

**EKSTRAK DAUN GANJA (*Cannabis sativa* Linn) SEBAGAI AGEN ANESTESI IKAN KOI (*Cyprinus carpio* Koi)
(Hemp Leaf (*Cannabis sativa* Linn) Extract as Anesthetic Agents on Koi
(*Cyprinus carpio* Koi))**

¹Ilham Zulfahmi*, ²Rindhira Humairani, ²Yusrizal Akmal

¹*Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi,
Universitas Islam Negeri Ar-Raniry, Kota Pelajar dan Mahasiswa, Darussalam, Banda
Aceh 23111,(email: ilhamgravel@yahoo.com)*

²*Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Pertanian, Universitas Almuslim, Jalan
Almuslim, Matang Glumpang Dua, Peusangan, Kabupaten Bireuen, Aceh 24261,
(email:Humairanirindhira@gmail.com, drh.yusrizal.akmal.msi@gmail.com)*

ABSTRACT

This study aims to examine the effectiveness of hemp leaf (*Cannabis sativa* Linn) as an anesthetic agent of Koi Fish (*Cyprinus carpio* Koi). Process making of marijuana extraction and exposure to the test fish were carried out at the Mathematics and Natural Sciences Laboratory of the University of Almuslim, while a hematological analysis was carried out at the Pathology Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, Syiah Kuala University. The study was conducted based on a completely randomized design (CRD) consisting of four treatments with five replications for each treatment i.e treatment A (1 mL.L⁻¹ of hemp leaf extract), treatment B (1.5 mL.L⁻¹ of hemp leaf extract), treatment C (2 mL.L⁻¹ of hemp leaf extract), treatment D (4 mL. L⁻¹ hemp leaf extract). The results showed that there were significant differences in sedative time and conscious time between treatments. The fastest sedative time was obtained in treatment C, while the longest sedative time obtained in treatment A were 13.16 ± 2.28 minutes and 20.08 ± 6.30 minutes, respectively. The use of overdoses extract can cause a decrease in oxygen consumption and changes in hematological profile

Keywords: Extraction, hemoglobin, induction time, oxygen consumption level, recovery time

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengkaji efektivitas ganja (*Cannabis sativa* Linn) sebagai agen anestesi Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi). Tahapan ekstraksi ganja dan pemaparan kepada ikan uji dilaksanakan di Laboratorium Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Almuslim, sedangkan analisis hematologi dilakukan pada Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala. Penelitian dilakukan berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari empat perlakuan dengan lima ulangan untuk masing-masing perlakuan. Perlakuan A (1 mL.L⁻¹ ekstrak daun ganja), perlakuan B (1,5 mL.L⁻¹ ekstrak daun ganja), perlakuan C (2 mL.L⁻¹ ekstrak daun ganja), perlakuan D (4 mL.L⁻¹ ekstrak daun ganja). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat

perbedaan yang signifikan terhadap waktu sedatif dan waktu sadar antar perlakuan. Waktu sedatif tercepat diperoleh pada perlakuan C sedangkan waktu sedatif terlama diperoleh pada perlakuan A yaitu masing masing sebesar $13,16 \pm 2,28$ menit dan $20,08 \pm 6,30$ menit. Penggunaan dosis ekstrak yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya penurunan tingkat konsumsi oksigen dan perubahan profil hematologi.

Kata penting: *ekstraksi, hemoglobin, tingkat konsumsi oksigen, waktu sedatif, waktu sadar*

PENDAHULUAN

Tahapan budidaya ikan selalu berkaitan dengan proses penyortiran, penimbangan berat, pemeriksaan tingkat kematangan gonad dan pengangkutan (transportasi) yang dapat berdampak pada meningkatkannya tingkat stres pada ikan (Roubach *et al.*, 2005; Weber *et al.*, 2009). Menurut Husen & Sharma (2014) faktor stres ini menyebabkan terjadinya perubahan plasma kortisol & jumlah limfosit, menurunnya nafsu makan serta meningkatkan kerentanan terhadap penyakit dan kematian. Salah satu upaya meminimalisir tingkat stres dalam berbagai tahapan tersebut adalah dengan menggunakan agen anestesi.

