

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*)  
TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla***

**SKRIPSI**

Oleh:

**DWI RATIH SULISTYORINIE  
NIM. 155080507111033**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*)  
TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla***

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**DWI RATIH SULISTYORINIE  
NIM. 155080507111033**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2019**

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API (*Avicennia marina*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophilla***

Telah Dipertahankan Di Depan Penguji Pada Tanggal 23 Mei 2019 dan Telah Dinyatakan Telah Memenuhi Syarat

Oleh :

**DWI RATIH SULISTYORINIE**  
NIM. 155080507111033

Dosen Pembimbing 1

**(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS.)**  
NIP. 19611106 198602 2 001  
Tanggal: 19 JUN 2019

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing 2

**(Ir. Heny Suprastyani, MS.)**  
NIP. 19620904 198701 2 001  
Tanggal: 19 JUN 2019

Mengetahui:

Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan



**(Dr. Ir. M. Eirdaus, MP)**  
NIP. 19680919 200501 1 001  
Tanggal: 19 JUN 2019



## IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul :PENGARUH EKSTRAK KASAR DAUN API-API  
(*Avicennia marina*) TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI  
IKAN KOI (*Cyprinus carpio*) YANG DIINFEKSI BAKTERI  
*Aeromonas hydrophilla*

Nama Mahasiswa : DWI RATIH SULISTYORINIE

NIM : 155080507111033

Program Studi : BUDIDAYA PERAIRAN

### PENGUJI PEMBIMBING:

Pembimbing 1 : PROF. DR. IR. Sri Andayani, MS

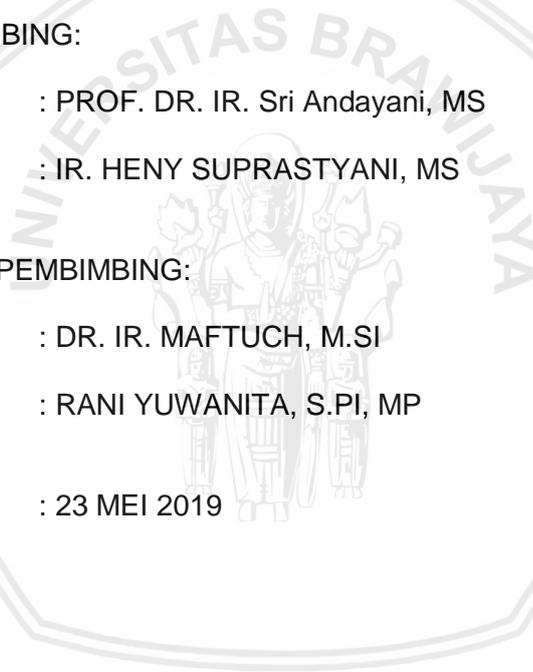
Pembimbing 2 : IR. HENY SUPRASTYANI, MS

### PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Penguji 1 : DR. IR. MAFTUCH, M.SI

Penguji 2 : RANI YUWANITA, S.PI, MP

Tanggal Ujian : 23 MEI 2019



## PERNYATAAN ORISINALITAS

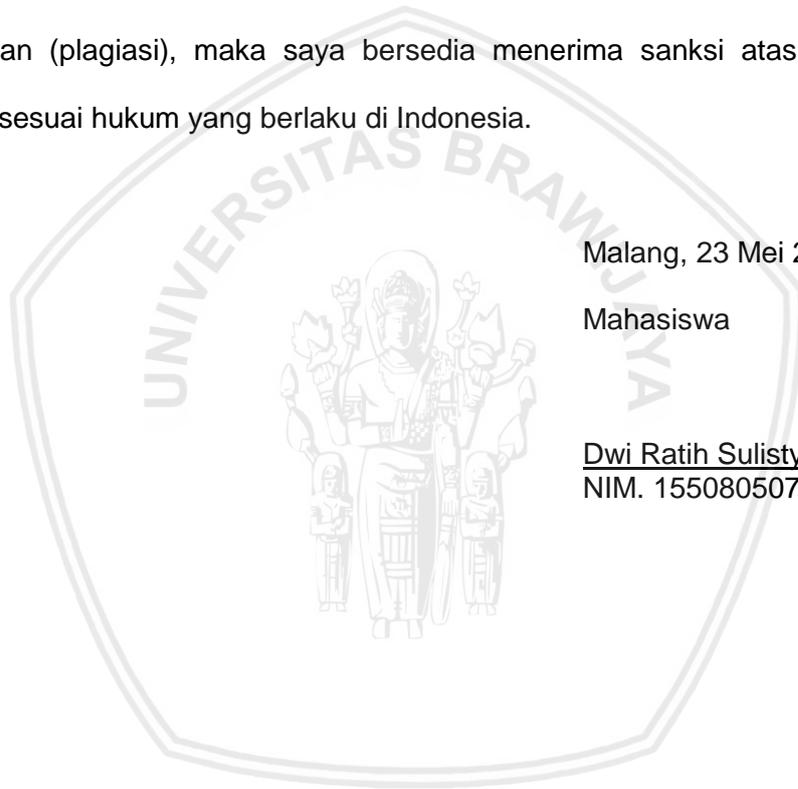
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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, 23 Mei 2019

Mahasiswa

Dwi Ratih Sulistyorinie  
NIM. 155080507111033



## DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Dwi Ratih Sulistyornie adalah nama penulis skripsi ini. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara. Penulis dilahirkan di Malang, 21 Maret 1997. Penulis menempuh pendidikan mulai dari TK Kartini Pandesari-Pujon (Lulus tahun 2003), melanjutkan SDN Pandesari 3, Pujon (Lulus 2009), kemudian SMPN 1 Pujon (Lulus tahun 2012 ) dan melanjutkan di SMAN 1 Batu (Lulus tahun 2015). Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Brawijaya, Malang hingga akhirnya dapat menempuh kuliah Strata 1 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Program Studi Budidaya Perairan. Dengan ketekunan dan pantang menyerah untuk terus belajar dan berusaha, penulis akhirnya berhasil menyelesaikan pengerjaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi positif bagi dunia pendidikan. Akhir kata, penulis mengucapkan rasa syukur yang mendalam atas terselesaikannya skripsi yang berjudul **“Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*Avicennia marina*) Terhadap Histopatologi Hati Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*”**

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyadari bahwa penulisan laporan ini dapat terselesaikan karena ada dukungan dari beberapa pihak. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan berkah, karunia, serta ridhoNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Skripsi dengan baik.
2. Kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan do'a, motivasi dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. dan Ir. Heny Suprastyani, MS. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, saran dan nasehat kepada penulis.
4. Dr. Ir. Maftuch, M.Si dan Rani Yuwanita, S.Pi, MP selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan arahan, saran dan nasehat kepada penulis.
5. Ibu dan bapak laboran di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.
6. Teman-teman satu tim Lingga, Setiyoah, Hafiza, Etika, Rizqo, Maylia dan Zahro yang selalu memberi motivasi dan telah bekerjasama dengan baik selama penelitian.
7. M. S. Qulub, S.Pi., M. Zaky Zamani, S.Pi yang telah banyak membantu selama penelitian.
8. Teman-temanku Budidaya Perairan 2015, Nafizanti, Findah, Dina, Firda dan Nafida yang selalu memberi semangat dan motivasi selama penelitian hingga penyusunan laporan.
9. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Laboratorium Uji BBPBAP Jepara dan UPT Materia Medica Batu yang sudah membantu dalam kelancaran skripsi.
10. Semua pihak yang telah memberi doa, semangat, dorongan dan membantu dalam menyelesaikan laporan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per-satu.

Malang, 23 Mei 2019

Penulis

## RINGKASAN

**DWI RATIH SULISTYORINIE.** Pengaruh Pemberian Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*Avicennia marina*) Terhadap Histopatologi Hati Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi *Aeromonas hydrophilla*, (di bawah Bimbingan Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. dan Ir. Heny Suprastyani, MS.)

Salah satu budidaya yang saat ini menjanjikan keuntungan adalah budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*). Ikan koi merupakan ikan yang sangat rentan terhadap serangan penyakit salah satunya adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Upaya pengobatan yang sering dilakukan pembudidaya yaitu dengan menggunakan obat-obatan kimia seperti *chloramphenicol* yang tidak ramah lingkungan dan dapat membuat bakteri menjadi resisten. Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pencegahan penyakit bakterial yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah melalui pemanfaatan tanaman herbal, salah satunya menggunakan daun api-api (*Avicennia marina*).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan Februari 2019 di Laboratorium Budidaya Ikan dan Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang.

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode eksperimen, sedangkan rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian ini terdiri dari 4 perlakuan, 2 kontrol dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm. Pengambilan jaringan hati dilakukan pada hari ke 7 setelah perlakuan. Parameter utama dalam penelitian ini adalah histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang dianalisa dengan metode skoring. Sedangkan parameter penunjang dalam penelitian ini adalah kualitas air antara lain suhu, pH dan oksigen terlarut yang dilakukan setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB serta kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*).

Hasil perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) memberikan pengaruh terhadap jaringan hati ikan koi (*C. carpio*) Kelainan jaringan hati yang terjadi pada saat penelitian adalah Kongesti, Hemoragi dan Nekrosis. Hasil pengamatan menunjukkan kerusakan jaringan hati yang terendah adalah perlakuan D dengan dosis 70 ppm. Perlakuan yang terbaik pada penelitian ini adalah perlakuan D dengan dosis 70 ppm. Namun perlu adanya penelitian dengan dosis lebih tinggi dan penelitian lanjutan untuk mengetahui dosis yang optimal ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.

Kualitas air selama penelitian diukur selama 7 hari setelah pengobatan, didapatkan parameter suhu berkisar antara 24,50-28,70°C; pH 6,54-8,17 dan

oksigen terlarut 5,70–9,40 ppm. Kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) selama penelitian berkisar antara 60-100%.



## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puja dan puji syukur ke hadirat Allah SWT, atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan dan menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*Avicennia marina*) Terhadap Histopatologi Hati Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophilla*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Di bawah bimbingan ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS. dan ibu Ir. Heny Suprastyani, MS. Dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan meliputi pemberian ekstrak daun api-api sebagai pengobatan, histopatologi hati, gejala klinis penginfeksi bakteri, serta kualitas air selama pemeliharaan

Penulis menyadari, bahwa pembuatan laporan skripsi ini masih jauh dari sempurna, hal ini disebabkan oleh kekurangan dan keterbatasan pengetahuan yang penulis miliki. Dengan segala kerendahan hati, penulis berharap semoga laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi segenap pihak yang membutuhkan.

Malang, Mei 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN ORISINALITAS</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>vi</b>
<b>UCAPAN TERIMAKASIH</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Kegunaan Penelitian.....	4
1.6 Tempat dan Waktu .....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Ikan Koi ( <i>Cyprinus carpio</i> ) .....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	5
2.1.2 Habitat dan Persebaran .....	6
2.1.3 Kebiasaan dan Cara Makan .....	6
2.2 Bakteri <i>Aeromonas hydrophilla</i> .....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran.....	8
2.2.3 Cara Penularan .....	9
2.3 Daun Api-Api ( <i>Avicennia marina</i> ).....	10
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	10
2.3.2 Habitat dan Penyebaran.....	11
2.3.3 Kandungan dan Manfaat Daun Api-Api .....	12
2.3.4 Mekanisme Kerja Antibakteri.....	13
2.4 Histopatologi.....	14
2.5 Organ Hati Ikan .....	15
2.5.1 Pengertian dan Fungsi Hati .....	15
2.5.2 Kerusakan pada Hati Ikan .....	16
<b>3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>18</b>
3.1 Materi Penelitian.....	18
3.1.1 Alat-Alat Penelitian.....	18

3.1.2	Bahan-Bahan Penelitian.....	19
3.2	Metode Penelitian.....	20
3.3	Rancangan Penelitian.....	21
3.4	Prosedur Penelitian .....	23
3.4.1	Persiapan Penelitian .....	23
3.4.2	Pelaksanaan Penelitian.....	30
3.5	Uji Histopatologi Hati .....	33
3.5.1	Pengambilan Jaringan.....	33
3.5.2	Pembuatan Preparat Histopatologi.....	33
3.5.3	Skoring Histopatologi Hati Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	35
3.6	Parameter Uji.....	35
3.6.1	Parameter Utama.....	35
3.6.2	Parameter Penunjang .....	36
3.7	Analisa Data .....	37
<b>4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>38</b>
4.1	Histopatologi Hati .....	38
4.1.1	Gambar Hati Normal dan yang diinfeksi Bakteri <i>A. hydrophilla</i> ...	38
4.1.2	Gambaran Histopatologi Hati Sampel Perlakuan .....	39
4.2	Kelulushidupan Ikan Koi .....	51
4.3	Parameter Kualitas Air.....	55
4.4	Gejala Klinis pada Ikan Koi.....	57
<b>5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>60</b>
5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran.....	60
	<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>61</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>66</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	6
2. Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri <i>A. hydrophilla</i> . ....	8
3. Daun Mangrove ( <i>A. marina</i> ).....	11
4. Struktur Kimia (A) Tanin dan (B) Flavonoid.....	14
5. Hati Ikan Normal, Perbesaran 400x. Pewarnaan : HE.....	16
6. Gambar Histopatologi Hati Sakit, Perbesaran 400x. Pewarnaan : HE.....	17
7. Denah Rancangan Percobaan.....	24
8. Gambar Histopatologi Hati Ikan Normal dan Sakit.....	38
9. Gambar Histopatologi Hati Perlakuan.....	40
10. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak dengan Skoring Kongesti.....	43
11. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak dengan Skoring Hemoragi.....	47
12. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak dengan Skoring Nekrosis.....	50
13. Grafik Hubungan Dosis Ekstrak dengan Kelulushidupan Ikan.....	54
14. Gejala Klinis Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	58

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Alat-Alat Penelitian.....	18
Tabel 2. Bahan-Bahan Penelitian .....	19
Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji MIC .....	22
Tabel 4. Rerata Nilai Skoring Kongesti .....	41
Tabel 5. Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Hati.....	41
Tabel 6. Uji BNT Skoring Kongesti Jaringan Hati.....	42
Tabel 7. Rerata nilai skoring Hemoragi .....	45
Tabel 8. Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Hemoragi Jaringan ...	46
Tabel 9. Uji BNT Hasil Penelitian Hemoragi Hati.....	46
Tabel 10. Rerata nilai skoring Nekrosis.....	49
Tabel 11. Sumber Keragaman Nekrosis .....	49
Tabel 12. Uji BNT Nekrosis.....	50
Tabel 13. Data Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	52
Tabel 14. Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	53
Tabel 15. Sumber Keragaman Kelulushidupan.....	53
Tabel 16. Uji BNT Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	53
Tabel 17. Kisaran Parameter Kualitas Air .....	56
Tabel 18. Gejala Klinis Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	58

## DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Halaman
1. Alat Penelitian.....	66
2. Bahan Penelitian.....	71
3. Uji Identifikasi Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ) .....	74
4. Hasil Uji Fitokimia Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ).....	75
5. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>A. hydrophilla</i> .....	76
6. Perhitungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ) .....	77
7. Skema Uji MIC.....	78
8. Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Daun Api-Api .....	79
9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan metode <i>Mc Farland</i> .....	80
10. Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Api-Api ( <i>A. marina</i> ).....	83
11. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Hati.....	85
12. Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	87
13. Data Kualitas Air .....	102
14. Uji Normalitas Kelulushidupan Ikan dengan SPSS .....	105
15. Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi ( <i>C. carpio</i> ).....	106

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang mempunyai sumber daya alam yang melimpah. Salah satu diantaranya adalah sumber daya perairan, baik tawar, laut maupun payau yang menunjang pembangunan perikanan sehingga dapat meningkatkan devisa negara melalui ekspor non migas. Pemanfaatan sumberdaya perikanan di Indonesia sudah mengarah ke perikanan budidaya dimana input teknologi dimasukan untuk mencapai hasil yang maksimal. Dampak dari adanya input tersebut adalah adanya ketidakseimbangan ekosistem budidaya yang berakibat pada timbulnya penyakit pada komoditas yang dibudidaya. Peningkatan usaha budidaya menyebabkan adanya arus perpindahan produk, sehingga akan mengakibatkan perpindahan hama dan penyakit ikan dan tersebar ke daerah lain yang dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar (Sukarni, *et al.*, 2012).

Budidaya yang saat ini menjanjikan keuntungan salah satunya adalah budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*). Budidaya ikan koi (*C. carpio*) tergolong mudah dan tidak membutuhkan lahan yang luas. Kendala dalam budidaya ikan koi adalah serangan penyakit yang dapat menyebabkan kematian masal (Nurjannah, *et al.* 2013). Ikan koi merupakan ikan yang sangat rentan terhadap serangan penyakit. Penyakit yang menyerang ikan koi salah satunya adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Bakteri *A. hydrophilla* menyebabkan 80% kematian ikan budidaya pada berbagai stadia sehingga bakteri *A. hydrophilla* dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar. Hal ini terjadi karena kondisi padat tebar yang tinggi, suhu yang tinggi dan kandungan bahan organik yang tinggi dapat menimbulkan stres pada ikan sehingga mudah terserang penyakit (Samsundari, 2006).

Upaya pengobatan yang sering dilakukan pada ikan yang terinfeksi *A. hydrophilla* yaitu dengan menggunakan obat-obatan kimia seperti *chloramphenicol*, *amoxylone*, *penicilline*, *erythromycime*, *oxytetracycline* dan *cefuroxime sodium*. Penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan bersifat karsinogenik. Seiring dengan adanya kecenderungan yang memperhatikan masalah keamanan pangan dan lingkungan maka diharapkan adanya metode pengobatan penyakit bakterial yang bersifat aman bagi pembudidaya, ramah lingkungan dan murah melalui pemanfaatan tanaman herbal. Beberapa jenis tanaman diketahui memiliki senyawa aktif yang berfungsi sebagai anti bakteri, diantara yang memiliki aktivitas anti bakteri adalah daun api-api (*Avicennia marina*) (Karmila, *et al.*, 2017).

Daun *A. marina* mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk anti bakteri. Daun *A. marina* yang terdapat di Indonesia mengandung senyawa *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *fenolik*, *flavonoid*, *triterpenoid* dan *glikosida* (Danata dan Yamindago, 2012). Penelitian pada daun api-api (*A. marina*) pernah dilakukan oleh Afzal, *et al.* (2011), mengenai manfaat dari ekstrak daun api-api yang mengandung flavonoid dan digunakan sebagai *anti fungi* pada jamur *Aspergillus* sp. Handayani (2013) juga melakukan penelitian pada kandungan flavonoid kulit batang dan daun *A. marina* yang digunakan sebagai senyawa aktif antioksidan, begitu pula penelitian yang dilakukan oleh Mulyani, *et al.* (2013) tentang peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove *Avicennia* sp. terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* secara *in vitro*, zona hambat yang terbentuk sebesar 17,02 mm pada konsentrasi ekstrak 20.000 ppm dan memiliki potensi sedang sebagai zat antibakteri. Penelitian tentang ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk

mengetahui pengaruh dari ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dalam mengobati ikan koi yang terserang penyakit *Motile Aeromonas Septicemia*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Ikan koi (*C. carpio*) memiliki harga jual yang cukup tinggi dengan kisaran harga Rp. 5000/ekor untuk ukuran 8-10 cm. Budidaya ikan koi tergolong mudah dan tidak membutuhkan lahan yang luas. Salah satu kendala dalam budidaya ikan koi adalah serangan penyakit yang menyebabkan kematian masal. Penyakit yang menyerang ikan koi salah satunya adalah *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla*. Upaya pengobatan yang sering dilakukan pada ikan yang sakit dengan menggunakan obat-obatan kimia. Penggunaan bahan kimia cenderung tidak ramah lingkungan dan ada yang bersifat karsinogenik. Tanaman api-api (*A. marina*) merupakan tanaman yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai obat herbal untuk mengobati berbagai macam gangguan biologis. Daun api-api (*A. marina*) mengandung senyawa *alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid* dan *triterpenoid* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan rumusan masalah yang dijelaskan, maka didapat permasalahan sebagai berikut:

- a. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*?
- b. Berapa dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.
- b. Untuk mengetahui berapa dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang telah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*?

#### 1.4 Hipotesis

- $H_0$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.
- $H_1$  : Diduga pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla*.

#### 1.5 Kegunaan Penelitian

Kegunaan melakukan penelitian ini adalah diharapkan hasil penelitian dapat menambah informasi secara ilmiah mengenai cara alternatif bagi masyarakat mengenai potensi ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dalam mengobati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* sebagai pengganti antibiotik yang digunakan.

#### 1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perairan Divisi Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hidrobiologi Divisi Sumberdaya Ikan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Desember 2018 – Februari 2019.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Sarikaya dan Yilmaz (2003), ikan koi dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Superkelas	: Gnathostomata
Kelas	: Osteichthyes
Superordo	: Teleostei
Ordo	: Ostariophysi
Famili	: Cyprinidae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: <i>Cyprinus carpio</i>

Assanthi (2014) menyatakan bahwa secara morfologis, ikan koi mempunyai tubuh *compressed* (panjang dan pipih) dengan tipe mulut berada di ujung tengah (terminal) dan pada bagian ujung dilengkapi dengan sepasang barbel. Ikan koi mempunyai organ penciuman berupa dua pasang barbel yang terletak pada bagian kiri dan kanan mulutnya. Organ ini mampu mendeteksi pakan di dalam air dan mencarinya diantara lumpur didasar kolam. Ikan koi memiliki indera berupa sepasang mata sebagai penglihatannya, hidung sebagai penciumannya dan sungut sebagai perasanya. Hampir seluruh tubuh ikan koi ditutupi sisik. Sisik ikan koi berukuran relatif besar dan digolongkan dalam tipe sisik sikloid berwarna hijau, biru, merah, kuning keemasan atau kombinasi dari warna-warna tersebut sesuai dengan rasnya. Ikan koi adalah ikan sosial yang

senang bergerombol, ikan ini sebaiknya dipelihara dalam kelompok lebih dari 2 ekor. Morfologi dari ikan koi (*C. carpio*) dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Ikan Koi (*C. carpio*) (David, *et al.*, 2004)

### 2.1.2 Habitat dan Persebaran

Ikan koi (*C. carpio*) merupakan salah satu ikan hias yang cukup potensial dibudidayakan di Indonesia. Habitat ikan koi yaitu di daerah beriklim sedang dan hidup pada daerah perairan tawar, akan tetapi ikan koi masih dapat hidup pada air yang agak asin. Ikan koi masih bisa bertahan hidup pada air dengan salinitas 10 ppt, oleh sebab itu ikan koi dapat dipelihara di seluruh Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Ikan koi mampu bertahan hidup pada suhu 2-3°C pada daerah yang mempunyai musim dingin (Luthfi, *et al.*, 2017).

Habitat ikan koi berada di perairan tawar yang airnya tidak terlalu dalam dan alirannya tidak terlalu deras. Ikan ini mampu bertahan hidup di daerah dengan ketinggian 150 – 600 mdpl dan pada suhu 25 – 30 °C. Ikan koi terkadang ditemukan di perairan payau atau muara sungai yang bersalinitas (kadar garam) 25 – 30 ppt. Ikan koi mudah menyesuaikan diri dengan lingkungan hidupnya. Ikan koi bisa dipelihara di seluruh wilayah Indonesia, mulai dari pantai hingga daerah pegunungan. Habitat asli ikan koi adalah di perairan dengan mata air yang bersih dan selalu mengalir (Assanthi, 2014).

### 2.1.3 Kebiasaan dan Cara Makan

Schon, *et al.* (2006), menyatakan bahwa ikan koi tergolong jenis ikan omnivora yang cenderung karnivora. Ikan koi dapat memangsa berbagai jenis pakan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik. Pakan utama

ikan koi adalah tumbuhan dan binatang kecil yang terdapat di dasar dan di tepi perairan. Ikan koi dapat memakan daging dan sayur-sayuran. Ikan koi memerlukan pakan pelet untuk mendapatkan koi yang sehat dengan warna memikat. Pakan pelet merupakan campuran berbagai bahan nabati dan hewani yang ditambah vitamin. Pakan ini sangat positif untuk pertumbuhan warna badan koi. Selain pakan pelet, koi juga memerlukan pakan alami seperti udang-udangan, cacing tanah, kepiting dan siput.

Menurut Kusriani, *et al.* (2015), ikan koi (*C. carpio*) memiliki kebiasaan makan di permukaan, di tengah perairan dan di dasar perairan (*bottom feeder*). Pakan yang diberikan untuk ikan koi adalah pelet komersial dan biasanya juga diselingi dengan pakan alami yaitu cacing tanah. Pemberian pakan untuk ikan koi diberikan dua kali sehari pada pagi hari antara pukul 07.00-09.00 WIB dan sore hari antara pukul 15.00-17.00 WIB. Pemberian pakan pada interval waktu ini, suhu air dalam kondisi hangat. Suhu air yang hangat dapat meningkatkan nafsu makan ikan koi.

