

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI DAN
GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPARKAN BAKTERI
Aeromonas sp.**



I PUTU SWASTU

C031201066



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI DAN
GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPARKAN BAKTERI
Aeromonas sp.**

**I PUTU SWASTU
C031 20 1066**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**THE EFFECT OF SYNBIOTIC FEEDING ON THE LIVER AND KIDNEY
HISTOPATHOLOGICAL OF TILAPIA FISH (*Oreochromis niloticus*)
EXPOSED TO THE BACTERIA *Aeromonas* sp.**

**I PUTU SWASTU
C031 20 1066**



**VETERINARY MEDICINE STUDY PROGRAM
FACULTY OF MEDICINE
HASANUDDIN UNIVERSTY
MAKASSAR INDONESIA
2024**

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI DAN
GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPARKAN BAKTERI
Aeromonas sp.**

**I PUTU SWASTU
C031 20 1066**



SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kedokteran Hewan

Pada

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

SKRIPSI

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP HISTOPATOLOGI HATI DAN
GINJAL IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPARKAN BAKTERI
Aeromonas sp.**

I PUTU SWASTU
C031 20 1066

Skripsi,

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana pada Juli 2024 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
Pada

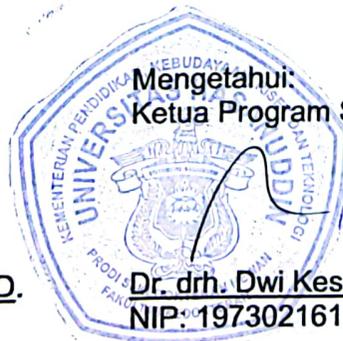
**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

Mengesahkan:
Pembimbing tugas akhir,



Drh. Muh. Fadhlullah Mursalim, M.Kes., Ph.D.
NIP: 19880202 2014041001

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, Ap.vet
NIP: 197302161999032001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 02 Agustus 2024

Yang menyatakan



I Putu Swastu

C031 20 1066

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkah dan karuniannya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pakan Sinbiotik Terhadap Histopatologi Hati Dan Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Dipaparkan Bakteri *Aeromonas* sp.” sebagai salah satu syarat kelulusan pada program pendidikan strata satu Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

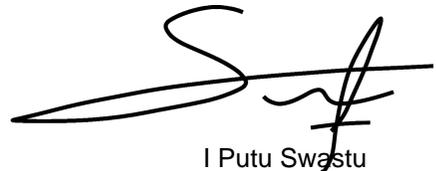
Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari doa, kasih sayang dan dukungan dari kedua orang tua yang sangat disayangi oleh penulis, ayahanda I Putu Swastika dan ibunda Ni Gusti Putu Kembariani. Terima kasih atas segala nasihat dan doa baik yang tidak pernah putus, serta senantiasa memenuhi kebutuhan, menemani dan memberi semangat dan inspirasi terhadap setiap langkah penulis. Saudari penulis, Devi Savitri dan Meisya Parwati, terima kasih dukungan dan doa, serta kebersamaan sejak kecil dengan beragam hal yang memotivasi penulis. Kepada segenap keluarga penulis atas dukungan, semangat dan doa yang tiada hentinya, serta berbagai pihak yang telah membantu selama proses penulisan dan penelitian, penulis menyampaikan terima kasih yang begitu besar kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin.
2. **Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes. Sp.PD-KGH., FINASIM., Sp.GK** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
3. **Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, AP.Vet** selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.
4. **Drh. Muhammad Fadhullah Mursalim, M.Kes Ph.D** selaku dosen pembimbing utama serta **Drh. Nurul Sulfi Andini, M.Sc** sebagai dosen pembimbing anggota yang telah memberikan ilmu, waktu, bimbingan dan arahan serta saran-saran yang sangat membantu mulai dari peyusunan proposal hingga penyusunan skripsi selesai.
5. **Andi Ninnong Renita Relatami, S.Pi, M.Si** dan **Drh Rasdiyanah M.Si** selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya memberikan saran yang bermanfaat untuk perbaikan skripsi penulis.
6. **Bapak/Ibu dosen pengajar program studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin** yang telah banyak memberikan ilmu dan pengalaman kepada penulis selama menempuh pendidikan di Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.
7. **Staf tata usaha Fakultas Ibu Tuti dan staf tata usaha Program Studi Kedokteran Hewan Pak Heri, Ibu Ida, dan Kak Martha** yang selalu membantu penulis melengkapai berkas administrasi selama menjalani pendidikan.
8. Kepada teman-teman seperjuangan **CIONE (*Deucalion Vet de Vinte*)** yang telah membantu dalam memberikan saran, berbagi ilmu dan memberi kenangan selama menempuh pendidikan S1.

9. Kepada teman-teman **Rusun A 115, Akbar, Opan, Arya, Mizar, Tedy dan Farid** yang telah berjasa menemani penulis baik suka maupun duka selama menempuh perkuliahan di Kedokteran Hewan.
10. Kepada **Drh. Muh. Ardiansyah Nurdin, M.Si** sebagai dosen koordinator mata kuliah dan teman-teman **Asisten Laboratorium Fisiologi Veteriner Dan Satwa Akuatik** yang telah memberikan pengalaman berharga pada penulis.
11. Kepada teman-teman penelitian penulis, **Sipa, Caca, Lhiya, Ayu dan Mizard**, terima kasih atas kerjasama, waktu, tenaga serta keinginan teman-teman untuk tetap bertahan selama penelitian ini berlangsung hingga selesai.
12. Kepada **kak maul** yang telah bersedia membantu penulis dalam melewati kendala-kendala selama penelitian berlangsung.
13. Kepada **kak risiko dan kak didik** yang telah membimbing dan memberikan saran kepada penulis selama melaksanakan penelitian di laboratorium histopatologi rumah sakit hewan pendidikan universitas hasanuddin.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu-persatu yang telah memberikan bantuan dan motivasi baik secara langsung maupun tidak langsung
15. Diri saya sendiri, yang telah mampu menyelesaikan penulisan skripsi ini

Penulis telah berusaha semaksimal mungkin untuk memberi yang terbaik dalam menyelesaikan skripsi ini. Namun, penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan kerendahan hati dan keterbukaan penulis menerima segala saran dan kritik demi lebih baiknya skripsi ini. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat digunakan dan dimanfaatkan sebagaimana mestinya.