Sebagian besar agen anestesi yang digunakan dalam budidaya saat ini berasal dari bahan sintetik (Barbaz *et al.*, 2017). Salah satunya adalah *tricaine methanesulphonate* atau yang lebih dikenal dengan MS-222. MS-222 merupakan agen anestesi yang paling banyak digunakan dalam usaha budidaya di dunia. Walupun demikian, MS-222 memiliki harga sangat mahal dan jarang tersedia di negara berkembang (Popovic *et al.*, 2012). Selain itu, penggunaan bahan ini juga menimbulkan efek samping terhadap ikan berupa perubahan tingkah laku dan terjadinya iritasi pada jaringan organ (Williams *et al.*, 2009)

Menanggapi hal tersebut, beberapa peneliti mulai mengembangkan berbagai bahan alternatif lainnya yang dapat digunakan sebagai agen anestesi ikan. Beragam penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak dari beberapa tumbuhan telah diujicobakan sebagai agen anestesi ikan. Inoue *et al.*, (2003) mengungkapkan bahwa minyak cengkeh efektif digunakan sebagai agen anestesi ikan *Brycon cephalus*. Ekstraksi dari tumbuhan *Lippia alba*, *Spilanthes acmella*, & *Nicotiana tabacum* juga dilaporkan memiliki potensi sebagai agen anestesi terhadap beberapa jenis ikan (Cunha *et al.*, 2011; Barbas *et al.*, 2016; Agokei & Adebiyi, 2010).

Ganja (*Cannabis sativa* Linn) merupakan tumbuhan yang memiliki sebaran tinggi di daerah Asia Tengah, Tenggara dan Selatan (Ayenigbara, 2010). Provinsi Aceh sering dikonotasikan sebagai lumbung ganja Indonesia. Ganja sangat potensial dijadikan agen anestesi karena mengandung *Tetra Hydro Cannabinol* (THC) (Kumar *et al.*, 2001; Hirst *et al.*, 1998). THC digunakan dapat mengikat reseptor spesifik yang ada di dalam otak yang disebut reseptor *cannabinoid* (Hampson *et al.*, 1998; D'Souza *et al.*, 2004). Dalam dosis rendah, senyawa tersebut dapat mengurangi rasa sakit, mengurangi agresi, merangsang nafsu makan dan membantu mengurangi rasa

mual (Pertwee & Thomas, 2007). Pada dosis yang lebih tinggi THC dapat melindungi saraf dari stress oksidatif melalui antioksidan neuroprotektif (Hampson *et al.*, 1998). Pemanfaatan ganja sebagai agen anestesi telah berhasil dilakukan sebelumnya terhadap tikus (Napimoga *et al.*, 2009).

Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi) adalah salah satu jenis ikan hias air tawar yang diminati di Indonesia. Ikan ini memiliki bentuk badan dan warna yang indah serta dipercaya membawa keuntungan (Kusrini *et al.*, 2015). Berbeda dengan ikan konsumsi yang dapat ditransportasikan dalam keadaan mati, sebagai ikan hias, ikan Koi harus ditransportasikan dalam keadaan hidup. Upaya meminimalisir stres terhadap ikan Koi selama masa transportasi dapat dilakukan melalui pemberian anestesi. Penelitian ini bertujuan mengkaji efektivitas ganja (*Cannabis sativa* Linn) sebagai agen anestesi Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi)

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juli sampai dengan September tahun 2018. Tahapan ekstraksi ganja dan pempararan kepada ikan uji dilaksanakan di Laboratorium Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Almuslim, sedangkan analisis hematologi dilakukan pada Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala.

Ganja (*Cannabis sativa* Linn) yang digunakan dalam penelitian ini berbentuk kering berasal dari barang sitaan Kepolisian Resort Kabupaten Bireuen setelah sebelumnya adanya ikatan kerjasama dan pemberitahuan tentang adanya penelitian ini. Sebanyak dua kilogram daun ganja

dipisahkan dari batangnya dan diangkut ke Laboratorium untuk kemudian dikeringkan. Metode ekstraksi yang digunakan mengacu pada standar Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000). Daun ganja kering dibersihkan dengan air dan dikeringkan kembali untuk kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender kering. Simplicia yang telah diperoleh kemudian diayak sehingga diperoleh bubuk daun ganja (*Cannabis sativa* Linn). Ekstraksi dilakukan dengan merendam bubuk dengan menggunakan etanol 96 % selama tiga hari dalam maserator. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Proses maserasi diulang sebanyak dua kali dengan tetap menggunakan pelarut yang sama. Estrak ganja yang diperoleh disimpan sampai dengan waktunya pempararan.

Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi) yang digunakan dalam penelitian memiliki kisaran bobot rata-rata 10 gram dengan kisaran panjang 11 – 13 cm. Ikan diperoleh dari Balai Benih Ikan (BBI) Batee Iliek kabupaten Bireuen dan diangkut ke laboratorium menggunakan transportasi darat untuk kemudian diaklimatisasi selama sepuluh hari. Selama masa aklimatisasi, ikan diberi pakan buatan dua kali sehari. Kotoran ikan dan limbah pakan disimpan setiap hari untuk menjaga kondisi kualitas air media. Setelah masa aklimatisasi selesai, ikan sehat dipilih untuk digunakan pada percobaan.

Perlakuan dan parameter penelitian

Penelitian dilakukan berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari empat perlakuan dengan lima ulangan untuk masing-masing perlakuan. Perlakuan A (1 mL.L^{-1} ekstrak daun ganja), perlakuan B ($1,5 \text{ mL.L}^{-1}$ ekstrak daun ganja), perlakuan C (2 mL.L^{-1} ekstrak daun ganja), perlakuan D (4 mL.L^{-1} ekstrak daun ganja).

Wadah pemaparan anastesi yang digunakan adalah gelas kimia bervolume dua liter. Ikan uji ditempatkan sebanyak satu ekor per wadah dengan tidak diberi makan selama masa perlakuan.

Parameter utama yang diamati pada penelitian ini meliputi rata-rata lamanya waktu sedatif dan waktu sadar untuk setiap perlakuan, tingkat konsumsi oksigen, profil hematologi dan histopatologi insang. Waktu sedatif diukur sesaat setelah ikan dipaparkan dengan cairan anestesi sampai ikan tidak lagi menunjukkan gerakan. Waktu sedatif ikan diatur selama 15 menit. Selama waktu pemingsanan ikan diletakkan dalam media steril tanpa campuran anestesi. Apabila waktu sedatif telah berakhir, media diberikan aerasi kuat dan mulai diukur lamanya waktu sadar ikan. Ikan dianggap sadar apabila telah mampu menyeimbangkan tubuhnya dan berenang secara normal (Tort *et al.*, 2002). Tingkat konsumsi oksigen diukur 15 menit setelah waktu sadar ikan. Pengukuran tingkat konsumsi oksigen mengacu pada persamaan Liao dan Huang (1975) yaitu:

$$TKO = \frac{(DO_{awal} - DO_{akhir})}{W \times T} \times V$$

Dimana TKO: Tingkat Konsumsi Oksigen ($\text{mgO}_2 \cdot \text{Gram tubuh}^{-1} \cdot \text{Jam}^{-1}$)
 DO_{awal} : Oksigen terlarut pada awal pengamatan (mg.L^{-1}), DO_{akhir} : Oksigen terlarut pada akhir pengamatan (mg.L^{-1}), W: Berat ikan uji (g), V: Volume air (L), T: Periode pengamatan (jam). Pengambilan contoh darah dan insang ikan dilakukan bersamaan 15 menit setelah waktu sadar ikan. Pengambilan darah melalui vena caudalis dengan sputit 1 ml sebanyak 0,5 ml untuk kemudian dimasukkan kedalam tabung mikrotube yang telah ditambahkan antikoagulan *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA). Profil hematologi dianalisis dengan menggunakan alat *Mindray BC-2800 Auto Hematology Analyzer*.

