

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK ASAM HUMAT TANAH GAMBUT TERHADAP
HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIUJI
TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

AMRIJED



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH
PONTIANAK**

2019

SURAT PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPASHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “ Pengaruh Ekstrak Asam Humat Tanah Gambut Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas Hydrophilla* adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum di ajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi maupun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustakadi bagian akgir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Muhammadiyah Pontianak.

Pontianak, 28 Agustus 2019

Yang Membuat Pernyataan



Amrijed

151110215

RINGKASAN

AMRIJED. Pengaruh Ekstrak Asam Humat Tanah Gambut Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila* Di bawah bimbingan HENDRI YANTO dan EKO PRASETIO

Di Indonesia ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang digemari masyarakat dalam memenuhi kebutuhan protein hewani karena memiliki daging yang tebal serta rasa yang enak. Di pontianak ikan nila merupakan ikan yang biasanya diibudidayakan di keramba di sepanjang aliran Sungai Kapuas. Walaupun ikan nila merupakan ikan yang dapat bertahan hidup pada lingkungan yang kualitas airnya buruk, namun pembudidaya harus tetap waspada, karena dalam melakukan budidaya ikan nila tidak terlepas dari infeksi penyakit bakteri yang dampaknya akan sangat merugikan para pembudidaya ikan nila. Serangan hama dan penyakit merupakan permasalahan terpenting dalam pengembangan budidaya ikan nila. Penyakit bakterial yang kerap kali terjadi dan menjadi kendala pada pembudidaya ikan Nila antara lain disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Salah satu indikator untuk mengetahui keadaan kesehatan ikan, terinfeksi suatu penyakit (terutama bakteri) atau tidak adalah melalui profil darah ikan tersebut. Ikan yang terinfeksi akan mengalami perubahan pada konsentrasi hemoglobin, jumlah leukosit dan eritrosit. Oleh karena itu sangat menarik untuk diteliti apakah korelasi antara bakteri yang menginfeksi ikan akan mempengaruhi kondisi profil darah ikan tersebut. Usaha penanganan penyakit akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* yang cukup efisien antara lain dengan menggunakan bahan alami yang ada di lingkungan.

Salah satu bahan yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi infeksi bakteri pada ikan nila yaitu asam humat tanah gambut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila* dan menentukan kadar asam humat yang efektif terhadap hematologi ikan nila. Hasil penelitian ini diharap dapat memberi informasi ilmiah mengenai pemanfaatan tanah gambut serta pengaruh estrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Basah Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muhammadiyah Pontianak. Penelitian ini dilakukan selama 21 hari. Peneliti ini menggunakan 150 ekor ikan nila, dengan padat tebar 10 ekor per wadah. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Basah Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Kabupaten Kubu Raya. Penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan terdiri atas Perlakuan A (0,0%/kg pakan tanpa ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*), perlakuan B (0,0%/kg psksn + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*), perlakuan C (0,5%/kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*), perlakuan D (1%/kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*) dan E (1,5%/ kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*). Rancangan percobaan digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kemudian variabel yang diamati meliputi, eritrosit, leukosit, hematokrit, hemoglobin, perubahan bobot, kelangsungan hidup (SR) dan kualitas air. Selanjutnya data untuk pengamatan hematologi dan SR dianalisis menggunakan uji ragam (ANOVA). Sedangkan data perubahan bobot dan kualitas air dianalisis secara deskriptif

Penambahan ekstrak asam humat ke pakan dapat mempengaruhi secara nyata ($P > 0.5$) hasil pengamatan dari pengaruh penggunaan asam humat tanah gambut, maka dapat diketahui bahwa perlakuan D (1%/kg ikan) memberikan hasil yang tertinggi pada eritrosit, hematokrit dan hemoglobin. Perlakuan D (1%) merupakan perlakuan yang terbaik terhadap hematologi ikan nila (*oreochromis niloticus*).

Kata Kunci : Ikan Nila, Asam Humat, *Aeromonas hydrophila*, hematologi

© Hak Cipta Milik Universitas Muhammadiyah Pontianak, Tahun 2019

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan Universitas Muhammadiyah Pontianak.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin Universitas Muhammadiyah Pontianak.

**PENGARUH EKSTRAK ASAM HUMAT TANAH GAMBUT TERHADAP
HEMATOLOGI IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIUJI
TANTANG BAKTERI *Aeromonas hydrophila***

AMRIJED

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Perikanan pada
Program Studi Budidaya Perairan

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH

PONTIANAK

2019

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Pengaruh Ekstrak Asam Humat Tanah Gambut Terhadap Hematologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophyla*
Nama : Amrijed
NIM : 151110215
Program Studi : Budidaya Perairan
Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Di setujui Oleh :

Pembimbing I



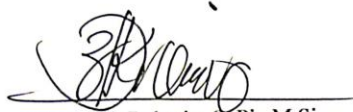
Dr. Ir. Hendry Yanto, M.Si.
NIDN. 0010126711

Pembimbing II



Eko Prasctio, S.Pi., MP.
NIDN. 1112048501

Penguji I



Eka Indah Raharjo, S. Pi., M.Si.
NIDN. 1102107401

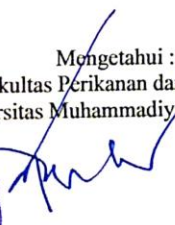
Penguji II



Rudi Alfian, S.Pi., MP.
NIDN. 1112118201

Mengetahui :

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Muhammadiyah Pontianak



Dr. Ir. Eko Dewantoro, M.Si
NIDN. 0027096509

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan bulan Juli-Agustus 2019 ialah reproduksi, dengan judul berjudul "Pengaruh Ekstrak Asam Humat Tanah Gambut Terhadap Hematologi Ikan (*Oreochromis niloticus*) Yang Diuji Tantang Bakteri *Aeromonas hydrophila*".

Ucapan terimakasih disampaikan kepada :

1. Bapak Dr.Ir.Eko Dewantoro, M.Si selaku Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muhammadiyah Pontianak.
2. Bapak Dr. Ir. Hendry Yanto, M.Si selaku dosen pembimbing I
3. Bapak Eko Prasetyo, S.Pi.,MP. Selaku dosen pembimbing II
4. Bapak Eka Indah Raharjo, S.Pi., M.Si, Selaku dosen Penguji I
5. Bapak Rudi Alfian, S.Pi., MP.
6. Untuk orang tua, saudara, kerabat yang telah banyak membantu baik moril maupun materil
7. Semua pihak yang telah membantu memberikan saran, gagasan dalam penelitian skripsi.
Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Pontianak, Agustus 2019



Amrijed

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL.....	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR LAMPIRAN	v
BAB I .PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
1.5 Hipotesis.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Nila.....	6
2.1.1 Klasifikasi Ikan Nila	6
2.1.2 Morfologi Ikan Nila	7
2.1.3 Habitat Ikan Nila.....	7
2.1.4 Sistem Kekebalan Tubuh Ikan.....	7
2.1.5 Hematologi Ikan Nila	8
2.2 Tanah Gambut	10
2.2.1 Morfologi Tanah Gambut	10
2.2.2 Asam Humat	12
2.3 Aeromonas Hydrophila	13
2.3.1 Klasifikasi Aeromonas Hydrophila	13
2.3.2 Karakteristik Aeromonas Hydrophila	14
2.4 Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler	15

2.4.1 Fase Inflamasi	15
2.4.2 Fase Proliferasi.....	18
2.4.3 Fase Maturasi (Remodeling).....	21
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Bahan dan Alat.....	23
3.3 Rancangan Penelitian.....	24
3.4 Prosedur Penelitian.....	26
3.4.1 Persiapan Alat dan Bahan	27
3.4.2 Adaptasi Ikan Uji	27
3.4.3 Penyediaan Bakteri.....	28
3.4.4 Pembuatan Ekstrak Asam Humat Tanah Gambut.....	28
3.4.5 Pencampuran Ekstrak Asam Humat Dengan Pakan	28
3.4.6 Pemeliharaan Ikan.....	29
3.4.7 Uji Tantang.....	29
3.5 Variabel Pengamatan	29
3.5.1 Hematologi.....	29
3.5.1.1 Perhitungan Jumlah Eritrosit.....	30
3.5.1.2 Perhitungan Total Leukosit.....	30
3.5.1.3 Perhitungan Kadar Hematokrit	31
3.5.1.4 Perhitungan Jumlah Hemoglobin	31
3.5.2 Perubahan Bobot.....	31
3.5.3 Kelangsungan Hidup.....	32
3.5.3 Kualitas Air	32
3.6 Analisis Data.....	33

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hematologi.....	36
4.1.1 Eritrosit.....	36
4.1.2 Leukosit.....	39
4.1.3 Hematokrit.....	42
4.1.3 Hemoglobin.....	44
4.2 Perubahan Bobot.....	46
4.3 Tingkat Kelangsungan Hidup.....	48
4.4 Kualitas Air.....	50

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	52
5.2 Saran.....	53

DAFTAR PUSTAKA.....	54
---------------------	----

DAFTAR TABEL

No Teks	Halaman
1. Alat dan Bahan.....	23
2. Modul Susunan Data Untuk RAL.....	25
3. Analisa Ragaman Untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL).....	33
4. Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan Nila	47
5. Pengukuran Kualitas Air	51

DAFTAR GAMBAR

No	Teks	Halaman
1.	Ikan Nila	6
2.	Tata Letak Unit Percobaan	25
3.	Diagram Alir Penelitian	26
4.	Sel Eritrosit Ikan Nila.....	36
5.	Jumlah Eritrosit Ikan Nila	37
6.	Sel Leukosit Ikan Nila.....	40
7.	Jumlah Sel Leukosit Ikan Nila	41
8.	Jumlah Kadar Hematokrit Ikan Nila	43
9.	Kadar Hemoglobin Ikan Nila	45
10.	Perubahan Bobot Ikan Nila	47
11.	Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan Nila	49

DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Lampiran 1. Tabel Nomor Acak Perlakuan Ulangan	60
2.	Lampiran 2. Uji Normalitas Lilliefors Sel Eritrosit Ikan Nila	61
3.	Lampiran 3. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Sel Eritrosit Ikan Nila	62
4.	Lampiran 4. Sidik Ragam sel eritrosit ikan nila.....	63
5.	Lampiran 5. Koefesien keragaman eritrosit ikan nila	64
6.	Lampiran 6. Uji Duncan Eritrosit Ikan Nila.....	65
7.	Lampiran 7. Uji Normalitas Lilliefors Sel Leukosit Ikan Nila	66
8.	Lampiran 8. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Leukosit Ikan Nila.....	67
9.	Lampiran 9. Sidik Ragam sel leukosit ikan nila.....	68
10.	Lampiran 10. Uji Normalitas Lilliefors Hematokrit Ikan Nila	69
11.	Lampiran 11. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Hematokrit Ikan Nila	70
12.	Lampiran 12. Sidik Ragam Hematokrit ikan nila	71
13.	Lampiran 13. Koefesien keragaman Hematokrit ikan nila	72
14.	Lampiran 14. Uji BNT hematokrit Ikan Nila.....	73
15.	Lampiran 15. Uji Normalitas Lilliefors Hemoglobin Ikan Nila.....	74
16.	Lampiran 16. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Hemoglobin Ikan Nila.....	75
17.	Lampiran 17. Sidik Ragam Hemoglobin ikan nila.....	76
18.	Lampiran 18. Koefesien Keragaman Hemoglobin Ikan Nila.....	77
19.	Lampiran 19. Uji Duncan Hemoglobin Ikan Nila.....	78
20.	Lampiran 20. Tabel Perubahan Bobot Ikan Nila.....	79
21.	Lampiran 21. Uji Normalitas Lilliefors Perubahan Bobot Ikan Nila.....	80
22.	Lampiran 22. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Perubahan Bobot Ikan Nila	81
23.	Lampiran 23. Sidik Ragam Perubahan Bobot Ikan Nila.....	82
24.	Lampiran 24. Koefesien Keragaman Perubahan Bobot Ikan Nila.....	83
25.	Lampiran 25. Uji Duncan Perubahan Bobot Ikan Nila	84
26.	Lampiran 26. Uji Normalitas Lilliefors SR Ikan Nila.....	85
27.	Lampiran 27. Uji Homogenitas Ragam Bartlet SR Ikan Nila.....	86
28.	Lampiran 28. Sidik Ragam SR Ikan Nila.....	87
29.	Lampiran 29. Koefesien Keragaman SR Ikan Nila.....	88
30.	Lampiran 30. Uji Duncan SR Ikan Nila.....	89
31.	Lampiran 31. Foto Dokumentasi.....	90

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang digemari masyarakat dalam memenuhi kebutuhan protein hewani karena memiliki daging yang tebal dan rasa yang enak, selain itu keunggulan ikan nila juga dapat bertahan hidup pada lingkungan yang kualitas airnya kurang baik dan pH yang asam (Cahyono, 2000). Kemudian ikan nila juga merupakan ikan yang potensial untuk dibudidayakan karena mampu beradaptasi, misalnya dapat hidup pada kondisi lingkungan dengan kisaran salinitas yang luas (Hadi *et al.*, 2009). Sekarang ikan ini telah tersebar ke negara-negara di lima benua yang beriklim tropis dan subtropis. Namun demikian wilayah yang beriklim dingin (sub tropis), ikan nila tidak dapat hidup baik (Sugiarto, 1988).

Produksi ikan nila di Kalimantan Barat, khusus kolam budidaya pada tahun 2012 sebesar 38,92 ton, angka ini menunjukkan bahwa hasil budidaya ikan nila masih rendah dibanding dengan produksi perikanan air tawar lain seperti ikan mas dengan jumlah produksi sebesar 44,46 ton pada tahun 2012 (Dinas Kelautan dan Perikanan KALBAR, 2012). Oleh karena itu pengembangan budidaya ikan nila perlu terus ditingkatkan.

Di Pontianak ikan nila merupakan ikan yang biasanya dibudidayakan di keramba di sepanjang aliran Sungai Kapuas. Walaupun ikan nila merupakan ikan yang dapat bertahan hidup pada lingkungan yang kualitas airnya buruk, namun pembudidaya harus tetap waspada karena dalam melakukan budidaya ikan nila tidak terlepas dari infeksi penyakit bakteri yang dampaknya akan sangat merugikan para pembudidaya ikan nila. Serangan hama dan penyakit merupakan permasalahan terpenting dalam pengembangan budidaya ikan nila.

Penyakit pada ikan timbul karena adanya interaksi yang tidak seimbang antara inang, lingkungan dan patogen. Salah satu organisme penyebab penyakit yang menyerang ikan adalah bakteri, (Azhari, *et.al.*, 2014).

Penyakit bakterial yang kerap kali terjadi dan menjadi kendala pada pembudidaya ikan Nila antara lain disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila*. Habitat dari bakteri tersebut banyak terdapat di air tawar, tanaman air serta tubuh ikan. Hal ini berpeluang besar untuk terjadinya infeksi pada ikan ketika sistem pertahanan tubuh ikan mengalami penurunan akibat stress dan kondisi lingkungan yang kurang baik (Swann dan White, 1989). *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan penyakit pada ikan (Giyarti 2000). Bakteri ini menyerang berbagai spesies ikan air tawar, salah satunya adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Rasch *et al.* 2004).

Zainun (2007) menjelaskan bahwa salah satu indikator untuk mengetahui keadaan kesehatan ikan, terinfeksi suatu penyakit (terutama bakteri) atau tidak adalah melalui profil darah ikan tersebut. Ikan yang terinfeksi akan mengalami perubahan pada konsentrasi hemoglobin, jumlah leukosit dan eritrosit. Oleh karena itu sangat menarik untuk diteliti apakah korelasi antara bakteri yang menginfeksi ikan akan mempengaruhi kondisi profil darah ikan tersebut. Usaha penanganan penyakit akibat infeksi bakteri *A. hydrophila* yang cukup efisien antara lain dengan menggunakan bahan alami yang ada di lingkungan.

Salah satu bahan yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi infeksi bakteri pada ikan nila yaitu asam humat tanah gambut. Berdasarkan hasil penelitian Kodama *et al.* (2007) yang menggunakan ekstrak humat dari gambut subtropis untuk meningkatkan nilai sintasan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas salmonicida* dan juga penelitian mengenai pemberian senyawa humat dari tanah gambut tropis Kalimantan terhadap profil hematologi ikan telah dilakukan pada ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn) (Rousdi dan wijayanti, 2016). Penelitian mengenai pemberian senyawa humat dari tanah gambut tropis Kalimantan terhadap profil hematologi ikan telah dilakukan pada ikan mas (*Cyprinus carpio* Linn) dengan perlakuan asam humat 1%, 3%, 5% dari berat pakan selama 21 hari, menunjukkan nilai terbaik eritrosit dan hematokrit pada perlakuan 1% (Rousdi dan wijayanti, 2016).

Menurut Agus dan Subiksa (2008) bahwa kandungan mineral gambut di Indonesia umumnya kurang dari 5% dan sisanya adalah bahan organik. Fraksi organik terdiri dari senyawa-senyawa humat sekitar 10 hingga 20% dan sebagian besar lainnya adalah senyawa lignin, selulosa, hemiselulosa, lilin, tannin, resin, suberin, protein, dan senyawa lainnya. Manfaat asam humat yang telah diketahui adalah meningkatkan kesuburan tanah. Namun beberapa penelitian mengungkap manfaat lain asam humat di bidang kesehatan. Kompleksitas struktur asam humat memungkinkan senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis dalam tubuh organisme (Stevenson 1994). Asam humat mempunyai potensi antioksidan atau kemampuan menangkap radikal bebas disebabkan oleh banyaknya gugus oksigen reaktif seperti karboksil, hidroksil, dan keton (Vetvicka et al. 2010). Asam humat mampu menghambat bakteri sehingga mengurangi tingkat mikotoksin (Wang *et al.* 2008).

Mengingat besarnya manfaat senyawa humat maka penggunaan asam humat tanah gambut untuk pencegahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *aeromonas hydrophila* yang di amati melalui hematologi ikan nila.

1.2 Rumusan Masalah

Penyakit pada ikan merupakan salah satu masalah serius yang dihadapi oleh para pembudidaya ikan karena berpotensi menimbulkan kerugian yang sangat besar, berupa kematian dan menyebabkan penurunan kualitas ikan sehingga secara ekonomis berakibat pada penurunan harga jual ikan (Mariyono dan Agus 2005). Penyakit pada ikan disebabkan antara lain oleh parasit, bakteri, ataupun jamur (Syawal dan Hidayah 2008). *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu jenis bakteri patogen yang dapat menimbulkan penyakit pada ikan (Giyarti 2000). Bakteri ini menyerang berbagai spesies ikan air tawar, salah satunya adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

Oleh karena itu perlu adanya pencegahan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* salah satu cara adalah dengan penggunaan imunostimulan berupa ekstrak asam humat tanah gambut sehingga dapat meningkatkan sistem kekebalan

tubuh baik spesifik maupun non-spesifik, karena dapat meningkatkan aktifitas fagositosis dari pertahanan seluler dan respon imun (Suksamran, 2003). Asam humat mampu menghambat bakteri dan pertumbuhan virus, sehingga mengurangi tingkat mikotoksin (Wang *et al.* 2008). Asam humat merupakan bahan yang banyak terkandung pada tanah gambut namun di Kalimantan, tetapi asam humat belum banyak dimanfaatkan untuk budidaya perairan khususnya untuk ikan nila. Oleh karena itu perlu adanya kajian terhadap ekstrak asam humat tanah gambut serta pengaruhnya terhadap imun ikan nila yang diteliti melalui hematologi ikan nila yang diuji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*.

Berdasarkan uraian tersebut dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ekstrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila yang diuji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*.
2. Berapa kadar asam humat yang efektif terhadap hematologi ikan nila yang diuji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila* dan menentukan kadar asam humat yang efektif terhadap hematologi ikan nila.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharap dapat memberi informasi ilmiah mengenai pemanfaatan tanah gambut serta pengaruh ekstrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian adalah :

Ho : Ekstrak asam humat tanah gambut tidak berpengaruh nyata terhadap hematologi ikan nila yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophyla*

Hi : Ekstrak asam humat tanah gambut berpengaruh nyata terhadap hematologi ikan nila yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophyla*

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila

2.1.1 Klasifikasi ikan nila

Terdapat tiga jenis ikan nila yang dikenal, yaitu nila biasa, nila merah (nirah) dan nila albino (Sugiarto, 1988). Menurut Saanin (1984), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichtyes
Subkelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Subordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>



Gambar 1 Ikan nila (*oreochromis niloticus*)

2.1.2 Morfologi ikan nila

Menurut Saanin (1968), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mempunyai ciri-ciri bentuk tubuh bulat pipih, punggung lebih tinggi, pada badan dan sirip ekor (caudal fin) ditemukan garis lurus (vertikal). Pada sirip punggung ditemukan garis lurus memanjang. Ikan Nila (*oreochormis niloticus*) dapat hidup diperairan tawar dan mereka menggunakan ekor untuk bergerak, sirip perut, sirip dada dan penutup insang yang keras untuk mendukung badannya. Nila memiliki lima buah Sirip, yaitu sirip punggung (dorsal fin), sirip dada (pectoral fin) sirip perut (ventral fin), sirip 3 anal (anal fin), dan sirip ekor (caudal fin). Sirip punggungnya memanjang dari bagian atas tutup insang sampai bagian atas sirip ekor. Terdapat juga sepasang sirip dada dan sirip perut yang berukuran kecil dan sirip anus yang hanya satu buah berbentuk agak panjang. Sementara itu, jumlah sirip ekornya hanya satu buah dengan bentuk bulat.