## 2.2 Bakteri *A. hydrophilla*

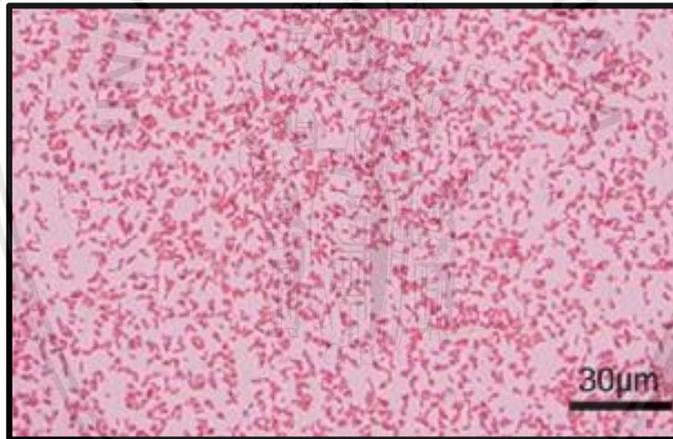
### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Batra, *et al.* (2016), klasifikasi bakteri *A. hydrophilla* berdasarkan ilmu taksonomi adalah sebagai berikut:

Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudanonadeles
Family	: Vibrionaceae
Genus	: Aeromonas
Spesies	: <i>Aeromonas hydrophilla</i>

Bakteri *A. hydrophilla* dapat tumbuh optimum pada suhu 28-35°C dengan

pH optimum 7,2. Bakteri bersifat fakultatif anaerob, berbentuk batang, gram-negatif, oksidatif positif, motil dengan *single* polar flagela dan panjang 1-3,5  $\mu\text{m}$ , berwarna putih dan mengkilat. Bakteri *A. hydrophilla* adalah jenis bakteri yang bersifat patogen dan dapat mengakibatkan kematian secara masal. Bakteri *A. hydrophilla* ini seringkali mewabah di Asia Tenggara sampai sekarang. Bakteri ini dapat menyerang ikan air tawar baik ikan hias atau pun ikan konsumsi dan dapat mematikan sampai 100% ikan, dengan gejala klinis berupa luka dibagian tubuh ikan. Bakteri ini menyerang semua umur dan hampir semua komoditas perikanan yang ada di Indonesia, bahkan menjadi wabah mematikan pada ikan air tawar dan menyebabkan kerugian yang sangat besar (Haryani, *et al.*, 2012). Morfologi dari bakteri *A. hydrophilla* disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil Uji Pewarnaan Gram Bakteri *A. hydrophilla* dengan HE (perbesaran 100x) (Nahar, *et al.*, 2016) .

### 2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *A. hydrophilla* dapat menjadi patogen pada ikan pada kualitas air yang buruk. Bakteri *A. hydrophilla* dapat hidup di lingkungan perairan tawar, perairan payau dan laut yang memiliki kadar garam tinggi. Bakteri *A. hydrophilla* termasuk ke dalam bakteri mesofilik, yaitu hidup pada suhu optimum 20°C–40°C (Mangunwardoyo, *et al.* 2010). Bakteri *A. hydrophilla* memungkinkan untuk hidup diperairan payau namun prevalensinya akan menurun dengan semakin

meningkatnya kadar salinitas perairan (Yu, 2004).

Bakteri *A. hydrophilla* banyak ditemukan pada insang, kulit, hati dan ginjal. Penularan penyakit dapat melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar atau dengan pemindahan ikan yang telah terserang bakteri *A. hydrophilla* dari satu tempat ke tempat lain. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophilla* bersifat oportunistik yaitu mampu berkembang menjadi lebih ganas pada keadaan optimum. Bakteri *A. hydrophilla* akan menimbulkan penyakit apabila keadaan ikan lemah karena stres. Infeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* biasanya terjadi melalui permukaan tubuh yang luka, saluran pencernaan atau bisa juga melalui insang, kemudian masuk ke dalam pembuluh darah dan menyebar pada organ dalam lainnya yang dapat menyebabkan terjadinya pendarahan (Samsundari, 2006).

### 2.2.3 Cara Penularan

Menurut Yuasa, *et al.* (2003), bakteri *A. hydrophilla* dapat menginfeksi banyak jenis ikan air tawar seperti *Catfish*, *Cyprinidae*, *Cichlidae*, *Rainbow trout*, *Salmonidae*, katak, siput, dan udang air. Kemampuan *A. hydrophilla* dalam melakukan infeksi pada ikan terkait dengan kemampuan bakteri dalam menghasilkan toksin. *A. hydrophilla* termasuk ke dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Sebagai faktor-faktor virulensi, kitinase, lesitinase, dan hemolisin yang dihasilkan oleh *A. hydrophilla*, bekerja dengan mendegradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang. Ikan-ikan yang terinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* pada umumnya mengalami pendarahan yang meluas pada permukaan kulit (*Haemorrhagic septicemia*), yang diikuti dengan timbulnya luka terbuka (*ulcer*) pada permukaan tubuh atau hingga ke dalam jaringan. Beberapa jenis ikan lain sering ditemukan

tanda klinis seperti sirip punggung dan sirip ekor rontok, serta pembengkakan pada perut dan berisi cairan (*dropsy*), yang diikuti dengan kematian.

Penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophilla* ditandai dengan adanya bercak merah pada ikan dan menimbulkan kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam. Penyebaran penyakit bakterial pada ikan umumnya sangat cepat serta dapat menyebabkan kematian yang sangat tinggi pada ikan-ikan yang diserangnya. Gejala klinis yang timbul pada ikan yang terserang infeksi bakteri *A. hydrophilla* adalah gerakan ikan menjadi lamban, ikan cenderung diam di dasar akuarium, terdapat luka pada daerah yang terinfeksi, perdarahan pada bagian pangkal sirip ekor dan sirip punggung dan pada perut bagian bawah terlihat buncit dan terjadi pembengkakan. Ikan sebelum mati naik ke permukaan air dengan sikap berenang yang labil (Mangunwardoyo, 2010).

## **2.3 Daun Api-Api (*Avicennia marina*)**

### **2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi**

Klasifikasi dari daun api-api (*A. marina*) menurut Budiharta (2018), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Family	: Acanthaceae
Genus	: <i>Avicennia</i>
Species	: <i>Avicennia marina</i>

*A. marina* juga di kenal dengan nama api-api. Api-api juga memiliki nama daerah seperti kibalanak (Sunda), bogem (Jatim), peape (Madura). Pohon api-api

memiliki beberapa ciri, antara lain memiliki akar napas yakni akar percabangan yang tumbuh dengan jarak teratur secara vertikal dari akar horizontal yang terbenam di dalam tanah. Reproduksi bersifat *kryptovivipary*, yaitu biji tumbuh keluar dari kulit biji saat masih menggantung pada tanaman induk, tetapi tidak tumbuh keluar menembus buah sebelum biji jatuh ke tanah. Buah berbentuk bulir seperti mangga, ujung buah tumpul dan panjang 1 cm, daun berbentuk elips dengan ujung tumpul dan panjang daun sekitar 7 cm, lebar daun 3-4 cm, permukaan atas daun berwarna hijau mengkilat dan permukaan bawah berwarna hijau abu-abu dan suram. Bentuknya semak atau pohon dengan tinggi 12 m dan kadang-kadang mencapai 20 m, memiliki akar napas yang berbentuk seperti pensil, bunga bertipe majemuk dengan 8-14 bunga setiap tangkai. Bentuk buah seperti kacang, tumbuh pada tanah berlumpur, daerah tepi sungai, daerah kering serta toleran terhadap salinitas yang sangat tinggi (Halidah, 2014). Daun api-api berwarna putih sampai keabu-abuan dilapisi kristal garam di sisi bawahnya yang merupakan kelebihan garam yang dibuang oleh tumbuhan tersebut (Husnaini, 2013). Morfologi dari daun api-api (*A. marina*) disajikan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Daun Mangrove (*A. marina*) (Halidah, 2014)

### 2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Daerah mangrove merupakan suatu tempat dimana tanah lumpur dan daratan secara terus menerus dibentuk oleh tumbuh-tumbuhan yang kemudian

secara perlahan-lahan berubah menjadi daerah semi daratan. Daerah ini ditumbuhi oleh ekosistem mangrove, dimana terdiri dari komunitas vegetasi pantai tropis, yang didominasi oleh beberapa spesies pohon mangrove yang tumbuh dan berkembang pada daerah pasang surut pantai berlumpur. Pembentuk vegetasi ini adalah jenis-jenis pohon yang dapat beradaptasi secara fisiologis terhadap salinitas yang relatif tinggi, struktur dan komposisi tanah yang lunak dan terpengaruh oleh pasang surut. Jenis mangrove yang umum terdapat adalah *Avicenia* sp. (Kushartono, 2009).

*A. marina* merupakan pohon mangrove pionir yang tumbuhnya selalu di tepi laut ataupun tepi sungai dan merupakan pohon berukuran sedang sampai besar dan tinggi (Sukardjo, 1984). *A. marina* tumbuh tersebar di sepanjang pantai Afrika Timur dan Madagaskar hingga ke India, Indo-Cina, Cina Selatan, Taiwan, Thailand, seluruh kawasan Malaysia, Kepulauan Solomon, New Caledonia, Australia dan bagian utara New Zealand. Pohon api-api ditemukan pula tumbuh di rawa-rawa air tawar, tepi pantai berlumpur daerah mangrove, hingga di substrat yang berkadar garam sangat tinggi, hal ini disebabkan karena jenis tanaman *A. marina* toleran terhadap salinitas sangat tinggi. Memiliki kemampuan menempati dan tumbuh pada berbagai habitat pasang-surut. *A. marina* dapat tumbuh pada substrat yang berpasir kasar, halus maupun lumpur yang dalam. Jenis *A. marina* tumbuh pada ketinggian tempat 0-50 m dari permukaan laut, memiliki tekstur ringan dan tumbuh pada tapak yang berlumpur dalam, tepi sungai, daerah kering. Tipe iklim A, B dan C dengan temperatur berkisar 29-30°C (Halidah, 2013).

### **2.3.3 Kandungan dan Manfaat Daun Api-Api (*A. marina*)**

Pemanfaatan berbagai jenis tumbuhan mangrove (terutama jenis pohon dari marga *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Avicennia* dan *Sonneratia*) secara tradisional

oleh masyarakat pesisir di Indonesia telah lama berlangsung sejak beberapa abad yang lalu. Pemanfaatan secara tradisional dari berbagai jenis tumbuhan mangrove tersebut merupakan pemanfaatan tingkat awal dari sumberdaya mangrove berdasarkan pengetahuan lokal masyarakat yang sampai saat ini tidak terdokumentasikan secara baik. Tumbuhan mangrove merupakan salah satu tumbuhan yang menjadi sumber antibiotik alami. Tumbuhan mangrove mengandung senyawa seperti golongan flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid dan saponin (Eryanti, 1999). Hasil uji fitokimia pada daun mangrove *A. marina* dapat dilihat pada Lampiran 4.

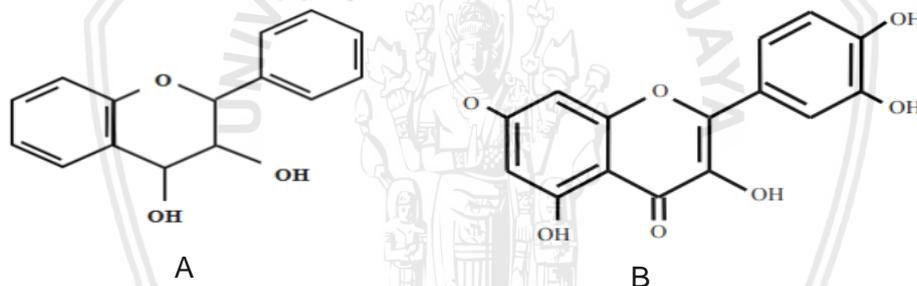
Menurut Azalea, *et al.* (2014), daun mangrove *A. marina* telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional untuk pengobatan penyakit kulit dan pakan hewan di peternakan. Jenis mangrove *A. marina* mempunyai kandungan flavonoid dengan persentase paling tinggi pada daun dibandingkan bagian lainnya. Saponin memiliki fungsi sebagai anti inflamasi, anti bakteri dan anti karsinogenik. Tanin terdapat luas dalam tumbuhan berpembuluh dan memiliki batang sejati. Fungsi tanin pada tumbuhan mangrove salah satunya adalah sebagai penolak hewan pemakan tumbuhan.

#### **2.3.4 Mekanisme Kerja Antibakteri**

Menurut Carolia dan Noventi (2016), senyawa aktif berfungsi sebagai zat antimikroba bekerja untuk menghambat bakteri. Mekanisme kerja antibakteri yaitu penghambatan sintesis dinding sel, kerusakan membran sel atau perubahan permeabilitas sel, penghambatan sintesis protein dan penghambatan sintesis DNA atau RNA. Senyawa aktif yang terkandung dalam daun *Avicennia marina* antara lain tanin, alkaloid, terpenoid, flavonoid dan saponin. Menurut Ngajow, *et al.* (2013), tanin memiliki aktivitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktivkan sel mikroba juga menginaktivkan

enzim dan mengganggu transpor protein pada lapisan dalam sel bakteri.

Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol, senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan flavonoid mampu menghambat motilitas bakteri. Flavonoid mempunyai sifat bakteriostatik, tetapi pada konsentrasi yang semakin tinggi flavonoid mampu membunuh bakteri gram negatif maupun gram positif (Charyadie, *et al.*, 2014). Struktur kimia tanin dan flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Struktur Kimia (A) Tanin dan (B) Flavonoid (S) (Redha, 2010).

## 2.4 Histopatologi

Histopatologi merupakan suatu cabang ilmu biologi yang mempelajari tentang kelainan kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Analisis histopatologi pada ikan dapat digunakan sebagai biomarker untuk memonitor lingkungan perairan melalui pengamatan terhadap kondisi kesehatan ikan. Pengamatan tersebut dapat dilakukan terhadap organ-organ yang berfungsi penting dalam metabolisme seperti hati, lambung, ginjal dan insang. Histopatologi dapat digunakan sebagai diagnosis awal terjadinya gangguan kesehatan pada ikan (Rahayu, *et al.*, 2013).

Menurut Sukarni, *et al.* (2012), analisa histopatologi dapat digunakan

untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari penyakit infeksius dan pengobatan dengan antibiotik seperti insang, hati, dan ginjal. Penggunaan biomarker histopatologi dapat digunakan untuk memonitoring perubahan pada jaringan organ dengan mengamati organ-organ yang memiliki fungsi penting dalam metabolisme tubuh, sehingga histopatologi dapat digunakan sebagai diagnosa awal terjadinya gangguan kesehatan pada suatu organisme.

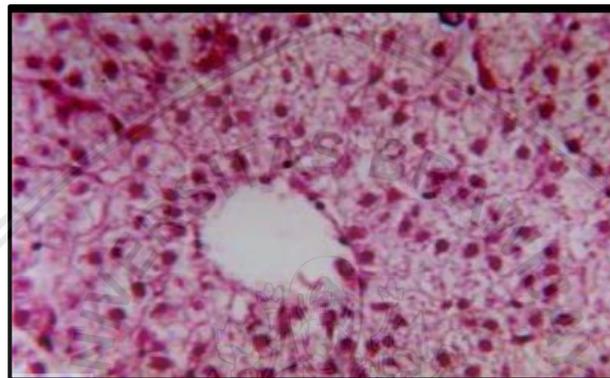
## **2.5 Organ Hati Ikan**

### **2.5.1 Pengertian dan Fungsi Hati**

Menurut Triyadayani, *et al*, (2010), hati merupakan organ penting yang berfungsi untuk mensekresikan bahan untuk proses pencernaan. Organ hati adalah suatu kelenjar kompak yang memiliki warna merah kecoklatan. Hati sangat rentan terhadap pengaruh zat kimia dan menjadi organ sasaran utama dari efek racun suatu gas kimia atau toksikan. Toksikan sebagian besar yang masuk ke dalam tubuh setelah diserap oleh sel epitel usus halus akan dibawa ke hati oleh vena porta hati. Organ hati merupakan organ tubuh yang sering mengalami kerusakan.

Hati terletak di bagian depan rongga badan dan meluas mengelilingi usus. Hati termasuk kelenjar yang besar pada ikan. Hati biasanya terletak di muka lambung atau sebagian mengelilingi lambung. Hati memiliki kantong empedu yang mengeluarkan cairan empedu. Hati terdiri dari beberapa bagian diantaranya vena sentral, hepatosit dan sinusoid. Hepatosit (sel parenkim hati) bertanggung jawab terhadap peran sentral hati dalam metabolisme. Hepatosit normal mempunyai ciri-ciri sel tersusun secara *radial*, bentuk sel bulat, oval dan terdapat lempeng-lempeng hepatosit. Sel terlihat memiliki satu nukleus yang terdapat di tengah sel. Sinusoid hati adalah celah diantara barisan hepatosit

yang mengandung sinusoid kapiler. Pada kondisi normal sinusoid dikelilingi dan disokong oleh selubung serabut retikulin halus yang penting untuk mempertahankan bentuknya. Darah mengalir melalui sinusoid akan diproses dan diolah oleh hepatosit sebelum akhirnya bermuara keluar melalui vena sentralis. Vena sentralis berfungsi untuk membawa darah vena dari hati ke vena inferior. Vena sentralis merupakan pusat lobulus (Laily, *et al.*, 2018). Gambar bagian-bagian hati ikan normal disajikan pada Gambar 5.



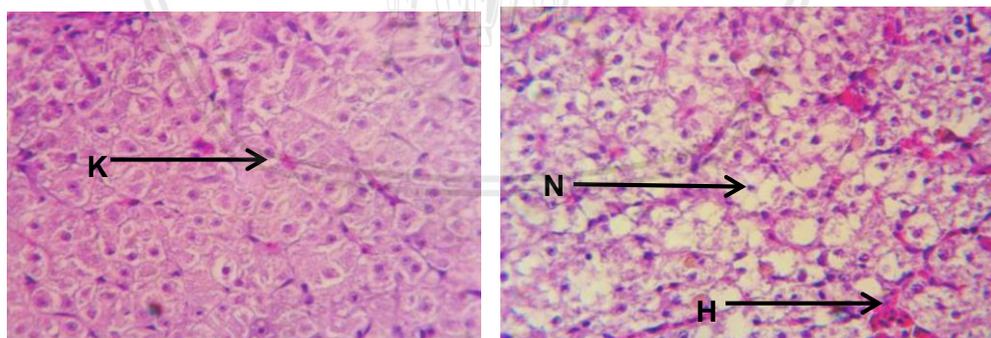
**Gambar 5.** Hati Ikan Normal, Perbesaran 400x. Pewarnaan : Hematoxylin-Eosin (Sukarni, *et al.*, 2012).

### 2.5.2 Kerusakan pada Hati Ikan

Menurut Mutiara, *et al.* (2013), kerusakan pada hati ikan dapat disebabkan oleh berbagai hal, salah satunya karena terserang infeksi bakteri. Hati dapat mengalami kerusakan diantaranya kongesti dan hemoragi. Kongesti dapat ditandai dengan adanya penumpukan sel-sel darah merah yang sangat padat dalam pembuluh darah yang menunjukkan kondisi tidak normal pada hati ikan. Kongesti disebabkan oleh adanya trauma fisik, parasit atau gangguan sistem peredaran darahnya. Kongesti pada tingkat yang paling berat akan menyebabkan pembuluh darah pecah atau keluar dari sirkulasi kardiovaskuler. Gambar kerusakan hati kongesti dapat dilihat pada Gambar 6.

Hemoragi merupakan salah satu kerusakan hati tingkat sedang. Hemoragi ini terjadi bila kongesti sudah sangat parah, maka pembuluh darah

akan pecah dan darah berada pada tempat yang tidak semestinya (pendarahan). Hemoragi mengindikasikan keluarnya darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh, tampak adanya bintik hemoragi pada lapisan mukosa atau serosa pada organ tubuh. Bila perdarahan meluas akan terjadi purpura dan eritrosit terlihat di luar pembuluh darah. Hemoragi dapat disebabkan oleh kerusakan pembuluh darah akibat agen infeksi yang beredar di pembuluh darah (Jamin dan Erlangga, 2016). Gambar kerusakan hati hemoragi dapat dilihat pada Gambar 6. Nekrosis merupakan kematian sel akibat adanya kerusakan sel akut. Nekrosis ditandai dengan hilangnya struktur jaringan kemudian sel-sel pada jaringan hati mengalami kerusakan sel. Nekrosis biasanya disebabkan karena stimulus (perubahan lingkungan) yang bersifat patologis (penyakit). Kerusakan pada hati ikan seperti nekrosis diduga timbul karena bakteri sudah berkembang di dalam hati. Nekrosis pada sel hati disebabkan oleh aktivitas sitolisis (peristiwa pecahnya sel) yang menyebabkan pengkerutan atau pengecilan ukuran nucleus secara menyeluruh (Handayani, *et al.*, 2018). Gambar kerusakan hati nekrosis dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Gambar Histopatologi Hati dengan Pewarnaan H-E. (Perbesaran 400x). Kongesti (K) dan Hemoragi (H) (Salikin, *et al.*, 2014).

### 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

##### 3.1.1 Alat-Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk penelitian disajikan pada Tabel 1 dan dapat dilihat pada Lampiran 1.

**Tabel 1.** Alat-Alat Penelitian

No.	Alat	Kegunaan
1.	Toples plastik 16L	Untuk wadah pemeliharaan ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
2.	Toples kaca 10L	Untuk wadah bahan pada saat maserasi daun api-api ( <i>A. marina</i> )
3.	Akuarium (200x60x80) cm	Untuk wadah aklimatisasi ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
4.	Timbangan digital	Untuk menimbang bahan yang digunakan dengan ketelitian $10^{-2}$
5.	<i>Aerator set</i>	Untuk menyalurkan suplai oksigen pada ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
6.	Pipet Volume	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
7.	Bola hisab	Untuk membantu mengambil larutan pada pipet volume
8.	Nampan	Untuk wadah alat dan bahan yang digunakan
9.	Oven	Untuk memanaskan sampel
10.	Penggilingan	Untuk menghaluskan daun api-api yang sudah dikeringkan
11.	Pipet tetes	Untuk mengambil larutan dalam skala kecil
12.	Jarum ose	Untuk mengambil bakteri dari media pada saat penanaman bakteri.
13.	Bunsen	Untuk pengondisian aseptis di dalam LAF
14.	Tabung reaksi	Untuk wadah media bakteri <i>A. hydrophilla</i>
15.	Lemari pendingin	Untuk menyimpan ekstrak kasar daun api-api dan bakteri <i>A. hydrophilla</i>
16.	Botol film	Untuk wadah ekstrak kasar daun api-api
17.	Gelas ukur	Untuk wadah mengukur larutan
18.	<i>Sprayer</i>	Untuk wadah alcohol 70%
19.	Mikroskop	Untuk mengamati jaringan pada hati ikan koi ( <i>C. carpio</i> )
20.	Spektrofotometer	Untuk mengukur panjang gelombang bahan paa saat uji MIC
21.	<i>Rotary Evaporator</i>	Untuk memisahkan ekstrak kasar dengan etanol PA
22.	Inkubator	Untuk tempat inkubasi pada saat penanaman bakteri <i>A. hydrophilla</i>
23.	<i>Vortex mixer</i>	Untuk menghomogenkan larutan

24.	<i>Object glass</i>	Untuk tempat sampel yang akan diamati
25.	<i>Cover glass</i>	Untuk penutup sampel yang akan diamati
26.	Seser ikan	Untuk membantu mengambil ikan
27.	Erlenmeyer	Untuk wadah pengenceran ekstrak
28.	<i>Hotplate</i>	Untuk memanaskan media
29.	<i>Thermometer</i>	Untuk pengukuran parameter kualitas air suhu
30.	pH meter	Untuk mengukur parameter kualitas air pH
31.	DO meter	Untuk mengukur parameter kualitas air DO
32.	Tabung reaksi	Untuk wadah peremajaan bakteri <i>A. hydrophilla</i>
33.	Rak tabung reaksi	Untuk wadah tabung reaksi
34.	Penggaris	Untuk mengukur panjang ikan
35.	Spatula	Untuk menghomogenkan larutan
36.	<i>Washing bottle</i>	Untuk wadah akuades
37.	Autoklaf	Untuk mensterilkan alat bahan yang akan digunakan
38.	<i>Laminary Air Flow (LAF)</i>	Untuk preparasi bahan-bahan mikrobiologi dan sebagai tempat penanaman bakteri agar tidak terkontaminasi dengan udara luar
39.	<i>Beaker glass</i>	Untuk wadah tabung reaksi pada saat sterilisasi
40.	<i>Sectio set</i>	Untuk membantu pada saat pengambilan organ hati ikan koi ( <i>C. carpio</i> )

### 3.1.2 Bahan-Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian disajikan pada Tabel 2 dan dapat dilihat pada Lampiran 2.

