



Efektivitas Campuran Minyak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) dan Minyak Serai Dapur (*Cymbopogon Citratus*) Sebagai Bahan Anestesi Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) dalam Transportasi Sistem Kering

Adfini Okty Wimadani¹, Noor Fitri²

¹Universitas Airlangga, ²Universitas Islam Indonesia

E-mail: noor.fitri@uii.ac.id

Article Info	Abstract
Article History Received: 2023-12-03 Revised: 2024-01-15 Published: 2024-02-01	Dry transportation system is one of the live fish transportation. An important step in this system is anesthesia. Clove oil and lemongrass oil contain eugenol and citral so they can be used as an anesthetic. The aim of this study was to determine the effectiveness of the optimal dose of anesthetic agent and the survival rate of tilapia. Research stage: 1) steam distillation of clove oil and lemongrass oil; 2) characterization of clove oil and lemongrass oil; 3) formulation of anesthetic agent from clove oil and lemongrass oil; 4) characterization of the anesthetic agent formula; 5) variations in the dose of anesthetic agent and the time of induction; 6) water quality test; 7) transportation test. The result of characterization of essential oils and anesthetic agent formulas was according to the standards. The optimal concentration of formulas is 0,215 ppm with a time of induction of less than 3 minutes and the conscious time of less than 5 minutes. The water quality test after anesthetic adding showed, there was no significant change and was still according with standards. In the dry transportation test with a concentration of 0,215 ppm gave the optimal survival rate of tilapia was 100% for 248 minutes.
Keywords: <i>Clove Oil;</i> <i>Lemongrass Oil;</i> <i>Tilapia;</i> <i>Anesthesia.</i>	

Artikel Info	Abstrak
Sejarah Artikel Diterima: 2023-12-03 Direvisi: 2024-01-15 Dipublikasi: 2024-02-01	Transportasi sistem kering merupakan salah satu transportasi ikan hidup. Tahapan penting pada transportasi ini yaitu tahap anestesi. Minyak cengkeh dan minyak serai dapur memiliki kandungan eugenol dan sitral sehingga dapat digunakan sebagai bahan anestesi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas dosis optimal dari bahan anestesi dan tingkat kelangsungan hidup ikan nila. Tahapan penelitian: 1) destilasi uap-air minyak cengkeh dan minyak serai dapur; 2) karakterisasi minyak cengkeh dan minyak serai dapur; 3) formulasi bahan anestesi dari minyak cengkeh dan minyak serai dapur; 4) karakterisasi formula bahan anestesi; 5) variasi dosis bahan anestesi dan waktu induksi; 6) uji kualitas air; dan 7) uji transportasi. Hasil karakterisasi minyak atsiri dan formula bahan anestesi sesuai standar. Konsentrasi optimal formula adalah 0,215 ppm dengan waktu induksi kurang dari 3 menit dan sadar kurang dari 5 menit. Uji kualitas air setelah ditambahkan bahan anestesi menunjukkan tidak ada perubahan yang signifikan dan masih sesuai standar baku mutu air. Pada uji transportasi kering dengan konsentrasi 0,215 ppm diketahui kelangsungan hidup ikan nila sebesar 100 % selama 248 menit.
Kata kunci: <i>Minyak Cengkeh;</i> <i>Minyak Serai Dapur;</i> <i>Ikan Nila;</i> <i>Anestesi.</i>	

I. PENDAHULUAN

Permintaan konsumen terhadap ikan segar setiap tahunnya mengalami peningkatan, hal ini juga dikarenakan meningkatnya kesadaran masyarakat akan manfaat ikan. Berdasarkan data Ditjen Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan, tahun 2012 tingkat konsumsi ikan sebesar 33,89 kg/kapita (KPP, 2013). Ikan air tawar merupakan salah satu jenis komoditas ikan konsumsi di Indonesia, selain memiliki harga terjangkau, ikan air tawar juga memiliki protein tinggi. Salah satu jenis ikan air tawar yang banyak dikonsumsi adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Di Asia Tenggara termasuk Indonesia, ikan nila telah banyak dibudidayakan (Khairuman dan Amri, 2008). Ikan nila merupakan salah satu dari ikan

konsumsi yang menjadi komoditas unggulan. Berdasarkan data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan (2018) dalam kurun waktu 2015-2018 menunjukkan komoditas ikan nila mencapai 1,5 juta ton yang berarti mengalami peningkatan dari tahun sebelumnya.

Seiring dengan meningkatnya permintaan konsumen terhadap ikan hidup terutama ikan air tawar, dilakukan penanganan yang menjamin kualitas ikan melalui teknik transportasi. Penanganan dilakukan dengan berbagai cara alami maupun bahan pengawet buatan (Kaya dan Louhennapessy, 2016). Bentuk transportasi ikan hidup umum dilakukan dengan sistem basah, sistem ini dapat digunakan untuk jarak dekat dan tidak efektif untuk jarak jauh, selain itu juga jumlah kapasitas angkut relatif kecil dan dapat

menyebabkan kerusakan fisik. Sistem kering dapat digunakan sebagai pilihan lain. Sistem tersebut merupakan transportasi tanpa menggunakan media air sebagai media pengangkutan. Pada sistem kering, ikan dibuat dalam kondisi pingsan (anestesi), sehingga mencapai tingkat ketahanan hidup yang tinggi diluar media air. Anestesi ikan adalah perlakuan yang menyebabkan ikan tidak dapat merasa, terjadi karena penurunan aktifitas metabolisme serta respirasi ikan akibat tekanan pada sistem saraf pusat, sehingga ikan mendapatkan perubahan secara fisiologi, yaitu perubahan dari kondisi sadar menjadi tidak sadar (Abid et al., 2014)

Salah satu hal yang mempengaruhi dalam transportasi yaitu pada teknik imotilisasi (dipingsankan) sehingga pada tahap ini aktifitas metabolisme ikan dalam kondisi basal, pada kondisi ini untuk sistem respirasi dan metabolisme sangat rendah, sehingga memudahkan proses pengangkutan ikan dalam waktu yang lama dengan nilai kematian yang rendah. Imotilisasi dapat dibedakan menjadi beberapa cara, yaitu dengan penggunaan suhu rendah atau menggunakan bahan antimetabolit alami atau buatan sebagai bahan anestesi (Suryaningrum et al, 2005 dan Wibowo, 1993). Kelebihan teknik imotilisasi yaitu memudahkan proses pengangkutan tanpa media air, serta mengurangi tingkat kematian ikan selama transportasi, sehingga memungkinkan waktu transportasi yang lebih lama (Nitibaskara et al. 2006)

