

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK ATSIRI DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides*)  
DALAM TRANSPORTASI TERTUTUP BENIH IKAN KOI (*Cyprinus carpio*)**

**THE EFFECTS OF BANDOTAN LEAVE'S (*Ageratum conyzoides*) ESSENTIAL OIL WITHIN  
CLOSED SYSTEM TRANSPORTATION OF KOI CARP (*Cyprinus carpio*).**

**Laksmi Sulmartiwi, Ida Bagus Putu Oka Dantika dan Rr. Juni Triastuti**

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga  
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

**Abstract**

In the ornamental fish business, transportation has an important role to distributing fish up into the costumers. The distance between the farm and the customers location, require a transportation method which can maintain the quality and quantity of ornamental fish during the transportation. The biggest challenge in live fish closed system transportation is to reduce the stress level of fish during the process. According to Harmon (2009), fish are often exposed to multiple stressor during the transportation. Stressed fish can be seen through the increasing of tachiventilation (rapid opercula movement) and blood glucose levels (Evans and Claiborne, 2006).

One of the method to reduce stress of fish during transportation is using essential oils from Bandotan's (*A. conyzoides*) leaves. *A. conyzoides* essential oils know has an analgesic activity (Okunade, 2002; Shekhar and Anju, 2012; Singh *et al.*, 2013). A chemical compound with known analgesic effect, used in human and veterinary medicine as local analgesic dan be used to fish for the purpose of sedation, immobilization, and analgesia as well as general anaesthesia (Zahl and Samuelsen, 2012).

This research was conducted to see the effect of *A. conyzoides* essential oils toward the survival rate, blood glucose levels, and tachyventilation of koi carp juveniles during closed system transportation. This research using completely randomized design method which consist of 5 different treatments with 4 replications. Treatment that used in this research is the variation of administration doses of *A. conyzoides* essential oils during the koi carp juvenile closed system transportation. The treatment such as A (5 ppm), B (10 ppm), C (15 ppm), D (20 ppm), and E (0 ppm). Main parameter of this research is survival rate, blood glucose levels, and tachyventilation of koi carp juvenile during 8 hours transportation.

The result shows that *A. conyzoides* essential oils give a significant result toward survival rate, blood glucose levels, and tachiventilation of koi carp juvenile during transportation. There is no mortality in treatment A, B, and E, during transportation. The lowest blood glucose levels and tachiventilation found in treatment A (5 ppm).

**Keywords :** *Ageratum conyzoides*, Essential oils, *Cyprinus carpio*, Tachiventilation, Blood Glucose Levels, Survival Rate, Closed System Transportation

---

**Pendahuluan**

Ikan koi (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu jenis ikan hias air tawar yang paling digemari oleh berbagai lapisan masyarakat di dalam dan luar negeri karena komposisi warna yang dimilikinya. Jarak antara sentra budidaya dengan lokasi konsumen yang berjauhan, mengakibatkandiperlukannya suatu metode transportasi yang dapat mempertahankan kualitas dan kuantitas ikan hias selama proses transportasi berlangsung. Salah satu metode yang paling baik digunakan untuk transportasi jarak jauh atau ekspor adalah metode transportasi tertutup. Metode ini menggunakan wadah dari plastik *polyethylene*, sehingga berat paket lebih ringan jika dibandingkan dengan

transportasi terbuka dan memungkinkan untuk dikirim melalui jalur udara (Lim *et al.*, 2003).

Tantangan terbesar dalam transportasi ikan menggunakan sistem tertutup adalah mengurangi tingkat stres yang terjadi pada ikan. Menurut Harmon (2009) selama proses transportasi berlangsung, ikan cenderung untuk mengalami stres karena terpapar berbagai macam stresor. Ikan yang mengalami stres dapat dilihat melalui meningkatnya *tachiventilasi* (buka tutup operkulum ikan) dan kadar glukosa darah (Evans and Claiborne, 2006). Ketidakmampuan ikan untuk menanggapi atau merespon serta beradaptasi terhadap kondisi stres juga dapat mengakibatkan kematian atau mortalitas (Barton *et al.*, 2002).