2.1.3 Habitat ikan nila

Menurut Harrysu (2012) Ikan nila merupakan ikan konsumsi yang umum hidup di perairan tawar, terkadang ikan nila juga ditemukan hidup di perairan yang agak asin (payau). Ikan nila dikenal sebagai ikan yang bersifat euryhaline (dapat hidup pada kisaran salinitas yang lebar). Ikan nila mendiami berbagai habitat air tawar, termasuk saluran air yang dangkal, kolam, sungai dan danau. Ikan nila dapat menjadi masalah sebagai spesies invasif pada habitat perairan hangat, tetapi sebaliknya pada daerah beriklim sedang karena ketidakmampuan ikan nila untuk bertahan hidup di perairan dingin, yang umumnya bersuhu di bawah 21 ° C). Ikan Nila (*oreochormis niloticus*) adalah termasuk campuran ikan pemakan campuran (omnivora) (Mudjiman,2001).

2.1.4 Sistem Kekebalan Tubuh Ikan

Menurut Anderson (1995), ikan memiliki sistem kekebalan tubuh untuk melawan berbagai macam penyakit yang terdiri dari sistem kekebalan non spesifik dan spesifik. Ikan merupakan organisme hidup bebas dari tahap embrionik awal

kehidupan yang bergantung pada sistem kekebalan tubuh bawaan mereka untuk bertahan hidup.

Sistem kekebalan non spesifik adalah suatu sistem pertahanan tubuh yang berfungsi untuk melawan segala jenis patogen yang menyerang dan bersifat alami dan juga merupakan sistem kekebalan bawaan (*innate immunity*), yaitu respon perlawanan terhadap zat asing yang dapat terjadi walaupun tubuh sebelumnya tidak pernah terpapar oleh zat tersebut (Anderson 1995).

Sistem kekebalan non spesifik meliputi sistem pertahanan pertama dan kedua. Pertahanan pertama merupakan sistem pertahanan fisik, yang terdiri dari sisik, kulit, dan mukus. Sisik dan kulit berfungsi sebagai pelindung ikan dari luka, selain itu juga berperan penting sebagai pengendali osmolaritas tubuh. Sisik dan kulit yang rusak akan mempermudah kerja patogen untuk menginfeksi inang. Sedangkan mukus bertugas untuk menghambat perkembangan kolonisasi mikroorganisma pada insang, kulit, dan mukosa. Sedangkan sistem kekebalan spesifik merupakan sistem pertahanan yang melibatkan reaksi antigen-antibodi (Anderson 1995).

2.1.5 Hematologi Ikan Nila

Sistem imun ikan pada umumnya hampir sama dengan hewan vertebrata lain, perbedaan hanya terletak pada organ pembentukannya, proses pembentukan serta jenis dan komponen imunnya. Sistem ini sangat tergantung pada suhu dan dipengaruhi faktor lingkungan yang lain. Ketika antigen masuk kedalam tubuh akan difagosit oleh makrofag selanjutnya makrofag akan mengirim kepada limposit yang aktif. Limposit akan membelah diri (proliferasi) dan akan membentuk antibodi (Anderson dan Siwicki, 1993).

Sel darah ikan berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh ikan. Darah mengalami perubahan-perubahan yang sangat serius khususnya terkena infeksi oleh bakteri (Amlacher, 1970). Kelebihan dan kekurangan sumber makanan dapat

mempengaruhi sistem imun ikan dengan mempengaruhi komposisi darah (perubahan pada level protein total, hemoglobin dan eritrosit total).

Sel darah merah (eritrosit) ikan mempunyai inti umumnya berbentuk bulat dan oval tergantung pada jenis ikannya. Inti sel eritrosit terletak sentral dengan sitoplasma terlihat jernih kebiruan dengan pewarnaan giemsa (Chinabut *et al.* 1991). Jumlah eritrosit berbeda-beda pada berbagai spesies dan juga sangat dipengaruhi oleh suhu, namun umumnya berkisar antara 1-3 juta sel/mm³ (Takashima dan Hibiya 1995).

Menurut Larger *et al.* (1997) bahwa hemoglobin merupakan protein dalam eritrosit yang tersusun atas protein globin tidak berwarna dan pigmen heme yang dihasilkan yang dihasilkan dalam eritrosit dan kemampuan darah untuk mengangkut oksigen bergantung pada kadar Hb dalam darah. Anderson dan Siwicki, (1993) juga berpendapat bahwa di dalam kapiler kapiler insang, hemoglobin (Hb) bergabung dengan oksigen (O₂) membentuk oksihemoglobin (HbO). Ketika hemoglobin bergabung dengan oksigen maka 1 gram Hb dapat membawa 1,36 ml O₂. Nilai rata-rata jumlah hemoglobin pada ikan dipengaruhi oleh kondisi kesehatan ikan dan rendahnya jumlah eritrosit. Semakin rendah jumlah sel-sel darah merah maka semakin rendah kadar hemoglobin dalam darah. Meningkatnya kadar hemoglobin menunjukkan bahwa ikan berada dalam keadaan stress.

Lagler *et al.* (1977) menjelaskan bahwa sel darah putih (leukosit) ikan merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang bersifat non-spesifik, dimana leukosit ikan terdiri dari granulosit dan arganulosit. Arganulosit terdiri dari limfosit, monosit dan trombosit, sedangkan granulosit terdiri dari basofil, netrofil dan eosinofil Lagler *et al.* (1977). Jumlah sel darah putih lebih rendah dibandingkan dengan sel darah merah yaitu berkisar 200.000 sel/mm³- 150.000 sel/mm³ (Moyle dan Cech 1988). Perubahan nilai leukosit total dan persentase jenis leukosit sering dijadikan petunjuk keadaan fisiologi ikan atau indikator keberadaan penyakit pada tubuh ikan Lagler *et al.* (1977). Pada ikan *Chanel catfish* memiliki total leukosit mencapai sekitar 64.750 butir per mm³ (Chinabut

1991). Sel-sel leukosit bergerak secara aktif melalui dinding kapiler untuk memasuki jaringan yang terkena infeksi (Roberts dan Richards, 1978).

Angka *et al.* (1990) menjelaskan bahwa hematokrit ikan bervariasi tergantung pada faktor nutrisi dan umur ikan. Anak ikan dengan nutrisi yang baik mempunyai kadar hematokrit lebih tinggi daripada ikan dewasa. Kisaran kadar hematokrit darah ikan adalah sebesar 20-30% (Bond 1997). Nilai hematokrit dibawah 30% menunjukkan defisiensi eritrosit (Nabib dan Pasaribu 1989). Hematokrit yang lebih kecil dari 22% menunjukkan ikan mengalami anemia (Gallaugher *et al.*, 1995). Menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk untuk mengetahui apakah ikan terkena infeksi sehingga nafsu makan menurun sedangkan meningkatnya hematokrit dalam darah menunjukkan ikan dalam keadaan stress (Wedemeyer dan Yasutake 1977).

2.2 Tanah Gambut

2.2.1 Morfologi Tanah Gambut

Menurut Soil Survey Staff (2003) bahwa secara umum dalam klasifikasi tanah, tanah gambut dikenal sebagai Organosol atau Histosols yaitu tanah yang memiliki lapisan bahan organik dengan berat jenis (BD) dalam keadaan lembab $< 0,1 \text{ g cm}^{-3}$ dengan tebal $> 60 \text{ cm}$ atau lapisan organik dengan $\text{BD} > 0,1 \text{ g cm}^{-3}$ dengan tebal $> 40 \text{ cm}$. Karakteristik kimia lahan gambut di Indonesia sangat ditentukan oleh kandungan mineral, ketebalan, jenis mineral pada substratum (di dasar gambut), dan tingkat dekomposisi gambut dan kandungan mineral gambut di Indonesia umumnya kurang dari 5% dan sisanya adalah bahan organik. Fraksi organik terdiri dari senyawa-senyawa humat sekitar 10 hingga 20% dan sebagian besar lainnya adalah 10 senyawa lignin, selulosa, hemiselulosa, lilin, tannin, resin, suberin, protein, dan senyawa lainnya (Agus dan Subiksa 2008). Lahan gambut adalah lahan yang memiliki lapisan tanah kaya bahan organik (C-organik $> 18\%$) dengan ketebalan 50 cm atau lebih. Bahan organik penyusun tanah gambut terbentuk dari sisa-sisa tanaman yang belum melapuk sempurna karena kondisi lingkungan jenuh air dan miskin hara. Oleh karenanya lahan gambut banyak

dijumpai di daerah rawa belakang (back swamp) atau daerah cekungan yang drainasenya buruk (Agus dan Subiksa 2008).

Gambut terbentuk dari timbunan sisa-sisa tanaman yang telah mati, baik yang sudah lapuk maupun belum. Timbunan terus bertambah karena proses dekomposisi terhambat oleh kondisi anaerob atau kondisi lingkungan lainnya yang menyebabkan rendahnya tingkat perkembangan biota pengurai. Pembentukan tanah gambut merupakan proses geogenik yaitu pembentukan tanah yang disebabkan oleh proses deposisi dan transportasi, berbeda dengan proses pembentukan tanah mineral yang pada umumnya merupakan proses pedogenik (Hardjowigeno, 1986).

Andriesse (1994) mengemukakan bahwa pembentukan gambut diduga terjadi antara 10.000-5.000 tahun yang lalu (pada periode Holosin) dan gambut di Indonesia terjadi antara 6.800-4.200 tahun yang lalu. Gambut di Serawak yang berada di dasar kubah terbentuk 4.300 tahun yang lalu (Tie and Esterle, 1991), sedangkan gambut di Muara Kaman Kalimantan Timur umurnya antara 3.850 sampai 4.400 tahun (Diemont and Pons, 1991). Berdasarkan carbon dating (penelusuran umur gambut menggunakan teknik radio isotop) umur gambut di Kalimantan Tengah lebih tua lagi yaitu 6.230 tahun pada kedalaman 100 cm sampai 8.260 tahun pada kedalaman 5 m (Siefermann *et al*, 1988).

Page *et al.* (2002) menjelaskan bahwa dari salah satu lokasi di Kalimantan Tengah, menampilkan sebaran umur gambut sekitar 140 tahun pada kedalaman 0-100 cm, 500-5.400 tahun pada kedalaman 100-200 cm, 5.400-7.900 tahun pada kedalaman 200-300 cm, 7.900-9.400 tahun pada kedalaman 300-400 cm, 9.400-13.000 tahun pada kedalaman 400-800 cm dan 13.000-26.000 tahun pada kedalaman 800-1.000 cm. Dari gambaran tersebut dapat dipahami bahwa pembentukan gambut memerlukan waktu yang sangat panjang. Gambut tumbuh dengan kecepatan antara 0-3 mm tahun⁻¹. Di Barambai Delta Pulau Petak, Kalimantan Selatan laju pertumbuhan gambut sekitar 0,05 mm dalam satu tahun, sedangkan di Pontianak sekitar 0,13 mm tahun⁻¹. Di Sarawak Malaysia, laju

pertumbuhan berjalan lebih cepat yaitu sekitar 0,22 –0,48 mm per tahun (Noor, 2001). Proses pembentukan gambut dimulai dari adanya danau dangkal yang secara perlahan ditumbuhi oleh tanaman air dan vegetasi lahan basah. Tanaman yang mati dan melapuk secara bertahap membentuk lapisan yang kemudian menjadi lapisan transisi antara lapisan gambut dengan substratum (lapisan di bawahnya) berupa tanah mineral.

2.2.2 Asam Humat

Menurut Stevenson (1994) Manfaat humus dan asam humat yang telah diketahui adalah meningkatkan kesuburan tanah. Namun beberapa penelitian mengungkap manfaat lain asam humat di bidang kesehatan. Kompleksitas struktur asam humat memungkinkan senyawa ini memiliki berbagai aktivitas biologis dalam tubuh organisme.

Tanah gambut diketahui mempunyai kandungan humus yang tinggi. Salah satu komponen humus dalam gambut adalah asam humat. Asam humat (HS) merupakan kelompok bahan organik yang berasal dari pembusukan bahan organik yang terdapat di lingkungan perairan dan tanah. Asam humat sering dikenal sebagai zat humic. Asam humat dan asam fulvat merupakan unsur kedua dan ketiga yang mempunyai kandungan terbesar dari suatu massa bahan organik setelah unsur karbon (C) organik. Asam humat mampu menghambat bakteri dan pertumbuhan virus, sehingga mengurangi tingkat mikotoksin dan kemudian asam humat juga mampu meningkatkan kesehatan usus, penyerapan nutrisi dan gizi pada hewan (Wang *et al.* 2008).

Vetvicka *et al.* (2010) menjelaskan bahwa Asam humat mempunyai potensi antioksidan atau kemampuan menangkap radikal bebas disebabkan oleh banyaknya gugus oksigen reaktif seperti karboksil, hidroksil, dan keton. Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut penggunaan asam humat perlu diteliti pada ikan nila.

2.3 *Aeromonas hydrophyla*

2.3.1 Klasifikasi *Aeromonas hydrophila*

Awalnya *Aeromonas hydrophila* dikenal dengan nama *Bacillus hydrophilus fuscus*, pertama kali diisolasi dari kelenjar pertahanan katak yang mengalami pendarahan *septicemia*. Kluiver dan Van Niel pada tahun 1936 mengelompokkan genus *Aeromonas*. Tahun 1984, Popoff memasukan genus *Aeromonas* kedalam famili *Vibrionaceae*. *Aeromonas hydrophila* diisolasi dari manusia dan binatang sampai dengan tahun 1950. Bakteri ini memiliki nama sinonim *A.formicans* dan *A.liquefaciens* (Sismeiro, *etal.*, 1998).

Klasifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* berdasarkan ilmu taksonomi sebagai berikut (Holt, *et al.*, 1994) :

Filum : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Vibrionaceae

Genus : *Aeromonas*

Species : *Aeromonas hydrophila*

Cowan (1974) menjelaskan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* termasuk ke dalam Gram negatif, dengan warna koloni krem, tepian koloni rata dan elevasi cembung, berbentuk batang, bersifat motil, oksidase dan katalase positif fermentatif, indol positif. Bakteri ini umumnya hidup di air tawar. *Aeromonas* sp. bisa muncul setiap saat terutama kondisi lingkungan jelek. Penularan bakteri *Aeromonas* sp. dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi (2004) bahwa penularan *Aeromonas* sp. dapat berlangsung melalui peralatan yang tercemar dan ikan yang terinfeksi *Aeromonas* sp. gerakannya menjadi lebih lambat, lemah dan mudah ditangkap. Menurut Saragih *et.al* (2015) serangan bakteri ini bersifat laten, jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan bakteri ini baru akan terlihat apabila sistem imun ikan menurun akibat ikan stres yang di sebabkan oleh penurunan kualitas air. Bakteri

ini ditemukan pada ikan nila yang menunjukkan gejala klinis antara lain terdapat luka pada kulit.

2.3.2 Karakteristik *Aeromonas hydrophila*

Menurut Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan (2012) *Aeromonas hydrophila* adalah salah satu spesies bakteri yang terdapat di hampir seluruh lingkungan perairan tawar maupun payau, bahkan pada feces mamalia, katak dan manusia. Bakteri ini bersifat gram negatif, bentuk batang 0,7-0,8 µm x 1,0-1,5 µm, bergerak dengan menggunakan polar flagella, cytochrom oksidase positif, fermentative dan oksidatif. Bakteri ini tumbuh pada kondisi air tawar, terutama pada kondisi kandungan bahan organik tinggi.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* hidup di lingkungan bersuhu 15–300C dan pH 5,5–9. Bakteri ini dapat bertahan dalam lingkungan aerob maupun anaerob dan dapat mencerna material-material seperti gelatin dan hemoglobin. *Aeromonas hydrophila* resisten terhadap chlorine serta suhu yang dingin (Afrianto dan Liviawaty, 1992).

Aeromonas hydrophila menginfeksi semua jenis ikan air tawar. Infeksi biasanya berkaitan dengan kondisi stres akibat kepadatan, malnutrisi, infeksi parasit, kualitas air yang buruk dan fluktuasi suhu air yang ekstrim. Serangan bersifat akut, jika kualitas lingkungan air terus menurun, kematian yang ditimbulkan bisa mencapai 100% (Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan, 2012).

Aeromonas hydrophila menyebabkan penyakit Motile Aeromonas Septicemia (MAS) atau penyakit bercak merah. Bakteri ini menyerang berbagai jenis ikan air tawar seperti lele dumbo (*Clarius gariepinus*), ikan mas (*Cyprinus carpio*), gurami (*Osphronemus gouramy*) dan udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*). Pengendalian bakteri ini sulit karena memiliki banyak strain dan selalu ada di air serta dapat menjadi resisten terhadap obat-obatan (Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan, 2012).

2.4. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler

Menurut T Velnar (2009) bahwa penyembuhan luka merupakan suatu proses yang melibatkan respon seluler dan biokimia baik secara lokal maupun sistemik melibatkan proses dinamis dan kompleks dari koordinasi serial termasuk pendarahan, koagulasi, inisiasi respon inflamasi akut segera setelah trauma, regenerasi, migrasi dan proliferasi jaringan ikat dan sel parenkim, serta sintesis protein matriks ekstraselular, remodeling parenkim dan jaringan ikat serta deposisi kolagen. Sel yang paling berperan dari semua proses ini adalah sel makrofag, yang berfungsi mensekresi sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi serta growth factors, fibroblast dan kemampuannya mensintesis kolagen yang mempengaruhi kekuatan tensile strength luka dan mengisi jaringan luka kembali ke bentuk semula, kemudian diikuti oleh sel-sel keratinosit kulit untuk membelah diri dan bermigrasi membentuk reepitelialisasi dan menutupi area luka (Faten Khorshid, 2010).

Keseimbangan antara sintesis dan degradasi jaringan membentuk suatu proses penyembuhan luka normal yang terdiri dari even terpisah yang saling berhubungan termasuk mikrosirkulasi transportasi oksigen, respon imun dan inflamasi, perubahan metabolisme dan sistem neuroendokrin serta melibatkan beberapa tingkat organisasi seperti bermacam-macam jenis sel (fibroblast, netrofil, makrofag dan sebagainya), interselular messenger (sitokin, hormon, growth factor dan sebagainya), produk buatan (kolagen, proteoglikan dan sebagainya) dan enzim (MMP dan matriks metalloproteinase). Suatu luka dikatakan sembuh secara sempurna jika luka telah kembali ke struktur anatomi jaringan, fungsi jaringan, dan penampakan secara normal dalam periode waktu yang sesuai (T Velnar, 2009). Secara umum, penyembuhan luka dibagi dalam 3 fase yaitu :

2.4.1 Fase Inflamasi

Menurut Landen, Li, & Stahle, (2016) bahwa fase Inflamasi terbagi dua, yaitu Fase inflamasi awal (haemostasis) dan fase inflamasi akhir (Lag Phase). Pada fase inflamasi awal saat jaringan terluka, pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan pendarahan, reaksi tubuh pertama sekali adalah berusaha menghentikan pendarahan dengan mengaktifkan faktor koagulasi intrinsik dan ekstrinsik, yang mengarah ke agregasi platelet dan formasi clot vasokonstriksi,

pengerutan ujung pembuluh darah yang putus (retraksi) dan reaksi haemostasis. Reaksi haemostasis akan terjadi karena darah yang keluar dari kulit yang terluka akan mengalami kontak dengan kolagen dan matriks ekstraseluler, hal ini akan memicu pengeluaran platelet atau dikenal juga dengan trombosit mengekspresi glikoprotein pada membran sel sehingga trombosit tersebut dapat beragregasi menempel satu sama lain dan membentuk massa (clotting).

Massa ini akan mengisi cekungan luka membentuk matriks provisional sebagai scaffold untuk migrasi sel-sel radang pada fase inflamasi. Pada saat yang bersamaan sebagai akibat agregasi trombosit, pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi selama 5 sampai dengan 10 menit, akibatnya akan terjadi hipoksia, peningkatan glikolisis dan penurunan PH yang akan direspon dengan terjadinya vasodilatasi. Lalu akan terjadi migrasi sel leukosit dan trombosit ke jaringan luka yang telah membentuk scaffold tadi.

Selain itu, migrasi sel leukosit dan trombosit juga dipicu oleh aktivasi associated kinase membrane yang meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap ion Ca^{2+} dan mengaktivasi kolagenase dan elastase, yang juga merangsang migrasi sel tersebut ke matriks provisional yang telah terbentuk. Setelah sampai di matriks provisional, sel trombosit mengalami degranulasi, mengeluarkan sitokin-sitokin dan mengaktifkan jalur intrinsik dan ekstrinsik yang menstimulasi sel-sel netrofil bermigrasi ke matriks provisional dan memulai fase inflamasi (Landen et al., 2016).

