

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
USUS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPAR DENGAN
BAKTERI *Aeromonas* sp.**



AZZAHRA BUDIMAN

C031201038



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
USUS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPAR DENGAN
BAKTERI *Aeromonas sp.***

**AZZAHRA BUDIMAN
C031 20 1038**



SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kedokteran Hewan

Pada

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

**PENGARUH PAKAN SINBIOTIK TERHADAP JUMLAH BAKTERI PADA
USUS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPAR DENGAN
BAKTERI *Aeromonas sp.***

AZZAHRA BUDIMAN
C031 20 1038

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 JUMLAH BAKTERI
PADA USUS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPAPAR
BAKTERI *Aeromonas sp.***

AZZAHRA BUDIMAN
C031 20 1038

Skripsi,

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

Program Studi Kedokteran Hewan
Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan,
Pembimbing Utama



A. Ninnong Renita R., S.Pi, M.Si
NIDK. 8987550022

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Dr. drh. Dwi Kesuma Sari. Ap.Vet
NIP : 197302161999

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Pengaruh Pakan Sinbiotik terhadap Jumlah Bakteri pada Usus Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang dipapar Bakteri *Aeromonas sp.*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing A. Ninnong Renita R., S.Pi, M.Si sebagai pembimbing utama dan drh. Muhammad Fadhlullah Mursalim, M.Kes., Ph.D sebagai pembimbing pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 5 Juni 2024
Yang menyatakan



Azzahra Budiman
C031 20 10 38

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur diucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat rahmat dan karunia-Nya lah sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pakan Sinbiotik terhadap Jumlah Bakteri pada Usus Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang dipapar Bakteri *Aeromonas sp.*” ini. Banyak terimakasih saya ucapkan kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam pembuatan skripsi ini.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi syarat dalam menempuh ujian dan memperoleh gelar sarjana kedokteran hewan dalam program pendidikan strata satu Program Studi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi dan penelitian ini tidak akan terwujud tanpa adanya doa, bantuan, bimbingan, motivasi dan dorongan dari berbagai pihak. Untuk itu dengan segala rasa syukur penulis memberikan penghargaan setinggi-setingginya dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua saya bapak Budiman dan ibu Hamriani yang telah mendukung dan selalu mendoakan serta memberikan bantuan dana kepada penulis. Oleh karena itu, penulis merasa sangat bersyukur dan ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** selaku Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. DR. dr. Haerani Rasyid, Sp.PD, KGH, Sp.GK, M.Kes** selaku dekan fakultas kedokteran.
3. **Dr. Drh. Dwi Kesuma sari, APVet** sebagai Ketua Program Studi Kedokteran hewan serta dosen pengajar yang telah banyak memberikan ilmu dan berbagi pengalaman kepada penulis selama mengikuti pendidikan di PSKH UH.
4. **A. Ninnong Renita R., S.Pi, M.Si** dan **Drh. Muh. Fadhlullah Mursalim, M.Kes., Ph.D** sebagai pembimbing saya dan juga sebagai mentor terbaik selama ini dalam menyusun skripsi hingga selesai.
5. **Drh. Rasdiyanah M.Si** dan **Drh. A. Magfira Satya Apada, M.Sc** selaku penguji/pembahas saya dalam skripsi ini yang telah memberikan masukan-masukan ke dalam karya ini.
6. Segenap panitia seminar proposal dan seminar hasil atas segala bantuan dan kemudahan yang diberikan kepada penulis.
7. Bapak/Ibu dosen pengajar prodi Kedokteran Hewan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas semua ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
8. Kepada keluarga kecil yang tercinta ibu, ayah, kakak, adik, dan nenek saya yang selalu mengerti keadaan penulis dan tidak pernah memberikan tekanan kepada penulis untuk segera menyelesaikan program S1 penulis.
9. **Muhammad Furqan Hidayat**, yang senantiasa menghibur penulis, memberi semangat kepada penulis, selalu menjadi tempat cerita dan tempat mengeluh, selalu memberikan dukungan dan kontribusinya serta selalu ada dalam setiap proses penulis sampai saat ini.
10. Kepada **Drh. Era** yang senantiasa membantu dan kebersamai penulis selama pengerjaan sampel penelitian hingga selesai.

11. Teman-teman seperjuangan **CIONE** yang telah membantu dalam memberikan saran dan masukan selama pengerjaan skripsi.
12. Kepada **Tim Mermaid Uji Tantang** Ayu Hasdiana, Siti Padila, Nur Awalia Ramadhani, I Putu Swastu dan Arya Mizard Asda yang telah kebersamai dan memberi semangat sepanjang penelitian ini.
13. Kepada sahabat-sahabat "**Us vs no one**" **Diba** yang senantiasa menemani dan menghibur penulis dengan berjalan-jalan berkeliling kota makassar, **Sipa** yang selalu menjadi tempat pulang ketika penulis dalam kesulitan, dan **Risfa** yang selalu setia mendengarkan keluh kesah penulis hingga saat ini.
14. Kepada sahabat-sahabat "**Bocil SMA**" **Bogar, Dayen, Ariva, Nilam, Nadya, Pute, Amay, Beti, Naya**, dan **Caca** yang selalu mendukung dan kebersamai penulis selama 5 tahun.
15. Kepada teman-teman "**The Brandalz**" **Sipa, Diba, Risfa, Pupi, Aya, Lhiya, Ummu, Opan, Arya, Farid, Fathul, Fajrul**, dan **Mizar** yang senantiasa mengajak penulis untuk berjalan-jalan dan berlibur ke tempat-tempat yang menyenangkan.
16. Kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu-persatu, terima kasih telah memberikan bantuan dan motivasi baik secara langsung maupun tidak langsung.
17. Dan yang terakhir, apresiasi yang sebesar-besarnya kepada diri saya sendiri. **Azzahra Budiman**. Terima kasih sudah bertahan sejauh ini. Terima kasih tetap memilih berusaha dan merayakan dirimu sendiri sampai di titik ini, walau seringkali merasa putus asa atas apa yang diusahakan. Terima kasih karena memutuskan untuk tidak menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dan telah menyelesaikannya sebaik dan semaksimal mungkin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun penulis sehingga akhirnya skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di kehidupan masyarakat. Akhir kata, semoga karya ini dapat bermanfaat bagi setiap jiwa yang bersedia menerimanya.