**Tabel 2.** Bahan-Bahan Penelitian

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Ikan koi ( <i>C. carpio</i> ) ukuran 8-10 cm dari Blitar	Sebagai ikan yang diuji
2.	Daun api-api ( <i>A. marina</i> ) dari Gresik	Sebagai bahan untuk pembuatan ekstrak kasar
3.	Bakteri <i>A. hydrophilla</i>	Sebagai bakteri yang digunakan pada saat penginfeksian
4.	<i>Aluminium foil</i>	Sebagai penutup seluruh bagian <i>beaker glass</i> dan erlenmeyer pada saat disterilkan
5.	Alkohol 70%	Sebagai bahan pengkondisian aseptis
6.	Etanol PA	Sebagai bahan pelarut daun api-api pada saat maserasi
7.	Akuades	Sebagai bahan pelarut dalam pengenceran media dan bakteri
8.	Sarung tangan	Sebagai bahan pengondisian aseptis

9.	Kertas saring	pada tangan Sebagai penyaring bahan setelah maserasi
10.	Plastik <i>wrap</i>	Sebagai pembungkus peralatan yang akan disterilisasi
11.	Masker	Sebagai pengondisian aseptis
12.	<i>Tissue</i>	Sebagai pembersih alat yang sudah digunakan
13.	Kapas	Sebagai penutup alat pada saat sterilisasi
14.	Kertas label	Sebagai penanda pada sampel
15.	<i>Tryptitone Soy Agar</i> (TSA)	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar
16.	<i>Nutrient Agar</i> (NA)	Sebagai media peremajaan bakteri dalam bentuk agar.
17.	<i>Nutrient Broth</i> (NB)	Sebagai media tumbuh bakteri dalam bentuk cair
18.	Air media	Sebagai media hidup ikan uji
19.	BaCl	Sebagai bahan larutan Mc. Farland
20.	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sebagai bahan larutan Mc. Farland
21.	Spirtus	Sebagai bahan bakar untuk pengkondisian aseptis

### 3.2 Metode Penelitian

Widyastono (2007) mengemukakan bahwa metode penelitian merupakan langkah-langkah ilmiah yang dilakukan untuk mengetahui permasalahan yang ada di lokasi penelitian sekaligus mengumpulkan data dan indikasi yang dipandang akan menjawab permasalahan yang diteliti. Istilah cara ilmiah menunjukkan arti bahwa kegiatan penelitian didasarkan pada ciri-ciri keilmuan, yaitu rasional, empiris dan sistematis. Arti dari rasional dalam penelitian adalah penelitian dilakukan dengan cara-cara yang masuk akal, bukan hasil meditasi. Arti dari empiris adalah kegiatan penelitian dapat diamati oleh indra manusia, sehingga orang lain dapat mengamati dan mengetahui cara-cara yang digunakan. Sistematis adalah proses yang digunakan dalam penelitian menggunakan langkah-langkah tertentu yang bersifat logis. Salah satu metode penelitian adalah metode eksperimen.

Indriawati, *et al.* (2016), mengemukakan bahwa metode penelitian eksperimen adalah penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel tertentu

terhadap variabel yang lain dalam kondisi yang terkontrol secara ketat. Penelitian eksperimen memiliki tiga unsur penting yang harus diperhatikan, yaitu kontrol, manipulasi dan pengamatan. Metode eksperimen juga dapat diartikan sebagai percobaan untuk mengamati suatu objek, menganalisis data, membuktikan dan menarik kesimpulan sendiri tentang suatu objek dan membuktikan suatu pertanyaan atau hipotesis tertentu.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian adalah suatu rancangan yang memungkinkan untuk dilakukan pengontrolan maksimal pada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi akurasi suatu hasil. Istilah rancangan penelitian digunakan dalam mengidentifikasi permasalahan sebelum perencanaan akhir pengumpulan data dan juga rancangan penelitian digunakan untuk mendefinisikan struktur penelitian yang akan dilaksanakan. Rancangan digunakan oleh peneliti sebagai petunjuk dalam perencanaan dan pelaksanaan penelitian untuk mencapai suatu tujuan atau menjawab suatu pertanyaan penelitian (Widyastono, 2007).

Menurut Muhammad, *et al.* (2014), Rancangan Acak Lengkap (RAL) merupakan rancangan yang paling sederhana diantara rancangan-rancangan percobaan yang lain. Dalam rancangan ini perlakuan dikenakan sepenuhnya secara acak terhadap satuan-satuan percobaan atau sebaliknya. Pola ini dikenal sebagai pengacakan lengkap atau pengacakan tanpa pembatasan. Penerapan percobaan satu faktor dalam RAL biasanya digunakan jika kondisi satuan-satuan percobaan relatif homogen, dengan keterbatasan satuan-satuan percobaan yang bersifat homogen ini, rancangan percobaan ini digunakan untuk jumlah perlakuan dan jumlah satuan percobaan yang relatif tidak banyak. Model umum Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + \tau + \varepsilon$$

Keterangan :

$\mu$  = nilai rerata harapan (mean)

$\varepsilon$  = pengaruh galat

$T$  = pengaruh faktor perlakuan

Perlakuan dalam penelitian ini adalah sebanyak 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan 2 kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif menggunakan antibiotik sintetis yaitu *Chloramphenicol* dengan dosis 30 ppm. Sedangkan kontrol negatif dengan menginokulasi bakteri ke media tanpa penambahan ekstrak. Pembuatan dosis ekstrak dilakukan dengan membuat larutan induk dengan dosis tertinggi yang dibutuhkan kemudian dilakukan pengenceran sesuai dosis yang ditentukan. Pembuatan larutan induk serta pengenceran dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*), DMSO sebanyak 10% dan aquades sebanyak 90%. Perhitungan dosis ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 6.

Penentuan dosis perlakuan berdasarkan uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*), dimana menggunakan dosis 0.01 ppm, 0.1 ppm, 1 ppm, 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm, dari dosis tersebut dilihat tabung yang bening dan nilai absorbansinya mendekati nilai kontrol positif. Adapun hasil dari uji MIC disajikan pada Tabel 3.

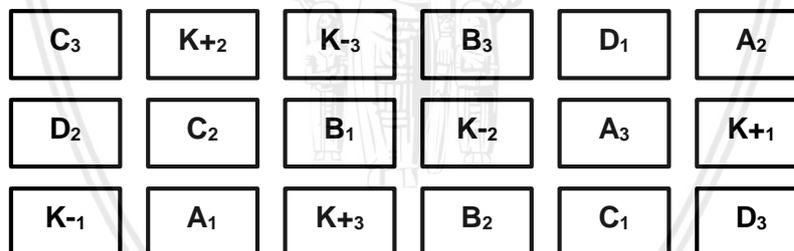
**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Uji MIC

No.	Konsentrasi (ppm)	Nilai Absorbansi	Warna
1	0.01	0,467	Keruh
2	0.1	0,404	Bening
3	0	0,389	Bening
4	1	0,358	Bening
5	10	0,418	Bening
6	100	0,414	Bening
7	1000	0,400	Bening
8	K(+)	0,431	Bening
9	K(-)	0,408	Bening

Hasil uji MIC diatas menunjukkan bahwa dosis 10 ppm dapat menghambat bakteri *A. hydrophilla*, dikarenakan nilai absorbansi dari dosis tersebut mendekati nilai kontrol positif dan dipilihnya dosis tersebut karena

merupakan dosis yang efektif dikarenakan bakteri *A. hydrophilla* merupakan bakteri yang sensitif dan termasuk dalam bakteri HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina). Sehingga dari hasil uji MIC tersebut digunakan sebagai acuan dosis perlakuan penelitian. Adapun perlakuan yang digunakan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- A :Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 10 ppm
- B :Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 30 ppm
- C :Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 50 ppm
- D :Perlakuan dengan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) 70 ppm
- K+ :Perlakuan dengan pemberian antibiotik *Chlorampenichol* dengan dosis 30 ppm
- K- :Perlakuan tanpa pemberian antibiotik dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*)



**Gambar 7.** Denah Rancangan Penelitian

Keterangan:

- A, B, C, D : Perlakuan
- K+ : Kontrol positif
- K- : Kontrol negatif
- 1, 2, 3 : Ulangan

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian terdiri dari beberapa aspek, diantaranya sterilisasi alat dan bahan, sterilisasi tempat perlakuan, pembuatan ekstrak kasar daun api-

api (*A. marina*), pembuatan media NA dan NB, pembiakan dan peremajaan bakteri *A. hydrophilla*, cara menghitung kepadatan bakteri *A. hydrophilla* dan cara memperoleh bakteri *A. hydrophilla* dengan kepadatan  $10^7$  sel/ml yang dijelaskan sebagai berikut:

**a. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Sterilisasi dilakukan sebelum alat dan bahan digunakan pada saat penelitian. Tujuan dari dilakukannya sterilisasi adalah untuk membunuh semua mikroorganisme yang tidak diinginkan yang menempel pada alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian. Proses sterilisasi adalah sebagai berikut:

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci menggunakan sabun cuci sampai bersih, kemudian dikeringkan lalu ditutup dengan kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Bahan-bahan yang akan disterilisasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditutup kapas dan dibungkus dengan *plastic wrap*.
- Akuades dituang ke dalam autoklaf secukupnya.
- Alat yang telah dibungkus *plastic wrap* dan *aluminium foil* dimasukkan ke dalam autoklaf, kemudian ditutup rapat dengan mengencangkan baut secara simetris.
- Letakkan autoklaf diatas kompor dan nyalakan api.
- Ditunggu sampai autoklaf mencapai suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan menunjukkan 2 atm, lalu klep uap air dibuka.
- Kemudian api dkecilkan selama 15 menit.
- Matikan kompor dan autoklaf dan ditunggu sampai tidak berbunyi, kemudian autoklaf dibuka.
- Alat yang sudah disterilkan disimpan dalam kotak penyimpanan, sedangkan bahan yang telah disterilkan disimpan dalam lemari pendingin.

**b. Sterilisasi Tempat Perlakuan**

Sterilisasi tempat perlakuan juga diperlukan untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Laboran yang bersinggungan dengan meja dan barang di sekitar tempat perlakuan harus selalu dalam kondisi aseptis. Sterilisasi tempat perlakuan dapat dilakukan secara kimia menggunakan alkohol 70% yang disemprotkan ke area sekitar perlakuan, dapat juga dilakukan dengan cara fisika yaitu dengan menyalakan bunsen di area sekitar perlakuan, serta dengan cara penyinaran sinar UV yang terdapat pada ruangan *Laminary Air Flow* (LAF).

**c. Pembuatan Media**

Media yang dapat digunakan untuk menjamin dan menumbuhkan bakteri tersebut yaitu media NA dan media NB. Mekanisme pembuatan media diantaranya adalah sebagai berikut:

**1) Media NB (*Nutrient Broth*)**

Media NB merupakan media cair yang digunakan untuk kultur bakteri *A. hydrophilla*. Dosis yang digunakan dalam pembuatan NB sebesar 8 g/L.

Adapun proses pembuatan media NB adalah sebagai berikut:

- Media NB ditimbang sebanyak 0,08 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 10 ml aquades.
- Larutan dihomogenkan hingga larut sempurna yang dicirikan dengan warna larutan berwarna kuning.
- Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan *plastic wrap* kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama  $\pm$  30 menit.
- Media yang akan digunakan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu  $\pm$  30°C karena bakteri akan mati apabila diinokulasi pada media yang masih panas.

## 2) Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA digunakan sebagai media untuk peremajaan bakteri *A. hydrophilla*. Dosis yang digunakan dalam proses pembuatan media NA adalah sebagai berikut:

- Media NA ditimbang sebanyak 0,4 g dengan menggunakan timbangan digital.
- Media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan 20 ml aquades.
- Dihomogenkan sampai larut kemudian ditutup dengan kapas dan dibungkus *plastic wrap*, selanjutnya direbus selama  $\pm$  15 menit.
- Erlenmeyer kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama  $\pm$  30 menit.
- Media NA yang akan digunakan ditunggu hingga hangat kemudian dituang pada tabung reaksi, tabung reaksi ditutup kapas dan dimiringkan, kemudian ditunggu hingga dingin dan berbentuk agar apabila hendak digunakan untuk peremajaan bakteri dan dapat disimpan pada lemari pendingin dengan diberi label jika hendak digunakan keesokan harinya.

### d. Persiapan Bakteri *A. hydrophilla*

Bakteri *A. hydrophilla* diperoleh dari BBPBAP (Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau) Jepara, Jawa-Tengah. Adapun hasil uji biokimia bakteri *A. hydrophilla* dapat dilihat pada Lampiran 5. Bakteri diperoleh dengan kepadatan  $9 \times 10^8$  sel/ml hasil pengukuran pada media NB (*Nutrient Broth*) yang sudah dicocokkan dengan larutan standar *Mc Farland*. Langkah-langkah dalam penentuan kepadatan tersebut adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan biakan bakteri pada media NB (*Nutrient Broth*).
2. Perhitungan jumlah bakteri.

Langkah perhitungan jumlah bakteri yang ada pada media NB dapat dilakukan menggunakan metode *Mc Farland* dengan cara sebagai berikut:

- Menyediakan 10 tabung reaksi yang bersih.
- Membuat larutan  $H_2SO_4$  murni dalam 1% dan membuat larutan BaCl dalam 1%.
- Campurkan kedua jenis larutan tersebut dalam tabung berdasarkan perbandingan yang ada pada tabel larutan Mc. Farland. Sehingga isi dari satu tabung tersebut menjadi 10 ml larutan. Kemudian tutuplah tabung-tabung tersebut menggunakan kapas dan *plastic wrap*.
- Suspensi larutan yang terdapat dalam tabung tersebut sama dengan jumlah suspensi bakteri *A. hydrophilla* per ml.

e. **Pembiakan Bakteri *A. hydrophilla***

- **Peremajaan Bakteri**

Prosedur pembiakan bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) miring yang akan digunakan untuk peremajaan bakteri adalah sebagai berikut:

1. Media NA (*Nutrient Agar*) miring disiapkan dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi terlebih dahulu.
2. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuh ke media dan diambil biakan murni bakteri *A. hydrophilla* dan digoreskan secara zig-zag pada media NA (*Nutrient Agar*) miring dan dibiarkan selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 30 – 35°C.

- **Kultur Bakteri**

Prosedur pembiakan bakteri pada media NB (*Nutrient Broth*) yang akan digunakan untuk kultur bakteri adalah sebagai berikut:

1. Media NB (*Nutrient Broth*) disiapkan dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi terlebih dahulu.
2. Jarum ose dipanaskan di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin

jarum disentuhkan ke media dan diambil satu ose ke biakan murni bakteri *A. hydrophilla* kemudian dicelupkan pada media NB (*Nutrient Broth*) dan dibiarkan selama 24 jam dalam inkubator dengan suhu 30– 35°C.

**f. Penentuan Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)**

Uji MIC merupakan konsentrasi terendah bahan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Metode pengujian MIC dilakukan dengan metode dilusi cair (Rinawati 2011). MIC dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi terkecil bahan obat–obatan (ekstrak kasar daun api-api) sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri *A. hydrophilla*) secara makroskopis. Pembuatan dosis ekstrak dilakukan dengan membuat larutan induk dengan dosis tertinggi yang dibutuhkan kemudian dilakukan pengenceran sesuai dosis yang ditentukan. Pembuatan larutan induk serta pengenceran dilakukan dengan menggunakan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*), DMSO 10% dan aquades steril.

Adapun prosedur yang dilakukan untuk melakukan uji MIC adalah sebagai berikut:

- Siapkan NB steril yang dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml.
- Ekstrak kasar daun api-api diberikan pada tabung reaksi yang berisi NB dengan dosis yang berbeda pada setiap tabungnya sebanyak 1 ml. Dosis yang digunakan pada uji MIC ini adalah 0,01 ppm, 0,1 ppm, 0 ppm, 1 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm. Dalam uji MIC ini menggunakan kontrol positif yaitu antibiotik *Chloramphenicol* dengan dosis 30 ppm dan kontrol negatif.
- Setiap tabung reaksi diberi isolat bakteri 1 ml.
- Inkubasi dengan suhu 30°C selama 24 jam.
- Media dicek kekeruhannya dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu*

dengan panjang gelombang 600 nm.

- Dicatat nilai absorbansi yang tertera pada monitor spektrofotometer.

Adapun skema dari uji MIC dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### **g. Persiapan Ikan Uji**

Ikan uji yang digunakan adalah ikan koi (*C. carpio*) yang didapatkan dari pembudidaya ikan di daerah Blitar. Ikan yang digunakan dalam penelitian berukuran 8–10 cm dan bobot ikan 3,60–8,84 g. Ikan dipelihara selama 7 hari di akuarium berukuran 200x60x80 m<sup>2</sup> untuk pengadaptasian. Mengacu pada penelitian Anggraini, *et al.* (2014), bahwa padat tebar ikan uji yang digunakan pada setiap akuarium sebanyak 1 ekor/2 L. Masing–masing toples yang akan digunakan diisi 10 L air dan ikan uji sebanyak 5 ekor. Selanjutnya ikan diaklimatisasi selama 3 hari pada toples. Selama aklimatisasi ikan koi diberi pakan pellet secara ad libitum sebanyak 2 kali sehari dan dilakukan penyiponan apabila air pemeliharaan sudah kotor.

#### **h. Uji Lethal Dose 50% (LD<sub>50</sub>)**

Menurut Armansyah, *et al.* (2016), untuk mengetahui keamanan penggunaan suatu obat herbal diperlukan uji toksisitas. Uji toksisitas akut (*Lethal Dose 50%* atau disingkat LD<sub>50</sub>) dimaksudkan untuk mendapatkan informasi tentang gejala keracunan, penyebab kematian, urutan proses kematian dan rentang dosis yang mematikan hewan uji dalam waktu singkat. Tujuan dari uji toksisitas akut adalah mendeteksi keberadaan toksisitas suatu zat, menentukan organ sasaran dan kepekaannya memperoleh data bahaya setelah pemberian suatu senyawa secara akut dan untuk memperoleh informasi awal yang dapat digunakan untuk menetapkan tingkat dosis yang diperlukan.

Pada uji LD<sub>50</sub> dosis yang digunakan berdasarkan dosis uji MIC yang sudah dilakukan. Dimana pada uji MIC diperoleh hasil pada konsentrasi 10 ppm sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dosis yang digunakan untuk

LD<sub>50</sub> yaitu 10 ppm, 35 ppm, 60 ppm dan 85 ppm. Pada uji LD<sub>50</sub> menggunakan ikan koi (*C. carpio*) dengan ukuran 8-12 cm dengan jumlah 20 ekor yang dibagi menjadi 4 perlakuan sehingga setiap perlakuan terdapat 5 ekor ikan uji. Sebelum dilakukan pemberian ekstrak, ikan diadaptasikan selama 1 minggu dan diberi pakan pelet 2 kali sehari yaitu pukul 08.00 dan 15.00 WIB. Setelah itu, ikan diletakkan ke dalam toples perlakuan dan diberi ekstrak daun api-api (*A. marina*) sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Selanjutnya ikan diamati selama 48 jam. Setelah 48 jam diperoleh hasil yaitu pada dosis 85 ppm ikan uji mengalami kematian sebanyak 50%. Hal ini dikarenakan pada dosis 85 ppm kadar ekstrak terlalu tinggi, tingginya ekstrak menyebabkan toksik pada media budidaya. Sehingga dosis yang digunakan pada perlakuan penelitian adalah dosis dibawah dosis 85 ppm, yaitu 10,30, 50 dan 70 ppm..

#### **3.4.2 Pelaksanaan Penelitian**

Pelaksanaan penelitian dibagi menjadi beberapa tahapan yang dijelaskan sebagai berikut:

##### **a. Pembuatan Ekstrak daun api-api (*A. marina*)**

Proses pembuatan ekstrak kasar dimulai dengan menyiapkan daun api-api (*A. marina*). Daun api-api didapatkan dari Desa Betoyoguci Kecamatan Manyar Kabupaten Gresik Jawa Timur dan kemudian diambil daunnya sebanyak 3 kg. Selanjutnya daun api-api tersebut dikeringkan menggunakan oven dengan suhu <60°C dan didapatkan berat daun sebanyak 1,245 g. Daun kemudian digiling hingga menjadi serbuk, hasil penggilingan ditimbang menggunakan timbangan digital, didapatkan serbuk sebanyak 1,040 g dan didapatkan nilai kadar air sebesar 41,5%, perhitungan kadar air dapat dilihat pada Lampiran 8. Langkah selanjutnya yaitu proses maserasi. Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:5 dimana serbuk daun api-api sebanyak 200 g dimaserasi

menggunakan etanol PA 98% sebanyak 1000 ml dan dibungkus aluminium foil dan *plastic wrap* selama 2 hari (dihomogenkan setiap 7 jam). Siapkan wadah untuk penyaringan dan saring menggunakan kertas saring rangkap 2. Larutan hasil penyaringan dibungkus *aluminium foil* dan disimpan ditempat yang tidak terkena cahaya matahari. Selanjutnya larutan hasil penyaringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga berbentuk pasta. Ekstrak yang didapatkan sebanyak 7,23 g dan didapatkan hasil perhitungan rendemen sebesar 3,62%. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 8. Ekstrak hasil evaporasi diletakkan dalam botol film dan dibungkus dengan *aluminium foil*, selanjutnya disimpan pada lemari pendingin.

**b. Penginfeksian Ikan Uji dengan Bakteri *A. hydrophilla***

Penginfeksian ikan uji dengan bakteri *A. hydrophilla* dilakukan pada masing-masing media pemeliharaan yaitu dengan cara perendaman. Hal ini mengacu pada Mariyono dan Sundana (2002), bakteri *A. hydrophilla* dapat diberikan dengan metode perendaman pada ikan. Metode perendaman untuk bakteri uji akan dapat diserap dalam jumlah banyak oleh ikan, tetapi ikan akan mengalami stres karena waktu perendaman relatif singkat. Adapun jumlah kepadatan bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan yakni sebesar  $10^7$  per ml. Sesuai dengan pernyataan Lukistyowaty dan Kurniasih (2011), konsentrasi bakteri *A. hydrophilla* pada media budidaya yang dapat menyebabkan *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada ikan koi adalah kepadatan  $10^7$  sel/ml dan apabila ikan berada dalam kondisi stres maka semakin besar kemungkinan terjadinya kematian. Kepadatan bakteri  $10^7$  per ml diperoleh dengan cara pengenceran dari kepadatan awal bakteri, adapun perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 9. Perendaman bakteri *A. hydrophilla* dilakukan di dalam toples ukuran 16.000 ml yang sudah dilengkapi aerasi. Perendaman dilakukan

menggunakan kapasitas air 10.000 ml dengan ketinggian air 17,5 cm. Sehingga dapat digunakan rumus pengenceran sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :

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

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

V1 : Volume suspensi bakteri dalam NB yang dibutuhkan

V2 : Volume yang diinginkan

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 9 \times 10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 \times 9 \times 10^8 = 10.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{9 \times 10^8}$$

$$V_1 = 111 \text{ ml}$$

Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 111 ml. sedangkan air tawar yang digunakan adalah sebesar 9.889 ml. kemudian bakteri direndam didalam media yang telah dicampur dengan bakteri dan diamati gejala klinis ikan yang telah direndam. Sampel uji di infeksi dengan cara perendaman di dalam bakteri selama 24 jam. Setelah itu ikan koi (*C. carpio*) yang telah dipelihara dipindahkan ke dalam akuarium pengobatan dengan perlakuan yang berbeda.

**c. Pemberian Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*A. marina*) pada Ikan Koi (*C. carpio*)**

Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dilakukan dengan perendaman dengan cara memasukkan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) ke dalam media pemeliharaan. Pertama disiapkan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) kemudian dilakukan perhitungan berdasarkan volume media pemeliharaan yang digunakan dan dosis ekstrak yang akan digunakan dengan

rumus pengenceran. Ekstrak dimasukkan kedalam akuarium perlakuan dengan dosis yang berbeda-beda selama 48 jam. Ikan dipindahkan ke dalam air segar selama 7 hari pemeliharaan. Selama pemeliharaan tersebut dilakukan pengukuran parameter penunjang diantaranya DO, pH dan suhu setiap hari pada pukul 08.00 dan 15.00 WIB.

