

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*)
TERHADAP DIFERENSIAL LEUKOSIT PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

SKRIPSI

Oleh :

OKTAVIANI SETYA BINTARY
NIM. 135080501111091



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

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*)
TERHADAP DIFERENSIAL LEUKOSIT PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*)
YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

SKRIPSI

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

Oleh :

**OKTAVIANI SETYA BINARY
NIM. 135080501111091**



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

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP DIFERENSIAL LEUKOSIT PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Oleh :

**OKTAVIANI SETYA BINTARY
NIM. 135080501111091**

**telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal 20 September 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Menyetujui,
Dosen Pembimbing I**


(Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS)
NIP.19611106 198602 2 001
Tanggal : 16 OCT 2019

Dosen Pembimbing II


(Ir. Ellana Sanoesi, MP)
NIP.19630924 199803 2 001
Tanggal : 16 OCT 2019

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan**


(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal : 16 OCT 2019

IDENTITAS PENGUJI

Judul : **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momordica charantia*) TERHADAP DIFERENSIAL LEUKOSIT PADA IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

Nama Mahasiswa : Oktaviani Setya Bintary

NIM : 135080501111091

Program Studi : Budidaya Perairan

PENGUJI PEMBIMBING :

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS

Pembimbing 2 : Ir. Ellana Sanoesi, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING :

Dosen Penguji 1 : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc

Tanggal Ujian : 20 September 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan yang baik ini perkenankan penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS selaku Pembimbing 1 yang telah membimbing dan memberikan saran dalam penggerjaan skripsi
2. Ibu Ir. Ellana Sanoesi, MP selaku Pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyelesaian skripsi
3. Dr. Yunita Maimunah, S.Pi, M.Sc selaku Pengujii 1 yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam pengujian skripsi
4. Orang tua tercinta: Bapak M. Danang Nurcholis, SH dan Ibu Indriyati yang telah memberikan segala bentuk dorongan material, spiritual dan semangat.
5. Bapak Dr. Ir. M. Mahmudi, MS beserta istri selaku keluarga yang telah memberikan semangat dan dorongan dalam penggerjaan skripsi
6. Oktaviana Setya Abrina dan Putri Indriati yang telah menjadi penyemangat, pengingat dan membantu dalam penggerjaan skripsi.
7. Lian, Anny, Mifta, Nanda, Sakinah, Dania dan Dedi yang telah membantu serta memberikan semangat dalam mengerjaan skripsi
8. Semua pihak yang telah membantu dalam bentuk moral dalam menyelesaikan skripsi ini.

Malang, 20 September 2019

Penulis

RINGKASAN

Oktaviani Setya Bintary. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap Diferensial Leukosit pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*, di bawah bimbingan **Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS dan Ir. Ellana Sanoesi, MP.**

Ikan Mas (*C. carpio*) merupakan komoditas sektor perikanan air tawar yang terus berkembang. Permintaan yang terus meningkat berpengaruh terhadap pola produksi ikan mas (*C. carpio*). Pola produksi yang intensif mengakibatkan ikan rentan terjangkit penyakit, salah satunya disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Pencegahan yang sering dilakukan dengan pemberian antibiotik kimia sintetis yang dapat teresidu dalam daging ikan. Alternatif lain yang dapat dilakukan adalah dengan pemberian imunostimulan dengan bahan alami salah satunya buah pare (*M. charantia*). Senyawa aktif yang terkandung dalam buah pare seperti alkaloid, saponin dan flavonoid berfungsi sebagai antibakterial. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*M.charantia*) terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian dosis ekstrak yang berbeda, yakni: perlakuan A (550 ppm), perlakuan B (650 ppm), perlakuan C (750 ppm) dan perlakuan D (850 ppm). Kontrol positif (K⁺) dengan pemberian antibiotik *chloramphenicol* 0,03 mg/L dan penginfeksian bakteri dan kontrol negatif (K⁻) dengan penginfeksian bakteri tanpa pemberian ekstrak dan antibiotik. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pemberian ekstrak buah pare (*M.charantia*) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil pada ikan mas (*C. carpio*). Peningkatan persentase tertinggi limfosit sebesar 3,67%, neutrofil sebesar 3% dan eosinofil sebesar 2,34% pada perlakuan D (850 ppm) dan persentase monosit sebesar 4% pada perlakuan C (750 ppm), sehingga dosis terbaik dari hasil penelitian yakni pada perlakuan D dengan dosis ekstrak buah pare (*M.charantia*) sebesar 850 ppm.

KATA PENGANTAR

Penulis menyajikan laporan penelitian yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) terhadap Diferensial Leukosit pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*” sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Di bawah bimbingan:

1. Prof. Dr. Ir. Sri Andayani, MS
2. Ir. Ellana Sanoesi, MP

Skripsi ini disajikan pokok – pokok bahasan yang meliputi latar belakang, tujuan, tinjauan pustaka, metode serta hasil dan pembahasan penelitian mengenai pengaruh terhadap pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sangat disadari bahwa dengan keterbatasan yang dimiliki penulis dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 20 September 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Tempat dan Waktu Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Biologi Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>)	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas.....	4
2.1.2 Habitat dan Penyebaran	5
2.1.3 Kebiasaan Makan	6
2.2 Taksonomi Buah Pare (<i>Momordica charantia</i>).....	7
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi	7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran	8
2.2.3 Manfaat dan Kandungan Buah Pare	8
2.3 Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i>	9
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi	9
2.3.2 Habitat dan Penyebaran	10
2.3.3 Infeksi Bakteri dan Gejala	11
2.4 Diferensial Leukosit	11
2.5 Sistem Imun Non Spesifik	13
2.6 Parameter Kualitas Air	14
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Alat dan Bahan Penelitian.....	16
3.1.1 Alat Penelitian.....	16
3.1.2 Bahan Penelitian	16
3.2 Metode Penelitian	16
3.3 Rancangan Penelitian.....	17
3.4 Prosedur Penelitian	19
3.4.1 Persiapan Penelitian.....	19
3.4.2 Pelaksanaan Penelitian	22
3.5 Parameter Uji.....	25
3.6 Analisis Data.....	25

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Pengamatan	26
4.2 Analisis Diferensial Leukosit	27
4.2.1 Limfosit	27
4.2.2 Monosit	31
4.2.3 Neutrofil	35
4.2.4 Eosinofil	40
4.3 Hasil Pengamatan Gejala Klinis Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	44
4.4 Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian	45
5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Mas	5
2. Buah Pare.....	8
3. <i>Aeromonas hydrophila</i>	10
4. Diferensial Leukosit.....	13
5. Denah Rancangan Penelitian.....	18
6. Pengamatan Diferensial Leukosit.....	26
7. Hubungan Perlakuan dengan Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. Charantia</i>)	29
8. Hubungan Perlakuan dengan Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	30
9. Hubungan Perlakuan dengan Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. Charantia</i>).....	34
10. Hubungan Perlakuan dengan Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	34
11. Hubungan Perlakuan dengan Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. Charantia</i>).....	38
12. Hubungan Perlakuan dengan Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	39
13. Hubungan Perlakuan dengan Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. Charantia</i>).....	42
14. Hubungan Perlakuan dengan Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rerata Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	27
2. Uji Sidik Ragam Rerata Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	28
3. Uji Sidik Ragam Rerata Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	28
4. Data Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	28
5. Data Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	29
6. Rerata Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	31
7. Uji Sidik Ragam Rerata Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	32
8. Uji Sidik Ragam Rerata Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	32
9. Data Hasil Uji BNT Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	33
10. Data Hasil Uji BNT Monosit Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	33
11. Rerata Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	36
12. Uji Sidik Ragam Rerata Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	36
13. Uji Sidik Ragam Rerata Persentase (%) Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	36
14. Data Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	37
15. Data Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	37
16. Rerata Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)	40
17. Uji Sidik Ragam Rerata Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	41

18. Uji Sidik Ragam Rerata Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	41
19. Data Hasil Uji BNT Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (<i>M. charantia</i>)	41
20. Data Hasil Uji BNT Eosinofil Ikan Mas (<i>C. carpio</i>) Pasca Infeksi Bakteri <i>A. hydrophila</i>	42
21. Hasil Kisaran Data Kualitas Air Selama Penelitian	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alat – Alat Penelitian	51
2. Bahan – Bahan Penelitian.....	53
3. Analisis Data Selama Penelitian	55
4. Data Kualitas Air Selama Penelitian.....	85



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki sumber daya perikanan yang amat kaya dan potensial, baik di wilayah perairan tawar (darat), pantai, maupun perairan laut. Potensi sumber daya perikanan di perairan tawar meliputi keanekaragaman jenis (plasma nutfah) ikan dan lahan perikanan (Rukmana, 1997). Pemanfaatan potensi perikanan tawar dapat diwujudkan dengan usaha budidaya ikan, terutama untuk komoditas ikan dengan nilai yang ekonomis.

Budidaya ikan air tawar mempunyai nilai strategis dalam meningkatkan pendapatan petani mengingat budidaya perikanan air tawar lebih terkonsentrasi di daerah pedesaan yang memiliki sumber air yang cukup, dengan mayoritas petani ikan adalah masyarakat umum. Pada tahun 2007 produksi ikan di Indonesia dari hasil budidaya air tawar baru mencapai 750.199 ton, masih sangat jauh dari hasil budidaya laut dan tambak air payau yang sebesar 2.438.360 ton. Usaha produksi ikan air tawar masih sangat potensial karena baik lahan maupun potensi budidaya ikan masih belum digarap dan dikembangkan secara optimal (Ciptanto, 2010).

Menurut Khairuman (2013), ikan mas termasuk salah satu komoditas sektor perikanan air tawar yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Ikan ini banyak disukai oleh masyarakat karena rasa dagingnya enak dan gurih serta kandungan proteinnya cukup tinggi. Jika ditinjau dari aspek pasar, permintaan ikan mas cenderung meningkat dari tahun ke tahun. Selain permintaannya terus meningkat, dari sisi bisnis komoditas ikan mas cukup memberikan peluang usaha. Pola produksi ikan mas yang dijalankan secara intensif berpeluang memberikan banyak pilihan usaha, yakni usaha pembenihan, usaha pendederan, usaha pembesaran dan pemasaran.

Pola produksi ikan mas yang dijalankan secara intensif mengakibatkan budidaya ikan mas rentan terjangkit oleh penyakit. Salah satu penyebab penyakit ini adalah bakteri *A. hydrophila*. Ukuran tubuh bakteri ini sangat kecil, sekitar 5 mikron. Bakteri ini sangat berbahaya karena menginfeksi seluruh bagian tubuh ikan, baik bagian dalam maupun bagian luar tubuh (Rochdianto, 2003).

Pencegahan yang sering dilakukan oleh pembudidaya ikan mas ialah dengan pemberian antibiotik kimia sintetis. Pemberian antibiotik kimia sintesis kini telah dibatasi karena dapat teresidu dalam daging ikan, sehingga diperlukan alternatif lain untuk mengobati ikan yang terinfeksi penyakit. Alternatif yang dapat dilakukan ialah dengan pemberian antibiotik dari bahan alami. Salah satu bahan alami yang dapat dijadikan antibiotik alami adalah buah pare. Menurut Saparinto (2011), pare memiliki khasiat sebagai obat penurun kandungan gula darah. Selain itu, pare juga memiliki zat yang berfungsi sebagai antibakteri dan antikanker.

Pare mempunyai senyawa campuran saponin steroid yang dikenal sebagai *charantine*, peptida mirip insulin dan alkaloid yang merupakan unsur hipoglikemik. Unsur ini terkonsentrasi pada bagian buah (Paul dan Raychaudhuri, 2010). Menurut Herliana (2013), alkaloid yang terkandung bersifat detoksifikasi atau dapat mengurangi kadar racun di dalam tubuh. Saponin bermanfaat sebagai antibakteri dan antivirus, meningkatkan kekebalan dan vitalitas tubuh, mengurangi kadar gula darah, serta mengurangi penggumpalan darah. Menurut Afifah, *et al.* (2014), saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan yang dapat dikaji dalam penelitian ini adalah:

- Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka penelitian ini bertujuan untuk:

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.4 Hipotesis

Adapun hipotesis yang mendasari penelitian ini yaitu:

H_0 : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) tidak berpengaruh terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

H_1 : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) berpengaruh terhadap diferensial leukosit pada ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Budidaya Ikan divisi Penyakit dan Kesehatan Ikan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Pada 12 Juni – 25 September 2017.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Mas

Menurut Ciptanto (2010), klasifikasi ikan mas (*C. carpio*) adalah sebagai berikut:

Phylum	: Chordata
Sub phylum	: Vertebrata
Class	: Pisces
Sub class	: Actinopterygii
Infra class	: Teleostei
Super ordo	: Ostariophysi
Ordo	: Cypriniformes
Sub ordo	: Cyprinoidea
Family	: Cyprinidae
Sub family	: Cyprininae
Genus	: Cyprinus
Species	: <i>Cyprinus carpio</i>

Menurut Campbell, et al. (2004), ikan Mas (*C. carpio*) (Gambar 1) mempunyai bentuk badan agak memanjang dan pipih ke samping (*compressed*). Mulut (bibir) berada diujung tengah (*terminal*), dapat disembulkan dan lunak (elastis). Memiliki kumis (barbel) 2 pasang (empat buah), mempunyai sungut 1 pasang (*rudimentir*). Jari-jari sirip punggung (*dorsal*) yang kedua mengeras seperti gergaji. Sedangkan letak antara kedua sirip punggung dan perut berseberangan. Sirip dada (*pectoral*) terletak dibelakang tutup insang (*operculum*). Ikan mas (*C. carpio*) tergolong sisik besar bertipe *cycloid*. Usus umumnya tidak begitu panjang jika dibandingkan dengan hewan pemakan tumbuh-tumbuhan asli. Ikan mas tidak

mempunyai lambung, juga tidak bergigi/ompong, sehingga bila mencerna makanan sebagai pengganti penggerusnya adalah dengan faring mengeras.



Gambar 1. Ikan Mas (Tim Lentera, 2002).

Tubuh ikan mas (*C. carpio*) agak memanjang dan memipih tegak (*compressed*). Mulut terletak di ujung tengah (terminal) dan dapat disembulkan (*protaktile*). Di bagian anterior mulut terdapat dua pasang sungut. Di ujung dalam mulut terdapat gigi kerongkongan (*pharyngeal teeth*) yang berbentuk 3 baris graham. Secara umum, hampir seluruh tubuh ikan mas ditutupi oleh sisik, kecuali beberapa varietas yang hanya memiliki sisik sedikit. Sisik ikan mas berukuran relatif besar dan digolongkan dalam sisik tipe sikloid (lingkaran). Sirip punggung (*dorsal*) berukuran memanjang dengan bagian belakang berjari keras dan di bagian akhir yakni sirip ketiga dan keempat bergerigi. Letak sirip punggung bersebrangan dengan permukaan sirip perut (*ventral*). Sirip dubur (*anal*) mempunyai ciri seperti sirip punggung, yakni keras dan bagian akhirnya bergerigi. Garis rusuk (*linea lateralis* atau garis sisi) ikan mas tergolong lengkap, berada di pertengahan tubuh melintang dari tutup insang sampai ke ujung belakang pangkal ekor (Amri dan Khairuman, 2002).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Ikan mas (*C. carpio*) menyukai tempat hidup (habitat) di perairan air tawar yang airnya tidak terlalu dalam (kurang dari 1 meter) dan alirannya tidak terlalu deras, seperti di pinggiran sungai atau danau. Sementara itu, larva ikan mas lebih

menyukai daerah perairan yang dangkal, tenang dan terbuka (tidak ternaungi pohon-pohon rindang). Setelah berukuran benih, ikan mas menyukai tinggal di perairan yang agak dalam, mengalir dan terbuka (Supriatna, 2013).

Menurut Kordi (2010), ikan mas (*C. carpio*) adalah ikan air tawar yang habitat aslinya di perairan dangkal dengan arus air yang tidak terlalu deras seperti sungai, danau, rawa-rawa, waduk dan genangan air lainnya. Ikan mas lebih suka mencari tempat yang aman (terutama di tempat yang ditumbuhi dengan rumput). Ikan mas dapat tumbuh optimal, jika lokasi pemeliharaannya berada pada ketinggian antara 150-1.000 mdpl. Ikan yang berasal dari Cina dan Rusia ini kini tersebar di berbagai negara di Eropa dan Asia.

2.1.3 Kebiasaan makan

Jenis-jenis makanan yang dimakan suatu spesies ikan biasanya tergantung pada kesukaan terhadap jenis makanan tertentu (Berlian, *et al.*, 2015). Ikan mas (*C. carpio*) tergolong jenis omnivora, yakni ikan yang dapat memangsa berbagai jenis makanan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun hewan air. Hewan air yang menjadi makanan ikan mas (*C. carpio*) diantaranya adalah invertebrata air, udang-udangan, serangga, kerang-kerangan dan larva hewan air. Ikan mas (*C. carpio*) juga memakan tumbuhan plankton (*phytoplankton*) dan plankton hewani (*zooplankton*) (Supriatna, 2013).

Perairan bebas yang merupakan habitat alami ikan telah menyediakan sumber makanan yang diperlukan ikan dengan sendirinya pada kondisi terkait dengan pola rantai makanan yang ada di perairan tersebut (Berlian, *et al.*, 2015). Makanan ikan mas (*C. carpio*) yang hidupnya di alam perairan bebas sangat bervariatif. Ikan mas menyantap semua jenis bahan makanan, baik yang berasal dari tumbuhan maupun binatang renik, sehingga hewan ini digolongkan ke dalam hewan pemakan segala atau omnivora. Makanan utama ikan mas berupa

tumbuhan kecil yang tumbuh di dasar dan daerah tepian perairan seperti sungai, danau dan lain-lain (Narantaka, 2012).

2.2 Taksonomi Buah Pare (*Momordica charantia*)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi buah pare menurut Subahar dan Tim Lentera (2004), dikelompokkan sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Cucurbitales

Family : Cucurbitaceae

Genus : Momordica

Species : *Momordica charantia*

Tanaman pare (*M. charantia*) merupakan tanaman semak semusim yang tumbuh menjalar atau merambat. Akarnya berupa akar tunggang berwarna putih kotor. Batang masifnya berusuk lima dan berwarna hijau. Batang mudanya berambut yang setelah tua akan menghilang. Daunnya bulat telur, berbulu dan berlekuk. Tangkai daun ini berukuran panjang 7-12 cm dan berwarna hijau.

Pare (Gambar 2) memiliki bunga berupa bunga tunggal yang berkelamin satu dengan kelopak berbentuk lonceng dan berusuk banyak. Bunga ini putih, berduri tempel, halus dan berambut. Buahnya berupa buah buni berbentuk bulat memanjang, berusuk dan berwarna jingga. Bijinya keras dan pipih dengan alur tidak beraturan. Warna biji cokelat kekuningan. Biji inilah yang digunakan untuk perbanyak tanaman pare (Mulisah dan Hening, 2014).