Makassar, 5 Juni 2024

Azzahra Budiman

ABSTRAK

AZZAHRA BUDIMAN. **Pengaruh Pakan Sinbiotik terhadap Jumlah Bakteri pada Usus Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang dipapar Bakteri *Aeromonas sp.*** (dibimbing oleh A. Ninnong Renita R. dan Muhammad Fadhlullah Mursalim).

Latar belakang. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan komoditas perikanan penting di Indonesia. Namun, penyakit akibat bakteri patogen seperti *Aeromonas sp.* dapat menurunkan produktivitas budidaya. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian pakan sinbiotik terhadap jumlah bakteri pada usus ikan nila yang diujiantang *Aeromonas sp.* **Metode.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan 4 kelompok perlakuan. Perlakuan A merupakan pemberian pakan komersil tanpa sinbiotik dan ujiantang, B merupakan perlakuan pemberian pakan komersil tanpa sinbiotik dengan ujiantang, C merupakan perlakuan pemberian pakan komersil dengan sinbiotik tanpa ujiantang, dan D merupakan perlakuan pemberian pakan komersil dengan sinbiotik dan ujiantang. Dimana tiap kelompok yang dilakukan ujiantang dengan metode perendaman bakteri *Aeromonas sp.* selama 30 menit, kemudian dilihat pengaruhnya pada hari ke-0, hari ke-7, dan hari ke-14 dengan menghitung jumlah bakteri yang ada pada usus ikan nila dengan metode *Total Plate Count* (TPC). **Hasil.** Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan jumlah bakteri usus antar perlakuan ($p < 0.05$). kelompok perlakuan C memberikan jumlah bakteri tertinggi dan kelompok perlakuan B menunjukkan jumlah bakteri terendah. Hasil data analisis yaitu jumlah bakteri pada usus ikan nila pada kelompok perlakuan A yaitu $5,46 \pm 0,15$, pada kelompok perlakuan B yaitu $4,5 \pm 0,21$, pada kelompok perlakuan C yaitu $5,83 \pm 0,09$ dan pada kelompok perlakuan D yaitu $5,74 \pm 0,19$. Gejala klinis teramati pada perlakuan B dan D berupa nafsu makan menurun, luka dan sisik terlepas. **Kesimpulan.** Pemberian pakan sinbiotik mampu meningkatkan jumlah bakteri baik pada usus dan menekan gejala infeksi akibat *Aeromonas sp.* pada ikan nila. Pakan sinbiotik berpotensi sebagai alternatif untuk meningkatkan pertahanan ikan terhadap infeksi patogen.

Kata kunci: *aeromonas sp.*, bakteri, ikan nila, sinbiotik

ABSTRACT

AZZAHRA BUDIMAN. **The Effect of Synbiotic Feed on the Number of Bacteria in the Intestine of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Exposed to *Aeromonas sp.* Bacteria** (guided by A. Ninnong Renita R. and Muhammad Fadhullah Mursalim).

Background. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is an important aquaculture commodity in Indonesia. However, diseases caused by pathogenic bacteria such as *Aeromonas sp.* can reduce aquaculture productivity. **Objective.** This study aimed to determine the effect of synbiotic feed on the number of bacteria in the intestine of Nile tilapia exposed to *Aeromonas sp.* bacteria. **Methods.** This study used an experimental design with 4 treatment groups. Treatment A was the administration of commercial feed without synbiotics and challenge test, B was the administration of commercial feed without synbiotics with challenge test, C was the administration of commercial feed with synbiotics without challenge test, and D was the administration of commercial feed with synbiotics and challenge test. The challenge test was done by immersing the fish in *Aeromonas sp.* bacteria suspension for 30 minutes. The number of bacteria in the fish intestine was observed on day 0, 7, and 14 using the Total Plate Count method. **Results.** The results showed differences in the number of intestinal bacteria between treatments ($p < 0.05$). Treatment C showed the highest number of bacteria, while treatment B showed the lowest. Data analysis showed that the number of intestinal bacteria in treatment A was 5.46 ± 0.15 , B was 4.5 ± 0.21 , C was 5.83 ± 0.09 , and D was 5.74 ± 0.19 . Clinical signs were observed in treatments B and D such as decreased appetite and fin/scale erosions. **Conclusion.** Synbiotic feed was able to increase the number of intestinal bacteria and suppress clinical signs of *Aeromonas sp.* infection in Nile tilapia. Synbiotic feed has the potential to improve fish immunity against pathogenic infections.

