i>	25
8. Mekanisme kutulin menyembuhkan ikan terinfeksi <i>Myxobolus</i>	49
9. Uji Hemaglutinin Plasma Darah	50
10. Grafik pengamatan suhu	54
11. Grafik pengamatann pH	55
12. Grafik pengamatan DO	56
13. Grafik pengamatan CO ₂	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lokasi Pengambilan Sampel Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>)	66
2. Alat dan Bahan	67
3. Perhitungan Respon Imun Komponen Darah.....	73
4. Dokumentasi Penelitian	97



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lingkungan air yang mengalami penurunan kualitas akan mengakibatkan aktifitas kehidupan biota air terganggu. Penurunan kualitas air juga berpengaruh pada penurunan produk yang berdampak pada kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Kualitas air di bawah ambang batas dapat menyebabkan ikan menjadi stress yang memudahkan ikan rentan terhadap penyakit infeksi. Kualitas air merupakan salah satu faktor lingkungan yang sangat berpengaruh terhadap fisiologi organisme perairan. Kisaran kualitas air melebihi dibandingkan kisaran kebutuhan optimal menyebabkan biota perairan menjadi stress (Fujaya, 2010). Selain pada kualitas perairan yang buruk, kondisi stress dapat terjadi pada ikan yang terinfeksi patogen asing seperti parasit, bakteri dan virus.

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) merupakan ikan hias bernilai ekonomis tinggi baik di pasar nasional maupun internasional yang masih termasuk dalam kerabat ikan mas. Memiliki warna dan tubuh yang berwarna-warni serta bentuk tubuh yang indah menjadikan ikan koi sangat diminati oleh para kolektor ikan hias dan menjadi komoditas ikan hias unggulan di Indonesia. Total nilai ekspor ikan hias tahun 2011 sekitar 20 juta dollar AS, atau naik dibandingkan tahun 2009 sebesar 14 juta dolar AS. Salah satunya yaitu ikan koi (*Cyprinus carpio*) (Azmi, 2013).

Di antara agen infeksi yang merugikan dan sering menyerang ikan koi (*Cyprinus carpio*) salah satunya adalah myxosporea dari genus *Myxobolus*. *Myxobolus* terdiri dari beberapa spesies dan merupakan agen infeksi umum pada berbagai jenis ikan air tawar dengan penyebaran hampir di seluruh dunia (Nurekawati, 2014). *Myxosporeasis* atau *myxobolusis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh *Myxobolus* sp. Siklus hidup agen infeksi ini terjadi secara horizontal (tidak langsung) yang melibatkan invertebrata (*oligochaeta*)

dan sejumlah vertebrata (ikan atau amfibi). *Myxobolus* merupakan agen infeksi yang sering menyerang ikan koi (*Cyprinus carpio*). *Myxobolus* sp. dapat menyebabkan kerugian dalam budidaya ikan karena mengakibatkan kematian 60-90% dari populasi ikan yang terinfeksi (Prihatini, 2017).

Nurekawati (2014) menemukan *Myxobolus cyprinii*, *Myxobolus koi* dan *Myxobolus artus* di Magelang Jawa Tengah, pada insang ikan koi (*Cyprinus carpio*) berdasarkan bentuk dan ukuran spora. *Myxobolus* sp juga ditemukan di daerah Ngrajek kabupaten Magelang pada tahun 2006 dengan prevalensi mencapai 91%. *Myxobolus koi* di Magelang Jawa Tengah sering menyerang pada benih ikan, sehingga hal tersebut menyebabkan benih lebih rentan terinfeksi *Myxobolus koi* dari pada ikan dewasa. Infeksi *Myxobolus koi* dapat menyebabkan kematian sekitar 50% dari populasi. Hal inilah yang menyebabkan para pembudidaya ikan koi di Blitar mencari alternatif berupa obat-obatan berbahan kimia yang dapat menyembuhkan ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp salah satu adalah obat kutuklin.

Kutuklin merupakan obat berbahan kimia yang mengandung senyawa deltamethrin yang dipercayai oleh pembudidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) khususnya di Kabupaten Blitar, Kecamatan Nglegok, Desa Kemloko sebagai cara alternatif yakni obat antiparasit *Myxobolus* sp. akan tetapi hal tersebut belum teruji secara medis. Selain itu deltamethrin adalah senyawa penyusun pestisida, yang mana apabila penggunaannya berlebihan dapat menurunkan kualitas air dan dapat mengganggu sistem fisiologis dari ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian respon imun darah terhadap ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan perlakuan pemberian kutuklin sebagai antiparasit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut, maka dapat dirumuskan beberapa rumusan masalah, yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana respon imun humoral darah ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan pemberian kutuklin?
2. Bagaimana studi kesehatan pemberian kutuklin terhadap kualitas air pada bak pemeliharaan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus sp.*?

1.3 Tujuan penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi respon imun humoral darah ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan pemberian kutuklin.
2. Memberikan informasi pengaruh pemberian kutuklin terhadap kesehatan kualitas air bak pemeliharaan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus Sp.*

1.4 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini adalah sebagai sumber informasi tentang respon imun humoral darah ikan koi (*Cypinnus Carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus sp.* serta penggunaan kutuklin untuk budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang baik agar tidak mencemari lingkungan perairan.

1.5 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya dan Laboratorium Bioteknologi Perairan Fakultas

Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya pada bulan Januari-Maret 2019.

Tabel 1. Waktu Penelitian

Keterangan	2019															
	Januari				Februari				Maret				April			
Survey																
Penyusunan Proposal																
Persiapan Penelitian																
Penelitian																
Penyusunan Laporan																

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 IKAN KOI (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi ikan koi dapat dilihat seperti berikut (Saanin, 1984):

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Osteichthyes

Sub kelas : Actinopterygii

Superordo : Teleostei

Ordo : Cypriniformes

Famili : Cyprinidae

Genus : *Cyprinus*

Spesies : *Cyprinus carpio*



Gambar 1. Ikan koi (*Cyprinus carpio*) (Kusrini, 2015)

Ikan koi atau nishikigoi sebagai salah satu ikan hias yang banyak diminati karena keindahan bentuk badan serta warnanya, dan dipercaya membawa keuntungan oleh para pecinta koi di Indonesia. Jenis ikan koi yang memiliki harga cukup baik dan stabil di pasar dunia yaitu kohaku, taisho, sanshoku, showa, shiro, utsuri, shusui, asagi, goromo, goshiki, bekko, tancho, kinginrin, dan

kawarimono (Kusrini, 2015). Ikan koi (*C. carpio*) adalah ikan hias ekonomis tinggi dimana masih termasuk dalam kerabat ikan mas. Ikan koi memiliki warna tubuh yang berwarna – warni dengan berbagai jenis dan pola (Putriana, 2015).

Ikan koi sampai saat ini masih menjadi salah satu komoditas perdagangan yang cukup tinggi dalam bidang perikanan. Oleh karena itu, kehadiran koi di tengah keluarga selalu berdampak positif, artinya apabila dipelihara dalam skala besar dapat digunakan sebagai mata pencaharian sekaligus dapat menciptakan lapangan pekerjaan baru. Sedangkan bila dipelihara dalam skala kecil layaknya ikan hias, koi dapat dijadikan sarana rekreasi atau menyalurkan hobi seseorang dengan mengamati keindahan dan lenggak-lenggoknya dalam aquarium (Sutiana, 2017)

2.1.2 Morfologi

Menurut Haikal dan Mulayana (2008), morfologi ikan koi tidak jauh berbeda dengan jenis ikan yang lain. Tubuh ikan koi ditutupi oleh dua lapis kulit, yaitu kulit luar (epidermis) dan kulit dalam (dermis). Epidermis berguna untuk melindungi kulit dari lingkungan luar, seperti dari kotoran dan hama atau penyakit. Dermis mengandung pigmen atau warna seperti xantofora (kuning), melanofora (hitam), guanofora (putih kemilauan), dan eritrofora (merah).

Susanto (2001) menyatakan bahwa warna ubuh ikan koi terdapat pada lapisan dermis yang mengandung pigmen atau warna seperti kuning, hitam, merah dan putih. ikan koi memiliki mata yang berwarna merah, hitam dan terkadang sedikit keputih-putihan. Ikan koi memiliki bentuk mulut yang tidak terlalu lebar dan tidak memiliki gigi pada bagian rahang. Gigi yang digunakan untuk menghancurkan makanan terdapat pada bagian dalam kerongkongan. Hidung ikan koi berupa lekukan dan tidak berhubungan dengan alat pernapasan. Alat pernapasan berupa insang yang terdapat di kedua sisi kepala. Ikan koi

mempunyai badan seperti torpedo dengan alat gerak berupa sirip, seperti sebuah sirip punggung (dorsal fin) sepasang sirip dada (*pectoral fin*), sepasang sirip perut (*ventral fin*), sebuah sirip anus (*anal fin*) dan sirip ekor (*caudal fin*). Sirip ini terdiri dari jari-jari keras, jari-jari lunak dan selaput sirip. Jari-jari keras merupakan jari-jari sirip yang kaku dan patah bila di bengkokkan. Sedangkan jari-jari lunak agak lentur, tidak mudah patah bila dibengkokkan dan letaknya selalundi belakang jari-jari keras. Sirip punggung mempunyai tiga jari-jari keras dan dua puluh jari-jari lunak, sirip dada dan sirip ekor hanya mempunyai jari-jari lunak. Sirip perut hanya terdiri dari jari-jari lunak sebanyak Sembilan buah, sedangkan sirip anal mempunyai tiga jari-jari keras dan lima jari-jari lunak.

2.1.3 Kebiasaan makan

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) tergolong jenis omnivora, yakni organisme yang dapat memangsa berbagai jenis makanan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik. Makanan utamanya adalah tumbuhan dan binatang yang terdapat di dasar dan tepi perairan (Sentosa dan Satria, 2015). Ikan koi termasuk pemakan segala (omnivora). Makanannya berupa jasad hewan atau tumbuhan yang biasanya hidup didasar perairan. Hewan dasar tersebut seperti Cacing, Siput, dll. Ikan koi makan dengan cara mengambil lumpur, menghisap bagian-bagian yang dapat dicerna dan sisanya akan dikeluarkan. Ikan koi memberikan daya adaptasi dan laju pertumbuhan yang tinggi dengan pemberian pakan buatan (Liptan, 2000).

2.1.4 Habitat

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) adalah ikan hias air tawar yang merupakan salah satu komoditas perikanan yang saat ini sedang mendapatkan perhatian pemerintah untuk pengembangan pembudidayaannya. Ikan koi (*Cyprinus carpio*)

merupakan salah satu ikan hias air tawar yang memiliki bentuk dan warna tubuh yang menarik. Salah satu masalah yang sering dianggap sebagai penghambat dalam budidaya ikan adalah apabila ikan koi mendapat serangan penyakit dan infeksi parasit (Solichin, 2013).

Pertumbuhan ikan mas koi sangat tergantung kepada beberapa faktor yaitu jenis ikan, sifat genetis, kemampuan memanfaatkan makanan, ketahanan terhadap penyakit serta didukung oleh faktor lingkungan seperti kualitas air, pakan dan ruang gerak atau padat penebaran. Salah satu kendala dalam usaha budidaya ikan koi yaitu tingkat kelangsungan hidup yang rendah dan pertumbuhan ikan yang relatif lambat. Kondisi ini salah satunya disebabkan oleh adanya perubahan suhu atau tidak stabilnya suhu, sehingga ikan koi menjadi stres dan mati.

2.1.5 Kualitas Air

1. Parameter Fisika

a. Suhu

Menurut Pramleonita (2018), bahwa suhu yang semakin tinggi dalam suatu perairan, maka kelarutan oksigen akan semakin rendah, dan daya racun semakin tinggi. Kenaikan suhu air kolam ikan nila pada siang hari dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, cuaca, dan angin. Intensitas cahaya matahari yang masuk ke dalam permukaan dapat menyebabkan terjadinya perubahan suhu pada pagi dan siang hari. Baku mutu suhu untuk perairan budidaya telah ditetapkan melalui SNI 7550:2009 yaitu 25–32 °C. Ikan Koi dapat hidup pada kisaran suhu 28-30°C, oleh sebab itu ikan Koi dapat di pelihara di seluruh Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Sedangkan Suhu ideal untuk pertumbuhan ikan Koi adalah 15-25°C (Solichin, 2013).

2. Parameter Kimia

a. pH

Berdasarkan nilai baku mutu pH untuk kolam budidaya menurut SNI 7550 : 2009, yaitu sebesar 6,5 – 8,5. Nilai pH yang rendah mengindikasikan keadaan perairan yang asam sedangkan pH yang tinggi mengindikasikan keadaan perairan yang basa. Pada kisaran demikian segala aktivitas ikan maupun pembesaran menghasilkan nilai yang optimal (Augusta, 2016). Ikan koi bertahan hidup pada pH 6,5-8. Perubahan pH biasanya menimbulkan stres pada ikan. Kemampuan air menahan perubahan pH lebih penting daripada nilai pH itu sendiri. Ikan akan mati pada $\text{pH} < 4$; ikan tidak dapat bereproduksi pada pH 4-5; laju pertumbuhan ikan menjadi lambat pada pH 5-6; kelayakkan untuk budidaya pada pH 6,5-9; pertumbuhan ikan menjadi lambat pada pH 9-11; dan bila $\text{pH} > 11$ maka ikan akan mati (Solichin, 2013).

b. DO

Kandungan oksigen terlarut dalam tambak yang baik untuk pertumbuhan biota perairan yaitu antara 5-7 mg/l (Suparjo, 2008). Sedangkan, berdasarkan baku mutu kandungan oksigen pada perairan SNI 7550 : 2009, yaitu minimal 3 mg/L. Menurut Solichin (2013), kadar oksigen yang rendah akan mempengaruhi nafsu makan ikan dan apabila jumlah oksigen terlarut diperairan hanya 1,5 mg/l, nafsu makan ikan akan berkurang dan jika kurang dari 1,5 mg /l ikan akan berhenti makan. Apabila oksigen dalam jumlah banyak ikan-kan jarang mati, tetapi bila kandungan oksigen terlarut sangat dapat mematikan ikan, sebab didalam pembuluh – pembuluh darah terjadi emboli gas yang mengakibatkan tertutupnya pembuluh – pembuluh rambut dalam daun – daun insang. Ikan kecil masih bertahan pada DO 1,0-3,0 mg/L, namun akan mati pada DO 0,0-0,3 mg/L. Bila DO air berada pada kisaran 1,0-5,0 mg/liter, ikan akan mengalami

repository.ub.ac.id

pertumbuhan yang lambat tetapi pada DO > 5 mg/liter maka ikan akan tumbuh secara optimal.

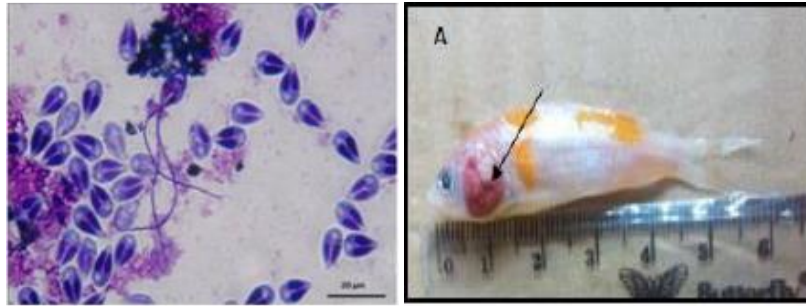
c. CO²

Suparjo (2008), menyatakan kadar karbondioksida 5 mg/l di dalam air masih dapat ditoleransi oleh hewan air. Kandungan CO² yang baik untuk ikan minimal 4 mg/L (Pramleonita, 2018). Konsentrasi CO² yang tinggi akan berdampak pada ginjal ikan. Ikan dapat hidup dengan baik pada konsentrasi CO² di bawah 10 mg/l. Pada konsentrasi 20 mg/l, CO₂ dapat mempengaruhi metabolisme ikan. Jika terjadi kekurangan oksigen, ikan akan mengambil langsung oksigen dari udara bebas. Karbondioksida mempengaruhi pH air, karena bereaksi dengan air yang membentuk asam lemah (asam karbonat). Asam karbonat akan terdesosiasi menjadi bikarbonat dan ion hidrogen (H⁺) yang bersifat asam serta karbonat (Supono, 2015).

2.2 Myxobolus sp.

2.2.1 Klasifikasi *Myxobolus* sp.

Myxosporeasis atau *myxobolusis* merupakan penyakit parasit yang disebabkan oleh *Myxobolus* sp. Siklus hidup parasit ini terjadi secara horizontal (tidak langsung) yang melibatkan invertebrata (*oligochaeta*) dan sejumlah vertebrata (ikan atau amfibi). Perkembangan spesies ini cukup pesat selama 30 tahun terakhir khususnya di sector perikanan budidaya, dan masuk kedalam pathogen ikan yang perlu diwaspadai keberadaannya di perairan karena dapat menyebabkan kerugian ekonomi (Kent *et al.*, 2001). *Myxobolus* sp. dapat menyebabkan kerugian dalam budidaya ikan karper karena mengakibatkan kematian 60-90% dari populasi ikan yang terinfeksi.



Gambar 2. (Kanan) *Myxobolus* sp. dan (Kiri) benih an yang teinfeksi *Myxobolus*(Nurekawati, 2014)

Klasifikasi *Myxobolus* menurut Hoffman (1999) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Myxozoa

Class : Myxosporidia

Ordo : Bivalvulida

Familia : Myxobolidae

Genus : *Myxobolus*

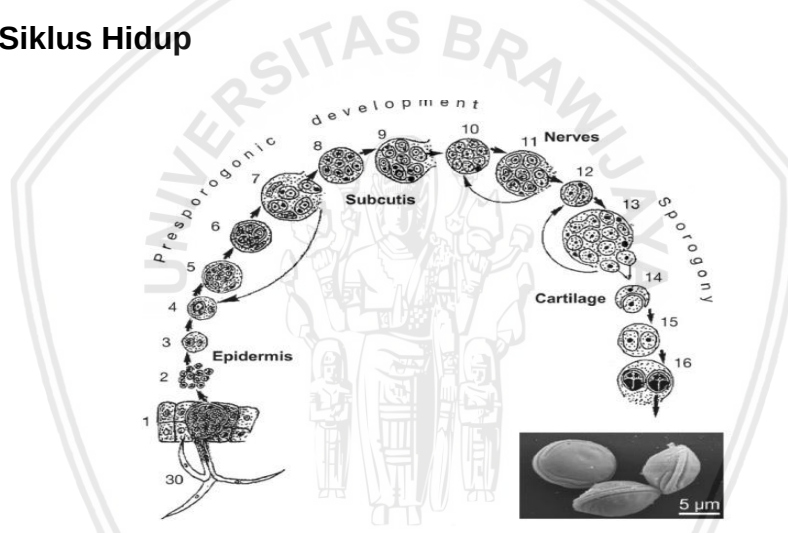
Spesies : *Myxobolus koi*

2.2.2 Penyebaran dan Gejala

Myxobolus sp. masuk di Indonesia sejak tahun 1952 di Jawa Tengah dan membunuh ribuan benih ikan Mas. Ikan yang terserang *Myxobolus* sp. Menurut Pramono (2008) akan menunjukkan gejala klinis nodul berwarna putih kemerahan pada insang, yang berisi kumpulan dari ribuan spora. Pada saat sporater makan oleh inang, maka spora akan pecah sehingga mengeluarkan sporoplasma yang akan bergerak secara amoeboid masuk kedalam aliran darah dan terbawa keseluruh jaringan tubuh inang menuju inang target. Gejala klinis lain yang terlihat adalah operkulum yang tidak dapat menutup apabila ikan terinfeksi berat.

Menurut Prihartini (2017), ikan Koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. biasanya akan terganggu proses pernafasannya, selain itu keberadaan nodul pada insang akan membuatkan kehilangan keseimbangan dan mengakibatkan ikan berenang secara spiral mulai dari dasar hingga kepermukaan perairan. Dampak dari infestasi *Myxobolus* sp. bergantung pada tingkat infestasi dan lokasi kista. Infestasi besar yang terjadi pada insang menyebabkan kematian jaringan (*necrosis*) dan tidak berfungsinya pernafasan. Infeksi yang terjadi pada usus, akan menyebabkan myolitic pada dinding usus. Pengamatan patologi anatomi berdasarkan gejala klinis dapat membantu dalam proses diagnosis.