Gambar 2. Buah Pare (Subahar dan Tim Lentera, 2004)

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Peria atau yang dikenal dengan pare tergolong tanaman setahun atau tahunan. *M. charantia* telah menyebar sampai ke Tiongkok, India dan Asia Tenggara. Peria atau pare adaptif di daerah tropis, baik di dataran rendah maupun dataran tinggi (Apriyanti dan Rahimah, 2016).

Tanaman Pare (*M. charantia*) merupakan sayuran populer di Cina (terkenal dengan nama *ku gua*), Taiwan, Vietnam, India dan Filipina. Pare (*M. charantia*) biasanya dimasak sebelum dimakan. Tanaman Pare selalu digunakan sebagai obat, dan dapat tumbuh dengan baik di berbagai negara. Pengobatan tradisional dari Amazon sampai penyembuhan penyakit *Ayurvedic* juga menggunakan tumbuhan pare (*M. charantia*) untuk pengobatan diabetes melitus (Dalimarta dan Adrian, 2011).

2.2.3 Manfaat dan Kandungan Buah Pare

Pare memiliki kandungan gizi yang tinggi dan memiliki khasiat sebagai obat. Menurut Subahar dan Tim Lentera (2004), buah pare mengandung *charantine* dan alkaloid yang pahit, yaitu *momordicine*. Selain itu kandungan yang dimiliki oleh buah pare antara lain alkaloid, saponin, flavonoid dan triterpenoid. Flavonoid bersifat antioksidan dan dapat mencegah infeksi serta turut menumbuhkan jaringan (Fadhilah dan Rizkika, 2015). Tanaman pare selama ini dikenal sebagai sayur-sayuran yang dikonsumsi sehari-hari yang memiliki banyak khasiat sebagai

antibiotik. Senyawa yang teridentifikasi dari ekstrak etanol buah pare adalah alkaloid dan saponin (Komala, *et al.*, 2012). Beberapa khasiat yang terdapat pada buah pare meliputi: antioksidan, antidiabetes, antikanker, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, antiviral, anti-HIV, anthelmintik, hipotensi dan antiobesitas (Kwatra, *et al.*, 2016). Menurut Afifah, *et al.* (2014), Flavonoid mampu merusak membran sel dengan cara mendenaturasi protein pada membran sel. Saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri. Menurut Gupta, *et al.* (2017), kandungan konsentrasi flavonoid pada buah pare sebesar $0,131\pm0,01$ % dan kandungan saponin sebesar $1,220\pm0,03$ %.

2.3 Bakteri *Aeromonas hydrophila*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Krieg dan Holt (1984), klasifikasi bakteri *A. hydrophila* sebagai berikut:

Filum	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Aeromonas</i>
Species	: <i>Aeromonas hydrophila</i>

A. hydrophila (Gambar 3) adalah bakteri yang memiliki sifat oksidasif dan anaerobik fakultatif, sehingga dapat hidup di lingkungan perairan dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini tidak memiliki kemampuan untuk membentuk spora. *A. hydrophila* dapat dijumpai di lingkungan air payau, air tawar atau lautan dan termasuk bakteri yang memiliki kemampuan untuk bergerak (motil). Bakteri ini

berbentuk batang dan memiliki diameter sel berkisar 0,3-1 μm dan panjang 1-3,5 μm . Bakteri ini memiliki alat gerak berupa flagel dan memiliki suhu optimum pertumbuhan 28°C, tetapi masih mampu bertahan pada suhu (4°C dan 37°C) (Afrianto, et al., 2015).



Gambar 3. *Aeromonas hydrophila* (Udeh, 2004)

2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Menurut Afrianto, et al. (2015), bakteri *A. hydrophila* menyukai lingkungan kolam yang tercemar bahan organik, terutama di musim kemarau atau menjelang musim hujan. Kualitas air kolam yang kurang baik atau perbedaan suhu siang dan malam hari juga berperan munculnya penyakit ini. Bakteri ini dapat bertahan hidup dalam air atau sedimen selama beberapa hari hingga beberapa minggu, tetapi tidak dapat berkembang biak dan bersifat obligat.

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), bakteri *A. hydrophila* umumnya hidup di air tawar, terutama yang mengandung bahan organik tinggi. Ada juga yang berpendapat bahwa bakteri ini dapat hidup dalam saluran pencernaan. Infeksi bakteri ini baru terlihat apabila ketahanan tubuh ikan menurun akibat stres yang disebabkan oleh penurunan kualitas air, kekurangan pakan atau penanganan yang kurang cermat. Penularan bakteri *A. hydrophila* dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang telah tercemar atau karena pemindahan ikan yang telah terinfeksi *A. hydrophila* dari satu tempat ke tempat lain.

2.3.3 Infeksi Bakteri dan Gejala

Menurut Afrianto, *et al.* (2015), infeksi *A. hydrophila* biasanya diawali karena perubahan kondisi lingkungan secara mendadak, terutama suhu tinggi dan rendahnya oksigen terlarut. Infeksi yang diakibatkan oleh patogen lain akan berpengaruh terhadap fisiologis ikan sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi. Bakteri ini adalah penyebab penyakit *haemorrhagic septicaemia* yang juga disebut sebagai MAS (*motile aeromonas septicaemia*). Gejala yang menyertai infeksi bakteri ini antara lain ulcer yang berbentuk bulat atau tidak teratur dan berwarna merah keabu-abuan, inflamasi dan erosi di dalam rongga dan di sekitar mulut seperti penyakit mulut merah (*red mouth disease*). Tanda lain adalah haemorrhagi pada sirip dan exophthalmia (*pop eye*), yaitu mata membengkak dan menonjol. Selain itu ciri-ciri lainnya adalah pendarahan pada tubuh, sisik terkuak, borok, nekrosis, busung dan ikan lemas sering di permukaan atau dasar kolam.

Infeksi bakteri masuk ke dalam tubuh, menembus masuk ke dalam organ pembuluh darah dan akhirnya bakteri terbawa masuk ke organ tubuh (Nursanti, *et al.*, 2006). Penularan infeksi bakteri dapat melalui air, alat-alat, bagian tubuh ikan yang terinfeksi, melalui hewan lain dan melalui tumbuhan air. Gejala yang tampak pada ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* adalah ikan berwarna gelap (kusam), nafsu makan berkurang atau sama sekali tidak ada nafsu makan, ikan bergerombol di dekat pintu pengeluaran air, luka pada kulit, sirip dan sisik rusak, pendarahan pada tubuh ikan, perut busung, insang rusak berwarna keputih-putihan hingga kebiru-biruan, ikan lemah dan timbul luka borok (Cahyono, 2001).

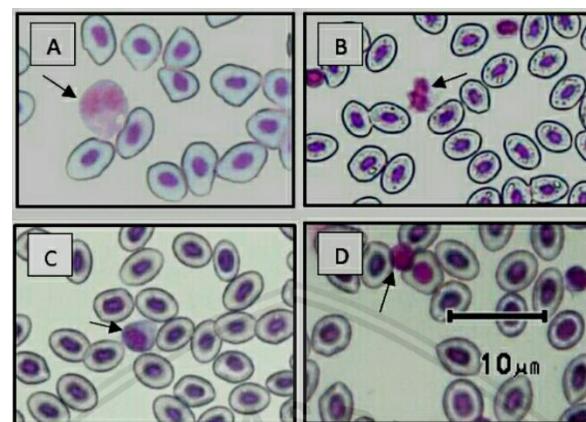
2.4 Diferensial Leukosit

Leukosit memiliki bentuk yang berubah-ubah dan dapat bergerak. Menurut Indriasari (2009), diferensial leukosit adalah perhitungan jenis leukosit yang ada dalam darah berdasarkan proporsi (%) tiap jenis leukosit dari seluruh jumlah

leukosit. Sel neutrofil merupakan salah satu jenis leukosit yang cukup besar, yaitu 2 kali besarnya eritrosit (sel darah merah) dan mampu bergerak aktif dalam pembuluh darah maupun di luar pembuluh darah. Sel neutrofil paling cepat bereaksi terhadap radang dan luka dibanding leukosit yang lain dan merupakan pertahanan selama fase infeksi akut. Sel eosinofil merupakan salah satu jenis leukosit yang terlibat dalam alergi dan infeksi (terutama parasit) dalam tubuh, dan jumlahnya 1-2 % dari seluruh jumlah leukosit.

Menurut Suhermanto, *et al.* (2011), leukosit merupakan komponen penting, mempunyai peran dalam sistem kekebalan tubuh ikan. Peningkatan jumlah sel darah putih merupakan respon dalam bentuk proteksi terhadap adanya sel asing termasuk adanya infeksi bakteri yang masuk ke tubuh ikan. Sel eosinofil secara normal berada dalam berbagai jaringan pada ikan. Sel ini mempunyai inti yang tertelak memanjang di tepi sel, memiliki granula besar dan sitoplasma berwarna merah. Sel monosit terdiri dari sitoplasma berwarna biru keabu-abuan hingga biru, bentuk inti bervariasi mulai bulat hingga oval. Sel limfosit memiliki diameter berkisar antara 8-12 μm . Sitoplasma berwarna biru pucat, inti berbentuk bulat hingga oval, lebih sering berbentuk tidak beraturan serta berisi vakuola kecil dan bergranula azurofilik. Sel neutrofil merupakan sel fagosit sistem *polymorphonuclear* yaitu sel yang bekerja cepat dalam melakukan fagosit tetapi tidak mampu bertahan lama. Sel ini berupa sel bundar dengan sitoplasma bergranula halus dan ditengahnya terdapat nukleus bersegmen (Abbas *et al.*, 2010; Suhermanto *et al.*, 2011). Menurut Salim, *et al.* (2016), sel limfosit berfungsi dalam respon imunitas dan menghasilkan antibodi. Sel neutrofil berfungsi dalam memfagosit infeksi penyakit yang disebabkan oleh suatu mikroorganisme atau benda asing lainnya. Sel monosit berperan dalam memfagosit partikel asing yang masuk ke dalam tubuh yang dapat menyebabkan infeksi. Menurut Jatmiko (2015), sel eosinofil mampu mengenali dan menangkap antigen secara langsung,

selanjutnya antigen tersebut akan difagositosis. Sel eosinofil tidak hanya mengenali, memfagositosis dan menyajikan antigen, sel eosinofil mampu bermigrasi ke organ limfoid setelah terstimulasi oleh antigen.



Gambar 4. Diferensial Leukosit (A = Neutrofil; B= Monosit; C = Eosinofil; D = Limfosit) perbesaran 400x (Suhermanto, *et al.*, 2011)

Menurut Handayani dan Haribowo (2008), sel darah putih dibentuk di sumsum tulang dari sel-sel bakal. Jenis-jenis dari golongan sel ini adalah golongan yang tidak bergranula, yaitu: limfosit, monosit, dan makrofag, serta golongan yang bergranula, yaitu: eosinofil, basofil dan neutrofil. Sel limfosit memiliki nukleus besar bulat dengan menempati sebagian besar sel limfosit berkembang dalam jaringan limfe. Ukuran bervariasi dari 7 sampai 15 mikron. Sel monosit berukuran lebih besar dari sel limfosit, protoplasmanya besar, warna biru sedikit abu-abu, serta mempunyai bintik-bintik sedikit kemerahan. Inti selnya bulat atau panjang. Sel monosit dibentuk di dalam sumsum tulang, masuk ke dalam sirkulasi dalam bentuk imatur dan mengalami proses pematangan menjadi makrofag setelah masuk ke jaringan.

2.5 Sistem Imun Non Spesifik

Menurut Nugroho dan Firman (2018), imunostimulan dapat memodulasi mekanisme pertahanan atau respon imun agar ikan lebih tahan terhadap bakteri patogen. Imunostimulan dapat diaplikasikan sebagai bagian antisipasi untuk

meningkatkan mekanisme pertahanan non spesifik. Imunostimulan merupakan kunci penting untuk memfasilitasi fungsi sel fagositosis, meningkatkan aktivitas bakterisidal dan menstimulasi sel pembunuh alami (*nature killer cell*), serta menaikkan respon antibodi pada ikan. Sehingga meningkatkan proteksi terhadap infeksi penyakit.

Menurut Rahmaningsih (2018), sistem imun merupakan mekanisme yang digunakan untuk mempertahankan keutuhan tubuh sebagai perlindungan terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Pertahanan tersebut terdiri atas sistem imun alamiah atau non spesifik dan sistem imun spesifik. Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh terdepan dalam menghadapi infeksi berbagai mikroorganisme. Sistem imun non spesifik memberikan respon langsung terhadap antigen, sedangkan sistem imun spesifik membutuhkan waktu untuk mengenal antigen terlebih dahulu sebelum dapat memberikan responnya.

2.6 Parameter Kualitas Air

Sumber air yang dipilih untuk budidaya perairan, airnya harus jernih dan bebas dari bahan pencemaran. Terdapat sifat fisika-kimia yang harus diketahui untuk mendukung pertumbuhan biota budidaya (Kordi, 2008). Menurut Kuncoro (2008), beberapa faktor penentu kualitas air dalam pemeliharaan ikan adalah keasaman (pH), suhu dan karbon dioksida. Kondisi pH air yang sesuai bagi ikan tergantung pada jenis ikan. Suhu air yang dingin (kurang dari 20°C) menyebabkan ikan cenderung pasif, metabolisme tubuh menurun sehingga menjadi kurus, dan pada kondisi yang lanjut dapat mengalami kematian. Sebaliknya, suhu yang terlalu panas (lebih dari 33°C) mengakibatkan pernapasan ikan lebih cepat, tersengalsengal, dan dapat menyebabkan kematian juga. Oksigen terlarut adalah

banyaknya oksigen yang terlarut dalam massa air. Oksigen bisa masuk ke dalam air jika kerapatan molekul-molekul air rendah.

Kualitas air merupakan parameter penting dalam pemeliharaan ikan budidaya. Kisaran kualitas air bergantung pada jenis ikan yang dipelihara. Ikan mas memiliki kisaran pH ideal untuk hidup yaitu sebesar 7-8 dan oksigen terlarut yang baik sebesar >5 mg/L (Ciptanto, 2010). Sedangkan untuk suhu optimal pemeliharaan ikan mas antara 25-30°C (Supriatna, 2013).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut, toples ukuran 16 L, timbangan digital, aerator set, selang air, nampan, pipet tetes, pipet, spuit, mikroskop, appendorf, pH pen, tabung reaksi, spatula, bunsen, *hand tally counter*, *incubator shaker*, Objek glass, seser ikan, ember plastik, erlenmeyer, *vortex mixer*, spektrofotometer, penggaris, botol film, *thermometer*, DO meter, rak tabung reaksi, *autoclave*, *rotary evaporator*, cawan petri, *hotplate* dan mikropipet. Peralatan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.1.2 Bahan Penelitian

Adapun bahan-bahan yang digunakan untuk penelitian adalah sebagai berikut, ikan mas (*C. carpio*), tissue, buah pare (*M. charantia*), kertas label, bakteri *A. hydrophila*, air, alkohol 70%, klorin, etanol, Na thiosulfat, akuades, korek api, larutan Nafis, spirtus, sarung tangan, NaCl, pewarna giemsa, media NB, *Tryptitone Soy Broth* (TSB), *Tryptitone Soy Agar* (TSA), alumunium foil, methanol 96% dan kapas. Bahan-bahan yang digunakan dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Menurut Wasis (2008), metode eksperimen merupakan metode penelitian yang menguji hipotesis berbentuk hubungan sebab akibat melalui manipulasi variabel independen dan menguji perubahan yang diakibatkan oleh manipulasi. Selama manipulasi perlakuan, peneliti melakukan kontrol terhadap variabel luar agar perubahan yang terjadi benar-benar disebabkan oleh manipulasi bukan faktor luar.

Penelitian eksperimental terdiri dari kelompok perlakuan, kelompok kontrol dan intervensi perlakuan.

Metode observasi adalah peneliti terlibat dalam kegiatan sehari-hari orang yang sedang diamati atau yang digunakan sebagai sumber data penelitian. Sambil melakukan pengamatan, peneliti ikut melakukan apa yang dilakukan oleh sumber data. Dengan observasi partisipan ini, maka data yang diperoleh akan lebih lengkap, tajam, dan sampai mengetahui pada tingkat makna dari setiap perilaku yang nampak (Sugiyono, 2009).

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menurut Sastrosupadi (2000), RAL digunakan dalam percobaan yang mempunyai media atau tempat percobaan yang homogen. RAL banyak digunakan dalam percobaan laboratorium, rumah kaca dan peternakan. Media yang digunakan bersifat homogen maka media tempat percobaan tidak memberikan pengaruh pada respon yang akan diamati. Model untuk RAL adalah sebagai berikut:

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

Keterangan:

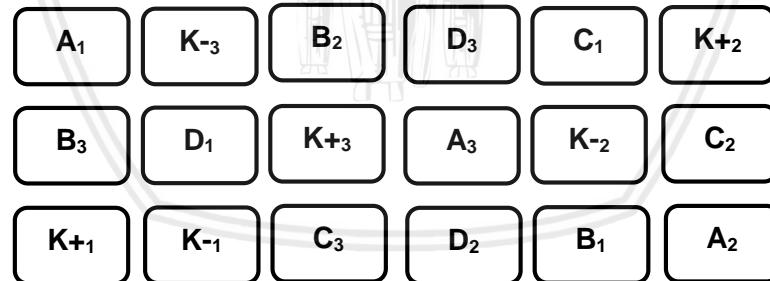
- Y_{ij} = Respon atau nilai pengamatan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j
- μ = Nilai tengah umum
- T_i = Pengaruh perlakuan ke-i
- ϵ_{ij} = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Penelitian dengan menggunakan variabel bebas dengan perlakuan pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) dengan dosis A (550 ppm), B (650 ppm), C (750 ppm), dan D (850 ppm). Penelitian ini menggunakan 2 kontrol pembanding yaitu kontrol positif dan kontrol negatif, kontrol positif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri dan pemberian antibiotik kimia

sintesis dengan dosis 0,03 mg/L, sedangkan kontrol negatif sebagai perlakuan sampel dengan penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*). Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan, dan kontrol K+ dan K- hanya digunakan sebagai pembanding, sehingga diperoleh total sampel sebanyak 18 sampel. Penentuan dosis berdasarkan dari hasil uji MIC. Setiap perlakuan dapat dilihat pada tabel sebagai berikut:

- A : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) sebanyak 550 ppm
- B : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) sebanyak 650 ppm
- C : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) sebanyak 750 ppm
- D : Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) sebanyak 850 ppm
- K- : Penginfeksian bakteri *A. hydrophila* dan tanpa pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*)
- K+ : Pemberian chloramphenicol 0,03 mg/L dan penginfeksian bakteri

Adapun denah rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 4. sebagai berikut:



Gambar 5. 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

a. Persiapan Alat

Persiapan dilakukan dengan mensterilkan alat-alat yang akan digunakan. Alat-alat kecil seperti pipet tetes, tabung reaksi, erlenmeyer dan lainnya disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C dengan tekanan menunjukkan 1 atm selama 15 menit. Wadah yang akan digunakan untuk pemeliharaan ikan selama penelitian adalah toples ukuran 16 L sebanyak 18 buah. Toples dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air bersih, selanjutnya direndam dengan klorin selama 30 menit. Selanjutnya toples dibilas dan dikeringkan selama 24 jam sebelum digunakan. Selanjutnya dipasang *thermometer*, selanjutnya diisi air sebanyak 10 L dan dilengkapi dengan aerasi.

b. Pembuatan Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Metode ekstraksi yang akan digunakan dalam penelitian adalah metode maserasi. Buah pare yang akan digunakan telah berbentuk serbuk. Serbuk buah didapatkan dari Balai Materia Batu. Perendaman (maserasi) dilakukan dengan perbandingan 1:4 dimana serbuk buah pare sebanyak 500 gram dimerasasi menggunakan etanol 70% sebanyak 2 liter. Dibiarkan selama 4 hari dalam maserator tertutup dengan pengadukan setiap hari. Setelah 4 hari maserat disaring dari ampas dengan corong Buchner yang telah dilapisi kertas saring. Maserat yang terbentuk selanjutnya direndam kembali menggunakan etanol 70% sebanyak 1 liter selama 2 hari dengan metode yang sama. Maserat yang terbentuk diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 71,77 gram.

c. Pembuatan Media

- **Media Padat TSA (*Tryptitone Soy Agar*)**

Media TSA digunakan sebagai media untuk reinokulasi bakteri *A. hydrophila*. Adapun proses pembuatan sebagai berikut: pertama media TSA ditimbang sebanyak 2,4 gram menggunakan timbangan digital. Kemudian media dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Setelah itu media dilarutkan dengan akuades sebanyak 20 ml. Selanjutnya media dipindahkan ke tabung reaksi, masing-masing berisi 5 ml TSA. Tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan alumunium foil lalu diikat dengan benang. Kemudian media disterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dibiarkan dingin hingga mencapai suhu ruang. Pada proses pendinginan media, tabung reaksi diletakkan dengan kemiringan 30° agar TSA menjadi agar miring. Setelah media menjadi agar miring, selanjutnya disimpan dalam kulkas (Nurin, 2014).