Keywords: *Aeromonas sp.*, bacteria, intestine, nile tilapia, synbiotic

DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	2
I.3.1 Tujuan Umum	2
I.3.2 Tujuan Khusus	2
I.4 Manfaat Penelitian	2
I.4.1 Manfaat Pengembangan ilmu	2
I.4.2 Manfaat Aplikasi	2
I.5 Hipotesis	3
I.6 Keaslian Penelitian	3
I.7 Kajian Pustaka	3
I.7.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	3
I.7.2 Sinbiotik	4
I.7.3 <i>Aeromonas sp.</i>	5
I.7.4 Bakteri pada Usus Ikan Nila	5
II.1 Waktu dan Tempat Penelitian	7
II.2 Alat dan Bahan Penelitian	7
III.2.1 Alat	7
III.2.2 Bahan	7
II.3 Jenis Penelitian dan Sampel	7
II.4 Prosedur Penelitian	8
II.4.1 Persiapan Pemeliharaan Ikan Nila	8
II.4.2 Pengamatan Ikan Nila	8
II.4.4 Persiapan Kultur Bakteri <i>Aeromonas sp.</i>	8
II.4.3 Uji Tantang	8

II.4.5 Pengambilan Sampel Usus dan Perhitungan Bakteri	9
II.4.7 Pewarnaan Gram	10
II.4.8 Parameter Pengamatan	10
III.6 Analisis Data	10
BAB III	12
HASIL DAN PEMBAHASAN	12
III.1 Perhitungan Jumlah Bakteri pada Usus.....	12
III.2 Pewarnaan Gram Bakteri.....	13
III.3 Kualitas Air	14
III.4 Gejala Klinis	15
DAFTAR PUSTAKA	17
LAMPIRAN.....	20

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Kelompok perlakuan	Error! Bookmark not defined.
2. Jumlah bakteri pada usus ikan nila sebelum dan setelah ujiantang	Error! Bookmark not defined.
3. Hasil pengamatan bakteri secara mikroskopis	Error! Bookmark not defined.
4. Hasil pengamatan suhu dan pH air	15
5. Hasil pengamatan DO air	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Error! Bookmark not defined.
2. Gejala <i>Aeromonas</i> sp.	19
3. Gejala <i>Aeromonas</i> sp.	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Pemeliharaan ikan	20
2. Proses pembuatan pakan sinbiotik	<u>20</u>
3. Ujiantang.....	20
4. Pengambilan sampel	Error! Bookmark not defined. <u>20</u>
5. Pengolahan sampel dengan metode TPC	Error! Bookmark not defined. <u>21</u>
6. Pewarnaan isolat bakteri	Error! Bookmark not defined. <u>23</u>
7. Pemeriksaan kualitas air	Error! Bookmark not defined. <u>23</u>

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Sebagai negara maritim, Indonesia memiliki potensi besar dalam sektor budidaya perikanan yang dapat ditingkatkan, baik melalui ekspansi wilayah maupun peningkatan produktivitas, terutama untuk ikan-ikan yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Ikan nila merupakan varietas ikan air tawar yang diminati oleh banyak orang untuk dikonsumsi karena cita rasanya yang lezat dengan harga yang cukup terjangkau. Selain itu, ikan ini sering dibudidayakan karena mudah dalam perawatannya, pertumbuhannya yang cepat, dan ketahanannya terhadap perubahan kualitas air (Irmawati dan Jane, 2014).

Di Indonesia, ikan nila termasuk kedalam 10 komoditas prioritas budidaya. Produksi ikan nila terus bertambah setiap tahun, rata-rata kenaikan jumlah produksi ikan nila mencapai 31% pada rentang tahun 2013-2017. Tahun 2017 produksi ikan nila mencapai 1,15 juta ton atau naik sebesar 3,6% dari tahun 2016 yang mencapai 1,14 juta ton dan berada di urutan kedua produksi perikanan budidaya menurut komoditas utama setelah lele bioflok (Direktorat Jenderal Perikanan dan Budidaya, 2018).

Pembudidayaan ikan nila, tidak terlepas dari adanya serangan hama dan penyakit yang dapat mengakibatkan kerugian ekonomis, karena menyebabkan lamanya periode pemeliharaan, tingginya konversi pakan, tingkat padat tebar yang rendah, bahkan dapat mengakibatkan kematian (Irmawati dan Jane, 2014).

Pakan merupakan salah satu faktor penting yang menentukan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan budidaya. Masalah yang sering mengganggu para pembudidaya ikan adalah harga pakan yang semakin tinggi sehingga budidaya ikan sering terpaksa menggunakan pakan dengan harga terjangkau meskipun dengan pencernaan yang rendah. Pakan yang kurang tercerna dengan baik berdampak pada pertumbuhan yang tidak optimum dan banyaknya bahan organik di media budidaya. Sifat fisiologis ikan menjadikannya lebih efektif dalam memanfaatkan protein sebagai sumber energi dibandingkan karbohidrat. Pencernaan karbohidrat pada ikan relatif rendah karena ketersediaan dan aktivitas enzim *amylase* dalam saluran pencernaan ikan yang rendah dibandingkan dengan hewan terrestrial dan manusia (Rusdani *et al.*, 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan berbagai upaya peningkatan aktivitas enzim *amylase* sehingga penggunaan protein sebagai sumber energi dapat dikurangi dan pemanfaatan karbohidrat sebagai sumber energi dapat ditingkatkan. Salah satu upaya tersebut adalah dengan meningkatkan ketersediaan *amylase* dalam saluran pencernaan ikan melalui pemberian probiotik.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang cukup, dapat memberi manfaat perbaikan keseimbangan mikroflora dan meningkatkan kesehatan. Probiotik telah terbukti mampu bekerja dalam serapan nutrisi maupun memperbaiki kualitas air budidaya ikan, sistem imun, dan pertumbuhan ikan. Beberapa probiotik yang telah banyak digunakan pada budidaya