Makassar, 02 Agustus 2024



I Putu Swastu

ABSTRAK

I PUTU SWASTU. **Pengaruh Pakan Sinbiotik Terhadap Histopatologi Hati Dan Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Dipaparkan Bakteri *Aeromonas* sp.** (dibimbing oleh Muh. Fadhlullah Mursalim dan Nurul Sulfi Andini).

Latar Belakang. Salah satu penyakit yang sering menginfeksi pada ikan adalah MAS (Motile *Aeromonas* Septicaemia) yang akan memberikan dampak pada beberapa organ sistem metabolisme seperti hati dan ginjal. Penanganan penyakit ini telah banyak dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis antibiotik, namun penggunaan antibiotik dalam jangka panjang akan berdampak pada resistensi bakteri sehingga dibutuhkan alternatif lain yang lebih aman, salah satu bahan alami yang dapat digunakan dalam menangani penyakit pada ikan adalah dengan penggunaan sinbiotik. **Tujuan.** penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik terhadap histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila (*oreochromis niloticus*) yang dipaparkan dengan bakteri *Aeromonas* sp. **Metode.** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan total sampel 24 ekor ikan nila yang dikelompokkan menjadi 4 perlakuan yang akan dilakukan pemeliharaan selama 60 hari dan dilanjutkan dengan pemberian perlakuan ujiantang selama 14 hari, pengambilan sampel organ hati dan ginjal dilakukan sebanyak 2 kali yaitu pada hari ke-7 setelah ujiantang dan hari ke 14 setelah ujiantang, sampel kemudian diolah menjadi sediaan preparat histologi untuk diamati perubahannya. **Hasil.** Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik memberikan perubahan histopatologi pada kerusakan yang terjadi di organ hati dan ginjal ikan nila. **Kesimpulan.** Pemberian pakan sinbiotik berpengaruh terhadap gambaran kerusakan yang terjadi pada histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila yang terinfeksi bakteri *Aeromonas* sp.

Kata kunci : *Aeromonas* sp., histopatologi, ikan nila, sinbiotik

ABSTRACT

I PUTU SWASTU. **The Effect Of Synbiotic Feeding On The Liver And Kidney Histopathological Of Tilapia Fish (*Oreochromis niloticus*) Exposed To The Bacteria *Aeromonas Sp.*** (supervised by Muh. Fadhlullah Mursalim and Nurul Sulfi Andini).

Background. One disease that often infects fish is MAS (Motile *Aeromonas* Septicaemia) which will have an impact on several organs of the metabolic system such as the liver and kidneys. Handling of this disease has been done by using various types of antibiotics, but the use of antibiotics in the long term will have an impact on bacterial resistance so that other safer alternatives are needed, one of the natural ingredients that can be used in handling diseases in fish is the use of synbiotics. **Aim.** This study aims to determine the effect of feeding with the addition of synbiotics on histopathology of liver and kidney organs of tilapia (*oreochromis niloticus*) exposed to the bacteria *Aeromonas* sp. **Method.** This study uses an experimental method with a total sample of 24 tilapia fish grouped into 4 treatments that will be maintained for 60 days and continued with the provision of challenge test treatment for 14 days, sampling of liver and kidney organs is done twice, namely on day 7 after the challenge test and day 14 after the challenge test, the samples are then processed into histology preparations to observe changes. **Results.** The results showed that feeding synbiotics provided changes in histopathological observations of tilapia liver and kidney organs. **Conclusion.** Feeding synbiotics affects the description of damage that occurs in the histopathology of liver and kidney organs of tilapia infected with *Aeromonas* sp. bacteria.

Kata kunci : *Aeromonas* sp, histopatology, tilapia, synbiotic

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	1
DAFTAR GAMBAR	4
DAFTAR LAMPIRANBAB I.....	5
PENDAHULUAN	6
1.1 Latar Belakang	6
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum	7
1.3.2 Tujuan Khusus	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu	7
1.4.2 Manfaat Aplikasi	7
1.5 Hipotesis	8
1.6 Keaslian Penelitian	8
1.7 Kajian Pustaka.....	8
1.7.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	8
1.7.2 Pakan Sinbiotik	9
1.7.3 <i>Aeromonas</i> sp.	10
1.7.4 Ginjal Ikan	11
1.7.5 Hati ikan	12
1.7.6 Pengaruh <i>Aeromonas</i> sp. terhadap Ginjal dan Hati Ikan	12
BAB II METODOLOGI PENELITIAN	14
2.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
2.2 Materi Penelitian.....	14

2.3	Jenis Penelitian Dan Sampel	14
2.4	Metode Penelitian.....	15
2.4.1	Persiapan wadah dan ikan uji.....	15
2.4.2	Persiapan pakan sinbiotik.....	15
2.4.3	Persiapan kultur bakteri	15
2.4.4	Ujiantang.....	16
2.4.5	Pembuatan preparat histologi	16
2.4.6	Parameter pengamatan	16
2.5	Analisis data	17
2.6	Alur Penelitian	17
BAB III	HASIL DAN PEMBAHASAN	18
3.1	Hati.....	18
3.1.1	Hari Ke-7 Setelah Uji Tantang	18
3.1.2	Hari Ke-14 Setelah Uji Tantang	26
3.2	Ginjal	36
3.2.1	Hari Ke-7 Setelah Uji Tantang	36
3.2.2	Hari Ke-14 Setelah Uji Tantang	44
BAB IV	KESIMPULAN DAN SARAN	56
4.1	Kesimpulan	56
4.2	Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	64
RIWAYAT HIDUP PENULIS	72