Analisa Data

Analisis statistik yang digunakan untuk membandingkan parameter pengukuran (waktu sedatif, waktu sadar, tingkat konsumsi oksigen, profil hematologi) adalah dengan menggunakan ANOVA satu arah. Kriteria berbeda nyata yang digunakan pada penelitian ini adalah pada tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan bantuan software SPSS 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

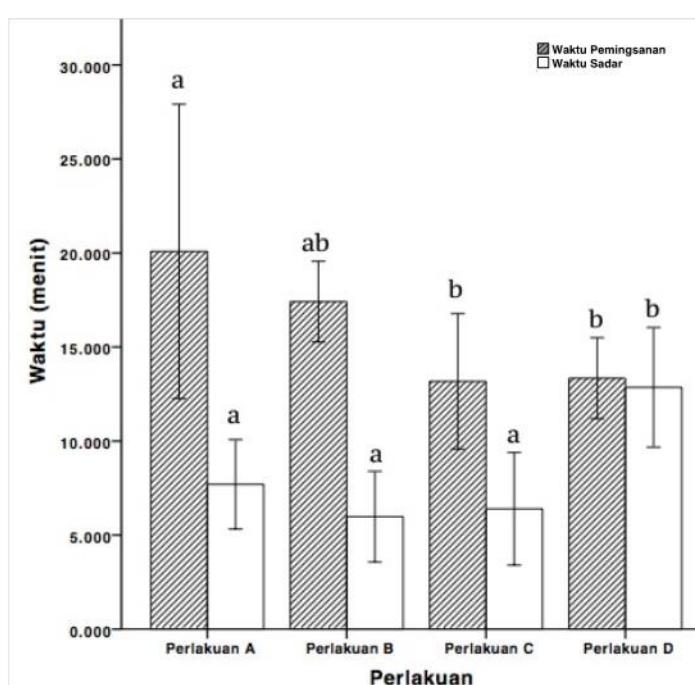
Penggunaan anestesi dalam bidang akuatik salah satunya bertujuan untuk mengurangi stres dan kematian pada saat pengangkutan dan pengukuran ikan (Sneddon, 2012). Disamping itu, anestesi terhadap ikan terutama untuk keperluan penelitian dan kedokteran hewan dimaksudkan dalam rangka menjaga perspektif etis kehewanan (Ashley *et al.*, 2007; Roques *et al.*, 2010). Saat ini sebagian besar agen anestesi yang digunakan dalam budidaya saat ini berasal dari bahan sintetik (Barbaz *et al.*, 2017). Williams *et al.* (2009) menyebutkan bahwa penggunaan bahan sintetik dapat menimbulkan efek samping terhadap ikan berupa perubahan tingkah laku dan iritasi pada jaringan organ.

Beragam penelitian telah dilakukan dalam rangka menemukan agen anestesi ikan yang berasal dari bahan alam. Inoue *et al.*, (2003) mengungkapkan bahwa minyak cengkeh efektif digunakan sebagai agen anestesi ikan *Brycon cephalus*. Ekstraksi dari tumbuhan *Lippia alba*, *Spilanthes acmella*, & *Nicotiana tabacum* juga dilaporkan memiliki potensi sebagai agen anestesi terhadap beberapa jenis ikan

(Cunha *et al.*, 2011; Barbas *et al.*, 2016; Agokei & Adebisi, 2010). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi daun ganja terbukti mampu memberikan efek sedatif kepada ikan Koi. Walaupun demikian efek sedatif baru dapat terjadi dalam waktu rata-rata lebih dari sepuluh menit

Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap waktu sedatif dan waktu sadar antar perlakuan. Waktu sedatif tercepat diperoleh pada perlakuan C sedangkan

waktu sedatif terlama diperoleh pada perlakuan A yaitu masing masing sebesar $13,16 \pm 2,28$ menit dan $20,08 \pm 6,30$ menit. Walaupun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara waktu sedatif pada perlakuan C dan perlakuan D, akan tetapi perlakuan D memiliki waktu sadar yang lebih lama dibandingkan dengan pertemuan C yaitu masing masing sebesar $12,85 \pm 2,56$ dan $6,39 \pm 1,88$ (Gambar 1).