### **3.5 Uji Histopatologi Hati**

#### **3.5.1 Pengambilan Jaringan**

Pengambilan jaringan hati dilakukan sebanyak 3 bagian yaitu pada ikan normal yang tidak diinfeksi, pada ikan yang sudah diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan pada ikan yang sudah diberi perlakuan pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*). Setiap perlakuan hanya diambil satu sampel ikan saja. Cara pengambilan hati pertama ikan dibedah dengan menggunakan *sectio set*. Kemudian diambil organ dalam dan diletakkan pada alas kaca, kemudian hati diambil dan dipisahkan dari organ lainnya. Sampel organ hati dibersihkan menggunakan aquades, setelah itu hati dimasukkan ke dalam botol film yang berisi larutan formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilakukan pembuatan preparat untuk histopatologi.

#### **3.5.2 Pembuatan Preparat Histopatologi**

Setelah masa adaptasi selesai dilakukan, hati ikan diambil sebagai sampel untuk diamati histopatologinya. Sampel hati dimasukkan ke dalam botol film dan diberi formalin 10% sebagai pengawet, kemudian dilanjutkan pembuatan dan pengamatan preparat hasil histopatologi. Adapun tahapan-tahapannya adalah sebagai berikut :

- Tahap Fiksasi

Sampel hati diambil untuk diamati jaringannya. Kemudian jaringan tersebut direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam.

- Tahap Dehidrasi

Tahap dehidrasi dilakukan dengan memasukkan ke dalam botol yang berisi alkohol. alkohol yang digunakan dengan seri naik. Dimana terdiri dari alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol *absolute*.

- Tahap *Clearing*

Tahap *clearing* untuk mentransparankan serta menggantikan larutan alcohol dari jaringan. Dilakukan dengan mencelupkan ke dalam larutan xylol 1 selama 1 jam, xylol 2 selama 2 jam.

- Tahap Impregnasi

Tahap impregnasi bertujuan untuk menyamakan keadaan jaringan dengan bahan pengeblokan (*embedding*). Dilakukan dengan mencelupkan bahan ke paraffin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam, kemudian dilanjutkan dengan mencelupkan kembali ke dalam paraffin cair dengan suhu 56-60°C selama 2 jam.

- Tahap *Embedding* (Pengeblokan)

Tahapan ini bertujuan untuk memudahkan penyayatan dengan menggunakan mikrotom. Setelah penyayatan bahan yang sudah diblok selesai, langkah berikutnya adalah memasukkan hasil sayatan ke dalam *waterbath* (suhu 45°C), kemudian pilih hasil sayatan yang terbaik dan siapkan obyek glass untuk persiapan pewarnaan HE (*Haematoxylin Eosin*). Kemudian keringkan pada oven dengan suhu 45°C selama 24 jam.

- Teknik Pewarnaan Jaringan dengan Menggunakan *Haematoxylin Eosin*

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

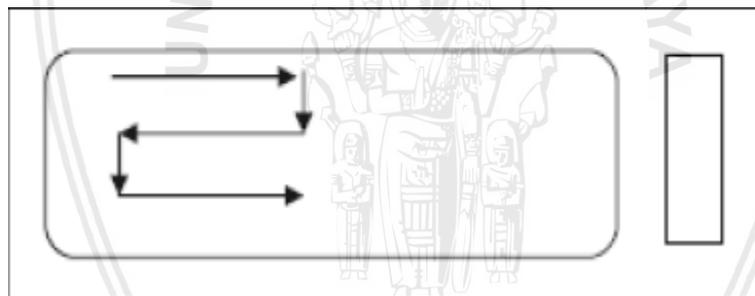
- Tahap *Mounting*

Tahap ini merupakan prosedur terakhir dalam pembuatan preparat

sebelum diamati secara makroskopik dan mikroskopik yang bertujuan untuk mempermudah saat pengamatan. Preparat di lem dengan menggunakan *entelen new*. Kemudian ditutup dengan *cover glass* jangan sampai terjadi gelembung. Preparat dibiarkan dalam suhu ruangan sampai lem mengering kemudian diamati dibawah mikroskop dengan menggunakan perbesaran 400x.

### 3.5.3 Skoring Histopatologi Hati Ikan Koi (*C. carpio*)

Skoring histopatologi dilakukan bertujuan untuk mengetahui kerusakan jaringan hati. Pada metode skoring preparat dibagi menjadi 5 bidang pandang pada sampel yang kita amati dengan gerakan zig zag. Menurut Siswandari (2005), pembacaan dimulai dari tepi kiri (sesuai dengan posisi preparat) ke arah kepala. Kemudian diturunkan ke bawah, kemudian digeser ke arah ekor kembali (Gerak zig zag) seperti disajikan pada Gambar 7 .



**Gambar 7.** Alur Perhitungan Skoring (Gerak zig zag) (Siswandari, 2005).

Kemudian setiap lapang pandang diamati tingkat kerusakan dan dipersentase dengan pemberian skor 1 sampai dengan 4. Persentase kerusakan setiap bidang pandang dihitung berdasarkan sel yang mengalami kerusakan.

## 3.6 Parameter Uji

### 3.6.1 Parameter Utama

Parameter utama dalam penelitian ini yaitu histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*). Pengamatan histopatologi dilakukan bertujuan untuk melihat gambaran jaringan hati pada ikan yang di infeksi yang diobati menggunakan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dan ikan tanpa perlakuan yang di infeksi, kemudian

dilakukan skoring kerusakan histopatologi hati. Menurut Raza'i (2008), perhitungan kerusakan dihitung dengan rumus:

$$\text{Presentase kerusakan} = \frac{\text{Jumlah Sel yang Rusak}}{\text{Jumlah Sel Analisis}} \times 100\%$$

Persentase yang telah didapat diberi skoring dari 1 sampai 4. Pada angka 1 (ringan) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 0-5%, angka 2 (sedang) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 6-25%, angka 3 (berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan dari 26-50% dan angka 4 (sangat berat) memiliki tingkat persentase kerusakan jaringan lebih dari 50%.

### 3.6.2 Parameter Penunjang

Parameter penunjang yang diamati saat penelitian dilakukan adalah meliputi :

- Perhitungan Kelulushidupan (*Survival Rate*)

Kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) digunakan untuk mengetahui tingkat kelulushidupan ikan yang diuji dengan membandingkan antara jumlah ikan yang diuji pada awal dengan ikan uji yang masih hidup pada akhir penelitian. Kelulushidupan dapat dihitung dengan rumus Prasetio, *et al.* (2015) sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

SR = Kelulushidupan ikan (%)  
 N<sub>t</sub> = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian (ekor)  
 N<sub>0</sub> = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian (ekor)

- Suhu diukur dengan menggunakan *thermometer*.
- Ph diukur dengan menggunakan pH meter.
- Oksigen terlarut diukur dengan menggunakan DO meter.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dilakukan analisis secara statistika dengan analisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan. Tujuan analisis keragaman atau uji F adalah untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap respon parameter yang diukur. Apabila hasil uji F menunjukkan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk membedakan antara dua perlakuan terbaik. Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan jumlah kerusakan jaringan hati maka dilakukan uji *polynomial orthogonal*.

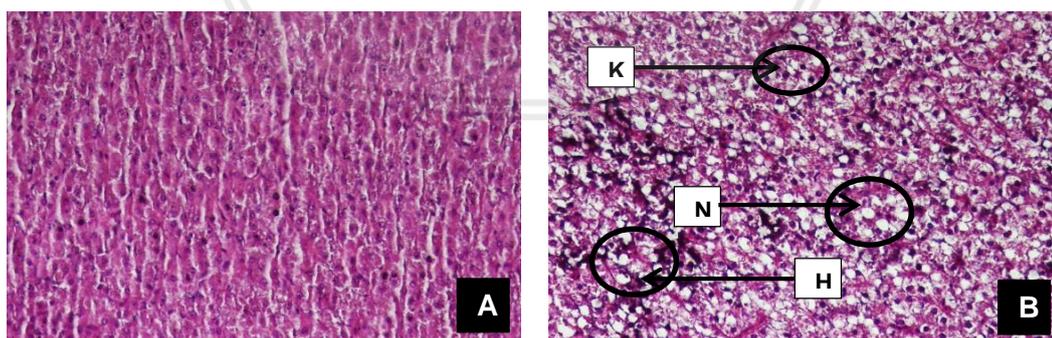


## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Histopatologi Hati

#### 4.1.1 Gambar Hati Ikan yang di Infeksi Bakteri *A. hydrophilla* dan Normal

Pada Gambar 8 (A) dapat dilihat jaringan hati ikan sehat menunjukkan tidak adanya kerusakan. Sel hati berbentuk polihedral dengan enam permukaan atau lebih. Sel hati mempunyai satu sampai dua buah inti bulat. Sel hati berkelompok saling berhubungan sedemikian rupa sehingga membentuk bangunan lobulus hati. Pada Gambar 8 (B) yaitu jaringan hati yang diinfeksi bakteri dan tanpa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terlihat banyak terjadi kerusakan. Kerusakan yang terjadi diantaranya kongesti, hemoragi dan nekrosis. Kongesti ditandai dengan adanya pembengkakan sel, sinusoid mengalami penyempitan dan terjadi pembendungan darah. Hemoragi ditandai dengan adanya sinusoid yang tersusun tidak teratur, pecahnya pembuluh darah dan darah keluar dari sinusoid. Nekrosis ditandai dengan adanya dinding sel yang mengalami lisis, inti sel mengkerut dan ada sebagian yang mati.

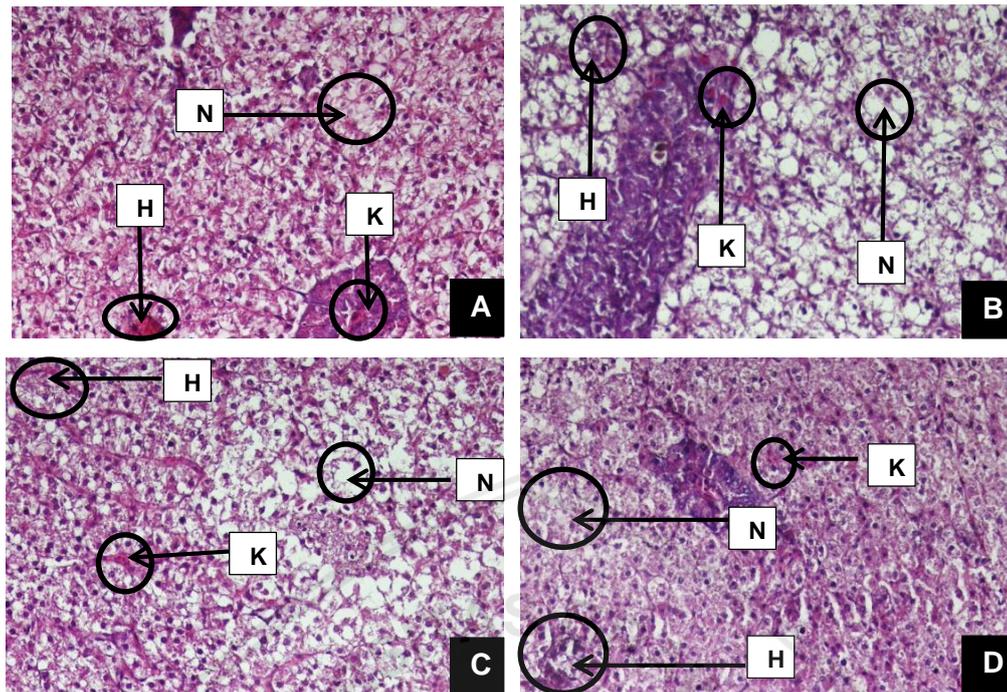


**Gambar 8.** Gambar Histopatologi Hati, (A) Histopatologi Hati Ikan Sehat, (B) Histopatologi Hati yang diinfeksi *A. hydrophilla* dan tanpa pemberian ekstrak kasar *A. marina*, (K) Kongesti (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan perbesaran 400x dengan Pewarnaan HE.

Menurut Nurjannah, *et al.* (2013), kerusakan kongesti pada hati terjadi akibat adanya pembengkakan sel sehingga sinusoid menyempit. Sinusoid merupakan suatu rongga yang terdapat pada jaringan hati yang memungkinkan terjadinya pertukaran nutrisi dan zat lainnya antara darah dan hepatosit. Apabila sinusoid menyempit, maka darah akan terbendung di dalam jaringan hati sehingga proses pertukaran nutrisi maupun zat lain akan terganggu. Kerusakan hemoragi merupakan tahap kerusakan selanjutnya dari kongesti, karena sinusoid sudah tidak mampu untuk membendung darah dan pada akhirnya pembuluh-pembuluh darah yang ada di sinusoid pecah. Apabila terjadi kerusakan berupa hemoragi maka asupan nutrisi dan zat lain ke hati akan terhenti sehingga sel-sel akan kekurangan nutrisi dan apabila kerusakan ini berangsur dalam jangka waktu yang lama maka akan menyebabkan sel hati mengalami nekrosis.

#### **4.1.2 Gambaran Histopatologi Hati pada Sampel Perlakuan**

Pengamatan histopatologi digunakan untuk melihat perubahan patologi hati pada perendaman ikan koi (*C. carpio*) dengan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dengan perlakuan dosis yang berbeda. Perlakuan yang digunakan pada saat penelitian terdiri dari 4 macam diantaranya perlakuan A dengan dosis sebesar 10 ppm, perlakuan B dengan dosis sebesar 30 ppm, perlakuan C dengan dosis sebesar 50 ppm dan yang terakhir perlakuan D dengan dosis sebesar 70 ppm. Penginfeksi bakteri *A. hydrophilla* dilakukan selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan pengobatan dengan menggunakan perendaman ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) selama 48 jam. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 7 hari setelah pengobatan, setelah itu dilakukan pembedahan ikan koi untuk mengambil organ hati yang akan dibuat histopatologinya. Gambar jaringan hati ikan pada tiap sampel perlakuan disajikan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Gambar Histopatologi Hati, (A) Dosis 10 ppm, (B) Dosis 30 ppm, (C) Dosis 50 ppm, (D) Dosis 70 ppm, (K) Kongesti (H) Hemoragi (N) Nekrosis. Pengamatan dengan menggunakan perbesaran 400x dengan pewarnaan HE.

Berdasarkan Gambar 9 perlakuan A, B, C dan D dengan dosis ekstrak berturut-turut yakni 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm dan 70 ppm, rata-rata mengalami kerusakan jaringan yang sama, yaitu kongesti, hemoragi dan nekrosis. Perbedaan persentase kerusakan jaringan hati dengan penambahan dosis ekstrak kasar daun api-api yang berbeda dapat ditunjukkan melalui nilai skoring yang dapat dilihat pada Lampiran 11. Analisis data kerusakan pada histopatologi hati ikan koi yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dengan perendaman ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) adalah sebagai berikut :

**a. Kongesti**

Menurut Aminah, *et al.* (2014), kongesti merupakan keadaan dimana terjadi penumpukan sel-sel darah merah yang sangat padat dalam pembuluh darah yang menunjukkan kondisi tidak normal pada hati ikan. Kongesti digambarkan dengan adanya penggumpalan darah yang terjadi di kelenjar

sinusoid atau pembuluh darah kecil pada hati. Pada Gambar 10 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi penggumpalan darah yang besar pada sel, sedangkan perlakuan B penggumpalan darah lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan A, sedangkan gumpalan pada perlakuan C juga lebih kecil dibandingkan perlakuan A dan B. Kemudian pada perlakuan D terlihat gumpalan merahnya semakin kecil

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* dan diberikan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan kongesti yang terjadi pada hati ikan koi (*C. carpio*). Data diperoleh dari skoring yang disajikan pada Lampiran 11. Setelah dilakukan skoring maka data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan kongesti disajikan pada Lampiran 12. Didapatkan data rerata nilai skoring kongesti yang disajikan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Rerata Skoring Hati Penelitian Pengamatan Kongesti

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	1,60	1,40	1,60	4,60	1,53	± 0,06
B (30 ppm)	1,40	1,20	1,40	4,00	1,33	± 0,06
C (50 ppm)	1,20	1,20	1,40	3,80	1,27	± 0,06
D (70 ppm)	1,20	1,20	1,00	3,40	1,13	± 0,06

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh dari pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap kerusakan kongesti pada hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* maka dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Sumber Keragaman Skoring Kongesti Jaringan Hati

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0,2500	0,0833	6,26*	4,07
Acak	8	0,1067	0,0133		
Total	11	0,3567			

Keterangan= (\*) Berbeda Nyata

Pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman skoring kongesti jaringan hati diperoleh nilai F hitung  $>$  F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap kerusakan kongesti pada histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan perhitungan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 6.

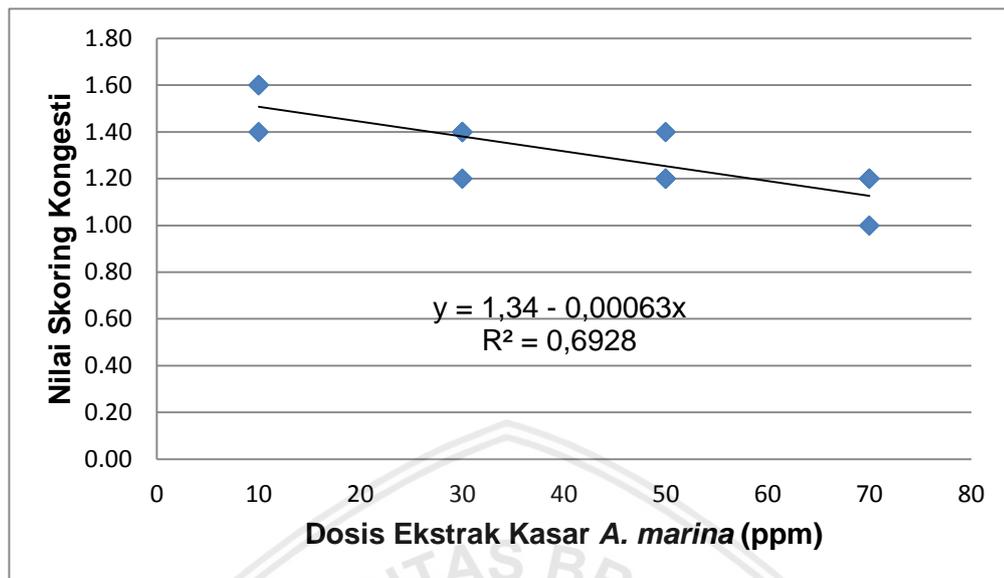
**Tabel 6.** Uji BNT Skoring Kongesti Jaringan Hati

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,53	1,33	1,27	1,13	
A	1,53	-	-	-	-	a
B	1,33	0,20 ns	-	-	-	a
C	1,27	0,26 *	0,06 ns	-	-	ab
D	1,13	0,40 *	0,20 ns	0,14 ns	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 6, dapat diketahui hasil uji beda nyata terkecil (BNT) antara pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap nilai skoring sel hati ikan koi (*C. carpio*) yang mengalami kongesti didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, tetapi perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan C, perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan D, sedangkan perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C dan perlakuan B juga tidak berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Berdasarkan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dapat diketahui perlakuan terbaik dari 4 perlakuan tersebut. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 70 ppm dengan notasi b adalah perlakuan terbaik yang diikuti dengan perlakuan C dengan dosis 50 ppm dengan notasi ab, selanjutnya diikuti oleh perlakuan B dengan dosis 30 ppm dan perlakuan A dengan dosis 30 ppm dan 10 ppm dengan notasi a. Adapun Grafik hubungan dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan nilai skoring

kongesti disajikan pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Kongesti

Pada Gambar 10 didapatkan persamaan  $y = 1,34 - 0,00063x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 69,28% sumbu  $y$  dipengaruhi sumbu  $x$ , menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh terhadap kerusakan kongesti. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan sel hati yang mengalami kongesti berbanding terbalik, dimana apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring kongesti semakin rendah.

Mangunwardoyo, *et al.* (2010) mengemukakan bahwa proses invasi bakteri patogen seperti *A. hydrophilla* ke dalam tubuh diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit ikan inang dengan memanfaatkan pili, flagela dan kait untuk bergerak dan melekat kuat pada lapisan terluar tubuh ikan yaitu sisik yang dilindungi oleh zat kitin. Selama proses invasi tersebut *A. hydrophilla* memproduksi enzim kitinase yang juga berfungsi mendegradasi lapisan kitin sehingga mudah ditembus oleh bakteri. Selain memanfaatkan kitinase *A.*

*hydrophila* juga mengeluarkan enzim lainnya seperti lesitinase dalam upaya masuk ke dalam aliran darah. Bakteri bergerak dengan sangat cepat didalam pembuluh darah dan dengan mudah mencapai organ-organ penting dari ikan seperti pada sinusoid hati. Lokasi tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media tempat hidup dan memperbanyak diri, serta menggunakan nutrisi yang ada di sekitarnya untuk proses metabolisme bakteri.

Hasil uji fitokimia daun api-api (*A. marina*) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin. Menurut Setiawan, *et al.* (2016), mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma dan mendenaturasi protein sel bakteri. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya bahan-bahan aktif ke dalam sel sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri. Pada perusakan membran sitoplasma, ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Bakteri yang mengalami kematian akan di fagositosis oleh makrofag.

#### **b. Hemoragi**

Hemoragi terjadi bila kerusakan kongesti sudah sangat parah, karena pembuluh darah sudah tidak mampu lagi untuk membendung darah, maka pembuluh darah akan pecah. Hemoragi mengindikasikan keluarnya darah dari pembuluh darah, dimana terjadi pendarahan. Pada Gambar 10 dapat dilihat pada

perlakuan A terjadi hemoragi terlihat banyak darah yang keluar dari pembuluh darah, sedangkan perlakuan B darah yang keluar dari pembuluh darah lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, sedangkan darah yang keluar dari pembuluh darah pada perlakuan C juga lebih sedikit dibandingkan perlakuan A dan B. Kemudian pada perlakuan D terlihat darah yang keluar dari pembuluh darah lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, B dan C. Dosis yang diberikan semakin besar, terlihat darah yang keluar dari pembuluh darah semakin sedikit.

Perlakuan dosis yang berbeda yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* dan diberikan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) memperoleh hasil rata-rata skoring yang berbeda terhadap kerusakan akibat Hemoragi yang terjadi pada hati ikan koi (*C. carpio*). Data diperoleh dari perhitungan skoring yang disajikan pada Lampiran 11. Setelah dilakukan skoring maka data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan hemoragi disajikan pada Lampiran 12. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring kerusakan Hemoragi pada jaringan hati ikan koi (*C. carpio*) yang disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Rerata nilai skoring Hemoragi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93	± 0,06
B (30 ppm)	1,60	1,60	1,60	4,80	1,60	± 0,00
C (50 ppm)	1,40	1,40	1,60	4,40	1,47	± 0,06
D (70 ppm)	1,40	1,40	1,20	4,00	1,33	± 0,06

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap kerusakan Hemoragi pada hati ikan koi (*C. carpio*) maka dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Sumber Keragaman Hasil Penelitian Kerusakan Hemoragi Jaringan

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0,597	0,199	19,900 *	4,06
Acak	8	0,080	0,010		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>0,677</b>			

Keterangan \*: Berbeda Nyata

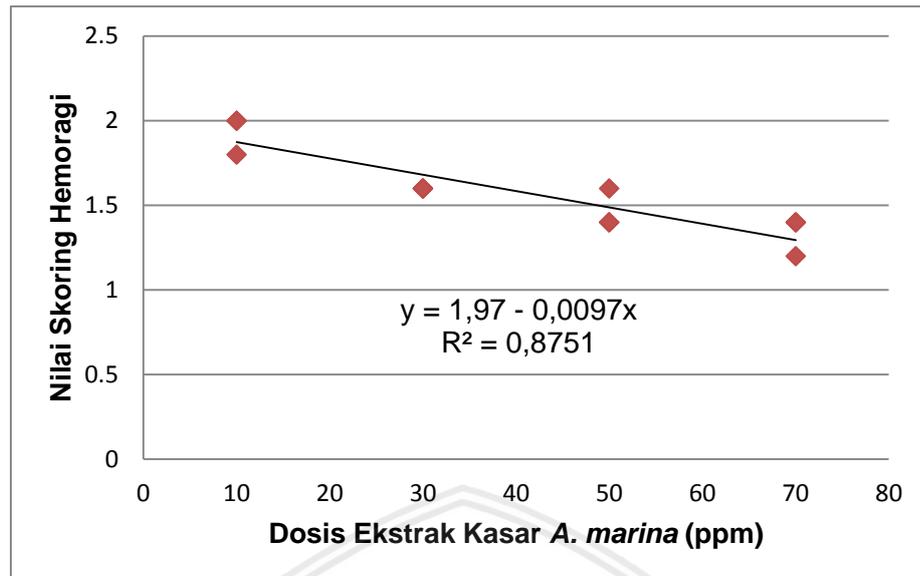
Pada Tabel 8 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh hasil nilai F hitung > F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh sangat nyata terhadap Hemoragi pada histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Uji BNT Hasil Penelitian Hemoragi Hati

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,93	1,60	1,47	1,33	
<b>A</b>	<b>1,93</b>	-	-	-	-	a
<b>B</b>	<b>1,60</b>	0,33 *	-	-	-	b
<b>C</b>	<b>1,47</b>	0,46 *	0,13 ns	-	-	bc
<b>D</b>	<b>1,33</b>	0,60 *	0,27 *	0,14 ns	-	c

Keterangan: (\*) = berbeda nyata  
(ns) = tidak berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 9, diketahui hasil uji menunjukkan bahwa perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan A juga berbeda nyata dengan perlakuan C dan perlakuan A juga berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C tetapi perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Adapun Grafik hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan hasil skoring hemoragi disajikan pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Hemoragi

Pada Grafik dimana didapatkan persamaan  $y = 1,97 - 0,0097x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 87,51% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh terhadap skoring hemoragi. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan sel hati yang mengalami Hemoragi berbanding terbalik, dimana apabila semakin tinggi dosis maka nilai skoring Hemoragi semakin rendah.