Adapun sitokin yang di sekresi sel trombosit juga berfungsi untuk mensekresi faktor-faktor inflamasi dan melepaskan berbagai faktor pertumbuhan yang potensial seperti Transforming Growth Factor- β (TGF- β), Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Interleukin-1 (IL-1), Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1), Epidermal Growth Factor (EGF), dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), sitokin dan kemokin. Mediator ini sangat dibutuhkan pada penyembuhan luka untuk memicu penyembuhan sel, diferensiasi dan mengawali pemulihan jaringan yang rusak (Werner S, 2003).

Fase inflamasi akhir dimana Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadinya trauma sampai hari ke-5 pasca trauma. Tujuan utama fase ini adalah

menyingkirkan jaringan yang mati, dan pencegahan kolonisasi maupun infeksi oleh agen mikrobial patogen (Gutner GC, 2007). Setelah hemostasis tercapai, sel radang akut serta neutrofil akan menginvasi daerah radang dan menghancurkan semua debris dan bakteri. Dengan adanya neutrofil maka dimulai respon peradangan yang ditandai dengan cardinal symptoms, yaitu tumor, calor, rubor, dolor dan functio laesa. Neutrofil, limfosit dan makrofag adalah sel yang pertama kali mencapai daerah luka. Fungsi utamanya adalah melawan infeksi dan membersihkan debris matriks seluler dan benda-benda asing .

Agen kemotaktik seperti produk bakteri, yaitu DAMP (Damage Associated Molecules Pattern) dan PAMP (Pathogen Spesific Associated Molecules Pattern), complement factor, histamin, prostaglandin, dan leukotriene. Agen ini akan ditangkap oleh reseptor TLRs (toll like receptor) dan merangsang aktivasi jalur signalling intraseluler yaitu jalur NF κ B dan MAPK. Pengaktifan jalur ini akan menghasilkan ekspresi gen yang terdiri dari sitokin dan kemokin pro-inflamasi yang menstimulasi leukosit untuk ekstravasasi keluar dari sel endotel ke matriks provisional. Leukosit akan melepaskan bermacam-macam faktor untuk menarik sel yang akan memfagosit debris, bakteri, dan jaringan yang rusak, serta pelepasan sitokin yang akan memulai proliferasi jaringan. Leukosit yang terdapat pada luka di dua hari pertama adalah neutrofil, biasanya terdeteksi pada luka dalam 24 jam sampai dengan 36 jam setelah terjadi luka. Sel ini membuang jaringan mati dan bakteri dengan fagositosis.

Neutrofil mensekresi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 juga mengeluarkan protease untuk mendegradasi matriks ekstraseluler yang tersisa. Setelah melaksanakan fungsi fagositosis, neutrofil akan difagositosis oleh makrofag atau mati. Meskipun neutrofil memiliki peran dalam mencegah infeksi, keberadaan neutrofil yang persisten pada luka dapat menyebabkan luka sulit untuk mengalami proses penyembuhan. Hal ini bisa menyebabkan luka akut berprogresi menjadi luka kronis (Landén et al., 2016). Pada hari ke tiga luka, monosit berdiferensiasi menjadi makrofag masuk ke dalam luka melalui mediasi monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Makrofag sebagai sel yang sangat penting dalam penyembuhan luka memiliki fungsi fagositosis bakteri dan jaringan mati

akan berubah menjadi makrofag efferositosis (M2) yang mensekresi sitokin anti inflamasi seperti IL-4, IL-10, IL13 (Landén et al., 2016).

Makrofag mensekresi proteinase untuk mendegradasi matriks ekstraseluler (ECM) dan penting untuk membuang material asing, merangsang pergerakan sel, dan mengatur pergantian ECM Makrofag M2 merupakan penghasil sitokin dan growth factor yang menstimulasi proliferasi fibroblast, produksi kolagen, pembentukan pembuluh darah baru, dan proses penyembuhan lainnya (Gutner GC, 2007). Makrofag akan menggantikan peran polimorfonuklear sebagai sel dominan. Platelet dan faktor-faktor lainnya menarik monosit dari pembuluh darah. Ketika monosit mencapai lokasi luka, maka ia akan dimatangkan menjadi makrofag.

Peran makrofag menurut Gutner GC (2007) adalah 1. Memfagositosis bakteri dan jaringan yang rusak dengan melepaskan protease Melepaskan growth factors dan sitokin yang kemudian menarik sel-sel yang berperan dalam fase proliferasi ke lokasi luka. 2. Memproduksi faktor yang menginduksi dan mempercepat angiogenesis 3. Memstimulasi sel-sel yang berperan dalam proses reepitelisasi luka, membuat jaringan granulasi, dan menyusun matriks ekstraseluler. 4. Fase inflamasi sangat penting dalam proses penyembuhan luka karena berperan melawan infeksi pada awal terjadinya luka serta memulai fase proliferasi.

2.4.2 Fase Proliferasi

Menurut T Velnar, (2009) bahwa fase proliferasi berlangsung mulai hari ke-3 hingga 14 pasca trauma, ditandai dengan pergantian matriks provisional yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara bertahap digantikan oleh migrasi sel fibroblast dan deposisi sintesis matriks ekstraseluler. Pada level makroskopis ditandai dengan adanya jaringan granulasi yang kaya akan jaringan pembuluh darah baru, fibroblas, dan makrofag, granulosit, sel endotel dan kolagen yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular yang mengisi celah luka dan memberikan scaffold adhesi, migrasi, pertumbuhan dan diferensiasi sel. (Landén et al., 2016)

Gutner GC(2007) juga berpendapat bahwa tujuan fase proliferasi ini adalah untuk membentuk keseimbangan antara pembentukan jaringan parut dan regenerasi jaringan. Terdapat tiga proses utama dalam fase proliferasi, antara lain: 1. Neoangiogenesis Angiogenesis merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi sehat maupun patologi (sakit). Kata angiogenesis sendiri berasal dari kata angio yang berarti pembuluh darah dan genesis yang berarti pembentukan. Pada keadaan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Terjadinya hal ini melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak (Frisca dkk., 2009).

Pada angiogenesis pembentukan pembuluh darah baru berasal dari kapilerkapiler yang muncul dari pembuluh darah kecil di sekitarnya (Kalangi, 2011). Pembuluh darah kapiler terdiri atas sel-sel endotel dan perisit. Kedua jenis sel ini memuat seluruh informasi genetik untuk membentuk pembuluh darah dan cabang-cabangnya serta seluruh jaring-jaring kapiler. Molekulmolekul angiogenik khas akan mendorong terjadinya proses ini, tetapi ada pula molekulmolekul penghambat bersifat khusus untuk menghentikan proses angiogenesis. Molekulmolekul dengan fungsi yang berlawanan tersebut nampaknya seimbang dan serasi dalam bekerja terus menerus mempertahankan suatu sistem pembuluh darah kecil yang konstan (Kalangi, 2011).

Pada proliferasi terjadi angiogenesis disebut juga sebagai neovaskularisasi, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru, merupakan hal yang penting sekali dalam langkah-langkah penyembuhan luka. Jaringan di mana pembentukan pembuluh darah baru terjadi, biasanya terlihat berwarna merah (eritem) karena terbentuknya kapiler-kapiler di daerah itu. Selama angiogenesis, sel endotel memproduksi dan mengeluarkan sitokin. Beberapa faktor pertumbuhan terlibat dalam angiogenesis antara lain Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), angiopoetin, Fibroblast Growth Factor (FGF) dan TGF- β . Setelah pembentukan

jaringan cukup adekuat, migrasi dan proliferasi sel-sel endotelial menurun, dan sel yang berlebih akan mati dalam dengan proses apoptosis (Gurtner GC, 2007).

2. Fibroblast Fibroblas memiliki peran yang sangat penting dalam fase ini. Fibroblas memproduksi matriks ekstraselular yang akan mengisi kavitas luka dan menyediakan landasan untuk migrasi keratinosit. Matriks ekstraselular inilah yang menjadi komponen yang paling nampak pada skar di kulit. Makrofag memproduksi growth factor seperti PDGF, FGF dan TGF- β yang menginduksi fibroblas untuk berproliferasi, migrasi, dan membentuk matriks ekstraselular (Gurtner GC, 2007). Dengan bantuan matrix metalloproteinase (MMP-12), fibroblas mencerna matriks fibrin dan menggantikannya dengan glycosaminoglycan (GAG). Dengan berjalannya waktu, matriks ekstraselular ini akan digantikan oleh kolagen tipe III yang juga diproduksi oleh fibroblas. Kolagen ini tersusun atas 33% glisin, 25% hidroksiprolin, dan selebihnya berupa air, glukosa, dan galaktosa.

Hidroksiprolin berasal dari residu prolin yang mengalami proses hidrosilasi oleh enzim prolyl hydroxylase dengan bantuan vitamin C. Hidroksiprolin hanya didapatkan pada kolagen, sehingga dapat dipakai sebagai tolok ukur banyaknya kolagen dengan mengalikan hasilnya dengan 7,8. Selanjutnya kolagen tipe III akan digantikan oleh kolagen tipe I pada fase maturasi. Faktor proangiogenik yang diproduksi makrofag seperti vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblas growth factor (FGF)-2, angiopoietin-1, dan thrombospondin akan menstimulasi sel endotel membentuk neovaskular melalui proses angiogenesis.

3. Re-epitelisasi Secara simultan, sel-sel basal pada epitelium bergerak dari daerah tepi luka menuju daerah luka dan menutupi daerah luka.(T Velnar, 2009). Pada tepi luka, lapisan single layer sel keratinosit akan berproliferasi kemudian bermigrasi dari membran basal ke permukaan luka. Ketika bermigrasi, keratinosit akan menjadi pipih dan panjang dan juga membentuk tonjolan sitoplasma yang panjang. Mereka akan berikatan dengan kolagen tipe I dan bermigrasi menggunakan reseptor spesifik integrin. Kolagenase yang dikeluarkan keratinosit akan mendisosiasi sel dari matriks dermis dan membantu pergerakan dari matriks

awal. Sel keratinosit yang telah bermigrasi dan berdiferensiasi menjadi sel epitel ini akan bermigrasi di atas matriks provisional menuju ke tengah luka, bila sel-sel epitel ini telah bertemu di tengah luka, migrasi sel akan berhenti dan pembentukan membran basalis dimulai (T Velnar, 2009).

2.4.3 Fase Maturasi (Remodeling)

Menurut T Velnar, (2009) bahwa fase maturasi ini berlangsung mulai hari ke-21 hingga sekitar 1 tahun yang bertujuan untuk memaksimalkan kekuatan dan integritas struktural jaringan baru pengisi luka, pertumbuhan epitel dan pembentukan jaringan parut. Segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai, fase ini pun segera dimulai. Pada fase ini terjadi kontraksi dari luka dan remodeling kolagen. Kontraksi luka terjadi akibat aktivitas fibroblas yang berdiferensiasi akibat pengaruh sitokin TGF- β menjadi myofibroblas, yakni fibroblas yang mengandung komponen mikrofiliamen aktin intraselular. Myofibroblast akan mengekspresikan α -SMA (α -Smooth Muscle Action) yang akan membuat luka berkontraksi.

Matriks intraselular akan mengalami maturasi dan asam hyaluronat dan fibronektin akan di degradasi. Sekitar 80% kolagen pada kulit adalah kolagen tipe I dan 20% kolagen tipe III yang memungkinkan terjadinya tensile strength pada kulit. Diameter serat kolagen akan meningkat dan kolagen tipe III pada fase ini secara gradual digantikan oleh kolagen tipe I dengan bantuan matrix metalloproteinase (MMP) yang disekresi oleh fibroblas, makrofag & sel endotel (T Velnar, 2009). Sedangkan pada jaringan granulasi mengekspresikan kolagen tipe 3 sebanyak 40% (T Velnar, 2009). Pada fase ini terjadi keseimbangan antara proses sintesis dan degradasi kolagen serta matriks ekstraseluler. Kolagen yang berlebihan didegradasi oleh enzim kolagenase dan kemudian diserap. Sisanya akan mengerut sesuai tegangan yang ada. Hasil akhir dari fase ini berupa jaringan parut yang pucat, tipis, lemas, dan mudah digerakkan dari dasarnya.

Saat kadar produksi dan degradasi kolagen mencapai keseimbangan, maka mulailah fase maturasi dari penyembuhan jaringan luka. Fase ini dapat

berlangsung hingga 1 tahun lamanya atau lebih, tergantung dari ukuran luka dan metode penutupan luka yang dipakai. Selama proses maturasi, kolagen tipe III yang banyak berperan saat fase proliferasi akan menurun kadarnya secara bertahap, digantikan dengan kolagen tipe I yang lebih kuat. Serabut-serabut kolagen ini akan disusun, dirangkai, dan dirapikan sepanjang garis luka.

Fase remodelling jaringan parut adalah fase terlama dari proses penyembuhan. Pada umumnya tensile strength pada kulit dan fascia tidak akan pernah mencapai 100%, namun hanya sekitar 80% dari normal, karena serat-serat kolagen hanya bisa pulih sebanyak 80% dari kekuatan serat kolagen normal sebelum terjadinya luka. Kekuatan akhir yang dicapai tergantung pada lokasi terjadinya luka dan durasi lama perbaikan jaringan yang terjadi. Sintesis dan degradasi kolagen dan matriks ekstraseluler terjadi secara simultan dan biasanya terjadi keseimbangan antara kedua proses hingga 3 minggu setelah terjadinya luka sebelum akhirnya terjadi kestabilan. (T Velnar, 2009)

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian yang dilaksanakan pada Bulan Juli Tahun 2019, yang bertempat di Laboratorium Basah Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muhammadiyah Pontianak Ambawang Kabupaten Kubu Raya dengan waktu penelitian selama 21 hari.

3.2 Alat dan Bahan

Tabel 3.1 Alat dan Bahan

NO	Alat dan Bahan	Kegunaan	Jumlah
1	Akuarium	Sebagai wadah Ikan Nila.	15 buah
2	Thermometer	Untuk mengukur suhu.	3 buah
3	pH meter	Untuk mengukur pH (kadar keasaman dan basa) suatu cairan.	1 buah
4	Do Meter	Untuk Mengukur Kadar Oksigen Terlarut.	1 buah
5	Timbangan Digital	Menimbang bobot Ikan Nila dan pakan ikan.	1 buah
6	Spray	Untuk mencampurkan ekstrak dengan pakan.	2 buah
7	Spuit Steril 1cc	Mengambil Darah Ikan	5 buah
8	Pipet Pengencer Darah	Untuk Mengencerkan Darah Ikan	
9	Hemometer Hb	Untuk Menghitung Hemoglobin Ikan	1 buah
11	Tabung Mikrohematokrit	Untuk Menghitung Darah	5 buah
12	Mikrotube	Sebagai Tempat Menyimpan Dra	4 buah
13	Mikroskop	Untuk Pengamatan Sel Darah	1 buah
14	Ikan Nila	Sebagai Bahan Uji	150 ekor
15	Ekstrak asam humat	Bahan uji	30 gram
16	Pelet	Pakan ikan.	10 kg
17	Putih telur	Bahan Perekat	5 butir
18	Alat Tulis	Mencatat Hasil Penelitian	1 paket
19	Kamera	Dokumentasi	1 buah
20	NaOH	Pengekstrakan Asam Humat	500 ml
21	Jarum suntik ukuran 1 ml	Sebagai injeksi bakteri	5 buah
22	Toples	Penyimpanan Pakan	5 buah

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri atas 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan adalah kadar asam humat yang berbeda dalam pakan. Kemudian perlakuan dibedakan menjadi taraf yaitu:

Perlakuan A : Pemberian asam humat 0,0 % / kg pakan (kontrol)

Perlakuan B : Pemberian asam humat 0,0 % / kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*

Perlakuan C : Pemberian asam humat sebanyak 0,5 % / kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*

Perlakuan D : Pemberian asam humat sebanyak 1 % / kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*

Perlakuan E : Pemberian asam humat sebanyak 1,5 % / kg pakan + ujiantang bakteri *aeromonas hydrophila*

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan sesuai model Hanafiah (2012) adalah :

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

Keterangan :

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

μ = nilai rata-rata harapan

τ_i = pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = pengaruh galat dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

Tabel 3.2 Model Susunan Data Untuk RAL

Ulangan	Perlakuan					Jumlah
	A	B	C	D	E	
1	Y_{A1}	Y_{B1}	Y_{C1}	Y_{D1}	Y_{E1}	
2	Y_{A2}	Y_{B2}	Y_{C2}	Y_{D2}	Y_{E2}	
3	Y_{A3}	Y_{B3}	Y_{C3}	Y_{D3}	Y_{E3}	
4	Y_{A4}	Y_{B4}	Y_{C4}	Y_{D4}	Y_{E4}	
5	Y_{A5}	Y_{B5}	Y_{C5}	Y_{D5}	Y_{E5}	
Jumlah	$\sum Y_A$	$\sum Y_B$	$\sum Y_C$	$\sum Y_D$	$\sum Y_E$	$\sum Y$
Rata-Rata	Y_A	Y_B	Y_C	Y_D	Y_E	Y

Penempatan wadah perlakuan dan ulangan dilakukan secara acak. Menurut Hanafiah (2012) berdasarkan tabel pengacakan diperoleh denah penelitian pada Gambar 3.1 berikut ini :

1 D ₁	2 B ₃	3 C ₃	4 D ₃	5 A ₃
6 B ₁	7 C ₂	8 E ₁	9 E ₂	10 B ₂
11 C ₁	12 D ₂	13 A ₂	14 E ₃	15 A ₁

Gambar 3.1 Tata letak unit percobaan.

Keterangan :

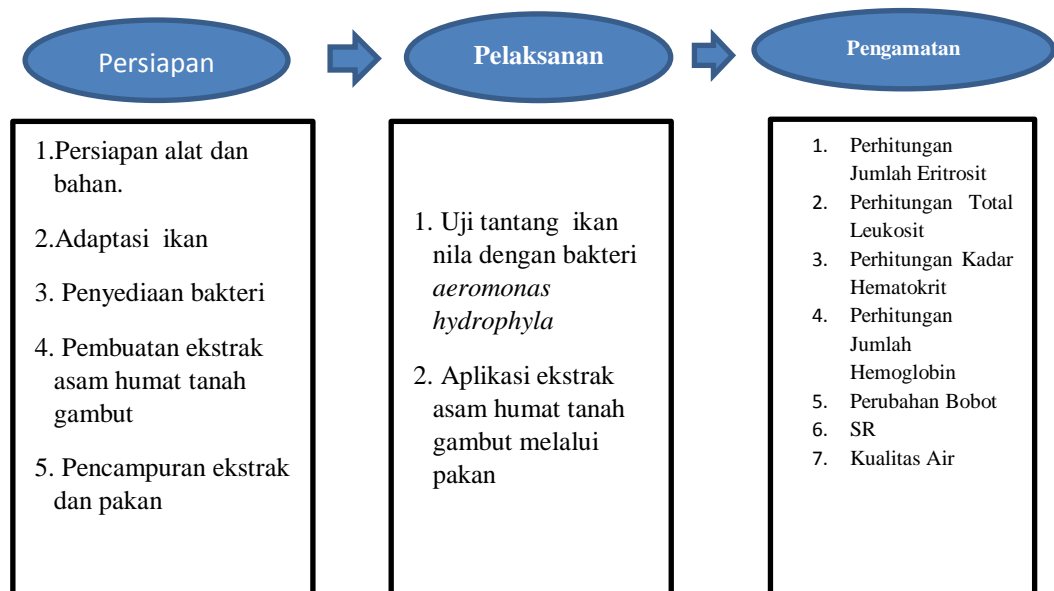
A,B,C,D,E = Perlakuan

1,2,3 = Ulangan

1-15 = Nomor Plot

3.4 Prosedur Penelitian

Adapun prosedur dalam penelitian yaitu, persiapan, pelaksanaan, pengamatan, analisis data dan kesimpulan. Alur prosedur penelitian dapat dilihat dengan rinci sebagai berikut :



Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian

3.4.1 Persiapan alat dan bahan

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium ukuran 60x 40 x 40 cm sebanyak 15 buah. Akuarium diletakkan berjajar dan penempatannya dilakukan secara acak. Sebelum digunakan, akuarium dicuci dengan sabun sampai benar-benar steril dan bersih. Akuarium diisi dengan air dengan ketinggian 25 cm dan dipasang aerasi. Air yang digunakan sebagai media hidup ikan berasal dari air sumur yang di endapkan kedalam bak fiber selama 3-4 hari kemudian di beri kapur secukupnya.