ikan, udang, *abalone*, bivalvia dan organisme air lainnya, yaitu *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Nitrosomonas*, *Cellulomonas*, *Nitrobacter*, *Pseudomonas*, *Rhodopseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Acinetobacter*, yeast and diatom (Istiqomah *et al.*, 2018).

Saluran pencernaan ikan menjadi tempat hidup komunitas mikroorganisme yang secara normal hidup, berkembang, dan berinteraksi dengan ikan sebagai inangnya. Mikroorganisme dapat ditemukan di semua bagian saluran pencernaan, meliputi rongga mulut, esophagus, lambung, *pyloric caeca*, usus bagian awal, usus bagian tengah, dan usus bagian akhir. Komunitas mikroorganisme tersebut mempengaruhi berbagai fungsi tubuh ikan, antara lain meliputi perkembangan saluran pencernaan, proses pencernaan, nutrisi, ketahanan terhadap penyakit, dan daya tahan tubuh (Nurhafid *et al.*, 2021). Sebaliknya, kondisi ikan seperti faktor genetik, jenis kelamin, berat, usia, imunitas, dan pergerakan otot saluran pencernaan juga mempengaruhi komunitas mikroorganisme di saluran pencernaan (Wang *et al.*, 2018).

Penggunaan sinbiotik juga dapat meningkatkan kelangsungan hidup, merangsang pertumbuhan, meningkatkan sistem imun dan kondisi inang (Azhar, 2013). Bakteri yang digunakan sebagai kandidat probiotik dalam penelitian ini adalah bakteri yang berasal dari golongan *Bacillus*. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk menguji kinerja bakteri probiotik *Bacillus subtilis*. dan prebiotik tepung pisang terhadap jumlah bakteri pada usus ikan nila yang dipapar bakteri *Aeromonas sp.*

I.2 Rumusan Masalah

- I.2.1 Bagaimana pengaruh pemberian pakan sinbiotik terhadap jumlah bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipapar bakteri *Aeromonas sp.*
- I.2.2 Bagaimana kelompok bakteri yang diamati pada usus ikan nila yang dipapar bakteri *Aeromonas sp.*

I.3 Tujuan Penelitian

I.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pakan sinbiotik terhadap jumlah bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di papar dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

I.3.2 Tujuan Khusus

- I.3.2.1 Untuk mengetahui jumlah bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipapar dengan bakteri *Aeromonas sp.*
- I.3.2.2 Untuk mengetahui kelompok bakteri yang teramati pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipapar dengan bakteri *Aeromonas sp.*

I.4 Manfaat Penelitian

I.4.1 Manfaat Pengembangan ilmu

Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian kali ini adalah sebagai tambahan informasi untuk penelitian selanjutnya "Pengaruh Pakan Sinbiotik Terhadap Jumlah Bakteri Usus Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Yang Dipapar Bakteri *Aeromonas sp.*".

I.4.2 Manfaat Aplikasi

Manfaat aplikasi pada penelitian kali ini yaitu dapat melatih kemampuan peneliti dan menjadi referensi bagi penelitian-penelitian selanjutnya. Serta, menjadi informasi bagi masyarakat tentang manfaat pakan sinbiotik terhadap infeksi penyakit akibat bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

I.5 Hipotesis

Uraian teori diatas dan teori yang akan dipaparkan pada halaman berikutnya, dapat ditarik hipotesis bahwa pakan sinbiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan paparan *Aeromonas sp.*.

I.6 Keaslian Penelitian

Penelitian pengaruh pakan sinbiotik terhadap jumlah bakteri pada usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang telah dipapar dengan bakteri *Aeromonas sp.* belum pernah dilakukan. Namun, beberapa penelitian serupa pernah dilakukan diantaranya yaitu:

1. Nurul 'Aini. 2019. Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus Casei* Fncs 0090 Terhadap Sistem Imun Dan Jumlah Bakteri Usus Ikan Lele (*Clarias Gariepinus*) yang Diinfeksi *Aeromonas Hydrophila*. [Skripsi]. Universitas Airlangga.
2. Hasan, O. D. S., Nur R. M., Mugi M. dan Bambang G. 2023. Aplikasi Probiotik Dosis Berbeda Dalam Pakan Terhadap Pertumbuhan Bakteri Dalam Usus Ikan Nila Srikandi (*Oreochromis aureus X niloticus*). *Jurnal Penyuluhan Perikanan dan Kelautan*. 17(1): 15-25.