- **Media Padat TSB (*Tryptitone Soy Broth*)**

Media TSB digunakan sebagai media untuk uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*). Adapun proses pembuatan media TSB sebagai berikut: media TSB ditimbang sebanyak 0,32 gram dengan menggunakan timbangan digital, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Media TSB dilarutkan dengan akuades 10 ml. Setelah erlenmeyer ditutup dengan kapas dan alumunium foil dan selanjutnya dihomogenkan dalam kondisi hangat di atas *hotplate* sampai tercampur rata. Kemudian media disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Rusmawanto, 2016).

d. Pembelahan Bakteri *A. hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* yang digunakan untuk penelitian berasal dari Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau Jepara. Sebelum bakteri digunakan, bakteri diremajakan terlebih dahulu dengan cara larutan TSB sebanyak 6 gram disiapkan

ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan akuades 200 ml. Kemudian panaskan jarum ose di atas bunsen sampai berpijar, setelah dingin jarum ose disentuhkan ke biakan murni bakteri *A. hydrophila* dan selanjutnya dicelupkan ke dalam media TSB sebanyak 1 ose. Larutan TSB dibiarkan 12-24 jam dalam inkubator pada suhu 37°C. Kemudian disiapkan tabung reaksi yang berisi media TSA. Setelah TSB menjadi keruh, jarum ose dicelupkan ke TSB dan digoreskan ke permukaan TSA. Digoreskan ke dalam media TSA secara zigzag dengan metode goresan sinabung, T atau kuadran. Media TSA di inkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Nurin, 2014).

e. Persiapan Hewan Uji

Ikan uji yang digunakan dalam penelitian adalah ikan mas (*C. carpio*) yang didapatkan dari pembudidaya ikan di daerah Kediri, Jawa Timur. Ikan yang digunakan untuk penelitian dengan berukuran 8-12 cm (panjang total). Padat tebar ikan uji pada penelitian ini sebanyak 10 ekor/10 liter. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lukisetyowati, *et al.* (2007), ikan uji yang digunakan yakni ikan mas berukuran 8-12 cm. masing-masing akuarium diisi 10 ekor. Menurut Wu, *et al.* (2010), menyatakan kepadatan ikan untuk uji *in vivo* eksperimen dapat dilakukan dengan jumlah 10 ekor/akuarium. Sebelumnya ikan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 3 hari. Selama aklimatisasi ikan diberi pakan pellet secara adlibitum sebanyak 2 kali sehari dan dilakukan penyipahan apabila air mulai keruh.

f. Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah dilakukan menggunakan sputit ukuran 0,5 ml dengan Na sitrat sebagai anti koagulan untuk mencegah darah mengalami penggumpalan. Kemudian darah diambil pada bagian *caudal peduncle* dengan kemiringan 45° secara perlahan-lahan sampai sampel darah didapatkan. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke 1 pada ikan sehat, setelah ikan direndam dengan ekstrak buah pare hari ke 8 dan setelah 24 jam penginfeksian

bakteri *A. hydrophila* yaitu hari ke 9. Sampel darah yang didapatkan ditampung di appendorf untuk selanjutnya dilakukan pengamatan diferensial leukosit.

3.4.2 Pelaksanaan Penelitian

a. Penentuan *Minimum Inhibitor Concentration (MIC)*

Uji MIC adalah cara untuk menentukan konsentrasi terkecil ekstrak buah pare sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme (bakteri *A. hydrophila*) secara makroskopik. Indikator pengamatan untuk uji MIC adalah kondisi campuran TSA yang sudah diinokulasi dengan bakteri *A. hydrophila* dengan ekstrak buah pare perlakuan: 1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm dan 125 ppm. Tahap pelaksanaan uji MIC dimulai dengan menyiapkan 14 tabung reaksi yang sudah berisi media TSB steril sebanyak 4,5 ml. Kemudian ekstrak buah pare diberikan pada 10 tabung reaksi dengan dosis yang diinginkan, pada 4 tabung reaksi sisa dijadikan kontrol positif dan kontrol negatif. Setiap tabung reaksi diberi suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml yang telah disetarakan dengan Mc. Farland. Kemudian media diinkubasi dengan suhu 33°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan seluruh tabung reaksi terhadap kekeruhan media menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 540 nm dan pengamatan secara visual. Nilai absorbansi antara perlakuan dicocokkan dengan nilai absorbansi kontrol positif. Nilai absorbansi yang mendekati kontrol positif artinya memberikan pengaruh sehingga dapat digunakan untuk penentuan dosis selanjutnya (Rusmawanto, 2016). Hasil yang didapatkan dosis 500 ppm ekstrak buah pare sudah bisa menghambat bakteri *A. hydrophila*. Sehingga untuk perlakuan yang digunakan selama penelitian yaitu perlakuan A (550 ppm), B (650 ppm), C (750 ppm) dan D (850 ppm).

b. Perendaman Ikan Uji dengan Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Pemberian ekstrak buah pare (*M. charantia*) dilakukan dengan cara perendaman. Perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) dilakukan dengan

cara toples telah diisi air sebanyak 10 liter ditambahkan ekstrak buah pare sesuai dosis yang telah ditentukan. Kemudian ikan dimasukkan ke dalam air rendaman selama 1 jam. setelah direndam selama 1 jam ikan dipindahkan ke air media pemeliharaan. Setelah 7 hari, ikan direndam kembali dengan ekstrak buah pare pada hari ke 8 dengan cara yang sama pada saat perendaman pertama selama 1 jam. Setelah direndam selama 1 jam ikan dipindahkan ke air media pemeliharaan dan dilakukan pula pengamatan perilaku ikan. Kemudian dilakukan pengambilan sampel darah.

c. Penginfeksian Ikan Uji dengan Bakteri *A. hydrophila*

Penginfeksian ikan uji dilakukan dengan pemberian bakteri *A. hydrophila* pada 18 toples pemeliharan yaitu pada toples kontrol negatif, perlakuan A, B, C, dan D. Toples yang digunakan untuk pemeliharaan ikan mas berukuran 16 L. Jumlah kepadatan bakteri yang digunakan yaitu 10^7 sel/ml. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Haditomo, et al. (2014), konsentrasi bakteri *A. hydrophila* pada media budidaya yang dapat menyebabkan *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pada ikan mas berkisar antara 10^7 - 10^8 sel/ml dan apabila ikan berada dalam kondisi stres maka semakin besar kemungkinan terjadinya kematian, dengan demikian untuk memperoleh bakteri dengan kepadatan yang diinginkan maka dilakukan pengenceran dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan :

- N_1 : Kepadatan populasi bakteri dalam media TSB (sel/ml)
- N_2 : Kepadatan populasi bakteri yang dikehendaki (sel/ml)
- V_1 : Volume suspensi bakteri dalam TSB yang dibutuhkan (ml)
- V_2 : Volume yang diinginkan (ml)

Perhitungan:

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

$$V_1 \times (10^{11}) = 180.000 \times 10^7$$

$$V_1 = \frac{18 \times 10^{11}}{10^{11}}$$

$$V_1 = 18 \text{ mL}$$

Jumlah bakteri yang digunakan untuk menginfeksi ikan yaitu sebesar 18 mL untuk 18 toples yang berisi air 10 liter (10.000 mL). Bakteri 10^{11} diambil dari media TSA kemudian diremajakan pada media TSB dan di inkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, bakteri siap digunakan untuk penginfeksian. Dari rumus tersebut dapat diketahui bahwa untuk mendapatkan bakteri dengan kepadatan 10^7 sel/mL untuk air sebanyak 180 liter (180.000 mL) adalah dengan memasukkan bakteri dengan kepadatan 10^{11} dari media TSB sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet ke dalam toples yang berisi 10.000 mL air. Kemudian Ikan diinfeksi dengan bakteri selama kurang lebih 24 jam hingga ikan terlihat sakit. Setelah 24 jam ikan diinfeksi dengan bakteri, ikan diambil darahnya sebagai sampel pasca infeksi dan dilakukan pengamatan perilaku ikan.

d. Pengamatan Diferensial Leukosit

Pembuatan ulas darah berdasarkan Irianto, *et al.* (2006), pembuatan preparat dilakukan dengan membersihkan objek glass, selanjutnya darah ikan diteteskan pada salah satu ujung. Darah diulaskan kearah depan menggunakan objek glass yang lain dengan sudut 45° . Setelah preparat apus kering, preparat difiksasi dengan metanol ± 5 menit. Preparat diwarnai dengan pewarna giemsa. Preparat selanjutnya dicuci dengan air, dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Jenis-jenis leukosit yang ada dihitung dari tiap 100 sel leukosit dan hasilnya dinyatakan dalam persen (100%) (Irianto, *et al.*, 2006).

3.5 Parameter Uji

Parameter uji yang diamati dalam penelitian ini adalah diferensial leukosit yang meliputi perbandingan limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil yang merupakan parameter utama, sementara parameter penunjang dalam penelitian ini adalah gejala klinis dan kualitas air yang meliputi suhu, DO dan pH.

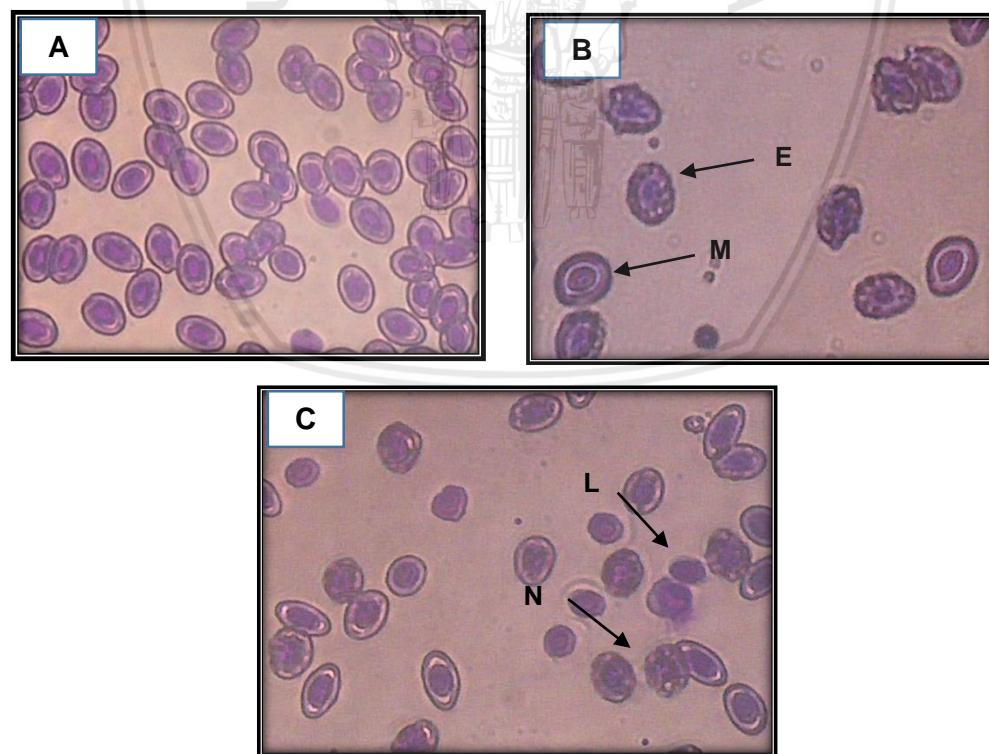
3.6 Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisa secara statistik menggunakan uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Analisa dilakukan untuk mengetahui pengaruh tiap perlakuan (variabel bebas) terhadap respon parameter yang diukur. Jika didapatkan hasil uji F (ANOVA) berbeda nyata maka perlu dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji polynomial orthogonal untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengamatan

Berdasarkan pengamatan dapat dilihat pada Gambar 6, hasil pengamatan menunjukkan bentuk dari sel limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil. Limfosit memiliki bentuk bulat hingga oval dan memiliki diameter yang lebih kecil dibandingkan dengan sel yang lain dan limfosit memiliki inti sel yang menempati sebagian besar sel. Monosit memiliki bentuk mulai bulat hingga tidak beraturan dan memiliki sitoplasma berwarna merah inti selnya berbentuk bulat atau panjang. Ukuran monosit lebih besar dari limfosit. Neutrofil memiliki bentuk bulat dengan sitoplasma bergranula halus dan ditengah terdapat nukleus bersegmen. Eosinofil memiliki inti sel yang terletak memanjang pada tepian sel dan memiliki granula yang lebih besar dari neutrofil.



Gambar 6. Pengamatan Diferensial Leukosit: A) Ikan Sehat, B) dan C) Ikan Terinfeksi (Perlakuan D=850 PPM) (E= Eosinofil dan Monosit, L= Limfosit dan N= Neutrofil, dengan perbesaran 400x)

4.2 Analisis Deferensial Leukosit

4.2.1 Limfosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan hasil limfosit ikan mas (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 3. Pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan sedangkan K+ dan K- sebagai pembanding, perlakuan tersebut dengan yaitu A = dosis 550 ppm, B = dosis 650 ppm, C = dosis 750 ppm, D = dosis 850 ppm dan K+ = diberi antibiotik kimia sintetis buatan sedangkan K- = tanpa pemberian ekstrak dan antibiotik kimia sintetis, dengan 3 kali ulangan. Hasil rata-rata yang diperoleh dari pengamatan limfosit disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata±SD		
	Ikan sehat	Pasca perendaman Ekstrak	Pasca infeksi bakteri
A	18,67±0,6	21,67±1,5	24,00±1,0
B	18,00±2,0	23,33±0,6	25,67±1,5
C	18,33±1,2	25,67±1,0	28,33±0,6
D	18,67±2,1	28,00±1,0	31,67±1,2
K+	17,33±2,1	19,67±1,2	20,67±1,5
K-	18,00±1,0	19,00±1,7	20,00±1,0

Berdasarkan Tabel 1. Rerata limfosit ikan mas (*C. carpio*) menunjukkan adanya peningkatan limfosit pada pasca perendaman ekstrak dan pasca infeksi bakteri, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam, dapat dilihat pada (Tabel 2) untuk mengetahui pengaruh perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 3.

Berdasarkan Tabel 1. Rerata limfosit ikan mas (*C. carpio*), selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 3) untuk mengetahui pengaruh perlakuan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 2. Uji Sidik Ragam Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	68,67	22,889	22,89**	4,07	7,59
Acak	8	8,00	1,00			
Total	11	76,67				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Tabel 3. Uji Sidik Ragam Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	100,92	33,639	26,91**	4,07	7,59
Acak	8	10,00	1,25			
Total	11	110,92				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Berdasarkan Tabel 2. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Sedangkan pada Tabel 3. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) (Tabel 4) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (Tabel 5), perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 4. Data Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		21,67	23,33	25,67	28,00	
A (550 ppm)	21,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	23,33	1,66 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	25,67	4,00**	2,33*	-	-	b
D (850 ppm)	28,00	6,33**	4,67**	2,33 *	-	c

Berdasarkan Tabel 4. Data hasil uji BNT limfosit ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil

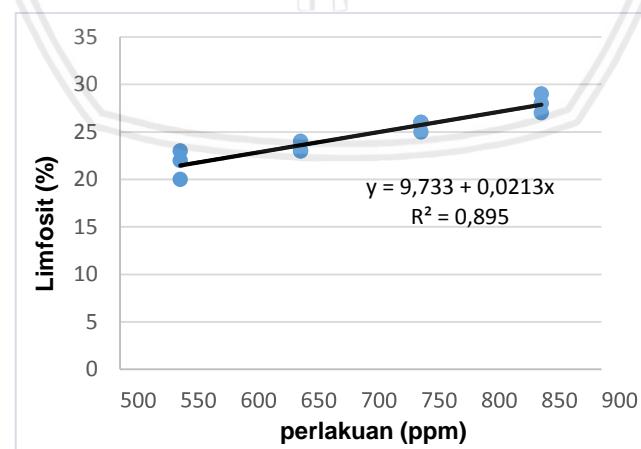
perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Tabel 5. Data Hasil Uji BNT Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		24,00	25,67	28,33	31,67	
A (550 ppm)	24,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	25,67	1,67 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	28,33	4,33**	2,66*	-	-	b
D (850 ppm)	31,67	7,67**	6,00**	3,34**	-	c

Berdasarkan Tabel 5. Data hasil uji BNT limfosit ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

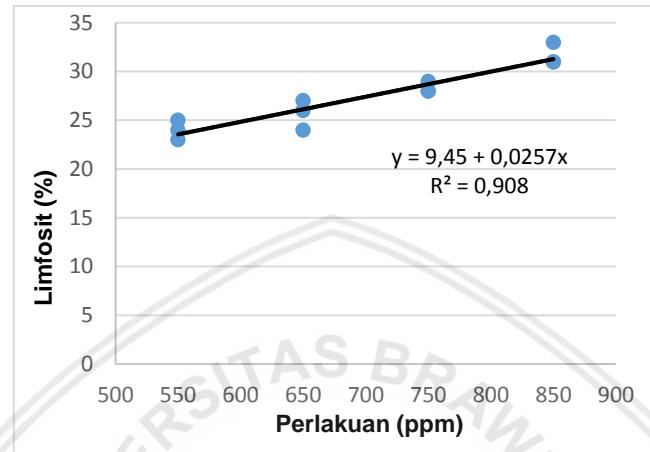
Selanjutnya untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antar perlakuan dilakukan perhitungan polynomial orthogonal pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*), disajikan pada Gambar 7. dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada Gambar 8.