3.4.2 Adaptasi ikan uji

Ikan Nila yang digunakan berasal dari pembudidaya air tawar Pontianak, Kalimantan Barat. Ikan yang digunakan ukuran 8-12 cm per ekor. Sebelum dilakukan aklimatisasi pada media pemeliharaan, ikan terlebih dahulu direndam dalam larutan garam selama kurang lebih 2 menit untuk mereduksi patogen eksternal yang melekat pada tubuh ikan. Sebanyak masing-masing 10 ekor ikan dimasukkan ke dalam 15 akuarium yang telah didesinfeksi. Ikan dipelihara selama 7 hari sampai kondisinya benar-benar stabil dengan nafsu makan yang tinggi dan tidak terjadi kematian. Selama proses adaptasi, pada hari pertama ikan diberi pakan komersil dengan kandungan Protein kasar min 35%, Lemak kasar min 2%, Serat kasar max 3%, Abu kasar max 13% dan Kadar air max 12% tanpa penambahan ekstrak asam humat . Selanjutnya hari kedua sampai dengan tujuh hari, ikan diberi pakan perlakuan yang dicampur dengan ekstrak asam humat sebagai immunostimulan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan Nila. Pakan diberikan sebanyak 3% dari bobot tubuh dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari yaitu pada pagi, siang dan sore hari. Untuk menjaga kualitas air, dilakukan penyiponan setiap 2 hari sekali dan pergantian air setiap 3 hari sekali.

3.4.3 Penyediaan Bakteri

Bakteri *A. hydrophila* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Karantina dan Pengendalian Mutu Ikan Supadio, Kalimantan Barat. Kepadatan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah 108 Cfu/ml sebanyak 0,1 ml yang mengacu pada hasil LD 50 oleh Faridah (2010) .

3.4.4 Pembuatan ekstrak asam humat tanah gambut

Metode ekstraksi asam humat mengacu pada metode IHSS (2012) yaitu berdasarkan pengendapan dalam asam kuat dan kelarutan dalam basa lemah. Sampel yang telah bersih dari kerikil dan akar tumbuhan, ditimbang seberat 50 gram dan diekstrak dengan 0,1 M NaOH 500 ml selama 4 jam sambil dikocok menggunakan shaker. Campuran dibiarkan selama satu malam (+ 15 jam). Filtrat diambil dan disaring beberapa kali dengan kapas. Fraksi humin yang tidak larut dihilangkan dengan sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Supernatan di endapkan dengan larutan asam kuat 6 M HCL hingga pH 1,5-2 sebanyak 1/3 volume supernatan. Campuran dikocok menggunakan shaker dan didiamkan selama +15 jam. Filtrat disentrifugasi kembali (3500 rpm selama 20 menit) untuk memisahkan fraksi asam humat (endapan) dan asam humat fulvat (supernatan). Sentrifugasi diulangi beberapa kali sampai pemisahan sempurna sehingga diperoleh endapan asam humat

3.4.5 Pencampuran ekstrak asam humat dengan pakan.

Asam humat ditimbang sesuai dengan kadar penelitian ditambahkan dengan aquades sebanyak 10 ml kemudian dicampurkan putih telur sebanyak 2% dari bobot pakan, diaduk hingga merata. Pakan yang digunakan adalah pakan komersial yaitu pakan apung dengan kandungan Protein kasar min 35%, Lemak kasar min 2%, Serat kasar max 3%, Abu kasar max 13% dan Kadar air max 12%. Pakan yang telah tercampurkan merata selanjutnya keringkan pada suhu ruangan dan disimpan dalam tempat yang kering, kemudian pakan siap digunakan. Selama masa pemeliharaan, ikan beri pakan sebanyak 3% perhari dari berat biomas.

3.4.6 Pemeliharaan ikan

Selama pelaksanaan penelitian Ikan uji diberi pakan perlakuan selama 21 hari dengan frekuensi pemberian pakan 3 kali sehari pada pukul 07.00, 12.00, dan 17.00. Pemberian dilakukan secara adsitiasi.

Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap hematologi ikan nila yang telah di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*. Pemberian pakan perlakuan dilakukan selama 7 hari sebelum uji tantang dan diamati selama 21 hari setelah uji tantang. Jumlah pakan yang dikonsumsi dicatat dengan cara menghitung selisih bobot pakan awal dengan sisa pakan. Untuk mengetahui perkembangan pertumbuhan ikan, dilakukan sampling. Sampling ikan dilakukan dengan mengukur berat ikan. Sampling ikan juga memperkirakan biomassa ikan, selanjutnya biomassa digunakan untuk menghitung kebutuhan pakan yang akan digunakan.

3.4.7 Uji Tantang

Uji tantang dilakukan selama 21 hari dimana sebelum melakukan pengamatan ikan di injeksi terlebih dahulu dengan bakteri *aeromonas hydrophila* dengan dosis 0,1 ml / ekor kemudian di biarkan satu hari. Ikan yang telah di uji tantang kemudian diberi pakan yang telah sesuai dengan perlakuan masing-masing selanjutnya pengamatan terhadap hematologi di amati pada hari ke 21.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Hematologi

Pengamatan gambaran darah ikan selama penelitian meliputi jumlah eritrosit, total leukosit, nilai hematokrit, dan kadar hemoglobin. Pasca uji tantang darah ikan di ambil dari vena caudal dengan menggunakan syringe. Syringe dan eppendorf yang akan digunakan di bilas terlebih dahulu dengan anti koagulan. Ikan disuntik dari belakang anal kearah tulang sampai menyentuh tulang vertebrae. Darah dihisap perlahan kemudian di masukkan ke dalam eppendorf (Svobodova *et al.*, 1997). Pengamatan hematologi ikan nila diamati pada hari ke 21.

3.5.1.1 Perhitungan Jumlah Eritrosit

Prosedur perhitungan jumlah eritrosit diukur sesuai metode yang dilakukan oleh Blaxhall dan Daisley (1973) Darah dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah sampai skala 1 (pipet untuk mengukur jumlah sel darah merah) selanjutnya darah tersebut ditambahkan larutan Hayem's sampai skala 101 dan diaduk di dalam pipet dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan selama 3-5 menit sehingga darah tercampur rata. Selanjutnya dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang dan campuran darah di teteskan pada haemocytometer tipe Neubauer dan tutup dengan gelas penutup. Kemudian, jumlah sel darah merah dihitung dengan bantuan mikroskop dengan pembesaran 400 x. Jumlah eritrosit total dihitung sebanyak 4 kotak kecil dan jumlahnya dihitung menurut rumus (Nabib dan Pasaribu, 1989):

$$\sum \text{eritrosit} = \text{rataan sel eritrosit terhitung} \times \frac{1}{\text{Volume}} \times \text{pengencer}$$

3.5.1.2 Penghitungan Total leukosit

Prosedur perhitungan jumlah leukosit diukur menurut Blaxhall dan Daisley (1973) Darah sampel dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk berwarna putih sampai skala 0,5. Selanjutnya tambahkan larutan Turk's sampai skala 11, dan di aduk di dalam pipet dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka delapan (sama dengan pengadukan untuk penghitungan jumlah sel darah merah) selama 3-5 menit sehingga darah bercampur rata. Selanjutnya dua tetes pertama larutan darah dalam pipet dibuang dan campuran darah di teteskan pada haemocytometer tipe Neubauer dan tutup dengan gelas penutup. Cairan akan memenuhi ruang hitung secara kapiler. Selanjutnya jumlah sel darah putih atau leukosit total dihitung dengan bantuan mikroskop dengan perbesaran 400 X. Jumlah leukosit total dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak kecil, dan jumlahnya dihitung menurut rumus (Nabib dan Pasaribu, 1989) :

$$\Sigma \text{ leukosit} = \text{rataaan sel eritrosit terhitung} \times \frac{1}{\text{Volume}} \times \text{pengencer}$$

3.5.1.3 Perhitungan kadar Hematokrit

Kadar hematokrit diukur menurut Anderson dan Siwicki (1993). Darah diambil sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung yang telah berisi darah ditutup dengan crytoceal dengan cara menancapkan ujung tabung tersebut ke dalam crytoceal kira-kira sedalam 1 mm sehingga terbentuk sumbat crytoceal. Setelah itu, tabung mikrohematokrit tersebut disentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 5.000 rpm dengan posisi tabung yang bervolume sama berhadapan agar putaran sentrifuse seimbang. Panjang bagian darah yang mengendap (a) dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung (b) diukur dengan menggunakan penggaris. Kadar Hematokrit dinyatakan sebagai % volume padatan sel darah.

3.5.1.4 Perhitungan Jumlah Hemoglobin

Prosedur perhitungan kadar haemoglobin dilakukan dengan mengacu pada metode Sahli. Darah sampel dihisap dengan menggunakan pipet Sahli hingga skala 20 mm³ atau pada skala 0,2 ml. Lalu ujung pipet dibersihkan dengan kertas tisu. Kemudian, darah dalam pipet dipindahkan ke dalam tabung Hb-meter yang telah diisi HCl 0,1 N hingga skala 10 (merah). Setelah itu, darah tersebut lalu diaduk dengan batang pengaduk selama 3 hingga 5 menit. Setelah itu, akuades ditambahkan ke dalam tabung tersebut hingga warna darah tersebut menjadi seperti warna larutan standar yang ada dalam Hb-meter. Kadar hemoglobin dinyatakan dalam g%.

3.5.2 Perubahan Bobot

Perubahan bobot diamati dengan cara menimbang bobot ikan saat ujiantang yaitu pada awal pengamatan dan pada akhir pengamatan. Nilai perubahan bobot diketahui dengan cara menghitung selisih bobot ikan pada akhir

masa pengamatan dengan bobot awal ikan pada saat di uji tantang. Menurut Effendi (1997), Pertambahan bobot mutlak dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$W = W_t - W_o$$

Keterangan:

W = Pertambahan Bobot Mutlak (g)

W_t = Bobot rata - rata akhir (g)

W_o = Bobot rata - rata awal (g)

3.5.3 Kelangsungan Hidup

Ikan Perhitungan jumlah ikan yang mati akhir pengamatan dilakukan setelah ikan nila diuji tantang sampai hari ke-21 pasca uji tantang. Tingkat kelangsungan hidup ikan dihitung dengan rumus yang dikemukakan Effendi (1997) sebagai berikut :

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

Keterangan :

SR : Tingkat kelangsungan hidup %

N_t : Jumlah ikan yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

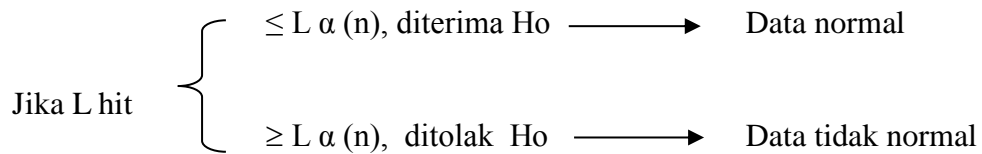
N_o : Jumlah ikan awal yang hidup pada uji tantang (ekor)

3.5.4 Kualitas Air

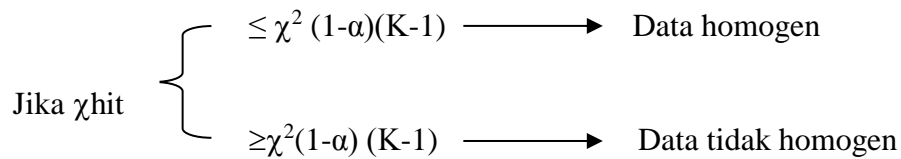
Sebagai data pendukung, pengamatan parameter kualitas air yang diamati adalah pH, suhu, Do, dan amoniak. Pengukuran suhu dilakukan setiap hari yaitu pada pagi dan sore hari. Kualitas air diamati pada awal, tengah dan akhir percobaan.

3.6 Analisis Data

Analisa yang digunakan analisa keragaman atau sidik ragam (Uji F). Sebelum dilakukan uji nilai tengah terlebih dahulu diuji normalitas (Hanafiah, 2012)



Data yang telah diuji kenormalannya, selanjutnya diuji kehomogennya dengan uji homogenitas ragam Bartlet (Hanafiah, 2012) .



Apabila data dinyatakan tidak normal atau tidak homogen, maka sebelum dianalisis keragaman dilakukan transformasi data. Dan bila data didapat sudah normal dan homogen, maka data langsung dapat dianalisa keragamannya dengan analisa sidik ragam (Anova) untuk menentukan ada tidaknya perbedaan pengaruh antara perlakuan.

Tabel 3.3 Analisa ragam untuk Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Sumber	Derajat	Jumlah	Kuadrat	Fhitung	Ftabel
Keragaman (SK)	Bebas (db)	Kuadrat (JK)	Tengah (KT)		1% 5%
Perlakuan	(P-1)	JKP	(KTP)	KTP/KTG	
Galat	p(r-1)	JKG	KTG		
Total	r-p-1	JKT			

Keterangan :

SK	=Sumber Keragaman	p	=Perlakuan
DB	=Derajat bebas	r	=Ulangan
JK	=Jumlah kuadrat	JKP	=Jumlah kuadrat perlakuan
KT	=Kuadrat tengah	JKG	=Jumlah kuadrat galat

Setelah diperoleh nilai F_{hit} maka hasilnya dapat dibandingkan dengan tabel 1% dan 5% dengan ketentuan sebagai berikut :

Jika $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka taraf 1 % perbedaan diantara nilai pengaruh perlakuan dikatakan berbeda sangat nyata (**).

Jika $F_{hitung} < F_{tabel}$ 5 % perlakuan tidak berbeda nyata.

Jika $F_{tabel} 5 \% \leq F_{hitung} < F_{tabel} 1 \%$ maka perlakuan berbeda nyata (*).

Jika analisis sidik berbeda nyata atau berbeda sangat nyata $F_{hitung} \geq F_{tabel} 5 \%$ maka perhitungan dilanjutkan dengan uji lanjut, uji lanjut yang digunakan ditentukan berdasarkan koefisien keragaman, untuk menentukan uji lanjut maka dilakukan perhitungan koefisien keragaman (KK) yaitu dengan rumus (Hanafiah, 2012).

$$KK = \frac{KTG}{Y} \times 100\%$$

Keterangan :

KK =Koefesien Keragaman

KTG =Kuadrat Tengah Galat

Y =Rata-Rata Perlakuan

Jika KK besar, (minimal 10% pada kondisi homogen atau minimal 20% pada kondisi heterogen) uji lanjut yang sebaiknya digunakan adalah uji Duncan.

Jika KK sedang (antara 5-10% pada kondisi homogen atau antara 10-20% pada kondisi heterogen) uji lanjut yang dipakai adalah uji BNT.

Jika KK kecil (dibawah 5% pada kondisi homogen atau maksimal 10% pada kondisi heterogen) uji lanjut yang digunakan adalah uji BNJ.

Jumlah polinomial disusun tergantung pada jumlah perlakuan yang diuji, dimana derajat polynomial tersebut ditentukan rumus $t-1$. Berdasarkan hal tersebut didapat nilai derajat polynomial pada perlakuan yang diterapkan yaitu 2 nilai polynomial tersebut menunjukkan adanya dua bentuk hubungan yang dapat terjadi jika hubungan fungsional antara x dan y , bentuk hubungan tersebut dapat berbentuk linear atau kuadrat.

Jika hubungan berbentuk linear $Y = \alpha + \beta ix$, dimana fungsi F hitung linear $> F$ tabel 5% dan 1% maka nilai α dan β dapat dirumuskan :

$$\alpha = \frac{(\sum Y_i \cdot \sum x_i^2) - (\sum x_i \cdot (\sum x_i \cdot \sum y_i))}{(n \cdot \sum x_i) - (\sum x_i)^2}$$

$$\beta = \frac{(n \cdot (\sum X_i \cdot \sum y_i)) - (\sum x_i \cdot \sum y_i)}{(n \cdot \sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Hubungan berbentuk kuadratik $Y = \alpha + \beta_1 X + \beta_2 X^2$, dimana F_{hit} kuadratik $> F_{tabel}$ 5% dan 1%. Nilai α dan β dapat dirumuskan :

$$\sum Y_i = n\alpha + \beta_1 \sum X_i + \beta_2 \sum X_i^2$$

$$\sum Y_i = \alpha \sum X_i + \beta_1 \sum X_i^2 + \beta_2 \sum X_i^3$$

$$\sum Y_i = \alpha \sum X_i^2 + \beta_1 \sum X_i^3 + \beta_2 \sum X_i^4$$

Untuk mengetahui keeratan hubungan antara vareabel X dan Y dari pengamatan regresi selanjutnya dilakukan analisa korelasi dengan rumus :

$$r = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(y_i - \bar{y}) / (n-1)}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2 / (n-1)} \sqrt{\sum (y_i - \bar{y})^2 / (n-1)}}$$

Kemudian dari persamaan kuadratik yang diperoleh dilakukan penentuan titik optimal suhu terhadap semua vareabel uji. Penentuan titik optimal dilakukan dengan mencari turunan persamaan.

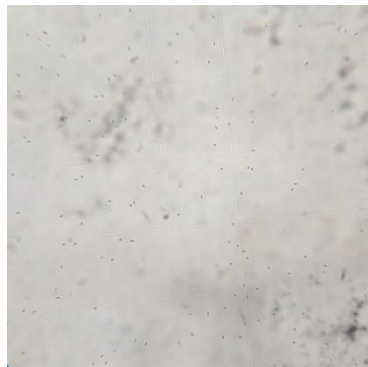
BAB 1V. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hematologi

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan selama 21 hari diperoleh data yang meliputi, hematologi yaitu eritrosit, leukosit, hematokrit, hemoglobin dan tingkat kelangsungan hidup (SR), serta data parameter kualitas air.

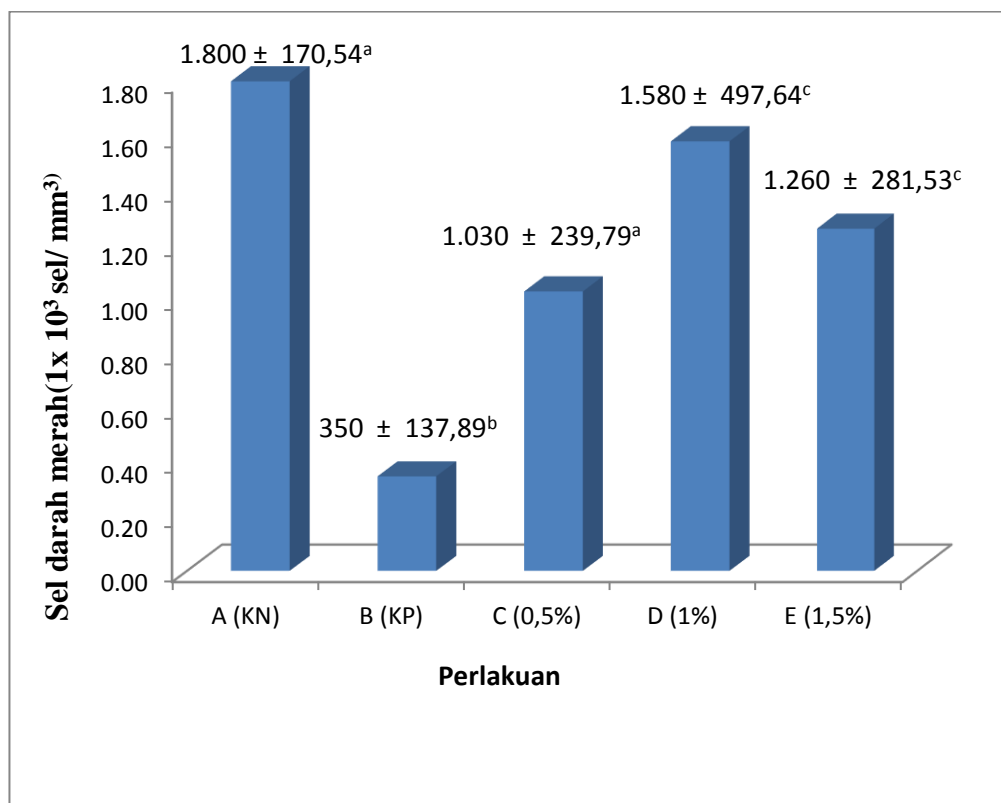
4.1.1 Eritrosit

Eritrosit pada ikan merupakan jenis sel darah merah dan paling banyak jumlahnya. Eritrosit bertugas untuk mendistribusikan gas-gas terutama oksigen keseluruh bagian tubuh. Penghitungan jumlah sel eritrosit menggunakan bantuan larutan hayem, karena selain sel eritrosit maka sel lain akan lisis (rusak). Perhitungan sel eritrosit yang dilakukan menggunakan pengenceran sebanyak 200 kali dan diamati dengan pembesaran 400 kali. Dengan perhitungan menggunakan 5 kotak besar yang di dalamnya terdapat 64 kotak kecil. Gambar sel eritrosit dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Sel eritrosit ikan nila dengan pembesaran 400x

Jumlah rata-rata sel eritrosit paling banyak terdapat pada perlakuan A dan rata-rata sel eritrosit paling rendah terdapat pada perlakuan B. tingginya jumlah eritrosit pada perlakuan A disebabkan karena pada perlakuan A ikan tidak diinfeksi menggunakan bakteri *Aeromonas hydrophila* sehingga sel eritrosit di dalam tubuh ikan tetap normal. Sedangkan pada perlakuan B memiliki rata-rata sel eritrosit paling rendah dikarenakan ikan diinfeksi bakteri dan tidak ada upaya peningkatan sistem imun. Hasil pengamatan jumlah rata-rata eritrosit ikan nila secara singkat setiap perlakuan dapat dilihat pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Jumlah Eritrosit Ikan Nila

Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks 0,10 lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257) maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Sedangkan berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Baertlet didapatkan nilai χ^2 hitung 0,83 lebih kecil dari χ^2

tabel 5% (18,31) dan χ^2 tabel 1% (23,21), maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi (Anava) kadar eritrosit ikan nila didapatkan F hitung sebesar 9,10 lebih besar dari F tabel 5% (3,48) dan Ftabel 1% (5,99) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dari hasil analisis variansi kadar eritrosit.