Gambar 1. Waktu Sedatif dan Waktu Sadar Ikan Koi pada Setiap Perlakuan

*Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

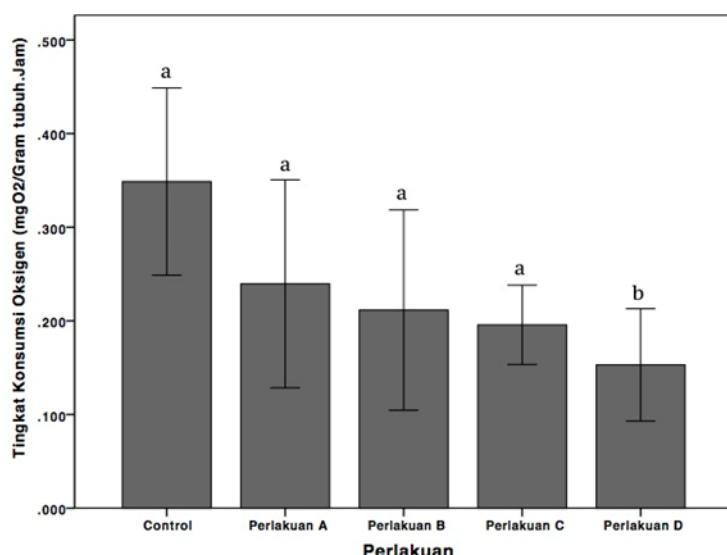
Mengacu pada pendapat Ross & Ross (2008), waktu sedatif yang didapat dalam penelitian ini masih tidak sesuai dengan waktu standar sedatif dan pemulihan yang direkomendasikan, yaitu berlangsung dibawah lima menit. Hal ini diduga dipengaruhi oleh metode ekstrasi yang dilakukan. Dalam penelitian ini metode ekstraksi yang dilakukan masih tergolong sederhana sehingga zat aktif yang diharapkan dapat memberikan efek sedatif

bagi ikan tidak terekstrak dengan baik. Penelitian lanjutan mengenai metode ekstrasi yang sesuai untuk mendapatkan hasil yang lebih baik masih perlu dilakukan.

Tingkat konsumsi oksigen ikan Koi setelah waktu sadar menunjukkan penurunan dibandingkan tingkat komsumsi oksigen sebelum ikan diberikan perlakuan. Walaupun demikian, secara statistik tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tingkat konsumsi oksigen sebelum dan

sesudah masa pemaparan ekstrak daun ganja pada perlakuan A, B dan C (Gambar 2). Tingkat konsumsi oksigen mengalami penurunan yang signifikan pada perlakuan

D dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan nilai sebesar $0,19 \pm 0,10$ (mgO₂/gram tubuh.jam).



Gambar 2. Tingkat Konsumsi Oksigen Ikan Koi Setelah Waktu Sadar pada Setiap Perlakuan. *Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak daun ganja, efek sedatif tercepat diperoleh pada perlakuan C dan D. Walaupun demikian, perlakuan D memiliki waktu sadar yang lebih lama dibandingkan perlakuan A dan B. Hal ini diduga terjadi akibat terganggunya sistem pernapasan ikan. Benli *et al.* (2008) menyebutkan bahwa organ pernapasan sangat berperan penting dalam proses anestesi. Jalur masuk dan ekskresi anestesi pada ikan terjadi terutama melalui insang, sedangkan organ lainnya memiliki peran yang lebih kecil (Ross & Ross, 2008). Hasil penelitian sebelumnya oleh Zulfahmi (2018), menyatakan bahwa terdapat perubahan histopatologi berupa *hyperlasia*, *epithelial lifting* dan *lamellar fusion* dalam intensitas berat pada ikan koi yang dipapar ekstrak daun ganja dengan konsentrasi tinggi. Terganggunya sistem pernapasan ikan pada

perlakuan D juga dikaitkan dengan menurunnya tingkat konsumsi oksigen ikan. Perlakuan D didapati memiliki tingkat konsumsi oksigen yang lebih rendah dibandingkan perlakuan lainnya.

Hasil pengukuran parameter hematologi menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah sel darah merah pada perlakuan A dibanding perlakuan kontrol yaitu masing masing $1,56 \pm 0,02 \times 10^6$ sel/mL dan $1,31 \pm 0,10 \times 10^6$ sel/mL. Penurunan jumlah sel darah merah secara signifikan terlihat pada perlakuan D dengan nilai $1,16 \pm 0,14 \times 10^6$ sel/mL. Selain parameter jumlah sel darah merah, ikan pada perlakuan D juga memiliki jumlah sel darah putih dan Hb yang lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol yaitu masing masing sebesar $153,55 \pm 20,86 \times 10^3$ sel/mL untuk sel darah putih

dan $7,05 \pm 0,91$ g/dL untuk parameter Hb (Tabel 1).