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kelompok perlakuan.....	15
Tabel 2. Rerata skoring kerusakan degenerasi lemak pada organ hati hari ke 7.....	19
Tabel 3. Hasil uji BNT kerusakan degenerasi lemak pada organ hati hari ke 7.....	20
Tabel 4. Rerata skoring kerusakan hemoragi pada organ hati hari ke 7.....	21
Tabel 5. Hasil uji BNT kerusakan hemoragi pada organ hati hari ke 7.....	21
Tabel 6. Rerata skoring kerusakan kongesti pada organ hati hari ke 7.....	23
Tabel 7. Hasil uji BNT kerusakan kongesti pada organ hati hari ke 7.....	23
Tabel 8. Rerata skoring kerusakan nekrosis pada organ hati hari ke 7.....	24
Tabel 9. Hasil uji BNT kerusakan nekrosis pada organ hati hari ke 7.....	25
Tabel 10. Rerata skoring kerusakan degenerasi lemak pada organ hati hari ke 14....	28
Tabel 11. Hasil uji BNT kerusakan degenerasi lemak pada organ hati hari ke 14.....	28
Tabel 12. Rerata skoring kerusakan hemoragi pada organ hati hari ke 14.....	30
Tabel 13. Hasil uji BNT kerusakan hemoragi pada organ hati hari ke 14.....	30
Tabel 14. Rerata skoring kerusakan kongesti pada organ hati hari ke 14.....	32
Tabel 15. Hasil uji BNT kerusakan kongesti pada organ hati hari ke 14.....	32
Tabel 16. Rerata skoring kerusakan nekrosis pada organ hati hari ke 14.....	34
Tabel 17. Hasil uji BNT kerusakan nekrosis pada organ hati hari ke 14.....	34
Tabel 18. Rerata skoring kerusakan hemoragi pada organ ginjal hari ke 7.....	37
Tabel 19. Hasil uji BNT kerusakan hemoragi pada organ ginjal hari ke 7.....	37
Tabel 20. Rerata skoring kerusakan infiltrasi sel radang pada organ ginjal hari ke 7...39	
Tabel 21. Hasil uji BNT kerusakan infiltrasi sel radang pada organ ginjal hari ke 7.....39	
Tabel 22. Rerata skoring kerusakan nekrosis pada organ ginjal hari ke 7.....	41
Tabel 23. Hasil uji BNT kerusakan nekrosis pada organ ginjal hari ke 7.....	41
Tabel 24. Rerata skoring kerusakan atrofi pada organ ginjal hari ke 7.....	42
Tabel 25. Hasil uji BNT kerusakan atrofi pada organ ginjal hari ke 7.....	43
Tabel 26. Rerata skoring kerusakan hemoragi pada organ ginjal hari ke 14.....	45
Tabel 27. Hasil uji BNT kerusakan hemoragi pada organ ginjal hari ke 14.....	46
Tabel 28. Rerata skoring kerusakan infiltrasi sel radang pada organ ginjal hari ke 14..47	
Tabel 29. Hasil uji BNT kerusakan infiltrasi sel radang pada organ ginjal hari ke 14....48	
Tabel 30. Rerata skoring kerusakan nekrosis pada organ ginjal hari ke 14.....	49
Tabel 31. Hasil uji BNT kerusakan nekrosis pada organ ginjal hari ke 14.....	50
Tabel 32. Rerata skoring kerusakan atrofi pada organ ginjal hari ke 14.....	51
Tabel 33. Hasil uji BNT kerusakan atrofi pada organ ginjal hari ke 14.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	9
Gambar 2. Histopatologi organ ginjal ikan	11
Gambar 3. Histopatologi organ hati ikan	12
Gambar 4. Histopatologi organ hati pengambilan sampel pertama	18
Gambar 5. Diagram rerata skoring kerusakan degenerasi lemak organ hati hari ke-7	20
Gambar 6. Diagram rerata skoring kerusakan hemoragi organ hati hari ke-7	22
Gambar 7. Diagram rerata skoring kerusakan kongesti organ hati hari ke-7	23
Gambar 8. Diagram rerata skoring kerusakan nekrosis organ hati hari ke-7	25
Gambar 9. Histopatologi organ hati pengambilan sampel kedua	26
Gambar 10. Diagram rerata skoring kerusakan degenerasi lemak organ hati hari ke-14	29
Gambar 11. Diagram rerata skoring kerusakan hemoragi organ hati hari ke-14	31
Gambar 12. Diagram rerata skoring kerusakan kongesti organ hati hari ke-14	33
Gambar 13. Diagram rerata skoring kerusakan nekrosis organ hati hari ke-14	35
Gambar 14. Histopatologi organ ginjal pengambilan sampel pertama	36
Gambar 15. Diagram rerata skoring kerusakan hemoragi organ ginjal hari ke-7	38
Gambar 16. Diagram rerata skoring kerusakan infiltrasi sel radang organ ginjal hari ke-7	40
Gambar 17. Diagram rerata skoring kerusakan nekrosis organ ginjal hari ke-7	41
Gambar 18. Diagram rerata skoring kerusakan atrofi organ ginjal hari ke 7	43
Gambar 20. Histopatologi organ ginjal pengambilan sampel kedua.....	44
Gambar 21. Diagram rerata skoring kerusakan hemoragi organ ginjal hari ke 14	44
Gambar 22. Diagram rerata skoring kerusakan infiltrasi sel radang organ ginjal hari ke 14	48
Gambar 23. Diagram rerata skoring kerusakan nekrosis organ ginjal hari ke 14	50
Gambar 24. Diagram rerata skoring kerusakan atrofi organ ginjal hari ke 14	52
Gambar 25. Gejala klinis yang terjadi pasca ikan diuji tantang dengan bakteri <i>Aeromonas</i> sp.	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pemeliharaan ikan	64
Lampiran 2. Proses pembuatan pakan Sinbiotik	64
Lampiran 3. Uji Tantang	65
Lampiran 4. Pengambilan Sampel	65
Lampiran 5. Pembuatan preparat histologi.....	66
Lampiran 6. Proksimat Pakan.....	67
Lampiran 7. Kualitas Air	67
Lampiran 8. Skoring Kerusakan Organ Hati Ikan Nila	68
Lampiran 9. Skoring Kerusakan Organ Ginjal Ikan Nila	70

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia menjadi negara kepulauan terbesar di dunia dengan begitu banyak sumber daya alam yang dapat dikembangkan. Salah satu di antaranya adalah potensi sumber daya perairan yang sedemikian luasnya tersebar di sebagian besar pulau. Potensial terbesar berada di bidang produk perikanan yang mencakup pembudidayaan ikan air laut, ikan air payau maupun ikan air tawar. Budidaya ikan air tawar memiliki angka terbesar kemudian diikuti oleh budidaya ikan air payau dan ikan air laut (Rihi, 2019). Salah satu komoditas yang memegang peran penting dalam budidaya ikan air tawar di Indonesia adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Ikan nila memiliki prospek untuk dikembangkan karena merupakan jenis ikan yang memiliki laju pertumbuhan yang cepat dan dapat mencapai bobot tubuh yang jauh lebih besar dengan tingkat produktivitas yang cukup tinggi dibanding dengan produktivitas yang dimiliki ikan air tawar lainnya (Setiawan dan sri, 2020). Ikan nila sering dijadikan sumber protein yang murah dan mudah didapat, serta memiliki harga jual yang terjangkau oleh masyarakat (Novianti, 2022).