Mangunwardoyo, *et al.* (2010) mengemukakan bahwa masuknya bakteri *A. hydrophilla* ke dalam tubuh ikan mengaktifkan respon imun dengan memproduksi polimorfonuklear leukosit, seperti melanomakrofag, monosit dan neutrofil yang berperan sebagai *phagocytic* sel. Kehadiran leukosit tersebut menyebabkan bakteri mengeluarkan toksin hemolisin yang mengakibatkan terjadinya hemoragik pada ikan. Hemoragik dan nekrosis juga terjadi pada hati yang terinfeksi bakteri yang diikuti oleh kematian seluruh sel atau jaringan.

Hasil uji fitokimia dari daun *A. marina* mengandung bahan antibakteri seperti flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan alkaloid. Handayani (2013) mengemukakan bahwa penghambatan atau pembasmian bakteri oleh bahan antibakteri dapat dipengaruhi oleh konsentrasi atau intensitas zat antibakteri, semakin tinggi konsentrasi zat antibakteri yang diaplikasikan dalam suatu waktu tertentu maka semakin cepat pula sel-sel bakteri akan terbunuh tentunya sampai suatu batas tertentu. Menurut Setiawan, *et al.* (2016), mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu menghambat pertumbuhan dan metabolisme bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma. Pada kerusakan membran sitoplasma, ion H<sup>+</sup> dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipida tidak mampu mempertahankan bentuk membran sitoplasma akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian. Bakteri yang mengalami kematian akan difagositosis oleh makrofag.

### c. Nekrosis

Nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian. Kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan merupakan tahap akhir degenerasi yang irrevesibel (Mandia, *et al.*, 2013). Pada Gambar 9 dapat dilihat pada perlakuan A terjadi nekrosis terlihat banyak sel yang mengalami kematian sel atau sel menjadi mengecil, sedangkan perlakuan B kematian selnya atau sel yang mengecil lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, sedangkan pada perlakuan C sel yang mati atau mengecil juga lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A dan B.

Kemudian pada perlakuan D terlihat sel yang mengalami kematian lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan A, B dan C.

Perlakuan yang dilakukan selama penelitian pada ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi oleh bakteri *A. hydrophilla* dan diberikan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) memperoleh hasil rata-rata yang berbeda terhadap kerusakan akibat nekrosis yang terjadi pada hati ikan koi (*C. carpio*). Data diperoleh dari perhitungan skoring yang disajikan pada Lampiran 11. Setelah dilakukan skoring maka data diolah dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Adapun perhitungan nekrosis disajikan pada Lampiran 12. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan data rerata nilai skoring nekrosis pada jaringan hati ikan koi disajikan pada Tabel 10.

**Tabel 10.** Rerata nilai skoring Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
<b>A (10 ppm)</b>	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93	0,06
<b>B (30 ppm)</b>	1,60	1,20	1,60	4,40	1,47	0,14
<b>C (50 ppm)</b>	1,60	1,20	1,20	4,00	1,33	0,14
<b>D (70 ppm)</b>	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0,00

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap Nekrosis pada hati ikan koi (*C. carpio*) dilakukan uji sumber keragaman yang disajikan pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Sumber Keragaman Nekrosis

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
<b>Perlakuan</b>	3	1,3467	0,4489	14,963	4,07
<b>Acak</b>	8	0,2400	0,0300	*	
<b>Total</b>	11	1,5867			

Keterangan \*: Berbeda Nyata

Pada Tabel 11 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh hasil nilai F hitung > F 5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap

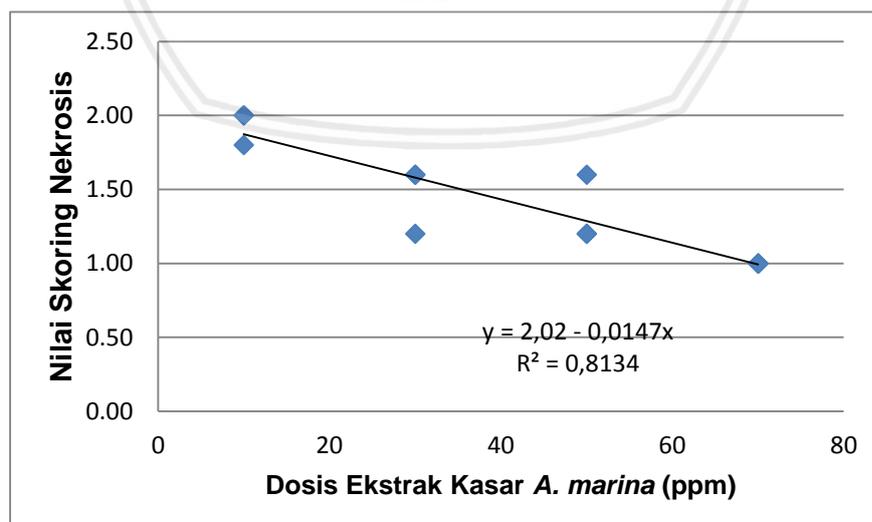
nekrosis pada histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*. Untuk mengetahui perbedaan pada setiap perlakuan maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) seperti yang disajikan pada Tabel 12.

**Tabel 12.** Uji BNT Nekrosis

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,93	1,47	1,33	1,00	
A	1,93	-	-	-	-	a
B	1,47	0,47 *	-	-	-	b
C	1,33	0,60 *	0,13 ns	-	-	bc
D	1,00	0,93 *	0,47 *	0,33 *	-	c

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 12, diketahui hasil uji menunjukkan bahwa perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan A juga berbeda nyata dengan perlakuan C dan perlakuan A juga berbeda sangat nyata dengan perlakuan D, perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C tetapi perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Adapun Grafik hubungan antara dosis ekstrak dengan hasil skoring hemoragi disajikan pada Gambar 12.



**Gambar 12.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Skoring Nekrosis

Pada Gambar 12 didapatkan persamaan  $y = 2,02 - 0,00147x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 81,34% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun api-api berpengaruh terhadap kerusakan nekrosis. Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal. Selain itu, juga dapat diketahui hubungan antara dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan sel hati yang mengalami nekrosis berbanding terbalik, dimana semakin tinggi dosis maka nilai skoring nekrosis semakin rendah.

Roslizawaty *et al.* (2013) mengemukakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat pula. Efektivitas suatu zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Meningkatnya konsentrasi zat menyebabkan meningkatnya kandungan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antibakteri, sehingga kemampuannya dalam membunuh suatu bakteri juga semakin besar.

Hasil uji fitokimia daun *A. marina* mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dan saponin. Menurut Ngajow, *et al.* (2013), keberadaan antibakteri menjadi faktor penting melalui mekanismenya terhadap bakteri. Tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan enzim dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel. Tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

#### **4.2 Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)**

Kisaran kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) yaitu 60% sampai dengan 100%. Data kelulushidupan yang didapat kemudian dilakukan uji normalitas.

Hasil uji normalitas menunjukkan data kelulushidupan menyebar secara normal, maka dapat dilanjutkan dengan melakukan uji ragam. Fungsi dari uji ragam adalah untuk mengetahui tingkat perbedaan pada masing-masing perlakuan. Hasil uji normalitas disajikan pada Lampiran 15. Adapun perhitungan kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 16. Terjadinya kematian pada ikan koi (*C. carpio*) yang terinfeksi *A. hydrophilla* disebabkan karena bakteri *A. hydrophilla* merupakan bakteri patogen dan dapat menyebabkan kematian pada ikan.

Menurut Mangunwardoyo, *et al.* (2010), bakteri *A. hydrophilla* termasuk ke dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Bakteri ini dapat menyebabkan degradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang. Data kelulushidupan dapat dilihat pada Tabel 13.

**Tabel 13.** Data Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Jumlah awal ikan uji (ekor)	Jumlah ikan mati (ekor)	Jumlah akhir ikan uji (ekor)	Kelulushidupan ikan (%)
A1	5	2	3	60
A2	5	2	3	60
A3	5	2	3	60
B1	5	1	4	80
B2	5	2	3	60
B3	5	1	4	80
C1	5	1	4	80
C2	5	0	5	100
C3	5	1	4	80
D1	5	0	5	100
D2	5	0	5	100
D3	5	1	4	80

Data kelulushidupan ikan yang didapat berada pada kisaran 60% sampai 100%, dimana nilai kelulushidupan tertinggi didapatkan pada perlakuan D yaitu dosis 70 ppm dan kelulushidupan terendah didapatkan pada perlakuan A dengan

dosis 10 ppm. Data yang didapatkan kemudian dihitung jumlah total, rerata dan nilai STD. Perhitungannya dapat dilihat pada Tabel .14

**Tabel 14.** Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	60	60	60	180	60,00	± 0,00
B	80	60	80	220	73,33	± 6,67
C	80	100	80	260	86,67	± 6,67
D	100	100	80	280	93,33	± 6,67

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*) dilakukan uji sumber keragaman yang dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 15.** Sumber Keragaman Kelulushidupan

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966,667	655,555	6,555*	4,07
Acak	8	800	100		
Total	11	2766,667			

Keterangan: (\*) = berbeda nyata

Pada Tabel 12 dapat dilihat bahwa hasil dari uji sumber keragaman diperoleh nilai F hitung > F5%, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) berpengaruh nyata terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*). Untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan maka perlu dilakukan uji BNT seperti yang disajikan pada Tabel 16.

**Tabel 16.** Uji BNT Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

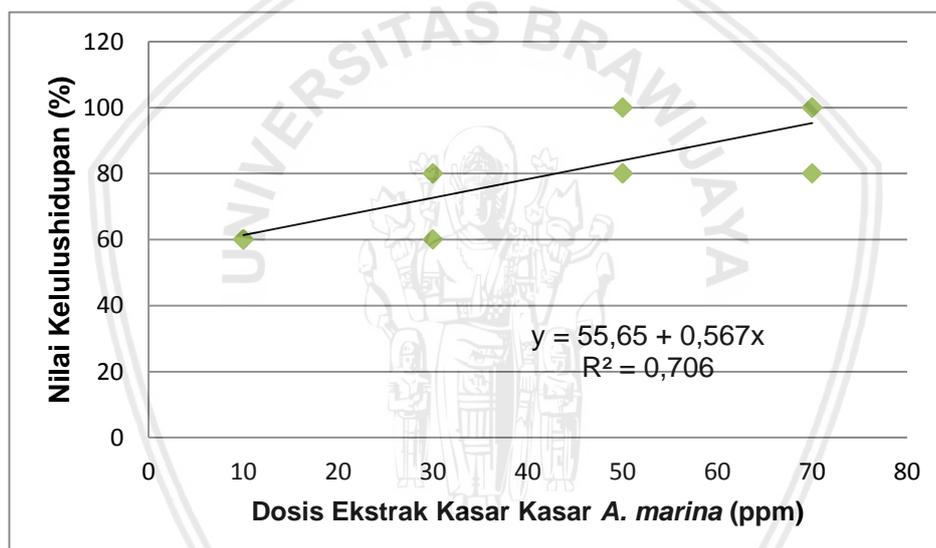
Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		60,00	73,33	86,67	93,33	
A	60,00	-	-	-	-	a
B	73,33	13,33ns	-	-	-	a
C	86,67	26,67*	13,34ns	-	-	ab
D	93,33	33,33*	20*	6,66ns	-	b

Keterangan:

ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 16, didapatkan hasil perlakuan A tidak berbeda nyata dengan perlakuan B, perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan C, perlakuan A berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan C, tetapi perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan D, perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan D dengan dosis 70 ppm dengan notasi b adalah perlakuan terbaik diikuti perlakuan C dengan dosis 50 ppm dengan notasi ab diikuti perlakuan B dan A dengan dosis 30 dan 10 ppm dengan notasi a. Hubungan antara dosis ekstrak dan nilai kelulushidupan disajikan pada Gambar 13.



**Gambar 13.** Grafik Hubungan antara Dosis Ekstrak Kasar *A. marina* dengan Nilai Kelulushidupan.

Pada Grafik didapatkan persamaan  $y = 55,65 + 0,567x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi yakni 70,60% sumbu y dipengaruhi sumbu x, menunjukkan bahwa dosis ekstrak kasar daun api-api berpengaruh terhadap kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*). Nilai koefisien determinasi kecil disebabkan oleh faktor luar seperti lingkungan kualitas air penelitian yang kurang optimal. Semakin tinggi dosis ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yang diberikan maka semakin tinggi nilai kelulushidupan ikan koi (*C. carpio*). Semakin tinggi ekstrak yang diberikan

dapat mengurangi kematian ikan koi (*C. carpio*). Hal tersebut dikarenakan ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) mengandung bahan antibakteri.

Hubungan antara kelulushidupan ikan dengan histopatologi hati yaitu dimana semakin tinggi ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) yang diberikan maka semakin rendah nilai skoring histopatologi, sehingga semakin tinggi pula nilai kelulushidupan. Hal tersebut dikarenakan pada dosis tinggi bahan aktif yang terkandung pada ekstrak juga tinggi.

Mangunwardoyo, *et al.* (2010) mengemukakan bahwa proses invasi bakteri patogen ke dalam tubuh diawali dengan melekatnya bakteri pada permukaan kulit dengan memanfaatkan pili, flagela dan kait untuk bergerak dan melekat kuat pada lapisan terluar tubuh ikan yaitu sisik yang dilindungi oleh zat kitin. Selama proses invasi tersebut *A. hydrophila* memproduksi enzim kitinase yang juga berfungsi mendegradasi lapisan kitin sehingga mudah ditembus oleh bakteri. Selain memanfaatkan kitinase *A. hydrophila* juga mengeluarkan enzim lainnya seperti lesitinase dalam upaya masuk ke dalam aliran darah. Bakteri bergerak dengan sangat cepat didalam pembuluh darah dan dengan mudah mencapai organ-organ penting dari ikan seperti pada sinusoid hati. Lokasi tersebut akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai media tempat hidup dan memperbanyak diri, serta menggunakan nutrisi yang ada di sekitarnya untuk proses metabolisme bakteri. Bakteri akan menyebabkan infeksi pada ikan dan dapat mengakibatkan kematian.

#### **4.3 Parameter Kualitas Air**

Air merupakan media tempat hidup ikan selama pemeliharaan. Ikan sangat mudah terserang patogen pada lingkungan yang kurang baik. Dalam hal ini yang sangat mempengaruhi adalah kualitas air. Kualitas air merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam pemeliharaan ikan. Ikan akan tumbuh optimal

apabila parameter kualitas air di tempat hidupnya sesuai dengan kisaran toleransi yang dapat diterima oleh ikan tersebut. Pada saat penelitian, dilakukan pengukuran kualitas air yang meliputi suhu, pH dan oksigen terlarut (DO). Adapun hasil pengukuran kualitas air pada saat penelitian selama 7 hari disajikan pada Lampiran 14. Sedangkan hasil kisaran pengukuran kualitas air selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 17.

**Tabel 17.** Kisaran Parameter Kualitas Air

No.	Parameter Kualitas Air	Kisaran Kualitas Air	Kelayakan Menurut Pustaka
1	Oksigen Terlarut	5,70-10,90 ppm	>5 ppm (Solichin, <i>et al.</i> ,2013),
2	Suhu	24,50-28,70 °C	20-30 °C (Ulfiana, <i>et al.</i> , 2012)
3	Ph	6,26-8,50	6,5-8,5 (Putriana, <i>et al.</i> , 2005)

**a. Oksigen Terlarut (DO)**

Hasil penelitian kualitas air pada oksigen terlarut (DO) yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 10,90 ppm sedangkan hasil nilai terkecil yaitu 5,70 ppm. Nilai oksigen terlarut (DO) pada media pemeliharaan sesuai untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai menurut Solichin, *et al.* (2013), kualitas perairan yang baik adalah perairan yang mengandung cukup oksigen untuk kelangsungan hidup biota di perairan. Kandungan oksigen yang cocok untuk kehidupan dan pertumbuhan ikan koi (*C. carpio*) adalah >5 ppm.

**b. Suhu**

Hasil penelitian kualitas air pada suhu yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 28,70°C sedangkan hasil nilai terkecil yaitu 24,50°C. Nilai suhu pada media pemeliharaan sesuai untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai menurut Ulfiana, *et al.* (2012), suhu merupakan parameter kualitas air fisika yang memegang peranan penting bagi kehidupan organisme air. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan

pertumbuhan biota air. Laju pertumbuhan meningkat dengan adanya kenaikan suhu, namun hal tersebut dapat menyebabkan kematian bagi hewan budidaya jika terjadi peningkatan suhu yang ekstrem (drastis). Suhu air yang paling ideal untuk ikan koi (*C. carpio*) berkisar antar 20 – 30°C.

### c. pH

Hasil penelitian kualitas air pada pH yang dilakukan selama masa 7 hari pemeliharaan, didapatkan hasil nilai tertinggi yaitu 8,50 sedangkan hasil nilai terkecil yaitu 6,26. Nilai pH pada media pemeliharaan sesuai untuk kehidupan ikan koi (*C. carpio*). Hal ini sesuai menurut Putriana, *et al.* (2015), pH merupakan satuan konsentrasi ion hidrogen dalam larutan, biasanya digunakan untuk menyatakan derajat keasaman atau kebasaan suatu perairan. pH air yang sangat rendah dapat menyebabkan kematian pada ikan. Keadaan air yang sangat basa juga dapat menghambat pertumbuhan ikan. Kisaran pH air yang cocok untuk budidaya ikan koi (*C. carpio*) adalah 6,5-8,5.

### 4.4 Gejala Klinis pada Ikan Koi (*C. carpio*)

Pengamatan gejala klinis ikan koi (*C. carpio*) dilakukan selama 7 hari pemeliharaan setelah ikan diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophilla* dengan kepadatan bakteri yaitu  $10^7$  sel/ml. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil setelah 24 jam penginfeksi bakteri *A. hydrophilla*, ikan terlihat menyendiri di dasar toples dan berenang tidak beraturan. Ikan mengeluarkan lendir yang berlebihan pada permukaan tubuhnya, perut membesar dan insang memucat, sedangkan ketika direndam dengan ekstrak kasar *A. marina* selama 48 jam, ikan terlihat kembali normal dan pergerakannya aktif. Pada saat dilakukan pembedahan pada hari ke-7 setelah pemeliharaan, sisik ikan terlepas dan organ bagian dalam terlihat pucat dan mengalami pendarahan seperti yang disajikan pada Gambar 14.



**Gambar 14.** Gejala klinis ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi *A. hydrophilla*, (A) Insang Memucat, (B) Perut Membesar dan (C) Sisik Mengelupas

Gejala klinis ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 18.

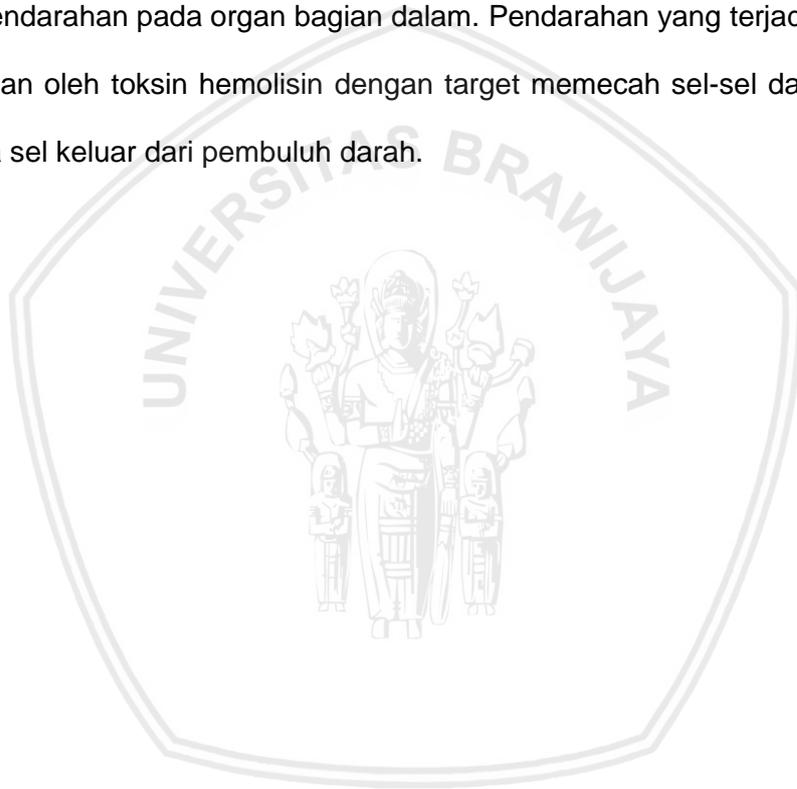
**Tabel 18.** Gejala Klinis Ikan Koi (*C. carpio*)

Jam	Gejala Klinis
0 jam	Gejala klinis belum terlihat
3 jam	Ikan mulai diam di dasar toples
10 jam	Ikan mulai gelisah dan berenang tidak beraturan
12 jam	Ikan diam didasar toples dan menyendiri
18 jam	Sisik ikan mulai mengelupas dan terlihat mengeluarkan lendir yang berlebihan
22 jam	Perut ikan mulai membesar
24 jam	Ikan terlihat lemah, berdiam dibawah toples.

Menurut Sari (2012), ikan yang terserang *A. hydrophilla* menunjukkan tanda-tanda diantaranya kemampuan berenang ikan menjadi lemah, nafasnya megap-megap dan sering muncul di permukaan, kurangnya nafsu makan, warna insang pucat dan rusak, warna tubuh ikan berubah menjadi gelap, kulit ikan mengeluarkan banyak lendir yang diikuti oleh pendarahan yang selanjutnya akan menjadi borok. Untuk melindungi tubuh dari infeksi bakteri, ikan akan mengeluarkan lendir terus-menerus sehingga mengakibatkan metabolisme tubuh meningkat dan pemakaian energi lebih banyak. Akibatnya ikan menjadi cepat lemah dan mudah stres. Keadaan tersebut mempermudah bakteri untuk masuk dan menginfeksi ikan. Menurut Mangunwardoyo, *et al.* (2010), pada beberapa jenis ikan tawar sering ditemukan tanda klinis seperti pembengkakan pada perut dan berisi cairan yang diikuti dengan kematian. Khaerani, *et al.* (2018)

menambahkan bahwa infeksi *A. hydrophila* menyebabkan penyakit dengan gejala klinis seperti sisik lepas dan rontoknya sirip-sirip ikan yang terinfeksi.