I.7 Kajian Pustaka

I.7.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila merupakan komoditas ikan yang termasuk dalam genus *Oreochromis*, sebelumnya dikenal dengan nama *Tilapia nilotica*, akan tetapi menurut klasifikasi terbaru, pada tahun 1982 telah berubah menjadi *Oreochromis niloticus*, yang dipelopori oleh Trewavas pada tahun 1980. Nama *Oreochromis niloticus* untuk ikan nila telah disepakati dan digunakan oleh para ilmuwan, meskipun dikalangan awam tetap disebut *Tilapia nilotica* (Rofiani *et al.*, 2017).

Ikan nila, yang memiliki nama ilmiah *Oreochromis niloticus*, merupakan salah satu komoditas perikanan yang mendapat banyak minat dari berbagai lapisan masyarakat. Tingginya minat ini mendorong peningkatan produksi ikan nila untuk memenuhi permintaan pasar. Kenaikan produksi ikan nila juga akan mempengaruhi peningkatan kebutuhan pakan yang digunakan, terutama dalam hal bahan pakan yang umumnya berupa tepung bungkil kedelai dan tepung ikan sebagai sumber protein. Di Indonesia khususnya, sebagian besar bahan baku pakan (sekitar 70-80%) diimpor dari luar negeri (Hadadi *et al.*, 2010).

Morfologi ikan nila menurut Lukman *et al.* (2014), yaitu lebar badan ikan nila umumnya sepertiga dari panjang badannya. Bentuk tubuhnya memanjang dan ramping, sisik ikan nila relatif besar, matanya menonjol dan besar dengan tepi berwarna putih. Ikan nila mempunyai lima buah sirip yang berada di punggung, dada, perut, anus, dan ekor. Pada sirip dubur (*anal fin*) memiliki 3 jari-jari keras dan 9-11 jari-jari sirip lemah. Sirip ekornya (*caudal fin*) memiliki 2 jari-jari lemah mengeras dan 16-18 jari-jari sirip lemah. Sirip punggung (*dorsal fin*) memiliki 17 jari-jari sirip keras

dan 13 jari-jari sirip lemah. Sementara sirip dadanya (*pectoral fin*) memiliki 1 jari-jari



sirip keras dan 5 jari-jari sirip lemah. Sirip perut (*ventral fin*) memiliki 1 jari-jari sirip keras dan 5 jari-jari sirip lemah. Ikan nila memiliki sisik *cycloid* yang menutupi seluruh tubuhnya.

Gambar 1. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Yustiati *et al.*, 2018)

Menurut Lukman *et al.*, (2014), berdasarkan klasifikasinya ikan nila memiliki nama *Oreochromis niloticus*. Ikan nila termasuk dalam Filum Chordata, Kelas Pisces, Sub Kelas Acanthopterygii, Ordo Perciformes, Famili Cichlidae dan dari Genus *Oreochromis*.

1.7.2 Sinbiotik

Istilah sinbiotik merujuk pada penggunaan probiotik dan prebiotik yang digunakan secara bersamaan. Prebiotik merupakan bahan pangan yang tidak dapat dicerna oleh inang tetapi memberikan efek menguntungkan bagi inang dengan cara merangsang pertumbuhan mikroflora normal di dalam saluran pencernaan inang. Penambahan prebiotik dalam pakan bertujuan untuk meningkatkan populasi bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan ikan nila sehingga mekanisme aksi dari probiotik dalam menghasilkan enzim *exogenous* untuk pencernaan semakin meningkat (Putra *et al.*, 2015).

Probiotik merupakan tambahan makanan yang terdiri dari mikroba hidup yang dapat masuk ke saluran pencernaan hewan inang. Probiotik ini memberikan manfaat dengan meningkatkan keseimbangan mikroorganisme di saluran pencernaan ikan nila yang memiliki dampak positif pada kesehatan (Arief *et al.*, 2014). Probiotik merupakan organisme hidup yang mampu memberikan efek yang menguntungkan kesehatan hostnya apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal pada saat masuk dalam saluran pencernaan. Probiotik juga mampu berperan sebagai daya hambat pertumbuhan bakteri patogen.

Bacillus merupakan salah satu jenis bakteri yang banyak dimanfaatkan sebagai probiotik dalam akuakultur karena kemampuannya menghasilkan komponen antimikroba yang dapat menghambat bakteri patogen (Lusiastuti *et al.*, 2016). Bakteri probiotik *Bacillus* merupakan bakteri probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen, *Vibrio sp* dan *Aeromonas sp* (Feliatra *et al.*, 2012). Bakteri kandidat probiotik yang ditemukan pada usus hewan akuatik adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *bacilus amyloliquifaciens* dan *Bacillus licheniformis*. Beberapa penelitian menyatakan bahwa penambahan *Bacillus amyloliquifaciens* dapat meningkatkan kualitas perairan dan dapat meningkatkan sistem pencernaan

pada ikan (Wardika *et al.*, 2014). Bakteri probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus amyloliquifaciens*. Penambahan bakteri *B. amyloliquifaciens* ke dalam sistem budidaya ikan nila secara signifikan mampu mengurangi kadar amonia, nitrogen total, dan fosfor yang dapat mempengaruhi kualitas air. Dengan demikian, bakteri ini dapat membantu mengurangi polusi air dan meningkatkan kualitas lingkungan hidup ikan nila (Yang *et al.*, 2021). Dosis probiotik umumnya 10^5 – 10^{10} CFU/g pakan, namun dosis optimum probiotik dapat bervariasi tergantung dari jenis inang dan tingkat kekebalan tubuhnya (Nayak, 2010).