2.2.3 Siklus Hidup



Gambar 3. Siklus hidup *Myxobolus* sp. (Sarker, 2015)

Siklus hidup *Myxobolus cerebralis*: berawal dari pertumbuhan myxospores pada insang ikan. Tahapan 1 dan 2 terjadi interepithelially diepidermis, Tahapan 3–7 terjadi secara intraepitel di epidermis, Tahapan 8 dan 9 terjadi antar sel dalam subkutis, Tahapan 10–12 terjadi pada jaringan saraf dan Tahapan 12–16 terjadi pada tulang rawan. Tahap 1: sporoplasma triactinomyxon kompak di antaryasel epitel. Tahap 2: sel sporoplasma bebas interepitelial yang masing-masing menembus sel epitel seperti yang terlihat pada tahap 3. Tahap 4: pembelahan sel endogen intraseluler dari parasit yang menghasilkan

sel primer dan sekunder. Tahap 5: banyak sel sekunder yang dihasilkan dari pembelahan mitosis. Tahap 6: pembelahan endogen sel sekunder yang memproduksi doublet sel. Tahap 7: sel doublets menghancurkan membran agregat dan menembus plasmalemma sel inang, kemudian menembus epitel lainnya sel atau bermigrasi lebih dalam ke dermis dan subkutis. Tahap 8: pertumbuhan sel-sel doublet sel dalam subkutis melalui mitosis. Tahap 9: pembagian endogen dalam subkutis. Stadium 1 dan 11 mirip dengan Stadium 8 dan 9, tetapi terjadi pada jaringan saraf. Tahap 12: triplet dalam sistem saraf pusat dan tulang rawan. Tahap 13: plasmodium di kartilago kepala. Tahap 14: pembentukan anaplasmodium yang timbul dari penyatuan sel pericyte dan spora. Tahap 15: pembagian endogen sporogonik sel yang menghasilkan 2 sel sporoblast yang selanjutnya membelah menghasilkan 2 spora *M. cerebralis* di dalam anaplasmodium seperti yang terlihat pada Tahap 16. Inset: Mature myxospores (SEM) (Sarker, 2015).

2.3 Respon Imun Humoral Darah

Menurut Utami (2017), untuk mencegah agar ikan terhindar dari penyakit atau polutan maka salah satu pemeriksaan kesehatan yang dilakukan adalah pemeriksaan darah. Darah merupakan bagian dari sistem sirkulasi yang berfungsi dalam mengangkut oksigen, karbondioksida dan nutrisi yang dibutuhkan oleh tubuh. Bentuk dan ukuran sel darah terutama eritrosit sangat berpengaruh terhadap volume pengangkutan oksigen. Sel darah pada ikan berbentuk oval mempunyai volume oksigen lebih besar dibandingkan bentuk *bikonkaf* karena bentuk oval lebih banyak ruang dalam pengangkutan oksigen. Pemeriksaan darah dapat membantu untuk memantapkan tujuan diagnostik, seperti mengevaluasi kondisi ikan, menguji

efek zat beracun pada ikan, menguji pantas tidaknya makanan untuk ikan dan mengevaluasi efek tekanan situasi. Respon imun terhadap benda asing secara garis besar dibagi dalam dua sistem utama, yaitu *innate* / non spesifik/bawaan dan adaptif/*acquired* atau imunitas spesifik. Imunitas adaptif akan bekerja apabila imunitas bawaan (*innate*) tidak dapat meniadakan infeksi dalam waktu dekat/pendek. Selanjutnya, pada saat serangan kedua benda asing ke dalam tubuh, sel B dan T memori akan membantu sistem imun beraksi lebih cepat. Imunitas bawaan (*innate*)/non spesifik terdiri dari garis pertahanan epitel,

Bila kesehatan tubuh ikan menurun maka ikan akan mengalami stress sehingga menurunkan kemampuannya untuk mempertahankan diri dari serangan penyakit. Stress dapat mengganggu sistem imunitas yang berdampak negatif pada pertumbuhan ikan. Adanya infeksi patogen pada ikan dapat memberikan pengaruh pada komposisi darah dan imunitas (Syawal, 2016). Pada beberapa keadaan patologik, sistem imun ini membentuk zat anti terhadap jaringan tubuhnya sendiri yang disebut autoantibodi. Apabila sistem imun terpapar pada zat yang dianggap asing, maka ada dua jenis respons imun yang mungkin terjadi yaitu respon imun nonspesifik dan respons imun spesifik.

Menurut Yunarko (2014), mekanisme respon imun yang didapat yang disebutkan di atas berlangsung sangat kompleks dan belum sepenuhnya dimengerti. Namun secara kronologis, imunitas yang didapat ini berlangsung dalam dua tahap:

1. Tahap pertama

Menghasilkan kemampuan untuk membatasi kelainan klinis, walaupun jumlah parasit di dalam darah masih tinggi.

2. Tahap kedua

Menghasilkan kemampuan untuk menekan jumlah parasit di dalam darah. Tahap

kedua ini bersifat spesifik untuk spesies dan stadium parasit tertentu, dan terutama bekerja terhadap stadium aseksual dalam sel darah merah.

2.4 Komponen Imun Darah

Respon imun terhadap unsur-unsur patogen sangat bergantung pada kemampuan sistem imun untuk mengenal molekul-molekul asing atau antigen yang terdapat pada permukaan unsur patogen dan kemampuan untuk melakukan reaksi yang tepat untuk menyingkirkan antigen. Kemampuan ini dimiliki oleh komponen-komponen sistem imun yang terdapat dalam jaringan limforetikuler yang letak tersebar di seluruh tubuh, misalnya disusut tulang belakang, kelenjar limfa, limfa, thymus, sistem saluran nafas, saluran cerna dan organ-organ lain. Sel-sel yang terdapat dalam jaringan ini berasal dari sel induk dalam sumsum tulang yang berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel kemudian beredar dalam tubuh melalui darah, limfa, serta jaringan limfoid, dan dapat menunjukkan respon terhadap suatu rangsangan sesuai dengan sifat dan fungsi masing-masing (Yasirin, 2014).

Profil darah (hematokrit, leukosit, limfosit, dan granulosit) dapat digunakan untuk mengevaluasi respon fisiologi pada ikan. Respon stres pada hewan dapat dilihat dari perubahan kadar hormon kortisol, glukosa darah, hemoglobin, dan hematokrit. Dalam kondisi stres terjadi perubahan jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin, sedangkan jumlah leukosit cenderung meningkat (Royan, 2014).

2.4.1 Hematokrit

Pemeriksaan hematokrit adalah pemeriksaan khusus yang dilakukan di laboratorium, dimana hasil pemeriksaan tersebut dapat bervariasi antara satu orang dengan orang lain. Dalam bahasa asing hematokrit sering diistilahkan

dengan nama PCV (Packed Cell Volume), HCT (Hematokrit), PRCV (Packed Red Cell Volume), VPRC (Volume of Packed Red Cell). (Maxwell M, Wintrobe, 1974).

Hematokrit adalah angka yang menunjukkan persentase zat padat dalam darah terhadap cairan darah. Hematokrit digunakan mengukur perbandingan antara eritrosit dengan plasma, sehingga hematokrit memberikan rasio total eritrosit dengan total volume darah dalam tubuh. Nilai hematokrit dipengaruhi oleh ukuran dan jumlah eritrosit (Dosim *et al.*, 2013).

Profil darah (hematokrit, leukosit, limfosit, dan granulosit) dapat digunakan untuk mengevaluasi respon fisiologi pada ikan. Respon stres pada hewan dapat dilihat dari perubahan kadar hormon kortisol, glukosa darah, hemoglobin, dan hematokrit. Dalam kondisi stres terjadi perubahan jumlah eritrosit, nilai hematokrit dan kadar hemoglobin, sedangkan jumlah leukosit cenderung meningkat (Royan, 2014).

2.4.2 Haemoglobin

Haemoglobin adalah komponen molekul protein sel darah merah yang menyalurkan oksigen ke seluruh tubuh. Pada haemoglobin terdapat zat besi yang membuat darah berwarna merah. Zat besi merupakan bahan pembuat sel darah merah. Haemoglobin diukur secara kimiawi serta jumlah Hb per 100 ml darah dapat digunakan sebagai indeks kapasitas pembawa oksigen dalam darah. Kadar haemoglobin adalah ukuran pigmen respiratorik yang terdapat dalam sel-sel darah merah, digunakan sebagai parameter terjadinya anemia. Haemoglobin dapat diukur dengan berbagai metode antara lain metode sahli, metode oksihemoglobin dan metode sianmethemoglobin. Metode sianmethemoglobin merupakan metode yang direkomendasikan oleh

International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) (Kusumawati *et al*, 2018).

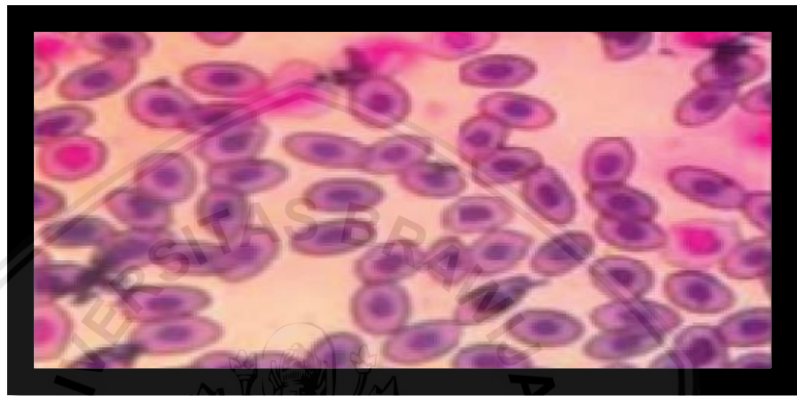
Hemoglobin adalah komponen utama sel darah merah atau eritrosit yang terdiri dari globin dan heme terdiri dari cincin porfirin dengan satu atom besi (ferro). Globin terdiri atas 4 rantai polipeptida yaitu 2 rantai polipeptida alfa/ α dan 2 rantai polipeptida beta/ β . Rantai polipeptida alfa terdiri dari 141 asam amino dan rantai polipeptida beta terdiri dari 146 asam amino. Sel darah merah mengandung hemoglobin yang memungkinkan sel darah merah membawa oksigen ke seluruh jaringan tubuh. Rendahnya eritrosit akan menyebabkan ikan tidak mampu mengambil oksigen dalam jumlah banyak walaupun ketersediaan oksigen di perairan mencukupi. Akibatnya ikan akan mengalami anoxia (kekurangan oksigen) (Rahma, 2015).

2.4.3 Eritrosit

Eritrosit berbentuk bulat gepeng yang kedua permukaannya cekung. Eritrosit tidak memiliki inti sel dan mengandung hemoglobin. Eritrosit normal kelihatan bundar dengan diameter 7,5 μm dengan ketebalan tepi 2 μm . Dari samping Eritrosit kelihatan berbentuk seperti cakram dengan kedua permukaannya cekung (biconcav disk). Eritrosit disebut juga discocyte karena bentuknya seperti cakram. Tengah-tengah cakram tersebut lebih tipis dengan ketebalan 1 μm . Bentuk biconcav ini menyebabkan hemoglobin terkumpul lebih banyak di bagian tepi sel. Oleh sebab itu, bagian tepi eritrosit kelihatan lebih merah (oksisifilik) dari bagian sentralnya. Bagian sentral yang kelihatan lebih pucat disebut akromia sentral yang luasnya antara 1/3-1/2 kali diameter.

Eritrosit (sel darah merah) pada hakikatnya adalah kantung hemoglobin terbungkus membran plasma yang mengangkut O_2 dalam darah (Fitryadi, 2016). Kerusakan bentuk pada membran eritrosit dapat mempengaruhi masa hidup

eritrosit. Membran eritrosit mengandung dua lapisan fosfolipid (bilayer) dengan molekul kolesterol tidak teresterifikasi berada di antara rantai asam lemak. Membran tersebut juga terdiri atas protein membrane integral yang masuk ke dalam bagian lemak dan mempertahankan bilayer serta protein skeletal yang membentuk atau menempel pada permukaan dalam lapisan ganda lipid (Setyaningtjas, 2010).



Gambar 4.Eritrosit darah ikan (Utami, 2015)

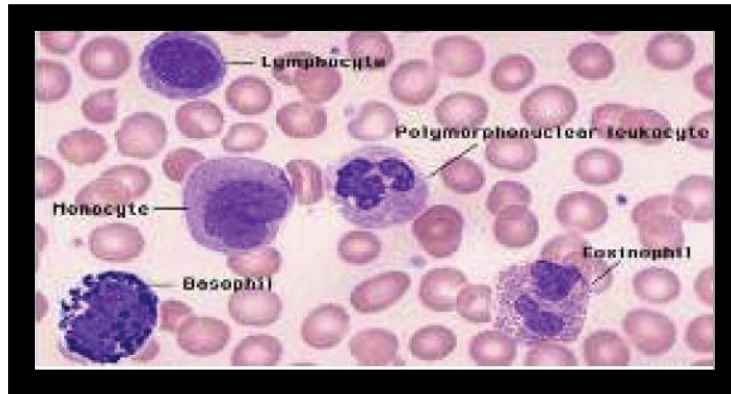
2.4.4 Leukosit

Leukosit adalah sel darah yang mengandung inti, disebut juga sel darah putih. Leukosit secara normal dapat ditemukan di dalam darah sebagai leukosit granulosit (leukosit bergranul) dan leukosit agranulosit (leukosit tidak bergranul). Leukosit granulosit dicirikan oleh adanya granular spesifik dalam sitoplasma dan berdasarkan dengan reaksi zat warna dikelompokkan menjadi neutrofil, eosinophil, dan basofil. Leukosit berfungsi sebagai sel pertahanan tubuh. Leukosit akan memfagositosis seluruh benda asing pada tubuh dalam proses kesembuhan luka.

Leukosit atau sel darah putih merupakan unit yang aktif dari sistem pertahanan tubuh dalam melawan mikroorganisme. Jumlah leukosit pada umumnya dipengaruhi oleh jumlah netrofil ataupun limfosit dalam sirkulasi darah,

karena kedua tipe leukosit tersebut jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan leukosit tipe lain. Leukosit merupakan sel dan struktur dalam tubuh organisme yang didistribusikan ke seluruh tubuh dengan fungsi utamanya melindungi organisme terhadap invasi dan pengrusakan oleh mikroorganisme dan benda asing lainnya. Sel-sel limfosit ini, mempunyai kemampuan untuk membedakan dirinya sendiri (makromolekuler organisme sendiri) dari yang bukan diri sendiri (benda asing) dan mengatur penghancuran dan inaktivasi dari benda asing yang mungkin merupakan molekul yang terisolasi atau bagian dari mikroorganisme. Semua leukosit berasal dari sumsum tulang, kemudian mengalami kematangan pada organ limfoid lainnya (Rafdinal, 2016).

Leukosit terdiri dari dua golongan utama, yaitu agranular dan granular. Terdapat dua jenis leukosit agranular yaitu limfosit yang terdiri dari sel-sel kecil dengan sitoplasma sedikit, dan monosit yang terdiri dari sel-sel yang agak besar dan mengandung sitoplasma lebih banyak. Terdapat tiga jenis leukosit granular yaitu eosinofil, neutrofil, dan basofil (Nusa, 2015). Leukosit terkait dengan fungsinya sebagai komponen darah yang berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh. Meningkatnya jumlah leukosit merupakan sinyal infeksi yang disebabkan oleh bahan kimia tertentu yang masuk ke dalam tubuh. Dalam cara kerjanya sel leukosit yang telah terbentuk akan bermigrasi ke organ yang rusak dan kemudian terlibat dalam penghancuran sel-sel yang telah rusak dan mati (Sari, 2016).



Gambar 5. Leukosit darah ikan (Anjasari, 2012)

2.4.5 Sel Limfosit

Limfosit dalam darah berukuran sangat bervariasi sehingga pada pengamatan sediaan apus darah dibedakan menjadi: limfosit kecil (7-8 μm), limfosit sedang dan limfosit besar (12 μm). Jumlah limfosit menduduki nomor 2 setelah netrofil yaitu sekitar 1000-3000 per mm^3 darah atau 20-30% dari seluruh leukosit. Diantara 3 jenis limfosit, limfosit kecil terdapat yang paling banyak. Limfosit mempunyai kedudukan yang penting dalam sistem imunitas tubuh, sehingga sel-sel tersebut tidak saja terdapat dalam darah, tetapi dalam jaringan khusus yang dinamakan jaringan limfoid. Berbeda dengan sel-sel leukosit yang lain, limfosit setelah dilepaskan dari sumsum tulang belum dapat berfungsi secara penuh oleh karena harus mengalami differensiasi lebih lanjut. Apabila sudah masak sehingga mampu berperan dalam respons imunologik, maka sel-sel tersebut dinamakan sebagai sel imunokompeten. Peningkatan prosentase limfosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam mengembangkan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan. Pada dasarnya sel limfosit terdiri dari dua populasi : sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sedangkan sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respon imun (sel T

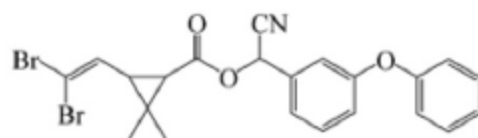
supresor). Limfosit yang teraktivasi akan berdiferensiasi dari sel kognitif yang mengenal antigen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan anti gen menjadi sel efektor yang berfungsi menyingkirkan antigen (Rahma, 2015).

Limfosit berperan sebagai sistem imun yang spesifik. Imunitas spesifik hanya ditujukan terhadap antigen tertentu yaitu antigen yang merupakan ligannya. Di samping itu, respons imun spesifik juga menimbulkan memori imunologis yang akan cepat bereaksi bila host terpajan lagi dengan antigen yang sama dikemudian hari. Pada imunitas didapat, akan terbentuk antibodi dan limfosit efektor yang spesifik terhadap antigen yang merangsangnya sehingga terjadi eliminasi antigen. Sel yang berperan dalam imunitas didapat ini adalah sel yang mempresentasikan antigen (*APC= antigen presenting cell = makrofag*) sel limfosit T dan sel limfosit B. Sel limfosit T dan limfosit B masing-masing berperan pada imunitas seluler dan imunitas humoral (Nusa,2014).

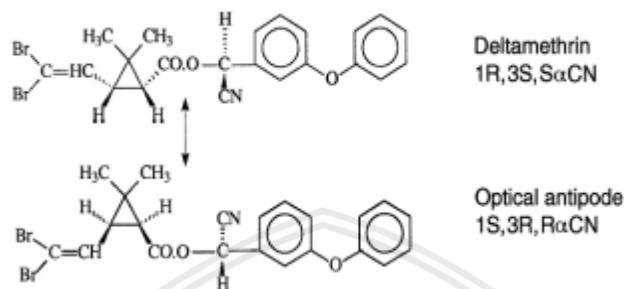
2.5 Kutuklin

Kutuklin merupakan nama dari produk komersil berupa obat yang digunakan oleh pembudidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) khususnya di Kabupaten Blitar, Kecamatan Nglegok, Desa Kemloko. Kutuklin dipercaya oleh pembudidaya ikan koi dapat menyembuhkan ikan yang terkena parasit. Kutuklin memiliki beberapa kandungan senyawa aktif, salah satunya ialah deltametrin.

Menurut Meilin (2018), deltametrin merupakan salah satu insektisida piretroid yang masih banyak digunakan di Indonesia. Aplikasi insektisida piretroid secara terus menerus dapat menyebabkan polusi insektisida pada lingkungan. Polusi ini dapat menghambat perkembangan populasi serangga melalui gangguan sistem syaraf.