Menurut Tytler & Hawkins (1981), menurunnya tingkat konsumsi oksigen ikan disebabkan ikan mengalami hipoksia. Hipoksia yang terjadi pada ikan dapat mempengaruhi profil hematologi darah seperti menurunkan Hb dan hormon kortisol. Terjadinya perubahan terhadap profil hematologi darah ikan akibat berbagai ragam agen anestesi juga pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti sebelumnya (Gomes *et al.*, 2001; Sladky *et al.*, 2001; Sandodden *et al.*, 2001; Ribas *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Ekstrak daun ganja (*Cannabis sativa* Linn) sebagai agen anestesi ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi) memiliki kandungan bioaktif yang berpotensi dijadikan agen anestesi ikan. Walaupun demikian, waktu sedatif dan waktu sadar ikan Koi yang diberi anestesi berupa ekstrak daun ganja masih belum sesuai dengan waktu standar sedatif dan sadar yang direkomendasikan. Penggunaan dosis ekstrak yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya penurunan tingkat konsumsi oksigen dan perubahan profil hematologi pada ikan Koi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pusat Penelitian dan Penerbitan, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Penelitian Peningkatan Kapasitas 2018 (SK No. B-035/Un.08/LP2M-I/Ks.01.2/03/2018).

Disamping itu, ucapan terima kasih juga dihaturkan kepada Kepolisian Resort Kabupaten Bireuen yang telah memfasilitasi tersedianya bahan baku untuk keperluan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agokei OE & Adebisi AA. 2010. Tobacco as an anesthetic for fish handling procedures. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4: 1396-1399.
- Ashley PJ, Sneddon LU, McCrohan CR. 2007. Nociception in fish: stimulus-response properties of receptors on the head of trout *Oncorhynchus mykiss*. *Brain Research*. 1166: 47-54.
- Ayenigbara GO. 2012. Medical Utility of Cannabis Sativa. *IOSR Journal of Pharmacy*, 2(3): 460-463.
- Barbas LAL, Hamoy M, Mello VJ, Barbosa RPM, Lima HST, Torres MF, Nascimento LAS, Silva JKR, Andrade EHA, Gomes MRF. 2017. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: A new anaesthetic for use in fish. *Aquaculture*, 479: 60-68.
- Benli ACK, Koksal G, Ozkul A. 2008. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology. *Chemosphere*, 72(9): 1355-1358.
- Cunha MA, Silva BF, Delunardo FAC, Benovit SC, Gomes LC, Heinzmann BM, Baldisserotto B. 2011. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. *Neotropical Ichthyology*, 9(3): 683-688.
- D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Braley G, Krystal JH. 2004. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 29(8): 1558-1572.

- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* (Edisi I). Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta:
- Gomes LC, Chippari-Gomes AR, Lopes NP, Roubach R, Araujo-Lima CARM. 2001. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(4): 426-431.
- Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J, Wink D. 1998. Cannabidiol and $(-)\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(14): 8268-8273.
- Hirst RA, Lambert DG, Notcutt WG. 1998. Pharmacology and potential therapeutic uses of cannabis. *British Journal Of Anasthesia*, 81(1):77-84.
- Husen A & Sharma AH. 2004. Efficacy of anesthetics for reducing stress in fish during aquaculture practices - a review. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 10(1): 104-123.
- Inoue LAKA, Neto CS, Moraes G. 2003. Clove oil as anesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1969). *Ciência Rural*, 33(5): 943-947.
- Kumar RN, Chambers WA, Pertwee RG. 2001. Pharmacological actions and therapeutic uses of cannabis and cannabinoids. *Anaesthesia*, 56(11): 1059-1068.
- Kusrini E, Cindelaras S, Prasetyo AB. 2015. Pengembangan Budidaya Ikan Hias Koi (*Cyprinus Carpio*) Lokal Di Balai Penelitian Dan Pengembangan Budidaya Ikan Hias Depok. *Media Akuakultur*, 10(2): 71-78.
- Napimoga MH, Benatti BB, Lima FO, Alves PM, Campos AC, Pena-dos-Santos DR, Guimarães FS. 2009. Cannabidiol decreases bone resorption by inhibiting RANK/RANKL expression and pro-inflammatory cytokines during experimental periodontitis in rats. *International immunopharmacology*, 9(2): 216-222.
- Pertwee RG, Thomas A. 2007. Therapeutic applications for agents that act at CB1 and CB2 receptors. In: Reggio PH (ed). *The Cannabinoid Receptors*. The Humana Press: Totowa, NJ: 361 – 392.
- Popovic NT, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, Barisic J, Jadan M, Beracovic AP, Klobucar RS. 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. *Journal of Applied Ichthyology*, 28(4): 553–564.
- Ribas L, Flos R, Reig L, MacKenzie S, Barton BA, Tort L. 2007. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. *Aquaculture*, 269: 250–258.
- Roques JAC, Abbink W, Geurds F. 2010. Tailfin clipping, a painful procedure: studies on Nile tilapia and common carp. *Physiology & Behavior*, 101: 533–540.
- Ross LG & Ross B. 2008. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*, 3rd ed. Blackwell Science Ltd. Oxford. 240 pp.
- Roubach R, Gomes LC, Fonseca FAL, Val AL. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 36(11): 1056– 1061.
- Sandodden R, Finstad B. and Iversen M. 2001. Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): anaesthesia