Gambar 7. Hubungan Perlakuan dengan Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Berdasarkan Gambar 7. menunjukkan bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter limfosit pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*)

membentuk pola linear dengan persamaan $y = 9,733 + 0,0213x$ dengan $R^2 = 0,895$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap limfosit ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 89,5% sedangkan 10,5% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.



Gambar 8. Hubungan Perlakuan dengan Limfosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan Gambar 8. menunjukkan bahwa hubungan antara perlakuan dengan parameter limfosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi membentuk pola linear dengan persamaan $y = 9,45 + 0,0257x$ dengan $R^2 = 0,908$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap limfosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi berpengaruh sebesar 90,8% sedangkan 9,2% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya peningkatan limfosit pada setiap perlakuan dengan peningkatan tertinggi pada perlakuan D (850 ppm) yaitu sebesar 3,67%. Peningkatan limfosit yang terjadi menunjukkan bahwa adanya respon kekebalan tubuh pada ikan. Peningkatan tersebut menunjukkan bahwa kandungan ekstrak buah pare mampu meningkatkan sistem imunitas ikan dan memberikan responnya terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan tersebut. Menurut Herliana (2013), alkaloid yang terkandung bersifat detoksifikasi atau dapat mengurangi kadar racun di dalam tubuh. Menurut Afifah, *et al.* (2014),

saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Rahma, *et al.* (2015), bahwa peningkatan limfosit merupakan refleksi keberhasilan sistem imunitas ikan dalam pengembangan respon imunitas seluler (non spesifik) sebagai pemicu untuk respon kekebalan.

4.2.2 Monosit

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan hasil perolehan monosit ikan mas (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 3. Pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan sedangkan K+ dan K- sebagai kontrol, perlakuan tersebut dengan yaitu A = dosis 550 ppm, B = dosis 650 ppm, C = dosis 750 ppm, D = dosis 850 ppm dan K+ = diberi antibiotik kimia sintetis sedangkan K- = tanpa pemberian ekstrak dan antibiotik kimia sintetis, dengan 3 kali ulangan. Hasil rata-rata yang diperoleh dari pengamatan monosit disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Monosit Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata±SD		
	Ikan sehat	Pasca perendaman ekstrak	Pasca Infeksi bakteri
A	18,33±0,6	18,67±2,1	21,33±0,6
B	17,00±2,6	20,00±1,0	24,00±1,0
C	20,33±0,6	23,00±1,0	26,67±0,6
D	21,00±1,0	26,67±0,6	29,33±2,1
K+	16,00±2,0	17,00±2,0	18,67±0,6
K-	16,67±0,6	16,33±0,6	17,33±0,6

Berdasarkan Tabel 6. rerata monosit ikan mas (*C. carpio*) menunjukkan adanya peningkatan monosit, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 7) untuk mengetahui pengaruh perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. acuminata*).

charantia) terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Berdasarkan Tabel 6. Rerata monosit ikan mas (*C. carpio*), selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 8) untuk mengetahui pengaruh perlakuan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 7. Uji Sidik Ragam Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	113,583	37,861	22,717**	4,07	7,59
Acak	8	13,333	1,667			
Total	11	126,917				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Tabel 8. Uji Sidik Ragam Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	106,667	35,556	23,704**	4,07	7,59
Acak	8	12,000	1,500			
Total	11	118,667				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Berdasarkan Tabel 7. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Sedangkan pada Tabel 8. Diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) (Tabel 9) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (Tabel 10), perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 9. Data Hasil Uji BNT Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		18,67	20,00	23,00	26,67	
A (550 ppm)	18,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	20,00	1,33 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	23,00	4,33**	3,00*	-	-	b
D (850 ppm)	26,67	8,00**	6,67**	3,67 **	-	c

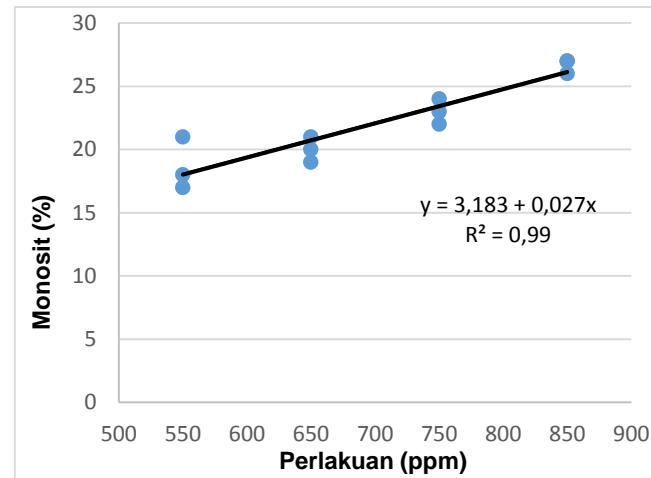
Berdasarkan Tabel 9. Data hasil uji BNT monosit ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Tabel 10. Data Hasil Uji BNT Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		21,33	24,00	26,67	29,33	
A (550 ppm)	21,33	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	23,00	2,67 *	-	-	-	b
C (750 ppm)	26,67	5,34**	2,67*	-	-	c
D (850 ppm)	29,33	8,00**	5,33**	2,66*	-	d

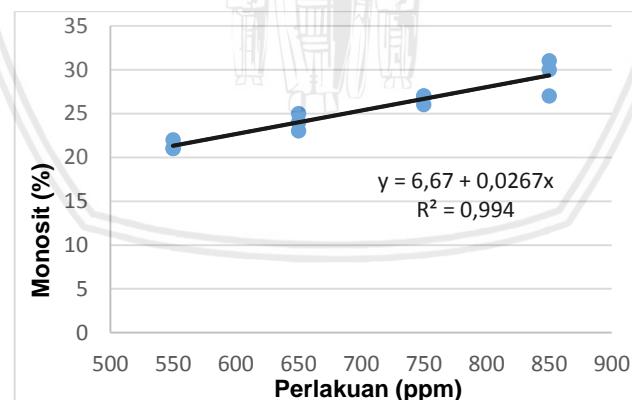
Berdasarkan Tabel 10. Data hasil uji BNT monosit ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A memiliki notasi a, sedangkan perlakuan B memiliki notasi b yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B berbeda. Perlakuan C memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi d yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Selanjutnya untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antar perlakuan dilakukan perhitungan polynomial orthogonal pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. Charantia*), disajikan pada Gambar 9. dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada Gambar 10.



Gambar 9. Hubungan Perlakuan dengan Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Berdasarkan Gambar 9. menunjukkan bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter monosit pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) membentuk pola linear dengan persamaan $y = 3,183 + 0,027x$ dengan $R^2 = 0,99$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap monosit ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 99% sedangkan 1% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.



Gambar 10. Hubungan Perlakuan dengan Monosit Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan Gambar 10. menunjukkan bahwa hubungan antara perlakuan dengan parameter monosit pasca infeksi membentuk pola linear dengan persamaan $y = 6,67 + 0,0267x$ dengan $R^2 = 0,994$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap monosit ikan mas (*C. carpio*)

berpengaruh sebesar 99,4% sedangkan 0,6% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terjadi peningkatan pada masing-masing perlakuan. Peningkatan monosit tertinggi terjadi pada perlakuan B (650 ppm) sebesar 4 %. Peningkatan monosit merupakan salah satu respon dari imunitas ikan terhadap benda asing yang masuk ke tubuh ikan. Menurut Nurjannah, *et al.* (2013), bahwa jumlah monosit di dalam populasi sel darah putih sedikit. Jumlahnya akan meningkat jika ada substansi asing pada jaringan atau sirkulasi. Menurut Prakoso (2012), menyatakan bahwa meningkatnya jumlah leukosit karena komponen leukosit yaitu heterofil (neutrofil) dan monosit yang merupakan bagian dari leukosit, yang memberikan respon imun terhadap bakteri. Peningkatan disebabkan kandungan saponin dan flavonoid pada ekstrak. Menurut Afifah, *et al.* (2014), flavonoid mampu merusak membran sel dengan cara mendenaturasi protein pada membran sel. Saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri.

4.2.3 Neutrofil

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan hasil perolehan neutrofil ikan mas (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 3. Pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan sedangkan K+ dan K- sebagai kontrol, perlakuan tersebut dengan yaitu A = dosis 550 ppm, B = dosis 650 ppm, C = dosis 750 ppm, D = dosis 850 ppm dan K+ = diberi antibiotik kimia sintetis sedangkan K- = tanpa pemberian ekstrak dan antibiotik kimia sintetis, dengan 3 kali ulangan. Hasil rata-rata yang diperoleh dari pengamatan neutrofil disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Rerata Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata±SD		
	Ikan sehat	Pasca perendaman ekstrak	Pasca Infeksi bakteri
A	1,00±1,7	2,67±0,6	3,00±1,0
B	1,33±1,5	3,33±0,6	4,67±0,6
C	2,33±0,6	4,33±0,6	6,67±1,2
D	2,33±0,6	6,00±1,0	9,00±1,0
K+	1,33±1,2	1,67±0,6	2,33±0,6
K-	2,00±1,0	1,33±0,6	1,67±0,6

Berdasarkan Tabel 11. Rerata neutrofil ikan mas (*C. carpio*) menunjukkan adanya peningkatan, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 12) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dosis pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Berdasarkan Tabel 11. rerata neutrofil ikan mas (*C. carpio*), selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 13) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dosis pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 12. Uji Sidik Ragam Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	18,917	6,306	12,611**	4,07	7,59
Acak	8	4,000	0,500			
Total	11	22,917				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Tabel 13. Uji Sidik Ragam Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	60,333	20,111	21,939**	4,07	7,59
Acak	8	7,333	0,917			
Total	11	67,667				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Berdasarkan Tabel 12. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Sedangkan pada Tabel 13. Diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) (Tabel 14) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (Tabel 15), perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 14. Data Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		2,67	3,33	4,33	6,00	
A (550 ppm)	2,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	3,33	0,66 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	4,33	1,66*	1,00 ns	-	-	b
D (850 ppm)	6,00	3,33**	2,67**	1,67 *	-	c

Berdasarkan Tabel 14. Data hasil uji BNT neutrofil ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

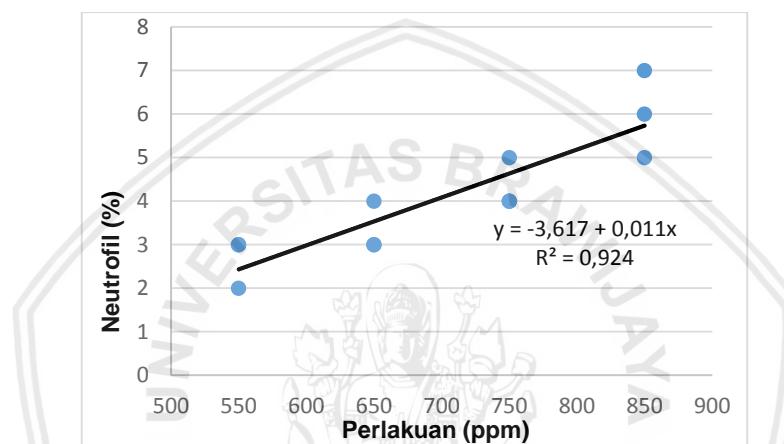
Tabel 15. Data Hasil Uji BNT Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	4,67	6,67	9,00	
A (550 ppm)	3,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	4,67	1,67 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	6,67	3,67**	2,00*	-	-	b
D (850 ppm)	9,00	6,00**	4,33**	2,33*	-	c

Berdasarkan Tabel 15. Data hasil uji BNT limfosit ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil

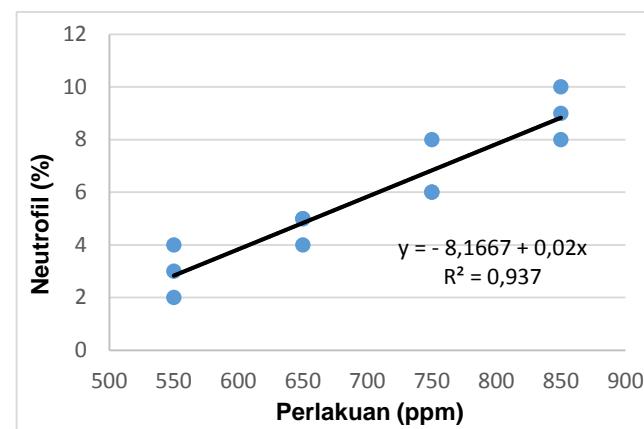
perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Selanjutnya untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antar perlakuan dilakukan perhitungan polynomial orthogonal pasca perendaman ekstrak buah pare (*M.charantia*), disajikan pada Gambar 11. dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada Gambar 12.



Gambar 11. Hubungan Perlakuan dengan Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Berdasarkan Gambar 11. menunjukkan bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter neutrofil pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) membentuk pola linear dengan persamaan $y = -3,617 + 0,011x$ dengan $R^2 = 0,924$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap neutrofil ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 92,4% sedangkan 7,6% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.



Gambar 12. Hubungan Perlakuan dengan Neutrofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Berdasarkan Gambar 12. menunjukkan bahwa hubungan antara perlakuan dengan parameter neutrofil pasca infeksi membentuk pola linear dengan persamaan $y = -8,1667 + 0,02x$ dengan $R^2 = 0,937$, yang artinya faktor perlakuan dosis yang berbeda terhadap neutrofil ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 93,7% sedangkan 6,3% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terjadi peningkatan neutrofil pada masing-masing perlakuan. Peningkatan neutrofil tertinggi pada perlakuan D (850 ppm) dengan kenaikan sebesar 3%. Kenaikan neutrofil ini respon tubuh ikan terhadap adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh ikan yaitu berupa ekstrak perlakuan dan bakteri uji tantang. Hal ini sesuai dengan Rahma, et al. (2015), fungsi utama dari neutrofil yaitu penghancuran bahan asing melalui proses fagositosis yaitu kemotaksis dimana sel akan bermigrasi menuju partikel, peletakan partikel pada sel, penelanan partikel oleh sel dan penghancuran partikel oleh enzim lisosom di dalam fagolisosom. Sehingga tanpa adanya rangsangan dari benda asing baik berupa bakteri, virus maupun patogen, neutrofil tidak akan menunjukkan reaksi peningkatan. Kandungan saponin dalam ekstrak buah pare dapat merangsang peningkatan neutrofil. Menurut Afifah, et al. (2014), saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel

melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri.

4.2.4 Eosinofil

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama pemeliharaan hasil perolehan eosinofil ikan mas (*C. carpio*) disajikan pada Lampiran 3. Pada penelitian ini dilakukan 4 perlakuan sedangkan K+ dan K- sebagai kontrol, perlakuan tersebut dengan yaitu A = dosis 550 ppm, B = dosis 650 ppm, C = dosis 750 ppm, D = dosis 850 ppm dan K+ = diberi antibiotik kimia sintetis sedangkan K- = tanpa pemberian ekstrak dan antibiotik kimia sintetis, dengan 3 kali ulangan. Hasil rata-rata yang diperoleh dari pengamatan eosinofil disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Rerata Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*)

Perlakuan	Rerata±SD		
	Ikan sehat	Pasca perendaman ekstrak	Pasca Infeksi bakteri
A	2,33±0,6	3,00±1,0	4,67±0,6
B	1,67±1,2	4,00±1,0	5,67±1,2
C	1,67±0,6	5,67±0,6	7,67±1,2
D	2,33±1,3	7,33±0,6	9,67±0,6
K+	1,00±1,0	2,33±0,6	3,67±0,6
K-	2,33±0,6	2,00±1,0	3,00±1,0

Berdasarkan Tabel 16. rerata eosinofil ikan mas (*C. carpio*) menunjukkan adanya peningkatan, selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 17) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dosis pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Berdasarkan Tabel 16. rerata eosinofil ikan mas (*C. carpio*), selanjutnya dilakukan uji sidik ragam (Tabel 18) untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan dosis pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* terhadap parameter yang diamati, adapun perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 17. Uji Sidik Ragam Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	32,667	10,889	16,33**	4,07	7,59
Acak	8	5,333	0,667			
Total	11	38,000				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Tabel 18. Uji Sidik Ragam Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	44,250	14,750	17,70**	4,07	7,59
Acak	8	6,667	0,833			
Total	11	50,917				

(keterangan**= berbeda sangat nyata)

Berdasarkan Tabel 17. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Sedangkan pada Tabel 18. diperoleh nilai F hitung lebih besar dari F Tabel 5% dan F Tabel 1% menunjukkan hasil sangat berbeda nyata. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) (Tabel 19) dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* (Tabel 20), perhitungan lengkapnya pada Lampiran 3.

Tabel 19. Data Hasil Uji BNT Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	4,00	5,67	7,33	
A (550 ppm)	3,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	4,00	1,00 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	5,67	2,67**	1,67*	-	-	b
D (850 ppm)	7,33	4,33**	3,33**	1,66*	-	c

Berdasarkan Tabel 19. Data hasil uji BNT eosinofil ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil

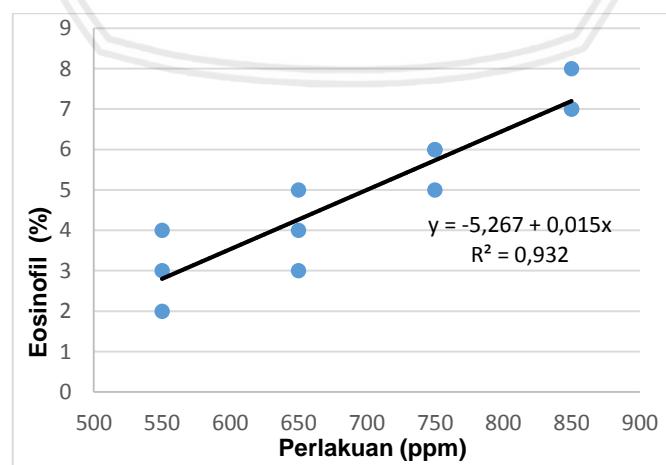
perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Tabel 20. Data Hasil Uji BNT Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. hydrophila*

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		4,67	5,67	7,67	9,67	
A (550 ppm)	4,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	5,67	1,00 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	7,67	3,00**	2,00*	-	-	b
D (850 ppm)	9,67	5,00**	4,00**	2,00*	-	c

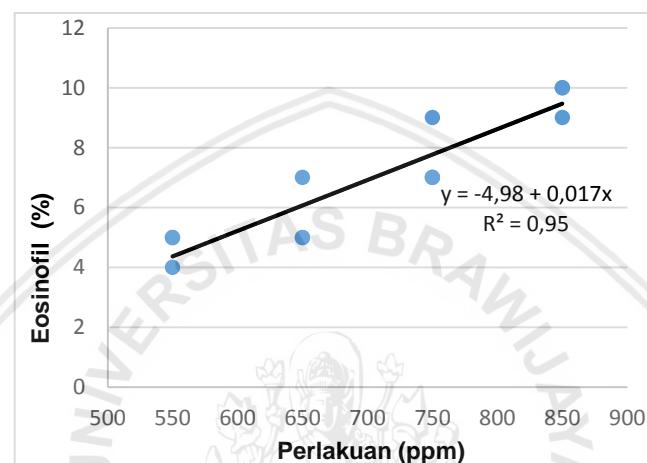
Berdasarkan Tabel 20. Data hasil uji BNT eosinofil ikan mas (*C. carpio*), didapatkan hasil perlakuan A dan B memiliki notasi a, yang berarti bahwa hasil perlakuan A dan B tidak berbeda. Perlakuan C memiliki notasi b yang berarti hasil perlakuan C berbeda dari perlakuan A dan B. Sedangkan perlakuan D memiliki notasi c yang berarti hasil perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C.