Bahan anestesi yang akan digunakan dapat berasal dari bahan kimia maupun bahan alami. Beberapa bahan anestesi kimia yang seringkali digunakan yaitu MS222 (Pramono, 2002), penggunaan CO₂ (Hidayah, 1998), metomidate dan 2-1 phenoxyethanol (Coyle et al. 2004), namun efek samping yang diberikan dapat meninggalkan residu dan zat toksik yang membahayakan ikan maupun konsumen. Sebagai alternatif lain dapat menggunakan bahan alami. Penggunaan bahan alami dari tanaman herbal ini diyakini lebih aman karena ramah terhadap lingkungan dan mudah terurai di perairan, memiliki efek samping yang relatif rendah serta ketersediaannya sangat melimpah. Beberapa tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai bahan anestesi yaitu serai dapur dan cengkeh.

Kandungan utama yang dimiliki minyak cengkeh yaitu eugenol, eugenol asetat, dan β -caryophyllen yang memiliki sifat sebagai stimulan, anestetik lokal, karminatif, antiemetik, antiseptik, dan antispasmodik. Sedangkan kandungan utama pada minyak serai dapur yaitu

geraniol dan sitral yang mampu menurunkan tingkat metabolisme. (Nurdjannah N, 2004 dan Rachimi,dkk. 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis melakukan penelitian pengaplikasian lain dengan menggabungkan minyak cengkeh dan minyak serai dapur.

II. METODE PENELITIAN

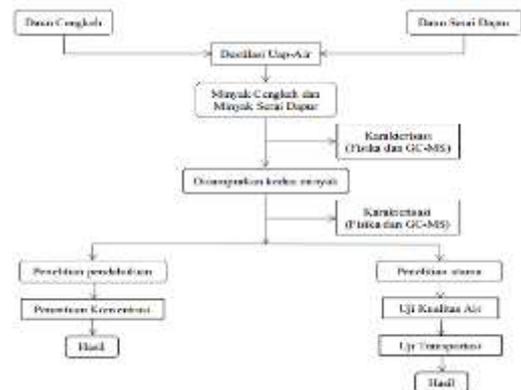
A. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi uap-air, seperangkat alat gelas laboratorium dengan merk IWAKI, refraktometer (Abbe), Kromatografi Gas Spektroskopi Massa (GC-MS QP2010S Shimadzu), botol sampel 5 mL, propipet, timbangan, wadah toples/ember untuk pembiusan, alat uji kualitas air yaitu termometer dan pH meter, aerator berkekuatan 500 watt dan selang udara.

B. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun cengkeh dan daun serai dapur, campuran minyak atsiri serai dapur dan minyak atsiri cengkeh, natrium sulfat (Na₂SO₄), ikan nila dengan bobot 200 kg per ekor, aquades, air suling, larutan buffer 7, es batu dan icebox, styrofoam serta busa sebagai bahan pengisi.

C. Bagan Alir



Gambar 1. Diagram alir

D. Prosedur Penelitian

1. Destilasi Daun Cengkeh dan Daun Serai Dapur

Pengambilan minyak daun cengkeh dan daun serai dapur dilakukan dengan metode destilasi uap-air. Sebelum dimasukan kedalam ketel, daun serai dapur sebanyak 18 kg dirajang membentuk potongan kecil berukuran kurang lebih 2-3 cm sedangkan

untuk daun cengkeh sebanyak 2 kg tidak perlu dirajang. Masing-masing ketel yang akan digunakan diisi dengan 10 L air lalu diberikan pembatas (angsan). Daun serai dapur dan daun cengkeh yang telah disiapkan kemudian dimasukan kedalam ketel dan ditutup rapat. Proses destilasi dilakukan kurang lebih selama 3-4 jam kemudian minyak yang dihasilkan dipisahkan dari hidrosol dan dimurnikan dengan menggunakan natrium sulfat (Na_2SO_4).

2. Karakterisasi Fisika Kimia Minyak Cengkeh, Minyak Serai Dapur, dan Minyak Campuran (Minyak_{c-sd})

a) Uji Indeks Bias

Indeks bias merupakan salah satu faktor dalam menentukan tingkat kemurnian minyak atsiri berdasarkan perbandingan antara kecepatan cahaya di dalam zat cair dan di udara. (Murdaka *et al.*, 2010). Hal ini dikarenakan indeks bias berhubungan dengan komponen-komponen yang ada di dalam minyak atsiri. Semakin banyak komponen yang mengandung rantai panjang, maka kerapatan akan bertambah sehingga cahaya yang datang lebih mudah dibiaskan. Indeks bias juga dipengaruhi dengan adanya air, semakin banyak kandungan air di dalam minyak maka semakin kecil nilai indeks bias, nilai indeks bias yang kecil menandakan bahwa minyak memiliki tingkat kemurnian yang kecil (Guenther, 1987).

Uji dilakukan menggunakan refraktometer Abbe. Perlakuan dilakukan secara triplo. Refraktometer dinyalakan, kemudian prisma dibersihkan menggunakan aseton dengan gerakan satu arah dan hati-hati, lalu dikeringkan menggunakan tisu. Kemudian ditetaskan sampel minyak cengkeh dan minyak serai dapur secara bergantian sebanyak 1-2 tetes diatas prisma, lalu ditutup. Indeks bias diamati dengan cara memutar prisma sehingga batas daerah terang dan gelap bertemu dititik potong dari garis silang. Indeks refraksi dapat dibaca dari skala (ditandai nD). Perlakuan tersebut dilakukan pula terhadap minyak_{c-sd}. Nilai indeks bias dibandingkan dengan standar mutu, untuk minyak cengkeh pada SNI 06-

2387-2006 dan minyak serai dapur pada SNI 06-3953-1995.

b) Uji Densitas

Selain indeks bias, faktor lain dalam menentukan tingkat kemurnian minyak atsiri adalah densitas. Densitas merupakan berat keseluruhan molekul dari berbagai komponen dalam minyak atsiri, sehingga bertujuan untuk mengetahui ukuran kerapatan massa. Semakin besar berat molekul, maka semakin besar nilai densitasnya.