Peningkatan permintaan atas kebutuhan ikan nila yang tiap tahunnya semakin meningkat berdampak pada jumlah pembudidayaan yang juga ikut meningkat. Intensifikasi budidaya ikan nila berdampak pada meningkatnya kasus serangan penyakit yang dapat menyebabkan kerugian, salah satu penyakit yang sering menginfeksi ikan nila yaitu MAS (*Motile Aeromonas Septicaemia*) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. (Kurniawan et al. 2019). Kasus kematian akibat infeksi bakteri *Aeromonas* sp. ini menjadi penghambat keberhasilan produksi pembudidayaan ikan nila, penyakit MAS ini dapat terjadi karena rendahnya ketahanan tubuh ikan, lingkungan pemeliharaan yang buruk, serta manajemen pemberian pakan yang kurang baik. Tanda klinis dari ikan nila yang terinfeksi *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) ditandai dengan adanya *septicemia*, *ascites*, *ulcer*, cacat tulang, *exophthalmia*, dan nekrosis otot. Pada kondisi postmortem ditemukan adanya luka *focal* pada *parenchymatus* organ hati, limpa, dan ginjal, serta terdapat cairan yang mengisi rongga abdominal (Sugiani et al. 2011).

Organ yang dapat dijadikan indikator pengamatan saat terjadi infeksi bakteri di antaranya adalah hati dan ginjal. Hati merupakan organ yang berperan penting dalam proses metabolisme tubuh, sebagai alat sekresi dalam proses detoksifikasi dan berfungsi memfagosit benda asing yang masuk ke dalam organ hati (Pramytha et al. 2014). Bakteri yang masuk ke dalam darah ikan akan menginfeksi organ-organ penting yang terdapat pada ikan seperti hati. Karena itulah organ hati sangat rentan terhadap toksin yang dihasilkan oleh bakteri (Sukenda et al. 2008). Ginjal merupakan organ limfomieloid yang berperan dalam bentuk sel darah. Selain itu ginjal juga berfungsi sebagai organ penyaring yang menjadikan organ ini tempat terakumulasinya bakteri apabila ikan telah terinfeksi (Saragih et al. 2015).

Aeromonas sp. merupakan bakteri normal yang berada di perairan air tawar, tetapi perubahan kondisi lingkungan seperti perubahan temperatur menyebabkan bakteri menjadi patogen. Penanganan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp.

dilakukan dengan berbagai jenis antibiotik tertentu. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu lama, akan berdampak negatif yaitu bakteri akan menjadi resisten. Alternatif lain untuk pengobatan penyakit ini adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami (Sari et al. 2017).

Penggunaan sinbiotik merupakan salah satu alternatif dalam menangani infeksi penyakit akibat bakteri. Sinbiotik merupakan kombinasi seimbang dari probiotik dan prebiotik dalam rangka mendukung kelangsungan dan pertumbuhan bakteri yang menguntungkan dalam peningkatan imunitas tubuh ikan (Widanarni et al. 2014). Pengaplikasian probiotik dapat pula berfungsi sebagai agen biokontrol untuk mengurangi serangan penyakit (Kurniawan et al. 2019). Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan mengkaji histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila yang diuji tantang bakteri *Aeromonas* sp. dan diberikan pakan dengan penambahan sinbiotik.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik terhadap histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipaparkan dengan bakteri *Aeromonas* sp.?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik terhadap histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipaparkan dengan bakteri *Aeromonas* sp.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi gambaran jaringan pada organ hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas* sp. melalui pengamatan secara mikro terhadap perubahan abnormal jaringan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian kali ini adalah sebagai tambahan informasi untuk penelitian-penelitian selanjutnya mengenai “pengaruh pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik terhadap histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipaparkan dengan bakteri *Aeromonas* sp.”

1.4.2 Manfaat Aplikasi

Manfaat aplikasi pada penelitian kali ini agar dapat melatih kemampuan peneliti dan menjadi referensi atau dasar ilmu bagi penelitian selanjutnya. Serta, dapat menjadi informasi bagi masyarakat khususnya bagi para pembudidaya ikan nila tentang pengaruh pemberian pakan dengan tambahan sinbiotik terhadap histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipaparkan dengan bakteri *Aeromonas* sp.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan uraian teori di atas dan teori yang akan dipaparkan pada halaman berikutnya, dapat ditarik hipotesis bahwa pemberian pakan sinbiotik dapat mencegah dan menangani terjadinya perubahan histopatologi dari organ hati dan ginjal ikan nila yang terpapar bakteri *Aeromonas* sp.

1.6 Keaslian Penelitian

Penelitian pengaruh pakan sinbiotik terhadap histopatologi hati dan ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipaparkan bakteri *Aeromonas* sp. belum pernah dilakukan. Namun, penelitian serupa pernah dilakukan oleh Rahmi et al. (2022), mengenai performa kesehatan ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) terhadap pakan sinbiotik *Bacillus subtilis* yang diuji tantang dengan *Aeromonas* sp.

1.7 Kajian Pustaka

1.7.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila memiliki ciri morfologis yaitu berjari-jari keras, sirip perut torasik, letak mulut subterminal dan berbentuk meruncing (Gambar 1). Selain itu warna tubuhnya hitam dan putih, bagian tutup insang berwarna putih, sedangkan pada nila lokal putih agak kehitaman bahkan kuning. Ikan nila memiliki bentuk badan agak pipih ke samping dan tampak kekar. Bentuk kepalanya relatif lancip dan bentuk punggungnya agak membusur (Farida et al. 2022). Menurut Linnaeus (1758), taksonomi Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai berikut:

Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Pisces</i>
Sub Kelas	: <i>Teleostei</i>
Ordo	: <i>Percomorphi</i>
Famili	: <i>Cichlidae</i>
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Ikan nila mempunyai garis *linea lateralis* (gurat sisi di tengah tubuh) yang terputus antara bagian atas dan bawah. *Linea lateralis* bagian atas memanjang mulai dari tutup insang hingga belakang sirip punggung sampai pangkal sirip ekor. *Linea lateralis* terputus dan dilanjutkan dengan garis yang terletak lebih bawah. Matanya berukuran sedang dan tampak sedikit menonjol dengan hiasan berwarna putih kekuningan di sekeliling pupilnya. Warna tubuh di bagian punggung lebih merah dibanding bagian tengah dan bawah yang cenderung berwarna merah muda hingga kuning keputih-putihan (Farida et al. 2022).