Salah satu metode untuk mengurangi tingkat stres selama transportasi adalah dengan pemberian minyak atsiri yang berasal dari daun Bandotan. Minyak atsiri daun Bandotan diketahui memiliki sifat analgesik (Okunade, 2002). Senyawa yang diketahui memiliki sifat analgesik, dapat diberikan pada ikan untuk tujuan sedasi seperti pada penggunaan senyawa anestesi pada umumnya (Zahl and Samuelsen, 2012). Efek tersebut disebabkan oleh adanya kandungan senyawa terpen pada minyak atsiri daun Bandotan (Guimarães *et al.*, 2013).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian minyak atsiri daun Bandotan (*A. conyzoides*) terhadap *survival rate* (SR), tachiventilasi, dan kadar glukosa darah terhadap benih ikan koi (*C. carpio*) selama transportasi tertutup.

Untuk mengetahui dosis minyak atsiri daun Bandotan (*A. conyzoides*) yang optimal dalam proses transportasi benih ikan koi (*C. carpio*) secara tertutup.

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada mahasiswa, pembudidaya ikan koi (*C. carpio*), dan masyarakat pada umumnya mengenai pengaruh dan potensi pemberian minyak atsiri daun Bandotan (*A. conyzoides*) terhadap benih ikan koi (*C. carpio*) yang ditransportasikan secara tertutup.

### Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2013. Proses ekstraksi minyak atsiri daun Bandotan dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Departemen Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Proses simulasi transportasi dilaksanakan di Laboratorium Pendidikan Fakultas Perikanan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya.

### Metode Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan empat ulangan. Penelitian pendahuluan telah dilakukan untuk menentukan dosis aman (*safe concentration/SC*) minyak atsiri daun Bandotan. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, diketahui bahwa dosis aman pemberian minyak atsiri daun bandotan terhadap benih ikan koi adalah 10 ppm. Berdasarkan data tersebut, maka dilakukan penelitian utama dengan dosis A (5 ppm), B (10 ppm), C (15 ppm), D (20 ppm), dan E (0 ppm).

### Ekstraksi Minyak Atsiri

Penyulingan dilakukan dengan cara destilasi uap daun bandotan kering yang diremas dengan perbandingan jumlah antara air dan daun adalah 1:5. Minyak atsiri yang mengapung diatas komponen uap air kemudian diekstraksi dengan heksan dengan perbandingan 2:1 kemudian dikocok dalam corong pisah dan diulang sebanyak 3 kali (Bouda *et al.*, 2001; Tripathi *et al.*, 2007). Hasil pengocokan kemudian didiamkan dan diambil bagian supernatannya. Bagian tersebut kemudian diuapkan heksannya dengan alat *rotary vacuum evaporator* sehingga terpisah antara minyak atsiri dan heksan dengan suhu 35°C dengan tekanan 550 mmHg (Sani dkk., 2012).

### Persiapan Penelitian

Persiapan yang harus dilakukan sebelum melaksanakan penelitian adalah membuat kantong plastik sebagai wadah transportasi dari plastik polyethylene (PE) gulung dengan ukuran lebar 20 cm dan tebal 0,4 mm. Benih yang digunakan merupakan benih yang berukuran 5-7 cm dengan kondisi sehat dan anggota tubuh lengkap. Benih kemudian dipindahkan ke dalam bak bak fiber untuk diaklimatisasi dan dipuasakan selama satu hari (24 jam).

### Pengepakan Ikan

Benih ikan koi yang telah dipuasakan kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik yang sudah berisi air. Kepadatan ikan adalah 1 ekor untuk tiap 300 ml air. Penelitian tachiventilasi dan glukosa darah menggunakan tiga ekor ikan, sedangkan untuk *survival rate* (SR) menggunakan 10 ekor ikan. Kantong plastik kemudian diberi oksigen murni dengan perbandingan air dan udara 1 : 1. Kantong plastik kemudian diikat dan dimasukkan ke dalam kotak styrofoam. Suhu di dalam kotak styrofoam dipertahankan pada kisaran 20-22 °C dengan menambahkan es (Lim *et al.*, 2007). Jumlah es yang digunakan sebanyak 10-20% dari volume air dan ditempatkan di dalam kantong plastik kecil (Berka, 1986).

### Simulasi Transportasi

Proses simulasi transportasi benih ikan koi dilakukan pada malam hari. Kotak styrofoam yang berisi benih ikan koi kemudian ditaruh di bak mobil pick-up untuk selanjutnya dilakukan proses simulasi transportasi. Simulasi transportasi akan dilakukan selama delapan jam.