- and recovery. *Aquaculture Research*. 32(2):87-90.
- Sladky KK, Swanson CR, Stoskopf MK, Loomis MR, Lewbart GA. 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *American Journal of Veterinary Research*, 62: 337-342.
- Sneddon LU. 2012. Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21: 32–43.
- Tytler R. and Hawkins AD. 1981. Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: A.D. Hawkins, (Ed.), *Aquarium Systems*. Academic Press, London: 247-278
- Weber ES. 2011. Fish analgesia: pain, stress, fear aversion, or nociception?. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 14(1): 21-32.
- Williams T, Readman G, Owen S. 2009. Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. *Laboratory Animals*, 43(2): 107–120.
- Zulfahmi I. 2018. Dampak Ekstrak Daun Ganja (*Cannabis sativa* Linn) Sebagai Agen Anestesi Terhadap Histopatologi Insang Ikan Koi (*Cyprinus carpio* Koi). *Prosiding Seminar Nasional Multidisiplin Ilmu Universitas Asahan*: 317–323.

Tabel 1. Profil Hematologi Ikan Koi Setelah Waktu Sadar Pada Setiap Perlakuan

Parameters	Kontrol	Perlakuan A	Perlakuan B	Perlakuan C	Perlakuan D
RBC ($\times 10^6$ cells/mL)	$1,32 \pm 0,10^a$	$1,56 \pm 0,02^b$	$1,48 \pm 0,07^a$	$1,36 \pm 0,02^a$	$1,16 \pm 0,14^a$
WBC ($\times 10^3$ cells/mL)	$186,50 \pm 7,07^a$	$194,55 \pm 1,20^a$	$197,70 \pm 10,18^a$	$175,60 \pm 2,68^a$	$153,55 \pm 20,86^b$
Hb (g/dL)	$8,45 \pm 0,35^a$	$9,40 \pm 0,84^a$	$9,60 \pm 1,27^a$	$7,70 \pm 0,28^a$	$7,05 \pm 0,91^b$
Hct (%)	$29,60 \pm 0,10^a$	$34,10 \pm 2,40^a$	$22,15 \pm 9,26^a$	$19,50 \pm 1,41^a$	$24,65 \pm 3,46^a$
MCV (fL)	$223,85 \pm 1,20^a$	$218,95 \pm 19,58^a$	$187,25 \pm 1,06^a$	$161,7 \pm 37,47^a$	$212,50 \pm 2,12^a$
MCH (pg)	$68,85 \pm 2,47^a$	$60,15 \pm 4,31^a$	$62,85 \pm 8,13^a$	$57,70 \pm 0,70^a$	$60,45 \pm 0,21^a$
MCHC (g/dL)	$29,50 \pm 0,99^a$	$27,65 \pm 4,45^a$	$33,60 \pm 4,10^a$	$34,10 \pm 1,98^a$	$28,60 \pm 0,28^a$

* Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).