Selanjutnya untuk mengetahui regresi atau bentuk hubungan antar perlakuan dilakukan perhitungan polynomial orthogonal pasca perendaman ekstrak buah pare (*M.charantia*), disajikan pada Gambar 13. dan pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* pada Gambar 14.



Gambar 13. Hubungan Perlakuan dengan Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Perendaman Ekstrak Buah Pare (*M. charantia*)

Berdasarkan Gambar 13. menunjukkan bentuk hubungan antara perlakuan dengan parameter eosinofil pasca perendaman ekstrak buah pare (*M. charantia*) membentuk pola linear dengan persamaan $y = -5,267 + 0,015x$ dengan $R^2 = 0,932$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap eosinofil ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 93,2% sedangkan 6,8% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.



Gambar 14. Hubungan Perlakuan dengan Eosinofil Ikan Mas (*C. carpio*) Pasca Infeksi Bakteri *A. Hydrophila*

Berdasarkan Gambar 14. menunjukkan bahwa hubungan antara perlakuan dengan parameter eosinofil pasca infeksi membentuk pola linear dengan persamaan $y = -4,98 + 0,017x$ dengan $R^2 = 0,95$, yang artinya faktor perlakuan pemberian dosis yang berbeda terhadap eosinofil yang diberikan terhadap ikan mas (*C. carpio*) berpengaruh sebesar 95% sedangkan 5% sisanya adalah pengaruh dari faktor lain.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa eosinofil mengalami peningkatan pada setiap perlakuan. Peningkatan tertinggi pada terjadi pada perlakuan D (850 ppm) dengan kenaikan sebesar 2,34%. Peningkatan disebabkan kandungan saponin dan flavonoid pada ekstrak. Menurut Afifah, *et al.* (2014), flavonoid mampu merusak membran sel dengan cara mendenaturasi protein pada membran sel. Saponin melakukan penghambatan dengan cara membentuk senyawa

kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya dapat mengakibatkan kematian sel bakteri. Eosinofil pada ikan diperlukan untuk kekebalan tubuh. Hal ini sesuai dengan Bijanti (2005), eosinofil tergolong dalam fagosit yang lemah, dan berfungsi sebagai detoksifikasi protein sebelum dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh. Sel ini masuk ke dalam darah dalam jumlah besar bila terdapat benda asing dalam tubuh.

4.3 Pengamatan Gejala Klinis Ikan Mas (*C. carpio*)

Pengamatan gejala klinis ikan mas pasca infeksi *A. hydrophila* yang dilakukan selama 3 hari, menunjukkan adanya infeksi bakteri *A. hydrophila* berupa perubahan tingkah laku ikan. Pada hari pertama, sebagian besar ikan masih menunjukkan tingkah laku yang normal dengan berenang normal di dasar dan bergerombol, respon terhadap rangsangan cukup baik dan respon terhadap pakan baik, namun ada beberapa ikan yang berenang tidak teratur dan menyendiri. Diantaranya terdapat pada perlakuan K- dimana perlakuan ini tidak diberi ekstrak buah pare.

Pada hari kedua, hampir semua ikan pada tiap perlakuan mengalami penurunan nafsu makan dan respon terhadap rangsangan lambat. Pada hari ketiga, pada K- dan perlakuan A (550 ppm) ikan mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap dibandingkan pada perlakuan lainnya, perlakuan K- ikan berenang dipermukaan, nafas ikan megap megap, dan tubuh ikan berlendir. Pada perlakuan D (850 ppm) warna tubuh sedikit pucat, mengalami penurunan nafsu makan, berenang dengan normal didasar dan bergerombol. Hasil pengamatan yang didapatkan sesuai dengan pernyataan Dianti, *et al.* (2013), gejala klinis ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri *A. hydrophila* adalah perubahan tingkah laku.

Perubahan tingkah laku yang terjadi berupa penurunan terhadap rangsang, berenang dipermukaan dan tidak teratur, serta cenderung berenang miring.

4.4 Hasil Pengamatan Kualitas Air Selama Penelitian

Selama penelitian berlangsung terdapat parameter penunjang yang diamati yaitu kualitas air. Kualitas air dianggap sebagai salah satu faktor yang penting dalam kegiatan penelitian karena dapat mempengaruhi hasil penelitian. Kualitas air yang diuji yaitu suhu, pH dan DO. Pengukuran kualitas air ini diuji setiap pagi dan sore hari. Data pengukuran parameter kualitas air ditunjukkan pada Lampiran 4. Hasil dari data kualitas air disajikan pada Tabel 21.

Tabel 21. Hasil Kisaran Data Kualitas Air Selama Penelitian

Parameter	Kisaran	Literatur
Suhu	25-27°C	25-30°C (Supriatna, 2013)
pH	6,5-7,5	7-8 (Ciptanto, 2010)
DO	6,15-8,20 mg/L	>5 mg/L (Ciptanto, 2010)

Berdasarkan Tabel 21. diketahui bahwa suhu selama masa pemeliharaan berkisar dari 25-27°C. Kisaran suhu yang diperoleh baik untuk mendukung kehidupan ikan mas (*C. carpio*) selama pemeliharaan. Hal ini sesuai dengan pendapat Supriatna (2013), yang menyatakan bahwa kisaran suhu yang optimal berkisar antara 25-30°C. Kisaran pH yang di perolah antara 6,5-7,5. Nilai tersebut berada di bawah kisaran optimal untuk pemeliharaan ikan mas (*C. carpio*), namun masih dapat ditolerir oleh ikan uji. Menurut Ciptanto (2010), pH yang ideal bagi kehidupan ikan mas adalah antara 7-8. Kisaran DO (*Dissolved oxygen*) pada pemeliharaan sebesar 6,15-8,20 mg/L. Kisaran tersebut baik untuk pemeliharaan, sesuai dengan pendapat Ciptanto (2010), bahwa oksigen terlarut yang baik untuk pemeliharaan ikan mas (*C. carpio*) adalah >5 mg/L.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian dosis ekstrak buah pare (*M. charantia*) dengan dosis yang berbeda memberikan pengaruh terhadap diferensial leukosit ikan mas (*C. carpio*) yang meliputi limfosit, monosit, neutrofil dan eosinofil yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Peningkatan persentase tertinggi limfosit sebesar 3,67%, neutrofil sebesar 3% dan eosinofil sebesar 2,34% pada perlakuan D (850 ppm) dan persentase monosit tertinggi pada perlakuan C (750 ppm) sebesar 4% dapat disebabkan infeksi yang semakin kronis. Sehingga dosis terbaik dari hasil penelitian yakni pada perlakuan D dengan dosis ekstrak buah pare (*M. charantia*) sebesar 850 ppm. Dosis 850 ppm perlakuan D dapat meningkatkan respon imunitas (non spesifik) tubuh ikan mas lebih tinggi dibandingkan dengan dosis yang lain dan K⁺.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan dapat disarankan:

- Untuk meningkatkan ketahanan tubuh ikan mas (*C. carpio*) dapat menggunakan ekstrak buah pare (*M. charantia*) dengan dosis 850 ppm.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat dosis optimal ekstrak buah pare (*M. charantia*) untuk meningkatkan imunitas ikan mas (*C. carpio*).

DARTAR PUSTAKA

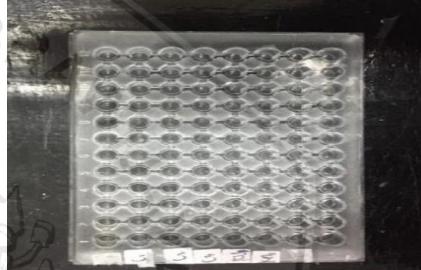
- Afifah, B., N. Abdulgani dan G. Mahasri. 2014. Efektifitas perendaman benih ikan mas (*Cyprinus carpio L.*) dalam larutan perasan daun api-api (*Avicennia marina*) terhadap penurunan jumlah *Trichodina* sp. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. **3**(2): 2337-3520.
- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Kanisius: Yogyakarta. 92 hlm.
- Afrianto, E., E. Liviawaty, Z. Jamaris dan Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya: Jakarta. 220 hlm.
- Amri, K. dan Khairuman. 2002. Menanggulangi Penyakit pada Ikan Mas dan Koi. Agromedia Pustaka: Jakarta. 62 hlm.
- Apriyanti, R.N. dan D. S. Rahimah. 2016. Akuaponik Praktis, My Trubus Potensial Business. PT Trubus Swadaya: Jakarta. 122 hlm.
- Berlian, Z., F. Aini, dan D. Aliah. 2015. Pengaruh pemberian pakan tambahan dari kombinasi tepung cacing tanah dan tepung ampas tahu terhadap pertumbuhan ikan betok (*Anabas testudineus*). *Jurnal Biota*. **1**(1): 16-21.
- Binjanti, R. 2005. Hematologi Ikan Teknik Pengambilan Darah dan Pemeriksaan Hematologi Ikan. Bagian Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Cahyono, B. 2001. Budi Daya Ikan di Perairan Umum. Kanisius: Yogyakarta. 96 hlm.
- Campbell, N. A., Reece, J. B. dan L. G. Mitchell. 2004. Biologi Edisi Kelima Jilid 3. Erlangga: Jakarta. 501 hlm.
- Ciptanto, S. 2010. Top 10 Ikan Air Tawar. Lily Publisher: Yogyakarta. 168 hlm.
- Dianti, L., B. P. Slamet dan W. A. Restiana. 2013. Ketahanan nonspesifik ikan mas (*C. carpio*) yang direndam ekstrak daun jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. **2**(4): 63-71.
- Gupta, M., S. Sharma and R. Bhaduria. 2017. Phytotoxicityof *Momordica charantia* extracts againts *Alteraria alternata*. *J. Pharm. Sci.and Res.* **9**(1): 28-34.
- Grossman, L. I., S. Oliet dan C. E. D. Rio. Ilmu Endodontik dalam Praktik. EGC: Jakarta. 405 hlm.

- Haditomo, A. H. C., Widanarmi dan A. M. Lusiastuti. 2014. Perkembangan *Aeromonas hydrophyla* Pada Berbagai Media Kultur. Seminar Nasional Ke III: Hasil – Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro. Jawa Tengah.
- Handayani, W. dan A.S. Haribowo. 2008. Asuhan Keperawatan pada Klien dengan Gangguan Sistem Hematologi. Salemba Medika: Jakarta. 158 hlm.
- Herliana, E. 2013. Diabetes Kandas Berkat Herbal. Fmedia: Jakarta. 106 hlm.
- Indriasari, D. 2009. 100% Sembuh Tanpa Dokter: A-Z Deteksi, Obati dan Cegah Penyakit. Pustaka Ghatama: Yogyakarta. 192 hlm.
- Irianto, A., Hernayanti dan N. Iriyanti. 2006. Pengaruh suplementasi probiotik A3-51 terhadap derajat imunitas *Oreochromis niloticus* didasarkan pada angka kuman pada ginjal setelah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas salmonicida achromogenes*. *Jurnal Perikanan*. **8**(2): 144-152.
- Jatmiko, S.W. 2015. Eosinofil sebagai sel penyaji antigen. *Bioeksperimen*. **1**: 18-22.
- Khairuman, H. 2013. Budi Daya Ikan Mas. PT Agromedia Pustaka: Jakarta. 88 hlm.
- Komala, O., B. L. Sari dan N. Sakinah. 2012. Uji efektifitas etanol buah pare (*Momordica charantia L*) sebagai antibakteri *Salmonella typhi*. *Fitofarmaka*. **2**(1): 99-104.
- Kordi, K. M. G. H. 2008. Budi Daya Perairan Buku Kesatu. Citra Aditya Bakti: Jawa Barat. 444 hlm.
- _____. 2010. Buku Pintar Pemeliharaan 14 Ikan Air Tawar Ekonomis di Keramba Jaring Apung. Lily Publisher: Yogyakarta. 324 hlm.
- Krieg, N. R, and J. G. Holt. 1984. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. The Williams ans Wilkins Company. London. 890 hlm.
- Kuncoro, E. B. 2008. Aquascape. Kanisius: Yogyakarta. 104 hlm.
- Kwatra, D., Prasad, P. Dandawate, S. Padhye, dan S. Anant. 2016. Bitter melon as a therapy for diabetes, inflammation, and cancer: a panacea. *Curr Pharmacol Rep.* **2**(1): 34-44.
- Lukistyowati, I., Windarti, Morina, A. Isnansetyo dan Kurniasih. 2007. Efektivitas ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) untuk mencegah dan mengobati *motile aeromonas septicemia* (MAS) pada ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Perikanan (J. Fish. Sci). Publikasi*. **10**(1): 11-19.
- Mulisah, F. dan S. Hening. 2014. Sayur dan Bumbu Dapur Berkhasiat Obat. Penebar Swadaya: Jakarta. 88 hml.

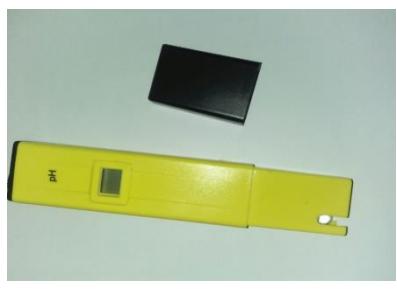
- Narantaka, A. 2012. Pemberian Ikan Mas. Javalitera: Yogyakarta. 160 hlm.
- Nugroho, R. H. dan M. N. Firman. 2018. Potensi Bahan Hayati sebagai Imunostimulan Hewan Akuatik. Deepublish: Yogyakarta. 107 hlm.
- Nurin, F. N. 2014. Pengaruh pemberian ekstrak kasar kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap histopatologi otot ikan mas (*C. carpio*) yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. Publikasi.
- Nurjannah, R. D. D., B. P Slamet, Sarjito dan M.L. Angela. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap profil darah dan kelulusan hidupan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2(4): 72-83.
- Nursanti, F., A. Irianto dan Hernayanti. 2006. Pengaruh pemberian probiotik terhadap jumlah bakteri pada ginjal ikan nila setelah uji tantang dengan *Aeromonas hydrophila* dan *Aeromonas salmonicida* atipikal. *Jurnal Saintek Perikanan*. 2(1): 40-47.
- Paul, A. dan S. S. Raychaudhuri. 2010. Medicinal uses and molecular identification of two *Momordica charantia* varieties. *Electronic Journal of Biology*. 6(2): 43-51.
- Prakoso, W. S. A. 2012. Gambaran jumlah dan hitung jenis sel leukosit darah ikan mas (*Cyprinus carpio Linn*) yang diterapi ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) setelah diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Hewan Airlangga. Surabaya.
- Rahma, F. W., Gunanti M. dan S. Laksmi. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan pelarut metanol pada pakan terhadap jumlah eritrosit dan diferensial leukosit ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah dan Kelautan*. 7(2): 213-218.
- Rahmaningsih, S. 2018. Hama dan Penyakit Ikan. Deepublish: Yogyakarta. 352 hlm.
- Rochdianto, A. 2003. Budi Daya Ikan di Jaring Terapung. Penebar Swadaya: Jakarta. 98 hlm.
- Rukmana, R. 1997. Ikan Nila, Budi Daya dan Aspek Agribisnis. Kanisius: Yogyakarta. 91 hlm.
- Rusmawanto. 2016. Uji daya hambat minimal ekstrak kasar buah delima (*Punica granatum* L.) terhadap bakteri *Vibrio Harveyi* secara in vitro. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. Publikasi.
- Salim, M.A., I. Nur dan M. Idris. 2016. Pengaruh peningkatan salinitas secara bertahap terhadap diferensial leukosit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Media Akuatika*. 4: 152-158.

- Saparinto, C. 2011. 79 Bisnis Pertanian Menguntungkan. Penebar Swadaya: Jakarta. 268 hlm.
- Sugiyono. 2009. Metode Penelitian Bisnis. Alfabeta: Bandung. 540 hlm.
- Suhermanto, A., A. Sri dan Maftuch. 2011. pemberian total fenol teripang pasir (*Holothuria scabra*) untuk meningkatkan leukosit dan diferensial leukosit ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila*. *Jurnal Kelautan*. 4(2): 49-56.
- Supriatna, Y. 2013. Budi Daya Ikan Mas di Kolam Hemat Air. Agromedia Pustaka: Jakarta. 78 hlm.
- Sastrosupadi, A. 2000. Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian. Yogyakarta: Kanisius. 277 hlm.
- Tim Lentera. 2002. Pembesaran Ikan Mas di Kolam Air Deras. PT Agromedia Pustaka: Jakarta. 96 hlm.
- Udeh, P.J. 2004. A Guide to Healthy Drinking Water: All You Need to Know About the Water You Drink. Lincoln: New York. 631 hlm.
- Wasis. 2008. Pedoman Riset Praktis untuk Profesi Perawat. EGC. Jakarta. 209 hlm.
- Wu. C. C., C. H. Liu, Y. P. Chang and S. L. Hsieh. 2010. Effect of hot water extract of *toona sinensis* on immune response and ristance to *A. hydrophila* in *O. mossambicus*. *Fish and Shellfish Immunology*. 29(2): 258-263.