1.7.3 *Aeromonas sp.*

Salah satu bakteri patogen yang umum dijumpai dalam usaha budidaya ikan air tawar adalah bakteri *Aeromonas sp.* Bakteri *Aeromonas sp.* umumnya hidup di lingkungan perairan (Ottaviani *et al.*, 2011). Bakteri ini merupakan patogen, baik pada manusia ataupun ikan. Pada ikan, bakteri *Aeromonas sp.* dapat menyebabkan *haemorrhagic septicemia* (luka dengan pendarahan) yang dikenal dengan penyakit MAS (*Motile Aeromonad Septicemia*). Gejala yang ditimbulkan akibat penyakit MAS karena bakteri *Aeromonas* yaitu kehilangan nafsu makan, pendarahan pada insang, distensi *abdomen* yang berisi cairan, lesi pada permukaan tubuh sisik dan sirip ekor lepas. Penyakit ini dapat timbul akibat adanya tingkat bahan organik akibat cemaran dan lainnya (Pusparani *et al.*, 2021).

Bakteri *Aeromonas sp.* memiliki kecenderungan untuk meningkat patogenesitasnya ketika terjadi penurunan kualitas air dan menurunnya kondisi kesehatan ikan yang disebabkan adanya stress. Ikan yang terinfeksi *Aeromonas sp.* memiliki gejala klinis berupa penurunan respon terhadap pakan, berenang dengan gerakan tidak normal dan luka pada bagian tubuh (Saputra dan Forcep, 2018).

Bakteri *Aeromonas sp.* menyebabkan infeksi keseluruhan tubuh ikan, yang disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penyebaran yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kematian benih sampai 90%. Penyakit yang dapat timbul oleh serangan *Aeromonas sp.* adalah penyakit bercak merah pada permukaan tubuh, kulit meradang yang diakhiri dengan luka yang seperti bisul. Ikan yang terinfeksi ini biasanya akan mati dalam waktu satu minggu selain itu dapat menyebabkan busuknya sirip dan ekor, pengelupasan sisik dan pendarahan pada bagian insang dan anus, mata menonjol, dan pembengkakan pada *abdomen* (Arwin *et al.*, 2016).

1.7.4 Bakteri pada Usus Ikan Nila

Mikroflora usus hewan dapat berubah berdasarkan umur, kondisi nutrisi, tahap perkembangan dan tingkat stress hewan. Perubahan-perubahan ini mengakibatkan kerentanan terhadap penyakit. Hal ini dapat diukur dengan memperhatikan komposisi mikroflora usus. Jika timbulnya penyakit dapat dideteksi sedini mungkin, bahkan sebelum gejalanya muncul, maka akan menghemat banyak waktu dan tenaga. Salah satu metode deteksi yang mungkin dilakukan adalah dengan mengamati mikroflora usus pada ikan.

Menurut Al-Harbi dan Uddin (2005), tingginya jumlah bakteri di insang dan usus ikan mungkin disebabkan oleh tingginya aktivitas metabolisme ikan yang terkait dengan peningkatan laju pemberian pakan pada suhu yang lebih tinggi. Bakteri air kolam dan sedimen mempengaruhi komposisi bakteri pada insang dan usus ikan nila. Jumlah bakteri dalam suatu waktu tertentu di saluran pencernaan ikan bergantung pada jumlah dan jenis makanan yang baru saja dicerna (Thillaimaharani *et al.*, 2012). Thillaimaharani *et al.*, (2012) menyatakan, bahwa menurut Sakata *et al.*, (1984), *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Micrococcus sp.* merupakan bakteri yang dominan di usus ikan nila. Namun, bakteri dalam saluran pencernaan terutama hewan akuatik telah diketahui memiliki peran baik diantaranya bakteri pada genus *Bacillus*, *Bifidobacteri*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, dan *Micrococcus* telah terbukti sebagai bakteri yang menguntungkan dan dapat hidup berasosiasi sebagai flora normal pada organisme baik di dalam maupun di luar tubuh (Feliatra *et al.*, 2004).

BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai dengan Mei 2024 Rumah Binaan PT Pertamina DPPU Hasanuddin (Kel. Laikang, Kec. Biringkanaya, Kota Makassar). Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin.

II.2 Alat dan Bahan Penelitian

III.2.1 Alat

Alat penelitian yang digunakan antara lain aerator, akuarium 50x30x30 cm³, *blade*, *bunsen*, botol *spray*, cawan petri, *cool box*, DO meter, gunting, *erlenmeyer*, gelas *beaker*, *handscoon*, inkubator, pH meter, mikroskop, mikropipet, mortal-alu, *object glass*, penggaris, pipet tetes, pipet volume, pot (wadah sampel usus), *scalpel*, selang, timbangan digital dan tabung pengencer.

III.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu terdiri dari akuades, etanol 95%, aluminium foil, bakteri *Aeromonas sp.*, iodium, ikan nila, kristal violet, larutan NaCl 0,9%, media kultur bakteri (NA), batang pengaduk L, pakan komersil, pakan sinbiotik, probiotik *bacillus subtilis*, plastik *wrap*, *saffranin* dan *tissue*.