Uji densitas dilakukan menggunakan piknometer. Piknometer kosong ditimbang terlebih dahulu lalu dicatat hasilnya. Kemudian piknometer diisi dengan aquades hingga penuh lalu ditutup, pastikan bahwa tidak ada gelembung didalamnya, lalu ditimbang dan juga dicatat hasil. Piknometer dibersihkan menggunakan aseton dan dikeringkan. Selanjutnya piknometer diisi dengan minyak cengkeh dan minyak serai dapur secara bergantian hingga penuh lalu ditutup. Ditimbang dan dicatat hasil. Perlakuan tersebut dilakukan pula terhadap minyak_{c-sd}. Hasil dibandingkan dengan standar mutu, untuk minyak cengkeh pada SNI 06-2387-2006 dan minyak serai dapur pada SNI 06-3953-1995.

c) Uji Warna

Uji warna dilakukan dengan cara pengamatan langsung menggunakan mata dengan jarak pandang dari sampel sejauh 30 cm. Perlakuan tersebut dilakukan pula terhadap minyak_{c-sd}. Hasil kemudian dibandingkan dengan standar mutu, untuk minyak cengkeh pada SNI 06-2387-2006 dan minyak serai dapur pada SNI 06-3953-1995.

d) Uji Gas Chromatography-Mass Spectrometry

Minyak atsiri yang diperoleh dari proses destilasi uap-air dan minyak_{c-sd} dikarakterisasi guna mengetahui kandungan senyawa didalamnya. Karakterisasi tersebut menggunakan alat Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS QP2010S) Shimadzu.

E. Penelitian Pendahuluan

1. Penentuan Konsentrasi

Minyak cengkeh dan minyak serai dapur yang dihasilkan dari proses destilasi uap-air dicampurkan dengan perbandingan 50:50 yaitu sebanyak 4 mL dari masing-masing minyak. Kemudian dilakukan pengujian konsentrasi terbaik dari perbedaan konsentrasi yang ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Formula konsentrasi minyak_{c-sd}

Formulasi	Konsentrasi
1	0,071 ppm
2	0,143 ppm
3	0,215 ppm
4	0,286 ppm
5	0,358 ppm

Pada tahapan ini dilakukan anestesi ikan menggunakan konsentrasi yang berbeda. Yang diamati yaitu waktu menuju pingsan (waktu induksi), waktu menuju sadar (waktu sedatif) serta dilakukan perhitungan mortalitas. Perhitungan mortalitas sendiri dilakukan dengan rumus berikut:

$$M = \frac{N_o - N_t}{N_o} \times 100\%$$

Keterangan:

M = Mortalitas %

N_t = Jumlah ikan pada akhir perlakuan

N_o = Jumlah ikan pada awal perlakuan

F. Penelitian Utama

1. Uji Kualitas Air

Uji kualitas air dilakukan sebelum dan sesudah ditambahkan minyak pada air. Ada 4 parameter yang akan diamati yaitu suhu, pH, oksigen terlarut (DO), dan amoniak. Untuk parameter suhu menggunakan termometer dengan cara memasukan termometer kedalam sampel tanpa mengenai dasar tempat sampel, untuk parameter pH menggunakan pH meter namun terlebih dahulu pH meter diatur menggunakan larutan penyangga pH 7 kemudian baru dimasukkan kedalam sampel, sedangkan untuk parameter oksigen terlarut (DO) dan amoniak dilakukan pengujian di Laboratorium Air Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia dengan berdasarkan SNI 06-6989.14-2004 dan SNI 06-6989.30-2005. Adapun standar dari kualitas air menurut

data BPPAT DKP (2001) dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Standar kualitas air

Parameter	Nilai
Suhu (°C)	14-38
pH	6-8
DO (mg/L)	Min 4
Amoniak (mg/L)	< 0,1

2. Uji Transportasi

Proses transportasi diawali dengan anestesi ikan. Anestesi ikan dilakukan menggunakan campuran minyak dengan konsentrasi terbaik yang dihasilkan pada tahap penentuan konsentrasi. Setelah ikan pingsan selanjutnya ikan akan dikemas. Pengemasan ikan dilakukan di dalam styrofoam yang bersuhu 14 °C, kemudian diletakan busa yang telah direndam di dalam air bersuhu 14 °C diatas es batu secara menyeluruh. Penggunaan suhu pada media pengemasan berperan untuk menjaga tingkat ketahanan hidup ikan terhadap media bukan air (Junianto, 2003). Ikan yang telah pingsan diposisikan diatas busa, kemudian ikan ditutup kembali menggunakan busa. Kotak ditutup rapat. Setelah selesai dilakukan, kemasan dibongkar. Ikan dibugarkan dengan menggunakan aerasi dan dilakukan perhitungan kelangsungan hidup dengan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

SR = Kelangsungan Hidup (%)

N_t = Jumlah ikan pada akhir perlakuan (ekor)

N_o = Jumlah ikan pada awal perlakuan (ekor).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Uji Fisika Kimia Minyak Cengkeh, Minyak Serai Dapur dan Minyak Campuran (Minyak_{c-sd})

Uji fisika kimia pada minyak dilakukan dengan berbagai uji, antara lain uji indeks bias, uji densitas, uji warna dan uji GC-MS.

1. Uji Indeks Bias

Uji indeks bias dilakukan untuk mengetahui tingkat kemurnian sampel. Pengukuran dilakukan pada sampel minyak cengkeh, minyak serai dapur serta minyak_{c-sd}. Setiap perlakuan dilakukan secara triplo. Sehingga didapat hasil akhir

uji indeks bias yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji indeks bias

Sampel	Hasil	Standar Mutu
Minyak Cengkeh	1,5292	SNI 06-2387-2006 1,528 - 1,535
Minyak Serai Dapur	1,4751	SNI 06-3953-1995 1,466 - 1,475
Minyak _{c-sd}	1,5061	-

Berdasarkan hasil uji indeks bias diatas, untuk minyak cengkeh memiliki nilai indeks bias sebesar 1,5292, nilai tersebut telah sesuai dengan SNI 06-2387-2006 dimana batas nilai indeks bias 1,528 - 1,535. Pada minyak serai dapur didapat nilai indeks bias sebesar 1,4751 dan nilai tersebut masih sesuai pada SNI 06-3953-1995 yaitu sebesar 1,466 - 1,475. Minyak_{c-sd} memiliki nilai indeks bias sebesar 1,5061 yang menandakan bahwa nilai tersebut berada di bawah nilai indeks bias minyak cengkeh dan diatas minyak serai dapur. Hal ini mungkin saja dikarenakan adanya tahapan pencampuran kedua minyak. Berdasarkan hasil, minyak cengkeh dan minyak serai dapur yang dihasilkan sesuai dengan standar sedangkan untuk minyak_{c-sd} memiliki nilai indeks bias yang berada diantara hasil percobaan serta kedua standar yang digunakan.