Gambar 1. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) memiliki ciri bentuk badan pipih dengan bentuk kepala yang relatif agak lancip serta bagian dorsal yang membusur (Yustiati et al. 2018)

Jika dibedakan berdasarkan jenis kelaminnya, ikan nila jantan memiliki ukuran sisik yang lebih besar dibandingkan dengan ikan nila betina. Alat kelamin nila jantan terletak depan anus bentuknya berupa tonjolan agak runcing berfungsi sebagai saluran urine dan saluran sperma. Jika perut ikan nila diurut, akan mengeluarkan cairan bening. Sementara itu, alat kelamin nila betina juga terletak di depan anus, tetapi memiliki lubang genital yang terpisah dengan lubang saluran urin. Bentuk dan rahang belakang ikan nila jantan melebar dan berwarna biru muda. Sementara bentuk hidung dan rahang belakang nila betina agak lancip dan berwarna kuning terang. Sirip punggung dan sirip ekor ikan nila jantan berupa garis putus-putus, sedangkan pada nila betina tidak terputus dan melingkar (Mutia dan Razak, 2018).

1.7.2 Pakan Sinbiotik

Pakan sinbiotik adalah pakan yang telah diberikan tambahan kombinasi seimbang dari probiotik dan prebiotik yang dimaksudkan untuk mendorong sintasan dan pertumbuhan bakteri baik dalam saluran pencernaan makhluk hidup. Sinbiotik mengacu pada suplemen gizi yang menggabungkan probiotik dan prebiotik dalam bentuk sinergisme (Widanarni et al. 2016). Pemberian pakan sinbiotik memberikan manfaat berupa meningkatkan pemanfaatan nutrisi, tingkat kesehatan, respon stress dan ketahanan terhadap penyakit serta mengoptimalkan keseimbangan mikroba pada lingkungan hewan budidaya. Manfaat lainnya adalah memberikan kemampuan untuk menghasilkan enzim ekstra selular yang akan meningkatkan pemanfaatan pakan (Nuez-Ortin, 2013). Probiotik merupakan organisme hidup berupa mikroba yang bermanfaat pada kesehatan apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dan memperbaiki keseimbangan mikroflora *intestinal* pada saat masuk dalam saluran pencernaan. Bakteri yang biasanya dominan pada hewan sehat mungkin merupakan sumber probiotik, tetapi terdapat banyak patogen potensial di antaranya adalah *Vibrionaceae* dan *Pseudomonas*. Beberapa bakteri kandidat probiotik yang ditemukan pada usus hewan akuatik adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* dan *Bacillus licheniformis* (Wardika et al. 2014).

Bacillus sp. adalah bakteri Gram positif berbentuk batang yang dapat menghasilkan spora dan tumbuh pada kondisi sumber karbon dan nitrogen yang rendah dan menjadi jenis yang tidak berbahaya bagi manusia dan hewan serta menjadi salah satu penghasil metabolit sekunder yang mengandung antibiotik, bahan kimia dan enzim yang bermanfaat sehingga menjadi salah satu kandidat probiotik. Spora *Bacillus* sp. sangat

mudah dimasukkan dalam makanan kering, dan ini merupakan keuntungan tambahan dari kandidat probiotik ini (Abdollahi-Arpanahai et al. 2018). *Bacillus* sp. sebagai kandidat probiotik dapat memberikan manfaat di antaranya menstimulasi pertumbuhan, aktivitas imunomodulasi, dapat meningkatkan bakteri baik dan menekan pertumbuhan bakteri merugikan di dalam saluran pencernaan, meningkatkan penyerapan nutrisi, peningkatan massa tubuh dan tingkat konversi pakan. Selain itu, penggunaan probiotik sebagai aditif meningkatkan imunitas non spesifik yang akan meningkatkan resistensi alami terhadap mikroorganisme (Kvan et al. 2017).

Prebiotik merupakan karbohidrat yang diklasifikasikan menurut ukuran molekul atau derajat polimerisasi dan terdiri dari monosakarida, oligosakarida, dan polisakarida yang mampu memberikan asupan makanan bagi pertumbuhan bakteri (Azhar, 2013). Penambahan prebiotik ke dalam pakan ikan nila untuk meningkatkan populasi bakteri yang bermanfaat di saluran pencernaan ikan nila, hal ini meningkatkan kemampuan probiotik untuk menghasilkan enzim *exogenous* yang membantu pencernaan. (Putra et al. 2015). Prebiotik dapat berupa polisakarida yang tidak dapat dicerna yang terdapat dalam makanan (serat pangan), di antaranya adalah pati resisten dan pektin, atau berupa oligosakarida seperti fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS) dan inulin. Senyawa tersebut dapat berasal dari sayuran dan buah-buahan. Pisang adalah salah satu buah yang banyak dikultivasi di Indonesia yang diketahui mengandung pati resisten, FOS dan pektin yang tinggi (Jovanovic-Malinovska et al. 2014).

1.7.3 *Aeromonas* sp.

Bakteri *Aeromonas* sp. memiliki karakteristik berbentuk batang pendek, bersifat aerob dan fakultatif anaerob, tidak memiliki spora, bersifat motil, *flagellum* dan hidup pada kisaran suhu 27°C. *Aeromonas* sp. merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, terdiri atas 1-2 lapis sehingga pori-pori pada dinding sel Gram negatif cukup besar. Permeabilitasnya yang tinggi memungkinkan terjadi pelepasan kompleks ungu kristal-yodium (UK-Y), sehingga bakteri berwarna merah (Aoki, 2016).

Aeromonas sp. termasuk golongan bakteri Gram negatif. Beberapa bakteri golongan Gram negatif bersifat tidak mengeluarkan racun, namun pada saat kematian sel atau sel pecah akan melepaskan endotoksin. Endotoksin yang dilepaskan berasal dari lipopolisakarida dinding sel bakteri. Selain itu, bakteri menghasilkan enzim ekstraseluler yang bisa menginfeksi ikan sehat lainnya (Afrianto et al. 2015). Selain pada manusia, bakteri ini dapat menginfeksi hewan berdarah panas dan berdarah dingin dengan tingkat virulensi yang tinggi (Woo and Cipriano, 2017). Bakteri ini berkembang dalam usus atau ditempat terjadinya infeksi dan kemudian menyebar keseluruh tubuh melalui aliran darah, masa inkubasi antara infeksi pertama dan munculnya gejala penyakit tergantung pada temperatur lingkungan (Tantu et al. 2013).