II.3 Jenis Penelitian dan Sampel

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dengan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 48 ekor ikan nila dengan 4 perlakuan. Banyaknya subjek per-kelompok dapat ditentukan secara kuantitatif menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

(Jumlah subjek perkelompok perlakuan sebanyak 6)

Keterangan :

t : Jumlah kelompok = 4

n : Jumlah subjek perkelompok

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

KODE	PERLAKUAN
A	Pakan Komersil Tanpa Tambahan Bakteri Kandidat Probiotik + Tanpa Uji Tantang Bakteri <i>Aeromonas sp.</i>
B	Pakan Komersil Tanpa Tambahan Bakteri Kandidat Probiotik + Uji Tantang <i>Aeromonas sp.</i>

C	Pakan Komersil Dengan Tambahkan Bakteri Kandidat Probiotik + Uji Tantang Bakteri <i>Aeromonas sp.</i>
D	Pakan Komersil Dengan Tambahkan Bakteri Kandidat Probiotik + Tanpa Uji Tantang Bakteri <i>Aeromonas sp.</i>

II.4 Prosedur Penelitian

II.4.1 Persiapan Pemeliharaan Ikan Nila

a. Persiapan akuarium

Akuarium untuk penelitian memiliki kapasitas 45 Liter, sebanyak 8 unit. Sebelumnya akuarium dicuci dengan air tawar hingga bersih dan dijemur di bawah sinar matahari selama 24 jam. Selanjutnya masing-masing kolam akuarium diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ dari total volume akuarium dan dilengkapi dengan aerasi menggunakan aerator.

b. Persiapan ikan nila

Ikan nila yang digunakan adalah ikan yang didatangkan dari tempat **Budidaya Ikan Nila Kampung Tengah** memiliki panjang rata-rata 15 cm. Ikan diletakkan dalam kolam buatan selama 30 hari untuk aklimasi dengan kepadatan 6 ekor per akuarium dan diberikan pakan sesuai dengan frekuensi setiap kelompok perlakuan. Pakan diberikan secara *at satiation*, yaitu pakan diberikan bertahap hingga 80% sudah tidak merespon pakan yang diberikan. Pemberian pakan sebanyak 3 kali sehari pada pukul 08.00, 13.00 dan 18.00 (Rahmi *et al.*, 2022). Pergantian air dilakukan setiap 3 hari sekali dengan menggunakan selang.

c. Persiapan pakan uji

Pakan dasar yang digunakan dalam penelitian adalah pakan buatan. Pakan uji yang digunakan merupakan pakan dasar yang ditambah dengan bakteri kandidat probiotik *Bacillus subtilis* dengan dosis 10^5 CFU/ml. Kemudian ditambahkan prebiotik (tepung pisang) ke dalam larutan probiotik sebanyak 1% sesuai dengan perlakuan yang mengacu pada penelitian Kurniawan *et al.* (2019), dengan cara *spray* (disemprot).

II.4.2 Pengamatan Ikan Nila

Parameter yang diukur dan diamati selama penelitian adalah biomassa dan panjang ikan nila yang diukur setiap satu minggu sekali pada malam hari. Berat ikan nila ditimbang menggunakan timbangan digital dan panjang ikan nila diukur manual menggunakan penggaris.

II.4.4 Persiapan Kultur Bakteri *Aeromonas sp.*

Bakteri patogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Aeromonas sp.* Isolat murni *Aeromonas sp.* diperoleh dari dari Laboratorium Mikrobiologi Kedokteran Hewan FK Unhas. Media penumbuhan bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase soya agar*) kemudian diinkubasi selama 24 jam (Arfiandi dan Reiny, 2020). Bakteri *Aeromonas sp.* dengan kepadatan 10^6 CFU/g. Setelah itu, bakteri dapat digunakan untuk ujiantang.

II.4.3 Uji Tantang

Ujiantang dilakukan pada ikan nila pada hari ke 61. Ikan dipapar dengan suspensi bakteri patogen *Aeromonas sp.* dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml dengan

perbandingan (1:9). Menurut Pattipeiluhu *et al.* (2022), ikan direndam selama 30 menit dalam larutan bakteri kemudian dipindahkan ke dalam perlakuan pemeliharaan uji. Selanjutnya ikan nila dipelihara kembali selama 14 hari dan dilakukan pengamatan setiap hari untuk melihat gejala klinis yang terjadi pada ikan.

Menurut Wahjuningrum *et al.* (2013), uji tantang dengan bakteri *Aeromonas sp.* melalui teknik perendaman diharapkan dapat masuk ke dalam tubuh ikan melalui insang dan kulit. Air dapat menjadi perantara penularan penyakit, pemberian uji tantang ini dapat dilakukan dengan cara pemberian melalui lingkungan (perendaman) agar lebih efektif dan efisien untuk dilakukan.

II.4.5 Pengambilan Sampel Usus dan Perhitungan Bakteri

Proses sterilisasi, peralatan yang digunakan dicuci dengan deterjen, dibilas dengan air tawar hingga bersih, dikeringkan. Peralatan seperti pipet, cawan petri dan tabung reaksi, dibungkus terlebih dahulu dengan *aluminium foil* dan disterilisasi dengan *oven* pada suhu 97°C. Sedangkan untuk sterilisasi media dengan menggunakan *autoclave* suhu 121°C tekanan 1 atm.