Menurut Olga (2012), perkembangan gejala penyakit MAS yang terlihat secara eksternal, yaitu ikan sering berenang lemah ke permukaan air dan ikan cenderung menyendiri. Lebih lanjut pada ikan yang mati gejala internal yang teramati, yaitu empedu lembek dan mudah pecah, saluran pencernaan kosong berisi cairan, hati merah kecoklatan, ginjal merah dengan tepi kehitaman dan terjadi pendarahan pada organ bagian dalam. Pendarahan yang terjadi pada ikan disebabkan oleh toksin hemolisin dengan target memecah sel-sel darah merah, sehingga sel keluar dari pembuluh darah.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla*.
- Dosis terbaik pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) pada penelitian yaitu pada perlakuan D dengan dosis 70 ppm.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak kasar daun api-api (*A. marina*) terhadap histopatologi hati ikan koi (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophilla* disarankan untuk pengobatan menggunakan dosis terbaik yaitu dosis 70 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal, M., F. S. Mehdi, Inamullah, J. Alam, G. Jan, M. Islam, N. U. Amin, A. Majid, M. Fiaz and A. H. Shah. 2011. Efficacy of *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. leaves extracts againts some atmospheric fungi. *African Journal of Biotechnology*. **10**(52):10790-10794.
- Aminah, S. B. Prayitno dan Sarjito. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun ketapang (*Terminalia cattapa*) terhadap kelulushidupan dan histologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquacultur Management And Technology*. **3**(4):118-125.
- Anggraini, D., F. H. Taqwa dan Yulisman. 2017. Mortalitas benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) pada ketinggian dasar media gabus ampas tebu dan lama waktu pengangkutan yang berbeda. *JPK*. **19**(1) : 78-89.
- Armansyah, T. R., S. Indiany, N. Asmilia, B. Panjaitan, D. Aliza dan Hamdan. 2016. Uji toksisitas akut ekstrak etanol daun malaka (*Phyllanthus emblica*) terhadap mencit (*Mus munculus*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. **10**(2) : 192-194.
- Assanthi, A. N. 2014. Prevalensi cacing *Tubifex* yang terinfeksi Myxobolus di sentra budidaya ikan koi (*Cyprinus carpio*) di des Ngeglok kabupaten Blitar-Jawa Timur. Skripsi Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Azalea M. R., M. N. Ashrin dan Widaningsih. 2014. Efektivitas ekstrak daun mangrove *Avicennia alba* terhadap penurunan jumlah koloni *candida albicans* pada basis gigi tiruan akrilik. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. **2**(8): 19-21.
- Batra, P., P. Mathur and M. C. Misra. 2016. *Aeromonas* sp. : an emerging nosocomial pathogen. *J Lab Physicians*. **8**(1) : 1-4.
- Budiharta, S. 2018. Surat Keterangan Identifikasi Daun Api-Api (*Avicennia marina*). Purwodadi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Balai Konservasi Kebun Raya Purwodadi. 1 halm.
- Carolia, N dan W. Noventi. 2016. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L) sebagai alternatif terapi acne vulgaris. *Majority*. **5**(1) : 140-145.
- Charyadie, F. L., S. Adi dan R. P. Sari. 2014. Daya hambat ekstrak daun alpukat (*Persea americana*, Mill.) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Jurnal Kedokteran Gigi*. **8**(1) : 1-112.
- Danata, R. H dan A. Yamindago. 2014. Analisis aktivitas antibakteri ekstrak daun mangrove *Avicennia marina* dari kabupaten Trenggalek dan kabupaten

Pasuruan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan*. **7**(1): 12-19.

David, L., S. Rothbard, I. Rubinstein, G. Hulata, J. Hillel and U. Lavi. 2004. Aspects of red and black color inheritance in the Japanese ornamental (koi) carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*. **233** : 129 – 147.

Eryanti, 1999. Identifikasi dan isolasi senyawa kimia dari Mangrove (hutan Bakau). Laporan Hasil Penelitian Pusat Penelitian Kawasan Pantai dan Perairan Universitas Riau. 18 hal.

Halidah. 2014. *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh jenis mangrove yang kaya manfaat. *Info Teknis Eboni*. **11**(1) : 37-44.

Handayani, N., S. Wahyuono, T. Hertiani dan R. Murwanti. 2018. Uji aktivitas fagositosis makrofag ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia*) secara in vitro. *Pharmacy Medical Journal*. **1**(1) : 26-32.

\_\_\_\_\_, S. 2013. Kandungan Flavonoid kulit batang dan daun pohon api-api (*Avicennia marina* (Forks.) Vierh.) sebagai senyawa aktif antioksidan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. Bogor.

Haryani, A., R. Grandiosa, I. D. Buwono dan A. Santika. 2012. Uji efektivitas daun pepaya (*Carica papaya*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas koki (*Carrasius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. **3**(3): 213-220.

Husnaeni, A. 2013. Pertumbuhan anakan *Avicennia marina* dan *Rhizophora mucronata* pada jarak tanam yang berbeda dengan menggunakan teknik penanaman guludan. Tesis. Fakultas Sains IPB. Bogor. Institut Pertanian Bogor.

Indriawati, A., S. M. E. Susilowati dan K. I. Supardi. 2016. Pembelajaran berbasis masalah dengan bahan ajar berorientasi sumberdaya perairan terhadap karakter peduli lingkungan dan hasil belajar IPA. *Journal of Primary Education*. **5**(2) : 88-96.

Jamin dan Erlangga. 2016. Pengaruh insektisida golongan organofosfat terhadap benih ikan nila gift (*Oreochromis niloticus*, Bleeker): analisis histologi hati dan insang. *Acta Aquatica*. **3**(2): 46-53.

Karmila, U., S. Karina dan C. Yulvizar. 2017. Ekstrak kunyit *Curcuma domestica* sebagai anti bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan patin *Pangasius* sp. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Perikanan dan Kelautan Unsyiah*. **2**(10): 150-157.

Khaerani, L, R., S. B. Prayitno dan A. H. C. Haditomo. 2018. Pengaruh perendaman ekstrak blimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) untuk mengobati infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*C. carpio*).

*Journal of Aquaculture Management and Technology*. **7**(1):99-106.

- Kurniawaty, E dan E. Lestari. 2016. Uji efektivitas daun belimbing wuluh (*Averroa bilimbi* L.) sebagai pengobatan diabetes melitus. *Majority*. **5**(2): 32-36.
- Kushartono, E. W. 2009. Beberapa aspek bio-fisik kimia tanah di daerah mangrove desa pasar Banggi kabupaten Rembang. *Ilmu Kelautan*. **14**(2) : 76-83.
- Kusrini, E., S. Cindelas dan A. B. Prasetyo. 2015. Pengembangan budidaya ikan hias koi (*C. carpio*) lokal di balai penelitian dan pengembangan budidaya ikan hias Depok. *Media Akuakultur*. **10**(2) : 71-78.
- Laily, H., Farikhah dan U. Firmani. 2018. analisis histologis ginjal, hati dan jantung ikan lele Afrika *Clarias gariepinus* yang mengalami anomali pada sirip pektoral. *Perikanan Pantura*. **1**(2): 30-38. pic analysis of the genus *Aeromonas* by AFLP fingerprinting. *International Journal of Systematic Bacteriology*. **46**(2): 572-580.
- Luthfi, M. Z., S. Rejeki dan T. Elfitasari. 2017. Analisa Kelayakan Usaha Budidaya Polikultur Udang Windu (*Penaeus monodon*) dan Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di Desa Bangsri, Kabupaten Brebes. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*. **1**(1): 62-71.
- Mangunwardoyo, W., M. R. Ismayasari dan E. Riani. 2010. Uji patogentias dan virulensi *Aeromonas hydrophila* Stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat koch. *Jurnal Riset Akakultur*. **5**(2): 245-255.
- Mariyono dan A. Sundana. 2002. Teknik Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Bercak Merah Pada Ikan Air Tawar yang Disebabkan Oleh Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Buletin Teknik Pertanian*. **7** (1): 33 – 36.
- Muhammad, I., A. Ruagiyono dan M. A. Mukid. 2014. Penilaian cara mengajar menggunakan rancangan acak lengkap. *Jurnal Gaussian*. **3**(2);183-192.
- Mulyani, Y., E. Bachtiar dan M. U. Kurnia. 2013. peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *A. hydrophilla* pada ikan mas (*C. carpio*). *Jurnal Akuatika*. **4**(1) : 1-9.
- Mutiara, A. A., I. Rustikawati dan T. Herawati. 2013. Akumulasi timbal (Pb) dan kadmium (Cd) serta kerusakan pada insang, hati dan daging ikan patin (*Pangasius* sp.) di waduk saguling. *Jurnal Perikanan dan Ilmu Kelautan*. **4** (4). 1-10.
- Nahar, S., M. M. Rahman, G. U. Ahmed and M. A. R. Faruk. 2016. Isolation, identification and characterization of *A. hydrophila* from juvenile farmed pangasius (*P. hypophthalmus*). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. **4**(4) : 52-60.
- Ngajow, M., J. Abidjulu dan V. S. Kamu. 2013 . pengaruh antibakteri ekstrak kulit

batang Matoa (*P. pinnata*) terhadap bakteri *Stapylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. **2**(2) : 128-132.

- Nurjannah, R. D. D., S. B. Prayitno dan S. Sarjito. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap pofik darah dan kelulushidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4): 1-12.
- Olga. 2012. Patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* ASB01 pada ikan gabus (*Ophicephalus striatus*). *Sains Akuatik*. **14** (1). 33-39.
- Putriana, N., W. Tjahjaningsih dan M. A. Alamsyah. 2015. Pengaruh penambahan perasan paprika merah (*Capsicum annum*) dalam pakan terhadap tingkat kecerahan warna ikan koi (*Cyprinus carpio* L.) *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **7**(2) : 189-194.
- Rahayu, S. D., Z. L. Zulfatin dan A. Nuriliani. 2013. Efek Histopatologis Insektisida  $\lambda$ -Cyhalothrin terhadap Insang, Hati, dan Usus Halus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* L., 1758). *Biosfera*. **30**(2) : 52-65.
- Raza'i, T. S. 2008. Analisis histopatologi organ insang dan usus ikan kerapu lumpur (*Epinephelus coloides*) yang diberi Khamir Laut (Marine Yeast) sebagai *Immunostimulan*. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rinawati, N. D. 2011. Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. Tesis. Fakultas Ilmu Alam. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Roslizawaty, N., Y. Ramadani, Fakhurrrazi dan Herrialfian. 2013. Aktivitas antibacterial ekstrak etanol dan rebusan sarang semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. **7** (2). 91-94.
- Salikin, R. Q., Sarjito dan S. B. Prayitno. 2014. Pengaruh perendaman ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap mortalitas dan histologi hati ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas caviae*. *Journal of Aquacultur Management and Technology*. **3**(3) 43-50.
- Samsundari, S. 2012. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas (*C. carpio*). *Gamma*. **1**(2): 71-83.
- Sari, D. S. 2012. Pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*O. niloticus*) dengan pemberian ekstrak etil asetat rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sarikaya, R and M. Yilmaz. 2003. Investigation of acute toxicity and the effect of 2,4 D herbicide on the behavior of the common carp (*Cyprinus carpio* L.,1758; Pisces, Cyprinidae). *Chemosphere*. **52**(1) : 195-201.

- Schon, H. E., I. Bogut and I. Strelec. 2006. Heavy metal profile in five fish species included in human diet, domiciled in the end flow of river Neretva (Croatia). *Arch. Environtal Contamination and Toxicology*. **50** : 545 – 551.
- Setiawan, M. H., S. Mursiti dan E. Kusumo. 2016. Aisolasi dan uji daya antimikroba ekstrak kulit nanas (*Ananas comous* L. Merr). *Jurnal MIPA*. **39(2)** : 128-134.
- Siregar, A. F., A. Sabdono dan D. Pringgenies. 2012. Potensi antibakteri ekstrak rumput laut terhadap bakteri penyakit kulit *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Micrococcus luteus*. *Journal of Marine Research*. **1(2)** : 152-160.
- Siswandari, W. 2005. Nilai diagnostik pemeriksaan imunositokimia limfosit sediaan apus darah tepi dibandingkan analisis kromosom pada penderita dengan dugaan sindroma fragile x. Tesis. Universitas Diponegoro. Semarang.
- 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*. **2(2)** : 46-53.
- Sukardjo, S. 1984. Ekosistem mangrove. *Oseana*. **9(4)**: 102-115.
- Sukarni, Maftuch, dan H. Nursyam. 2012. Kajian Penggunaan Ciprofloxacin terhadap Histologi Insang dan Hati Ikan Botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *J. Exp. Life Sci*. **2(1)**: 6-12.
- Tridayani, A. E., R. Aryawati dan G. Diansyah. 2010. Pengaruh logam timbal (pb) terhadap jaringan hati ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *Maspari Journal*. **1**: 42-47.
- Ulfiana, R., G. Mahasri dan H. Suprpto. 2012. Tingkat kejadian aeromonosis pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi *Myxobolus koi* pada derajat infeksi yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **4(2)** : 169-174.
- Wisayastono, H. 2007. Metodologi penelitian ilmiah dan alamiah. *Jurnal Pendidikan dan Kebudayaan*. **68(13)** : 757-775.
- Yu, H. B., P. S. Rao, H. C. Lee, S. Vilches, S. Merino, J. M. Tomas and K. Y. Leung. 2004. A type III secretion system is required for *Aeromonas hydrophila* AH-1 pathogenesis. *Infection and Immunity*. **72(3)**: 1248-1256.
- Yuasa, K. N., M. B. Panigoro dan Kholidin. 2003. Panduan Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar : Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar di Indonesia. *International Cooperation Agency*. 75 hlm.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Alat Penelitian



Toples Plastik



Toples Kaca



Akuarium



Timbangan digital



Aerator set



Nampan



Oven



Pipet Tetes

## Lampiran 1. Lanjutan

 <p>A long, thin, silver metal rod with a small loop at the top, used for heating substances in a Bunsen burner.</p>	 <p>A Bunsen burner with a glass chimney, used for heating. It is shown with a purple liquid inside the burner.</p>
 <p>Two glass test tubes, used for holding and heating small amounts of liquid.</p>	 <p>A refrigerated storage cabinet with glass doors, used for storing samples at low temperatures.</p>
 <p>A small, clear plastic bottle with a red cap, used for storing small volumes of liquid.</p>	 <p>A tall, narrow glass graduated cylinder, used for measuring liquid volumes.</p>
 <p>A clear plastic spray bottle with a blue nozzle, used for applying liquids.</p>	 <p>A compound light microscope, used for observing small objects.</p>

Lampiran 1. Lanjutan



Spektrofotometer



Rotary Evaporator



Inkubator



Vortex mixer



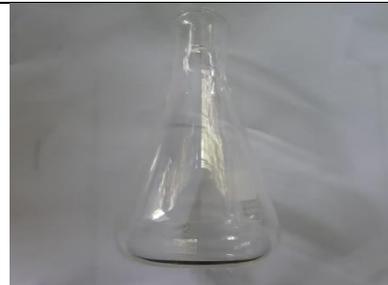
Objek glass



Cover glass



Saser Ikan



Erlenmeyer

## Lampiran 1. Lanjutan



Thermometer



Hotplate



DO meter



pH meter



Rak Tabung Reaksi



Penggaris

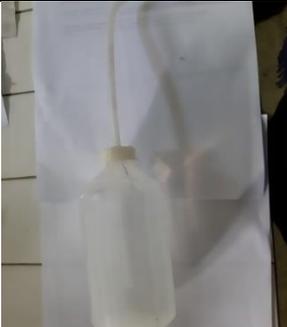


Spatula



Autoklaf

## Lampiran 1. Lanjutan

	
<i>Laminary Air Flow (LAF)</i>	<i>Beaker Glass</i>
	
<i>Sectio Set</i>	<i>Micropipet</i>
	
<i>Pipet volume</i>	<i>Bola hisap</i>
	
<i>Washing bottle</i>	<i>Tabuna Spiritus</i>

## Lampiran 2. Bahan Penelitian



Ikan koi (*C. carpio*) ukuran 8-10cm



Bakteri *A. hydrophilla*



Daun api-api (*A. marina*)



Bubuk daun api-api (*A. marina*)



Alkohol 70%



Etanol PA

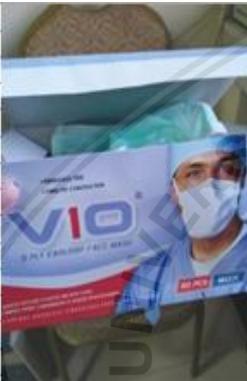
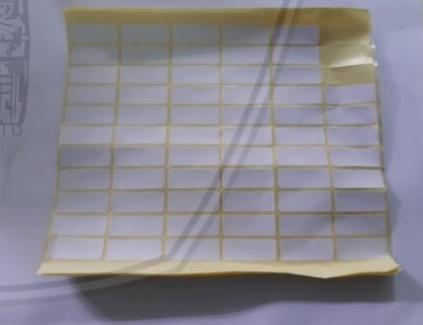


Spiritus



Akuades

## Lampiran 2. Lanjutan

 <p>Alumunium Foil</p>	 <p>Kertas saring</p>
 <p>Masker</p>	 <p>Tisu</p>
 <p>Kapas</p>	 <p>Kertas label</p>
 <p>Media</p>	 <p>Sarung Tangan Latex</p>

## Lampiran 2. Lanjutan



Plastik Wrap



Organ Hati



BaCl

Larutan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

Lampiran 3. Uji Identifikasi Daun Api-Api (*A. marina*)



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)

BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1A 99/IPH.06/HM/X/2018

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Nyi Ageng Dwi Lingasari  
NIM : 155080507111027  
Instansi : Fakultas Perikanan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya  
Tanggal material diterima : 9 Oktober 2018

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :

Kingdom : Plantae  
Division : Magnoliophyta  
Class : Magnoliopsida  
Subclass : Asteridae  
Ordo : Scrophulariales  
Family : Acanthaceae  
Genus : *Avicennia*  
Species : *Avicennia marina* (Forsk) Vierh.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 614
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVII
3. M.S.M.Sosef, L.T. Hong dan S.Prawirohatmodjo. 1998 (esd) PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 5 (3) ; Timber trees: Lesser-known timbers Hal.94

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 24 Oktober 2018

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Dr. Nyi Ageng Budiharta, M.Sc



#### Lampiran 4. Hasil Uji Fitokimia Daun Api-Api (*A. marina*)



### DINAS KESEHATAN UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu

KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 133D / 102.7 / 2018  
Sifat : Biasa  
Perihal : Surat Keterangan Analisa Kualitatif

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

#### 1. Identitas Pemohon

Nama	NIM	Program Studi
Dwi Ratih Sulistyorinie	155080507111033	Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya
Nyi Ageng Dwi Linggasari	155080507111027	
Hafizhah Rahmah	155080500111044	
Rendra Setiyo Agustian	155080501111049	

#### 2. Identitas Sampel

Nama daerah sampel : Mangrove  
Nama latin : -  
Bagian sampel : -  
Bentuk sampel : Ekstrak  
Pelarut : -  
Asal sampel : -  
Tanggal penerimaan : 05 Desember 2018  
Tanggal pemeriksaan : 06 Desember 2018

#### 3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Negatif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

#### 4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Mangrove				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Mangrove			

### Lampiran 5. Hasil Uji Biokimia Bakteri *A. hydrophilla*



**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN**  
**DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA**  
**BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA AIR PAYAU**  
**LABORATORIUM UJI BBPAP JEPARA**  
 Alamat surat: PO Box 1 Jepara , Kantor: Jl. Cik Lanang – Bulu Jepara 59418  
 Telp. : (0291) 591125, Faximili : (0291) 591724  
[www.bbpbajepara.djpb.kkp.go.id](http://www.bbpbajepara.djpb.kkp.go.id) ; Email: bbpbajpr@gmail.com

---

**HASIL UJI BIOKIMIA**

Hal : Uji biokimia Identifikasi Bakteri  
 Asal : Lab. Mikrobiologi  
 Alamat : BBAPAP Jepara  
 Metode : Cowan and stell's, Manual for Identification of medical bacteria  
 Hasil :

Uji Bio Kimia	Isolat
	<i>Aeromonas hydrophilla</i>
Gram	—
Bentuk	Batang
Katalase	+
Oksidase	+
H <sub>2</sub> S	—
Indol	+
Motil	+
OF medium	Fermentatif
VP	+
MR	—
Gelatin	+
Urea	—
Glukosa	+
Sukrosa	+

Lab. Mikrobiologi BBPAP Jepara  
 Penyelia  
  
 Sri Murti Astuti, SP.



### Lampiran 6. Perhitungan Dosis Ekstrak Kasar Daun Api-Api (*A. marina*)

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan ekstrak dosis uji yaitu Aquades steril sebanyak 90% dan DMSO sebanyak 10%, adapun dosis yang digunakan dan perhitungannya adalah sebagai berikut:

- Perhitungan Stok Awal Ekstrak Daun *A. marina*

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= \frac{100 \text{ mg}}{1 \text{ L}} \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \\ &= \frac{0,01 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \end{aligned}$$

Larutan stok terbuat dari 0,01 g ekstrak *A. marina* yang dilarutkan dalam 10 ml DMSO dan 90 ml aquades steril. Kemudian dilakukan pengenceran untuk mendapatkan dosis ekstrak yang diinginkan.

- a. Dosis 10 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 1 \text{ ml} = 9 \text{ ml} \end{aligned}$$

- b. Dosis 30 ppm

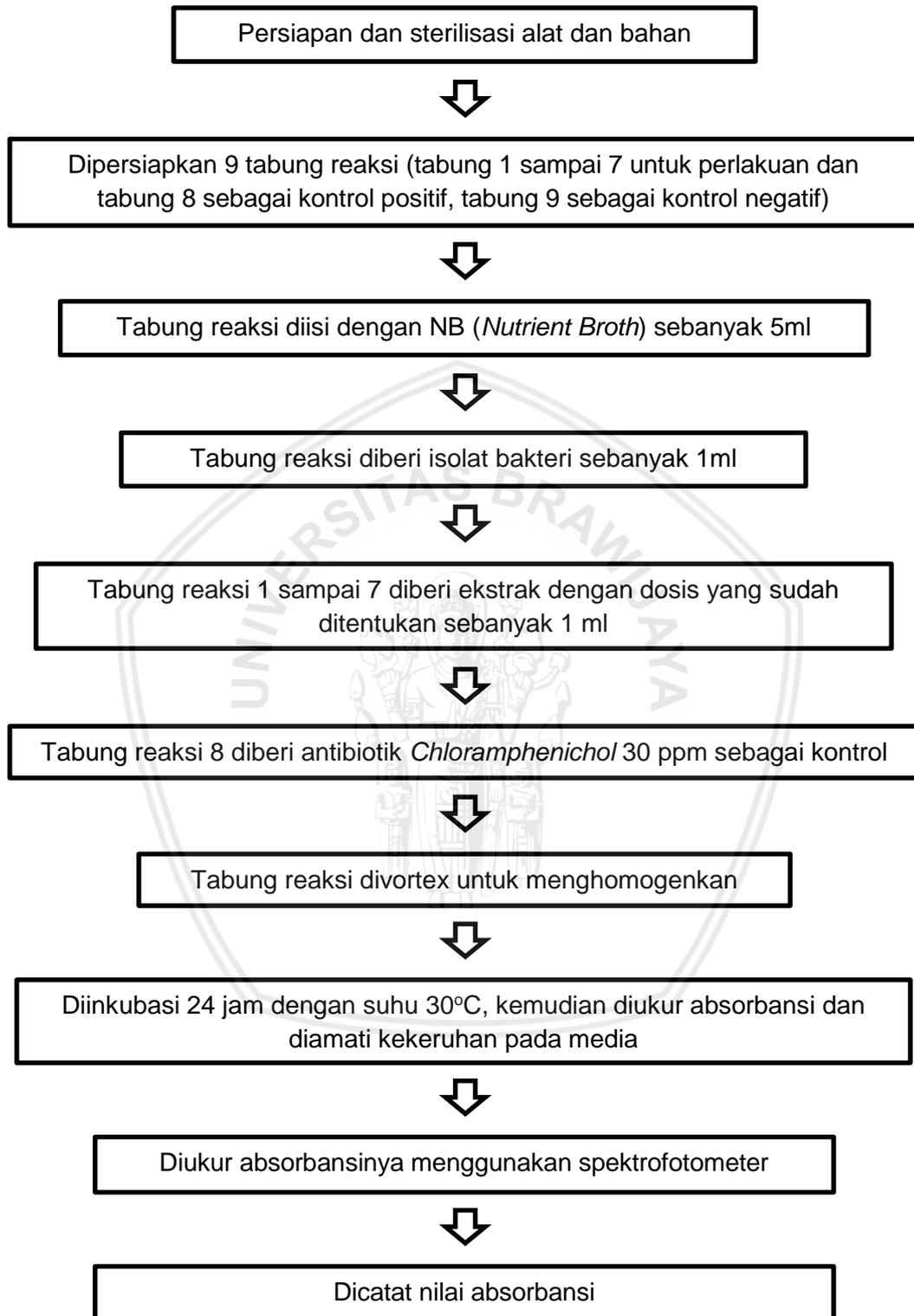
$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 30 \text{ ppm} \\ V_1 &= 3 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 3 \text{ ml} = 7 \text{ ml} \end{aligned}$$