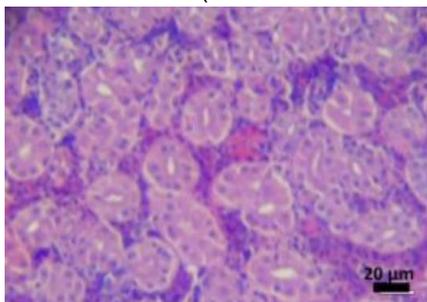
Tanda klinis yang dapat ditimbulkan dari infeksi *Aeromonas* sp. yaitu bagian permukaan tubuh berwarna pucat, terdapat luka atau borok, bagian tubuh terutama pangkal sirip dan perut berwarna kemerahan (terdapat pendarahan). kulit mudah terkelupas, bercak merah pada seluruh tubuh, insang berwarna kebiruan atau pucat, *exophthalmia* (bola mata menonjol keluar), sirip punggung, sirip dada, sirip perut, dan sirip ekor terlepas, terjadinya pendarahan pada anus, dan hilang nafsu makan. Tanda klinis tersebut di temukan juga menyerang berbagai jenis ikan air tawar selain ikan nila seperti

lele dumbo (*Clarias glariepinus*), ikan mas (*Cyprinus carpio*), gurami (*Osp.hronemus gouramy*) dan udang galah (*Macrobracium rusenbergil*) (Sari et al. 2017).

1.7.4 Ginjal Ikan

Ginjal terdiri dari sejumlah besar tubulus nefron yang berkembang dari depan ke belakang. Struktur ginjal memanjang, berpasangan, dan terletak di atas saluran pencernaan dan dekat dengan tulang punggung. Ginjal ikan teleostei umumnya dibagi menjadi dua bagian, yaitu *caput renalis anterior* yang tersusun atas jaringan hemapoeitik, limfoid dan endokrin serta *truncus renalis posterior* yang tersusun atas jaringan nefron-nefron dikelilingi *interstitial limfoid* (Gambar 3). Di bagian *posterior* dari lengkungan ini *truncus renalis* menipis menyesuaikan lekukan pada gas bladder. *Caput renalis* terpisah atas bagian kanan dan kiri, terletak di *anterior* dari lengkungan tersebut memasuki daerah tengkorak (Asmaini et al. 2020).

Ginjal yang pertama kali dibentuk adalah ginjal *pronefros* dan bagian ginjal *mesonefros* yang diikuti dengan berdegenerasinya *pronefros*. Pada daerah sebelah *posterior mesonefros* dibentuk ginjal *metanefros*. *Ductus pronefros* tumbuh ke belakang dan sel-sel dibelakangnya terinduksi untuk berkembang menjadi komponen-komponen ginjal *mesonefros*. Pada *tubulus mesonefros* terjadi invaginasi membentuk suatu bangun berbentuk cawan yang disebut kapsula bowman. *Aorta dorsal* membentuk pembuluh darah yang menggelembung dan disebut glomerulus yang berhubungan dengan kapsula bowman's. Pada bagian *ductus mesonefros* dekat kloaka, terbentuk struktur yang disebut divertikula atau tunas ureter. Tunas ureter tumbuh dan merangsang pembentukan tubulus-tubulus *metanefros* (Hukriede et al. 2003).



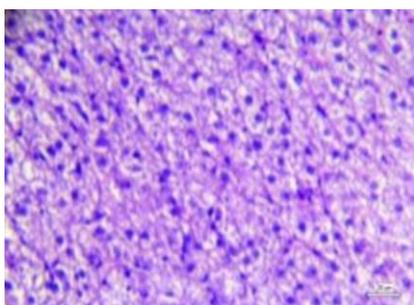
Gambar 2. Histopatologi organ ginjal ikan terdiri dari unsur-unsur utama seperti glomerulus, tubulus, dan pembuluh darah, serta kapsul Bowman berbentuk mangkuk yang mengelilingi glomerulus. (Safratilofa, 2017)

Ginjal mengsekresikan produk metabolisme seperti amonia yang berfungsi untuk menjaga homeostatis, bertanggung jawab dalam reabsorpsi selektif yang dapat membantu menjaga volume dan pH darah dan cairan tubuh (Apriliani, 2017). Ginjal ikan laut sebagian besar memiliki glomerulus dan sel ginjal yang kurang berkembang dengan baik, dan mungkin non-fungsional. Ginjal pada ikan air tawar berperan menjaga keseimbangan garam dan air. Keadaan ini diatur karena tingkat filtrasi glomerulus yang tinggi, adanya reasorpsi garam di *tubulus proksimal* dan pengenceran urin di *tubulus distal* (Mumford et al. 2007). Pemeriksaan mikroskopis dapat dilakukan melalui pengamatan histologi untuk melihat abnormalitas jaringan yang terjadi pada organ ginjal, histopatologi organ dapat membantu dalam mengamati perubahan yang terjadi, perubahan patologi yang terjadi pada ginjal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) akibat

infeksi *Aeromonas* sp. yaitu hemoragi, hiperemia dan nekrosis pada tubulus distal (Saraswati et al. 2022).

1.7.5 Hati ikan

Hati secara umum terdiri atas tiga *lobus*. Hati terletak di sisi rongga tubuh *dorsal*, berdekatan dengan tulang punggung, dengan beberapa meluas ke dasar sirip dada dekat ginjal *anterior*. Hati dikelilingi oleh kapsula jaringan ikat yang tipis, yaitu *kapsula glisson*, yang ditutupi oleh *serosa* hampir pada seluruh permukaannya. Di dalam *kapsula glisson* terdapat beberapa pembuluh darah kecil. Jaringan ikat membagi parenkim hati menjadi *lobus*, unit struktural yang disebut jaringan ikat portal atau jaringan ikat interlobular. Jaringan ikat mengelilingi portal triad, yaitu gabungan tiga saluran berisi cabang *arteri hepatica*, *vena porta*, dan *duktus biliaris* (Geneser, 1994). Ukuran, bentuk dan volume hati disesuaikan dengan ruang yang tersedia antara organ *visceral* lainnya (Bertolucci et al. 2008).