2. Uji Densitas

Uji densitas dilakukan untuk dapat mengetahui ada atau tidak senyawa lain di dalam sampel yang mempengaruhi massa jenisnya. Pengukuran dilakukan pada sampel minyak cengkeh, minyak serai dapur dan minyak_{c-sd} dengan menggunakan aquades sebagai pembanding. Hasil uji densitas dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji densitas

Sampel	Hasil	Standar Mutu
Minyak Cengkeh	1,043	SNI 06-2387-2006 1,025-1,049
Minyak Serai Dapur	0,892	SNI 06-3953-1995 0,880-0,922
Minyak _{c-sd}	0,956	-

Berdasarkan hasil uji densitas diatas, untuk minyak cengkeh memiliki densitas sebesar 1,043 g/mL yang mana hasil tersebut sesuai dengan SNI 06-2387-2006 yaitu 1,025 g/mL - 1,049 g/mL. Pada minyak serai dapur didapat densitas sebesar 0,892 g/mL dan nilai tersebut masih sesuai pada SNI 06-3953-1995 yaitu

sebesar 0,880 g/mL - 0,922 g/mL. Minyak_{c-sd} memiliki nilai densitas sebesar 0,956 g/mL, nilai tersebut berada di bawah nilai densitas minyak cengkeh dan diatas nilai densitas minyak serai dapur. Hal ini mungkin saja dikarenakan adanya tahapan pencampuran kedua minyak. Berdasarkan hasil, minyak cengkeh dan minyak serai dapur yang dihasilkan memiliki densitas yang sesuai dengan standar sedangkan untuk minyak_{c-sd} berada diantara hasil percobaan dan kedua standar tersebut.

3. Uji Warna

Pengujian warna dilakukan dengan cara pengamatan langsung oleh mata dengan jarak pandang dari sampel sejauh 30 cm. Hasil yang diperoleh dari pengamatan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji warna

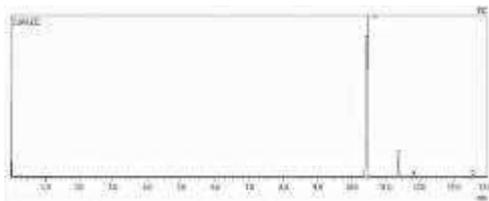
Sampel	Hasil	Standar Mutu
Minyak Cengkeh	Kuning bening	SNI 06-2387-2006 Kuning-cokelat tua
Minyak Serai Dapur	Kuning	SNI 06-3953-1995 Kuning tua-merah
Minyak _{c-sd}	kuning	-

Hasil pengamatan uji warna menunjukkan pada minyak cengkeh berwarna kuning bening sedangkan untuk minyak serai dapur berwarna kuning, hasil ini sesuai dengan SNI yang ada, yaitu pada minyak cengkeh berwarna kuning - cokelat tua sedangkan pada minyak serai dapur kuning tua - merah, sedangkan untuk minyak_{c-sd} berwarna kuning.

4. Uji Gas Chromatography-Mass Spectrometry

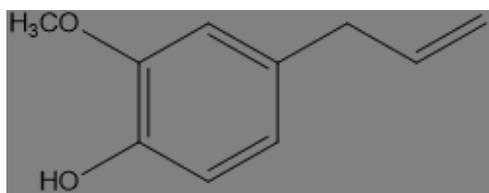
Minyak cengkeh dan minyak serai dapur yang telah didapat dari proses destilasi uap-air serta minyak_{c-sd} terlebih dahulu dianalisis menggunakan GC-MS. GC-MS sendiri merupakan metode pemisahan senyawa yang merupakan gabungan antara dua metode yaitu kromatografi gas dan spektroskopi massa. Kromatografi gas merupakan metode dimana dapat menganalisis jumlah senyawa dalam sampel sedangkan spektroskopi massa merupakan metode yang dapat mengetahui berat molekul senyawa-senyawa tersebut. Uji ini dilakukan menggunakan instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* GC-MS QP2010SE Shimadzu.

a) Kandungan Minyak Cengkeh



Gambar 2. Kromatogram Minyak Cengkeh

Pada kromatogram di atas menunjukkan bahwa pada minyak cengkeh menghasilkan nilai intensitas sebesar 2,690,822 dengan 5 puncak. Pada minyak cengkeh, senyawa yang dicari adalah senyawa eugenol karena senyawa tersebut yang akan digunakan sebagai zat analgesik pada tahap anestesi ikan. Eugenol terdapat pada puncak ke-2 dan puncak ke-1 merupakan turunan dari eugenol yaitu *aceteugenol*, pada puncak ke-1 dengan waktu retensi 10.451 menit dan persentase area sebesar 41,72% lalu pada puncak ke-2 dengan waktu retensi 10.471 menit dan persentase area sebesar 49,24%. Jumlah keseluruhan eugenol yang terkandung di dalam minyak cengkeh adalah sebanyak 90,96%. Dalam SNI 06-2387-2006 menyatakan pada kandungan eugenol minimum sebanyak 78%. Hal ini menunjukkan kandungan eugenol yang ada di dalam minyak cengkeh telah memenuhi SNI 06-2387-2006 dengan hasil sebesar 90,96%. Berikut struktur senyawa eugenol.