- c. Dosis 50 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 50 \text{ ppm} \\ V_1 &= 5 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 5 \text{ ml} = 5 \text{ ml} \end{aligned}$$

- d. Dosis 70 ppm

$$\begin{aligned} - V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 10 \text{ ml} \times 70 \text{ ppm} \\ V_1 &= 7 \text{ ml} \\ - \text{Aquades} &= 10 \text{ ml} - 7 \text{ ml} = 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

**Lampiran 7. Skema Uji MIC (*Minimum Inhibition Concentration*)**

**Lampiran 8.** Perhitungan kadar air dan rendemen Ekstrak Kasar Daun Api-Api

(*A. marina*)

- Kadar air

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat basah}}{\text{Berat kering}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar air} = \frac{3.000}{1.245} \times 100\%$$

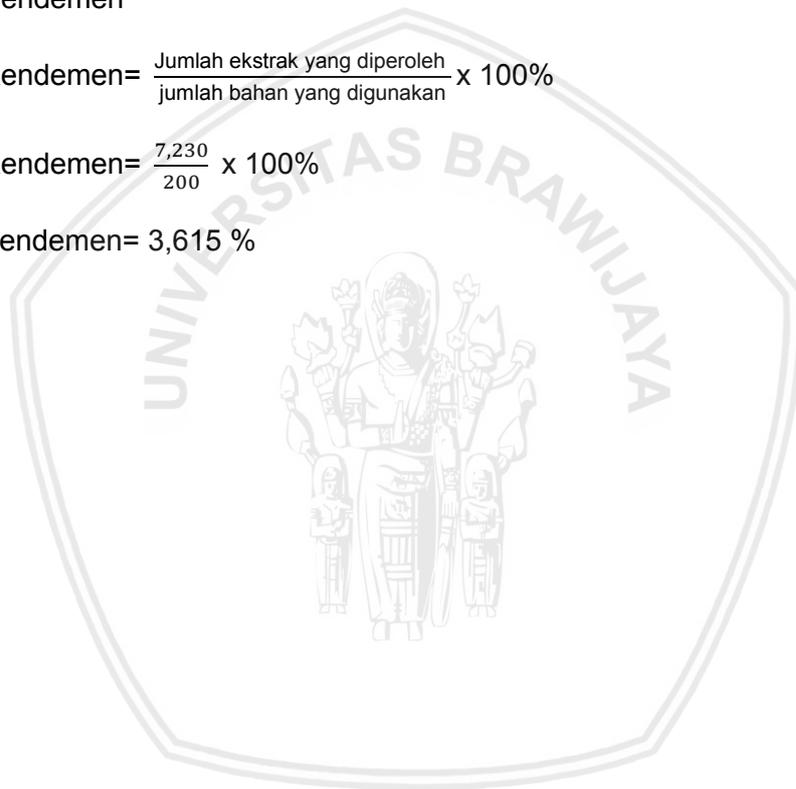
$$\text{Kadar air} = 41,5 \%$$

- Rendemen

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang diperoleh}}{\text{jumlah bahan yang digunakan}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{7,230}{200} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = 3,615 \%$$

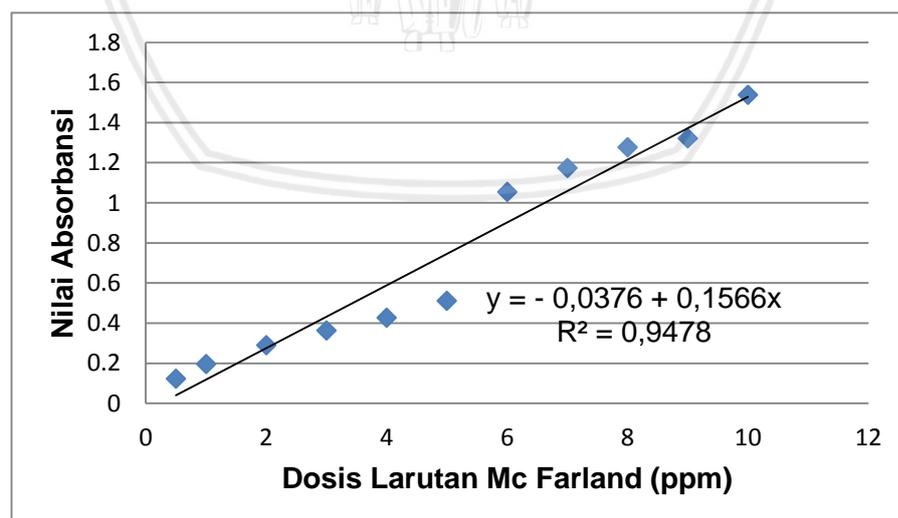


### Lampiran 9. Perhitungan Kepadatan Bakteri dengan metode Mc Farland

- a. Perhitungan kepadatan Bakteri Awal menggunakan metode Mc Farland
- Didapatkan nilai absorbansi dari larutan standar Mc Farland adalah sebagai berikut:

Mc Farland	
ppm	Absorbansi
0,5	0,123
1	0,196
2	0,290
3	0,363
4	0,427
5	0,511
6	1,055
7	1,174
8	1,277
9	1,322
10	1,538

- Kemudian data tersebut dimasukkan kedalam grafik regresi dan didapatkan rumus perhitungan yang digunakan untuk menghitung kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla*.



- Dari rumus diatas, dapat dihitung kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla*. Adapun perhitungannya adalah sebagai berikut:

## Lampiran 9. (Lanjutan)

$$y = -0,0376 + 0,1566x$$

Uji MIC (ppm)	Absorbansi (y)	Mc Farland (x)	sel/ml
1000	0,400	4	$12 \times 10^8$
100	0,414	4	$12 \times 10^8$
<b>10</b>	<b>0,418</b>	<b>3</b>	<b><math>9 \times 10^8</math></b>
1	0,358	3	$9 \times 10^8$
0	0,389	4	$12 \times 10^8$
0,1	0,404	4	$12 \times 10^8$
0,01	0,467	4	$12 \times 10^8$
+	0,431	4	$12 \times 10^8$
-	0,408	4	$12 \times 10^8$

- Setelah perhitungan nilai *Mc Farland* diketahui, dilakukan penyetaraan suspensi bakteri dengan larutan standar *Mc Farland*, didapatkan hasil jumlah kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla* (sel/ml).
  - Kepadatan bakteri awal yaitu disesuaikan dengan nilai dosis yang digunakan sebagai dosis minimum yang dapat menghambat bakteri, diperoleh nilai Uji MIC adalah 10 ppm, sehingga diketahui kepadatan awal bakteri *A. hydrophilla* adalah  $9 \times 10^8$  sel/ml.
- b. Kepadatan Bakteri  $10^7$  sel/ml**
- Kepadatan bakteri yang digunakan untuk penginfeksi adalah  $10^7$ .
  - Untuk mendapatkan kepadatan  $10^7$ , dilakukan pembuatan bakteri induk dengan cara menanam bakteri pada media NB dengan volume 1000 ml, yang diinkubasi pada inkubator selama 24 jam, kemudian bakteri induk dihitung nilai absorbansi dengan menggunakan *UV 1700 PharmaSpec UV-Vis spectrophotometry Simadzu* dengan panjang gelombang 600 nm.
  - Hasil absorbansi kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan pada grafik untuk mendapatkan jumlah kepadatan bakteri induk.

**Lampiran 9. (Lanjutan)**

- Didapatkan hasil kepadatan awal bakteri induk adalah  $8 \times 10^8$  sel/ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan rumus :

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan :

$N_1$  : Kepadatan populasi bakteri dalam media NB (sel/ml)  
 $N_2$  : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)  
 $V_1$  : Volume suspense bakteri dalam NB yang dibutuhkan  
 $V_2$  : Volume yang diinginkan

- Perhitungan untuk mendapatkan kepadatan bakteri  $10^7$  adalah sebagai berikut:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 12 \times 10^8 = 10000 \times 10^7$$

$$8 \times 10^8 V_1 = 1 \times 10^{11}$$

$$V_1 = \frac{1 \times 10^{11}}{8 \times 10^8}$$

$$V_1 = 111 \text{ ml}$$

- Berdasarkan perhitungan diatas diketahui kebutuhan bakteri yang digunakan adalah sebanyak 111 ml tiap toples perlakuan.

**Lampiran 10.** Pembuatan Dosis Ekstrak Daun Api-Api (*A. marina*) untuk Pengobatan Ikan Koi (*C. carpio*)

- Volume toples yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10.000 ml, adapun perhitungan dosis ekstrak *A. marina* adalah sebagai berikut:

a. Dosis 10 ppm

$$10 \text{ ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 10 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

b. Dosis 30 ppm

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 30 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

c. Dosis 50 ppm

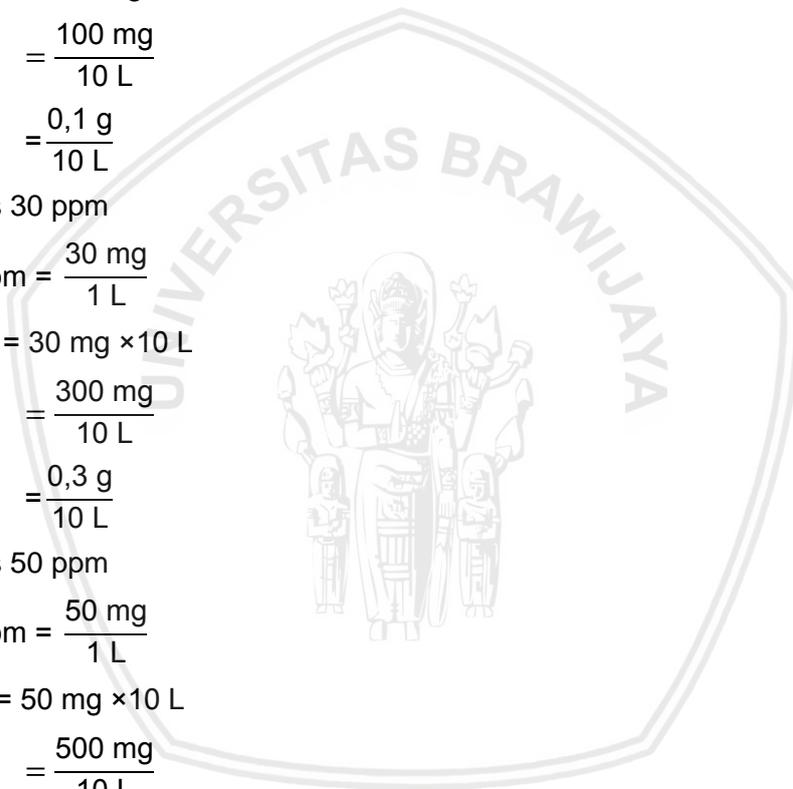
$$50 \text{ ppm} = \frac{50 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 50 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{500 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,5 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$

d. Dosis 70 ppm

$$70 \text{ ppm} = \frac{70 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$\begin{aligned} - 10 \text{ L} &= 70 \text{ mg} \times 10 \text{ L} \\ &= \frac{700 \text{ mg}}{10 \text{ L}} \\ &= \frac{0,7 \text{ g}}{10 \text{ L}} \end{aligned}$$



**Lampiran 10.** (Lanjutan)

- e. Dosis antibiotik *Chloramphenicol* 30 ppm (Kontrol positif)

$$30 \text{ ppm} = \frac{30 \text{ mg}}{1 \text{ L}}$$

$$- 10 \text{ L} = 30 \text{ mg} \times 10 \text{ L}$$

$$= \frac{300 \text{ mg}}{10 \text{ L}}$$

$$= \frac{0,3 \text{ g}}{10 \text{ L}}$$

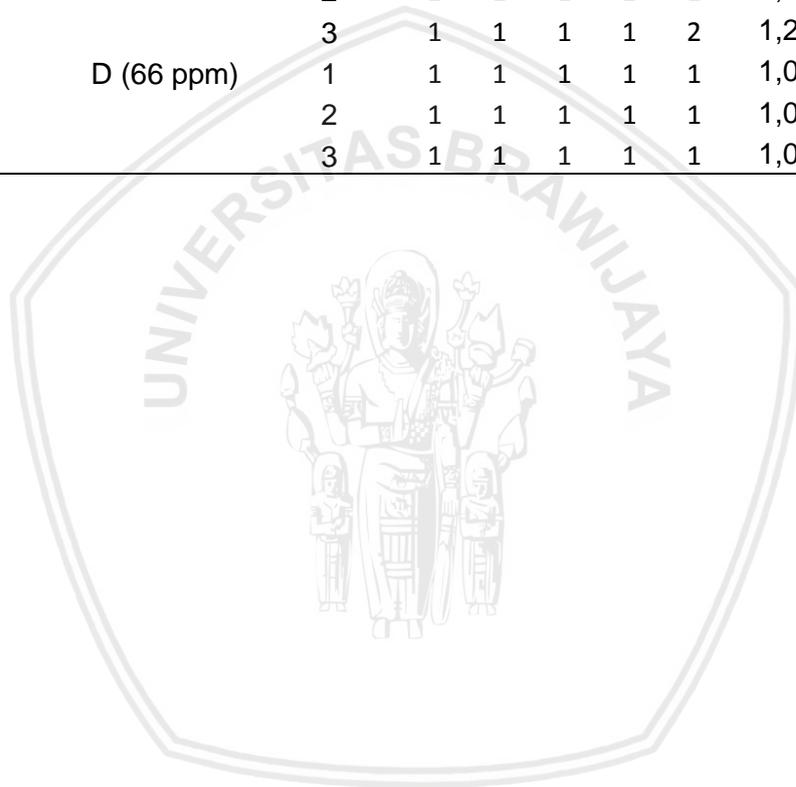


## Lampiran 11. Nilai Skoring Kerusakan Jaringan Hati

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata LP	Rerata Sampel			
			1	2	3	4	5					
Kongesti	A (10 ppm)	1	1	2	1	2	2	1,40	1,4667			
		2	1	1	2	2	1	1,40				
		3	2	1	2	2	1	1,60				
	B (30 ppm)	1	1	2	1	1	2	1,40		1,3333		
		2	1	1	1	2	1	1,20				
		3	1	2	1	2	1	1,40				
	C (50 ppm)	1	1	1	1	2	1	1,20			1,2667	
		2	1	1	1	2	1	1,20				
		3	2	1	1	2	1	1,40				
	D (70 ppm)	1	2	1	1	1	1	1,20				1,1333
		2	1	2	1	1	1	1,20				
		3	1	1	1	1	1	1,00				
Hemoragi	A (10 ppm)	1	3	2	2	1	2	2,00	1,9333			
		2	3	2	1	2	1	1,80				
		3	3	2	2	1	2	2,00				
	B (30 ppm)	1	2	1	2	1	2	1,60		1,6000		
		2	2	2	2	1	1	1,60				
		3	1	2	1	2	2	1,60				
	C (50 ppm)	1	1	2	2	1	1	1,40			1,4667	
		2	2	2	1	1	1	1,40				
		3	3	1	1	2	1	1,60				
	D (70 ppm)	1	1	1	2	1	2	1,40				1,3333
		2	2	1	2	1	1	1,40				
		3	1	1	2	1	1	1,20				

Lampiran 11. (Lanjutan)

Kelainan Patologi	Sampel	Ulangan	Nilai Skoring					Rerata LP	Rerata Sampel
			1	2	3	4	5		
NEKROSIS	A (6 ppm)	1	2	2	2	2	2	2,00	1,9333
		2	2	3	2	1	1	1,80	
		3	2	2	2	2	2	2,00	
	B (26 ppm)	1	2	2	1	1	2	1,60	1,4667
		2	2	1	1	1	1	1,20	
		3	1	1	2	2	2	1,60	
	C (46 ppm)	1	2	1	2	1	2	1,60	1,3333
		2	2	1	1	1	1	1,20	
		3	1	1	1	1	2	1,20	
	D (66 ppm)	1	1	1	1	1	1	1,00	1,0000
		2	1	1	1	1	1	1,00	
		3	1	1	1	1	1	1,00	



**Lampiran 12.** Perhitungan Kerusakan Jaringan Hati Ikan Koi (*C. carpio*)

**a. Kongesti**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	1,60	1,40	1,60	4,60	1,53	± 0,06
B (30 ppm)	1,40	1,20	1,40	4,00	1,33	± 0,06
C (50 ppm)	1,20	1,20	1,40	3,80	1,27	± 0,06
D (70 ppm)	1,20	1,20	1,00	3,40	1,13	± 0,06
				15,80		

• **Perhitungan Sidik Ragam**

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

$$= \frac{15,80^2}{12}$$

$$= 20,8033$$
- JK Total =  $(A^2 + A^2 + \dots + D^2) - FK$   

$$= (1,60^2 + 1,40^2 + \dots + 1,00^2) - 20,8033$$

$$= 21,1600 - 20,8033$$

$$= 0,3567$$
- JK Perlakuan =  $\frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK$   

$$= \frac{4,60^2 + 4,00^2 + 3,80^2 + 3,40^2}{3} - 20,8033$$

$$= 0,2500$$
- JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  

$$= 0,3567 - 0,2500$$

$$= 0,1067$$
- Derajat Bebas (dB) Total =  $(n \times r) - 1$   

$$= (4 \times 3) - 1$$

$$= 11$$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$   

$$= 4 - 1$$

$$= 3$$
- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$   

$$= 4 \times (3 - 1)$$

$$= 8$$
- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) =  $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{0,2500}{3} = 0,0833$

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ Kuadrat Tengah Acak (KTA)} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,1067}{8} \\
 &= 0,0133
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ F Hitung} &= \frac{KTP}{KTA} \\
 &= \frac{0,0833}{0,0133} \\
 &= 6,26
 \end{aligned}$$

- **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0,2500	0,0833	6,26 *	4,07
Acak	8	0,1067	0,0133		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>0,3567</b>			

Keterangan: (\*) berbeda nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5%, maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,0133}{3}} \\
 &= 0,0942
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 5\%} &= T \text{ 5\% (dB Acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,306 \times 0,0943 \\
 &= 0,2174
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. (Lanjutan)

• **BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,53	1,33	1,27	1,13	
<b>A</b>	1,53	-	-	-	-	a
<b>B</b>	1,33	0,20 ns	-	-	-	a
<b>C</b>	1,27	0,26 *	0,06 ns	-	-	ab
<b>D</b>	1,13	0,40 *	0,20 ns	0,14 ns	-	b

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C kemudian diikuti oleh perlakuan B dan A.

• **Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadrat	Kubik
<b>A</b>	4,6	-3	1	-1
<b>B</b>	4	-1	-1	3
<b>C</b>	3,8	1	-1	-3
<b>D</b>	3,4	3	1	1
<b>Q= Σ(ci*Ti)</b>		-3,8	0,2	-0,6
<b>Hasil Kuadrat</b>		20	4	20
<b>Kr= (Σci<sup>2</sup>)*r</b>		60	12	60
<b>JK=Q<sup>2</sup>/Kr</b>		0,2406	0,0033	0,0060

$$\begin{aligned}
 \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadrat} + \text{JK Kubik} \\
 &= 0,2406 + 0,0033 + 0,0060 \\
 &= 0,2500
 \end{aligned}$$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

- Analisis Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0,2500	0,0833		3,48
Linier	1	0,2406	0,2407	18,0952	**
Kuadratik	1	0,0033	0,0033	0,2506	ns
Kubik	1	0,0060	0,0060	0,4511	ns
Acak	8	0,1067	0,0133		
Total	11	0,35670			

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*\*) = sangat berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung  $R^2$  masing-masing regresi tersebut:

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ linier} &= \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,2407}{0,2407 + 0,1067} \\
 &= 0,6928
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,0033}{0,0033 + 0,1067} \\
 &= 0,0303
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kubik} &= \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,0060}{0,0060 + 0,1067} \\
 &= 0,0533
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan  $R^2$  diatas menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

**Sumbu x dan y**

Perlakuan	X	Y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	10	1,60	16	100
A2	10	1,40	14	100
A3	10	1,60	16	100
B1	30	1,40	42	900
B2	30	1,20	36	900
B3	30	1,40	42	900
C1	50	1,20	60	2500
C2	50	1,20	60	2500
C3	50	1,40	70	2500
D1	70	1,20	84	4900
D2	70	1,20	84	4900
D3	70	1,00	70	4900
Total	480	15,80	594	25200

$$b_1 = \frac{(\sum xy) - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{(\sum x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$b_1 = \frac{(594) - \left(\frac{480 \times 15,80}{12}\right)}{(25200) - \left(\frac{480^2}{12}\right)}$$

$$b_1 = -0,00063$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \frac{\sum x}{n})$$

$$b_0 = \frac{15,80}{12} - \left(-0,00063 \times \frac{480}{12}\right)$$

$$b_0 = 1,34$$

Berdasarkan perhitungan b0 dan b1, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 1,34 - 0,00063x$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

## b. Hemoragi

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93	± 0,06
B (30 ppm)	1,60	1,60	1,60	4,80	1,60	± 0,00
C (50 ppm)	1,40	1,40	1,60	4,40	1,47	± 0,06
D (70 ppm)	1,40	1,40	1,20	4,00	1,33	± 0,06
				19,00		

- **Perhitungan Sidik Ragam**

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

$$= \frac{19,00^2}{12}$$

$$= 30,0833$$
- JK Total =  $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$ 

$$= (2,00^2 + 1,80^2 + \dots + 1,20^2) - 30,0833$$

$$= 30,760 - 30,083$$

$$= 0,6770$$
- JK Perlakuan =  $\frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK$ 

$$= \frac{5,80^2 + 4,80^2 + 4,40^2 + 4,00^2}{3} - 30,0833$$

$$= 0,597$$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan
$$= 0,680 - 0,597$$

$$= 0,080$$
- Derajat Bebas (db) Total =  $(n \times r) - 1$ 

$$= (4 \times 3) - 1$$

$$= 11$$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$ 

$$= 4 - 1$$

$$= 3$$
- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$ 

$$= 4 \times (3 - 1)$$

$$= 8$$

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) =  $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$   

$$= \frac{0,5967}{3}$$

$$= 0,199$$
- Kuadrat Tengah Acak (KTA) =  $\frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}}$   

$$= \frac{0,0800}{8}$$

$$= 0,010$$
- F Hitung =  $\frac{KTP}{KTA}$   

$$= \frac{0,1989}{0,0100}$$

$$= 19,900$$

- **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	0,597	0,199	19,900**	4,07
Acak	8	0,080	0,010		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>0,677</b>			

Keterangan: (\*\*) berbeda sangat nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 1% dan F 5% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$   

$$= \sqrt{\frac{2 \times 0,0100}{3}}$$

$$= 0,08264$$
- $BNT \ 5\% = T \ 5\% (dB \text{ Acak}) \times SED$   

$$= 2,306 \times 0,08264$$

$$= 0,1883$$

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 - \quad \text{BNT } 1\% &= T \ 1\% \text{ (dB Acak)} \times \text{SED} \\
 &= 3,355 \times 0,08264 \\
 &= 0,2739
 \end{aligned}$$

- **BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,93	1,60	1,47	1,33	
<b>A</b>	<b>1,93</b>	-	-	-	-	a
<b>B</b>	<b>1,60</b>	0,33 *	-	-	-	b
<b>C</b>	<b>1,47</b>	0,46 *	0,13 ns	-	-	bc
<b>D</b>	<b>1,33</b>	0,60 *	0,27 *	0,14 ns	-	c

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C, diikuti oleh perlakuan B kemudian diikuti oleh perlakuan A.

- **Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	5,8	-3	1	-1
B	4,8	-1	-1	3
C	4,4	1	-1	-3
D	4,0	3	1	1
Q= $\sum(c_i \cdot T_i)$		-5,8	0,6	-0,6
Hasil Kuadrat Kr=		20	4	20
$(\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		0,5606	0,0300	0,0060

$$\begin{aligned}
 - \quad \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\
 &= 0,5606 + 0,0300 + 0,00600 \\
 &= 0,5970
 \end{aligned}$$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

- Analisis Sidik Ragam Regresi**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhit	F 5%	F 1%
<b>Perlakuan</b>	3	0,5970	0,1990		3,48	5,99
<b>Linier</b>	1	0,5606	0,5606	56,06	*	
<b>Kuadratik</b>	1	0,0300	0,0300	3	ns	
<b>Kubik</b>	1	0,0060	0,0060	0,6	ns	
<b>Acak</b>	8	0,08	0,01			
<b>Total</b>	11					

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung  $R^2$  masing-masing regresi tersebut:

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ linier} &= \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,56067}{0,56067 + 0,0800} \\
 &= 0,8751
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,0300}{0,0300 + 0,0800} \\
 &= 0,2727
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,0060}{0,0060 + 0,0800} \\
 &= 0,0697
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan  $R^2$  menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x dan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga didapatkan garis linier pada grafik.