Gambar 3. Histopatologi organ hati ikan terdiri dari hepatosit, sinusoid dan inti sel hati berbentuk bulat. (Safratilofa, 2017)

Di dalam organ hati, nutrisi akan diserap oleh saluran pencernaan untuk diproses kemudian disimpan untuk digunakan oleh bagian tubuh yang lain. Hati berfungsi untuk metabolisme seperti sintesis protein dan empedu, penyimpanan metabolit dan detoksifikasi yang mempunyai peranan penting dalam mempertahankan hidup. Hati akan menerima darah melalui *vena portal* atau *arteri hepatic*. Sebagian dari darah (70-80%) berasal dari *vena portal* yang membawa darah mengandung nutrisi dan akan diserap di dalam usus. Arteri hati merupakan sebuah cabang dari sumbu *celiac* yang beroksigen di dalam hati (Akiyoshi dan Inoue, 2004). Pengamatan histopatologi pada hati melibatkan sejumlah parameter yang diukur untuk mengevaluasi struktur mikroskopis jaringan hati. Parameter-parameter tersebut memberikan gambaran tentang kondisi hati, Pada ikan yang terinfeksi *Aeromonas* sp. hati menunjukkan abnormalitas seperti degenerasi vakuola pada hepatosit, nekrosis, hemoragi dan hipertropi pada sinusoid (Salikin et al. 2014).

1.7.6 Pengaruh *Aeromonas* sp. terhadap Ginjal dan Hati Ikan

Bakteri *Aeromonas* sp. yang masuk ke dalam darah dengan mudah mencapai organ-organ penting pada ikan seperti pada ginjal dan hati. Pada ginjal kerusakan yang ditemukan berupa degenerasi *vakuola* pada *renal tubulus*, nekrosis, hemoragi dan penyempitan ruang kapsula Bowmen. Artropi yang terjadi pada ginjal pasca infeksi *Aeromonas* sp. yaitu penyusutan sel-sel hematopoetik, kerusakan berkisar pada multifokal untuk degenerasi hingga difus untuk infiltrasi sel radang dan nekrosis. Hal ini

diduga terjadi karena infeksi dari bakteri *Aeromonas* sp. yang masuk ke dalam darah dengan mudah mencapai organ-organ penting pada ikan seperti ginjal. Selanjutnya ginjal akan dimanfaatkan oleh bakteri sebagai tempat memperbanyak diri, serta mengambil nutrisi yang ada disekitarnya untuk proses metabolisme, hal ini mengakibatkan kerusakan jaringan pada ginjal (Safratilofa, 2017). hati merupakan pusat metabolisme tubuh, organ hati menghasilkan cairan empedu sebagai emulsifikator dalam proses pencernaan makanan. Tanda klinis internal yang terjadi akibat infeksi *Aeromonas* sp. dapat dilihat organ hati berwarna merah muda dan merah kehitaman serta mengalami pembengkakan. Perubahan patologi pada hati ikan yang diinfeksi *Aeromonas* sp., menunjukkan adanya abnormalitas seperti degenerasi *vakuola* pada hepatosit, nekrosis, hemoragi dan hipertrofi pada sinusoid (Salikin et al. 2014).

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai dengan bulan Mei 2024. Pemeliharaan ikan nila bertempat di studio *rainbow celebes* binaan PT. Pertamina patra niaga DPPU Hasanuddin Makassar, dan pemeriksaan sampel histopatologi dilaksanakan di laboratorium terpadu Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin.

2.2 Materi Penelitian

2.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat tulis, baju lab, tisu, *cover glass*, *object glass*, *coolbox*, mikroskop, mikrotom, spoit, akuarium dengan dengan volume 50×30×30 cm, jangka sorong, timbangan digital, DO meter, PH meter, termometer, *aqua combo*, ember, gelas ukur 2liter, lap, kertas lakmus, spidol, perangkat aerasi, kamera, *handscoon*, masker, *blade*, *scalpel*, gunting dan *container* 60 ml.

2.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain ikan nila, isolat bakteri *Aeromonas* sp., air tawar, pakan komersil, probiotik, formalin 10%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol 100%, *xylol*, parafin, pewarnaan histopatologi *Hematoksilin–Eosin*, larutan *hayem*, larutan *methanol* dan *entellan*.

2.3 Jenis Penelitian Dan Sampel

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dengan jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 24 ekor ikan nila dengan 4 perlakuan dimana tiap perlakuan berisi 6 ekor per akuarium. Hal ini merujuk pada penelitian sebelumnya dimana pemberian pakan simbiotik diberikan pada 4 kelompok perlakuan (Rahmi et al. 2022). Maka kelompok perlakuan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Rumus federer:

$$\begin{aligned}(t - 1) (n - 1) &\geq 15 \\ (4 - 1) (n - 1) &\geq 15 \\ 3n - 3 &\geq 15 \\ 3n &\geq 15 + 3 \\ n &\geq \frac{18}{3} \\ n &\geq 6\end{aligned}$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok = 4

n : Jumlah subjek perkelompok

Tabel 2. Kelompok perlakuan

KODE	PERLAKUAN
A	Pakan buatan tanpa tambahan sinbiotik + tanpa uji tantang bakteri <i>Aeromonas</i> sp.
B	Pakan buatan tanpa tambahan sinbiotik + uji tantang bakteri <i>Aeromonas</i> sp.
C	Pakan buatan dengan tambahan sinbiotik + tanpa uji tantang bakteri <i>Aeromonas</i> sp.
D	Pakan buatan dengan tambahan sinbiotik + uji tantang bakteri <i>Aeromonas</i> sp.

2.4 Metode Penelitian

2.4.1 Persiapan wadah dan ikan uji

Wadah pemeliharaan yang digunakan adalah akuarium berukuran 60×50×30 cm dengan kapasitas 45 liter sebanyak 4 buah. Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila dengan panjang tubuh ± 15 cm yang diambil dari tempat pembudidayaan ikan nila kampung tengah. Ikan diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dilanjutkan dengan pemeliharaan selama 60 hari sebelum digunakan sebagai hewan uji, ikan diletakkan di akuarium yang dilengkapi dengan aerator sebagai aerasi pada wadah dan diberi pakan sesuai perlakuan dengan frekuensi 3x sehari pada jam 08:00 , 13:00, dan 18:00 secara *at station* (Rahmi et al. 2022). Penggantian air dilakukan setiap 3 hari sekali.