LAMPIRAN**Lampiran 1. Alat – Alat Penelitian**

 Aerator Set	 DO Meter
 Appendorf	 Tempat Appendorf
 Spuit	 Rotary Evaporator
 Mikroskop	 Handtally counter

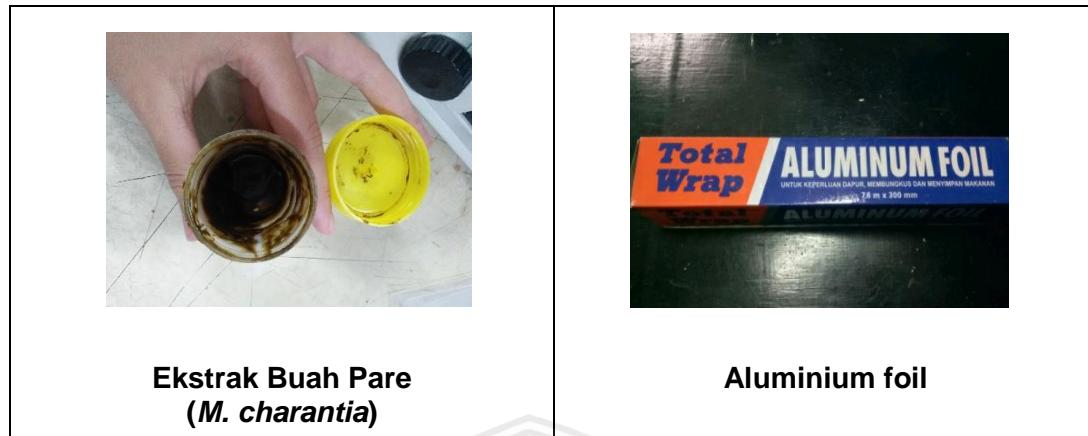
Lampiran 1. (Lanjutan)

	
Toples	pH Meter
	
Mikroskop	Objek glass
	
Mikropipet	Autoclave

Lampiran 2. Bahan – Bahan Penelitian

 <p>Ikan Mas (<i>C. carpio</i>)</p>	 <p>Bakteri <i>A. hydrophila</i></p>
 <p>Kapas</p>	 <p>Alkohol 70%</p>
 <p>Na Citrate 3,5%</p>	 <p>Aquades</p>
<p>Darah Ikan mas</p>	<p>TSB</p>

Lampiran 2. (Lanjutan)



Lampiran 3. Analisis Data Selama Penelitian

- Data Limfosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Selama Pasca Perendaman Ekstrak dan Pasca Infeksi Bakteri**

Perlakuan	Ikan Sehat	Pasca Perendaman	Pasca Infeksi
K+1	18	18	21
K+2	19	19	19
K+3	15	21	22
K-1	19	18	19
K-2	17	18	20
K-3	18	21	21
A1	18	22	23
A2	19	20	24
A3	19	23	25
B1	16	23	26
B2	18	23	27
B3	20	24	24
C1	17	26	28
C2	19	26	29
C3	19	25	28
D1	18	29	31
D2	21	27	33
D3	17	28	31

- Data Rerata Limfosit

a. Data Rerata Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±S.Dev
	1	2	3		
A (550 ppm)	22	20	23	65	21,67±1,5
B (650 ppm)	23	23	24	70	23,33±0,6
C (750 ppm)	26	26	25	77	25,67±0,6
D (850 ppm)	29	27	28	84	28,00±1,0
Total				296	

b. Perhitungan Sidik Ragam

Faktor Koreksi $= \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{296^2}{4 \times 3} = 7301,33$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A1^2) + (A2^2) + (A3^2) + \dots + (D3^2) - FK \\ &= (22^2) + (20^2) + (23^2) + \dots + (28^2) - 7301,33 \\ &= 76,67 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\
 &= \frac{100^2 + 96^2 + 100^2}{3} - 7301,33 \\
 &= 68,67 \\
 \text{JK Acak} &= JKT - JKP = 76,67 - 68,67 = 8 \\
 \text{Derajat Bebas (db) Total} &= t * r - 1 = (4 * 3) - 1 = 11 \\
 \text{Db Perlakuan} &= t - 1 = 4 - 1 = 3 \\
 \text{Db Acak} &= db \text{ Total} - db \text{ Acak} = 11 - 3 = 8
 \end{aligned}$$

c. **Kuadrat Tengah Perlakuan**

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\
 &= \frac{68,67}{3} \\
 &= 22,89
 \end{aligned}$$

d. **Kuadrat Tengah Acak**

$$= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{8}{8} = 1$$

e. **F hitung**

$$\begin{aligned}
 &= \frac{KTP}{KTA} \\
 &= \frac{22,89}{1} \\
 &= 22,89
 \end{aligned}$$

f. **Sidik Ragam Limfosit Pasca Perendaman Ekstrak**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	68,67	22,89	22,89**	4,07	7,59
Acak	8	8,00	1,00			
Total	11	76,67				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

$F_{hit} > F_{5\%} > F_{1\%}$, maka hasil sidik ragam limfosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca perendaman ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. **Menghitung Nilai BNT Limfosit Pasca Perendaman Ekstrak**

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 022,89}{3}} = 0,8164$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,8164 = 1,8828$$

$$\text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,8164 = 2,7393$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Tabel Uji BNT Limfosit Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		21,67	23,33	25,67	28,00	
A (550 ppm)	21,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	23,33	1,67 ^{ns}	-	-	-	a
C (750 ppm)	25,67	4,00**	2,33*	-	-	b
D (850 ppm)	28,00	6,33**	4,67**	2,33*	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Orthogonal Limfosit Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	65,00	-3	1	-1
B	70,00	-1	-1	3
C	77,00	1	-1	-3
D	84,00	3	1	1
Q=Σ(TiCi)	64	2		-2
Kn=(ΣCi²)^r	60	12		60
JK=Q²/Kn	68,267	0,333		0,066

i. Sidik Ragam Regresi Limfosit Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	68,67				
Linier	1	68,26	68,26	68,26	5,32	11,26
Kuadratik	1	0,33	0,33	0,33		
Kubik	1	0,066	0,066			

j. Menghitung R Square (R²)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{68,26}{68,26 + 8,000} = 0,895$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,333}{0,333 + 8,000} = 0,04$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,066}{0,066 + 8,000} = 0,008$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

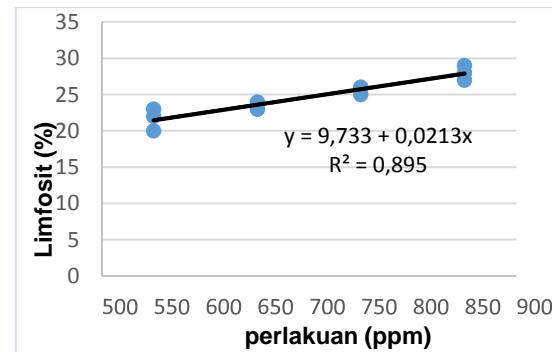
Perlakuan	X	y	xy	x2
A1	550	22	12100	302500
A2	550	20	11000	302500
A3	550	23	12650	302500
B1	650	23	14950	422500
B2	650	23	14950	422500
B3	650	24	15600	422500
C1	750	26	19500	562500
C2	750	26	19500	562500
C3	750	25	18750	562500
D1	850	29	24650	722500
D2	850	27	22950	722500
D3	850	28	23800	722500
Jumlah	8400	296	210400	6030000
Rerata	700	24,667	17533,333	502500

k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{210400 - \frac{8400 \cdot 296,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,0213$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 24,667 - (0,0213 \times 700) = 9,7333$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = 9,733 + 0,0213x$



Gambar hubungan rerata limfosit dengan perlakuan pasca perendaman ekstrak pada ikan mas

Lampiran 3. (Lanjutan)

- Pasca Infeksi Bakteri

a. Data Rerata Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±S.Dev
	1	2	3		
A (550 ppm)	23	24	25	72	24,00±1,0
B (650 ppm)	26	27	24	77	25,67±1,5
C (750 ppm)	28	29	28	85	28,33±0,6
D (850 ppm)	31	33	31	95	31,67±1,1
Total				329	

b. Perhitungan Sidik Ragam

Faktor Koreksi $= \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{296^2}{4 \times 3} = 9020,083$

Jumlah Kuadrat Total $= (A_1^2) + (A_2^2) + (A_3^2) + \dots + (A_4^2) - FK$
 $= (23^2) + (24^2) + (25^2) + \dots + (31^2) - 9020,083$
 $= 110,917$

JK Perlakuan $= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK$
 $= \frac{108^2 + 113^2 + 108^2}{3} - 9020,083$
 $= 100,917$

JK Acak $= JKT - JKP = 110,917 - 100,917 = 10$

Derajat Bebas (db) Total $= t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$

db Perlakuan $= t - 1 = 4 - 1 = 3$

db Acak $= db Total - db Acak = 11 - 3 = 8$

c. Kuadrat Tengah Perlakuan $= \frac{JK \text{ Perlakuan}}{db \text{ Perlakuan}}$
 $= \frac{100,917}{3}$
 $= 33,639$

d. Kuadrat Tengah Acak $= \frac{JK \text{ Acak}}{db \text{ Acak}} = \frac{10}{8} = 1,25$

e. F hitung $= \frac{KTP}{KTA}$
 $= \frac{33,639}{1,25}$
 $= 26,911$

Lampiran 3. (Lanjutan)

f. Sidik Ragam Limfosit Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	100,92	33,639	26,911**	4,07	7,59
Acak	8	10,00	1,250			
Total	11	110,92				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

$F_{hit} > F_{5\%} > F_{1\%}$, maka hasil sidik ragam limfosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Limfosit Pasca Infeksi Bakteri

$$SED = \sqrt{\frac{2 \times KT \text{ Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,250}{3}} = 0,9128$$

$$BNT\ 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times SED = 2,306 \times 0,9128 = 2,105$$

$$BNT\ 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times SED = 3,355 \times 0,9128 = 3,063$$

Tabel Uji BNT Limfosit Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		24,00	25,67	28,33	31,67	
A (550 ppm)	24,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	25,67	1,67 ns	-	-	-	a
C (750 ppm)	28,33	4,33**	2,66*	-	-	b
D (850 ppm)	31,67	7,67**	6,00**	3,34**	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Limfosit Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	72,00	-3	1	-1
B	77,00	-1	-1	3
C	85,00	1	-1	-3
D	95,00	3	1	1
Q=Σ(TiCi)	77	5	-1	
Kn=(ΣCi²)*r	60	12	60	
JK=Q²/Kn	98,82	2,083	0,016	

Lampiran 3. (Lanjutan)

i. Sidik Ragam Regresi Limfosit Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	100,92				
Linier	1	98,82	98,82	79,053	5,32	11,26
Kuadratik	1	2,083	2,083	1,667		
Kubik	1	0,016	0,016			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{98,82}{98,82 + 10,00} = 0,908$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{2,083}{2,083 + 10,00} = 0,172$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,016}{0,016 + 10,00} = 0,0016$$

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

Perlakuan	x	y	xy	x2
A1	550	23	12650	302500
A2	550	24	13200	302500
A3	550	25	13750	302500
B1	650	26	16900	422500
B2	650	27	17550	422500
B3	650	24	15600	422500
C1	750	28	21000	562500
C2	750	29	21750	562500
C3	750	28	21000	562500
D1	850	31	26350	722500
D2	850	33	28050	722500
D3	850	31	26350	722500
Jumlah	8400	329	234150	6030000
Rerata	700	27,417	19512,5	502500

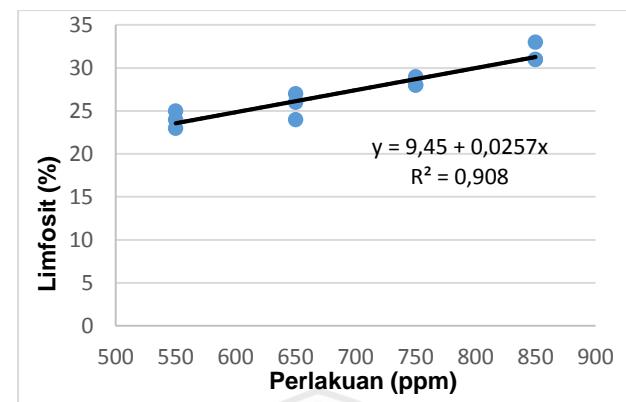
k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{234150 - \frac{8400 \cdot 329,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,0257$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 27,417 - (0,0257 \times 700) = 9,45$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = 9,45 + 0,0257x$

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar Hubungan Rerata Limfosit dengan perlakuan pasca infeksi bakteri pada ikan mas

- **Data Monosit Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Selama Pasca Perendaman Ekstrak dan Pasca Infeksi Bakteri**

Perlakuan	Ikan Sehat	Pasca Perendaman	Pasca Infeksi
K+1	14	19	18
K+2	18	17	19
K+3	16	15	19
K-1	16	16	18
K-2	17	17	17
K-3	17	16	17
A1	18	17	21
A2	19	21	23
A3	18	18	22
B1	14	19	24
B2	19	20	23
B3	18	21	25
C1	21	22	27
C2	20	23	27
C3	20	24	26
D1	20	26	27
D2	21	27	31
D3	22	27	30

Lampiran 3. (Lanjutan)

- Data Rerata Monosit

a. Data Rerata Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±S.Dev
	1	2	3		
A (550 ppm)	17	21	18	56	18,67±2,1
B (650 ppm)	19	20	21	60	20,00±1,0
C (750 ppm)	22	23	24	69	23,00±1,0
D (850 ppm)	26	27	27	80	26,67±0,6
Total				265	

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{265^2}{4 \times 3} = 5852,083$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A_1^2) + (A_2^2) + (A_3^2) + \dots + (D_3^2) - FK \\ &= (17^2) + (21^2) + (18^2) + \dots + (27^2) - 5852,083 \\ &= 126,917\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{84^2 + 91^2 + 90^2}{3} - 5852,083 \\ &= 113,583\end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JKT} - \text{JKP} = 126,917 - 113,583 = 13,33$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

$$\begin{aligned}\text{c. Kuadrate Tengah Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{113,583}{3} \\ &= 37,861\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{d. Kuadrate Tengah Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{13,33}{8} = 1,667\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{e. F hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{37,861}{1,667} \\ &= 22,717\end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

f. Sidik Ragam Monosit Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	113,583	37,861	22,717**	4,07	7,59
Acak	8	13,333	1,667			
Total	11	126,917				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

F hit > F 5% > F1%, maka hasil sidik ragam monosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca perendaman ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Monosit Pasca Perendaman Ekstrak

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,667}{3}} = 1,054$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 1,054 = 2,431$$

$$\text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 1,054 = 3,536$$

Tabel Uji BNT Monosit Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		18,67	20,00	23,00	26,67	
A (550 ppm)	18,67	-	-	-	-	A
B (650 ppm)	20,00	1,33 ^{ns}	-	-	-	A
C (750 ppm)	23,00	4,33**	3,00*	-	-	B
D (850 ppm)	26,67	8,00**	6,67**	3,67**	-	C

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A,B dan C

h. Uji Polynomial Orthogonal Monosit Pasca Perendaman Ekstrak

Perlaku an	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	56,00	-3	1	-1
B	60,00	-1	-1	3
C	69,00	1	-1	-3
D	80,00	3	1	1
Q=Σ(TiCi)	-287	-11	-3	
Kn=(ΣCi²)*r	60	12	60	
JK=Q2/Kn	1372,817	10,083	0,15	

Lampiran 3. (Lanjutan)

i. Sidik Ragam Regresi Monosit Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	1870,250				
Linier	1	1372,817	1372,817	823,69	5,32	11,26
Kuadratik	1	10,083	10,083	6,05		
Kubik	1	0,15	0,15			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{1372,817}{1372,817 + 13,33} = 0,990$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{10,083}{10,083 + 13,33} = 0,430$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,15}{0,15 + 13,33} = 0,011$$

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

Perlakuan	x	y	xy	x ²
A1	550	17	9350	302500
A2	550	21	11550	302500
A3	550	18	9900	302500
B1	650	19	12350	422500
B2	650	20	13000	422500
B3	650	21	13650	422500
C1	750	22	16500	562500
C2	750	23	17250	562500
C3	750	24	18000	562500
D1	850	26	22100	722500
D2	850	27	22950	722500
D3	850	27	22950	722500
Jumlah	8400	265	189550	6030000
Rerata	700	22,083	15795,83	502500

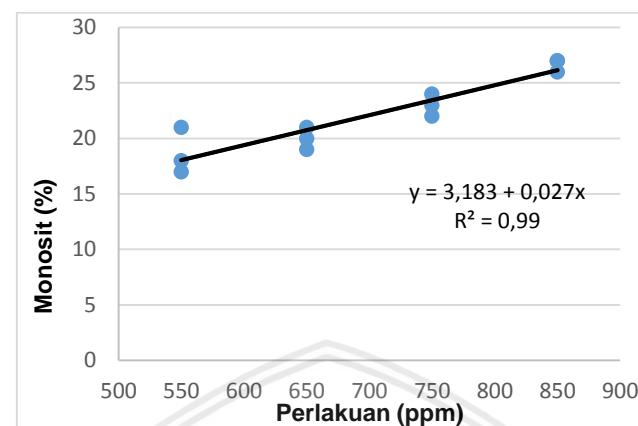
k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{189550 - \frac{8400 \cdot 265,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,027$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 22,083 - (0,027 \times 700) = 3,183$$

Persamaan regresi linear adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = 3,183 + 0,027x$

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar hubungan rerata monosit dengan perlakuan pasca perendaman ekstrak pada ikan mas

- Pasca Infeksi Bakteri

a. Data Rerata Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±SD
	1	2	3		
A (550 ppm)	21	21	22	64	21,33±0,6
B (650 ppm)	24	23	25	72	24,00±1,0
C (750 ppm)	27	27	26	80	26,67±0,6
D (850 ppm)	27	31	30	88	29,33±2,1
Total				304	

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{304^2}{4 \times 3} = 7701,33$$

$$\text{Jumlah Kuadrat Total} = (A_1^2) + (A_2^2) + (A_3^2) + \dots + (D_3^2) - FK$$

$$= (21^2) + (21^2) + (22^2) + \dots + (30^2) - 7701,33 \\ = 118,667$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{99^2 + 102^2 + 103^2}{3} - 7701,33 \\ &= 106,667 \end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = JKT - JKP = 118,667 - 106,667 = 12$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{Db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\text{Db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

c. **Kuadrat Tengah Perlakuan**

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{106,667}{3} \\ &= 35,556 \end{aligned}$$

d. **Kuadrat Tengah Acak**

$$= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{12}{8} = 1,50$$

e. **F hitung**

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{35,556}{1,50} \\ &= 23,704 \end{aligned}$$

f. Sidik Ragam Monosit Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	106,667	35,556	23,704**	4,07	7,59
Acak	8	12,00	1,50			
Total	11	118,667				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

$F_{\text{hit}} > F_{5\%} > F_{1\%}$, maka hasil sidik ragam monosit pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Monosit Pasca Infeksi Bakteri

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 1,50}{3}} = 1$$

$$\text{BNT } 5\% = t_{\text{tabel } 5\%} (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 1 = 2,306$$

$$\text{BNT } 1\% = t_{\text{tabel } 1\%} (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 1 = 3,355$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Tabel Uji BNT Monosit Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		21,33	24,00	26,67	29,33	
A (550 ppm)	21,33	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	24,00	2,67*	-	-	-	b
C (750 ppm)	26,67	5,34**	2,67*	-	-	c
D (850 ppm)	29,33	8,00**	5,33**	2,66*	-	d