Gambar 3. Struktur Eugenol

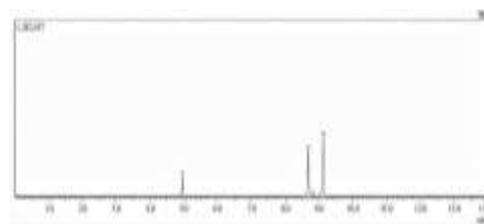
Perbandingan hasil yang didapat dengan referensi yang digunakan dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Kandungan senyawa minyak cengkeh

No	Nama Senyawa	Persentase (%)	
		Penelitian	Pujiarti R et al (2020)
1	Aceteugenol	41,72	-
2	Eugenol	49,24	69,15
3	Trans-Caryophllene	7,07	-
4	α humulene	0,66	3,54
5	Caryophyllene	1,30	26,34
6	Caryophyllene oxide	-	0,96

Hasil GC-MS pada penelitian ini memiliki puncak yang lebih banyak dari pada referensi, hal ini dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam bahan yang digunakan. Dari kedua hasil tersebut memiliki kandungan yang sama, yaitu eugenol.

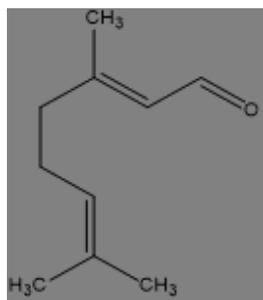
b) Kandungan Minyak Serai Dapur



Gambar 4. Kromatogram Minyak Serai Dapur

Dari kromatogram di atas menunjukkan bahwa pada minyak serai dapur menghasilkan nilai intensitas sebesar 1,282,057 dengan 4 puncak. Pada minyak serai dapur, senyawa yang akan digunakan sebagai zat analgesik pada tahap anestesi ikan adalah sitral. Sitral terdapat pada puncak ke-2 dan puncak ke-4, pada puncak ke-2 dengan waktu retensi 8.692 menit dan persentase area sebesar 37,40% dan pada puncak ke-4 dengan waktu retensi 9.129 menit dan persentase area sebesar 50,47%. Jumlah keseluruhan sitral yang terkandung di dalam minyak serai dapur adalah sebanyak 87,87%. Dalam SNI 06-3953-1995 menyatakan kandungan sitral minimum sebanyak 76,1%. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan sitral yang ada di dalam minyak serai dapur memenuhi SNI 06-3953-1995 dengan hasil sebesar 87,87%, kandungan sitral pada percobaan ini sesuai dengan percobaan Slamet, dkk (2013) yang

menghasilkan kandungan sitral sebanyak 77,22%. Berikut struktur senyawa sitral.



Gambar 5. Struktur Sitral

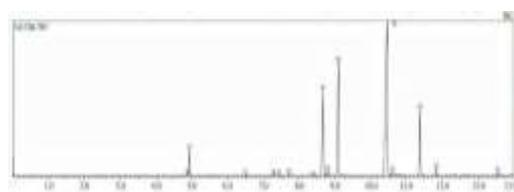
Perbandingan hasil dan referensi yang digunakan dapat dilihat pada tabel 7 berikut:

Table 7. Kandungan senyawa minyak serai dapur

No	Nama Senyawa	Persentase (%)	
		Penelitian	Rojas-armas dkk (2020)
1	Tidak teridentifikasi	-	0,61
2	Myrcene	-	13,60
3	Limonene	-	0,25
4	1,8-cineole	-	0,29
5	Z-β-Ocimene	-	0,63
6	E-β-Ocimene	-	0,37
7	6,7-Epoxy-myrcene	-	0,22
8	Linalool	-	1,01
9	Exo-Isocitral	-	0,34
10	Trans-α-Nerodol	-	0,17
11	Citronellal	-	0,19
12	Z-Isocitral	-	1,66
13	E-Isocitral	-	2,42
14	Nerol	-	0,45
15	Citronellol	-	0,24
16	Neral	-	3184
17	Geraniol	11,07	2,91
18	Geranial	-	40,45
19	2-Undecanone	-	0,73
20	Tidak teridentifikasi	-	0,17
21	Ethyl nerolate	-	0,25
22	Tidak teridentifikasi	-	0,20
23	E-Caryophyllene	-	0,19
24	2-Tridecanone	-	0,57
25	Myristicin	-	0,26
26	β-myrcene	11,07	-
27	B-sitral	37,40	-
28	Sitral	50,42	-

Hasil GC-MS pada percobaan ini memiliki puncak yang lebih sedikit, perbedaan ini dapat diakibatkan karena adanya perbedaan dalam penggunaan bahan serta cara pengambilan minyak. Dari kedua hasil tersebut, didapat senyawa yang sama yaitu geraniol.

c) Kandungan Minyak Campuran (Minyak_{c-sd})



Gambar 1. Kromatogram minyak_{c-sd}

Pada kromatogram minyak_{c-sd} dihasilkan nilai intensitas sebesar 10,728,787 dengan 15 puncak. Di dalam minyak_{c-sd} tersebut senyawa yang diinginkan adalah eugenol dan sitral. Sitral terdapat pada puncak ke-8 dan puncak ke-10 sedangkan eugenol terdapat pada puncak ke-11 dan puncak ke-13, pada puncak ke-8 dengan retensi waktu sebesar 8.669 menit dan persentase area sebesar 14,85%, pada puncak ke-10 dengan retensi waktu sebesar 9.101 menit dan persentase area sebesar 21,55%, sehingga didapat jumlah keseluruhan kandungan sitral pada minyak_{c-sd} sebanyak 36,4%. Sedangkan jumlah keseluruhan kandungan eugenol pada minyak_{c-sd} sebesar 55,79%, pada puncak ke-11 dengan retensi waktu sebesar 10.459 menit dan persentase area sebesar 46,03%, dan pada puncak ke-13 dengan retensi waktu sebesar 11.381 menit dan persentase area sebesar 9,76%. Penurunan persentase kandungan eugenol dan sitral pada minyak_{c-sd} ini dapat disebabkan karena adanya proses pencampuran dari kedua minyak yang memiliki perbedaan senyawa didalamnya.

Perbandingan dari hasil minyak_{c-sd} dengan minyak cengkeh dan minyak serai dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Kandungan senyawa minyak_{c-sd}

No	Nama Senyawa	Persentase (%)		
		Minyak _{c-sd}	Minyak Cengkeh	Minyak Serai Dapur
1	β-myrcene	11,07	-	-
2	B-sitral	37,40	-	-
3	Sitral	50,42	-	-
4	Geraniol	11,07	-	-
5	Geranial	-	-	-
6	Eugenol	-	-	-
7	β-citronellal	-	-	-
8	Sitral	14,85	-	-
9	Trans-Geraniol	10,8	-	-
10	Sitral	21,55	-	50,42
11	Eugenol	46,03	49,24	-
12	Geraniol Asetat	0,45	-	-
13	Trans-Caryophyllene	9,76	7,07	-
14	n-Humulene	0,76	0,66	-
15	Caryophyllene Oxide	0,17	-	-
16	Caryophyllene	-	1,90	-
17	Acetoeugenol	-	41,79	-
18	Geraniol	-	-	11,07
19	β-Sitral	-	-	37,40

Hasil GC-MS pada minyak_{c-sd} lebih banyak menghasilkan puncak. Senyawa sitral lebih dulu muncul dikarenakan massa jenis minyak serai dapur lebih kecil. Dari perbandingan ini, pada minyak_{c-sd} terdapat kandungan eugenol dan sitral.