2.4.2 Persiapan pakan sinbiotik

Pakan dasar yang digunakan dalam penelitian adalah pakan buatan yang telah disediakan. Pakan uji yang digunakan merupakan pakan dasar yang ditambah dengan bakteri kandidat probiotik *Bacillus amyloliquefaciens* sebanyak 10⁵ CFU/ml kemudian ditambahkan prebiotik (tepung pisang) ke dalam larutan probiotik sebanyak 1%. Pemberian tambahan sinbiotik diberikan pada masing–masing perlakuan dan dilakukan selama 60 hari masa pemeliharaan dengan cara menyemprotkan pada pakan menggunakan botol *spray*. Jumlah pemberian pakan yang digunakan adalah 3 % dari bobot tubuh ikan, pengukuran bobot tubuh ikan dilakukan seminggu sekali untuk mengontrol dan menyesuaikan kenaikan konsumsinya (Iskandar dan Elrifadah, 2015).

2.4.3 Persiapan kultur bakteri

Bakteri pathogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aeromonas* sp. dengan kepadatan 10⁶ CFU/ml (Pattipeiluhu et al. 2022). Isolat murni *Aeromonas* sp. diperoleh dari laboratorium terpadu mikrobiologi kedokteran hewan universitas hasanuddin. Media penumbuhan bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase soya agar*) yang kemudian bakteri diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu bakteri dapat digunakan untuk uji tantang.

2.4.4 Uji tantang

Ikan nila yang telah dipelihara selama 60 hari kemudian dipersiapkan untuk dilakukannya uji tantang pada hari ke 61. Uji tantang dilakukan menggunakan metode perendaman dengan menyiapkan 2 wadah sebagai tempat perendaman ikan dengan perlakuan pemberian pakan buatan tanpa tambahan sinbiotik dan perlakuan pemberian pakan buatan dengan tambahan sinbiotik. Pada masing-masing wadah, larutan bakteri ditebar dengan menggunakan ketentuan rumus pengenceran yaitu $V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$ untuk mendapatkan suspensi bakteri dengan kepadatan 10^6 CFU/ml kemudian dihomogonkan menggunakan batang pengaduk (Hismah et al. 2022). Ikan nila direndam selama 30 menit kemudian dipindahkan ke akuarium untuk selanjutnya dilakukan pemeliharaan kembali selama 14 hari.

2.4.5 Pembuatan preparat histologi

Organ hati dan ginjal diperoleh setelah ikan nila kekar di nekropsi kemudian dilakukan pengeluaran organ *visceral*. Organ hati dan ginjal dipisahkan dari organ lain kemudian diletakkan di wadah *pot container* yang telah berisikan formalin 10%. Preparat histologi sampel organ dibuat dengan menggunakan metode pewarnaan *Harris Hematoksilin-Eosin* melalui beberapa tahapan, Langkah pertama yaitu memfiksasi organ hati dan ginjal ikan nila menggunakan *Neutral Buffered Formaline* 10% selama 48 jam. Langkah kedua *trimming*, organ dipotong dengan ukuran 1 x 1 x 1 cm dan dimasukkan ke dalam *cassette* jaringan. Langkah ketiga dehidrasi, potongan jaringan didehidrasi secara berturut-turut menggunakan alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, dan alkohol absolut II selama dua jam pada masing-masing konsentrasi alkohol. Langkah keempat selanjutnya yaitu *clearing* atau proses mengeluarkan alkohol dari dalam jaringan dengan cara merendam jaringan dalam senyawa xylene. Langkah kelima yaitu *embedding* atau *impregnation* bertujuan untuk mengeluarkan *clearing agent* dari dalam jaringan. Pada proses *embedding*, jaringan diinfiltrasi oleh senyawa paraffin sehingga jaringan yang awalnya lunak menjadi keras dan mudah dipotong menggunakan mikrotom. Langkah keenam selanjutnya yaitu proses *blocking* sehingga jaringan tercetak di dalam blok-blok paraffin dan disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Langkah ketujuh adalah pemotongan atau *cutting*, Blok-blok paraffin kemudian dipotong (*cutting*) menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 mikron. Hasil pemotongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk menghindari terbentuknya lipatan. Langkah kedelapan yaitu pewarnaan atau *staining*, sediaan preparat diangkat dan diletakkan pada *object glass* untuk dilakukan pewarnaan *Harris Hematoksilin-Eosin* (Kamalayani et al. 2018). digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* (Pratiwi dan Manan, 2015). Langkah kesembilan adalah penempelan atau *mounting* yang dilakukan dengan menempelkan *coverglass* pada *object glass* yang telah berisikan preparat menggunakan cairan perekat *entellan* (Rahmawanti et al. 2021).

2.4.6 Parameter pengamatan

Parameter yang menjadi ukuran pengamatan yaitu gambaran struktural jaringan pada preparat histologi organ hati dan ginjal ikan nila. Parameter penunjang yang diamati pada penelitian ini meliputi panjang dan bobot ikan nila, suhu, pH, dan O_2 yang diukur

menggunakan alat *Aqua Combo*. Pengukuran parameter penunjang dilakukan setiap seminggu sekali.

2.5 Analisis data

Analisis data gambaran histopatologi organ hati dan ginjal ikan nila dianalisis secara deskriptif dengan melihat perubahan struktur jaringan organ yang ditemukan. Untuk mengetahui tingkat kerusakan maka dilakukan analisis statistik dengan pemberian skoring menurut Andayani et al. (2020), pembacaan dimulai dari tepi kiri ke arah kanan kemudian turun ke bawah dan bergeser kembali ke arah kiri (gerak zig-zag). Setiap bidang lapang pandang diamati tingkat kerusakan jaringannya kemudian dipersentase dengan pemberian skor dari angka 1 sampai 4. Angka 1 mempunyai tingkat persentase kerusakan jaringan 0-5%, angka 2 tingkat persentase kerusakan jaringan 6-25%, angka 3 tingkat persentase kerusakan jaringan 26-50% dan angka 4 tingkat persentase kerusakan jaringan >50%. Data hasil skoring dianalisis keragaman atau uji F (ANOVA) sesuai dengan rancangan yang digunakan. Apabila hasil uji F menunjukkan berbeda nyata atau berbeda sangat nyata maka dilakukan uji BNT (Beda Nyata Terkecil)



2.6 Alur Penelitian