Adapun uji lanjut lanjut yang digunakan adalah uji lanjut DUNCAN dengan Koefisien Keragaman (KK) yang dihasilkan 26,60% pada uji lanjut DUNCAN diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata ($P > 5\%$ (0,143) dan $P > 1\%$ (0,204)) antara perlakuan A dan B berbeda sangat nyata, sedangkan perlakuan B dan C berbeda sangat nyata, perlakuan D dan E tidak berbeda nyata, perlakuan A dan C tidak berbeda nyata. (Lampiran 6).

Pengamatan jumlah Eritrosit ikan nila yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada akhir pengamatan yang tertinggi pada perlakuan A(KN) yaitu sebesar 1.800×10^3 sel/mm³, kemudian diikuti oleh perlakuan D (1%) sebesar 1.580×10^3 sel/mm³, perlakuan E (1,5%) yaitu sebesar 1.260×10^3 sel/mm³, Perlakuan C (0,5%) sebesar 1.030×10^3 sel/mm³ dan jumlah eritrosit terendah pada perlakuan B (KP) yaitu sebesar 350×10^3 sel/mm³. Perlakuan A (KN) dengan nilai 1.800×10^3 berfungsi untuk mengetahui jumlah eritrosit ikan nila yang terserang penyakit selama 21 hari pemeliharaan tanpa adanya perlakuan khusus. Ditambahkan oleh Hibiya & Takashima (1995) jumlah sel eritrosit setiap spesies ikan berbeda-beda, namun umumnya berkisar antara 1-3 juta sel/mm³.

Rendahnya jumlah eritrosit pada perlakuan B dan C menunjukkan bahwa ikan mengalami stress, seperti yang dikatakan oleh Rahma et., al (2015) bahwa rendahnya jumlah eritrosit menunjukkan adanya keadaan stress pada ikan. Ditambahkan oleh Kamaludin (2011) menyatakan bahwa *A. hydrophilla* masuk kedalam tubuh kemudian menyerang pembuluh darah, selanjutnya masuk kedalam saluran darah dan menghasilkan enzim hemolisin. Hemolisin ini memiliki kemampuan untuk melisis sel darah merah, sehingga jumlah sel darah merah pada pembuluh darah cenderung berkurang. Rendahnya jumlah eritrosit juga disebabkan oleh pendarahan yang terjadi akibat infeksi bakteri *Aeromonas*

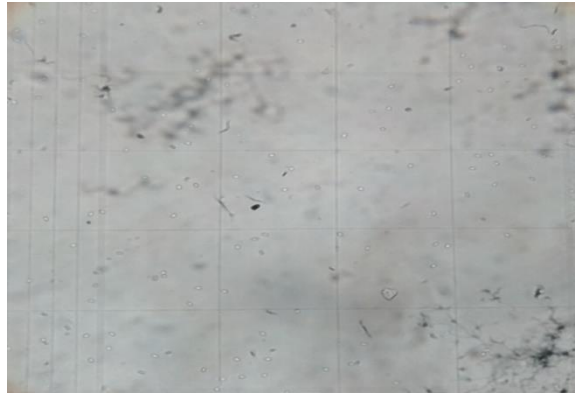
hydrophilla yang merusak organ luar dan menimbulkan luka. Faktor lain yakni kurangnya nutrisi yang masuk dalam tubuh ikan, karena nutrisi tersebut sangat penting untuk membantu proses pembentukan sel darah merah dalam tubuh.

Sebaliknya perlakuan D memiliki jumlah eritrosit lebih tinggi dari perlakuan B, C, dan E menunjukkan adanya upaya homeostatis pada tubuh ikan yang mana tubuh memproduksi sel darah lebih banyak untuk menggantikan eritrosit yang mengalami lisis akibat adanya infeksi. Penambahan ekstrak asam humat tanah gambut pada pakan pada perlakuan D diduga meningkatkan sistem imun ikan nila, hal ini terjadi karena bahan aktif yang terkandung didalam asam humat tanah gambut. Menurut Agus dan Subiksa (2008) bahwa kandungan mineral gambut umumnya kurang dari 5% dan sisanya adalah bahan organik. Fraksi organik terdiri dari senyawa-senyawa humat sekitar 10 hingga 20% dan sebagian besar lainnya adalah senyawa lignin, selulosa, hemiselulosa, lilin, tannin, resin, suberin, protein, dan senyawa lainnya. Asam humat mempunyai potensi antioksidan atau kemampuan menangkap radikal bebas disebabkan oleh banyaknya gugus oksigen reaktif seperti karboksil, hidroksil, dan keton (Vetvicka et al. 2010). Asam humat mampu menghambat bakteri sehingga mengurangi tingkat mikotoksin (Wang et al. 2008).

4.1.2 Leukosit

Sel darah putih ikan merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh yang bersifat non spesifik. Sel ini berperan dalam proses kekebalan tubuh dan berperan dalam pertahanan seluler dan hormonal organisme serta melindungi tubuh dengan menimbulkan peradangan di tempat yang terkena infeksi, memfagositasi mikroba, merusak toksin dan merusak antibodi (Ville et al., 1988).

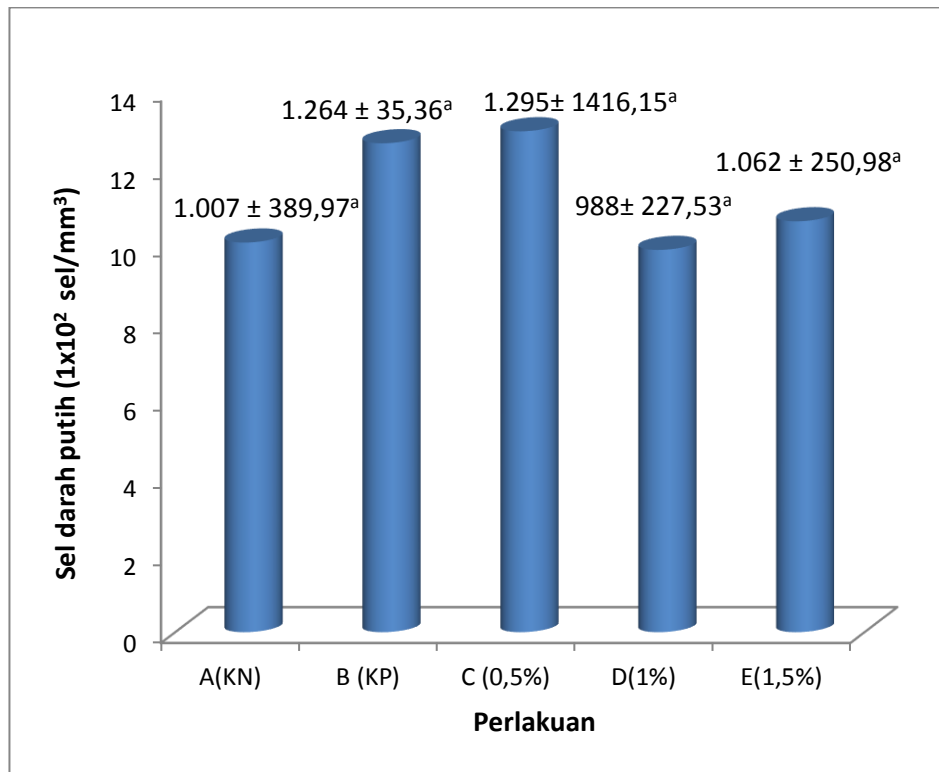
Peningkatan atau penurunan jumlah leukosit dalam sirkulasi udara dapat diartikan sebagai hadirnya agen penyakit, peradangan, penyakit autoimun atau reaksi alergi, untuk itu perlu diketahui gambaran normal leukosit pada setiap individu (Effendi, 2003).



Gambar 4.3 Sel Leukosit ikan nila dengan pembesaran 400x

Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks 0,14 lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257), maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Bartlet didapatkan nilai x^2 hitung 6,82 lebih kecil dari x^2 tabel 5% (18,31) dan x^2 tabel 1% (23,21), maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi (Anava) kadar leukosit ikan nila di dapatkan F hitung sebesar 0,19 lebih kecil dari F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1% (5,98) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan tidak berbeda nyata dari hasil analisis variansi kadar leukosit. (Lampiran 9).



Gambar 4.4 Jumlah Sel Leukosit Ikan nila

Dari gambar 4.4 dapat dilihat jumlah sel leukosit tertinggi berada pada perlakuan C yaitu sebesar 1.295×10^2 sel/ mm^3 , kemudian diikuti oleh perlakuan B sebesar 1.264×10^2 sel/ mm^3 , Perlakuan E sebesar 1.062×10^2 sel/ mm^3 , Perlakuan A sebesar 1.007×10^2 sel/ mm^3 , dan jumlah Leukosit terendah ada pada perlakuan D sebesar 988×10^2 sel/ mm^3 .

Jumlah sel leukosit tertinggi terdapat pada perlakuan C dan B tingginya jumlah leukosit terjadi karena sel darah putih merupakan antibodi jadi jika organisme terserang penyakit infeksius maka jumlah antibodi yang dibutuhkan tubuh akan semakin banyak sehingga jumlah sel darah putih akan meningkat.

Nilai rata-rata leukosit pada setiap perlakuan berada pada kisaran jumlah leukosit normal, Menurut Moyle dan Cech (1988) jumlah sel leukosit ikan normal berkisar antara $20.000 - 150.000$ sel/ mm^3 . Namun memiliki selisih cukup jauh dengan jumlah leukosit perlakuan A yang menjadi acuan jumlah leukosit ikan normal dan berada dalam kondisi baik.

Menurut Salasia *et al* 2001 gambaran darah merupakan salah satu tolak ukur dalam mengetahui kondisi status kesehatan suatu makhluk hidup yang ditentukan oleh faktor infeksius maupun noninfeksius. Nilai normal gambaran darah ikan diperlukan untuk menentukan status kesehatan dan membantu diagnosis penyakit pada ikan. dia juga berpendapat darah akan mengalami perubahan yang drastis apabila ikan terkena penyakit. Sebagai contoh, jumlah sel darah putih akan meningkat apabila individu terserang penyakit infeksius karena jumlah antibodi yang dibutuhkan tubuh akan semakin banyak sehingga jumlah sel darah putih akan meningkat.

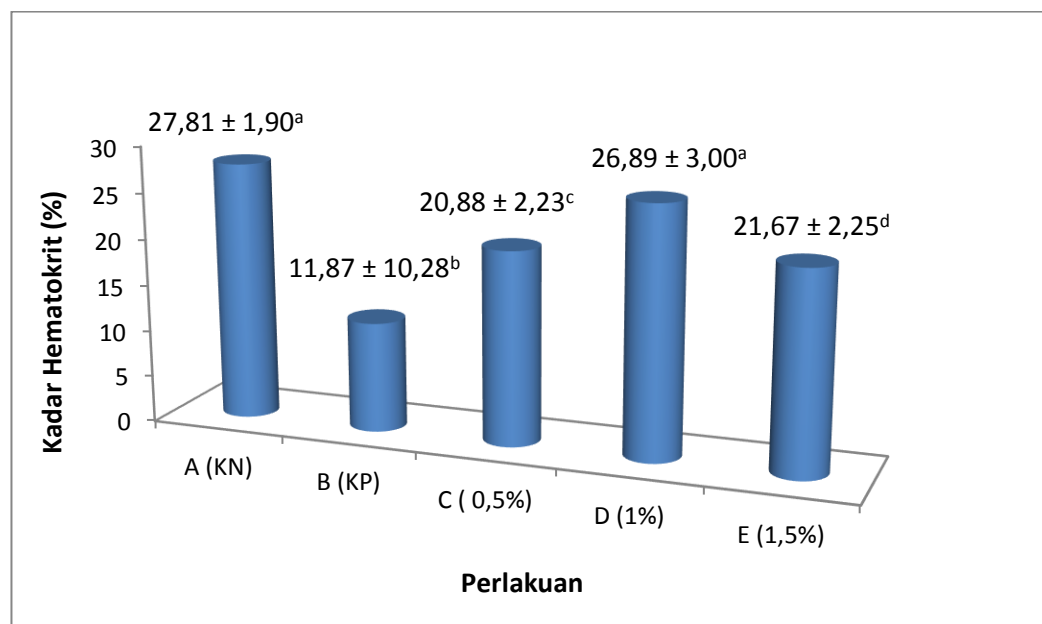
4.1.3 Hematokrit

Hematokrit adalah persentase perbandingan jumlah sel darah dalam darah. Bila kadar hematokrit 40% berarti dalam volume darah tersebut terdiri dari 40% sel darah merah dan 60% plasma dan sel 0,14 darah putih. Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257) maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Sedangkan berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Bartlet di dapatkan nilai χ^2 hitung 10,7 lebih kecil dari χ^2 tabel 5% (18,31) dan χ^2 tabel 1% (23,21) maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi (Anava) kadar hematokrit ikan nila di dapatkan F hitung sebesar 462,69 lebih besar dari F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1% (5,99) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dari hasil analisis variansi kadar hematokrit.

Adapun uji lanjut lanjut yang digunakan adalah uji lanjut BNT dengan Koefisien Keragaman (KK) yang dihasilkan 2,33% pada uji lanjut BNT diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata ($P > 5\%$ (2,31) dan $P > 1\%$ (3,36)) antara perlakuan A dan B berbeda sangat nyata, sedangkan perlakuan A dan D tidak berbeda nyata perlakuan B dan C berbeda sangat nyata, , perlakuan D dan E berbeda sangat nyata. (Lampiran 14).

Pengamatan jumlah Hematokrit ikan Nila yang di infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada akhir pengamatan yang tertinggi pada perlakuan D sebesar 26,89 %, dan di ikuti oleh perlakuan E sebesar 21,67%, Perlakuan C yaitu sebesar 20,88 % dan jumlah hematokrit terendah pada perlakuan B yaitu sebesar 11,87 %. Sedangkan pada perlakuan A dengan nilai 27,81% merupakan perlakuan kontrol negatif yang tidak diberi pakan menggunakan ekstrak asam humat tanah gambut dan tidak di injeksi bakteri *A. hydrophilla* sebagai pembanding dengan perlakuan lainnya.



Gambar 4.5 Jumlah kadar hematokrit Ikan Nila

Jumlah hematokrit terendah terdapat pada perlakuan B, Pada setiap perlakuan jumlah hematokrit cenderung lebih rendah daripada kondisi ikan normal pada perlakuan A. Penurunan kadar hematokrit disebabkan oleh adanya serangan bakteri *Aeromonas hydrophilla* yang menyebabkan ikan menjadi stres. Hastuti (2007) menjelaskan bahwa rendahnya hematokrit menunjukkan terjadinya kontaminasi akibat serangan bakteri atau terjadi infeksi. Tsuzuku *et. al* dalam Hermawansyah (2017) menambahkan apabila hematokrit ikan kurang dari 20% menandakan bahwa ikan mengalami anemia/sakit. Jumlah hematokrit pada

perlakuan C, D, dan E lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan B, hal ini diduga ekstrak asam humat tanah gambut mulai memberikan pengaruh positif dalam proses peningkatan sistem imun ikan nila pengaruh yang diberikan tidak terlalu besar.

Menurut Angka (1997) menyatakan bahwa hematokrit ikan bervariasi tergantung pada faktor nutrisi dan umur ikan. Kisaran kadar hematokrit darah ikan adalah sebesar 20-30% .(Bond 1979).

4.1.4 Hemoglobin

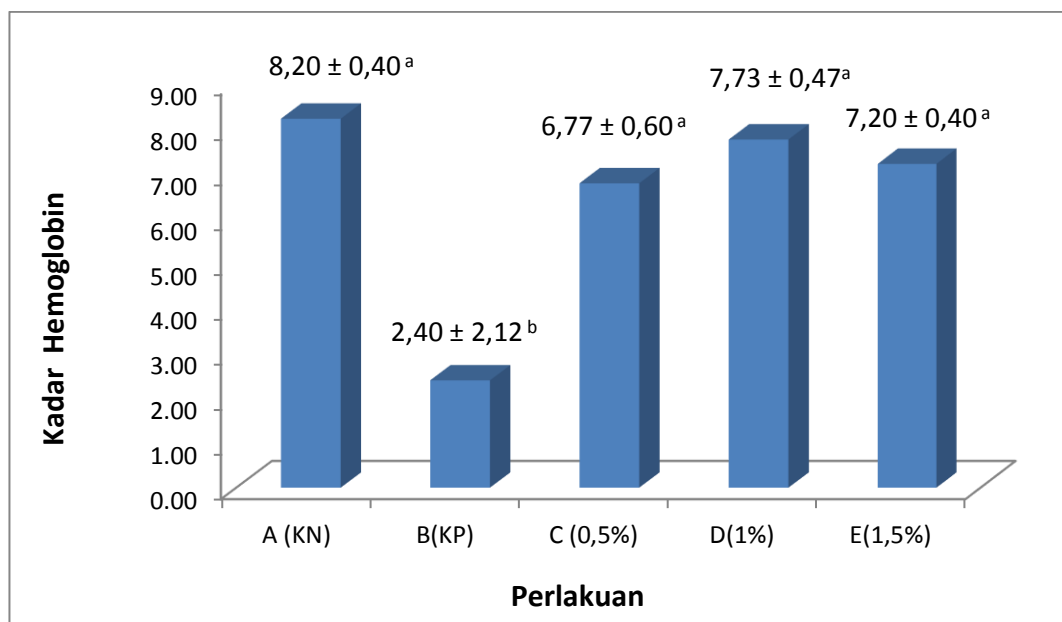
Hemoglobin (Hb) adalah molekul protein pada sel darah merah yang berfungsi sebagai media transport oksigen dari paru-paru keseluruhan jaringan tubuh dan membawa karbondioksida dari jaringan tubuh ke paru-paru (lagler et. al., 1977 dalam Hermawansyah 2017).

Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks 0,11 lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257) maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Sedangkan berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Bartlet di dapatkan nilai x^2 hitung 9,80 lebih kecil dari x^2 tabel 5% (18,31) dan x^2 tabel 1% (23,21) maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi(Anava) kadar hemoglobin ikan nila di dapatkan F hitung sebesar 15,16 lebih besar dari F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1% (5,99) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dari hasil analisis variansi kadar hemoglobin.

Adapun uji lanjut lanjut yang digunakan adalah uji lanjut DUNCAN dengan Koefisien Keragaman (KK) yang dihasilkan 16,08% pada uji lanjut DUNCAN diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata ($P > 5\%$ (2,31) dan $P > 1\%$ (3,36)) antara perlakuan A dan B berbeda sangat nyata, sedangkan perlakuan B dan C,D serta E berbeda sangat nyata perlakuan A dan C,D,E tidak berbeda nyata. (Lampiran 19).

Pengamatan jumlah Hb ikan nila yang di infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* pada akhir pengamatan yang tertinggi pada perlakuan A yaitu sebesar 8,20 %, kemudian diikuti perlakuan D sebesar 7,73 %, perlakuan E sebesar 7,20 %, perlakuan C sebesar 6,77 % dan jumlah Hb terendah pada perlakuan B yaitu sebesar 2,40 %. Secara singkat perbandingan jumlah kadar Hb ikan nila dapat dilihat pada gambar 4.6



Gambar 4.6 Kadar Hemoglobin ikan nila

Kadar hemoglobin terendah terdapat pada perlakuan B menunjukkan bahwa ikan berada dalam kondisi kurang baik, rendahnya konsentrasi hemoglobin dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein di dalam pakan, selain itu juga karena infeksi (Anderson dan Siwiki, 1993). Bastiawan et al., (2001) menyatakan rendahnya kadar Hb menyebabkan laju metabolisme menurun dan energi yang dihasilkan menjadi rendah, hal ini membuat ikan menjadi lemah dan tidak memiliki nafsu makan serta terlihat diam didasar air.