(a)



(b)

Gambar 6. (a) senyawa deltametrin, (b) enantiomer deltamethrin (Fitriadi,2016)

Deltametrin merupakan bahan kimia aktif yang biasanya terkandung pada insektisida. Penggunaan insektisida akan meninggalkan residu yang dapat mengganggu keberlangsungan hidup serangga herbivor dan musuh alami, termasuk parasitoid. Residu. insektisida yang aplikasikan untuk mengendalikan serangga hama memiliki dampak yang tidak baik terhadap kehidupan musuh alami, termasuk parasitoid. Aplikasi insektisida deltametrin konsentrasi subletal dapat mempengaruhi sistem syaraf, perilaku, penurunan populasi dan biologi parasitoid (Meilin, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Materi dan Metode Penelitian

Materi Penelitian kegiatan respon imun darah ikan koi terinfeksi *Myxobolus* sp. pada kolam budidaya Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di desa Klemoko, Blitar diantaranya meliputi kualitas air, hematokrit, haemoglobin, eritrosit, leukosit dan limfosit.

3.2 Disien Penelitian

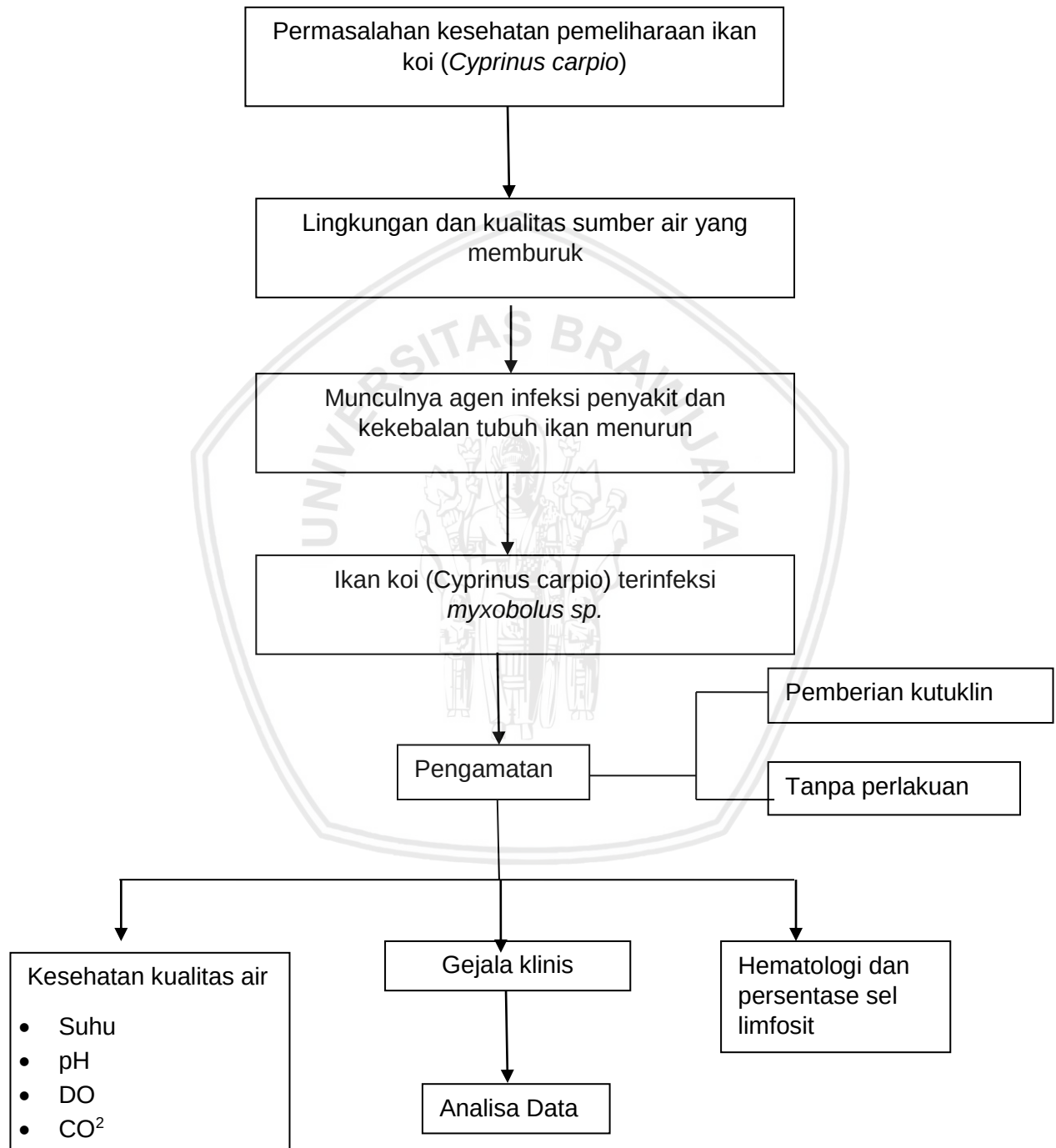
Penelitian ini merupakan penelitian quasi eksperimen, dengan menggunakan analisis data kuantitatif. Menurut Yatim Riyanto (1996:28-40), penelitian eksperimen merupakan penelitian yang sistematis, logis, dan teliti didalam melakukan kontrol terhadap kondisi. Sedangkan Sugiyono (2010:72) menyatakan bahwa penelitian eksperimen adalah metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali. Dari pendapat tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa penelitian eksperimen adalah penelitian dengan melakukan percobaan terhadap kelompok eksperimen, kepada tiap kelompok eksperimen dikenakan perlakuan-perlakuan tertentu dengan kondisi-kondisi yang dapat di kontrol.

Metode Penelitian Kuantitatif, sebagaimana dikemukakan oleh Sugiyono (2010:14) dapat diartikan sebagai metode penelitian yang berlandaskan pada filsafat positivisme, digunakan untuk meneliti pada populasi atau sampel tertentu, teknik pengambilan sampel pada umumnya dilakukan secara random, pengumpulan data menggunakan instrumen penelitian, analisis data bersifat kuantitatif/statistik dengan tujuan untuk menguji hipotesis yang telah ditetapkan, sedangkan data kuantitatif adalah data yang berbentuk angka, atau data kualitatif yang diangkakan. Sehingga dalam penelitian kuantitatif, sesuai dengan namanya

repository.ub.ac.id

banyak dituntut menggunakan angka, mulai dari pengumpulan data, penafsiran terhadap data tersebut serta penampilan dari hasilnya (Arikunto:2006).

3.3 Kerangka Konsep



Gambar 7. Bagan kerangka konsep

3.4 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam Penelitian ini adalah (Lampiran 2):

3.5 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam Penelitian adalah metode deskriptif. Menurut Suryana (2010), menyebutkan bahwa metode deskriptif adalah sebuah metode yang digunakan untuk mencari suatu hal seperti ciri ataupun sifat dari fenomena atau masalah yang ada dengan menggunakan teknik survey, studi kasus, studi komparatif, studi tentang waktu dan gerak, analisis tingkah laku dan analisis dokumenter. Penelitian deskriptif dapat mendeskripsikan sesuatu keadaan saja, namun juga dapat mendeskripsikan keadaan dalam tahap-tahap perkembangannya.

3.5.1 Data Primer

Sumber data yang diperlukan dalam Penelitian ini adalah data primer dan data sekunder. Data primer adalah data yang diperoleh langsung dari sumber pertama yaitu individu atau perseorangan yang membutuhkan pengelolaan lebih lanjut (Wandansari, 2013). Data primer dalam Penelitian ini meliputi data tentang parameter kualitas air kolam budidaya Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di Blitar dan data tentang respon imun darah ikan yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan perlakuan kutuklin.

3.5.2 Data Sekunder

Menurut Wandansari (2013), data sekunder adalah data primer yang telah diolah lebih lanjut dan disajikan dengan baik oleh pihak pengumpul data primer atau pihak lain. Data sekunder dalam Penelitian ini meliputi data yang diperoleh dari laporan skripsi, PKL, buku dan jurnal yang berhubungan dengan

respon imun darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan perlakuan kutuklin.

3.6 Teknik Pengambilan Data

Teknik pengambilan data yang digunakan dalam Penelitian ini dilakukan dengan cara observasi, wawancara dan partisipasi aktif di lapangan.

3.6.1 Observasi

Menurut Djaelani (2013), metode observasi dilakukan dengan cara mengamati perilaku, kejadian atau kegiatan orang atau sekelompok orang yang diteliti, kemudian mencatat hasil pengamatan tersebut untuk mengetahui apa yang sebenarnya terjadi. Pengambilan data secara observasi dilakukan dengan pengamatan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di kolam perlakuan.

3.6.2 Wawancara

Pengumpulan data dengan wawancara merupakan kegiatan yang dilakukan untuk mendapatkan informasi secara langsung dengan mengajukan pertanyaan antara pewawancara dengan yang diwawancarai. Wawancara digunakan untuk menggali lebih dalam lagi data yang didapat dari observasi (Djaelani, 2013).

Metode wawancara yang akan dilakukan dalam Penelitian ini yaitu dengan bertanya secara langsung kepada pembimbing lapang dan kelompok tani di Desa Kemloko, Blitar. Hal ini dilakukan untuk mendapat informasi secara langsung dengan memberikan pertanyaan yang meliputi struktur organisasi, sejarah berdirinya kelompok tani, sarana dan prasarana serta kegiatan untuk mengetahui Identifikasi agen infeksi berupa *Myxobolus* sp.

3.6.3 Partisipasi Aktif

Partisipasi aktif adalah melakukan observasi dimana peneliti terlibat aktif dalam kegiatan yang diteliti (Djaelani, 2013.). Partisipasi aktif dilakukan dengan

mengikuti secara langsung rangkaian kegiatan meliputi persiapan alat dan bahan, sterilisasi peralatan yang digunakan untuk pada penelitian respon imun darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan perlakuan kutuklin, .

3.7 Prosedur Praktek Kerja

Adapun prosedur dalam Penelitian adalah sebagai berikut:

3.7.1 Uji In-vivo Kutuklin pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

Uji kutuklin dilakukan dengan berbagai variasi dosis. Penelitian ini menggunakan 180 ekor ikan koi yang dibagi ke dalam 5 perlakuan dengan 3 kali ulangan. Pengujian dilakukan dengan metode pemberian pakan yaitu menambahkan deltamethrin pada pakan ikan koi, pemberian deltamethrin dengan 3 dosis yang berbeda yaitu, 1 $\mu\text{l/g}$ pakan, 0,5 $\mu\text{l/g}$ pakan dan 1,5 $\mu\text{l/g}$ pakan. Sebelum diberi perlakuan, ikan diaklimatisasi untuk mencegah terjadinya stress dan agar ikan dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru. Proses aklimatisasi ini dilakukan selama 24 jam.

Aklimatisasi dilakukan dengan cara memasukkan kantong plastik berisi ikan kedalam calon media pemeliharaan. Kantong dibiarkan mengapung selama 10-15 menit, setelah itu ikatannya dibuka dan ikan dibiarkan keluar dari plastik dengan cara menenggelamkan setengah mulut plastik sehingga ikan keluar dengan sendirinya. Pemberian pakan dilakukan dua kali dalam sehari yaitu pada pukul 07.00 WIB dan 15.00 WIB. Pemberian pakan dilakukan secara adlibitum yaitu memberikan pakan ke dalam perairan sedikit demi sedikit hingga ikan kenyang. Pemberian pakan ini bertujuan untuk menghindari penumpukan sisa pakan didasar perairan

3.7.2 Pengambilan Sampel Darah Ikan

Prosedur pengambilan darah ikan Koi (*Cyprinus carpio*) mengacu pada Svobodova dan Vyukusova (1991), sebagai berikut:

1. Membius ikan koi menggunakan larutan anastesi.
2. Menyiapkan mikro spuit lengkap dengan jarumnya, hisap larutan antikoagulan sampai memenuhi seluruh dinding syringe.
3. Mengeluarkan larutan antikoagulan (Na Citrat 3,8%) dari spuit, sisakan larutan heparin tersebut sebanyak $\pm 50 \mu\text{l}$ dalam spuit.
4. Menusukkan jarum/spuit dan jarumnya yang telah berisi larutan antikoagulan pada garis linea lateralis.
5. Memasukkan jarum kedalam musculus sampai mencapai tulang belakang (*columna spinal*).
6. Memastikan tidak ada gelembung air yang masuk kedalam spuit, kemudian ditarik perlahan-lahan sampai darah masuk kedalam spuit.
7. Setelah mendapatkan sampel darah, kemudian memasukkan darah ke dalam tabung ependof.

3.7.3 Metode Mikrohematokrit

Menurut Samsisko (2013), pengukuran hematokrit dapat dilakukan dengan metode mikrohematokrit yang dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Sampel darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam oppendorf.

2. Kemudian, memasukkan pipa kapiler dan miringkan sebanyak 45° tunggu hingga darah naik ke pipa kapiler dengan sendirinya.
3. Menyisakan kedua ruas kosong di ujung pipa kapiler dengan cara menyeimbangkannya secara horizontal.
4. Lalu, menutupi kedua ruas kosong di ujung pipa kapiler dengan malan hingga rapat, agar darah tidak keluar
5. Kemudian, meletakkan pipa kapiler di sentrifuse dengan posisi antar pipa kapiler harus berhadapan lurus dengan pasangan pipa kapiler yang lain
6. Mensentrifuse pipa kapiler tersebut dengan kecepatan 12000 rpm selama 4 menit.
7. Setelah itu mengambil dan mencocokkan pipa kapiler darah yang tidak lisis (berwarna merah keseluruhan) dengan kertas persentase indikator hematokrit.

3.7.4 Hemoglobin dengan Metode Sahli

Menurut Rosidah (2016), prinsip yang digunakan dalam pemeriksaan hemoglobin pada metode Sahli yaitu dengan membandingkan warna asam hematin coklat yang telah di rubah dari hemoglobin dengan asam klorida 0,1N dengan cara membandingkan pada alat standart hemoglobinometer. Seperti berikut ini:

1. Menyiapkan alat dan bahan yang akan dipakai.
2. Kemudian, mengisi tabung haemometer dengan larutan HCl 0,1N hingga tanda 2.
3. Lalu, menghisap darah dengan pipet sahli sampai tanda 20 μ l.
4. Membuang darah yang berlebih dengan tissue dan darah dimasukkan ke dalam tabung haemometer.
5. Larutan HCl digunakan untuk membilas di dalam tabung haemometer.

6. Setelah menunggu 2 menit akan terjadi pembentukan asam hematin.
7. Kemudian menambahkan aquades hingga warna sama dengan standart dan dibaca dalam gr/dl.

3.7.5 Jumlah Eritrosit

Berdasarkan Pal & Pal (2006), pengukuran jumlah eritrosit dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Menghisap darah yang sudah dikoleksi dalam tabung eppendorfdengan menggunakan pipet toma yang telah dipasang aspirator sampai dengan skala 0.5.
 2. Kemudian, menghisap larutan hayem dengan menggunakan pipet yang sama sampai dengan skala 101, kemudian menghoogenkan selama 2 menit agar larutan menjadi homogen.
 3. Membuang 3 tetes pertama pada tisu, kemudian teteskan pada haemocytometer yang dan ditutup dengan cover glass.
 4. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. kemudian hitung jumlahnya pada 5 bidang pandang kotak yang berada di tengah.
- Dan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Eritrosit (sel/mm}^3\text{)} = N \times 10^4$$

3.7.6 Leukosit

Berdasarkan Pal & Pal (2006), pengukuran jumlah eritrosit dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Menghisap darah yang sudah dikoleksi dalam tabung eppendorfdengan menggunakan pipet toma yang telah dipasang aspirator sampai dengan skala 0.5.
2. Kemudian, menghisap larutan hayem dengan menggunakan pipet yang sama sampai dengan skala 101, kemudian menghoogenkan selama 2 menit agar larutan menjadi homogen.
3. Membuang 3 tetes pertama pada tisu, kemudian teteskan pada haemocytometer yang dan ditutup dengan cover glass.
4. Mengamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. kemudian hitung jumlahnya pada 4 bidang pandang kotak yang berada di ujung. Dan hitung menggunakan rumus:

$$\text{Leukosit (sel/mm}^3\text{)} = N \times 50$$

3.7.7 Persentase Limfosit

Pengukuran limfosit mengacu pada Pal& Pal (2006), dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

1. Mengoleskan sampel darah diperoleh dari vena caudal sampel ikan koi (*Cyprinus carpio*) pada slide yang bersih.
2. Kemudian mengfiksasi dalam metanol pa selama 20 menit, slide dibiarkan kering udara dan dilanjutkan dengan pewarnaan Giemsa 10% selama 25 menit.
3. Mengamati dilakukan menggunakan mikroskop Olympus
4. Kemudian dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{persentase Limfosit} = \frac{L}{100} \times 100\%$$

3.7.8 Uji hemagglutinin

Langkah-langkah uji hemagglutinasinya menurut Yanuhar *et al.* (2012) adalah sebagai berikut:

1. Darah ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. diisolasi menggunakan jarum suntik Terumo Syringe 1 cc dengan pemberian larutan EDTA 10%
2. Ditambahkan PBS (Phosfat Buffer Salin) dan dihomogenkan. Lalu disentrifuge pada 3500 rpm selama 10 menit.
3. Eritrosit yang diperoleh dari sedimen hasil sentrifuge diencerkan dengan PBS (1:200) untuk dilakukan uji hemagglutinasinya yang dilakukan menggunakan micro plate V.
4. Protein *Myxobolus* sp. dimasukkan sebanyak 50 μ l untuk diencerkan dengan menggunakan larutan buffer lisis.
5. Semua eritrosit yang telah diencerkan ditambahkan ke dalam masing-masing V, dihomogenkan dan diamati reaksi respon aglutinasi setidaknya setelah 20 menit.
6. Reaksi positif ditandai dengan tidak adanya sedimentasi eritrosit (dalam bentuk titik) di dalam V.

3.7.9 Kualitas air

Parameter Fisika

a. Suhu

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran suhu menggunakan Termometer Hg adalah sebagai berikut:

1. Termometer Hg dimasukkan kedalam perairan dengan membelakangi matahari, dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu.
2. Skala termometer dibaca dengan caramengangkat termometer, dan jangan sampai tangan menyentuh bagian air raksa termometer.
3. Hasil skala yang ada dalam °C dicatat.