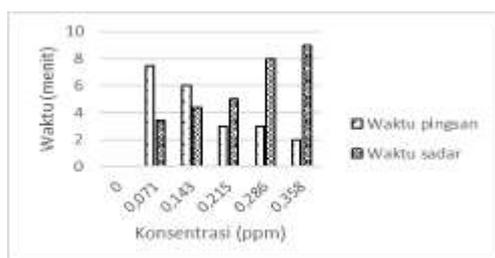
B. Penelitian Pendahuluan

Ikan nila yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nila yang sehat dan tidak cacat fisik. Hal ini dilihat pada tampilan ikan yang segar, responsif bila ada rangsangan dari luar, gerak renang yang agresif, serta posisi tubuh yang kokoh di dalam media air. Dengan bobot ikan nila yang digunakan antara 190-200 gram sebanyak 4 ekor dalam 1 kali perlakuan.

Minyak cengkeh dan minyak serai dapur dicampurkan (Minyak_{c-sd}) dengan perbandingan 50:50 yaitu masing-masing sebanyak 4 mL. Lalu dari minyak_{c-sd} tersebut dihitung konsentrasi yang akan digunakan untuk 4 ekor ikan nila di dalam 4 L air. Sebelum dilakukan penentuan konsentrasi, ikan terlebih dahulu dipuasakan selama 24 jam, hal ini dilakukan untuk menyamakan kondisi tubuh ikan sehingga ikan tidak akan mengeluarkan sisa metabolisme. Kemudian ikan diaklimatisasi pada wadah berisi air dengan suhu 28 °C agar dapat beradaptasi, lalu ikan dimasukkan ke dalam air yang telah diberi campuran minyak hingga pingsan selanjutnya dilakukan tahapan penguangan dengan diberi aerasi penuh. Perlakuan tersebut dilakukan berulang pada konsentrasi 0,071 ppm; 0,143 ppm; 0,215 ppm; 0,286 ppm dan 0,358 ppm.

C. Penentuan Konsentrasi

Konsentrasi minyak_{c-sd} yang digunakan adalah 0 ppm sebagai kontrol; 0,071 ppm; 0,143 ppm; 0,215 ppm; 0,286 ppm dan 0,358 ppm. Pada tahap ini hal yang harus diperhatikan yaitu waktu pingsan ikan dan waktu sadar ikan. Pengamatan waktu pingsan adalah ketika ikan mulai dimasukkan ke dalam wadah berisikan minyak_{c-sd} hingga ikan kehilangan kesadaran, sedangkan pengamatan waktu sadar adalah ketika ikan mulai dipindahkan ke dalam wadah berisikan air bersih dengan aerator penuh hingga ikan dapat sadar dan bergerak normal. Hasil penentuan konsentrasi dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 2. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Terhadap Waktu Pingsan Dan Waktu Sadar

Hasil pada penentuan konsentrasi menunjukkan bahwa pada setiap konsentrasi terjadi perbedaan waktu pingsan dan waktu sadar, pada konsentrasi 0,071 ppm memiliki waktu pingsan 7 menit 46 detik dan waktu sadar 3 menit 45 detik, pada konsentrasi 0,143 ppm memiliki waktu pingsan 6 menit dan waktu sadar 4 menit 39 detik, pada konsentrasi 0,215 ppm memiliki waktu pingsan selama 3 menit dan waktu sadar selama 5 menit, pada konsentrasi 0,286 ppm memiliki waktu pingsan 3 menit dan waktu sadar 8 menit, dan pada konsentrasi 0,358 ppm memiliki waktu pingsan 2 menit dan waktu sadar 9 menit. Namun pada saat proses penguangan menggunakan aerator penuh, pada konsentrasi 0,286 ppm hanya 3 ekor ikan yang sadar dan dapat bergerak normal sedangkan pada konsentrasi 0,358 ppm hanya 2 ekor ikan. Data yang dihasilkan pada pengamatan dilakukan perhitungan mortalitas seperti yang disajikan pada tabel 9.

Tabel 9. Mortalitas tiap konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Mortalitas (%)
0	0
0,071	0
0,143	0
0,215	0
0,286	25
0,358	50

Dari pemberian berbagai konsentrasi tersebut diperoleh hasil mortalitas seperti diatas. Nilai mortalitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,358 ppm sebesar 50%, sedangkan pada konsentrasi 0,071 ppm hingga 0,215 ppm memiliki nilai mortalitas yang kecil sebesar 0%. Data tersebut menunjukkan nilai LC₅₀ pada konsentrasi 0,358 ppm.

Berdasarkan data yang telah didapat, dengan membandingkan waktu pingsan, waktu sadar, nilai LC₅₀ serta mortalitas, didapat konsentrasi terbaik yang akan digunakan dalam uji transportasi yaitu konsentrasi 0,215 ppm, dengan waktu pingsan tidak lebih dari 3 menit, waktu sadar tidak lebih dari 5 menit serta mortalitas 0%.

D. Penelitian Utama

Pada penelitian utama ini, tahapan yang akan dilakukan yaitu uji kualitas air dan uji transportasi. Pada uji kualitas air parameter yang akan diuji yaitu pH, suhu, amoniak, dan oksigen terlarut (DO). Pengukuran air dilakukan pada saat sebelum dan sesudah air

diberikan minyak_{c-sd}. Uji transportasi menggunakan konsentrasi minyak_{c-sd} terbaik yaitu 0,215 ppm dan pada kontrol ikan tidak diberi minyak_{c-sd}. Proses pengemasan dengan waktu uji transportasi selama 248 menit.