## Lampiran 12. (Lanjutan)

## Sumbu x dan y

Perlakuan	X	Y	Xy	x <sup>2</sup>
A1	10	2,0	20	100
A2	10	1,8	18	100
A3	10	2,0	20	100
B1	30	1,6	48	900
B2	30	1,6	48	900
B3	30	1,6	48	900
C1	50	1,4	70	2500
C2	50	1,4	70	2500
C3	50	1,6	80	2500
D1	70	1,4	98	4900
D2	70	1,4	98	4900
D3	70	1,2	84	4900
Total	480	19	702	25200

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \left(\frac{\sum x \sum y}{n}\right)}{(\sum x^2) - \left(\frac{(\sum x)^2}{n}\right)}$$

$$b_1 = \frac{(702) - \left(\frac{480 \times 19}{12}\right)}{(25200) - \left(\frac{480^2}{12}\right)}$$

$$b_1 = - 0,0097$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right) = 1,97$$

$$b_0 = \frac{19}{12} - \left(-0,0096 \times \frac{480}{12}\right)$$

$$b_0 = 1,97$$

Berdasarkan perhitungan b0 dan b1, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 1,97 - 0,0097x$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

## c. Nekrosis

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A (10 ppm)	2,00	1,80	2,00	5,80	1,93	0,06
B (30 ppm)	1,60	1,20	1,60	4,40	1,47	0,14
C (50 ppm)	1,60	1,20	1,20	4,00	1,33	0,14
D (70 ppm)	1,00	1,00	1,00	3,00	1,00	0,00
				17,20		

- Perhitungan Sidik Ragam

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

$$= \frac{17,20^2}{12}$$

$$= 24,6533$$

- JK Total =  $(A^2 + A^2 + \dots + D^2) - FK$   
 $= (2,00^2 + 1,80^2 + \dots + 1,00^2) - 24,6533$   
 $= 26,2400 - 24,6533$   
 $= 1,5900$

- JK Perlakuan =  $\frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2}{r} - FK$   
 $= \frac{5,80^2 + 4,40^2 + 4,00^2 + 3,00^2}{3} - 24,6533$   
 $= 1,3467$

- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan  
 $= 1,5900 - 1,3467$   
 $= 0,2400$

- Derajat Bebas (dB) Total =  $(n \times r) - 1$   
 $= (4 \times 3) - 1$   
 $= 11$

- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$   
 $= 4 - 1$   
 $= 3$

- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$   
 $= 4 \times (3 - 1)$   
 $= 8$

- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP) =  $\frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}} = \frac{1,3467}{3} = 0,4489$

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ Kuadrat Tengah Acak (KTA)} &= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} \\
 &= \frac{0,2400}{8} \\
 &= 0,0300
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ F Hitung} &= \frac{KTP}{KTA} \\
 &= \frac{0,4489}{0,0300} \\
 &= 14,963
 \end{aligned}$$

- **Analisis Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1,3467	0,4489	14,963	4,07
Acak	8	0,2400	0,0300	*	
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>1,5867</b>			

Keterangan: (\*) berbeda nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5% maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

$$\begin{aligned}
 - \text{ SED} &= \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \times 0,0300}{3}} \\
 &= 0,1414
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \text{ BNT 5\%} &= T \text{ 5\% (dB Acak)} \times \text{SED} \\
 &= 2,306 \times 0,1414 \\
 &= 0,3261
 \end{aligned}$$

### Lampiran 12. (Lanjutan)

- BNT**

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		1,93	1,47	1,33	1,00	
A	1,93	-	-	-	-	a
B	1,47	0,47 *	-	-	-	b
C	1,33	0,60 *	0,13 ns	-	-	bc
D	1,00	0,93 *	0,47 *	0,33 *	-	c

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata

(\*) = berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D dan diikuti oleh perlakuan C kemudian diikuti oleh perlakuan B dan A.

- Polynomial Orthogonal**

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	1,93	-3	1	-1
B	1,47	-1	-1	3
C	1,33	1	-1	-3
D	1,00	3	1	1
<b>Q= <math>\Sigma(ci \cdot Ti)</math></b>		-2,9333	0,13333	-0,5333
<b>Hasil Kuadrat</b>		20	4	20
<b>Kr= <math>(\Sigma ci^2) \cdot r</math></b>		60	12	60
<b>JK= <math>Q^2 / Kr</math></b>		0,14341	0,00148	0,00474

$$\begin{aligned}
 \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\
 &= 0,1434 + 0,0015 + 0,0047 \\
 &= 0,1496
 \end{aligned}$$

## Lampiran 12. (Lanjutan)

### • Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	F <sub>hit</sub>	F 5%
Perlakuan	3	0,1496	0,4489		4,06618
Linier	1	0,1434	0,1434	4,7802	*
Kuadratik	1	0,0015	0,0015	0,0494	ns
Kubik	1	0,0047	0,0047	0,1580	ns
Acak	8	0,2400	0,0300		
Total	11	0,3896			

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung  $R^2$  masing-masing regresi tersebut:

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ linier} &= \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,1434}{0,1434 + 0,2400} \\
 &= 0,3740
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,0015}{0,0015 + 0,2400} \\
 &= 0,0061
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 - \quad R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{0,0047}{0,0047 + 0,2400} \\
 &= 0,0194
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan  $R^2$  diatas menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata

**Lampiran 12. (Lanjutan)**

skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

**Sumbu x dan y**

Perlakuan	x	y	xy	x <sup>2</sup>
A1	10	2,00	20	100
A2	10	1,80	18	100
A3	10	2,00	20	100
B1	30	1,60	48	900
B2	30	1,20	36	900
B3	30	1,60	48	900
C1	50	1,60	80	2500
C2	50	1,20	60	2500
C3	50	1,20	60	2500
D1	70	1,00	70	4900
D2	70	1,00	70	4900
D3	70	1,00	70	4900
Total	480	17,20	600	25200

$$b_1 = \frac{(\sum xy) - \frac{(\sum x)(\sum y)}{n}}{(\sum x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$b_1 = \frac{(600) - \left(\frac{480 \times 17,20}{12}\right)}{(25200) - \left(\frac{480^2}{12}\right)}$$

$$b_1 = -0,01467$$

$$b_0 = \frac{\sum y}{n} - (b_1 \frac{\sum x}{n})$$

$$b_0 = \frac{17,20}{12} - \left(-0,01467 \times \frac{480}{12}\right)$$

$$b_0 = 2,02$$

Berdasarkan perhitungan b<sub>0</sub> dan b<sub>1</sub>, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 2,02 - 0,01467x$

## Lampiran 13. Data Kualitas Air

## a. Suhu

Kode		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
Rabu	Pagi	27,00	26,00	27,00	26,00	27,00	27,00	27,00	27,00	26,00
	Sore	27,00	26,00	27,00	26,00	27,00	28,00	27,00	27,00	26,00
Kamis	Pagi	25,20	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,20	25,00	24,90
	Sore	25,90	25,80	25,80	26,00	25,90	25,90	25,80	25,90	26,10
Jumat	Pagi	24,50	24,70	24,70	24,50	24,70	24,60	24,70	24,50	24,50
	Sore	25,90	25,50	26,00	26,40	25,80	25,50	26,10	26,00	25,40
Sabtu	Pagi	25,90	25,40	26,30	25,80	25,90	25,90	25,40	25,50	25,50
	Sore	26,00	27,00	27,00	27,00	27,00	26,00	27,00	27,00	28,00
Minggu	Pagi	25,80	26,00	25,70	25,60	25,50	26,10	26,30	25,80	25,80
	Sore	27,00	28,00	27,00	27,00	27,50	28,00	28,00	28,00	27,60
Senin	Pagi	26,00	27,00	27,00	27,00	28,00	27,10	26,70	26,80	27,20
	Sore	27,60	27,60	27,80	27,60	28,70	27,50	27,70	27,70	27,60
Selasa	Pagi	27,10	27,00	27,50	27,10	27,10	27,10	27,40	27,40	26,50
	Sore	27,00	28,00	28,00	28,50	27,50	27,00	28,00	28,00	28,00

Kode		D1	D2	D3	K+1	K+2	K+3	K-1	K-2	K-3
Rabu	Pagi	26,00	27,00	26,00	27,00	26,00	26,00	27,00	27,00	27,00
	Sore	26,00	26,00	26,00	27,00	27,00	27,00	27,00	26,00	27,00
Kamis	Pagi	25,00	25,00	25,20	24,90	24,90	25,00	25,00	25,00	25,00
	Sore	25,90	26,10	25,80	25,80	26,00	25,90	26,10	25,80	26,00
Jumat	Pagi	24,70	24,50	24,50	24,60	24,60	24,60	24,70	24,60	24,60
	Sore	25,50	25,70	25,60	25,70	25,30	26,20	25,80	26,40	25,40
Sabtu	Pagi	26,10	25,60	25,60	25,80	25,60	26,30	25,80	25,90	26,10
	Sore	27,00	27,00	27,00	28,00	27,00	27,00	28,00	27,00	28,00
Minggu	Pagi	26,20	26,10	25,70	26,20	25,80	25,90	25,80	26,00	26,00
	Sore	27,00	27,00	27,00	28,50	28,00	28,00	28,00	28,00	27,00
Senin	Pagi	26,80	26,90	27,00	26,70	26,60	26,50	27,00	26,80	27,00
	Sore	27,50	27,60	27,70	27,60	27,60	27,60	27,60	27,70	27,70
Selasa	Pagi	27,10	26,90	27,50	26,90	27,20	27,30	27,10	27,60	27,30
	Sore	28,00	27,50	28,00	28,00	28,00	27,00	28,00	28,00	27,00

## c. DO

Kode		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
Rabu	Pagi	9,70	10,20	10,10	10,10	9,90	9,70	9,10	10,20	8,90
	Sore	9,70	9,00	9,10	9,40	9,00	9,20	9,70	10,50	9,60
Kamis	Pagi	9,30	10,00	9,10	9,70	9,70	9,70	10,00	9,80	10,50
	Sore	8,90	9,70	9,30	10,00	10,10	9,00	9,80	9,70	10,60
Jumat	Pagi	8,50	8,60	8,60	8,50	9,30	6,80	9,70	8,50	10,20
	Sore	7,70	7,30	8,10	7,40	9,00	6,80	9,00	7,80	10,80
Sabtu	Pagi	6,90	9,80	9,10	7,50	9,50	9,90	8,80	7,10	7,70
	Sore	6,90	10,20	10,00	7,20	10,10	10,50	9,70	7,20	7,30
Minggu	Pagi	9,50	7,10	7,30	7,50	10,20	10,30	10,10	10,30	10,50
	Sore	9,20	6,90	9,70	9,90	10,20	10,30	10,10	10,10	10,30
Senin	Pagi	7,10	7,20	7,00	6,50	5,90	9,20	8,70	6,70	8,80
	Sore	8,70	8,50	9,20	6,10	5,70	10,20	9,20	7,00	8,40
Selasa	Pagi	10,80	10,40	10,10	10,00	10,00	9,70	6,70	6,90	8,10
	Sore	10,60	10,20	10,30	10,90	10,00	10,30	6,90	6,20	6,50

Kode		D1	D2	D3	K+1	K+2	K+3	K-1	K-2	K-3
Rabu	Pagi	10,50	10,70	10,10	10,10	10,10	10,10	9,90	9,90	10,10
	Sore	8,90	9,70	9,40	9,40	9,40	9,20	8,70	9,50	9,80
Kamis	Pagi	9,50	10,00	10,10	10,60	10,40	8,90	8,90	9,80	10,70
	Sore	9,20	10,10	10,10	10,30	9,70	8,30	9,90	10,10	9,70
Jumat	Pagi	7,20	6,30	9,30	10,70	9,10	6,80	6,50	10,00	8,40
	Sore	6,80	7,50	9,40	9,40	9,40	6,90	6,90	9,00	8,30
Sabtu	Pagi	7,30	10,10	10,60	10,70	8,20	6,70	7,70	10,20	10,10
	Sore	7,30	10,60	10,10	10,60	10,40	6,00	7,70	10,10	10,50
Minggu	Pagi	10,20	6,90	6,60	7,60	7,50	7,10	7,40	7,10	7,20
	Sore	10,70	7,60	7,70	7,60	7,20	7,50	7,40	7,40	9,90
Senin	Pagi	7,10	7,10	10,40	7,50	7,60	9,30	7,10	9,60	10,80
	Sore	7,20	8,30	9,00	7,20	7,10	9,20	8,60	9,10	10,50
Selasa	Pagi	6,60	6,70	5,80	7,00	7,20	9,80	6,20	7,00	9,90
	Sore	6,30	7,10	6,50	9,20	9,40	9,20	6,90	7,00	9,70

## d. pH

Kode		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
Rabu	Pagi	6,54	6,58	6,60	6,61	7,07	6,56	7,60	6,62	7,90
	Sore	7,75	7,91	7,95	7,99	7,96	7,91	7,91	7,89	8,10
Kamis	Pagi	7,80	7,90	7,70	7,90	7,80	7,80	7,80	8,00	7,80
	Sore	7,87	7,90	7,90	8,00	7,90	7,90	7,70	8,00	7,91
Jumat	Pagi	7,80	7,80	7,90	8,00	7,80	7,80	7,90	8,08	8,17
	Sore	7,41	7,80	7,85	7,94	7,69	7,63	7,90	7,93	8,00
Sabtu	Pagi	7,40	7,30	7,40	7,40	7,30	7,30	7,40	7,50	7,30
	Sore	7,90	7,90	7,93	7,93	7,93	7,93	7,93	7,94	7,93
Minggu	Pagi	7,50	7,30	7,40	7,30	7,40	7,30	7,50	7,40	7,40
	Sore	7,50	7,30	7,30	7,40	7,40	7,30	7,40	7,90	7,95
Senin	Pagi	7,50	7,30	7,20	7,40	7,40	7,30	7,40	7,40	7,40
	Sore	7,40	7,50	7,50	7,50	7,50	7,80	7,50	7,50	7,50
Selasa	Pagi	7,50	7,30	7,30	7,30	7,50	7,40	7,30	7,20	7,40
	Sore	7,30	7,10	7,90	7,90	7,92	7,80	7,90	7,90	7,80

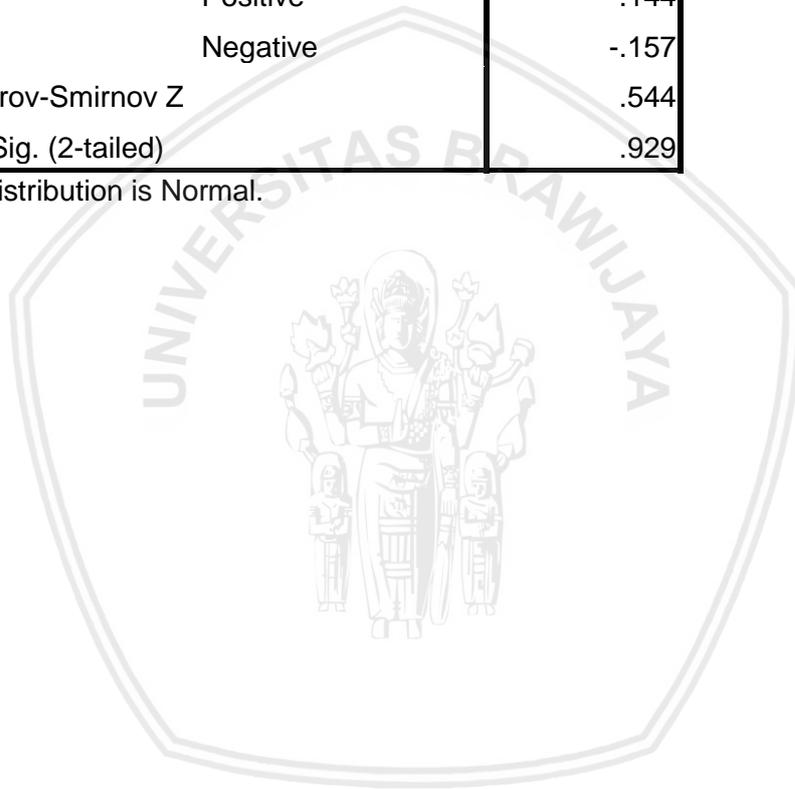
Kode		D1	D2	D3	K+1	K+2	K+3	K-1	K-2	K-3
Rabu	Pagi	6,57	6,62	7,60	7,98	6,67	7,05	6,73	8,00	6,26
	Sore	7,70	6,66	7,91	7,83	6,59	7,91	7,92	8,00	6,81
Kamis	Pagi	7,70	7,90	7,90	7,90	7,90	7,90	7,80	8,00	7,90
	Sore	8,00	7,95	7,90	7,70	8,00	8,00	7,99	8,50	8,00
Jumat	Pagi	7,80	7,70	8,00	7,90	8,05	8,00	7,70	8,00	7,80
	Sore	7,56	7,50	7,94	7,68	7,94	7,91	7,69	7,91	7,90
Sabtu	Pagi	7,50	7,40	7,20	7,50	7,30	7,40	7,40	7,30	7,30
	Sore	7,93	7,40	7,20	7,30	7,30	7,30	7,30	7,40	7,30
Minggu	Pagi	7,40	7,20	7,30	7,40	7,20	7,40	7,30	7,40	7,30
	Sore	7,80	7,73	7,70	7,73	7,20	7,40	7,30	7,30	7,40
Senin	Pagi	7,50	7,20	7,20	7,50	7,00	7,30	7,30	7,30	7,40
	Sore	7,70	7,50	7,30	7,40	7,50	7,60	7,40	7,20	7,40
Selasa	Pagi	7,40	7,20	7,20	7,40	7,10	7,40	7,10	7,40	7,30
	Sore	7,90	7,90	7,90	7,80	7,80	7,90	7,90	7,90	7,70

**Lampiran 14. Uji Normalitas Kelulushidupan Ikan dengan SPSS**

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	.0000000
	Std. Deviation	8.73862898
Most Extreme Differences	Absolute	.157
	Positive	.144
	Negative	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		.544
Asymp. Sig. (2-tailed)		.929

a. Test distribution is Normal.



### Lampiran 15. Perhitungan Kelulushidupan Ikan Koi (*C. carpio*)

- **Perhitungan Kelulushidupan**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata	STD
	1	2	3			
A	60	60	60	180	60.00	± 0.00
B	80	60	80	220	73.33	± 6,67
C	80	100	80	260	86.67	± 6,67
D	100	100	80	280	93.33	± 6,67

- **Perhitungan Sidik Ragam**

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

$$= \frac{940^2}{12}$$

$$= 73633,333$$
- JK Total =  $(A1^2 + A2^2 + \dots + D3^2) - FK$   

$$= (60^2 + 60^2 + \dots + 80^2) - 73633$$

$$= 76400 - 73633$$

$$= 2766,667$$
- JK Perlakuan =  $\frac{\sum(\sum x_i)^2}{r} - FK$   

$$= \frac{TA^2 + TB^2 + TC^2 + TD^2 + TE^2}{r} - FK$$

$$= \frac{180^2 + 220^2 + 260^2 + 280^2}{3} - 73633$$

$$= 1966,667$$
- JK Acak = JK Total – JK Perlakuan  

$$= 2766,67 - 1966,67$$

$$= 800$$
- Derajat Bebas (db) Total =  $(n \times r) - 1$   

$$= (4 \times 3) - 1 = 13$$
- Derajat Bebas (db) Perlakuan =  $n - 1$   

$$= 4 - 1$$

$$= 3$$

**Lampiran 15. (Lanjutan)**

- Derajat Bebas (db) Acak =  $n \times (r - 1)$   
=  $4 \times (3 - 1) = 8$
- Kuadrat Tengah (KT) Perlakuan =  $JKP/db$  Perlakuan  
=  $1996,67/3$   
=  $655,555$
- Kuadrat Tengah (KT) Acak =  $JKA/db$  Acak  
=  $800/8$   
=  $100$
- F.Hitung =  $KTP/KTA$   
=  $655,56/100$   
=  $6,555$

- **Analisa Sidik Ragam**

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966.667	655.555	6.555*	4.07
Acak	8	800	100		
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>2766.667</b>			

Keterangan: (\*) berbeda nyata

Karena nilai F hitung memiliki nilai yang lebih besar dari pada nilai F 5%, maka perhitungan dilanjutkan dengan perhitungan Uji BNT.

- **Perhitungan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

- $SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{r}}$   
=  $\sqrt{\frac{2 \times 0100}{3}} = 8,165$
- $BNT \ 5\% = T \ 5\% \ (db \ acak) \times SED$   
=  $2,31 \times 8,165$   
=  $18,828$

## Lampiran 15. (Lanjutan)

## • BNT

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		60	73.33	86.67	93.33	
A	60	-	-	-	-	a
B	73.33	13,33 ns	-	-	-	a
C	86.67	26,67 *	13,34 ns	-	-	ab
D	93.33	33,33 *	20 *	6,66 ns	-	b

Keterangan: (\*) = berbeda nyata  
(ns) = tidak berbeda nyata

Berdasarkan hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), diketahui bahwa hasil terbaik adalah perlakuan D diikuti oleh perlakuan C kemudian diikuti oleh perlakuan A dan B

## • Polynomial Orthogonal

Perlakuan	Total (Ti)	Perbandingan (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	180	-3	1	-1
B	220	-1	-1	3
C	260	1	-1	-3
D	280	3	1	1
Q= $\sum(c_i \cdot T_i)$		340	-20	-20
Hasil Kuadrat		20	4	20
Kr= $(\sum c_i^2) \cdot r$		60	12	60
JK=Q <sup>2</sup> /Kr		1926.667	33.33	6.67

$$\begin{aligned}
 - \text{JK Regresi Total} &= \text{JK Linier} + \text{JK Kuadratik} + \text{JK Kubik} \\
 &= 1926,67 + 33,33 + 6,67 \\
 &= 1966,667
 \end{aligned}$$

### Lampiran 15. (Lanjutan)

- Analisis Sidik Ragam Regresi

Sumber Keragaman	dB	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	3	1966,667	655,555	6.56	4.07
Linier	1	1926,667	1926,667	19,267	**
Kuadratik	1	33,33	33,33	0,333	ns
Kubik	1	6,67	6,67	0,0667	ns
Acak	8	800	100	-	-
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>4733,33</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

Keterangan: ns = tidak berbeda nyata  
(\* ) = berbeda nyata

Karena Regresi Linier sangat berbeda nyata, maka dihitung  $R^2$  masing-masing regresi tersebut:

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Linier} &= \frac{\text{JK Linier}}{\text{JK Linier} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{1926,667}{1926,667 + 800} \\
 &= 0,706
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kuadratik} &= \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{33,33}{33,33 + 800} \\
 &= 0,039
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 R^2 \text{ Kubik} &= \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik} + \text{JK Acak}} \\
 &= \frac{6,67}{6,67 + 800} \\
 &= 0,007
 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan  $R^2$  diatas menunjukkan bahwa nilai  $R^2$  linier lebih besar dari nilai  $R^2$  kuadratik dan kubik. Berdasarkan hasil tersebut maka kurva yang

**Lampiran 15. (Lanjutan)**

digunakan adalah kurva linier. Selanjutnya dicari persamaan regresi linier. Dosis yang digunakan tiap perlakuan dijadikan sebagai sumbu x sedangkan nilai rerata skoring dijadikan sebagai sumbu y, sehingga akan didapatkan garis linier pada grafik.

Perlakuan	X	y	xy	x <sup>2</sup>
A1	10	60	600	100
A2	10	60	600	100
A3	10	60	600	100
B1	30	80	2400	900
B2	30	60	1800	900
B3	30	80	2400	900
C1	50	80	4000	2500
C2	50	100	5000	2500
C3	50	80	4000	2500
D1	70	100	7000	4900
D2	70	100	7000	4900
D3	70	80	5600	4900
<b>Total</b>	<b>480</b>	<b>940</b>	<b>41000</b>	<b>25200</b>

$$- \quad b_1 = \frac{(\sum xy) - \frac{(\sum x \sum y)}{n}}{(\sum x^2) - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$b_1 = \frac{(41000) - \left(\frac{480 \times 940}{12}\right)}{(25200) - \left(\frac{480^2}{12}\right)}$$

$$b_1 = 0,567$$

$$- \quad b_0 = \frac{\sum y}{n} - \left(b_1 \frac{\sum x}{n}\right)$$

$$b_0 = \frac{940}{12} - \left(0,567 \times \frac{480}{12}\right)$$

$$b_0 = 55,65$$

Berdasarkan perhitungan b<sub>0</sub> dan b<sub>1</sub>, maka didapat persamaan linier sebagai berikut:  $y = 55,65 + 0,567x$