Isolat bakteri yang tumbuh setelah dikultur selama 24-48 jam, dimurnikan kembali pada media TSA, koloni yang dimurnikan yaitu koloni yang tumbuh terpisah dan dominan. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28°C-30°C selama 24-48 jam. Isolat yang didapatkan selanjutnya dilakukan pengujian dengan pewarnaan gram (Irmawati dan Jane, 2014).

Perhitungan jumlah bakteri di saluran pencernaan ikan nila dilakukan pada hari ke-61, hari ke-68 dan hari ke-75. Pada setiap hari pengamatan jumlah bakteri dihitung dari 1 individu ikan per perlakuan. Jumlah bakteri pada saluran pencernaan ikan nila dihitung dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Sampel ikan dimatikan dan dibedah, kemudian saluran pencernaan usus ikan dipotong sepanjang 1 cm. Kemudian sampel usus dihancurkan menggunakan *micropestle* steril dan diberi 1 ml larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril. Larutan sampel diencerkan bertingkat dengan larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril (Nisa *et al.*, 2023).

Perhitungan total bakteri dengan menerapkan metode *Total Plate Count* (TPC). Bakteri yang tumbuh pada cawan petri dihitung secara manual dengan alat *colony counter* dengan pencahayaan khusus sehingga mudah menghitung koloni bakteri. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan *colony-forming unit* (CFU/ml). Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan *colony-forming unit* (CFU/ml). Rumus yang digunakan untuk melakukan perhitungan kepadatan bakteri menurut Nababan (2008) dan Sari *et al.*, (2013) adalah sebagai berikut :

$$\text{Jumlah Koloni} \times \frac{1}{\text{Pengenceran}} \text{ (cfu. ml}^{-1}\text{)}$$

Pengenceran bertingkat dilakukan dengan cara mengambil 0,5 ml larutan saluran pencernaan dari mikrotube kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 ml larutan fisiologis NaCl 0,9%, kemudian dilanjutkan ke pengenceran selanjutnya. Setelah dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10⁻⁵, sampel pada pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ dikultur pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan metode *pour plate*. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dengan suhu 28°C. Kemudian jumlah koloni pada setiap cawan yang memiliki 30-300 koloni dihitung dan digunakan untuk

menghitung kelimpahan bakteri dengan rumus yang sudah umum digunakan (Bauman, 2015).

II.4.7 Pewarnaan Gram

Isolat dioles tipis-tipis pada kaca objek yang bersih dan difiksasi dengan metode fisik yaitu dengan menggunakan pemanasan bunsen. Kemudian apusan diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air, lalu ditambahkan gram iodium selama 1 menit dan dihilangkan warnanya dengan alkohol. Setelah dekolorisasi, apusan diwarnai dengan saffranin selama 1 menit. Terakhir apusan dicuci dengan air dan dikeringkan. Kemudian slide diamati di bawah mikroskop (Abarethan dan Amsath, 2015).

II.4.8 Parameter Pengamatan

Pengukuran Parameter dilakukan dengan mengambil sampel usus ikan nila untuk setiap perlakuan (1 ekor/akuarium). Parameter dilihat dari jumlah bakteri yang terdapat pada usus ikan nila, dan jika bisa melihat jenis bakteri ini dapat digunakan sebagai salah satu indikator bahwa dalam usus ikan nila terdapat bakteri probiotik yang diharapkan. Parameter penunjang yang diamati dalam penelitian ini yaitu kualitas air. Adapun pengukuran kualitas air yang dilakukan berupa suhu, DO, pH.

a. Suhu

Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme organisme, oleh karena itu penyebaran organisme baik di lautan maupun di perairan air tawar dibatasi oleh suhu perairan tersebut. Suhu sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan biota air. Secara umum laju pertumbuhan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu, dapat menekan kehidupan hewan budidaya bahkan menyebabkan kematian bila peningkatan suhu sampai ekstrim (drastis) (Kordi dan Andi, 2007). Kisaran suhu optimum menurut *Departement of Water Affairs and Forestry* (1996), yaitu pada kisaran 25°C-30°C. Di luar kisaran tersebut, ikan akan mengalami pertumbuhan yang lambat dan penurunan resistensi terhadap penyakit, terutama yang disebabkan karena infeksi bakteri dan jamur.

b. DO

Nilai DO (*Dissolved Oxygen*) menyatakan nilai dari kandungan oksigen terlarut dalam air. Oksigen yang diperlukan biota air untuk pernapasannya harus terlarut dalam air. Oksigen merupakan salah satu faktor pembatas, sehingga bila ketersediaannya di dalam air tidak mencukupi kebutuhan biota budidaya, maka segala aktivitas biota akan terhambat (Kordi dan Andi, 2010).

c. pH

pH (singkatan dari *puissance* negatif de H) yaitu logaritma dari kepekatan ion H (hidrogen) yang terlepas dalam suatu cairan. Derajat keasaman (pH) adalah suatu ukuran dari konsentrasi ion hidrogen yang menunjukkan suasana air tersebut bereaksi asam atau basa. Untuk mendapatkan nilai pH lebih teliti, dapat menggunakan pH meter (Kordi dan Andi, 2007).

III.6 Analisis Data

Adapun analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif kuantitatif yaitu dengan menjelaskan hasil yang diperoleh dan kemudian memasukkannya ke dalam tabel sampel, faktor pengenceran dan jumlah koloni bakteri.

III.7 Alur Penelitian