Pada perlakuan C, D dan E memiliki jumlah Hb yang lebih tinggi dari perlakuan B ini dikarenakan perlakuan B tidak ada memakai perlakuan menggunakan ekstrak asam humat tanah gambut. Tinggi nya jumlah Hb pada

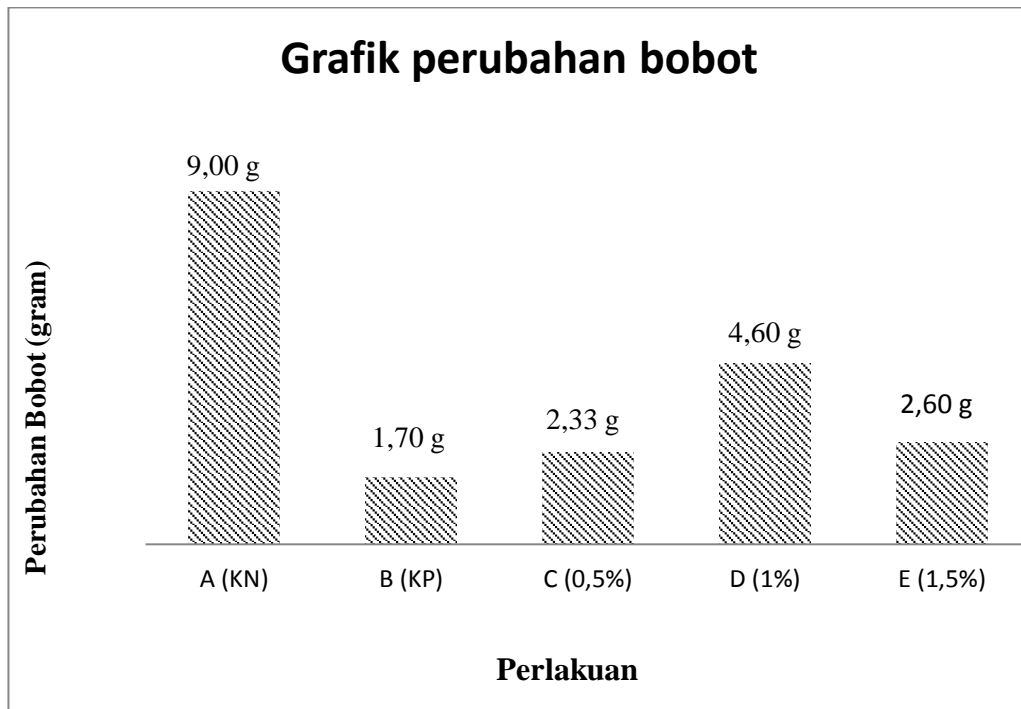
perlakuan C, D, dan E menunjukkan bahwa ekstrak asam humat tanah gambut memberikan pengaruh positif pada peningkatan jumlah Hb, walaupun perbedaan yang dihasilkan tidak terlalu besar.

4.2 Perubahan Bobot

Pengukuran bobot tubuh ikan uji dilakukan pada awal dan akhir penelitian dimana nilai perubahan bobot diketahui dengan cara menghitung selisih biomas tiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks 0,28 lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257) maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Sedangkan berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Bartlet di dapatkan nilai x^2 hitung 3,47 lebih kecil dari x^2 tabel 5% (18,31) dan x^2 tabel 1% (23,21) maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi (Anava) perubahan bobot ikan nila di dapatkan F hitung sebesar 35,50 lebih besar dari F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1% (5,99) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata dari hasil analisis variansi perubahan bobot ikan nila.

Adapun uji lanjut lanjut yang digunakan adalah uji lanjut DUNCAN dengan Koefisien Keragaman (KK) yang dihasilkan 24,102% pada uji lanjut DUNCAN diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata ($P > 5\%$ (2,31) dan $P > 1\%$ (3,36)) antara perlakuan A dan B tidak berbeda nyata, sedangkan perlakuan B dan C, D serta E berbeda sangat nyata. (Lampiran 25).



Gambar 4.7 perubahan bobot ikan nila

Perubahan bobot tertinggi pada perlakuan A dengan rata-rata perubahan bobot mencapai 9,00 gram, dikarenakan pada perlakuan tersebut tidak diuji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*, perlakuan A merupakan acuan bagi perlakuan yang lain, kemudian di ikuti dengan perlakuan D dengan rata-rata bobot mencapai 4,60 gram selanjutnya diikuti dengan perlakuan E dengan rata-rata perubahan bobot 2,60 gram dan dilanjutkan dengan perlakuan C dengan rata-rata perubahan bobot 2,33 gram sedangkan perubahan bobot terendah terjadi pada perlakuan B dengan rata-rata perubahan 1,70 gram, dikarenakan perlakuan B mengalami uji tantang dengan bakteri *aeromonas hydrophila* tanpa diberikan perlakuan menggunakan ekstrak asam humat tanah gambut.

Kabata, (1985) menyatakan bahwa ikan yang terserang bakteri *A. hydrophila* akan terhambat pertumbuhannya karena ada racun hasil produksi ekstraseluler bakteri tersebut akan mengganggu keseimbangan sistem dalam tubuh yaitu organ hati, terlihat pada hasil pertumbuhan mutlak menghasilkan pertambahan bobot dan panjang yang berbeda saat sebelum dan setelah injeksi bakteri. Pertumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu faktor dari dalam dan faktor dari luar,

adapun faktor dari dalam meliputi sifat keturunan, ketahanan terhadap penyakit dan kemampuan dalam memanfaatkan makanan, sedangkan faktor dari luar meliputi sifat fisika, kimia dan biologi perairan. Faktor makanan dan suhu perairan merupakan faktor utama yang dapat mempengaruhi pertumbuhan ikan. Prihadi (2007). Dari gambar 4.7 menunjukkan bahwa ekstrak asam humat tanah gambut memberikan pengaruh positif pada perubahan bobot ikan nila walaupun perbedaan yang dihasilkan tidak terlalu besar.

4.3 Tingkat Kelangsungan Hidup

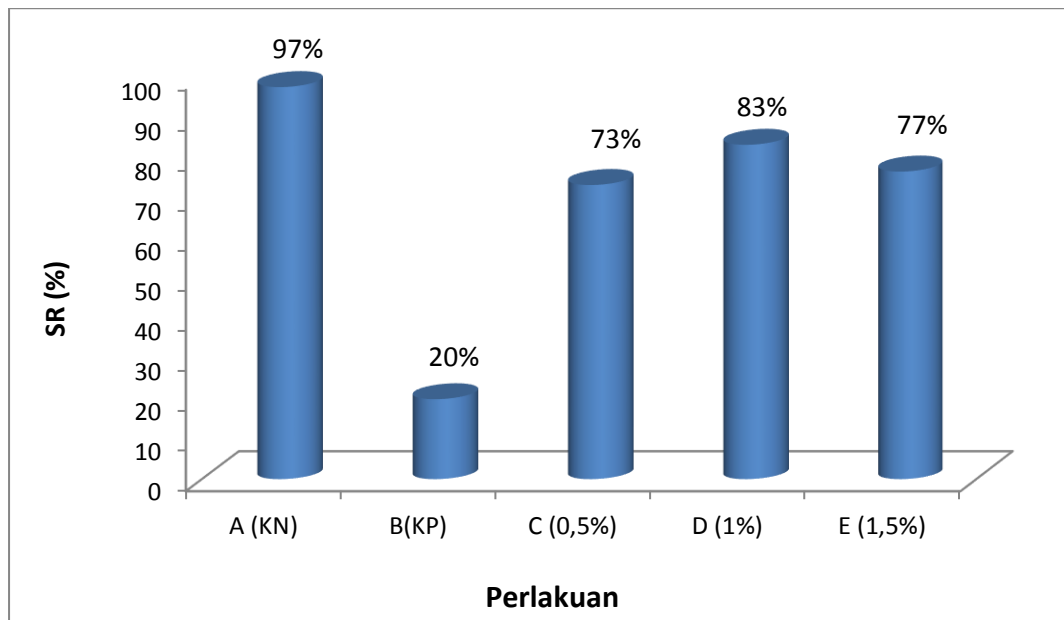
Kelangsungan hidup merupakan sejumlah organisme yang hidup pada akhir pemeliharaan yang dinyatakan dalam persentase. Nilai kelangsungan hidup akan menjadi faktor kualitas dan pengaruh penambahan ekstrak asam humat tanah gambut pada pakan. Ikan akan mengalami kematian apabila berada dalam kondisi stress, terserang penyakit dan kurangnya nafsu makan sehingga serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* semakin kuat.

Berdasarkan hasil uji normalitas Lilliefors didapatkan nilai L hitung maks 0,23 lebih kecil dari L tabel 5% (0,220) dan L tabel 1% (0,257), maka data tersebut dapat dikatakan berdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji homogenitas Ragam Bartlet didapatkan nilai χ^2 hitung 12,17 lebih kecil dari χ^2 tabel 5% (18,31) dan χ^2 tabel 1% (23,21), maka data tersebut berdistribusi homogen dilanjutkan dengan analisis variansi (Anava).

Hasil analisis variansi (Anava) tingkat kelangsungan hidup ikan nila di dapatkan F hitung sebesar 29,81 lebih besar dari F tabel 5% (3,48) dan F tabel 1% (5,98) yang berarti antara perlakuan menunjukkan perbedaan berbeda sangat nyata dari hasil analisis variansi tingkat kelangsungan hidup (SR).

Adapun uji lanjut lanjut yang digunakan adalah uji lanjut DUNCAN dengan Koefisien Keragaman (KK) yang dihasilkan 13,24 % pada uji lanjut DUNCAN diketahui bahwa perlakuan berbeda sangat nyata ($P > 5\%$ (2,31) dan $P > 1\%$ (3,36)) antara perlakuan A dan B berbeda sangat nyata, sedangkan perlakuan B dan C,D serta E berbeda sangat nyata perlakuan D,E tidak berbeda nyata. (Lampiran 30).

Dari hasil akhir pengamatan diperoleh tingkat kelangsungan hidup ikan tertinggi pada perlakuan A dengan persentase 90 %, diikuti perlakuan D dengan persentase 83 %, E dengan persentase 77 %, perlakuan C 73 % dan terendah pada perlakuan B dengan persentase 20 %.



Gambar 4.8 Tingkat Kelangsungan Hidup Ikan Nila

Perlakuan A memiliki SR yang tinggi dikarenakan ikan tidak disuntik bakteri *Aeromonas hydrophilla* sehingga ikan tidak terserang penyakit bahkan tidak mengalami kematian, berbeda halnya dengan perlakuan B, perlakuan ini memiliki SR paling rendah karena hampir semua ikan mati. Tinggi nya tingkat kematian pada perlakuan ini disebabkan ikan disuntik bakteri *Aeromonas hydrophilla* dan tidak ada upaya peningkatan sistem imun menggunakan ekstrak asam humat tanah gambut sehingga ikan benar-benar menggunakan imun spesifik untuk bertahan hidup. Beda halnya dengan perlakuan C,D dan E yang menunjukkan nilai baik dari pengaruh penggunaan ekstrak asam humat tanah gambut sebagai immunostimulant yang dapat membantu mempertahankan kelangsungan hidup ikan dengan persentase SR yang cukup baik.

Kematian ikan terjadi pada awal pemeliharaan ikan, hal ini diduga sebagai respon adaptasi terhadap lingkungan dan perlakuan. Namun, tingkat kelangsungan

hidup ikan selama pemeliharaan tergolong baik, hal ini dinyatakan oleh Husen (1985) dalam Kusnandar (2009) bahwa tingkat kelangsungan $\geq 50\%$ tergolong baik, kelangsungan hidup 30-50% sedang dan kurang dari 30% tidak baik. Menurut murjani (2011) bahwa kelangsungan hidup ikan sangat bergantung pada daya adaptasi ikan terhadap makanan dan lingkungan, status kesehatan ikan, padat tebar, dan kualitas air yang cukup mendukung pertumbuhan.

4.4. Kualitas Air

Kualitas air merupakan faktor yang sangat penting dan pembatas bagi makhluk hidup dalam air baik faktor kimia, fisika dan biologi. Kualitas air yang buruk dapat menghambat pertumbuhan, menimbulkan penyakit pada ikan bahkan sampai pada kematian. Menurut (Boyd, 1990), kualitas air sangat dipengaruhi seperti laju sintasan, pertumbuhan, perkembangan, reproduksi ikan. Parameter kualitas air yang diamati adalah pH, suhu, DO dan NH₃.

Perubahan suhu akan mempengaruhi kecepatan perkembangan mekanisme pertahanan dan pembentukan antibodi, selain itu perubahan suhu dapat menjadi penyebab stres yang akan mempengaruhi kesehatan ikan (Effendi, 2003). Berdasarkan hasil pengukuran suhu selama penelitian didapat pada setiap perlakuan rata-rata berkisar antara 28-30⁰C. Suhu ini sesuai untuk kelangsungan hidup ikan nila, hal ini sesuai dengan pendapat Rahardi (1996), bahwa syarat media hidup ikan adalah berkisar antara 25-30⁰C.

Pengukuran suhu dilakukan setiap hari. Sedangkan parameter kualitas air lainnya seperti pengukuran pH, DO dan NH₃ dilakukan pada awal, pertengahan dan akhir penelitian. Hasil pengamatan kualitas air selama penelitian disajikan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Pengukuran Kualitas Air Selama Penelitian

Perlakuan	Parameter			
	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	Do (mg/l)	pH	Amonia (NH_3)
A	28-30 $^{\circ}\text{C}$	4-6	7-7,5	0,1-0,3
B	28-30 $^{\circ}\text{C}$	4-6	6-7	0,1-0,3
C	28-30 $^{\circ}\text{C}$	4-6	6,5-7	0,1-0,3
D	28-30 $^{\circ}\text{C}$	4-6	6,5-7	0,1-0,3
E	28-30 $^{\circ}\text{C}$	4-6	6,5-7	0,1-0,3

Keterangan : Suhu, Oksigen terlarut, pH dan Amonia (NH_3)

Hasil pengukuran oksigen terlarut (DO) selama penelitian setiap perlakuan berkisar antara 4-6 mg/l. Pada kandungan oksigen terlarut lebih dari 5 mg/l pertumbuhan ikan berjalan dengan normal (Kahfi, 2016). Oksigen terlarut dalam air adalah faktor yang sangat kritis dalam pemeliharaan. Menurut arie (1999), menyatakan bahwa kandungan oksigen telarut yang baik untuk budidaya ikan minimal 4 mg/l air. Hasil pengukuran DO selama masa pemeliharaan menunjukkan kisaran yang dapat ditoleransi oleh ikan.

Hasil pengukuran derajat keasaman air (pH) selama penelitian berkisar antara 6,5-7,5. Kisaran pH tersebut termasuk dalam kisaran yang baik bagi kelangsungan hidup ikan nila. Menurut Boyd (1990) bahwa air yang baik untuk budidaya ikan adalah netral, hal ini senada dengan pendapat yang dikemukakan oleh Susanto (1999), yang menerangkan pada umumnya pH yang sangat cocok semua jenis ikan berkisar antara 6,7-8,6. Sedangkan menurut Cholik *et al.* (2005) mengatakan bahwa bila pH air didalam kolam sekitar 6,5-9,0 adalah kondisi yang baik untuk produksi ikan.

Kandungan amoniak selama penelitian berkisar antara 0,1-0,3 mg/l. Kisaran ini masih wajar dan berada dalam kisaran optimal pemeliharaan ikan nila. Konsentrasi amoniak yang ideal dalam air bagi kehidupan ikan tidak boleh melebihi 1 mg/l.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil dari penelitian yang dilakukan selama 21 hari mengenai pengaruh asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila* dapat disimpulkan dari variabel yang di amati yakni jumlah eritrosit,leukosit, hematokrit,hemoglobin,perubahan bobot, kelangsungan hidup dan kualitas air, bahwa jumlah eritrosit tertinggi pada perlakuan A(KN) $1.800 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan di ikuti oleh perlakuan D (1%) sebesar $1.580 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, perlakuan E (1,5%) yaitu sebesar $1.260 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$, Perlakuan C (0,5%) sebesar $1.030 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan jumlah eritrosit terendah pada perlakuan B (KP) yaitu sebesar $350 \times 10^3 \text{ sel/mm}^3$ dan jumlah sel leukosit tertinggi berada pada perlakuan C yaitu sebesar $1.295 \times 10^2 \text{ sel/mm}^3$, kemudian diikuti oleh perlakuan B sebesar $1.264 \times 10^2 \text{ sel/mm}^3$, Perlakuan E sebesar $1.062 \times 10^2 \text{ sel/mm}^3$, Perlakuan A sebesar $1.007 \times 10^2 \text{ sel/mm}^3$, dan jumlah Leukosit terendah ada pada perlakuan D sebesar $988 \times 10^2 \text{ sel/mm}^3$.

. Hematokrit tertinggi pada perlakuan D sebesar 26,89 %, dan di ikuti oleh perlakuan E sebesar 21,67%, Perlakuan C yaitu sebesar 20,88 % dan jumlah hematokrit terendah pada perlakuan B yaitu sebesar 11,87 %. Sedangkan pada perlakuan A dengan nilai 27,81% merupakan perlakuan kontrol negatif. Pada pengamatan hemoglobin perlakuan C, D dan E memiliki jumlah Hb yang lebih tinggi dari perlakuan B ini dikarenakan perlakuan B, perlakuan A merupakan acuan bagi perlakuan yang lain, sedangkan Perubahan bobot tertinggi pada perlakuan A dengan rata-rata perubahan bobot mencapai 9,00 gram, dikarenakan pada perlakuan tersebut tidak diuji tantang bakteri *aeromonas hydrophila*, perlakuan A merupakan acuan bagi perlakuan yang lain,kemudian di ikuti dengan perlakuan D dengan rata-rata bobot mencapai 4,60 gram selanjutnya diikuti dengan perlakuan E dengan rata-rata perubahan bobot 2,60 gram dan dilanjutkan dengan perlakuan C dengan rata-rata perubahan bobot 2,33 gram sedangkan perubahan bobot terendah terjadi pada perlakuan B dengan rata-rata perubahan

1,70 gram, dikarenakan perlakuan B mengalami uji tantang dengan bakteri *aeromonas hydrophila* tanpa diberikan perlakuan menggunakan ekstrak asam humat tanah gambut. . Suhu, DO, pH dan Amoniak dari awal penelitian hingga akhir penelitian tidak mengalami perubahan yang signifikan dan semua dalam kondisi optimal.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian kadar asam humat yang efektif untuk hematologi ikan nila yang di uji tantang bakteri *aeromonas hydrophila* adalah kadar asam humat 1% serta perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh ekstrak asam humat tanah gambut terhadap hematologi ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriessse, J.P. 1994. Constraints and opportunities for alternative use options of tropical peat land. In B.Y. Aminuddin (Ed.). Tropical Peat; Proceedings of International Symposium on Tropical Peatland, 6-10 May 1991, Kuching, Sarawak, Malaysia.
- Anderson, P.S. 1995. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih bahasa: Peter Anugerah. Jakarta: EGC. Penerbit Buku Kedokteran. Vol. 5 No.3: 11 - 17
- Anderson D.P. 1992. Immunostimulants, Adjuvants And Vaccine Carriers In Fish: Application To Aquaculture. Annual Rev Of Fish Diseases. 2:281-307.
- Anderson D.P., Siwicki A.K. 1993. Basic hematology and serology for fish health programs. Paper presented in second symposium on diseases in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and the Environment". Phuket, Thailand.185-202.
- Azhari C, Tumbol RA, Kolopita MEF. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan pada jaring tancap di Danau Tondano. Jurnal Budidaya Perairan. 2(3) : 24 – 30.
- Bastiawan, D. Wahid, A. Alifuddin, M. Agustiawan, I. 2001. Gambaran darah lele sangkuriang (*Clarias spp.*) yang diinfeksi cendawan *aphanomyces spp.* Pada pH yang berbeda. Jurnal penelitian perikanan Indonesia.
- Bailey CA, White KE, Donke SL. 1996. Evaluation of Menefee Humate on Performance of Broilers. Poultry Science. 75: 84–87.
- Blaxhall PC. and Daisley KW. 1973. Routine Haematological Methods for Use With Fish Blood. J. Fish Biology. 5:577-581
- Cowan ST, Barrow GI, Steel KJ and Feltham RKA. 1974. Cowan and steel's manual for the identification of medical bacteria. (2nd ed.). Cambridge : Cambridge University Press
- Diemont, W.H. and Pons, L.J. 1991. A preliminary note on peat formation and gleying in Mahakam inland floodplain, East kalimantan, Indonesia. Proc. International Symposium on Tropical Peatland. 6-10 May 1991, Kuching, Serawak, Malaysia.
- Dinas Kelautan dan Perikanan Provinsi Kalimantan Barat, 2011, Statistik Perikanan Tangkap, Perikanan Budidaya, Ekspor - Impor Setiap Kabupaten / Kota di Kalimantan Barat , Pontianak (Laporan tahunan)

- Dinh T, Braunagel S, Rosenblum BI., (2015), Growth factors in wound healing: the present and the future? *Clin Pediatr Med Surg*. Vol.32(1), p.109-190.
- Effendie, H. 2003. Telaah Kualitas Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan. Kansius. Yogyakarta.
- Effendie, M. I., 1997. Metode Biologi Perikanan. Yayasan Pustaka Nusantara, Yogyakarta. 163 Hal.
- Faridah, N., 2010. Efektivitas ekstrak lidah buaya Aloe vera dalam pakan sebagai imunostimulan untuk mencegah infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias Sp.* Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Faten Khorshid, S. S. (2010). *Plectranthus tenuiflorus* (Shara) Promotes Wound Healing: In vitro and in vivo Studies. *Int. J. of Botany*, 69-80
- Frisca, Sardjono, C.T., and Sandra F., 2009, Angiogenesis: Patofisiologi dan Aplikasi Klinis, *JKM*, Vol 8 (2): 174-187.
- Giyarti D. 2000. Efektivitas Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.), Sambiloto (*Andrographis paniculata* [Burm. f.] Nees) dan Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Gutner, GC., (2007). Wound Healing, Normal and Abnormal. In Grabb and Smith's Plastic Surgery 6th edition (pp. 15-22). Philadelphia: Elseviers.
- Guyton AC.1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. Irawati Setiawan (Penerjemah). Penerbit Buku kedokteran EGC, Jakarta
- Hadi, M., Agustono dan Y. Cahyoko. 2009. Pemberian tepung limbah udang yang difermentasi dalam ransum pakan buatan terhadap laju pertumbuhan, rasio konversi pakan dan kelangsungan hidup benih ikan nila. Universitas Airlangga.
- Hanafiah. K.A. 2012. Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Rajawali Pers. Jakarta. xiv, 260 hlm.
- Hariani, L. (2017). Pola Proses Penyembuhan Luka sekitar melalui analisis ekspresi EGF, VEGF, TGF-beta, kolagen, MMP-1 dan pembuluh kapiler yang diinduksi adiposed derived mesenchymal stem cells pada luka primer. Surabaya: Ilmu Kedokteran Jenjang Doktor Universitas Airlangga.
- Hardjowigeno, S. 1986. Sumber daya fisik wilayah dan tata guna lahan: Histosol. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Hal. 86-94.