Keterangan : Perlakuan A berbeda dengan perlakuan B, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A,B dan C

h. Uji Polynomial Monosit Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	64,00	-3	1	-1
B	72,00	-1	-1	3
C	80,00	1	-1	-3
D	88,00	3	1	1
$Q = \sum(Ti Ci)$	-328	-8		-1
$Kn = (\sum Ci^2)^{*} r$	60	12		60
$JK = Q^2 / Kn$	1793,067	5,33		0,016

i. Sidik Ragam Regresi Monosit Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	2362,667				
Linier	1	1793,067	1793,067	1195,4	5,32	11,26
Kuadratik	1	5,33	5,33	3,556		
Kubik	1	0,016	0,016			
Acak	8	12,00	1,50			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{1793,067}{1793,067 + 12,00} = 0,994$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{5,33}{5,33 + 12,00} = 0,308$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,016}{0,016 + 12,00} = 0,0013$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

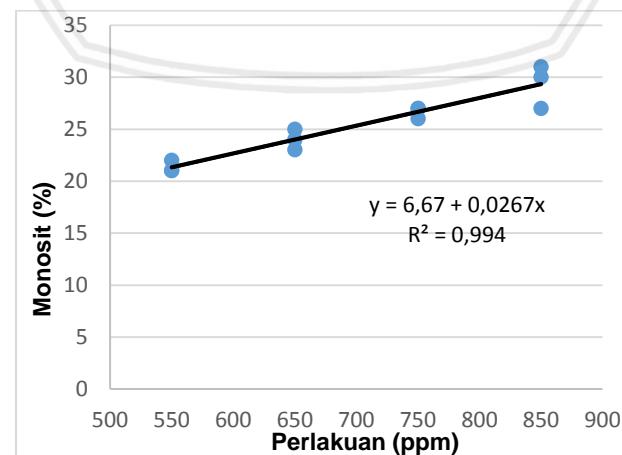
Perlakuan	x	y	xy	x2
A1	550	21	11550	302500
A2	550	21	11550	302500
A3	550	22	12100	302500
B1	650	24	15600	422500
B2	650	23	14950	422500
B3	650	25	16250	422500
C1	750	27	20250	562500
C2	750	27	20250	562500
C3	750	26	19500	562500
D1	850	27	22950	722500
D2	850	31	26350	722500
D3	850	30	25500	722500
Jumlah	8400	304	216800	6030000
Rerata	700	25,33	18066,667	502500

k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{216800 - \frac{8400 \cdot 304,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,0267$$

$$b_0 = \hat{y} - b_1(\bar{x}) = 25,33 - (0,0267 \times 700) = 6,67$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = 6,67 + 0,0267x$



Gambar hubungan rerata monosit dengan perlakuan pasca infeksi bakteri pada ikan mas

Lampiran 3. (Lanjutan)

- **Data Neutrofil Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Selama Pasca Perendaman Ekstrak dan Pasca Infeksi Bakteri**

Perlakuan	Ikan Sehat	Pasca Perendaman	Pasca Infeksi
K+1	0	1	2
K+2	2	2	3
K+3	2	2	2
K-1	1	1	2
K-2	2	1	1
K-3	3	2	2
A1	0	3	3
A2	3	2	2
A3	0	3	4
B1	0	4	5
B2	1	3	4
B3	3	3	5
C1	2	5	6
C2	2	4	6
C3	3	4	8
D1	3	5	8
D2	2	7	10
D3	2	6	9

- **Data Rerata Neutrofil**

a. **Data Rerata Pasca Perendaman Ekstrak**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±SD
	1	2	3		
A (550 ppm)	3	2	3	8	2,67±0,6
B (650 ppm)	4	3	3	10	3,33±0,6
C (750 ppm)	5	4	4	13	4,33±0,6
D (850 ppm)	5	7	6	18	6,00±1,0
Total				49	

b. **Perhitungan Sidik Ragam**

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{49^2}{4 \times 3} = 200,083$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A1^2) + (A2^2) + (A3^2) + \dots + (D3^2) - FK \\
 &= (3^2) + (2^2) + (3^2) + \dots + (6^2) - 200,083 \\
 &= 22,917
 \end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{17^2 + 16^2 + 16^2}{3} - 200,083 \\ &= 18,917 \end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JKT} - \text{JKP} = 22,917 - 18,917 = 4,00$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

c. **Kuadrat Tengah Perlakuan**

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{18,917}{3} \\ &= 6,306 \end{aligned}$$

d. **Kuadrat Tengah Acak**

$$= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{4}{8} = 0,5$$

e. **F hitung**

$$\begin{aligned} &= \frac{KTP}{KTA} \\ &= \frac{6,306}{0,5} \\ &= 12,611 \end{aligned}$$

f. Sidik Ragam Neutrofil Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	18,917	6,306	12,611**	4,07	7,59
Acak	8	4,00	0,5			
Total	11	22,917				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

$F_{hit} > F_{5\%} > F_{1\%}$, maka hasil sidik ragam neutrofil pada ikan mas (*C. carpio*) pasca perendaman ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Neutrofil Pasca Perendaman Ekstrak

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,5}{3}} = 0,577$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,577 = 1,331$$

$$\text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,577 = 1,937$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Tabel Uji BNT Neutrofil Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
A (550 ppm)	2,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	3,33	0,66 ^{ns}	-	-	-	a
C (750 ppm)	4,33	1,66*	1,00 ^{ns}	-	-	b
D (850 ppm)	6,00	3,33**	2,67**	1,67*	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Orthogonal Neutrofil Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	8,00	-3	1	-1
B	10,00	-1	-1	3
C	13,00	1	-1	-3
D	18,00	3	1	1
$Q = \sum(Ti Ci)$		-54	18	1
$Kn = (\sum Ci^2) * r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		48,6	27,0	0,016

i. Sidik Ragam Regresi Neutrofil Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	81,00				
Linier	1	48,60	48,60	97,2	5,32	11,26
Kuadratik	1	27,00	27,00	54		
Kubik	1	0,016	0,016			
Acak	8	4,00	0,5			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{48,60}{48,60 + 4,00} = 0,924$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{27,00}{27,00 + 4,00} = 0,871$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,016}{0,016 + 4,00} = 0,0039$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

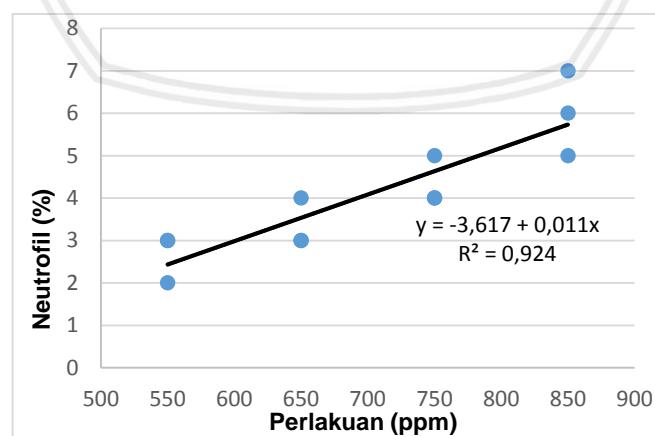
Perlakuan	x	y	xy	x2
A1	550	3	1650	302500
A2	550	2	1100	302500
A3	550	3	1650	302500
B1	650	4	2600	422500
B2	650	3	1950	422500
B3	650	3	1950	422500
C1	750	5	3750	562500
C2	750	4	3000	562500
C3	750	4	3000	562500
D1	850	5	4250	722500
D2	850	7	5950	722500
D3	850	6	5100	722500
Jumlah	8400	49	35950	6030000
Rerata	700	4,083	2995,833	502500

k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{35950 - \frac{8400 \cdot 49,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,011$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 4,083 - (0,011 \times 700) = -3,617$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = -3,617 + 0,011x$



Gambar hubungan rerata neutrofil dengan perlakuan pasca perendaman ekstrak pada ikan mas

Lampiran 3. (Lanjutan)

- Pasca Infeksi Bakteri

a. Data Rerata Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±S.Dev
	1	2	3		
A (550 ppm)	3	2	4	9	3,00±1,0
B (650 ppm)	5	4	5	14	4,67±0,6
C (750 ppm)	6	6	8	20	6,67±1,2
D (850 ppm)	8	10	9	27	9,00±1,0
Total				70	

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{70^2}{4 \times 3} = 408,33$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A_1^2) + (A_2^2) + (A_3^2) + \dots + (D_3^2) - FK \\ &= (3^2) + (2^2) + (4^2) + \dots + (9^2) - 408,33 \\ &= 67,667\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{22^2 + 22^2 + 26^2}{3} - 408,33 \\ &= 60,333\end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JKT} - \text{JKP} = 67,667 - 60,333 = 7,33$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

$$\begin{aligned}\text{c. Kuadrate Tengah Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{60,333}{3} \\ &= 20,111\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{d. Kuadrate Tengah Acak} &= \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{7,33}{8} = 0,917\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{e. F hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{20,111}{0,917} \\ &= 21,939\end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

f. Sidik Ragam Neutrofil Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	60,333	20,111	21,939**	4,07	7,59
Acak	8	7,33	0,917			
Total	11	67,667				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

F hit > F 5% > F1%, maka hasil sidik ragam neutrofil pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Neutrofil Pasca Infeksi Bakteri

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,917}{3}} = 0,7817$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,7817 = 1,803$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,7817 = 2,623$$

Tabel Uji BNT Neutrofil Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	4,67	6,67	9,00	
A (550 ppm)	3,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	4,67	1,67 ^{ns}	-	-	-	a
C (750 ppm)	6,67	3,67**	2,00*	-	-	b
D (850 ppm)	9,00	6,00**	4,33**	2,33*	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Neutrofil Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9,00	-3	1	-1
B	14,00	-1	-1	3
C	20,00	1	-1	-3
D	27,00	3	1	1
$Q = \sum(TiCi)$		-81	27	0
$Kn = (\sum Ci^2) * r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		109,35	60,75	0

Lampiran 3. (Lanjutan)

i. Sidik Ragam Regresi Neutrofil Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	182,25				
Linier	1	109,35	109,35	119,29	5,32	11,26
Kuadratik	1	60,75	60,75	66,27		
Kubik	1	0	0			
Acak	8	7,33	0,917			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{109,35}{109,35 + 7,33} = 0,937$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{60,75}{60,75 + 7,33} = 0,892$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0}{0 + 7,33} = 0$$

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

Perlakuan	x	y	xy	x2
A1	550	3	1650	302500
A2	550	2	1100	302500
A3	550	4	2200	302500
B1	650	5	3250	422500
B2	650	4	2600	422500
B3	650	5	3250	422500
C1	750	6	4500	562500
C2	750	6	4500	562500
C3	750	8	6000	562500
D1	850	8	6800	722500
D2	850	10	8500	722500
D3	850	9	7650	722500
Jumlah	8400	70	52000	6030000
Rerata	700	5,83	4333,33	502500

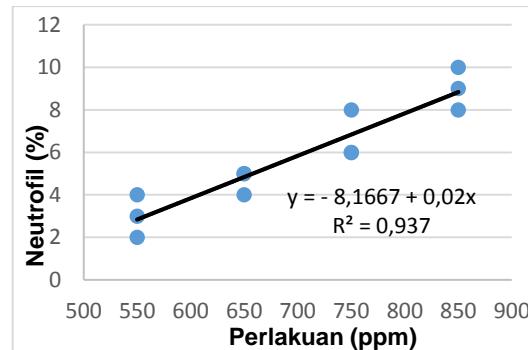
k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{52000 - \frac{8400 \cdot 70,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,02$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 27,417 - (0,0257 \times 700) = -8,167$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = -8,167 + 0,02x$

Lampiran 3. (Lanjutan)



Gambar hubungan rerata neutrofil dengan perlakuan pasca infeksi bakteri pada ikan mas

- Data Eosinofil Ikan Mas (*Cyprinus carpio*)**

Perlakuan	Ikan Sehat	Pasca Perendaman	Pasca Infeksi
K+1	0	2	4
K+2	2	3	3
K+3	1	2	4
K-1	2	1	3
K-2	2	3	2
K-3	3	2	4
A1	2	2	5
A2	3	4	5
A3	2	3	4
B1	1	4	5
B2	3	3	7
B3	1	5	5
C1	2	6	9
C2	1	6	7
C3	2	5	7
D1	3	8	10
D2	1	7	10
D3	3	7	9

- Data Rerata Eosinofil**

- Data Rerata Pasca Perendaman Ekstrak**

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±S.Dev
	1	2	3		
A (550 ppm)	2	4	3	9	3,00±1,0
B (650 ppm)	4	3	5	12	4,00±1,0
C (750 ppm)	6	6	5	17	5,67±0,6
D (850 ppm)	8	7	7	22	7,33±0,6
Total				60	

Lampiran 3. (Lanjutan)

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{60^2}{4 \times 3} = 300$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A1^2) + (A2^2) + (A3^2) + \dots + (D3^2) - FK \\ &= (2^2) + (4^2) + (3^2) + \dots + (7^2) - 300 \\ &= 38\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{20^2 + 20^2 + 20^2}{3} - 300 \\ &= 32,67\end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JKT} - \text{JKP} = 38 - 32,67 = 5,33$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

$$\begin{aligned}\text{c. Kuadrat Tengah Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{32,67}{3} \\ &= 10,889\end{aligned}$$

$$\text{d. Kuadrat Tengah Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{5,33}{8} = 0,667$$

$$\begin{aligned}\text{e. F hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{10,889}{0,667} \\ &= 16,333\end{aligned}$$

f. Sidik Ragam Eosinofil Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	32,67	10,889	16,333**	4,07	7,59
Acak	8	5,33	0,667			
Total	11	38,00				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

F hit > F 5% > F1%, maka hasil sidik ragam eosinofil pada ikan mas (*C. carpio*) pasca perendaman ekstrak menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Lampiran 3. (Lanjutan)

g. Menghitung Nilai BNT Eosinofil Pasca Perendaman Ekstrak

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,667}{3}} = 0,667$$

$$\text{BNT 5\%} = t \text{ tabel 5\% (db acak)} \times \text{SED} = 2,306 \times 0,667 = 1,537$$

$$\text{BNT 1\%} = t \text{ tabel 1\% (db acak)} \times \text{SED} = 3,355 \times 0,667 = 2,237$$

Tabel Uji BNT Eosinofil Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		3,00	4,00	5,67	7,33	
A (550 ppm)	3,00	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	4,00	1,00 ^{ns}	-	-	-	a
C (750 ppm)	5,67	2,67**	1,67*	-	-	b
D (850 ppm)	7,33	4,33**	3,33**	1,66*	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Orthogonal Eosinofil Pasca Perendaman Ekstrak

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	9,00	-3	1	-1
B	12,00	-1	-1	3
C	17,00	1	-1	-3
D	22,00	3	1	1
$Q = \sum(Ti Ci)$		-66	22	-2
$Kn = (\sum Ci^2) * r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		72,6	40,33	0,066

i. Sidik Ragam Regresi Eosinofil Pasca Perendaman Ekstrak

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	121,00				
Linier	1	72,6	72,6	108,9	5,32	11,26
Kuadratik	1	40,33	40,33	60,5		
Kubik	1	0,066	0,066			
Acak	8	5,33	0,667			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{72,6}{72,6 + 5,33} = 0,932$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{\text{JK Kuadratik}}{\text{JK Kuadratik+JK Acak}} = \frac{40,33}{40,33+5,33} = 0,883$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{\text{JK Kubik}}{\text{JK Kubik+JK Acak}} = \frac{0,066}{0,066+5,33} = 0,012$$

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

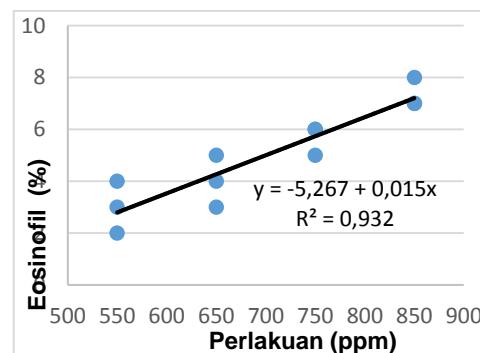
Perlakuan	x	y	xy	x2
A1	550	2	1100	302500
A2	550	4	2200	302500
A3	550	3	1650	302500
B1	650	4	2600	422500
B2	650	3	1950	422500
B3	650	5	3250	422500
C1	750	6	4500	562500
C2	750	6	4500	562500
C3	750	5	3750	562500
D1	850	8	6800	722500
D2	850	7	5950	722500
D3	850	7	5950	722500
Jumlah	8400	60	44200	6030000
Rerata	700	5	3683,33	502500

k. Mencari Persamaan

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{44200 - \frac{8400 \cdot 60,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}} \\ = 0,015$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1(\bar{x}) = 5,0 - (0,015 \times 700) = -5,267$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = -5,267 + 0,015x$



Gambar hubungan rerata eosinofil dengan perlakuan pasca perendaman ekstrak pada ikan mas

Lampiran 3. (Lanjutan)

- Pasca Infeksi Bakteri

a. Data Rerata Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Ulangan			Total	Rerata±SD
	1	2	3		
A (550 ppm)	5	5	4	14	4,67±0,6
B (650 ppm)	5	7	5	17	5,67±1,2
C (750 ppm)	9	7	7	23	7,67±1,2
D (850 ppm)	10	10	9	29	9,67±0,6
Total				83	

b. Perhitungan Sidik Ragam

$$\text{Faktor Koreksi} = \frac{\text{Total}^2}{n \times r} = \frac{83^2}{4 \times 3} = 574,083$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Total} &= (A_1^2) + (A_2^2) + (A_3^2) + \dots + (D_3^2) - FK \\ &= (5^2) + (5^2) + (4^2) + \dots + (9^2) - 574,083\end{aligned}$$

$$= 50,917$$

$$\begin{aligned}\text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum A^2 + \sum B^2 + \sum C^2 + \sum D^2}{r} - FK \\ &= \frac{29^2 + 29^2 + 25^2}{3} - 574,083 \\ &= 44,25\end{aligned}$$

$$\text{JK Acak} = \text{JKT} - \text{JKP} = 50,917 - 44,25 = 6,67$$

$$\text{Derajat Bebas (db) Total} = t * r - 1 = (4 \times 3) - 1 = 11$$

$$\text{db Perlakuan} = t - 1 = 4 - 1 = 3$$

$$\text{db Acak} = \text{db Total} - \text{db Acak} = 11 - 3 = 8$$

$$\begin{aligned}\text{c. Kuadrate Tengah Perlakuan} &= \frac{\text{JK Perlakuan}}{\text{db Perlakuan}} \\ &= \frac{44,25}{3} \\ &= 14,750\end{aligned}$$

$$\text{d. Kuadrate Tengah Acak} = \frac{\text{JK Acak}}{\text{db Acak}} = \frac{6,67}{8} = 0,833$$

$$\begin{aligned}\text{e. F hitung} &= \frac{\text{KTP}}{\text{KTA}} \\ &= \frac{14,750}{0,833} \\ &= 17,70\end{aligned}$$