**Penghitungan Survival Rate (SR)**

Penghitungan SR benih ikan koi dilakukan pada akhir pengamatan yaitu pada kotak terakhir yang telah ditransportasikan selama delapan jam. Adapun rumus untuk menghitung SR menurut (Andriyanto dkk., 2010) adalah sebagai berikut :

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

SR : Sintasan (%)

N<sub>0</sub> : Jumlah ikan pada awal pengamatan (ekor)

N<sub>t</sub> : Jumlah ikan pada akhir pengamatan (ekor)

**Pengukuran Tachiventilasi**

Pengamatan tachiventilasi dilakukan dengan menghitung jumlah membuka dan menutupnya operkulum benih ikan koi (Barreto and Volpato, 2011). Penghitungan dilakukan dengan cara sampling pada tiap satuan percobaan. Pengamatan dilakukan setiap jam, untuk setiap waktu pengamatan, penghitungan dilakukan selama tiga menit sebanyak tiga kali berturut-turut.

**Pengukuran Kadar Glukosa Darah**

Pengukuran glukosa darah ikan dilakukan setiap dua jam sekali selama delapan jam. Pengukuran dilakukan menggunakan alat *Blood Glucose Monitoring System* merk *One Touch Horizon* (Eames et al., 2010). Pengambilan sampel darah dilakukan dengan memotong pangkal sirip ekor (*caudal peduncle*) benih ikan koi (Carleton University Animal Care and Use, 2011).

**Pengukuran Kualitas Air**

Pengukuran kualitas air dilakukan pada awal, tengah, dan akhir proses transportasi. Parameter yang diukur antara lain DO, ammonia, pH dan suhu air media transportasi yang digunakan. Pengukuran DO dan ammonia dilakukan menggunakan bantuan *test kit*. Pengukuran suhu dilakukan dengan menggunakan termometer raksa, sedangkan pH diukur menggunakan pH pen.

**Analisa Data**

Data hasil penelitian ini dianalisis menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan. Dilanjutkan dengan uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan's multiple range test*).

**Hasil dan Pembahasan**

**Survival Rate (SR)**

*Survival Rate* benih ikan koi pada perlakuan 0, 5, dan 10 ppm adalah 100%.

Kematian ikan koi hanya terjadi pada perlakuan 15 dan 20 ppm, sedangkan pada perlakuan 0, 5, dan 10 ppm tidak terjadi kematian sama sekali.

Tabel 1. Persentase Survival rate benih ikan koi selama 8 jam transportasi

Konsentrasi (ppm)	Survival rate (%) ± SD
0	100± 0 <sup>a</sup>
5	100±0 <sup>a</sup>
10	100±0 <sup>a</sup>
15	80±1.41 <sup>b</sup>
20	60±0.81 <sup>c</sup>

**Glukosa Darah**

Hasil uji ANOVA rata-rata glukosa darah benih ikan koi ditampilkan pada Tabel 2. Hasil analisis varian (ANOVA) glukosa darah yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan menggunakan program SPSS 16.0, menunjukkan adanya perbedaan nyata (p<0,05) pada setiap perlakuan dalam setiap waktu pengamatan kecuali pada waktu pengamatan awal.

Grafik nilai rata-rata glukosa darah benih ikan koi selama 8 jam transportasi dapat dilihat pada Gambar 1.

**Tachiventilasi**

Tachiventilasi diamati dengan menghitung buka tutup operkulum benih ikan koi yang dilakukan setiap jam selama 8 jam. Pengamatan dilakukan secara sampling pada tiap satuan percobaan. Pengamatan dilakukan selama tiga menit sebanyak tiga kali berturut-turut pada tiap waktu pengamatan. Hasil uji ANOVA rata-rata tachiventilasi ditampilkan pada Tabel 3.

Hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (p<0,05). Hasil uji signifikan ditemukan pada tiap perlakuan dalam setiap waktu pengamatan, kecuali pada pengamatan awal (jam ke-0). Grafik nilai rata-rata tachiventilasi ditampilkan pada Gambar 2.