- Hartika R, Mustahal, Putra A.N, 2014. Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Dengan Penambahan Dosis Probiotik Yang Berbeda Dalam Pakan. Jl. Raya Jakarta Km. 4 Pakupatan, Serang Banten. Jurnal Perikanan dan Kelautan Vol. 4 No. 4 : 259-267.
- Hastuti, S. 2004. Respons Fisiologis Ikan Gurami (*Osporonemus gouramy*, Lac.) yang Diberi Pakan Mengandung Kromium-Ragi Terhadap Perubahan Suhu Lingkungan. [Disertasi]. Program Pascasarjana, Institut pertanian Bogor.
- IHHS (International Humic Substances Society). 2012. Isolation of IHSS soil fulvic and humic acids.
- Joone KT, Dekker J and van Rensburg CEJ. 2003. Investigation of immunostimulatory properties of oxihumate. *Naturforsch*, 58(3): 263-267
- Junek R, Morrow R, Schoenherr J, Schubert R, Kallmeyer R, Phul S, Klocking R. 2009. Bimodal effect of humic acids on the LPS-induced TNF- α release from differentiated U937 cells. *Phytomedicine*, 16(5): 470– 476
- Kalangi, S.J.R., 2011, Peran Integrin pada Angiogenesis Penyembuhan Luka, *Cermin Dunia Kedokteran*, 38(3): 177-181
- Kamaludin, I., 2011. Efektivitas ekstrak lidah buaya (*Aloe vera*) untuk Pengobatan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias Sp*) Melalui Pakan. [Skripsi]. Departemen Budidaya Perairan,
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2012. Hama dan Penyakit Ikan. Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan Badan Pengembangan SDM Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2011. Penyakit Ikan Budidaya. Pusat Penyuluhan Kelautan dan Perikanan Badan Pengembangan SDM Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Kodama K, Denso, Nakagawa, J. 2007. Protection against atypical *Aeromonas salmonicida* infection in carp (*Cyprinus carpio*) by oral administration of humus extract. *Journal of Veterinary Medical Science*, 69(4): 405-408
- Kordi MGH. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- Kusuma. 2016. Mengenal Bakteri Patogen Pada Ikan. <https://ndkbluefin89.wordpress.com> [Diakses Juni 2019].
- Lagler, K.F., Bardach, J.E., Miller, R.R., Passiono, D.R., 1977. *Ichthyology*. John Wiley and Sons Inc, New York-London. Lentera. 2002. Pembesaran Ikan Mas di Kolam Air Deras. PT. Argomedia Pustaka, Depok.

- Landén, N. X., Li, D., & Stähle, M. (2016). Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing. *Cellular and Molecular Life Sci.* 73(20)
- Mardiana. 2013. Peningkatan Respon Immun Pada Ikan Nila(*oreochromis niloticus*) Dengan Pemberian Pakan Xantone Yang Diestrak Dari Kulit Manggis(*garcinia mangostana L*). Tesis. Program Studi Ilmu Perikanan, Program Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin.
- Mariyono, Puspitasari dan Sutomo. 2000. Tehnik Uji Ketahanan Bibit Ikan Nila dan Nila terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan berbagai kepadatan. *Buletin Tehnik Pertanian*, 5(II) : 77-78
- Mariyono, Agus S. 2005. Teknik pencegahan dan pengobatan penyakit bercak merah pada ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Buletin Teknik Pertanian* 7(1).
- Mandasari, D. 2016. Penambahan Asam Humat Dalam Pakan Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Ikan Nila (*oreochromis niloticus*). Skripsi. Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Moyle, P.B. and J.J. Cech, Jr. 1988. *Fishes. An Introduction to Ichthyology*. Second edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Murjani, A. 2011. Budidaya beberapa varietas ikan sepat rawa (*Trichogaster trichopterus* Pall) dengan pemberian pakan komersial. *Jurnal Fish Scientiae*.1(2): 214–233.
- Nabib R, Pasaribu FH. 1989. *Patologi Dan Penyakit Ikan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. IPB
- Noor, M. 2001. *Pertanian Lahan Gambut: Potensi dan Kendala*. Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Page, S.E., F. Siegert, J.O. Rieley, H-D.V. Boehm, A. Jaya, S.H. Limin. 2002. The amount of carbon released from peat and forest fires in Indonesia during 1997, *Nature*, 420, 61-65.
- Piradina N, Basori A, perdanakusuma D.S. 2019. Proses Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Aspek Mekanisme Seluler Dan Molekuler. *Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surabaya. Qanun Medika* Vol. 3 No. 1
- Prasetyono, T., (2009). General concept of wound healing, revisited, *Med. J. Indones* .18:208-216.

- Prihadi, D.J. 2007. Pengaruh jenis dan waktu pemberian pakan terhadap tingkat kelangsungan hidup dan pertumbuhan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dalam keramba jaring apung di Balai Budidaya Laut Lampung. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Bandung. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 493- 953
- Rahmaningsih. 2012. Pengaruh Ekstrak Sidawayah dengan Konsentrasi yang Berbeda untuk Mengatasi Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*
- Rasch M, Buch C, Austin B et al. 2004. An inhibitor of bacterial quorum sensing reduces mortality caused by vibriosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss wal-baum*). *Syst Appl Microbiol* 27(3): 350359.
- Rusdi DW, Wijayanti N. 2016. Peningkatan imunitas nonspesifik ikan mas, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophilla* dengan pemberian asam humat tanah gambut. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 16(3): 345-352
- Samsundari S. 2006. Pengujian ekstrak temulawak dan kunyit terhadap resistensi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Gamma* 2(1): 71-83.
- Saragih AA, Syawal H, Lukistyowati I. 2015. Identifikasi Bakteri Patogen Pada Ikan Selais (*Ompok hypoptalmus*) Yang Tertangkap di Sungai Kampar Desa Teratak Buluh Provinsi Riau. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan Vol 2, No 2*
- Soil Survey Staff. 2003. Key to Soil taxonomy. 9th Edition. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service.
- Sri Fajriani A, Marsaoly. (2016). Infeksi Luka Post Operasi Pada Pasien Post Operasi Di Bangsal Bedah Rs Pku Muhammadiyah Bantul
- Sugiarto. 1998. Kajian usaha penangkapan ikan. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Svobodova, Z., Vykusova, B., 1991. Diagnostic Prevention and Therapy of Fish Diseases and Intoxication. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany, Czechoslovakia.
- Swann, L., and White, M.R. (1989). Diagnosis and treatment of "Aeromonas hydrophila" infection of Fish. Aqua Culture Extension, Illinois Indiana Sea Grant Program.
- Tie, Y.L. and J.S. Lim. 1991. Characteristics and classification of organic soils in Malaysia. Proc. International Symposium on tropical peatland. 6-10 May 1991, Kuching, Serawak, Malaysia.

- T Velnar, T Bailey, V Smrkolj, (2009), The Wound Healing Process : an Overview of Cellular and Molecular Mechanism, The J of International Medical Research, p.1528-42.
- Wang QYJ, Chen JS, Yoo HJ, Kim JH and Cho IH Kim. 2008. Effects of Supplemental Humic Substances on Growth Performance, Blood Characteristics and Meat Quality in Finishing Pigs. *Livestock Science*. 117: 330–714.
- Werner S, G. R. (2003). Regulation of wound healing by growth factor and cytokines. *Physiol Rev* 83, 835-870.
- Zainun, Z. 2007. Pengamatan Parameter Hematologis pada Ikan Mas yang Diberi Immunostimulan. *Buletin Akuakultur* 6(1): 45-49
- Zulfahrudin. (2011). Efektifitas Ikan Nila dan Manipulasi Lingkungan untuk Menurunkan Kepadatan Jentik Nyamuk *Anopheles* sp. Di Laguna Kecamatan Tanjung Lombok Utara. Tesis Universitas Gadjah Mada

LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel Nomor Acak Perlakuan dan Ulangan

Tabel Nomor Acak

No	Perlakuan	Ulangan	Nomor acak
1	A	1	15
2		2	13
3		3	5
4	B	1	6
5		2	10
6		3	2
7	C	1	11
8		2	7
9		3	3
10	D	1	1
11		2	12
12		3	4
13	E	1	8
14		2	9
15		3	14

Lampiran 2. Uji Normalitas Lilliefors Sel Eritrosit Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1	0	-2,06	0,02	0,07	0,05
2	435	-1,32	0,09	0,13	0,04
3	630	-0,99	0,16	0,20	0,04
4	847	-0,62	0,27	0,27	0,00
5	963	-0,42	0,34	0,33	0,00
6	984	-0,38	0,35	0,40	0,05
7	1012	-0,34	0,37	0,47	0,10
8	1259	0,09	0,53	0,53	0,00
9	1308	0,17	0,57	0,60	0,03
10	1547	0,58	0,72	0,67	0,05
11	1620	0,70	0,76	0,73	0,03
12	1830	1,06	0,86	0,80	0,06
13	1834	1,07	0,86	0,87	0,01
14	1912	1,20	0,88	0,93	0,05
15	1957	1,28	0,90	1,00	0,10
Jumlah	18138,00	0,00	7,67	8,00	0,60
Rata-rata	1209,20	0,00	0,51	0,53	0,04

Mean **1209,20**

Standar Deviasi **0,94**

L Hits maks **0,10**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **→** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 3. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Sel Eritrosit Ikan Nila

Perlakuan	Db	ΣX^2	S^2	$\text{Log} S^2$	$\text{db} \cdot \text{log} S^2$	$\text{db} \cdot S^2$	$\text{Ln} 10$
A	2	30000,00	33,33	0,00	0,00	66,67	2,30
B	2	800,00	300,00	2,48	4,95	600,00	
C	2	10400,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
D	2	22800,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
E	2	22800,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
Σ	10	86800,00	433,33	7,05	14,09	866,67	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\Sigma(\text{db} \cdot S^2)}{\Sigma \text{db}} \\
 &= \frac{(2 \times 33,33) + \dots + (2 \times 33,33)}{10} \\
 &= 86,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\Sigma \text{db}) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= 19,38
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln} 10 \times (B - \Sigma \text{db} \cdot \log S^2) \\
 &= 2,30 \times (19,38 - 14,09) \\
 &= \mathbf{12,17}
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{18,307}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{23,209}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 4. Sidik Ragam sel eritrosit ikan nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	I	II	III			
A	1957	1834	1620	5411,00	1803,67	170,54
B	630	435	0	1065,00	355,00	322,53
C	1308	847	963	3118,00	1039,33	239,79
D	1912	1012	1830	4754,00	1584,67	497,64
E	1259	1547	984	3790,00	1263,33	281,53
Σ	7066,00	5675,00	18138,00	18138,00	6046,00	1512,02
\bar{X}	1413,20	1135,00	3627,60	3627,60	1209,20	302,40

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(18138,00)^2}{5.3} = 21932469,60$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK \\ &= (1957^2 + \dots + 984^2) - 21932469,60 \\ &= 4802436,40 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(5411,00)^2 + \dots + (3790,00)^2}{3} - 21932469,60 \\ &= 3767425,73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 4802436,40 - 3767425,73 \\ &= 1035010,67 \end{aligned}$$

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	3767425,73	941856,43	9,10	3.48	5.98
Galat	10	1035010,67	103501,07			
Total	14	555.733				

Ket : ** perlakuan berbeda sangat nyata

Lampiran 5. Koefesien keragaman eritrosit ikan nila

$$\text{KT Galat} = 103501,07$$

$$Y = 1209,20$$

$$\text{KK} = \sqrt{\frac{\text{Kt Galat}}{Y}} \times 100 \%$$

$$\text{KK} = \sqrt{\frac{103501,07}{1209,20}} \times 100 \%$$

$$\text{KK} = 26,60 \%$$

Nilai KK 26,60%% sehingga dilakukan uji beda jarak nyata Duncan (Uji Duncan)

Lampiran 6. Uji Duncan Eritrosit Ikan Nila

Perlakuan	Rata-rata	Beda Riel								
		2		3		4		5		
A	34,02	-								a
B	14,98	-19,0	**	-						b
C	33,10	-0,9	tn	18,1	**	-				c
D	18,87	-15,2	**	3,9	*	-14,2	**	-		d
E	19,51	-14,51	**	4,53	*	-13,59	**	0,64	*	e
P0,05 (P.10)		3.15		3.3		3.37				
P0.01 (P.10)		4.48		4.73		4.88				
BJND P0,05 (P.8)		13,76		14,41		14,72				
BJNDP0.01 (P.10)		19,56		20,66		21,31				

Keterangan

- tn = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 7 . Uji Normalitas Lilliefors Sel Leukosit Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1	0	-2,24	0,01	0,07	0,05
2	720	-0,80	0,21	0,13	0,08
3	763	-0,72	0,24	0,20	0,04
4	824	-0,60	0,28	0,27	0,01
5	850	-0,54	0,29	0,33	0,04
6	870	-0,50	0,31	0,40	0,09
7	970	-0,31	0,38	0,47	0,09
8	984	-0,28	0,39	0,53	0,14
9	1218	0,19	0,57	0,60	0,03
10	1346	0,44	0,67	0,67	0,00
11	1450	0,65	0,74	0,73	0,01
12	1451	0,65	0,74	0,80	0,06
13	1612	0,97	0,83	0,87	0,03
14	1871	1,49	0,93	0,93	0,00
15	1921	1,59	0,94	1,00	0,06
Jumlah	16850,00	0,00	7,55	8,00	0,73
Rata-rata	1123,33	0,00	0,50	0,53	0,05

Mean **1123,33**

Standar Deviasi **502,32**

L Hits maks **0,14**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **➡** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 8. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Leukosit Ikan Nila

Perlakuan	Db	ΣX^2	S^2	Log S^2	db.log S^2	db. S^2	Ln10
A	2	3346301	152077	5,18	10,36	304154	2,30
B	2	7190882	1198897	6,08	12,16	2397794	
C	2	5380020	173177,33	5,24	10,48	346354,67	
D	2	3033949	51770,33	4,71	9,43	103540,67	
E	2	3509516	62992	4,80	9,60	125984	
Σ	10	22460668	1638913,67	7,05	52,03	3277827,33	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\Sigma(db.S^2)}{\Sigma db} \\
 &= \frac{(2 \times 152077) + \dots + (2 \times 62992)}{10} \\
 &= 315184,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\Sigma db) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= 54,99
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln}10 \times (B - \Sigma db.\log S^2) \\
 &= 2,30 \times (54,99 - 52,03) \\
 &= 6,82
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{18.307}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{23.209}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 9. Sidik Ragam sel leukosit ikan nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	I	II	III			
A	720	1451	850	3021	1007	389,97
B	1871	1921	0	3792	1264	35,36
C	824	1450	1612	3886	1295	416,15
D	763	1218	984	2965	988	227,53
E	970	870	1346	3186	1062	250,98
Σ	5148	6910	958,40	16850	5616,67	1319,98
X̄	1029,60	1382,00	958,40	3370,00	1123,33	264,00

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(16850)^2}{5.3} = 18928166,67$$

$$JKT = \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK$$

$$= (720^2 + \dots + 1346^2) - 18928166,67 = 3532501,33$$

$$JKP = \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(3021)^2 + \dots + (3186)^2}{3} - 18928166,67$$

$$= 254674,00$$

$$JKG = JKT - JKP$$

$$= 3532501,33 - 254674,00$$

$$= 3277827,33$$

SK	Db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	254674,00	63668,5	0,19	3.48	5.98
Galat	10	3277827,33	327782,73			
Total	14	3532501,33				

Ket : perlakuan tidak berbeda nyata

Lampiran 10. Uji Normalitas Lilliefors Hematokrit Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1	0,00	-3,01	0,00	0,07	0,07
2	17,60	-0,59	0,28	0,13	0,14
3	18,00	-0,53	0,30	0,20	0,10
4	19,40	-0,34	0,37	0,27	0,10
5	19,80	-0,29	0,39	0,33	0,05
6	19,90	-0,27	0,39	0,40	0,01
7	22,20	0,05	0,52	0,47	0,05
8	23,44	0,22	0,59	0,53	0,05
9	23,60	0,24	0,59	0,60	0,01
10	23,84	0,27	0,61	0,67	0,06
11	26,64	0,66	0,74	0,73	0,01
12	26,80	0,68	0,75	0,80	0,05
13	27,00	0,71	0,76	0,87	0,11
14	29,84	1,10	0,86	0,93	0,07
15	30,00	1,12	0,87	1,00	0,13
Jumlah	328,06	0,00	8,02	8,00	1,01
Rata-rata	21,87	0,00	0,53	0,53	0,07

Mean **21,87**

Standar Deviasi **7,26**

L Hits maks **0,14**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **➡** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 11. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Hematokrit Ikan Nila

Perlakuan	Db	ΣX^2	S^2	$\text{Log} S^2$	$\text{db} \cdot \text{log} S^2$	$\text{db} \cdot S^2$	$\text{Ln} 10$
A	2	2327,93	3,59	0,56	1,11	7,19	2,30
B	2	633,76	105,65	2,02	4,05	211,31	
C	2	1317,83	4,96	0,70	1,39	9,91	
D	2	2187,77	9,01	0,95	1,91	18,02	
E	2	1445,81	3,49	0,54	1,09	6,98	
Σ	10	7913,10	126,70	4,77	9,54	253,40	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\Sigma(\text{db} \cdot S^2)}{\Sigma \text{db}} \\
 &= \frac{(2 \times 3,59) + \dots + (2 \times 3,49)}{10} \\
 &= 24,64
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\Sigma \text{db}) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= 13,92
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln} 10 \times (B - \Sigma \text{db} \cdot \log S^2) \\
 &= 2,30 \times (13,92 - 9,54) \\
 &= 10,07
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{18.307}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{23.209}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 12. Sidik Ragam Hematokrit ikan nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	I	II	III			
A	30,00	26,64	26,80	83,44	27,81	1,90
B	18,00	17,60	0,00	35,60	11,87	10,28
C	23,44	19,40	19,80	62,64	20,88	2,23
D	29,84	23,84	27,00	80,68	26,89	3,00
E	22,20	23,60	19,20	65,00	21,67	2,25
Σ	123,48	111,08	92,80	327,36	109,12	19,65
Ā	24,70	22,22	18,56	65,47	21,82	3,93

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(327,36)^2}{5.3} = 7144,30$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK \\ &= (30,00^2 + \dots + 19,20^2) - 7144,30 \\ &= 741,43 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(83,44)^2 + \dots + (65,00)^2}{3} - 7144,30 \\ &= 484,90 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 741,43 - 484,90 \\ &= 256,53 \end{aligned}$$

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	484,90	121,23	462,69	3,48	5,98
Galat	10	2,62	0,26			
Total	14	487,52				