Parameter Kimia

a. pH

pH dapat diukur menggunakan pH meter (Pratama *et al.*, 2017). Adapun langkah-langkahnya sebagai berikut :

1. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan aquades.
2. pH meter dikeringkan dengan tisu.
3. Ujung *probe* pH meterdicelupkan ke dalam air kolam atau tambak. Ditunggu hingga angka pada pH meter stabil.
4. Nilai pH yang tertera pada layar dicatat.

a. DO

Pengukuran kadar oksigen terlarut dilakukan dengan menggunakan DO meter (Pratama *et al.*, 2017). Adapun prosedur penggunaan DO meter dengan merk “Eutech Instrumen AZ8401” adalah sebagai berikut:

1. Menekan tombol “ON” pada DO meter
2. Ujung batang dikalibrasi dengan menggunakan aquadest agar tidak terkontaminasi dengan sampel sebelumnya (netral) dan menjadikan hasil yang lebih akurat
3. Batang DO meter dicelupkan ke air sampel
4. Dilihat angka yang ditunjukkan pada layar dan dicatat hasilnya

b. CO₂

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran karbondioksida adalah sebagai berikut:

1. Air sampel sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 1– 2 tetes indikator pp.
2. Dihomogenkan dengan cara menggoyang erlenmeyer, apabila terdapat perubahan warna air menjadi merah muda maka air tersebut tidak mengandung CO₂ bebas. Reaksi selanjutnya apabila air tetap tidak berwarna, maka melakukan titrasi dengan Na₂CO₃ 0,0454 N sampai warna menjadi merah muda pertama kali. Dihitung dengan rumus:

$$\text{CO}_2(\text{mg/l}) = \frac{\text{ml}(\text{titran}) \times N \text{ titran} \times 22 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

N titran = normalitas Na-thiosulfat

ml titran = volume Na₂CO₃

ml air sampel = volume air sampel

22 = nilai ½ MR

1000 = konversi dari ml ke Liter

3.8 Analisa Data

Pada penelitian ini analisa data yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 3 kali pengulangan. Langkah awal adalah menghitung prosentase DAB ekspresi IL-6 pada setiap perlakuan. Selanjutnya data dianalisa dengan menggunakan cara statistik yaitu analisa keragaman (ANOVA), dengan tujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pemberian perlakuan. Apabila dari analisa keragaman (sidik ragam) diketahui bahwa perlakuan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata atau sangat berbeda

nyata, maka untuk membandingkan nilai dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), untuk mengetahui perlakuan yang mana yang berbeda. Model persamaan RAL adalah sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{(ij)k}$$

Keterangan : Y_{ijk} =respon perlakuan ke-I serta ulangan ke-j

I = perlakuan

J = Ulangan

μ = nilai rata-rata umum

τ_i = Pengaruh dari perlakuan ke-i

$\varepsilon_{(ij)k}$ = galat atau kesalahan percobaan untuk perlakuan ke-i

Langkah selanjutnya, data yang diperoleh dari penelitian diuji menggunakan analisa sidik ragam. Tabel analisa sidik ragam untuk desain eksperimen tersarang disajikan pada tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2. Analisa sidik ragam

Perlakuan	Ulangan			total	Rata-rata
	A	B	C		
Perlakuan 1	(P1)A	(P1)B	(P1)C	TP1	TP1/3
Perlakuan 2	(P2)A	(P2)B	(P2)C	TP2	TP2/3
Perlakuan 3	(P3)A	(P3)B	(P3)C	TP3	TP3/3
Perlakuan 4	(P4)A	(P4)B	(P4)C	TP4	TP4/3
Perlakuan 5	(P5)A	(P5)B	(P5)C	TP5	TP5/3
Perlakuan 6	(P6)A	(P6)B	(P6)C	TP6	TP6/3
Kontrol positif	K+A	K+B	K+C	TK+	TK+/3
Kontrol negatif	K-A	K-B	K-C	TK-	TK-/3
Total				T	

Keterangan: 1,2,dan 3 adalah ulangan (r)

K+, K-, P1, P2 dan P3 adalah perlakuan (t)

K+ : kontrol positif

K- : kontrol negatif

P1 : Ikan *Myxobolus* + deltamethrin (dosis 1 µl/g pakan)

P2 : Ikan *Myxobolus* + deltamethrin (dosis 0,5 µl/g pakan)

P3 : Ikan *Myxobolus* + deltamethrin (dosis 1,5 µl/g pakan)

P4 : Ikan sehat + deltamethrin (dosis 1 µl/g pakan)

P5 : Ikan sehat + deltamethrin (dosis 0,5 µl/g pakan)

P6 : Ikan sehat + deltamethrin (dosis 1,5 µl/g pakan)

Dari data diatas maka dapat dihitung nilai dari :

Standar Deviasi=

$$s = \sqrt{\frac{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n(n-1)}}$$

Faktor Koreksi = $\sum y_{ij}^2 / r.t$

JK Total = $\sum (y_{ij})^2 - FK$

JK Perlakuan = $(\sum (\sum y_{ij})^2) / r - FK$

JK Galat = JK Total – JK Perlakuan

Berdasarkan perhitungan diatas, selanjutnya dapat dilakukan analisa keragaman untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Adapun uraian analisa keragaman dapat dilihat pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3.Analysis of varian (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftabel

					5%
Perlakuan	t-1	JKP	JKP/DBP	KTP/KTG	Tabel
Galat	t (r-1)	JKG	JKG/DBG		
Total	Σn-1	JKT			

- Jika $F_{hit} > F_{tabel 5\%}$ maka perlakuan berbeda nyata
- Jika $F_{hit} < F_{tabel 5\%}$ maka tidak berbeda nyata

Apabila sidik ragam diperoleh hasil berbeda nyata atau berbeda sangat nyata, maka harus dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dari masing-masing perlakuan. Rumus perhitungan uji BNT sebagai berikut :

$$SED = \sqrt{\frac{2KTG}{r}}$$

BNT 5% = t tabel 5% DBG x SED

Kesimpulan

- Jika selisih $\leq$ BNT 5% maka non signifikan atau tidak berbeda nyata
- Jika BNT 5% < selisih < BNT 1% maka berbeda nyata.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Respon Komponen Imun Darah

4.1.1 Hematokrit

Pemeriksaan hematokrit berguna untuk melihat kondisi kesehatan ikan. Apabila kandungan hematokrit menurun dari kandungan persentase normal maka ikan mengalami anemia, sedangkan bila persentase hematokrit diatas normal menunjukkan ikan mengalami stress (Dayanti, 2012). Nilai hematokrit dari benih ikan koi (*Cyprinus caarpio*) dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4 berikut

Tabel 4. Nilai hematokrit

Perlakuan	Ulangan A (%)	Ulangan B (%)	Ulangan C (%)	Rata-rata (%)
K+	12	10	10	10.67
K-	26	26	25	25.67
P1	16	15	13	14.67
P2	23	22	24	23.00
P3	10	11	10	10.33
P4	17	13	18	16.00
P5	20	20	19	19.67
P6	15	16	10	13.67

Table 5. ANOVA

SK	db	JK	KT	F.hitung	F.tabel	
					5%	1%
perlakuan	7.00	22077.00	94.14	32.74**	2.66	4.03
A	3.00	41913.00	95.15	33.10**	3.24	5.29
B	1.00	81601.00	100.04	34.80**	4.49	8.53
AB	3.00	273.46	91.15	31.71**	3.24	5.29
galat	16.00	46.00	2.88			
total	23.00	7405.00				

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata

Berdasarkan tabel 5 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung > F 5% dan > F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kutuklin berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan nilai hematokrit ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada tabel 6.

Table 6. Uji BNT Hematokrit

Perlakuan	Rata-rata	K-	P4	P5	P6	P1	P2	P3	K+	Not.
		10.33	10.67	13.67	14.67	16	19.67	23	25.67	
K+	10.33	TN								a
P3	10.67	0.34**	TN							b
P6	13.67	3.34**	3**	TN						bc
P1	14.67	4.34**	4**	1**	TN					c
P4	16	5.67**	5.33**	2.33**	1.33**	TN				cd
P5	19.67	9.34**	9**	6**	5**	3.7**	TN			cde
P2	23	12.67**	12.33**	9.33**	8.3**	7**	3.3**	TN		e
K-	25.67	15.34**	15**	12**	11**	9.7**	6**	2.7	TN	e

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa adanya perubahan nilai hematokrit dengan ditunjukkanya notasi a, b, b, c, c, c, cd, dan d. Ini membuktikan bahwa dengan adanya perlakuan kutuklin berpengaruh nyata dan setiap perlakuanya memiliki nilai perbedaan. Nilai tertinggi hematokrit terdapat pada K- yakni kontrol tanpa perlakuan sebesar 25.67% dan nilai terendah terdapat pada K+ yakni kontron sakit tanpa perlakuan sebesar 21.67% dan nilai terendah terdapat pada K+ yakni kontrol sakit tanpa perlakuan sebesar 2.4%. Sedangkan untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian perlakuan P2 memiliki nilai hemtokrit sebesar 23% dan nilai hematokrit terendah untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan kutuklin adalah P3 yakni

10%. Kemudian untuk ikan koi yang sehat dengan pemberian perlakuan P5 memiliki nilai hematokrit sebesar 19.67% dan nilai hematokrit terendah untuk ikan koi yang sehat dengan kutuklin adalah P6 yakni 13.67%.

Nilai hematokrit ikan teleost berkisar antara 20-30 % dan untuk ikan laut sebesar 42 % (Rahma,2015). Nilai hematokrit normal *Cyprinus carpio* adalah 29.62 (21.42-43.29%) (Dayanti,2012). Berdasarkan literatur tersebut dalam penelitian ini perlakuan P2 merupakan perlakuan pemberian dosis kutuklin yang paling ideal.

4.1.2 Hemoglobin

Konsentrasi haemoglobin ditentukan berdasarkan warna/kepekatan inti sel darah merah. Jumlah haemoglobin umumnya berbanding lurus dengan jumlah eritrosit. Rendahnya konsentrasi haemoglobin menunjukkan terjadinya anemia. Anemia menunjukkan kondisi dimana konsentrasi haemoglobin dalam darah rendah, yang disebabkan oleh penurunan jumlah eritrosit atau tidak cukupnya jumlah haemoglobin dalam sel darah (Utama, 2017). Nilai hematokrit dari benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Nilai Hemoglobin

Perlakuan	Ulangan A (%)	Ulangan B (%)	Ulangan C (%)	Rata-rata
K+	2.2%	2,4	2.6	2.4
K-	10.0%	9.6	9.6	9.7
P1	2.6%	3	2.8	2.8
P2	5.6	8	5.8	6.5
P3	2.4	3	2.6	2.7
P4	4	4.2	4.6	4.3
P5	5	5.2	4.8	5
P6	3	3.6	3	3.2

Tabel8. ANOVA

SK	db	JK	KT	F.hitung	F.tabel	
					5%	1%
perlakuan	7	1896.40	18.80	66.76**	2.66	4.03
A	3	3267.52	14.69	52.17**	3.24	5.29
B	1	6284.56	23.21	82.39**	4.49	8.53
AB	3	64.34	21.45	76.14**	3.24	5.29
galat	16	4.51	0.28			
total	23	636.64				

Berdasarkan tabel 8 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung > F 5% dan > F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kutuklin berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan nilai hemoglobin ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada tabel 9

Tabel9. uji BNT

Perlakuan	Rata-rata	K+	P3	P1	P6	P4	P5	P2	K-	Not
		2.4	2.67	2.8	3.2	4.27	5	6.47	9.73	
K+	2.4	TN								a
P3	2.67	0.27**	TN							b
P1	2.8	0.4**	0.13*	TN						b
P6	3.2	0.8**	0.53*	0.4**	TN					c
P4	4.27	1.87**	1.6**	1.47*	1.07*	TN				c
P5	5	2.6**	2.33*	2.2**	1.8**	0.73*	TN			c
P2	6.47	4**	3.8**	3.67*	3.27*	2.2**	1.47*	TN		cd
K-	9.73	7.33**	7.06*	6.93*	6.53*	5.46*	4.73*	3.26*	TN	d

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa adanya perubahan nilai hemoglobin dengan ditunjukkanya notasi a, b, b, c, c, c, cd, dan d. Ini

membuktikan bahwa dengan adanya perlakuan kutuklin berpengaruh nyata dan setiap perlakuannya memiliki nilai perbedaan. Nilai tertinggi hemoglobin terdapat pada K- yakni kontrol sehat tanpa perlakuan sebesar 9.7% dan nilai terendah terdapat pada K+ yakni kontrol sakit tanpa perlakuan sebesar 2.4%. Sedangkan untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan pemberian perlakuan P2 memiliki nilai hemoglobin sebesar 6.5% dan nilai hemoglobin terendah untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan kutuklin adalah P3 yakni 2.7%. Kemudian untuk ikan koi yang sehat dengan pemberian perlakuan P5 memiliki nilai hemoglobin sebesar 5% dan nilai hemoglobin terendah untuk ikan koi yang sehat dengan kutuklin adalah P6 yakni 3.2%.

Menurut Syawal (2016) bahwa kadar hemoglobin ikan mas adalah 6,40%. Hemoglobin pada ikan koi perlakuan P2 adalah 6.5%, termasuk pada kadar standar hemoglobin sedangkan untuk ikan koi dengan perlakuan lain menunjukkan penurunan kadar hemoglobin. Menurunnya kadar hemoglobin, maka ketersediaan oksigen di jaringan akan berkurang atau jaringan mengalami kekurangan oksigen (hipoksia), sehingga proses metabolisme akan terganggu. Lebih dari 90% oksigen yang dibawa oleh hemoglobin berasal dari oksigen yang masuk melalui epitel insang secara difusi dan kemudian berikatan dengan hemoglobin pada sel darah merah yang berada pada kapiler darah.

4.1.3 Eritrosit

Pemeriksaan total eritrosit bertujuan untuk melihat kondisi kesehatan ikan dengan melihat total sel eritrosit dalam darah. Lukistyowati (2011) menyatakan bahwa status sel eritrosit dapat memberikan informasi penting menyangkut kondisi fisiologi dan menunjukkan status kesehatan ikan. Total eritrosit yang terlalu tinggi mengindikasikan ikan dalam keadaan stress. Jumlah eritrosit dari benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) dalam penelitian ini dapat dilihat pada table 9

Tabel 10. Nilai Eritrosit

Perlakuan	Ulangan A(sel/mm ³)	Ulangan B(sel/mm ³)	Ulangan C(sel/mm ³)	Rata-rata(sel/mm ³)
K+	620000	650000	560000	610000
K-	1850000	1880000	1790000	1840000
P1	1110000	1250000	1070000	1143333
P2	1670000	1580000	1740000	1663333
P3	850000	740000	970000	853333
P4	980000	920000	880000	926667
P5	1340000	1160000	125000	875000
P6	660000	780000	810000	750000

Tabel 11. ANOVA

Sb Ragam	dB	JK	KT	F Hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	7	4.10563E+12	5.86519E+11	9.949254199**	2.66	4.03
A	3	1.39918E+12	4.66393E+11	7.91152616**	3.24	5.29
B	1	1.08163E+12	1.08163E+12	18.34786988**	4.49	8.53
AB	3	1.62483E+12	5.41609E+11	9.187443677**	3.24	5.29
Galat	16	9.43217E+11	58951041667			
Total	23	5.04885E+12	2.19515E+11			

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung > F 5% dan > F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kutuklin berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan nilai eritrosit ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada tabel 11.

Tabel 12. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K+	P6	P3	P5	P4	P1	P2	K-	Not.
		610000	750000	853333	875000	926667	1143333	1663333	1840000	
K+	610000	TN								a

P6	750000	140000**	TN							b
P3	853333	243333**	103333*	TN						c
P5	875000	265000**	125000*	21667*	TN					c
P4	926667	316667**	176667**	73334*	51667*	TN				d
P1	1143333	533333**	393333**	290000**	268333**	216666**	TN			e
P2	1663333	1053333**	913333**	810000**	788333**	736666**	520000**	TN		f
K -	1840000	1230000**	1090000**	986667**	965000**	913333**	696667**	176667**	TN	g

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa adanya perubahan nilai eritrosit dengan ditunjukkanya notasi a, b, b, c, c, c, cd, dan d. Ini membuktikan bahwa dengan adanya perlakuan kutuklin berpengaruh nyata dan setiap perlakuanya memiliki nilai perbedaan. Nilai tertinggi eritrosit terdapat pada K- yakni control tanpa perlakuan sebesar 1840000 (sel/mm³) dan nilai terendah terdapat pada K+ yakni kontrol sakit tanpa perlakuan sebesar 420000.(sel/mm³) Sedangkan untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan pemberian perlakuan P2 memiliki jumlah eritrositsebesar 1663333 (sel/mm³) danJumlah eritrosit terendah untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus sp.* dengan kutuklin adalah P3 yakni 853333 (sel/mm³). Kemudian untuk ikan koi yang sehat dengan pemberian perlakuan P4memiliki Jumlah eritrosit sebesar 926667 (sel/mm³) danjumlah eritrosit terendah untuk ikan koi yang sehat.dengan kutuklin adalah P6 yakni 750000 (sel/mm³).

Mulyani (2006) yang menyatakan bahwa pada ikan teleostei, jumlah normal eritrosit sebesar 1,05 – 3,00 x 10⁶ sel/mm³. Hal ini menunjukan bahwa pada perlakuan P2 dan P1 masih memiliki kadar eritrosit yang baik. Sedangkan, penurunan eritrosit yang terjadi lain menyebabkan anemia pada ikan. Menurut Alamanda (2006), anemia berdampak pada terhambatnya pertumbuhan ikan, karena jumlah eritrosit yang rendah mengakibatkan suplai nutrient ke sel,

jaringan dan organ akan berkurang sehingga proses metabolisme ikan akan terhambat.

4.1.4 Leukosit

Bila total leukosit berada dibawah jumlah total normal maka ikan menunjukkan gejala anemia. Sedangkan bila total leukosit berada diatas jumlah normal maka ikan menunjukkan perlawanan terhadap antigen asing (Dayanti, 2012). Peningkatan jumlah leukosit dapat dijadikan sebagai tanda adanya infeksi, stres, ataupun leukimia. Adanya infeksi akan menunjukkan inflamasi yang menunjukkan karakteristik tanggap kebal non spesifik. Respon tersebut juga akan muncul akibat adanya trauma seperti bahan kimia toksit, bakteri, parasit, dan virus (Lukistyowati, 2011). Jumlah leukosit dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Nilai Leukosit

Perlakuan	Ulangan A(sel/mm ³)	Ulangan B(sel/mm ³)	Ulangan C(sel/mm ³)	Rata- rata(sel/mm ³)
K+	421600	351000	395000	389200
K-	33550	29060	32540	31717
P1	265770	245000	257880	256217
P2	145620	120050	109450	125040
P3	392100	321400	276500	330000
P4	298200	289750	288790	292247
P5	160320	159250	157880	159150
P6	314200	300210	341002	318471

Tabel 14. ANOVA

Sb Ragam	dB	JK	KT	F Hit	F tabel	
					0.05	0.01
Perlakuan	7	3.07815E+11	43973628780	62.96758224**	2.66	4.03
A	3	50100340721	16700113574	23.91355465**	3.24	5.29
B	1	50533884720	50533884720	72.36147278**	4.49	8.53
AB	3	2.07181E+11	69060392007	98.89031299**	3.24	5.29
Galat	16	11173655323	698353457.7			
Total	23	3.18989E+11	13869089425			

Berdasarkan tabel 14 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung $> F$ 5% dan $> F$ 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kutuklin berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan jumlah leukosit ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada tabel 15.

Tabel 15. Uji BNT

Perlakuan	Rerata	K-	P2	P5	P1	P4	P6	P3	K +	Not.
		31716.7	125040	159150	256217	292247	318471	330000	389200	
K-	31716.7	TN								a
P2	125040	93323**	TN							b
P5	159150	127433**	34110*	TN						bc
P1	256217	224500**	131177**	97067**	TN					c
P4	292247	260530**	167207**	133097**	36030**	TN				d
P6	318471	286754**	193431**	159321**	62254**	26224**	TN			e
P3	330000	298283**	204960**	170850**	73783**	37753**	11529*	TN		e
K+	389200	357483**	264160**	230050**	132983**	96953**	70729**	59200**	TN	e

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa adanya perubahan jumlah leukosit dengan ditunjukkanya notasi a, b, b, c, c, cd, dan d. Ini membuktikan bahwa dengan adanya perlakuan kutuklin berpengaruh nyata dan setiap perlakuanya memiliki nilai perbedaan. Jumlah tertinggi leukosit terdapat pada K- yakni control tanpa perlakuan sebesar 31717 (sel/mm^3) berbeda dengan K+ yaing merupakan kontrol sakit tanpa perlakuan dengan jumlah leukosit sebesar 389200. Sedangkan untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan pemberian perlakuan P2 memiliki leukosit sebesar 125040(sel/mm^3) dan leukosit terendah untuk ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. dengan kutuklin adalah P3

yakni 363333 (sel/mm³). Kemudian untuk ikan koi yang sehat dengan pemberian perlakuan P5 memiliki jumlah leukosit sebesar 253483 (sel/mm³) dan nilai leukosit terendah untuk ikan koi yang sehat dengan kutuklin adalah P6 yakni 318471 (sel/mm³).

Jumlah leukosit normal pada ikan teleostei berkisar 20.000-150.000 sel/mm³ (Ali, 2006). Jumlah leukosit pada perlakuan P2 masih berada pada standar jumlah leukosit ikan koi (*Cyprinus carpio*). Sedangkan untuk perlakuan lainnya menunjukkan kadar leukosit hal ini dapat menunjukkan bahwa ikan sedang stress dikarenakan terinfeksi *Myxobolus* sp dan konsentrasi pemberian kutuklin tidak optimal.

4.1.5 Limfosit

Peningkatan jumlah limfosit di dalam sirkulasi darah disebut limfositosis, sedangkan penurunannya disebut sebagai leukopenia. Jumlah limfosit yang tinggi di dalam sirkulasi darah akan diimbangi dengan jumlah neutrofil yang rendah, dan sebaliknya. Penurunan jumlah limfosit di dalam darah perifer terjadi karena sebagian besar limfosit ditarik dari sirkulasi dan berkonsentrasi ke dalam jaringan dimana terdapat peradangan (Jain 1993).