Tabel 2. Hasil ANOVA rata-rata glukosa darah (mg/dl) benih ikan koi selama 8 jam transportasi

Waktu Pengamatan (jam)	Perlakuan				
	E (0 ppm)	A (5 ppm)	B (10 ppm)	C (15 ppm)	D (20 ppm)
0	26,75±0,95 <sup>a</sup>	27±0,81 <sup>a</sup>	26.75±1,25 <sup>a</sup>	27±1,41 <sup>a</sup>	27±1,82 <sup>a</sup>
2	27,75±0,95 <sup>d</sup>	38,75±2,62 <sup>c</sup>	189,5±4,50 <sup>a</sup>	154,25±2,5 <sup>b</sup>	153,75±2,98 <sup>b</sup>
4	63,75±4,27 <sup>d</sup>	65,25±3,30 <sup>d</sup>	170,75±7,58 <sup>c</sup>	230±17,20 <sup>b</sup>	251±11,91 <sup>a</sup>
6	65,75±4,34 <sup>c</sup>	52±4,32 <sup>c</sup>	230±5,09 <sup>a</sup>	197±14,35 <sup>b</sup>	208±15,03 <sup>b</sup>
8	71,75±3,86 <sup>c</sup>	46.75±1,25 <sup>d</sup>	217,5±5,06 <sup>a</sup>	200,25±2,06 <sup>b</sup>	221,25±24,08 <sup>a</sup>

Keterangan : Superskrip berbeda dalam satu baris menunjukkan ada perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

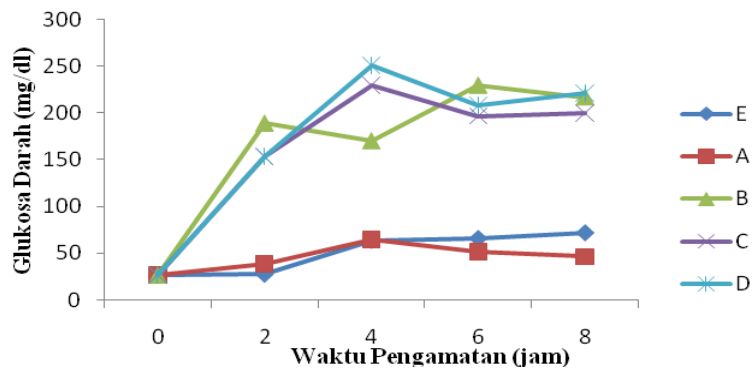
Perlakuan E : Kontrol (tanpa pemberian minyak atsiri daun Bandotan).

Perlakuan A : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 5 ppm.

Perlakuan B : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 10 ppm.

Perlakuan C : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 15 ppm.

Perlakuan D : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 20 ppm.



Gambar 1. Grafik rata-rata glukosa darah benih ikan koi selama 8 jam transportasi.

Tabel 3. Hasil ANOVA rata-rata tachiventilasi benih ikan koi (bit/3 menit) selama 8 jam transportasi.

Waktu Pengamatan (jam)	Perlakuan				
	E (0 ppm)	A (5 ppm)	B (10 ppm)	C (15 ppm)	D (20 ppm)
0	128.75±1.89 <sup>a</sup>	125±4.08 <sup>a</sup>	127.75±6.13 <sup>a</sup>	127±2.16 <sup>a</sup>	130.5±2.08 <sup>a</sup>
1	129.5±3.31 <sup>a</sup>	61.25±5.90 <sup>d</sup>	92.25±5.43 <sup>c</sup>	112±10.23 <sup>b</sup>	94±3.36 <sup>c</sup>
2	127.5±2.08 <sup>a</sup>	59.5±3.87 <sup>d</sup>	87.5±5 <sup>c</sup>	109.5±7.14 <sup>b</sup>	94.5±3.8 <sup>c</sup>
3	103.5±6.19 <sup>a</sup>	56.25±1.89 <sup>c</sup>	84.75±8.18 <sup>b</sup>	96.5±1.29 <sup>a</sup>	82±4.32 <sup>b</sup>
4	65.75±1.70 <sup>d</sup>	49.5±6.02 <sup>c</sup>	75±3.26 <sup>c</sup>	93.25±2.5 <sup>a</sup>	81.25±1.5 <sup>b</sup>
5	61.25±2.62 <sup>c</sup>	45.5±2.88 <sup>d</sup>	73±2.82 <sup>ab</sup>	76±2.94 <sup>a</sup>	70.75±1.70 <sup>b</sup>
6	60.5±1.91 <sup>b</sup>	34±4.32 <sup>c</sup>	66.75±1.70 <sup>a</sup>	60.75±3.09 <sup>b</sup>	64.25±3.30 <sup>ab</sup>
7	50.5±3.69 <sup>b</sup>	29.75±2.5 <sup>d</sup>	59.25±3.40 <sup>a</sup>	39.5±3.69 <sup>c</sup>	59.75±2.98 <sup>a</sup>
8	42.5±3.41 <sup>b</sup>	21.5±3.31 <sup>c</sup>	53±3.55 <sup>a</sup>	39.5±3.10 <sup>b</sup>	44±3.74 <sup>b</sup>