Ket : **perlakuan berbeda sangat nyata

Lampiran 13. Koefesien keragaman Hematokrit ikan nila

$$KT \text{ Galat} = 0,26$$

$$Y = 21,82$$

$$KK = \sqrt{\frac{Kt \text{ Galat}}{Y}} \times 100 \%$$

$$KK = \sqrt{\frac{0,26}{21,82}} \times 100 \%$$

$$KK = 2,33 \%$$

Nilai KK 2,33 % sehingga dilakukan uji beda jarak nyata BNT

Lampiran 14. Uji BNT hematokrit Ikan Nila

Perlakuan	Rata-rata	Beda Riel								
		2	3	4	5					
A	28	-					a			
B	12	-16	tn	-			b			
C	21	-7	*	9	**	-	c			
D	27	-1	tn	15	**	6	**	a		
E	22	-6	*	10	**	1	tn	-5	*	d
P0,05 (P.10)		3.15		3.3		3.37				
P0.01 (P.10)		4.48		4.73		4.88				
BJND P0,05 (P.8)		13,76		14,41		14,72				
BJNDP0.01 (P.10)		19,56		20,66		21,31				

Keterangan

- tn = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 15. Uji Normalitas Lilliefors Hemoglobin Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1		-4,45	0,00	0,07	0,07
2	3,20	-2,40	0,01	0,13	0,13
3	4,00	-1,88	0,03	0,20	0,17
4	6,20	-0,46	0,32	0,27	0,05
5	6,70	-0,14	0,44	0,33	0,11
6	6,80	-0,08	0,47	0,40	0,07
7	7,20	0,18	0,57	0,47	0,10
8	7,20	0,18	0,57	0,53	0,04
9	7,40	0,31	0,62	0,60	0,02
10	7,60	0,44	0,67	0,67	0,00
11	7,80	0,57	0,71	0,73	0,02
12	7,90	0,63	0,74	0,80	0,06
13	8,10	0,76	0,78	0,87	0,09
14	8,20	0,82	0,79	0,93	0,14
15	8,60	1,08	0,86	1,00	0,14
Jumlah	96,90	-4,45	7,58	8,00	1,21
Rata-rata	6,92	-0,30	0,51	0,53	0,08

Mean **6.92**

Standar Deviasi **1,55**

L Hits maks **0,11**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **→** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 16. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Hemoglobin Ikan Nila

Perlakuan	db	ΣX^2	S ²	LogS ²	db.Logs ²	db.S ²	Ln10
A	2	202,04	0,16	-0,80	-1,59	0,32	2,30
B	2	26,24	4,48	0,65	1,30	8,96	
C	2	138,09	0,36	-0,44	-0,88	0,73	
D	2	179,86	0,22	-0,65	-1,30	0,45	
E	2	155,84	0,16	-0,80	-1,59	0,32	
Σ	10	702,07	5,39	-2,03	-4,06	10,77	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\sum(db.S^2)}{\sum db} \\
 &= \frac{(2 \times 0,32) + \dots + (2 \times 0,32)}{10} \\
 &= 1,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\sum db) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= 0,19
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln}10 \times (B - \sum db \cdot \log S^2) \\
 &= 2,30 \times (0,19 - 4,06) \\
 &= 9,80
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{18.307}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{23.209}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 17. Sidik Ragam Hemoglobin ikan nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	I	II	III			
A	8,60	8,20	7,80	24,60	8,20	0,40
B	4,00	3,20	0,00	7,20	2,40	2,12
C	7,40	6,20	6,70	20,30	6,77	0,60
D	8,10	7,20	7,90	23,20	7,73	0,47
E	7,20	7,60	6,80	21,60	7,20	0,40
Σ	35	32	29	96,90	32,30	
\bar{x}	7,06	6,48	5,84	19,38	6,46	

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(96,90)^2}{5.3} = 625,97$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK \\ &= (8,60^2 + \dots + 6,80^2) - 625,97 \\ &= 76,10 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(24,60)^2 + \dots + (21,60)^2}{3} - 625,97 \\ &= 65,32 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 76,10 - 65,32 \\ &= 10,78 \end{aligned}$$

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	65,32	16,33	15,16	3,48	5,98
Galat	10	10,77	1,08			
Total	14	76,10				

Ket : **perlakuan berbeda sangat nyata

Lampiran 18. Koefisien Keragaman Hemoglobin Ikan Nila

$$KT \text{ Galat} = 1,08$$

$$Y = 6,46$$

$$KK = \sqrt{\frac{Kt \text{ Galat}}{Y}} \times 100 \%$$

$$KK = \sqrt{\frac{1,08}{6,46}} \times 100 \%$$

$$KK = 16,08 \%$$

Nilai KK 16,08 % sehingga dilakukan uji beda jarak nyata DUNCAN

Lampiran 19. Uji Duncan Hemoglobin Ikan Nila

Perlakuan	Rata-rata	Beda Riel								
		2		3		4		5		
A	8,20	-								a
B	2,40	-5,8	**	-						b
C	6,77	-1,4	tn	4,4	*	-				a
D	7,73	-0,5	tn	5,3	**	1,0	tn	-		a
E	7,20	-1,00	tn	4,80	**	0,43	tn	-		a
P0,05 (P.10)		3.15		3.3		3.37		3,43		
P0.01 (P.10)		4.48		4.73		4.88		4,96		
BJND P0,05 (P.8)		1,89		1,98		2,02		2,06		
BJNDP0.01 (P.10)		2,69		2,84		2,93		2,98		

Keterangan

- tn = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 20. Tabel Perubahan Bobot Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan	Bobot Awal	Bobot Akhir	Selisih	SD %
A (KN)	1	134	143	9	1,00
	2	119	127	8	
	3	120	130	10	
	Rata-rata	124,3	133,3	9	
B (KP)	1	120	103	1	0,58
	2	127	128	1	
	3	100	100	0	
	Rata-rata	115,6	4,72	1,70	
C (0,5%)	1	103	105	2	0,58
	2	102	105	3	
	3	95	97	2	
	Rata-rata	100	102,3	2,33	
D (1%)	1	90	96	6	1,53
	2	97	102	5	
	3	133	136	3	
	Rata-rata	106,6	111,3	4,60	
E (1,5%)	1	107	110	3	0,58
	2	83	85	2	
	3	114	117	3	
	Rata-rata	101,3	104	2,6	

Lampiran 21. Uji Normalitas Lilliefors Perubahan Bobot Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1	0,00	-1,26	0,10	0,07	0,04
2	1,00	-0,93	0,18	0,13	0,04
3	1,00	-0,93	0,18	0,20	0,02
4	2,00	-0,61	0,27	0,27	0,00
5	2,00	-0,61	0,27	0,33	0,06
6	2,00	-0,61	0,27	0,40	0,13
7	3,00	-0,28	0,39	0,47	0,08
8	3,00	-0,28	0,39	0,53	0,14
9	3,00	-0,28	0,39	0,60	0,21
10	3,00	-0,28	0,39	0,67	0,28
11	5,00	0,37	0,64	0,73	0,09
12	6,00	0,70	0,76	0,80	0,04
13	8,00	1,35	0,91	0,87	0,04
14	9,00	1,67	0,95	0,93	0,02
15	10,00	2,00	0,98	1,00	0,02
Jumlah	58	0,00	7,07	8,00	1,23
Rata-rata	3,87	0,00	0,47	0,53	0,08

Mean **3,87**

Standar Deviasi **3,07**

L Hits maks **0,28**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **→** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 22. Uji Homogenitas Ragam Bartlet Perubahan Bobot Ikan Nila

	db	$\sum X^2$	S²	LogS²	db.LogS²	db.S²	Ln10
A	2	245,00	1,000	0,00	0,00	2,00	2,30
B	2	2,00	0,333	-0,48	-0,95	0,67	
C	2	17,00	0,333	-0,48	-0,95	0,67	
D	2	70,00	2,333	0,37	0,74	4,67	
E	2	22,00	0,333	-0,48	-0,95	0,67	
Jumlah	10	356,00	4,33	-1,06	-2,13	8,67	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\sum(db.S^2)}{\sum db} \\
 &= \frac{(2 \times 1,000) + \dots + (2 \times 0,333)}{10} \\
 &= 0,87
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\sum db) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= -0,62
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln}10 \times B - \sum db \cdot \log S^2 \\
 &= 2,30 \times (-0,62 - -2,13) \\
 &= 3,47
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{11,07}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{15,09}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 23. Sidik Ragam Perubahan Bobot Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A	9,00	8,00	10,00	27,00	9,00
B	1,00	1,00	0,00	2,00	0,67
C	2,00	3,00	2,00	7,00	2,33
D	6,00	5,00	3,00	14,00	4,67
E	3,00	2,00	3,00	8,00	2,67
Jumlah	21,00	19,000	18,000	58,000	19,33
Rata-rata	4,20	3,800	3,600	11,600	3,87

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(58,000)^2}{5.3} = 224,27$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK \\ &= (9,00^2 + \dots + 3,00^2) - 224,27 \\ &= 131,73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(27,00)^2 + \dots + (8,00)^2}{3} - 224,27 \\ &= 123,07 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 131,73 - 123,07 \\ &= 8,67 \end{aligned}$$

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftab	
					5%	1%
Perlakuan	4	123,07	30,77	35,50	3,48	5,99
Galat	10	8,67	0,87			
Jumlah	14	131,73				

Ket : ** perlakuan berbeda dengan sangat nyata

Lampiran 24. Koefisien Keragaman Perubahan Bobot Ikan Nila

$$\text{KT Galat} = 0,87$$

$$Y = 3,87$$

$$\text{KK} = \sqrt{\frac{\text{Kt Galat}}{Y}} \times 100 \%$$

$$\text{KK} = \sqrt{\frac{0,87}{3,87}} \times 100 \%$$

$$\text{KK} = 24,102 \%$$

Nilai KK 24,102 % sehingga dilakukan uji beda jarak nyata DUNCAN

Lampiran 25. Uji Duncan Perubahan Bobot Ikan Nila

Perlakuan	rata-rata	Selisih Dengan				BJND 5%
		2	3	4	5	
A	9,00					a
B	0,67	8,33**				a
C	2,33	1,66 tn	6,67**			b
D	4,67	2,34*	4,00*	4,33*		c
E	2,67	2,00*	0,34 tn	2,00 tn	6,33**	d
P0,05(p.10)		3,15	3,30	3,37	3,34	
P0,01(p.10)		4,48	4,73	4,88	4,96	
BNJD						
0,05(P)=(p.Sy		31,50	33,00	33,70	33,40	
0,01(P)=(p.Sy		44,80	47,30	48,80	49,60	

Keterangan

- tn = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 26. Uji Normalitas Lilliefors SR Ikan Nila

No	Xi	Zi	F(Zi)	S(Zi)	F(Zi)-S(Zi)
1	0,00	-2,47	0,01	0,07	0,06
2	30,00	-1,41	0,08	0,13	0,05
3	30,00	-1,41	0,08	0,20	0,12
4	70,00	0,00	0,50	0,27	0,23
5	70,00	0,00	0,50	0,33	0,17
6	70,00	0,00	0,50	0,40	0,10
7	80,00	0,35	0,64	0,47	0,17
8	80,00	0,35	0,64	0,53	0,10
9	80,00	0,35	0,64	0,60	0,04
10	80,00	0,35	0,64	0,67	0,03
11	80,00	0,35	0,64	0,73	0,10
12	90,00	0,71	0,76	0,80	0,04
13	90,00	0,71	0,76	0,87	0,11
14	100,00	1,06	0,86	0,93	0,08
15	100,00	1,06	0,86	1,00	0,14
Jumlah	1050,00	0,00	8,09	8,00	1,54
Rata-rata	70,00	0,00	0,54	0,53	0,10

Mean **70,00**

Standar Deviasi **35,29**

L Hits maks **0,23**

L Tab (5%) (0,95;15) 0,220

L Tab (1%) (0,99;15) 0,257

L Hit < L Tab **→** Data Berdistribusi Normal

Lampiran 27. Uji Homogenitas Ragam Bartlet SR Ikan Nila

Perlakuan	db	ΣX^2	S ²	LogS ²	db.Logs ²	db.S ²	Ln10
A	2	30000,00	33,33	0,00	0,00	66,67	2,30
B	2	800,00	300,00	2,48	4,95	600,00	
C	2	10400,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
D	2	22800,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
E	2	22800,00	33,33	1,52	3,05	66,67	
Σ	10	86800,00	433,33	7,05	14,09	866,67	

$$\begin{aligned}
 S^2 &= \frac{\Sigma(db.S^2)}{\Sigma db} \\
 &= \frac{(2 \times 33,33) + \dots + (2 \times 33,33)}{10} \\
 &= 86,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 B &= (\Sigma db) \log S^2 \\
 &= 10 \times \log 10 \\
 &= 19,38
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 X^2 \text{ Hit} &= \text{Ln}10 \times (B - \Sigma db \cdot \log S^2) \\
 &= 2,30 \times (19,38 - 14,09) \\
 &= 12,17
 \end{aligned}$$

$$X^2 \text{ Tab (5\%)} = \mathbf{18.307}$$

$$X^2 \text{ Tab (1\%)} = \mathbf{23.209}$$

$$X^2 \text{ Hit} < X^2 \text{ Tab} \longrightarrow \text{Data Homogen}$$

Lampiran 28. Sidik Ragam SR Ikan Nila

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-rata	SD
	I	II	III			
A	100	90	100	290,00	96,67	5,77
B	30	30	0	60,00	20,00	17,3
C	70	70	80	220,00	73,33	2
D	90	80	80	250,00	83,33	5,77
E	80	70	80	230,00	76,67	5,77
Σ	370,00	340,00	340,00	1050,00	350,00	
\bar{X}	74,00	68,00	68,00	210,00	70,00	

$$FK = \frac{(\sum X)^2}{p.r} = \frac{(1050,00)^2}{5.3} = 73.500,00$$

$$\begin{aligned} JKT &= \sum(X_i^2 + \dots + X_i^2) - FK \\ &= (100^2 + \dots + 80^2) - 73.500,00 \\ &= 11.200,00 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKP &= \frac{\sum(\sum X_i)^2}{r} - FK = \frac{(290,00)^2 + \dots + (230,00)^2}{3} - 73.500,00 \\ &= 10.333,333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} JKG &= JKT - JKP \\ &= 11.200,00 - 10.333,33 \\ &= 866,67 \end{aligned}$$

SK	db	JK	KT	F Hit	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	10333,33	2583,33	29,81	3,48	5,98
Galat	10	866,67	86,67			
Total	14	11200				

Ket : ** perlakuan berbeda dengan sangat nyata

Lampiran 29. Koefesien Keragaman SR Ikan Nila

$$KT \text{ Galat} = 86,67$$

$$Y = 70,00$$

$$KK = \sqrt{\frac{Kt \text{ Galat}}{Y}} \times 100 \%$$

$$KK = \sqrt{\frac{86}{70,00}} \times 100 \%$$

$$KK = 13,24 \%$$

Nilai KK 13,24 % sehingga dilakukan uji beda jarak nyata DUNCAN

Lampiran 30. Uji Duncan SR Ikan Nila

Perlakuan	Rata-rata	Beda Riel								
		2		3		4		5		
A	96,67	-								a
B	20,00	-76,7	**	-						b
C	73,33	-23,3	**	53,3	**	-				c
D	83,33	-13,3	**	63,3	**	10,0	**	-		d
E	76,67	-20,00	**	56,67	**	3,34	*	-6,66	tn	d
P0,05 (P.10)		3.15		3.3		3.37		3,43		
P0.01 (P.10)		4.48		4.73		4.88		4,96		
BJND P0,05 (P.8)		16,93		17,74		18,11		18,44		
BJNDP0.01 (P.10)		24,08		25,42		26,23		26,66		

Keterangan

- tn = Tidak Berbeda Nyata
 * = Berbeda Nyata
 ** = Berbeda Sangat Nyata

Lampiran 31. Foto Dokumentasi



Pengekstrakan asam humat tanah gambut



Shaker dan sentrifuge



Penyaringan ekstrak asam humat



Hasil endapan setelah di campur asam kuat 6 M HCL



Pencampuran asam humat ke pakan komersil



Penimbangan berat biomas ikan nila



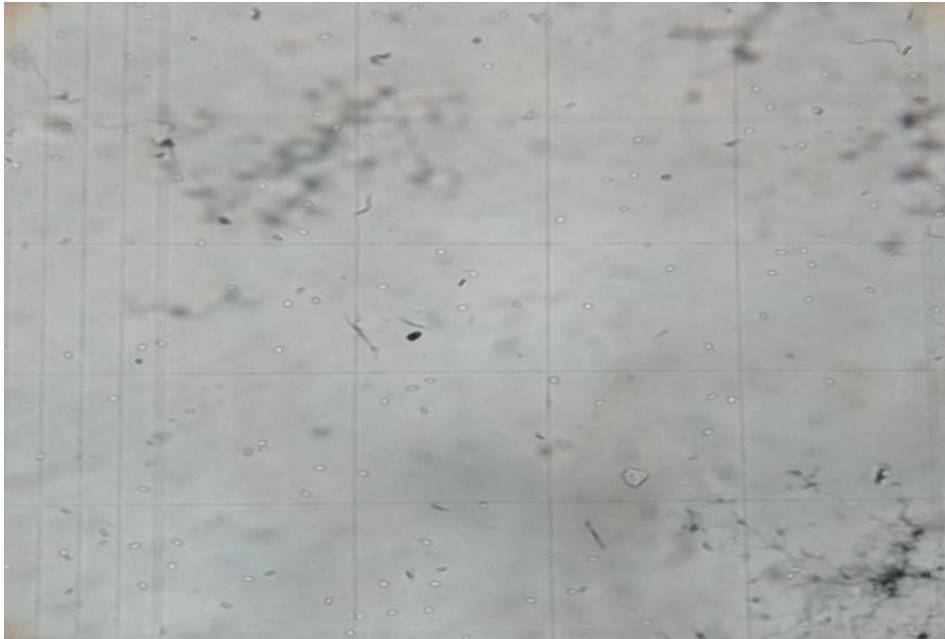
Penyuntikan bakteri *aeromonas hydrophila*



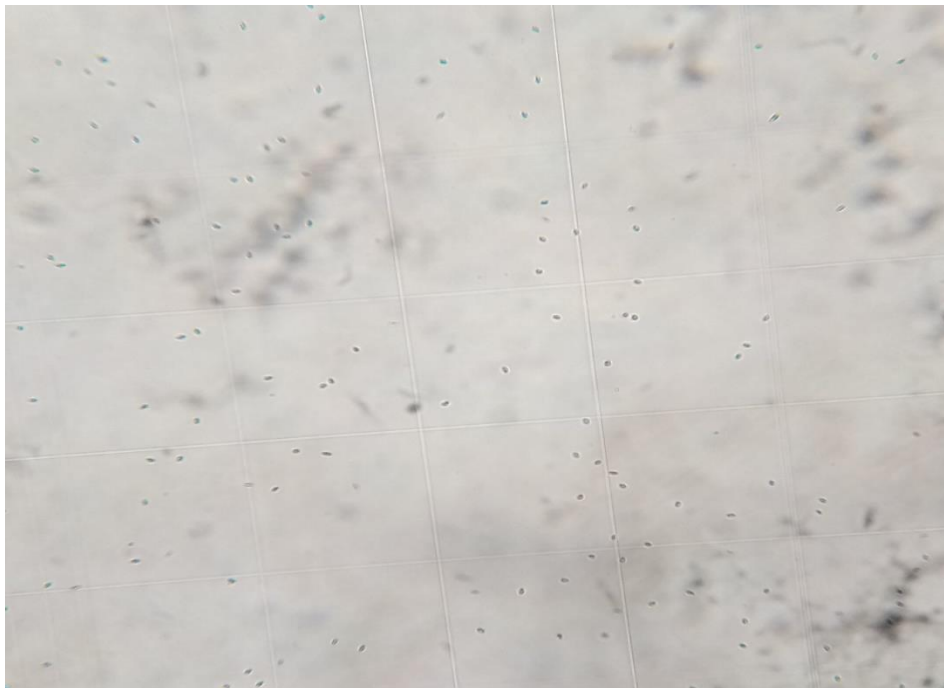
Pengambilan darah ikan nila



Pengamatan hematologi



Pembesaran 400x pada pengamatan leukosit



Pembesaran 400x pada pengamatan eritrosit



Pengamatan kualitas air

RIWAYAT HIDUP



Penulis dengan nama Amrijed (15.111.0215). Penulis lahir di Subang, 19 April 1995. Merupakan anak pertama dari tiga bersaudara, dengan ayah bernama Arfandi (alm) dan Ibu Aminah. Penulis mulai mendapatkan pendidikan formal di Sekolah Dasar Negeri 003 Kecamatan Subi pada tahun 2002 dan lulus 2008, kemudian pada tahun yang sama melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama Negeri 01 Kecamatan Subi dan lulus pada tahun 2011. Kemudian melanjutkan ke Sekolah Menengah Atas Negeri 01 Kecamatan Subi dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun 2015 penulis melanjutkan pendidikan formalnya di salah satu perguruan tinggi di Pontianak yaitu Universitas Muhammadiyah Pontianak, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Program Studi Budidaya Perairan. Alhamdulillah berkat rahmat Allah *subhanahuwata'ala* dan doa dari kedua orang tua serta usaha, penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Muhammadiyah Pontianak pada tanggal 28 Agustus tahun 2019 dan berhak memperoleh gelar Sarjana Perikanan (S.Pi).