Tabel 16. Nilai Limfosit

Perlakuan	Ulangan A (%)	Ulangan B (%)	Ulangan C (%)	Rata-rata (%)
K+	89	86	88	87.7
K-	68.00	62	65	65
P1	81.00	83	80	81.3
P2	78	80	79	79
P3	82	87	85	84.7
P4	81	82	84	82.3
P5	80	82	82	81.3
P6	86	84	84	84.7

Tabel 17. ANOVA

SK	db	JK	KT	F.hitung	F.tabel	
					5%	1%
perlakuan	7	472476.00	142.64	43.89**	2.66	4.03
A	3	940270.00	72.72	22.38**	3.24	5.29
B	1	1879604.00	140.17	43.13**	4.49	8.53
AB	3	640.17	213.39	65.66**	3.24	5.29
galat	16	52.00	3.25			
total	23	157544.00				

Berdasarkan tabel 17 menunjukkan bahwa pada hasil uji sidik ragam, nilai F hitung > F 5% dan > F 1%, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian kutuklin berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan nilai limfosit ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* sp. Adanya perbedaan tiap perlakuan dapat diketahui dengan melakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) yang dapat disajikan pada tabel 18.

Tabel 18. Uji BNT

Perlakuan	Rata-rata	K+	P2	P1	P5	P4	P3	P6	K-	NOT.
		65	79	81.33	81.33	82.33	84.67	84.67	87.67	
K+	65	TN								a
P2	79	14**	TN							b
P1	81.3	16.3**	2.3*	TN						b
P5	81.3	16.3**	2.38	0 ^{TN}	TN					c
P4	82.3	17.3**	3.3**	1*	1*	TN				c
P3	84.7	19.7**	5.7*	3.4**	3.3**	2.3*	TN			c
P6	84.7	19.7**	5.7*	3.4**	3.3**	2.3*	0 ^{TN}	TN		cd
K-	87.7	22.7**	8.7*	6.4**	6.3**	5.3**	3**	3**	TN	d

Berdasarkan Tabel diatas diketahui bahwa adanya perubahan jumlah leukosit dengan ditunjukkanya notasi a, b, b, c, c, c, cd, dan d. Ini membuktikan

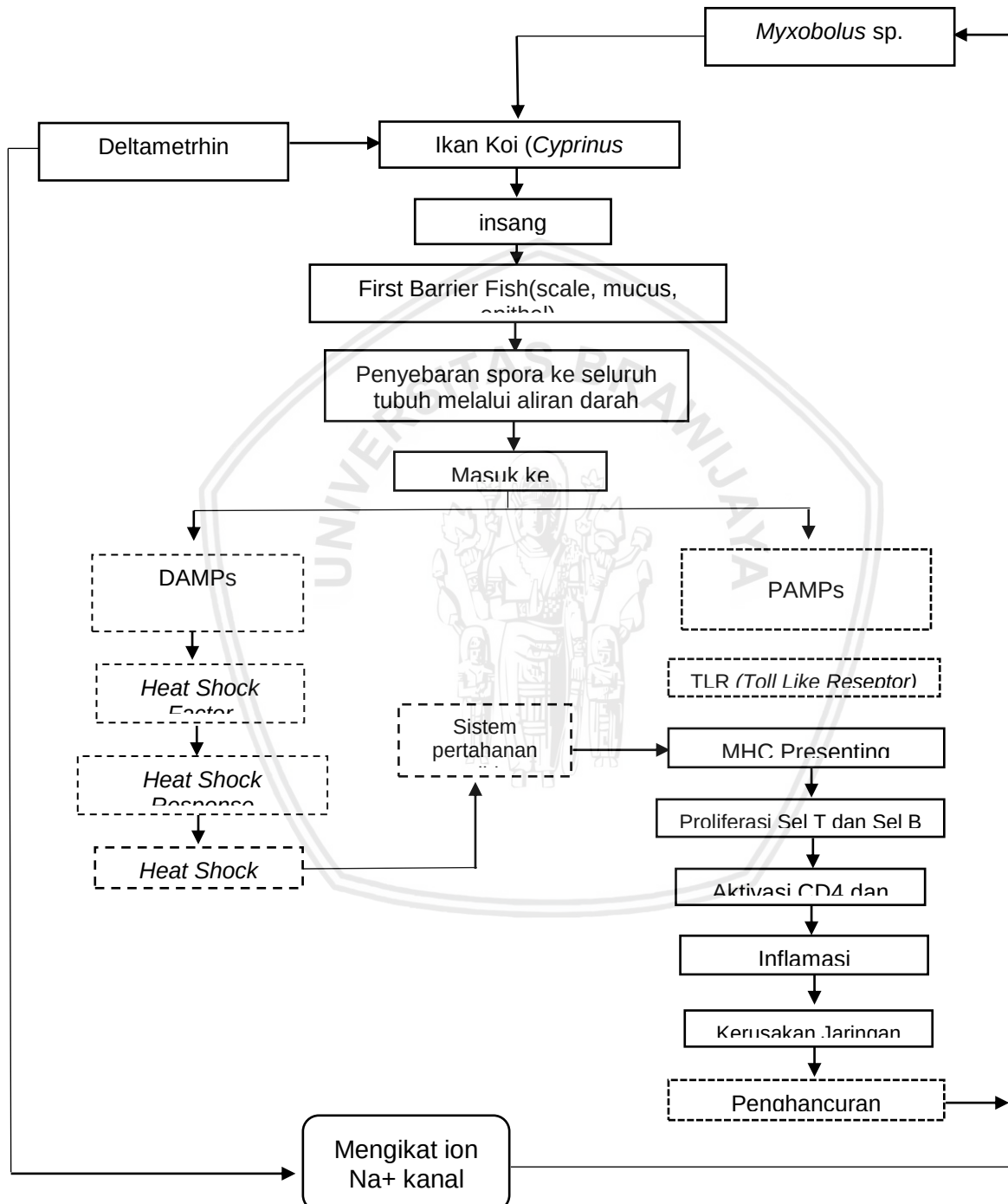
bahwa dengan adanya perlakuan kutuklin berpengaruh nyata dan setiap perlakuannya memiliki nilai perbedaan. Berdasarkan data penelitian yang didapat menunjukkan bahwa persentase sel limfosit pada perlakuan P2 yakni 79% yang menunjukkan bahwa berada pada kisaran standar. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian perlakuan kutuklin P2 memberikan dosis yang optimal untuk kesembuhan ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terserang penyakit parasit *Myxobolus sp.* Sedangkan, untuk perlakuan dosis lainnya menunjukkan kisaran limfosit diluar batas normal yang dapat membuktikan bahwa terjadi peningkatan sel limfosit diakibatkan ikan yang stress dan dosis yang kurang optimal

Menurut Andayani (2017), Nilai difrensiasi limfosit standar biasanya sebesar 60-80% dari proporsi leukosit yang ada. Limfosit pada darah ikan cenderung lebih banyak dari pada mamalia dan limfosit dapat bertambah jumlahnya seiring dengan tingkat stres ikan. Selain menyebabkan proliferasi limfosit, Stres pada ikan memacu hormon kortisol yang mampu menekan sistem imun dan menimbulkan depresi limfosit, makrofag dan leukosit.

4.2 Mekanisme Molekuler Perlakuan kutuklin Terhadap Respon Ketahanan Tubuh Ikan Koi Terhadap Infeksi *Myxobolus sp.*

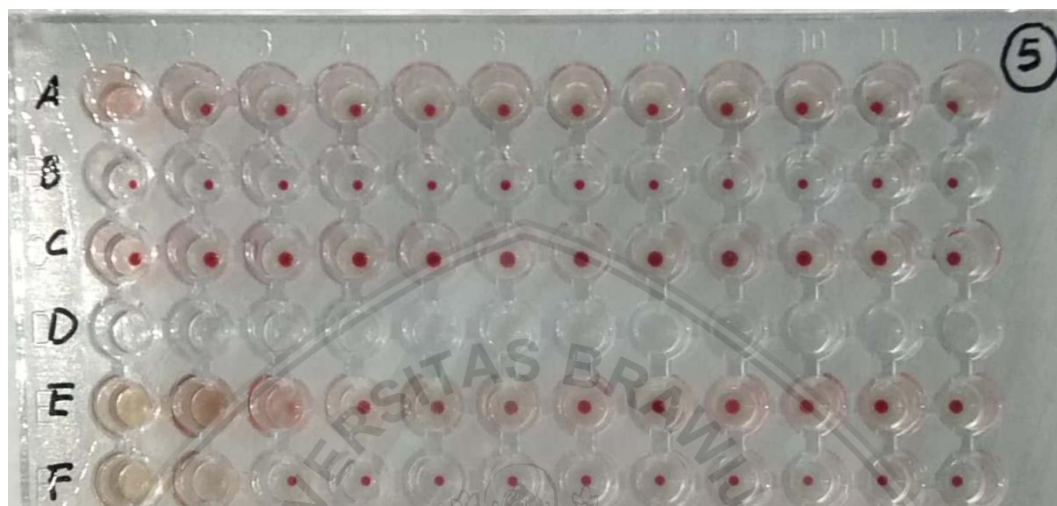
Deltametrin merupakan pestisida yang sering digunakan petani untuk mengatasi serangan hama pada tanaman lada. Deltametrin pestisida golongan piretroid sintetis yang digunakan sebagai insektisida. Piretroid sintetis dikembangkan sebagai insektisida yang efektif dengan stabilitas yang tinggi terhadap cahaya dan waktu tinggal yang lama sehingga setelah penggunaannya, senyawa tersebut tidak dapat langsung hilang melalui reaksi fotokimia (Fitriadi, 2016). Menurut Valles dan Koehler (2003) mengatakan bahwa *pyrethroids* merupakan racun syaraf yang cara kerjanya adalah mengikat sejenis protein yang ada pada syaraf yang disebut dengan ion Na^+ kanal. Pada kondisi

normal protein ini menerima dan meneruskan rangsangan yang diterima syaraf. *Pyrethroids* mengikat protein ini sehingga mencegah penerusan rangsangan secara normal.



Gambar 8. Mekanisme kutuklin menyembuhkan ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus*

Berdasarkan penelitian ini diketahui bahwa telah digunakan 3 perlakuan dosis p deltametrin. Pemberian tiga perlakuan yakni perlakuan pertama dengan pemberian dosis sebesar 1 $\mu\text{l/g}$ pakan, perlakuan kedua dosis sebesar 0,5 $\mu\text{l/g}$ pakan dan perlakuan ketiga dosis sebesar 1,5 $\mu\text{l/g}$ pakan.



Gambar 9. Uji Hemaglutinin Plasma Darah

Tabel 19. Data Pengamatan Dot Blot

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
E	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

SAMPEL NO. 5

- A. PBS (50 μl) + Eritrosit Normal
- B. PBS (50 μl) + Plasma Normal
- C. PBS (50 μl) + Eritrosit Kutuklin
- D. PBS (50 μl) + Plasma Kutuklin
- E. PBS (50 μl) + Antigen Protein Myxo + Eritrosit Kutuklin
- F. PBS (50 μl) + Antigen Protein Myxo + Plasma Kutuklin

KETERANGAN :

ERITROSIT :

- TERBENTUK DOT = (-)
- TIDAK TERBENTUK = (+)

PLASMA :

- TERBENTUK DOT = (+)
- TIDAK TERBENTUK = (-)

Diketahui bahwa pada sumur A dan B menunjukkan adanya dot (endapan eritrosit) berukuran kecil yang menandai respon molekuler yang bagus. Sedangkan pada sumur C (eritrosit kutuklin) menunjukkan adanya dot berukuran besar yang menandai adanya respon molekuler yang kecil. Pada sumur D (plasma kutuklin) tidak menunjukkan adanya dot yang menandai tidak adanya respon molekuler. Kemudian, pada sumur E (antigen protein Myxo+eritrosit kutuklin) dan sumur F (antigen protein myxo+ plasma kutuklin) menunjukkan adanya dot berukuran kecil menyerupai dot pada sumur A dan sumur B. Hal ini menandakan adanya respon molekuler yang menyerupai sumur A dan sumur B dan ini menunjukkan ikan koi yang terinfeksi *Myxobolus* dengan perlakuan kutuklin memiliki respon yang bagus dibandingkan ikan sehat dengan kutuklin.

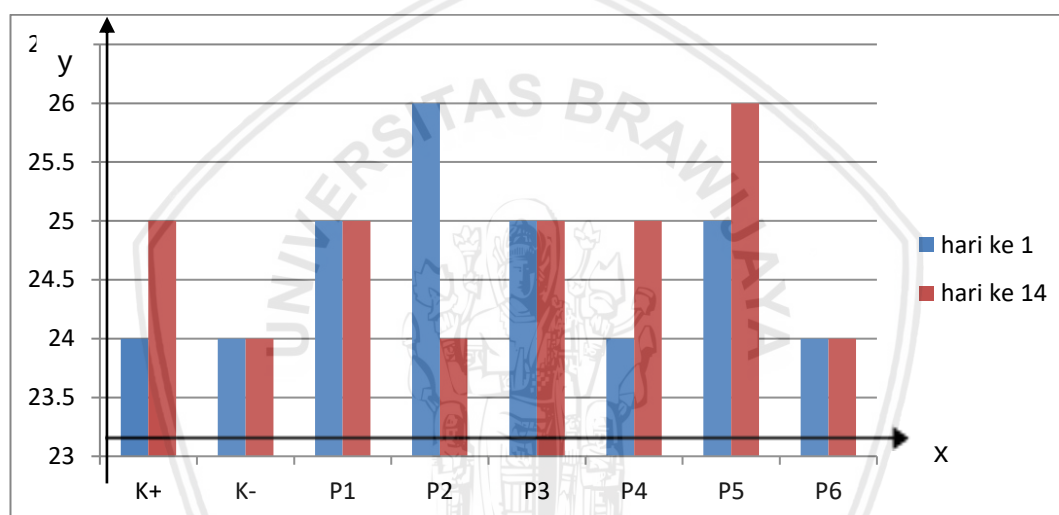
Berdasarkan penelitian Yanuhar (2008), Uji hemaglutinasi berupa pengenceran sampel dibuat konsentrasi 0,5 pada *microplant* V tiap sumur volumenya 50 μ l. Tiap sumur ditambahkan darah ikan dan sampel vili dengan konsentrasi 0,5% dengan volume sama, digoyang dengan *rotator plate* selama 1 menit dan ditaruh pada suhu kamar ± 1 jam. Besarnya titer ditentukan berdasarkan aglutinasi darah merah pada pengenceran yang terendah. Uji ini bertujuan untuk mencari tahu apakah protein tersebut merupakan protein hemaglutinin yang bereaksi positif terhadap eritrosit ikan sehingga dapat diduga bobot molekul protein tersebut merupakan protein hemaglutinin yang berperan pada virulensi bakteri atau patogen lainnya.

4.3 Kualitas Air

4.3.1 Suhu

Menurut Pramleonita (2018), bahwa suhu yang semakin tinggi dalam suatu perairan, maka kelarutan oksigen akan semakin rendah, dan daya racun

semakin tinggi. Kenaikan suhu air kolam ikan nila pada siang hari dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, cuaca, dan angin. Intensitas cahaya matahari yang masuk ke dalam permukaan dapat menyebabkan terjadinya perubahan suhu pada pagi dan siang hari. Baku mutu suhu untuk perairan budidaya telah ditetapkan melalui SNI (2011), yaitu 25–32 °C. Ikan Koi dapat hidup pada kisaran suhu 28-30°C, oleh sebab itu ikan Koi dapat di pelihara di seluruh Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Sedangkan Suhu ideal untuk pertumbuhan ikan Koi adalah 15-25°C (Solichin, 2013).

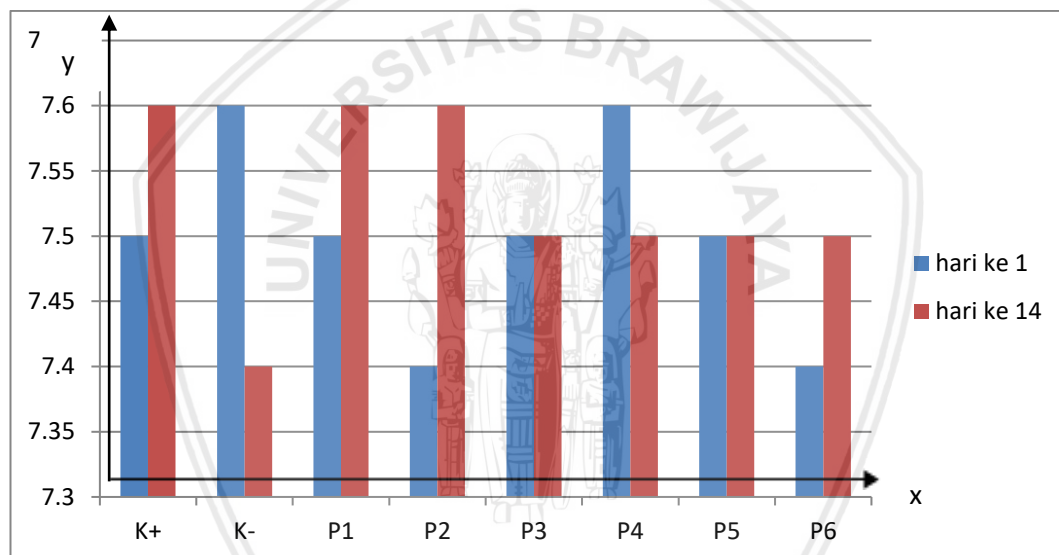


Gambar 10. Grafik 1 pengamatan suhu (°C)

Pada pengukuran suhu kualitas air pada penelitian ini didapatkan data bahwa nilai suhu pada penelitian ini cenderung stabil meski sedikit ada fluktuasi. Hal ini dikarenakan penelitian ini dilakukan pada kondisi ruangan tertutup, sehingga tidak ada kontaminasi dari lingkungan luar seperti intensitas cahaya matahari. Namun, meski tidak terkena cahaya matahari, tetap terjadi perubahan suhu meski sangat kecil. Hal tersebut dikarenakan faktor lain seperti waktu, suhu air cenderung lebih rendah saat malam hingga pagi dibandingkan waktu siang hari dan sore hari.

4.3.2 pH

Berdasarkan nilai baku mutu pH untuk kolam budidaya menurut SNI (2005), yaitu sebesar 6,5 – 8,5. Nilai pH yang rendah mengindikasikan bacma keadaan perairan yang asam sedangkan pH yang tinggi mengindikasikan keadaan perairan yang basa. Pada kisaran demikian segala aktivitas ikan maupun pembesaran menghasilkan nilai yang optimal (Augusta, 2016). Ikan koi bertahan hidup pada pH 6,5-8. Perubahan pH biasanya menimbulkan stres pada ikan. Kemampuan air menahan perubahan pH lebih penting daripada nilai pH itu sendiri. (Solichin, 2013).