Lampiran 3. (Lanjutan)

f. Sidik Ragam Eosinofil Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F5%	F1%
Perlakuan	3	44,25	14,75	17,70**	4,07	7,59
Acak	8	6,67	0,83			
Total	11	50,917				

Keterangan ** : Berbeda Sangat Nyata

F hit > F 5% > F1%, maka hasil sidik ragam eosinofil pada ikan mas (*C. carpio*) pasca infeksi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata, sehingga dilanjutkan ke Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

g. Menghitung Nilai BNT Eosinofil Pasca Infeksi Bakteri

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{2 \times \text{KT Acak}}{\text{ulangan}}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,83}{3}} = 0,745$$

$$\text{BNT } 5\% = t \text{ tabel } 5\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 2,306 \times 0,745 = 1,719$$

$$\text{BNT } 1\% = t \text{ tabel } 1\% (\text{db acak}) \times \text{SED} = 3,355 \times 0,745 = 2,501$$

Tabel Uji BNT Eosinofil Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Rerata	A	B	C	D	Notasi
		4,67	5,67	7,67	9,67	
A (550 ppm)	4,67	-	-	-	-	a
B (650 ppm)	5,67	1,00 ^{ns}	-	-	-	a
C (750 ppm)	7,67	3,00**	2,00*	-	-	b
D (850 ppm)	9,67	5,00**	4,00**	2,00*	-	c

Keterangan : Perlakuan A dan B tidak berbeda, Perlakuan C berbeda dengan perlakuan A dan B, sedangkan perlakuan D berbeda dengan perlakuan A, B dan C

h. Uji Polynomial Eosinofil Pasca Infeksi Bakteri

Perlakuan	Data (Ti)	Pembanding (Ci)		
		Linier	Kuadratik	Kubik
A	14,00	-3	1	-1
B	17,00	-1	-1	3
C	23,00	1	-1	-3
D	29,00	3	1	1
$Q = \sum(Ti Ci)$		-87	29	-3
$Kn = (\sum Ci^2)^{*} r$		60	12	60
$JK = Q^2 / Kn$		126,15	70,083	0,15

Lampiran 3. (Lanjutan)

i. Sidik Ragam Regresi Eosinofil Pasca Infeksi Bakteri

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	210,25				
Linier	1	126,15	126,15	151,38	5,32	11,26
Kubik	1	0,15	0,15			
Kuadratik	1	70,083	70,083	84,1		
Acak	8	6,67	0,833			

j. Menghitung R Square (R^2)

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ Linier}}{JK \text{ Linier} + JK \text{ Acak}} = \frac{126,15}{126,15 + 6,67} = 0,950$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ Kuadratik}}{JK \text{ Kuadratik} + JK \text{ Acak}} = \frac{70,083}{70,083 + 6,67} = 0,913$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK \text{ Kubik}}{JK \text{ Kubik} + JK \text{ Acak}} = \frac{0,15}{0,15 + 6,67} = 0,022$$

Persamaan regresi linier dengan perhitungan :

Perlakuan	x	y	Xy	x2
A1	550	5	2750	302500
A2	550	5	2750	302500
A3	550	4	2200	302500
B1	650	5	3250	422500
B2	650	7	4550	422500
B3	650	5	3250	422500
C1	750	9	6750	562500
C2	750	7	5250	562500
C3	750	7	5250	562500
D1	850	10	8500	722500
D2	850	10	8500	722500
D3	850	9	7650	722500
Jumlah	8400	83	60650	6030000
Rerata	700	7	5054,167	502500

k. Mencari Persamaan

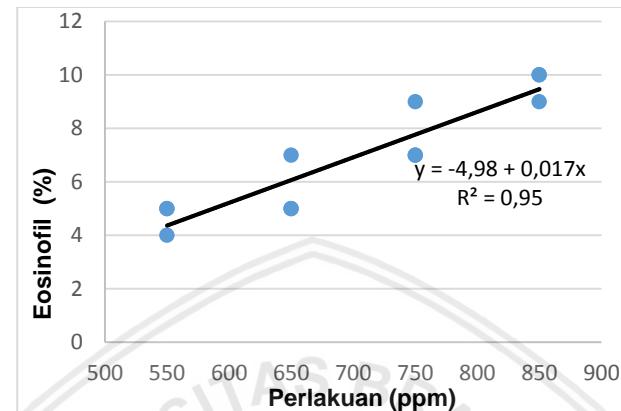
$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}} = \frac{60650 - \frac{9400 \cdot 83,00}{12}}{6030000 - \frac{(8400)^2}{12}}$$

$$= 0,017$$

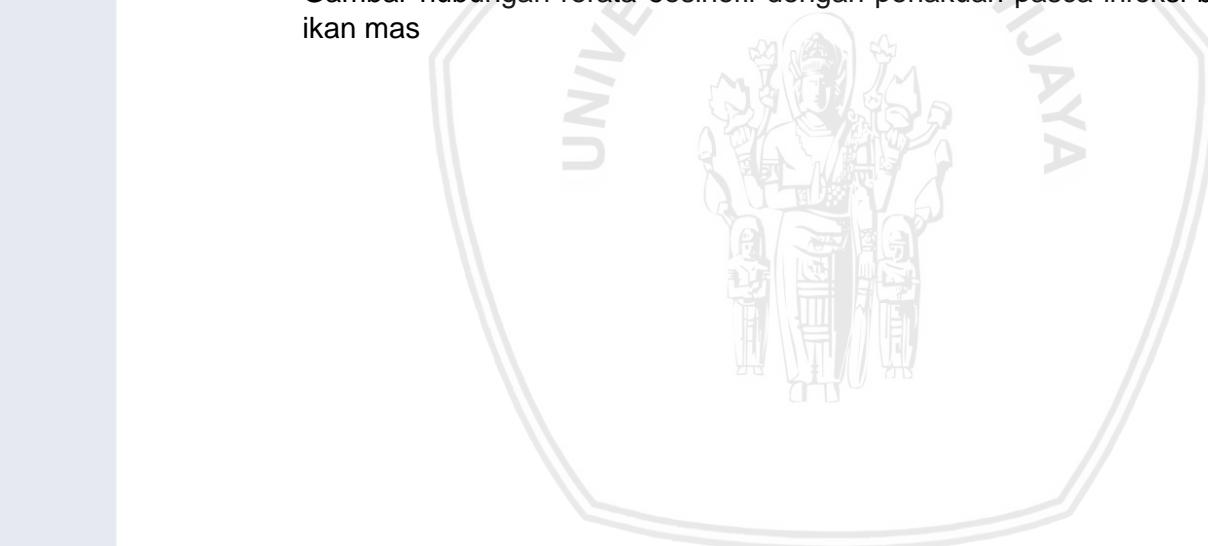
Lampiran 3. (Lanjutan)

$$b_0 = \hat{y} - b_1(\bar{x}) = 7,00 - (0,017 \times 700) = -4,98$$

Persamaan regresi linier adalah $y = b_0 + b_1x$ sehingga dapat ditulis dengan persamaan $y = -4,98 + 0,017x$



Gambar hubungan rerata eosinofil dengan perlakuan pasca infeksi bakteri pada ikan mas



Lampiran 4. Data Kualitas Air Selama Penelitian

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu (°C)		DO (mg/L)		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Rabu, 13 September 2017	A1	27		7,76		7,2	
	A2	27		7		7,3	
	A3	28		7,15		7,3	
	B1	26		7,47		7,3	
	B2	28		7,04		7,2	
	B3	27		7,28		7,2	
	C1	27		7,74		7,3	
	C2	28		6,98		7,3	
	C3	28		7,61		7,3	
	D1	26		6,98		7,4	
	D2	27		7,73		7,3	
	D3	27		7,49		7,4	
	K-1	27		6,72		7,2	
	K-2	27		7,51		7,3	
	K-3	28		7,84		7,3	
Kamis, 14 September 2017	K+1	27		7,49		7,2	
	K+2	26		7,4		7,3	
	K+3	26		7,29		7,4	
	A1	27	27	6,75	6,99	7,4	6,7
	A2	27	28	7,21	7,12	7,3	6,6
	A3	28	28	7,14	7,45	7,4	6,4
	B1	27	27	7,1	7,25	7,4	6,7
	B2	26	28	6,9	7,24	7,4	6,5
	B3	26	26	6,75	7,11	7,5	6,4
	C1	26	27	6,15	6,9	7,3	6,5
	C2	27	26	7,21	6,89	7,4	6,7
	C3	27	26	7,52	7,05	7,3	6,8
	D1	27	26,5	7,5	7,1	7,3	6,4
	D2	26	27	7,61	7,08	7,3	6,7
	D3	27	27	7,12	6,98	7,4	5,8
	K-1	27	27	6,97	7,12	7,3	6,8
	K-2	27	26	6,99	7,15	7,3	6,7
	K-3	27	26	7,12	7,04	7,3	6,8
	K+1	27	26	7,12	6,12	7,3	6,4
	K+2	26	26	7,15	6,78	7,3	6,8
	K+3	26	26	7,19	6,98	7,4	6,7

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu (°C)		DO (mg/L)		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Jum'at, 15 September 2017	A1	28	27	6,99	4,72	7,4	6,5
	A2	28	26	7,04	4,66	7,3	6,7
	A3	29	29	7,15	4,55	7,5	6,8
	B1	27	26	7,21	4,59	7,1	6,6
	B2	28	28,5	7,2	4,52	7,2	6,8
	B3	27	26	7,4	4,23	7,5	6,6
	C1	28	27	7,5	4,68	7,4	6,7
	C2	29	27,5	7,15	4,71	7,2	6,7
	C3	27	28	6,98	4,63	7,5	6,5
	D1	28	28	6,98	4,06	7,4	6,7
	D2	26	26	6,91	5,02	7,4	6,9
	D3	28	26	7,15	4,51	7,2	6,7
	K-1	28,5	27	7,15	4,94	7,3	6,9
	K-2	28	27	7,17	4,51	7,3	6,6
	K-3	27	27	7,22	4,46	7,3	6,8
Sabtu, 16 September 2017	K+1	27	28	7,41	5,04	7,5	6,6
	K+2	27	27	7,35	4,92	7,3	6,7
	K+3	26	26	7,3	5,06	7,4	6,7
	A1	25,9	26	5,99	6,19	7,4	7,4
	A2	25,4	27	8,56	7,21	7,3	7,4
	A3	26,3	27	5,98	8,01	7,4	7,3
	B1	25,8	27	6,53	6,98	7,4	7,3
	B2	25,9	27	8,51	7,15	7,3	7,3
	B3	25,9	26	6,24	7,59	7,3	7,3
	C1	25,4	27	7,81	6,75	7,4	7,3
	C2	25,5	27	6,18	7,15	7,5	7,4
	C3	25,5	28	6,73	7,69	7,3	7,3
	D1	26,1	27	6,33	7,71	7,5	7,4
	D2	25,6	27	6,27	7,61	7,4	7,4
	D3	25,6	27	6,3	7,15	7,2	7,3
	K-1	25,8	28	6,72	7,12	7,4	7,3
	K-2	25,9	27	6,72	7,15	7,3	7,4
	K-3	26,1	28	5	7,51	7,3	7,3
	K+1	25,8	28	6,34	7,61	7,5	7,3
	K+2	25,6	27	7,2	7,45	7,3	7,3
	K+3	26,3	27	6,41	7,21	7,4	7,3

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu (°C)		DO (mg/L)		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Minggu, 17 September 2017	A1	25,8	26	6,91	6,21	7,5	7,5
	A2	26	27	7,19	6,51	7,3	7,3
	A3	25,7	26	7,3	6,75	7,4	7,3
	B1	25,6	26	7,5	6,98	7,3	7,4
	B2	25,5	26,5	7,69	7,21	7,4	7,4
	B3	26,1	27	7,71	7,35	7,3	7,3
	C1	26,3	27	7,61	7,15	7,5	7,4
	C2	25,8	27	7,22	7,17	7,4	7,4
	C3	25,8	26,6	7,51	7,35	7,4	7,5
	D1	26,2	26	7,41	7,79	7,4	7,1
	D2	26,1	26	6,98	7,21	7,2	7,3
	D3	25,7	26	6,67	7,31	7,3	7,4
	K-1	25,8	27	6,78	7,21	7,3	7,3
	K-2	26	27	7,11	7,89	7,4	7,3
	K-3	26	26	7,21	6,95	7,3	7,4
Senin, 18 September 2017	K+1	26,2	27,5	7,61	7,15	7,4	7,3
	K+2	25,8	27	7,58	7,3	7,2	7,2
	K+3	25,9	27	7,11	7,57	7,4	7,4
	A1	25	25,6	7,16	6,7	7,5	6,4
	A2	26	25,6	7,28	6,57	7,3	6,5
	A3	26	25,8	7,07	7,29	7,2	6,5
	B1	26	25,6	6,59	6,76	7,4	6,5
	B2	27	25,8	5,98	7,24	7,4	6,5
	B3	26,1	25,5	5,75	9,16	7,3	6,8
	C1	25,7	25,7	6,15	7,52	7,4	6,5
	C2	25,8	25,7	6,75	6,85	7,4	6,5
	C3	26,2	25,6	7,02	6,43	7,4	6,5
	D1	25,8	25,5	7,15	8,48	7,5	6,7
	D2	25,9	25,6	7,19	6,37	7,2	6,5
	D3	26	25,7	7,2	7,02	7,2	6,3
	K-1	26	25,6	7,15	6,56	7,3	6,4
	K-2	25,8	25,7	7,19	7,13	7,3	6,2
	K-3	26	25,7	7,41	8,5	7,4	6,4
	K+1	25,7	25,6	7,51	7,31	7,5	6,4
	K+2	25,6	25,6	7,69	7,22	7	6,5
	K+3	25,5	25,6	7,24	7,96	7,3	6,6

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu (°C)		DO (mg/L)		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Selasa, 19 September 2017	A1	25,1	26	6,99	7,61	7,5	7,3
	A2	25	27	6,23	7,2	7,3	7,1
	A3	25,5	27	6,57	8,35	7,3	6,9
	B1	25,1	27,5	6,34	8,99	7,3	7,1
	B2	25,1	26,5	7,18	8,06	7,5	7,2
	B3	25,1	26	6,55	7,33	7,4	6,8
	C1	25,4	27	6,73	7,83	7,3	6,9
	C2	25,4	27	6,95	7,4	7,2	6,9
	C3	24,5	27	8,13	8,12	7,4	7,1
	D1	25,1	27	6,6	8,06	7,4	6,9
	D2	24,9	26,5	6,71	7,06	7,2	6,9
	D3	25,5	27	5,83	6,71	7,2	6,9
	K-1	25,1	27	6,21	6,89	7,1	6,9
	K-2	25,6	27	7,01	6,99	7,4	6,9
	K-3	25,3	26	7,09	6,73	7,3	7,1
Rabu, 20 September 2017	K+1	24,9	27	7,01	6,29	7,4	6,8
	K+2	25,2	27	7,29	6,42	7,1	6,9
	K+3	25,3	26	6,94	6,25	7,4	6,8
	A1	25,3	25,4	6,57	6,71	7,4	7,3
	A2	24,8	25,3	7,15	7,25	7,2	7,2
	A3	25,7	25,6	7,25	7,15	7,3	7,3
	B1	25,1	25,1	7,14	7,14	7,1	7,4
	B2	25,6	24,8	7,57	7,15	7,4	7,2
	B3	25,3	24,7	7,88	7,57	7,2	7,3
	C1	25,3	25,3	6,21	7,21	7	7,3
	C2	25,1	25,4	7,16	6,21	7,2	7,2
	C3	24,7	25,8	7,87	7,16	7,3	7,1
	D1	25,4	25,3	6,76	7,87	7,2	7,1
	D2	25,3	25,2	7,08	7,08	7	7,3
	D3	25,2	25,3	7,07	7,06	7,1	7,1
	K-1	25,2	25,6	7,51	7,31	7,1	7,3
	K-2	25,3	25,3	7,03	7,41	7,2	7,4
	K-3	25,6	24,7	6,09	7,03	7,2	7,1
	K+1	25,3	24,8	7,5	6,91	7,2	7,3
	K+2	25,1	25,7	6,79	7,51	7,2	7,3
	K+3	25,8	25,3	7,16	7,16	7,2	7,1

Lampiran 4. (Lanjutan)

Tanggal	Perlakuan	Kualitas Air					
		Suhu (°C)		DO (mg/L)		pH	
		Pagi	Sore	Pagi	Sore	Pagi	Sore
Kamis, 21 September 2017	A1	25	27	7,62	7,49	7,3	7,3
	A2	25,4	28	7,24	7,25	7,3	7,2
	A3	26	27	7,04	7,38	7,4	7,1
	B1	25,5	27,5	7,41	7,84	7,4	7,1
	B2	25,6	27,5	6,25	7,71	7,3	7,2
	B3	25,4	27	6,21	7,41	7,3	7,2
	C1	25,6	27	6,67	7	7,4	7,3
	C2	25,4	27,5	6,54	7,11	7,4	7,3
	C3	25,3	27	6,72	7,51	7,3	7,3
	D1	25,4	27	6,81	7,01	7,3	7,3
	D2	25,5	27	7,78	7,08	7,3	7,3
	D3	25,4	27	6,4	7,15	7,4	7,2
	K-1	25,5	28	7,09	6,72	7,3	7,2
	K-2	25,5	27,5	7,12	7,28	7,3	7,3
	K-3	25,4	27	5,44	7,84	7,2	7,3
Jum'at, 22 September 2017	K+1	25,5	27	7,58	7,29	7,3	7,3
	K+2	25,4	27,5	7,34	7,52	7,4	7,2
	K+3	25,8	27	6,76	7,4	7,4	7,2
	A1	24,8	25,6	7,39	7,76	7,3	7,2
	A2	24,7	25,7	7,73	7	7,2	7,3
	A3	25,5	25,7	7,38	7,15	7,3	7,3
	B1	24,6	25,6	7,76	7,47	7,3	7,3
	B2	25,1	25,6	6,89	7,04	7,3	7,2
	B3	24,8	25	7,94	7,28	7,3	7,2
	C1	25,1	26	7	7,74	7,4	7,3
	C2	25	25,4	7,4	6,98	7,2	7,3
	C3	24,7	25,3	7,47	7,61	7,2	7,3
	D1	25,3	25,6	7	6,98	7,2	7,4
	D2	25,3	25,1	7,01	7,73	7,2	7,3
	D3	25	26,1	7,61	7,49	7,3	7,4
	K-1	25	25,7	7,52	6,72	7,3	7,2
	K-2	25,3	27	7,28	7,51	7,3	7,3
	K-3	25	27	6,22	7,84	7,1	7,3
	K+1	25,1	28	7,29	7,49	7,3	7,2
	K+2	25,1	27,5	7,84	7,4	7,3	7,3
	K+3	25,5	27,8	7,64	7,29	7,3	7,4