Keterangan : Superskrip berbeda dalam satu baris menunjukkan ada perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ).

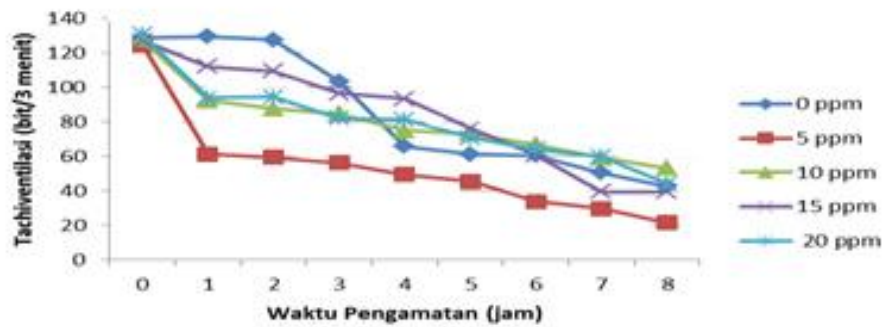
Perlakuan E : Kontrol (tanpa pemberian minyak atsiri daun Bandotan).

Perlakuan A : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 5 ppm.

Perlakuan B : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 10 ppm.

Perlakuan C : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 15 ppm.

Perlakuan D : Pemberian minyak atsiri daun Bandotan dengan dosis 20 ppm.



Gambar 2. Grafik rata-rata tachyventilasi (bit/3 menit) benih ikan koi selama 8 jam transportasi

Tabel 4. Hasil pengukuran parameter kualitas air selama 8 jam transportasi.

Parameter Kualitas Air	Waktu Pengamatan		
	Awal	Tengah	Akhir
Suhu (°C)	26-27	21-22	21-22
pH	8,9-9	7,6-7,8	7,7-7,8
DO (ppm)	6	6	6
NH <sub>3</sub> (mg/l)	0,18	0,02-0,09	0,05-0,27

#### Kualitas Air

Pengukuran kualitas air selama penelitian dilakukan setiap empat jam. Parameter kualitas air yang diukur meliputi parameter fisika dan kimia, yaitu suhu, pH, dissolved oxygen (DO), dan ammonia. Data kisaran kualitas air selama transportasi berlangsung dapat dilihat pada Tabel 4.

Mortalitas pada benih ikan hanya terjadi pada konsentrasi 15 dan 20 ppm. Tidak terjadi kematian pada konsentrasi 0, 5, dan 10 ppm. Kandungan HCN dan coumarin pada minyak atsiri daun Bandotan diketahui memiliki sifat toksik kepada kelinci (Singh, *et al.*, 2013). Sifat toksik atau racun juga ditemukan pada senyawa precocene I dan precocene II yang termasuk ke dalam golongan chromene. Paparan stresor selama transportasi berlangsung juga dapat mengakibatkan mortalitas pada ikan (Harmon, 2009).

Pemberian minyak atsiri daun bandotan memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah benih ikan koi selama transportasi. Pemberian minyak atsiri daun bandotan dengan dosis 5 ppm menunjukkan nilai rata-rata glukosa darah yang paling mendekati dengan perlakuan kontrol, bahkan cenderung mengalami penurunan pada akhir waktu pengamatan. Pemberian minyak atsiri

daun bandotan juga berpengaruh terhadap tachyventilasi benih ikan koi selama transportasi. Nilai rata-rata tachyventilasi selama transportasi cenderung untuk mengalami penurunan pada semua perlakuan, dengan nilai terendah ditemukan pada perlakuan 5 ppm.