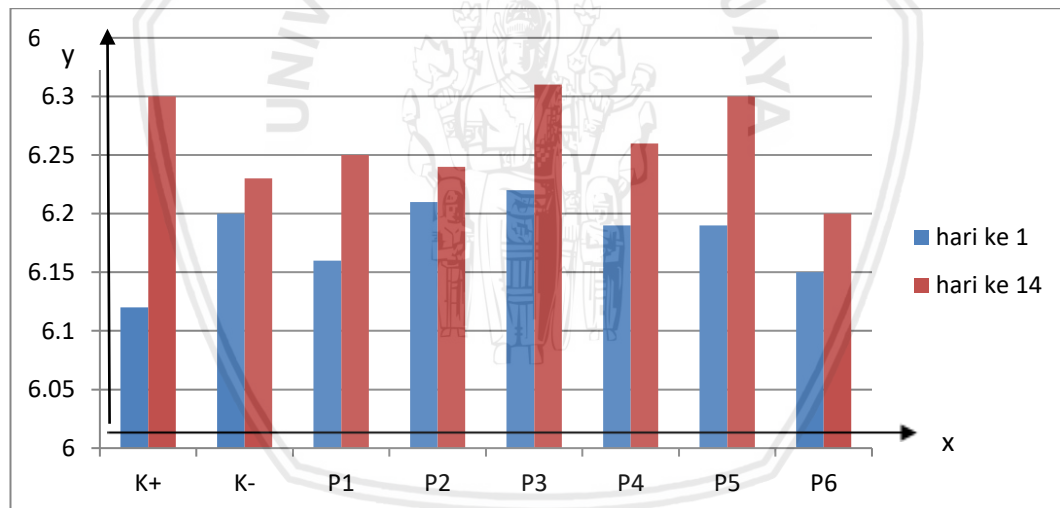


Gambar 11. Grafik 2 pengamatan pH

Pada pengukuran pH kualitas air penelitian ini didapatkan data bahwa terjadi penurunan dari hari pertama hingga hari ke 14. Penurunan yang terjadi pada ikan diduga dikarenakan adanya pengaruh pemebrian pelakuan kutuklin. Kutuklin yang berbahan dasar insektisida yakni deltamethrin memiliki pH yang asam sebesar 5. Selain itu factor lainnya dapat dikarenakan adanya sisa pakan dan terjadi ekskresi metabolisme berlebihan pada ikan sehingga dapat menurunkan pH.

4.3.3 DO

Kandungan oksigen terlarut dalam tambak yang baik untuk pertumbuhan biota perairan yaitu antara 5-7 mg/l (Suparjo, 2008). Sedangkan, berdasarkan baku mutu kandungan oksigen pada perairan SNI (2011), yaitu minimal 3 mg/L. Menurut Solichin (2013), kadar oksigen yang rendah akan mempengaruhi nafsu makan ikan dan apabila jumlah oksigen terlarut diperairan hanya 1,5 mg/l, nafsu makan ikan akan berkurang dan jika kurang dari 1,5 mg /l ikan akan berhenti makan. Ikan kecil masih bertahan pada DO 1,0-3,0 mg/L, namun akan mati pada DO 0,0-0,3 mg/L. Bila DO air berada pada kisaran 1,0-5,0 mg/liter, ikan akan mengalami pertumbuhan yang lambat tetapi pada DO > 5 mg/liter maka ikan akan tumbuh secara optimal.

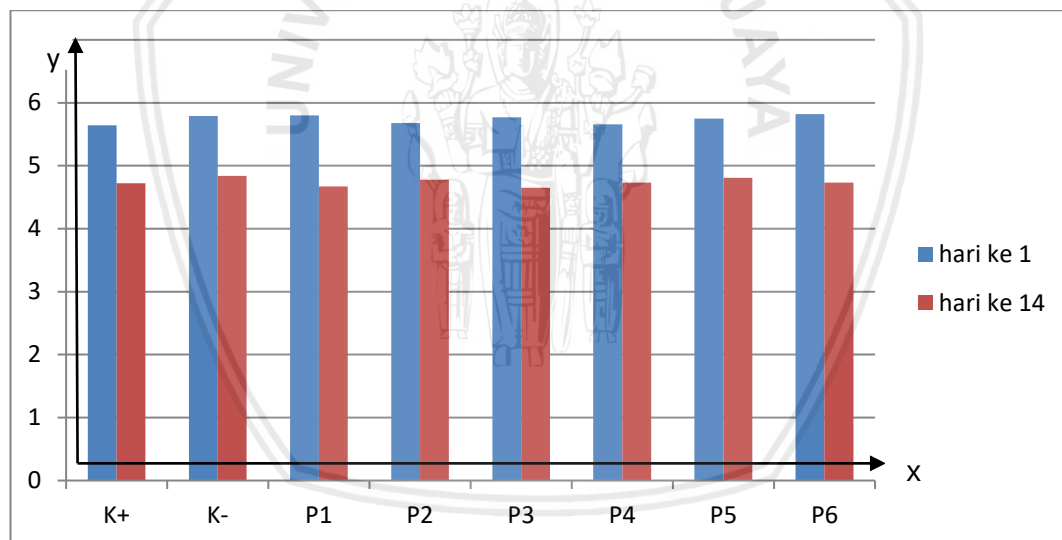


Gambar 12. Grafik 3 pengamatan DO (mg/L).

Pada pengukuran oksigen terlarut (DO) pada penelitian diketahui bahwa kadar oksigen cukup stabil dan menunjukkan kadar optimum yang baik. Hal ini dikarenakan adanya bantuan alat penyuplai oksigen sehingga oksigen terlarut tetap stabil. Dalam menyokong keberlangsungan kehidupan ikan selama penelitian perlu adanya aerator sehingga ikan koi masih mendapatkan oksigen terlarut yang cukup untuk bertahan hidup.

4.3.4 CO₂

Suparjo (2008), menyatakan kadar karbondioksida 5 mg/l di dalam air masih dapat ditoleransi oleh hewan air. Kandungan CO₂ yang baik untuk ikan minimal 4 mg/L (Pramleonita, 2018). Konsentrasi CO₂ yang tinggi akan berdampak pada ginjal ikan. Ikan dapat hidup dengan baik pada konsentrasi CO₂ di bawah 10 mg/l. Pada konsentrasi 20 mg/l, CO₂ dapat mempengaruhi metabolisme ikan. Jika terjadi kekurangan oksigen, ikan akan mengambil langsung oksigen dari udara bebas. Karbondioksida mempengaruhi pH air, karena bereaksi dengan air yang membentuk asam lemah (asam karbonat). Asam karbonat akan terdesosiasi menjadi bikarbonat dan ion hidrogen (H⁺) yang bersifat asam serta karbonat (Supono, 2015).



Gambar 13. Grafik 4 pengamatan CO₂(mg/L)

Pada pengukuran karbondioksida kualitas air pada penelitian ini menunjukkan bahwa kisaran karbondioksida masih dalam batas yang cukup untuk mendukung pemeliharaan ikan koi selama penelitian ini. Karbondioksida berlebih dapat menurunkan kadar pH sehingga pengontrolan dan suplai oksigen harus tetap berlangsung dengan baik agar ikan dapat bertahan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian dosis pada P2 merupakan yang paling optimal bila dilihat dari respon imun humoral darah ikan koi (*Cyprinus carpio*)
2. Nilai dari respon imun humoral darah ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *myxobolus* sp eritrosit rata-rata 1.663.333 sel/mm³, leucosit 125040 sel/mm³, hemoglobin 6.5% dan hematokrit 23 % serta limfosit dengan nilai 79 %.
3. Berdasarkan hasil uji BNT 5% menunjukkan bahwa pemberian kutuklin dengan berbagai dosis yang berbeda berpengaruh nyata terhadap respon imun humoral ikan koi.
4. Berdasarkan pengujian kualitas air bak pengamatan menunjukkan bahwa adanya pemberian kutuklin tidak memiliki pengaruh nyata terhadap kualitas air bak pengamatan. Hal ini dikarenakan dosis pemberian kutuklin yang sangat kecil yakni pada yang dalam kondisi optimal dan terkontrol membantu ketahanan ikan koi.

5.2 Saran

Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang respon imun terhadap penggunaan kutuklin sebagai treatment ikan koi (*Cyprinus carpio*) serta mencari tahu efek samping pada respon imun dan fisiologis ikan bila pemakaiannya berlebihan sehingga dapat menentukan batas maksimum penggunaan dosis kutuklin untuk ikan yang terinfeksi *Myxobolus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Augusta,T. Serezova. 2016 Dinamika Perubahan Kualitas Air Terhadap Pertumbuhan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Dipelihara di Kolam Tanah.*Jurnal Ilmu Hewani Tropika*. 5. (1):41-45 hal.
- Azmi, H. D. R. Indriyanti dan N. Kariada. 2013. Identifikasi ektoparasit pada ikan koi (*Cyprinus carpio* L) di pasar ikan hias Jurnatan Semarang. *Unnes J Life Sci*. II (2): 64-70 hal.
- Betancur, I. P., J. A. Baena and M. C. Guerro. 2009. Micronuclei Test Application to wild Tropical Ichthyic Species Common in Two Lentic Environments of the Low Zones In Colombia. *Journal Actual Biol*. XXXI (90): 67 – 77 hal.
- Djaelani, A. R. 2013. Teknik Pengumpulan Data dalam Penelitian Kualitatif.*Majalah Ilmiah Pawiyatan*. 20 (1): 82-92 hal.
- Dayanti, Rani, Iesje Lukistyowati dan Morina Riau waty.2012.Ketahanan Non-Spesifik Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Diberi Larutan Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) Terhadap *Aeromonas hydrophila*. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau. Tidak diterbitkan.
- Fitryadi, Khairil dan Sutikno. 2016. Pengenalan jenis golongan darah menggunakan jaringan syaraf tiruan *perceptron*. *Jurnal Masyarakat Informatika*. VII (1):1-10 hal.
- Fitriadi, Bayu R. dan Ayutia Ciptaningtyas Putri.2016. Penentuan Residu Pestisida Deltametrin Dan -Sihalotrin Pada Lada (*Piper nigrum* L.) Menggunakan Metode *Quechers*. Indo. J. Chem. Sci. 5 (2): 91-97 hal.
- Fujaya,Y. Aslamyah.S, Mufidah, Rusli.M.2010. Penyuntikan Ekstrak bayam (*Amaranthus spp*) untuk menginduksi molting pada produksi Kepiting Bakau (*Scylla spp*) Cangkang Lunak..Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Hofmaan, G.L. 1999. Parasites of North American Freshwater Fishes. Cornell University Press. New York. pp. 21-66.
- Kent, M.L., Andree, K.B., Bartholomew, J.L., El-Matbouli, M., Desser, S.S., Devlin, R.H., Feist, S.W., Hedrick, R.P., Hoffmann, R.W., Khattra, J., Hallett, S.L., Lester, J.G., Longshaw, M., Palenzuela, O., Siddall, M.E., Xiao, C., 2001. Recent advances in our knowledge of the Myxozoa. *J. Eukaryot. Microbiol*. 48, 395–441 hal.

- Kusrini, Eni Sawung Cindelaras, dan Anjang Bangun Prasetyo. 2015. Pengembangan budidaya ikan hias koi (*Cyprinus carpio*) local di balai penelitian dan pengembangan budidaya ikan hias depok. *Media Akuakultur*. X (2): 71-78 hal.
- Kusumawati¹, E., Nova L., Ika Mustika, Sri Hidayati¹, dan Esti N. Andyarini. 2018. Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kadar Hemoglobin (Hb) Remaja Menggunakan Metode Sahli dan Digital (*Easy Touch GCHb*). *Journal of Health Science and Prevention*. II (2): 95-99 hal.
- Lukistyowati, I. 2011. Efektivitas Bawang Putih (*Allium sativum*) Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Terhadap Penyakit *Aeromonas septicemia*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. (tidak diterbitkan).
- Mading, Majematang dan Rais Yunarko. 2014. Respon Imun terhadap Infeksi Parasit Malaria. *Jurnal Vektor Penyakit*. VIII (2): 45 – 52 hal.
- Meilin, A., Y. Andi T., E. Martono, dan D. Buchori. 2018 pengaruh residu insektisida deltametrin pada tanaman padi terhadap tingkat parasitasi Parasitoid *Anagrus nilaparvatae* (Hymenoptera: Mymaridae). *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*. II (2): 9-15 hal.
- Norsiah, Wahdah. 2015. Perbedaan kadar hemoglobin metode sianmethemoglobin dengan dan tanpa sentrifugasi pada sampel leukositosis. *Medical Laboratory Technology Journal*. I (2): 72-83 hal.
- Nurekawati, Ayuda Dyah. 2014. Identifikasi *Myxobolus sp.* pada famili cyprinidae dengan metode molekuler di provinsi jawa timur dan jawa tengah. *Biosains*. IIXX (2): 1-12 hal.
- Nusa, K. C, Max F.J. Mantik dan N. Rampengan. 2015. Hubungan ratio neutrofil dan limfosit pada penderita penyakit infeksi virus dengue *Jurnal e-Clinic (eCI)*. III (1) 210-216 hal.
- Pal, G.K. & P. Pal, 2006, *Textbook of Practical Physiology*, Orient Longman Private Limited, Hyderabad.
- Putriana, Nindya, Wahyu T. dan Moch. Amin Alamsjah. 2015. Pengaruh penambahan perasan paprika merah (*Capsicum annum*) dalam pakan terhadap tingkat kecerahan warna ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. VII (2): 189-194 hal.
- Purnami, Sri W., Yustinus U. Anggraito, M. Syaifudin, dan Yanti Lusiyantri. 2018. Deteksi Pembentukan Mikronuklei Sel Darah Limfosit Akibat Paparan Radiasi Dosis Bertingkat pada Responden dengan Jenis Kelamin dan Usia Berbeda. *Life science*. VII (2): 39-46 hal.

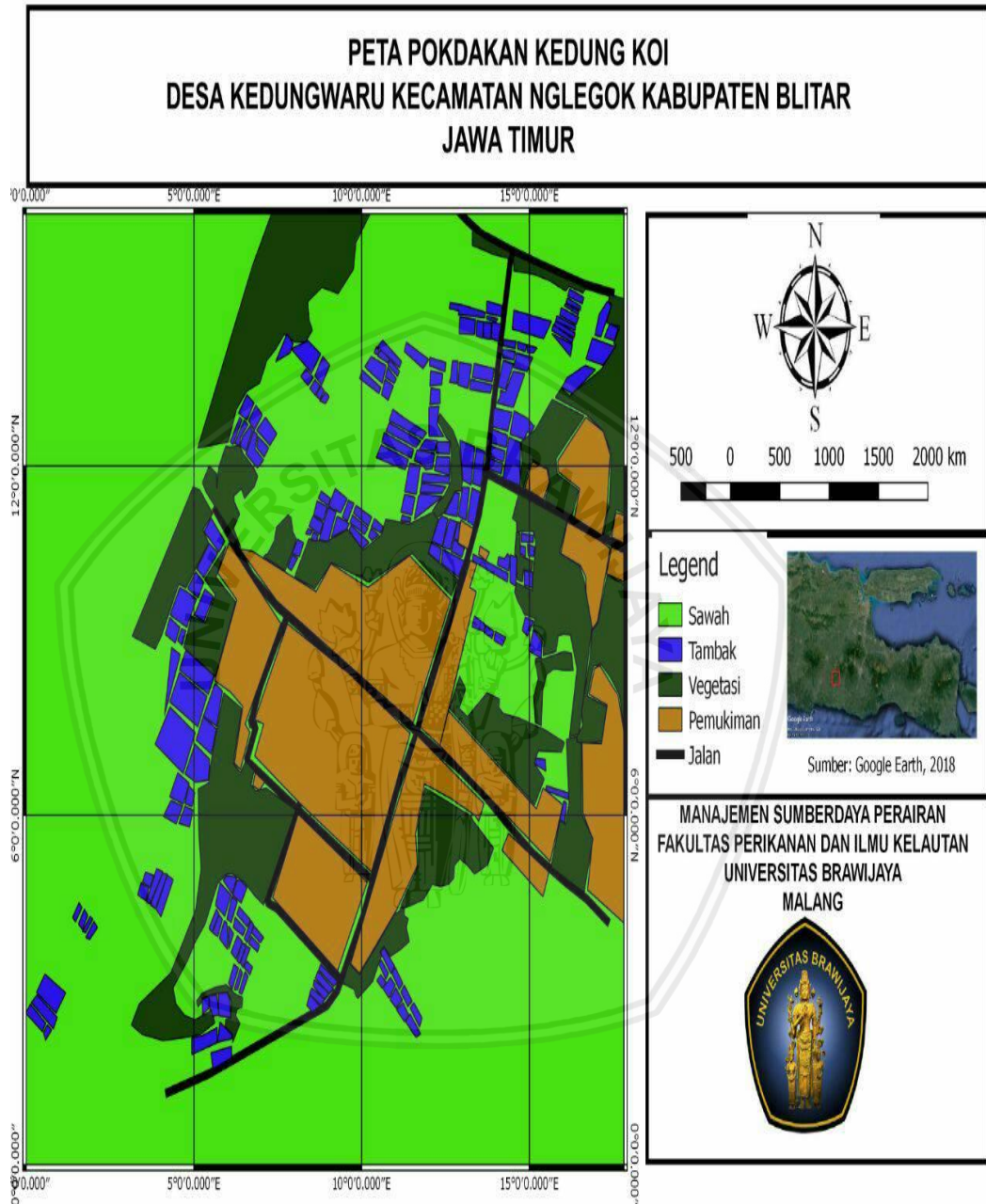
- Prihartini, Novia Christi dan Alfiyah. 2017. *Myxosporeasis* pada ikan koi (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Ilmu Perikanan*. VIII (1): 6-10 hal.
- Pramleonita, M. Nia Y., R. Arizal, dan S. E. Wardoyo .2018, Parameter Fisika Dan Kimia Air Kolam Ikan Nila Hitam (*Oreochromis niloticus*).*Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*.8 (1): 24 – 34 hal.
- Pratama, A., Wardiyanto, dan Supono. 2017. Studi Performa Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Dipelihara dengan Sistem Semi Intensif pada Kondisi Air Tambak dengan Kelimpahan Plankton yang Berbeda pada Saat Penebaran.*E-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*.6(1): 643 – 652 hal
- Rafdinal, I., Amiruddin, Nuzul A., Zuraidawati, A. Sayuti, Zuhrawati, dan R. Daud. 2016. Perbedaan jumlah leukosit setelah transplantasi kulit secara *autograft* dan *isograft* pada anjing lokal (*Canis lupus familiaris*) *Jurnal Medika Veterinaria*. X (2): 144-146 hal.
- Ramdhan, Muhammad. 2015. Studi kualitas perairan teluk ekas berdasarkan komponen fisika-kimia. SOSIO DIDAKTIKA: *Social Science Education Journal*, II (1): 58-66 hal.
- Rosidah, dan Nur Kristiana Rahmawati. 2016. Perbedaan kadar hemoglobin metode sahli pada darah Vena dan kapiler di puskesmas tikung desa bakalan Pule kec.tikung kab.lamongan.*Jurnal Sains*.6 (11): 21-26 hal
- Royan, Fahmi Sri Rejeki, A.H. dan Condro Haditomo.2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. III (2): 109-117hal.
- Rahma, F. Waliani, G. Mahasri dan L. Surmartiwi. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan differensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7 (2): 213-218 hal..
- Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi. Banacipta. Bandung. 245 hal.
- Sari, Yelvita, Djong Hon Tjong Dan Resti Rahayu. 2016. Gambaran Darah Katak *Fejervarya limnocharis* di Lahan Pertanian yang Menggunakan Pestisida di Sumatera Barat.*Biogenesis* IV (2): 115-121 hal.
- Satyaningtijas, Aryani S., Sus D. Widhyari¹, dan R. D. Natalia. 2010. Jumlah eritrosit, nilai hematokrit, dan kadar hemoglobin ayam pedaging umur 6 minggu dengan pakan tambahan. *Jurnal Kedokteran Hewan* IV (2):69-73 hal.