1. Uji Kualitas Air

Uji berikut dilakukan untuk mengetahui kualitas air yang digunakan pada kontrol dan perlakuan. Hal ini bertujuan memastikan kondisi air yang digunakan layak untuk kelangsungan hidup ikan nila sehingga tidak mempengaruhi ikan pada saat diaklimatisasi serta pada saat pembiusan ataupun pembugaran. Aklimatisasi sendiri merupakan upada penyesuaian organisme terhadap perubahan lingkungan. Berikut hasil pada uji kualitas air dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil uji kualitas air

Parameter uji	Sebelum	Sesudah	Standar
Suhu (°C)	30,3	29,9	14-38
pH	7,1	6,5	6-8
DO (mg/L)	6,19	5,93	Min 4
Amoniak (mg/L)	0,06	0,06	< 0,1

Pada tabel dapat dilihat bahwa pada saat sebelum air diberikan minyak memiliki suhu 30,3 °C, pH 7,1, DO 6,19 mg/L, dan amoniak 0,06 mg/L sedangkan pada air yang telah diberikan minyak memiliki hasil yang tidak jauh berbeda yaitu suhu 29,9 °C, pH 6,5, DO 5,93 mg/L, dan amoniak 0,06 mg/L. Perubahan terjadi pada parameter suhu, pH, dan oksigen terlarut (DO) pada saat dilakukan penambahan minyak_{c-sd} hal ini dikarenakan minyak asiri sendiri memiliki sifat asam sehingga membuat parameter tersebut pun menurun, sedangkan pada parameter amoniak tidak terjadi perubahan pada saat ditambahkan minyak_{c-sd}. Amoniak berguna dalam proses fotosintesis di siang hari, karena pada proses tersebut amoniak akan diserap, sehingga pada pagi, sore dan malam hari amoniak tidak melalui proses fotosintesis. Dari hasil tersebut dilakukan perbandingan dengan standar kualitas air untuk kelangsungan hidup ikan nila, dari keseluruhan hasil parameter diketahui bahwa kualitas air masih berada dalam kadar yang sesuai untuk kelangsungan hidup ikan nila.

2. Uji Transportasi

Uji transportasi bertujuan mengetahui efektivitas minyak_{c-sd} terhadap ikan selama waktu tertentu dan mengetahui tingkat kelangsungan hidup ikan tersebut pada konsentrasi pemingsanan sebesar 0,215 ppm. Lama waktu transportasi yang dilakukan adalah 248 menit. Wadah yang digunakan pada tahap ini adalah styrofoam dengan busa sebagai bahan pengisi, yang terlebih dahulu wadah serta bahan pengisi dilakukan penyesuaian suhu dengan harapan untuk menjaga suhu di dalam wadah selama transportasi tetap dalam suhu yang diinginkan dan tidak melebihi suhu dari standar kelangsungan hidup ikan nila.

Pada tahap pemingsanan hingga pembugaran ini juga dilakukan pengamatan terhadap tingkah laku ikan. Respon ikan selama proses pemingsanan akan berbeda, bergantung pada kadar bahan anestesi. Proses fisiologi tetap terjadi di dalam tubuh ikan, biasanya ikan akan mengeluarkan kortisol dan epinephrine serta meningkatkan glukosa dan gangguan osmoregulasi sebagai indikator mengalami stres (Yanto, 2012).

Bahan anestesi yang masuk ke dalam tubuh ikan baik langsung maupun tidak akan menghambat kesetimbangan ionik pada otak ikan. Hal ini mempengaruhi kerja syaraf motorik dan pernapasan, sehingga menyebabkan ikan mati rasa atau pingsan. Saat pembiusan, ikan masih dapat bernapas hanya saja tingkat konsumsi oksigen berkurang, menghasilkan karbondioksida lebih sedikit, dan adanya penekanan terhadap senyawa nitrogen yang dihasilkan ikan ke dalam lingkungan (Nemoto, 1957). Pada saat ikan mulai dimasukan ke dalam wadah berisikan minyak_{c-sd}, ikan pada awalnya belum memberikan respon namun pada saat menit ke-1 ikan mulai bergerak tidak beraturan, terkejut dan seperti akan kehilangan kesadaran, pada menit tersebut ikan mengalami fase panik, menurut Nitibaskara, *et al.*, (1997) fase panik ini terjadi karena adanya tekanan terhadap organisme sehingga pada menit ke-3 ikan mulai pingsan.

Tahapan yang dilakukan selanjutnya yaitu tahap transportasi yang terlebih dahulu dilakukan pengemasan ikan kedalam wadah dengan menggunakan

busa sebagai bahan pengisi. Berikut hasil pengamatan ikan nila dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 21. Pengamatan tingkah laku ikan

Menit	Perlakuan	Pengamatan
0	Ikan mulai dipingsankan	
1		Ikan mulai gelisah
2		Ikan memberikan perlawanan
3	Ikan mulai pingsan	
248	Ikan mulai disadarkan	
253		Insang dan mulut bergerak
258		Ikan mulai sadar perlahan
265		Ikan mulai bergerak
268		Ikan sadar sepenuhnya

Pada saat ikan disadarkan, kondisi yang diamati yaitu dari ikan mulai dipindahkan ke wadah berisi air bersih hingga ikan sadar, dan bergerak normal, tahap ini menggunakan aerasi penuh. Pada tahap ini, laju metabolisme ikan tinggi sehingga produksi CO₂ juga meningkat. Hal ini dapat membuat pH air bertambah asam dan mengakibatkan ionisasi molekul amoniak pada ikan (Andriyanto dkk, 2009). Pembiusan ikan menggunakan campuran minyak dengan konsentrasi tersebut memberikan efek pingsan sepenuhnya pada menit ke-3. Sedangkan untuk waktu transportasi yang mampu dilakukan hanya 248 menit, pada saat ikan disadarkan telah dihitung tingkat kelangsungan hidup ikan yang ditampilkan pada tabel 12.

Tabel 3. Persen kelangsungan hidup ikan

Konsentrasi (ppm)	Waktu pingsan (menit)	Kelangsungan hidup (%)
0,215	248	100

Tingkat kelangsungan hidup ikan dengan menggunakan konsentrasi 0,215 ppm dengan lama waktu transportasi 248 menit memiliki nilai sebesar 100%. Hasil tersebut dikarenakan adanya perlakuan anestesi terlebih dahulu, ditempatkan di dalam styrofoam, dan diberi media pengisi busa dengan suhu 14 °C sehingga mengurangi tingkat stres ikan dan meningkatkan nilai kelangsungan hidup ikan. Mengutip pada Irfan (2016) menurut Pratiwi (2015) suhu pada media pengangkutan berperan penting dalam proses transportasi kering, sehingga selama proses transportasi sebisa mungkin suhu harus dipertahankan.