Penurunan nilai rata-rata tachyventilasi dan glukosa darah pada benih ikan koi selama transportasi diduga disebabkan oleh aktivitas analgesik minyak atsiri daun bandotan. Aktivitas analgesik mengakibatkan ikan menjadi lebih tenang dan tidak banyak bergerak, sehingga laju respirasi menjadi lebih rendah (Sanjaya, 2011). Senyawa dari golongan terpen, terutama monoterpen diketahui memiliki sifat analgesik (Guimarães *et al.*, 2013). Senyawa terpen dan komponen kimia lain dalam minyak atsiri memiliki struktur molekul yang sederhana. Umumnya memiliki tingkat kelarutan yang tinggi pada lemak, sehingga dapat menembus *blood-brain barrier* dan bekerja pada sistem saraf pusat (de Sousa, 2011). Aktivitas senyawa monoterpen pada sistem saraf pusat diketahui dalam menghambat enzim GABA transaminase (Koo *et al.*, dalam de Almeida *et al.*, 2009), sehingga meningkatkan konsentrasi GABA di dalam sistem saraf pusat. Peningkatan konsentrasi GABA pada sistem saraf pusat akan memicu timbulnya efek sedasi pada hewan dan

mamalia (de Almeida *et al.*, 2009). Sedasi pada ikan diketahui mengakibatkan berkurangnya aktivitas dan metabolisme ikan, termasuk penurunan pada buka tutup operkulum atau tachiventilasi pada ikan (Cooke *et al.*, 2004). Pemberian senyawa yang memiliki efek sedasi juga mampu meminimalisir efek stres pada ikan selama transportasi, sehingga mempengaruhi kadar glukosa darah (Neiffer and Stamper, 2009).

Kualitas air merupakan salah satu faktor pembatas dalam transportasi ikan hidup. Penurunan kualitas air selama transportasi dapat mengakibatkan stres dan kematian pada ikan (Hariyanto, 2008; Harmon, 2009). Selama transportasi berlangsung, kadar oksigen terlarut di dalam air stabil pada angka 6 ppm. Menurut Bachtiar (2002), kadar oksigen terlarut normal bagi kehidupan ikan koi berkisar antara 5-7 ppm. pH air selama transportasi mengalami penurunan pada pengamatan di tengah dan akhir. Walaupun demikian, penurunan nilai pH masih berada dalam batas normal. Menurut Effendi (1993), kisaran pH normal yang dibutuhkan bagi ikan koi berada pada kisaran 6,5-8,5. Selama penelitian, kadar ammonia berkisar antara 0,02-0,27 mg/l. Menurut Prihartono (2006) dalam Mulyadi, dkk (2010), bahwa batas kritis ikan terhadap kandungan ammonia terlarut di dalam air adalah 0,6 mg/l. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar ammonia selama transportasi berlangsung masih berada dalam kisaran normal bagi kehidupan ikan.

### Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat ditarik dari penelitian ini adalah pemberian minyak atsiri daun Bandotan (*A. conyzoides*) berpengaruh terhadap SR, kadar glukosa darah, dan tachiventilasi pada benih ikan koi yang ditransportasikan secara tertutup. Dosis optimal pemberian minyak atsiri daun bandotan dalam proses transportasi benih ikan koi secara tertutup adalah 5 ppm.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sedatif dari senyawa monoterpen yang terdapat pada minyak atsiri daun Bandotan (*A. conyzoides*), sehingga kedepannya dapat dikembangkan dan diaplikasikan secara langsung di dunia perikanan terutama perikanan budidaya.

### Daftar Pustaka

Andriyanto, S., N. Lisyanto, dan R. Rahmawati. 2010. Pengaruh Pemberian Probiotik dengan Dosis yang Berbeda Terhadap Sintasan dan Pertumbuhan

Benih Patin Jambal (*Pangasius djambal*). Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur. 117-122.

Bachtiar, Yusuf. 2002. Mencermelangkan Warna Koi. AgroMedia Pustaka : Depok. Hal. 5.

Barreto, R. E. and G. L. Volpato. 2011. Ventilation rates indicate stress-coping styles in Nile tilapia. *Journal of Bioscience* 36 (5). Hal 1-5.