- Samsisko, R.E.W., 2013, Respon Hematologis Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) pada Suhu Media Pemeliharaan yang Berbeda, journal unair: 1-10 hal
- Svobodova Z, Vyukusova B. 1991. Diagnostik, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication. *Research Institute of fish Culture and Hydrobiology Vodnany Czechoslovakia*. 2.
- Solichin, A., N. Widyorini, dan D. S. M. Wijayanto. 2013. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dengan Dosis yang Berbeda terhadap Lepasnya Suckers Kutu Ikan (*Argulus* sp.) pada Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) *Journal of management of aquatic resources*. II (2): 46-53 hal.
- SNI. 2005. Cara Uji Derajat Keasaman (pH) dengan Menggunakan Alat pH Meter. Badan Standar Nasional Indonesia.
- SNI.2011. Ikan Hias Koi (*Cyprinus carpio*) Syarat Mutu dan Penanganan.Badan Standarisasi Nasional/BSN.SNI 7734-2011 (Koi).
- Supriyantini, E., R. A. Tri Nuraini dan A. P. Fadmawati. 2017.Studi Kandungan Bahan Organik Pada Beberapa Muara Sungai Di Kawasan Ekosistem Mangrove, Di Wilayah Pesisir Pantai Utara Kota Semarang, Jawa Tengah.*Buletin Oseanografi Marina*. VI (1):29–38 hal.
- Sarker, Subhodeep D., M. Kallert, Ronald P. Hedrick, and Mansour El-Matbouli. 2015.Whirling disease revisited: pathogenesis, parasitebiology and disease intervention. *DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS*. 114: 155–175 page.
- Susanto, H. 2001. Koi. Penebar Swadya. Jakarta. 77 hal.
- Sutiana, Erlangga dan Zulfikar.2017. Pengaruh dosis hormon rGH dan tiroksin dalam pakan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup benih ikan koi (*Cyprinus carpio*, L). *Acta Aquatica*, IV (2): 76-82 hal.
- Supono. 2015. Manajemen Lingkungan Untuk Akuakultur. Plantaxia. Yogyakarta: 125 hal.
- Suparjo Mustofa Niti.2008daya dukung lingkungan perairan tambak desa mororejo kabupaten kendal. *Jurnal Saintek Perikanan*.4 (1) : 50 - 55 hal.
- Syawal, Henni dan Morina Riau waty.2016. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di kolam budidaya di Kecamatan Marpoyan Damai Kota Pekanbaru. *JURNAL PERIKANAN DAN KELAUTAN*. 21 (1):1-6 hal

- Terradas M, M Martin, L Tusell & A Genesca. 2010. Genetic activities in micronuclei: is the DNA entrapped in micronuclei lost for the cell. *Mutat. Res.* 705:60-67 hal.
- Utami, I. 2015. Analisa Sistem Imun Ikan bandeng (*chanos chanos*) Pada Tambak Tanjung Sari Desa Kupang Kecamatan Jabon Kabupaten Sidoarjo Provinsi Jawa Timur.
- Utama, I. Harjono, Siswanto², dan Citra Karami. 2017. Evaluasi Sitologis Darah Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Di Kecamatan Alas-Nusa Tenggara Barat. *Indonesia Medicus Veterinu.* 26(5): 428-435 hal.
- Wandansari, N. D. 2013. Perlakuan Akuntansi Atas PPH Pasal 21 pada PT. Artha Prima Finance Kotamobagu. *Jurnal EMBA.* 1 (3): 558-566 hal.
- Wintrobe, M., 1974. Clinical Hematologist, 7 th ed, Lea and Febiger Philadelphia.
- Yanuhar, U., Agus M. S. H. dan Ita F. S. 2012. Fungsi sel imun interleukin-4 (IL-4) pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) dengan Induksi protein imunogenik *Vibrio harveyi*. *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan.* 4(1): 73-79 hal.
- Yanuhar, Uun. 2008. Protein Hemagglutinin Vili *Vibrio alginolyticus* Sebagai Molekul Adhesin Pada Reseptor Sel Epitel Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *J. Ked. Hewan.* 2 (1): 96-102 hal.
- Yasirin, A., Setya Rahayu dan Said Junaidi. 2014. Latihan senam aerobik dan peningkatan limfosit CD4 (kekebalan tubuh) pada penderita hiv. *JSSF* 3 (3): 1-6 hal.
- Yunarko, Rais dan Majematang Mading. 2014. Respon Imun terhadap Infeksi Parasit Malaria. *Jurnal Vektor Penyakit.* 8 (2) : 45 – 52 hal.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Lokasi Pengambilan Sampel Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)



Lokasi: Desa Kemloko, Kecamatan Nglegok, Kabupaten Blitar

Lampiran 2. Alat dan Bahan

Eritrosit

a. Alat dan Fungsinya

Alat–alat yang digunakan dalam untuk pengukuran eritrosit disajikan dalam Tabel berikut:

Tabel.Alat beserta fungsi parameter eritrosit darah

No.	Alat	Fungsi
1.	haemocitometer	untuk mengetahui bidang pandang
2.	Cover glass	Untuk menutup object glass
3.	Pipet toma	Untuk menghomogenkan dengan darah dengan larutan hayem
4.	Mirosskop	Untuk mengamati eritrosit

b. Bahan dan Fungsinya

Bahan – bahan yang digunakan dalam untuk pengukuran eritrosit disajikan dalam Tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsi parameter eritrosit

No.	Bahan	Fungsi
1.	Darah Ikan koi	Sebagai objek yang diukur jumlah eritrositnya
2.	Larutan hayem	Sebagai larutan yang memperjelas sel eritrosit

Leukosit

a. Alat Beserta Fungsinya

Alat – alat yang digunakan dalam untuk pengukuran leukosit disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya parameter leukosit

No	Alat	Fungsi
1.	haemocitometer	untuk mengetahui bidang pandang
2.	Cover glass	Untuk menutup object glass
3.	Pipet toma	Untuk menghomogenkan dengan darah dengan larutan turk
4.	Miroskop	Untuk mengamati leukosit

b. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan – bahan yang digunakan dalam untuk pengukuran leukosit disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya parameter leukosit

No	Bahan	Fungsi
1.	Darah Ikan koi	Sebagai objek yang diukur jumlah leukositnya
2.	Larutan turk	Sebagai larutan yang memperjelas sel leukosit

Hematokrit

a. Alat Beserta Fungsinya

Alat – alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran hematokrit disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Mikrosentrifuge	Untuk memusingkan darah dengan kecepatan tinggi
2	Indikator hematokrit	Untuk mengetahui nilai hematokrit

b. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan – bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran hematokrit disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Darah Ikan koi	Sebagai sebagai objek yang diukur hematokritnya
2	Pipa kapiler	Sebagai wadah darah yang akan di sentrifuge
3.	Malan	Untuk menyumbat ujung pipa kapiler

Hemoglobin

a. Alat Beserta Fungsinya

Alat–alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran haemoglobin disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Tabung haemometer	Untuk tempat membandingkan asam matan dengan caiarn standar
2	Pipet sahli	Untuk mengambil darah untuk dipindhkn ke tabung haemometer

b. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan-bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran haemoglobin disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	Darah ikan koi	Sebagai sampel yang diukur
2	HCL 0.1 N	Untuk membilas tabung sahli
3	Tisu	Untuk membuang darah yng berlebih

Limfosit

a. Alat Beserta Fungsinya

Alat - alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran micronuclei disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Sput	Untuk meneteskan darah di atas objek glass
2	Objek glass	Untuk tempat pembuatan apusan darah
3	Mikroskop	Untuk mengamati micronuclei darah

b. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan–bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran micronuclei disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	Sampel darah ikan koi	Sebagai objek yang diuji
2	Methanol Pa	Sebagai fiksasi agar darah melekat pada objek glass
3	Giemsa	Sebagai pemberi warna ungu pada sampel micronuclei

Suhu

c. Alat Beserta Fungsinya

Alat – alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran suhu disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Thermometer Hg	Untuk mengukur nilai suhu perairan tempat
2	Stop watch	Untuk menghitung waktu pengukuran pencelupan thermometer Hg

d. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan - bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran suhu disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	Air kolam	Sebagai sampel yang diukur kandungan Donya

pH

c. Alat Beserta Fungsinya

Alat - alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran pH disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	pH meter	Untuk mengukur nilai pH perairan

d. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan – bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran pH disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	Air kolam	sampel yang diukur nilai pHnya.
2	aquades	Sebagai pengkalibrasi.

DO

e. Alat Beserta Fungsinya

Alat – alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran DO disajikan pada tabel berikut:

Tabel.Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	DO meter	Untuk mengukur kandungan oksigen terlarut diperairan

f. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian untuk pengukuran DO disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	Air kolam	Sebagai sampel yang diukur kandungan Donya

CO₂

e. Alat Beserta Fungsinya

Alat - alat yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran CO₂ disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Alat beserta fungsinya

No	Alat	Fungsi
1	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan PP(Phenol ptealin) dan Na ₂ CO ₃ dalam skala tetes
2	Erlenmeyer 50 ml	Mereaksikan air sampel dengan larutan PP dan Na ₂ CO ₃
3	Gelas ukur 50 ml	Untuk mengukur jumlah air sampel yang akan diuji kadar CO ₂ nya
4	Botol 600 ml	Untuk wadah sampel air.

f. Bahan Beserta Fungsinya

Bahan – bahan yang digunakan dalam Penelitian untuk pengukuran CO₂ disajikan pada tabel berikut:

Tabel. Bahan beserta fungsinya

No	Bahan	Fungsi
1	larutan PP	Sebagai indikator suasana basa.
2	Na_2CO_3 0,0454 N	Sebagai mengikat CO_2 bebas diperairan.
3	Air kolam	sampel yang diukur kandungan CO_2 nya.



Lampiran 1. Perhitungan Respon Imun Komponen Darah

a) Hematokrit

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3			
K(+)	12	10	10	32	10.67	1.15
K(-)	26	26	25	77	25.67	0.58
P1	16	15	13	44	14.67	1.53
P2	23	22	24	69	23.00	1.00
P3	10	11	10	31	10.33	0.58
P4	17	13	18	48	16.00	2.65
P5	20	20	19	59	19.67	0.58
P6	15	16	10	41	13.67	3.21
Total	139	133	129	401		

Tabel 2 Arah					
Perlakuan	Dosis 1	Dosis 0.5	Dosis 1.5	Kontrol	Total
Myxo	44	69	31	32	176
Sehat	48	59	41	77	225
Total	92	128	72	109	401

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{a \times b \times r} \\
 &= \frac{(401)^2}{4 \times 2 \times 3} \\
 &= 6700
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= \{(K(+))1^2 + (K(+))2^2 + \dots + (P6)^2\} - FK \\
 &= \{(12)^2 + (10)^2 + \dots + (10)^2\} - 6700 \\
 &= 704.958
 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\sum K^{+2} + \sum K^{-2} + \sum P1^2 + \sum P2^2 + \sum P3^2 + \sum P4^2 + \sum P5^2 + \sum P6^2}{r} - FK$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{32^2 + 77^2 + 44^2 + 69^2 + 31^2 + 48^2 + 59^2 + 41^2}{3} - 6700 \\
 &= 658.958 \\
 \text{Jumlah Kuadrat A} &= \frac{\sum Myxo^2 + \sum Sehat^2}{r \times b} - FK \\
 &= \frac{176^2 + 225^2}{3 \times 2} - 6700 \\
 &= 285.485 \\
 \text{Jumlah Kuadrat B} &= \frac{\sum Dosis\ 1^2 + \sum Dosis\ 0,5^2 + \sum Dosis\ 1,5^2 + \sum Kontrol^2}{r \times a} - FK \\
 &= \frac{92^2 + 128^2 + 72^2 + 109^2}{3 \times 4} - 6700 \\
 &= 100.042 \\
 \text{Jumlah Kuadrat AB} &= JKP - JKA - JKB \\
 &= 658.958 - 285.458 - 100.042 \\
 &= 273.458 \\
 \text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\
 &= 704.958 - 658.958 \\
 &= 46 \\
 \text{Derajat Bebas Perlakuan} &= a \times b - 1 \\
 &= 4 \times 2 - 1 \\
 &= 7 \\
 \text{Derajat Bebas A} &= a - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3 \\
 \text{Derajat Bebas B} &= b - 1 \\
 &= 2 - 1 \\
 &= 1 \\
 \text{Derajat Bebas AB} &= (a - 1) \times (b - 1) \\
 &= (4 - 1) \times (2 - 1) \\
 &= 3 \\
 \text{Derajat Bebas Galat} &= a \times b \times (r - 1) \\
 &= 4 \times 2 \times (3 - 1)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 16 \\
 \text{Derajat Bebas Total} &= db \text{ Perlakuan} + db \text{ Galat} \\
 &= 7 + 16 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{658.958}{7} \\
 &= 94.14
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah A} &= \frac{JKA}{db \text{ A}} \\
 &= \frac{285.458}{3} \\
 &= 95.15
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah B} &= \frac{JKB}{db \text{ B}} \\
 &= \frac{100.042}{1} \\
 &= 100.042
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah AB} &= \frac{JKAB}{db \text{ AB}} \\
 &= \frac{273.458}{3} \\
 &= 91.15
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{JG}{db \text{ Galat}} \\
 &= \frac{46}{16} \\
 &= 2.88
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Perlakuan} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{94.14}{2.88} \\
 &= 32.74
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung A} &= \frac{KTA}{KTG} \\
 &= \frac{95.15}{2.88} \\
 &= 33.09
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung B} &= \frac{KTB}{KTG} \\
 &= \frac{100.04}{2.88} \\
 &= 34.797
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung AB} &= \frac{KTAB}{KTG} \\
 &= \frac{91.15}{2.88} \\
 &= 31,7
 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	7	658.96	94.14	32.74**	2.66	4.03
A	3	285.46	95.15	33.10**	3.24	5.29
B	1	100.04	100.04	34.80**	4.49	8.53
AB	3	273.46	91.15	31.71**	3.24	5.29
Galat	16	46.00	2.88			
Total	23.	704.96				

Keterangan : (**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 SED &= \frac{\sqrt{2KTG}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 2.88}}{\sqrt{3}} \\
 &= 0,1155
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times SED \\
 &= 2,119905 \times 0,1155 \\
 &= 0,2448
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 1\% &= t \text{ tabel } 1\% \times SED \\
 &= 2,920782 \times 0,1155
 \end{aligned}$$

= 0,3373

Perlakuan	Rata-rata	K-	P4	P5	P6	P1	P2	P3	K+	Not.
		10.33	10.67	13.67	14.67	16	19.67	23	25.67	
K+	10.33	TN								a
P3	10.67	0.34**	TN							b
P6	13.67	3.34**	3**	TN						bc
P1	14.67	4.34**	4**	1**	TN					c
P4	16	5.67**	5.33**	2.33**	1.33**	TN				cd
P5	19.67	9.34**	9**	6**	5**	3.7**	TN			cde
P2	23	12.67**	12.33**	9.33**	8.3**	7**	3.3**	TN		e
K-	25.67	15.34**	15**	12**	11**	9.7**	6**	2.7	TN	e

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata

b) Hemoglobin

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3			
K(+)	2.2	2.4	2.6	7.2	2.40	0.20
K(-)	10.0	9.6	9.6	29.2	9.73	0.23
P1	2.6	3	2.8	8.4	2.80	0.20
P2	5.6	8	5.8	19.4	6.47	1.33
P3	2.4	3	2.6	8	2.67	0.31
P4	4	4.2	4.6	12.8	4.27	0.31
P5	5	5.2	4.8	15	5.00	0.20
P6	3	3.6	3	9.6	3.20	0.35
Total	34.8	39	35.8	109.6	36.53	

Tabel 2 Arah					
Perlakuan	Dosis 1,0	Dosis 0,5	Dosis 1,5	Kontrol	Total
Myxo	8.4	19.4	8	7.2	43
sehat	12.8	15	9.6	29.2	66.6

Total	21.2	34.4	17.6	36.4	109.6
-------	------	------	------	------	-------

$$\begin{aligned}\text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{a \times b \times r} \\ &= \frac{(109.6)^2}{4 \times 2 \times 3} \\ &= 500.5\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= \{(K(+1))^2 + (K(+2))^2 + \dots + (P6)^2\} - FK \\ &= \{(2.2)^2 + (2.4)^2 + \dots + (9.6)^2\} - 500.5 \\ &= 136.13\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum K^2 + \sum K^{-2} + \sum P1^2 + \sum P2^2 + \sum P3^2 + \sum P4^2 + \sum P5^2 + \sum P6^2}{r} - FK \\ &= \frac{7.2^2 + 29.2^2 + 8.4^2 + 19.4^2 + 8^2 + 12.8^2 + 15^2 + 9.6^2}{3} - 500.5 \\ &= 131.63\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat A} &= \frac{\sum Myxo^2 + \sum Sehat^2}{r \times b} - FK \\ &= \frac{43^2 + 66^2}{3 \times 2} - 500.5 \\ &= 44.08\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat B} &= \frac{\sum Dosis 1^2 + \sum Dosis 0,5^2 + \sum Dosis 1,5^2 + \sum Kontrol^2}{r \times a} - FK \\ &= \frac{21.2^2 + 34.4^2 + 17.6^2 + 36.4^2}{3 \times 4} - 500.5 \\ &= 23.21\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat AB} &= JKP - JKA - JKB \\ &= 131.6 - 44.08 - 23,2 \\ &= 64.34\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\ &= 136.13 - 131.62 \\ &= 4.51\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas Perlakuan} &= a \times b - 1 \\ &= 4 \times 2 - 1 \\ &= 7\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas A} &= a - 1 \\ &= 4 - 1 \\ &= 3\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas B} &= b - 1 \\ &= 2 - 1 \\ &= 1\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas AB} &= (a - 1) \times (b - 1) \\ &= (4 - 1) \times (2 - 1) \\ &= 3\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas Galat} &= a \times b \times (r - 1) \\ &= 4 \times 2 \times (3 - 1) \\ &= 16\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas Total} &= db \text{ Perlakuan} + db \text{ Galat} \\ &= 7 + 16 \\ &= 23\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db \text{ Perlakuan}} \\ &= \frac{131.62}{7} \\ &= 18.8\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah A} &= \frac{JKA}{db A} \\ &= \frac{44.08}{3} \\ &= 14.69\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah B} &= \frac{JKB}{db B} \\ &= \frac{23.21}{1} \\ &= 23.21\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah AB} &= \frac{JKAB}{db AB} \\ &= \frac{64.34}{3} \\ &= 21.45\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{JKG}{db \text{ Galat}} \\ &= \frac{4.51}{16} \\ &= 0.28\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung Perlakuan} &= \frac{KTP}{KTG} \\ &= \frac{18.8}{0.28} \\ &= 66.76\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung A} &= \frac{KTA}{KTG} \\ &= \frac{14.69}{0.28} \\ &= 52.17\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung B} &= \frac{KTB}{KTG} \\ &= \frac{23.21}{0.28} \\ &= 82.39\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung AB} &= \frac{KTAB}{KTG} \\ &= \frac{21.45}{0.28} \\ &= 76.14\end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	7	131.63	18.80	66.76**	2.66	4.03
A	3	44.08	14.69	52.17**	3.24	5.29
B	1	23.21	23.21	82.39**	4.49	8.53
AB	3	64.34	21.45	76.14**	3.24	5.29
Galat	16	4.51	0.28			
Total	23	136.13				

Keterangan : (**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned} SED &= \frac{\sqrt{2KTG}}{\sqrt{r}} \\ &= \frac{\sqrt{2 \times 0.28}}{\sqrt{3}} \\ &= 0,11547 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times SED \\ &= 2,119905 \times 0,11547 \\ &= 0,2448 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% \times SED \\ &= 2,920782 \times 0,11547 \\ &= 0,3373 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rata-rata	K+	P3	P1	P6	P4	P5	P2	K-	
		2.4	2.67	2.8	3.2	4.27	5	6.47	9.73	
K+	2.4	TN								a
P3	2.67	0.27* *	TN							b
P1	2.8	0.4**	0.13*	TN						c
P6	3.2	0.8**	0.53* *	0.4**	TN					c
P4	4.27	1.87* *	1.6**	1.47* *	1.07* *	TN				d
P5	5	2.6**	2.33* *	2.2**	1.8**	0.73* *	TN			e
P2	6.47	4**	3.8**	3.67* *	3.27* *	2.2**	1.47* *	TN		f
K-	9.73	7.33* *	7.06* *	6.93* *	6.53* *	5.46* *	4.73* *	3.26* *	TN	g
										a

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata

c) Eritosit

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3			
K(+)	620000	650000	560000	1830000	610000	45825.76
K(-)	1850000	1880000	1790000	5520000	1840000	45825.76
P1	1110000	1250000	1070000	3430000	1143333.333	94516.31
P2	1670000	1580000	1740000	4990000	1663333.333	80208.06
P3	850000	740000	970000	2560000	853333.3333	115036.23
P4	980000	920000	880000	2780000	926666.6667	50332.23
P5	1340000	1160000	125000	2625000	875000	655724.79
P6	660000	780000	810000	2250000	750000	79372.54
Total	620000	650000	560000	1830000	610000	

Tabel 2 Arah					
Perlakuan	Dosis 1	Dosis 0.5	Dosis 1.5	Kontrol	Total
Myxo	1830000	3430000	2560000	2625000	10445000
Sehat	5520000	4990000	2780000	2250000	15540000
Total	7350000	8420000	5340000	4875000	25985000