IV. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan pada penelitian yang telah dilakukan, didapat kesimpulan :

1. Bahan anestesi alami berupa campuran minyak cengkeh dan minyak serai dapur diketahui memiliki efektivitas yang baik terhadap transportasi sistem kering ikan nila hidup
2. Formula terbaik dari campuran minyak cengkeh dan minyak serai dapur dengan perbandingan 50:50 yaitu pada konsentrasi 0,215 ppm dengan waktu pingsan kurang dari 3 menit dan waktu sadar kurang dari 5 menit.
3. Setelah dilakukan uji transportasi sistem kering terhadap ikan nila hidup diketahui persen kelangsungan hidup sebesar 100 % dengan lama waktu transportasi 248 menit.

B. Saran

Perlukan dilakukan penelitian lebih lanjut dan lebih mendalam tentang efektivitas campuran minyak cengkeh dan serai dapur sebagai bahan alami anestesi pada ikan hidup. Dengan dilakukan uji determinasi terhadap tumbuhan dan hewan yang digunakan sehingga dapat lebih sesuai.

DAFTAR RUJUKAN

- Abid, M.S., Masithah, E.D., Prayogo. (2014). Potensi Senyawa Metabolit Sekunder Infusum Daun Durian (*Durio zibethinus*) Terhadap Kelulushidupan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Pada Transportasi Ikan Hidup Sistem Kering. *Jurnal Ilmiah Perikanan Kelautan 6 (1)*: 93-101.
- Andriyanto, dkk. (2009). *Potensi Penggunaan Acepromazine Sebagai Sediaan Transquilizer Pada Transportasi Ikan Patin*. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Amri, K., Khairuman. (2003). *Budi daya Ikan Nila Secara Intensif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- BPPAT DKP Balai Penelitian Perikanan Air Tawar Departemen Kelautan dan Perikanan. (2001). Nila Gift (Tilapias)
- Coyle, S.D., Robert, M.D., James, H.T. (2004). *Anesthetics In Aquaculture*. Southern Regional Aquaculture Center No. 3900.

- Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri*, Jilid I, Diterjemahkan oleh Ketaren. 133-145. Universitas Indonesia. Jakarta
- Hidayah. (1998). *Studi Penggunaan Gas CO₂ Sebagai Bahan Pembius Untuk Transportasi Ikan Nila Merah (Oreochromis sp.)*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Junianto. (2003). *Teknik Penanganan Ikan*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Kaya, A. O. W., Jacoba, M., Louhenapessy. (2016). Pengaruh Konsentrasi Minyak Cengkeh Untuk Anestetik Ikan Bawal Tawar (*Colossoma macropomum*) dan Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Majalah Biam 12 (02)*. 15-18. 2548-4842
- Khairuman., Amri, K. (2008). *Budidaya 15 Ikan Konsumsi*. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Murdaka, B., Karyono., Supriyatin. (2010). Penyetaraan Nilai Viskositas terhadap Indeks Bias pada Zat Cair Bening. *Jurnal Berkala Fisika 13*: 119-124.
- Nemoto, C.M. (1957). Experiment with Methods for Asia Transport of Live Fish. *Progressive Fish Culturist Vol 19*, Issue 4.
- Nitibaskara, R., Wibowo, S., Uju. (2006). Penanganan dan Transportasi Ikan Hidup untuk Konsumsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurdjannah, N. (2004). Diversifikasi Penggunaan Cengkeh. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Bogor.
- Rojas-armas, J.P. Arroyo-acevedo, J. L. Palomino-pacheco, M. Herrera-calder, O. Ortiz-s, M. Rojas-armas, A. (2020). The Essential Oil of *Cymbopogon citratus* stapt and carvacrol: An Approach of the Antitumor Effect on Breast Cancer in Female Rats. Vol.D. 1-15.
- Pramono, V. (2002). *Penggunaan ekstrak Caulerpa racemosa sebagai bahan pembius pada pra transportasi ikan nila (Oreochromis niloticus) hidup* [skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pujiarti, R. Humairoh, A. G Wibisono, M. &B Hardiyanto, E. (2020). Effect of chopchopping on yield, physico-chemical properties, and chemical composition of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) leaf essential from three varieties. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 449
- Rachimi, E.I.R., Khoiron, I. (2016). Pengaruh Konsentrasi Minyak Sereh (*Cymbopogon citratus* (DC) stapf) Terhadap Kelangsungan Hidup Pada Anestesi Benih Ikan Ringau (*Datnioides mesocolepis*) dengan Transportasi Tertutup. *Jurnal Ruaya Vol.4 No.01*. 2541-3155.
- Slamet, S., Riyanto. (2013). Studi Perbandingan Perlakuan Bahan Baku dan Metode Distilasi Terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak Sereh Dapur (*Cymbopogon citratus*). *ASEAN Journal of System Engineering Vol. 1 No. 1*. 25-31.
- SNI. (2005). *Air dan Air Limbah Bagian 30: Cara Uji Kadar Amonia Dengan Spektrofotometri Secara Fenat*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- SNI. (2004). *Air dan Air Limbah Bagian 14: Cara Uji Oksigen Terlarut Secara Yodometri (Modifikasi Azida)*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- SNI. (2006). *Karakteristik Minyak Daun Cengkeh*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- SNI. (1995). *Karakteristik Minyak Serai Dapur*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- Suryaningrum, T.D., Utomo, B.S.B., Wibowo, S. (2005). *Teknologi Penanganan dan Transportasi Krustasea Hidup*. Jakarta: Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Wibowo, S., Soekarto, T.S. (1993). *Cara Penanganan Udang Hidup Di Luar Air Untuk Transportasi Tujuan Ekspor*. Di dalam: Seminar Hasil Penelitian dan Keragaan Kegiatan Penelitian. 8-9 Februari 1993. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yanto, H. (2012). *Kinerja MS-222 dan Kepadatan Ikan Botia (Botia macracanthus) yang Berbeda Selama Transportasi*. Universitas Muhammadiyah. Pontianak.