Barton, B. A., J. D. Morgan, M. M. Vijayan. 2002. Physiological and Condition-Related Indicator of Environmental Stress in Fish, in Adams, S.M. *Biological Indicators of Aquatic Ecosystem Stress* (paperback). American Fisheries Society. Hal. 111-118.

Bouda, H., L.A. Tapon Djou, D.A Fontem, M.Y.D, Gumed Zoe. 2001. Effect of Essential Oils from Leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Cromolaena odorata* on The Mortality of *Sithophilus zeamais* (coloptera, curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 37(2001):193-199.

Carleton University. 2011. Standard Operating Procedure : Blood sampling of non-anesthetized fish. Canada's Capital University Animal Care and Use Program. 4 hal.

Cooke, S.T., C.D. Suski, K.G. Ostrand, B.L. Tufts, and D.H. Wahl. 2004. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 239, hal. 509-529.

de Almeida, R. N., D. A. M. Araujo, J. C. R. Goncalves, F. C. Montenegro, D. P. de Sousa, J. R. Leite, R. Mattei, M. A. C. Benedito, J. G. B. de Carvalho, J.S. Cruz, J. G. S Maia. 2009. Rosewood oil induces sedation and inhibits compound action potential in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 124. Hal. 440-443.

de Sousa, D. P. 2011. Analgesic-like Activity of Essential Oils Constituents. *Molecules*, 16, hal. 2233-2252.

Eames, S. C., L. H. Philipson, V. E. Prince, and M. D. Kinkel. 2010. Blood Sugar Measurement in Zebrafish Reveals Dynamic of Glucose Homeostasis. *ZEBRAFISH* Vol. 7, No. 2. 10 hal.

- Effendy, Hersanto. 1993. *Mengenal Beberapa Jenis Koi*. Kanisius: Jakarta. Hal.11-68.
- Evans, D. H. and J. B. Claiborne. 2006. *The Physiology of Fishes*, Third Edition. CRC Press, Taylor and Francis Group : Florida. Hal.319-322.
- Guimarães, A. G., J. S. S. Quintans, and L. J. Quintans-Junior. 2013. Monoterpenes with Analgesic Activity, A Systematic Review. *Phytotherapy Research* 27. Hal.1-15.
- Hariyanto, S. E., F. S. Pranata, Y. Aida. 2008. Pemanfaatan Ekstrak Daun Kecubung (*Datura metel* L.) Sebagai pembius Ikan Koi (*Cyprinus carpio* L.) Pada Saat Pengangkutan. *Biota* Vol. 13 (1), hal 24-30.
- Harmon, T.S. 2009. Method for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks : a review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1, 58-66.
- Lim, L.C., P. Dhert, and P. Sorgeloos, 2003. Recent developments and improvements in ornamental fish packaging system for air transport. *Aquaculture Research*, 34, 923-935.
- Lim, L. C., P. Dhert, P. Sorgeloos. 2007. Preparation for Transport : Fish Packaginf Technology. *Ornamental Fish International Educational Publication* 2, hal 25-45.
- Mulyadi, M. T. Usman, dan Suryani. 2010. Pengaruh Frekuensi Pemberian Pakan yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Benih Ikan Silais (*Ompok hypophthalmus*). *Berkala Perikanan Terubuk*, Vol 38 No.2. Hal 21-40.
- Neiffer, D. L. and M. A. Stamper. 2009. Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia : Consideration, Methods, and Types of Drugs. *Institute for Laboratory Animal Research (ILAR) Journal*, Volume 50, Number 4, Oxford University Press. Hal 343-360.
- Okunade, A.L. 2002. Review : *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *Fitoterapia*, 73, 1-16.
- Sani, N.S., R. Racchmawati dan Mahfud. 2012. Pengambilan Minyak Atsiri dari Melati dengan Metode Enfleurasi dan Ekstraksi Pelarut Menguap. *Jurnal Teknik POMITS* Vol.1 (1): 1-4.
- Sanjaya, Y. 2011. Pengaruh Kosentrasi Larutan Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Terhadap Tingkat Kelulusan dan Buka Tutup Operkulum Benih Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dalam Transportasi Sistem Tertutup. *Skripsi.Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya.*, 24 hal.
- Zahl, I. H. and O. Samuelsen. 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry* 38:201-218.