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{a \times b \times r} \\
 &= \frac{(25985000)^2}{4 \times 2 \times 3} \\
 &= 2,6913E + 12
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= \{(K(+))1^2 + (K(+))2^2 + \dots + (P6)^2\} - FK \\
 &= \{(620000)^2 + (650000)^2 + \dots + (810000)^2\} - 2,6913 \\
 &= 5,0488E + 12
 \end{aligned}$$

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\sum K^{+2} + \sum K^{-2} + \sum P1^2 + \sum P2^2 + \sum P3^2 + \sum P4^2 + \sum P5^2 + \sum P6^2}{r} - FK$$

$$= \frac{1830000^2 + 5520000^2 + 3430000^2 + 4990000^2 + 2560000^2 + 2780000^2 + 2625000^2 + 2250000^2}{3} - 2,6913$$

$$= 4,1056$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat A} &= \frac{\sum Myxo^2 + \sum Sehat^2}{r \times b} - FK \\ &= \frac{18897070^2 + 16436670^2}{3 \times 2} - 2,6913E + 12 \\ &= 1,3992 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat B} &= \frac{\sum Dosis 1^2 + \sum Dosis 0,5^2 + \sum Dosis 1,5^2 + \sum Kontrol^2}{r \times a} - FK \\ &= \frac{7350000^2 + 8420000^2 + 5340000^2 + 4875000^2}{3 \times 2} - 2,6913E + 12 \\ &= 1,0816E + 12 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat AB} &= JKP - JKA - JKB \\ &= 4,1056 - 1,3992 - 1,0816 \\ &= 1,6248E + 11 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\ &= 5,0488 - 4,1056 \\ &= 9,4322E + 10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas Perlakuan} &= a \times b - 1 \\ &= 4 \times 2 - 1 \\ &= 7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas A} &= a - 1 \\ &= 4 - 1 \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas B} &= b - 1 \\ &= 2 - 1 \\ &= 1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Derajat Bebas AB} &= (a - 1) \times (b - 1) \\ &= (4 - 1) \times (2 - 1) \\ &= 3 \end{aligned}$$

$$\text{Derajat Bebas Galat} = a \times b \times (r - 1)$$

$$\begin{aligned}
 &= 4 \times 2 \times (3 - 1) \\
 &= 16 \\
 \text{Derajat Bebas Total} &= db \text{ Perlakuan} + db \text{ Galat} \\
 &= 7 + 16 \\
 &= 23
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{4,1056}{7} \\
 &= 5,8652
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah A} &= \frac{JKA}{db \text{ A}} \\
 &= \frac{1,3882}{3} \\
 &= 4,6639
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah B} &= \frac{JKB}{db \text{ B}} \\
 &= \frac{1,0816}{1} \\
 &= 1,0816
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah AB} &= \frac{JKAB}{db \text{ AB}} \\
 &= \frac{1,6248}{3} \\
 &= 5,4161
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{JG}{db \text{ Galat}} \\
 &= \frac{9,4322}{16} \\
 &= 5,8951
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung Perlakuan} &= \frac{KTP}{KTG} \\
 &= \frac{5,8652}{5,8951} \\
 &= 9,9492542
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{F Hitung A} &= \frac{KTA}{KTG} \\
 &= \frac{4,6639}{5,8951} \\
 &= 7,91152616
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung B} &= \frac{KTB}{KTG} \\
 &= \frac{1.0816}{5,8951} \\
 &= 18,34787
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 F \text{ Hitung AB} &= \frac{KTAB}{KTG} \\
 &= \frac{5,4161}{5,8951} \\
 &= 9.18744
 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F1%
Perlakuan	7	4.10563E+12	5.86519E+11	9.94925411**	2.66	4.03
A	3	1.39918E+12	4.66393E+11	7.91152616**	3.24	5.29
B	1	1.08163E+12	1.08163E+12	18.34786988* *	4.49	8.53
AB	3	1.62483E+12	5.41609E+11	9.187443677* *	3.24	5.29
Galat	16	9.43217E+11	5895104166 7			
Total	23	5.04885E+12	2.19515E+11			

Keterangan : (**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 SED &= \frac{\sqrt{2KTG}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 5.895104}}{\sqrt{3}} \\
 &= 1155
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 5\% &= t \text{ tabel } 5\% \times SED \\
 &= 2,119905 \times 1155 \\
 &= 122448
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 1\% &= t \text{ tabel } 1\% \times \text{SED} \\
 &= 2,920782 \times 0,1155 \\
 &= 341373
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	K+	P6	P3	P5	P4	P1	P2	K-	Not.
		610000	750000	853333	875000	926667	1143333	1663333	1840000	
K+	610000	TN								a
P6	750000	140000**	TN							b
P3	853333	243333**	103333*	TN						c
P5	875000	265000**	125000*	21667*	TN					c
P4	926667	316667**	176667**	73334*	51667*	TN				d
P1	1143333	533333**	393333**	290000**	268333**	216666**	TN			e
P2	1663333	1053333**	913333**	810000**	788333**	736666**	520000**	TN		f
K -	1840000	1230000**	1090000**	986667**	965000**	913333**	696667**	176667**	TN	g

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata

d) Leukosit

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3			
K(+)	421600	351000	395000	1167600	389200	35655.5746
K(-)	33550	29060	32540	95150	31716.66667	2355.511268
P1	265770	245000	257880	768650	256216.6667	10484.42814
P2	145620	120050	109450	375120	125040	18594.14693
P3	392100	321400	276500	990000	330000	58277.86887
P4	298200	289750	288790	876740	292246.6667	5178.033732
P5	160320	159250	157880	477450	159150	1223.069908
P6	314200	300210	341002	955412	318470.6667	20728.62179
Total	421600	351000	395000	1167600	389200	35655.5746

Tabel 2 Arah					
Perlakuan	Dosis 1	Dosis 0.5	Dosis 1.5	Kontrol	Total
Myxo	1167600	768650	990000	477450	3403700
Sehat	95150	375120	876740	955412	2302422
Total	1262750	1143770	1866740	1432862	5706122

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor Koreksi} &= \frac{(\text{Jumlah})^2}{a \times b \times r} \\
 &= \frac{(5706122)^2}{4 \times 2 \times 3} \\
 &= 13567E + 11
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat (JK) Total} &= \{(K(+1))^2 + (K(+2))^2 + \dots + (P6)^2\} - FK \\
 &= \{(421600)^2 + (351000)^2 + \dots + (157880)^2\} - \\
 &13567E + 11 \\
 &= 3,1899E + 10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum K^2 + \sum K^{-2} + \sum P1^2 + \sum P2^2 + \sum P3^2 + \sum P4^2 + \sum P5^2 + \sum P6^2}{r} - FK \\
 &= \\
 &\frac{1167600^2 + 95150^2 + 1866740^2 + 768650^2 + 375120^2 + 990000^2 + 876740^2 + 477450^2}{3} - 1,3567E + 11 \\
 &= 3,0782E + 10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat A} &= \frac{\sum Myxo^2 + \sum Sehat^2}{r \times b} - FK \\
 &= \frac{3403700^2 + 2302422^2}{3 \times 4} - 1,3567E + 11 \\
 &= 5,01
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat B} &= \frac{\sum Dosis\ 1^2 + \sum Dosis\ 0,5^2 + \sum Dosis\ 1,5^2 + \sum Kontrol^2}{r \times a} - FK \\
 &= \frac{126275^2 + 114377^2 + 1866740^2 + 1432862^2}{3 \times 2} - 1,3567E + 11 \\
 &= 5,0534
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat AB} &= JKP - JKA - JKB \\
 &= 3,0782 - 5,01 - 5,0534 \\
 &= 2,0718
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\
 &= 3,1899 - 3,0782
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 1,1174 \\
 \text{Derajat Bebas Perlakuan} &= a \times b - 1 \\
 &= 4 \times 2 - 1 \\
 &= 7 \\
 \text{Derajat Bebas A} &= a - 1 \\
 &= 4 - 1 \\
 &= 3 \\
 \text{Derajat Bebas B} &= b - 1 \\
 &= 2 - 1 \\
 &= 1 \\
 \text{Derajat Bebas AB} &= (a - 1) \times (b - 1) \\
 &= (4 - 1) \times (2 - 1) \\
 &= 3 \\
 \text{Derajat Bebas Galat} &= a \times b \times (r - 1) \\
 &= 4 \times 2 \times (3 - 1) \\
 &= 16 \\
 \text{Derajat Bebas Total} &= db \text{ Perlakuan} + db \text{ Galat} \\
 &= 7 + 16 \\
 &= 23 \\
 \text{Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{JKP}{db \text{ Perlakuan}} \\
 &= \frac{3,0782}{7} \\
 &= 4,3974 \\
 \text{Kuadrat Tengah A} &= \frac{JKA}{db A} \\
 &= \frac{5,01}{3} \\
 &= 1,67 \\
 \text{Kuadrat Tengah B} &= \frac{JKB}{db B} \\
 &= \frac{5,0534}{1} \\
 &= 5,05342
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah AB} &= \frac{JKAB}{db \text{ AB}} \\ &= \frac{2,0718}{3} \\ &= 6,906\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Tengah Galat} &= \frac{JKG}{db \text{ Galat}} \\ &= \frac{1,1174}{16} \\ &= 698353458\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung Perlakuan} &= \frac{KTP}{KTG} \\ &= \frac{4,3974}{698353458} \\ &= 62.967582\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung A} &= \frac{KTA}{KTG} \\ &= \frac{28,17}{698353458} \\ &= 23.91355\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung B} &= \frac{KTB}{KTG} \\ &= \frac{5.0534}{698353458} \\ &= 72.3614728\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung AB} &= \frac{KTAB}{KTG} \\ &= \frac{6,906}{698353458} \\ &= 98,890313\end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F1%
Perlakuan	7	3.07815E+11	4.3974E+10	62.96758224	2.66	4.03
A	3	50100340721	16700113574	23.91355465	3.24	5.29
B	1	50533884720	50533884720	72.36147278	4.49	8.53
AB	3	2.07181E+11	69060392007	98.89031299	3.24	5.29
Galat	16	11173655323	698353457.7			

Total	23	3.18989E+11	13869089425			
--------------	----	-------------	-------------	--	--	--

Keterangan : (**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 SED &= \frac{\sqrt{2KTG}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 698353}}{\sqrt{3}} \\
 &= 1155
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times SED \\
 &= 2,119905 \times 1155 \\
 &= 20448
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times SED \\
 &= 2,920782 \times 1155 \\
 &= 35373
 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rerata	K-	P2	P5	P1	P4	P6	P3	K +	Not.
		31716.7	125040	159150	256217	292247	318471	330000	389200	
K-	31716.7	TN								a
P2	125040	93323**	TN							b
P5	159150	127433**	34110*	TN						bc
P1	256217	224500**	131177**	97067**	TN					c
P4	292247	260530**	167207**	133097**	36030**	TN				d
P6	318471	286754**	193431**	159321**	62254**	26224**	TN			e
P3	330000	298283**	204960**	170850**	73783**	37753**	11529*	TN		e
K+	389200	357483**	264160**	230050**	132983**	96953**	70729**	59200**	TN	e

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata

e) Limfosit

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	1	2	3			
K(+)	89	86	88	263	87.67	1.53
K(-)	68	62	65	195.0	65.00	3.00
P1	81	83	80	244	81.33	1.53
P2	78	80	79	237	79.00	1.00
P3	82	87	85	254	84.67	2.52
P4	81	82	84	247	82.33	1.53
P5	80	82	82	244	81.33	1.15
P6	86	84	84	254	84.67	1.15
Total	645	646	647	1938	646	

Tabel 2 Arah					
Perlakuan	Dosis 1	Dosis 0.5	Dosis 1.5	Kontrol	Total
Myxo	244	237	254	263	998
Sehat	247	244	254	195	940
Total	491	481	508	458	1938

Faktor Koreksi

$$= \frac{(\text{Jumlah})^2}{a \times b \times r}$$

$$= \frac{(1938)^2}{4 \times 2 \times 3}$$

$$= 156494$$

Jumlah Kuadrat (JK) Total $= \{(K(+))1)^2 + (K(+))2)^2 + \dots + (P6)^2\} - FK$

$$= \{(89)^2 + (86)^2 + \dots + (84)^2\} - 156494$$

$$= 1050.5$$

JK Perlakuan

$$= \frac{\sum K+^2 + \sum K-^2 + \sum P1^2 + \sum P2^2 + \sum P3^2 + \sum P4^2 + \sum P5^2 + \sum P6^2}{r} - FK$$

$$= \frac{263^2 + 195^2 + 244^2 + 237^2 + 254^2 + 247^2 + 244^2 + 254^2}{3} - 156494$$

$$= 998.5$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat A} &= \frac{\sum Myxo^2 + \sum Sehat^2}{r \times b} - FK \\ &= \frac{398^2 + 940^2}{3 \times 2} - 54 \\ &= 218.17\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat B} &= \frac{\sum Dosis 1^2 + \sum Dosis 0,5^2 + \sum Dosis 1,5^2 + \sum Kontrol^2}{r \times a} - FK \\ &= \frac{491^2 + 481^2 + 508^2 + 458^2}{3 \times 2} - 156494 \\ &= 640.17\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat AB} &= JKP - JKA - JKB \\ &= 998.5 - 218.17 - 640.17 \\ &= 640.17\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Galat} &= JKT - JKP \\ &= 1050.5 - 998.5 \\ &= 52\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas Perlakuan} &= a \times b - 1 \\ &= 4 \times 2 - 1 \\ &= 7\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas A} &= a - 1 \\ &= 4 - 1 \\ &= 3\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas B} &= b - 1 \\ &= 2 - 1 \\ &= 1\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas AB} &= (a - 1) \times (b - 1) \\ &= (4 - 1) \times (2 - 1) \\ &= 3\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Derajat Bebas Galat} &= a \times b \times (r - 1) \\ &= 4 \times 2 \times (3 - 1) \\ &= 16\end{aligned}$$

$$\text{Derajat Bebas Total} = db \text{ Perlakuan} + db \text{ Galat}$$

$$= 7 + 16$$

$$= 23$$

$$\text{Kuadrat Tengah Perlakuan} = \frac{JKP}{db \text{ Perlakuan}}$$

$$= \frac{998.5}{7}$$

$$= 142.643$$

$$\text{Kuadrat Tengah A} = \frac{JKA}{db A}$$

$$= \frac{218.17}{4}$$

$$= 72,72$$

$$\text{Kuadrat Tengah B} = \frac{JKB}{db B}$$

$$= \frac{140.167}{1}$$

$$= 140.167$$

$$\text{Kuadrat Tengah AB} = \frac{JKAB}{db AB}$$

$$= \frac{640.167}{3}$$

$$= 213.39$$

$$\text{Kuadrat Tengah Galat} = \frac{JG}{db \text{ Galat}}$$

$$= \frac{52}{16}$$

$$= 3.25$$

$$F \text{ Hitung Perlakuan} = \frac{KTP}{KTG}$$

$$= \frac{142.64}{3.25}$$

$$= 43.89$$

$$F \text{ Hitung A} = \frac{KTA}{KTG}$$

$$= \frac{72.72}{3.25}$$

$$= 22.3761$$

$$F \text{ Hitung B} = \frac{KTB}{KTG}$$

$$= \frac{140.167}{3.25}$$

$$\begin{aligned}
 &= 43.13 \\
 \text{F Hitung AB} &= \frac{KTAB}{KTG} \\
 &= \frac{213.389}{3.25} \\
 &= 65.66
 \end{aligned}$$

Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hit	F 5%	F1%
Perlakuan	7	998.50	142.64	43.89**	2.66	4.03
A	3	218.17	72.72	22.38**	3.24	5.29
B	1	140.17	140.17	43.13**	4.49	8.53
AB	3	640.17	213.39	65.66**	3.24	5.29
Galat	16	52.00	3.25			
Total	23	1050.50				

Keterangan : (**) = Berbeda Sangat Nyata

Karena didapatkan hasil nilai F Hitung lebih besar dari F tabel 5% dan F tabel 1%, maka dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Menghitung Nilai Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\begin{aligned}
 \text{SED} &= \frac{\sqrt{2KTG}}{\sqrt{r}} \\
 &= \frac{\sqrt{2 \times 3.25}}{\sqrt{3}} \\
 &= 2,16667
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t \text{ tabel 5\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,119905 \times 2,16667 \\
 &= 2.048
 \end{aligned}$$

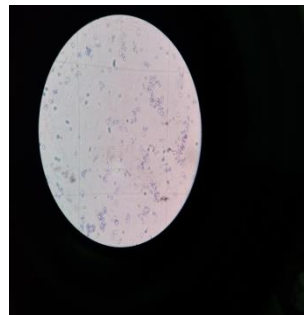
$$\begin{aligned}
 \text{BNT 1\%} &= t \text{ tabel 1\%} \times \text{SED} \\
 &= 2,920782 \times 0,1155 \\
 &= 3.03
 \end{aligned}$$

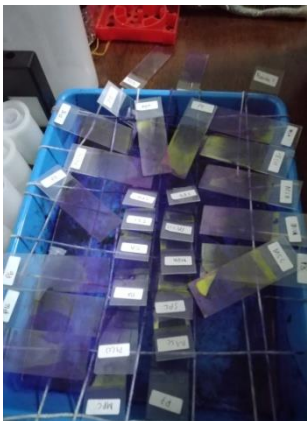
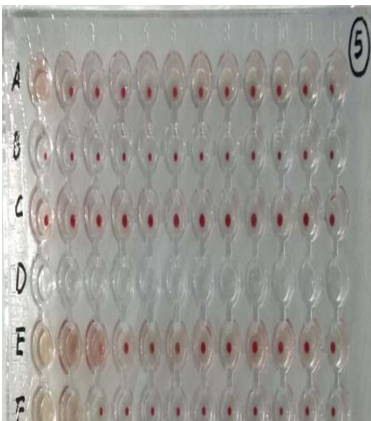
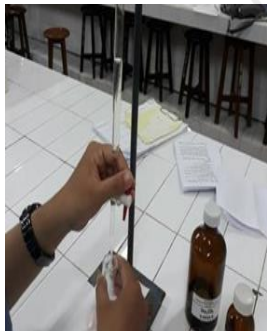
Perlakuan	Rata-rata	K+	P2	P1	P5	P4	P3	P6	K-	NOT.
		65	79	81.33	81.33	82.33	84.67	84.67	87.67	
K+	65	TN								a
P2	79	14**	TN							b
P1	81.3	16.3**	2.3*	TN						b
P5	81.3	16.3**	2.38	0 ^{TN}	TN					c
P4	82.3	17.3**	3.3**	1*	1*	TN				c
P3	84.7	19.7**	5.7*	3.4**	3.3**	2.3*	TN			c
P6	84.7	19.7**	5.7*	3.4**	3.3**	2.3*	0 ^{TN}	TN		cd
K-	87.7	22.7**	8.7*	6.4**	6.3**	5.3**	3**	3**	TN	d

Keterangan : (*) = Berbeda Nyata, (**) = Berbeda Sangat Nyata, (TN) = Tidak Nyata



LAMPIRAN 4.Dokumentasi Penelitian

		
BakPerlakuanPeneltian	Pengukuranberatdanpanjanngikan	Pemberian Kutuklin dalam Perlakuan Ikan Koi
		
Pengambilan ikan darah	Sampel ikan yang diberikan kutuklin perlakuan	Pengamatan apusan darah yang telah diberi giemsa
		
Pengamatan Leukosit	Pengamatan Eritrosit	Hematokrit yang sudah di sentrifuge

		
Pengukuran hematokrit	Apusan yang telah diamati	Hasil antigen ikan koi terhadap respon molekuler pada perlakuan kutuklin
		
Proses pengukuran suhu perairan dalam bak	Proses pengukuran kandungan pH perairan dalam bak	Proses pengukuran kandungan oksigen terlarut perairan dalam bak
		
Proses pengukuran CO₂	Proses penimbangan pakan	Aklimatisasi sebelum dipinda hkan ke bak dan dilakukan perlakuan