

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Perairan dengan tingkat keragaman dan kelimpahan biota air dapat dipengaruhi oleh adanya bahan pencemar yang dapat mengakibatkan perubahan terhadap kualitas perairan (Patty et al., 2019), salah satunya bahan bakar minyak atau bahan hidrokarbon (Tanjung et al., 2019). Kasus tumpahan bahan bakar minyak yang terjadi di Indonesia pada tahun 2018 sebanyak 1.238.619 *barrel* (Syafrizal et al., 2020). Bahan bakar minyak yang termasuk limbah kategori 1 yaitu limbah Bahan, Berbahaya dan Beracun (B3) yang memiliki sifat beracun bagi hewan, berdampak akut terhadap manusia dan berdampak negatif di lingkungan perairan yaitu solar (Peraturan Pemerintah Republik Indonesia, 2014).

Berada pada posisi yang strategis, perairan Indonesia dikenal dengan lalu lintas perairan yang cukup padat dimana hal ini membawa keuntungan sekaligus ancaman. Tingginya lalu lintas di beberapa perairan Indonesia membuka peluang besar terhadap terjadinya pencemaran berupa tumpahan minyak. Tumpahan minyak tersebut bisa berupa tragedi tumpahan minyak yang bersumber dari oil platforms maupun tumpahan minyak (Prastyani dan Basith, 2019).

Pencemaran di perairan akan berdampak bagi biota air, salah satunya ikan lele sangkuriang. Ikan lele sangkuriang dapat digunakan sebagai hewan uji dalam menilai risiko pencemaran karena mampu bertahan hidup dan mampu menolerir kondisi air yang tercemar (Kisworo et al., 2021). Namun, buruknya kualitas air dapat menimbulkan adanya penyakit pada ikan lele dan berdampak pada manusia yang mengonsumsinya (Juanda dan Edo, 2018). Kondisi ikan dapat dinilai dari pemeriksaan organ, salah satunya hati yang sangat sensitif terhadap bahan pencemar (Sari dan Perwira, 2019).

Insang merupakan organ respirasi utama yang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras dengan filamen-filamen di dalamnya. Struktur insang terdiri dari lengkung insang (*arcus branchialis*) berupa tulang rawan berwarna putih dan berbentuk sabit. Tapis insang (*gill rakers*) tersusun dari deretan tulang-tulang rawan pendek berbentuk gerigi dan terletak di sebelah dalam lengkung insang. Filamen insang berwarna merah coklat menyerupai dua ujung tombak (Soliman, 2014). Pemeriksaan organ dapat dilakukan dengan uji histopatologi. Pemeriksaan histopatologi organ hati ikan dilakukan untuk melihat perubahan jaringan yang terjadi akibat infeksi yang memungkinkan terjadinya abnormalitas jaringan (Juanda dan Edo, 2018).

Proses untuk penyelesaian limbah di perairan dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme. Salah satu zat aktif yang memanfaatkan mikroorganisme untuk mendegradasi pencemar air yaitu biosurfaktan (Syafrizal et al., 2020). Biosurfaktan merupakan jenis surfaktan (*surface active agent*) yang dihasilkan oleh mikroorganisme bersifat alami, lebih ramah lingkungan, rendah tingkat toksisitas dan mudah terurai (Najiyah et al., 2013). Biosurfaktan mengandung gugus hidrofobik dan hidrofilik yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan molekul. Biosurfaktan berfungsi sebagai emulsifier untuk meningkatkan efisiensi bioremediasi yaitu salah satu

alternatif pengolahan terhadap pencemaran limbah minyak di perairan (Amelia dan Titah, 2021).

Peran biosurfaktan terhadap pencemaran limbah minyak dapat dinilai dari dampaknya terhadap kondisi ikan lele sangkuriang, terutama pada organ hati. Oleh karena itu, penulis memandang perlu melakukan penelitian tentang “Gambaran Histopatologi Hati Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang Terpapar Limbah Solar Pasca Pemberian Biosurfaktan”.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang terpapar limbah solar pasca pemberian biosurfaktan?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum dari penelitian ini untuk melihat pengaruh pemberian biosurfaktan terhadap gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang terpapar limbah solar.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Tujuan khusus dari penelitian ini untuk mengidentifikasi perubahan yang terjadi pada gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang terpapar limbah solar pasca pemberian biosurfaktan.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu**

Manfaat pengembangan ilmu pada penelitian ini sebagai tambahan pengetahuan dan literatur mengenai gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang terpapar limbah solar pasca pemberian biosurfaktan.

### **1.4.2 Manfaat Aplikasi**

Manfaat aplikasi dari penelitian ini untuk mengembangkan potensi biosurfaktan dalam perbaikan kualitas air yang tercemar limbah solar dilihat dari gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang.

## **1.5 Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini bahwa pemberian biosurfaktan dapat mengubah gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang terpapar limbah solar

## **1.6 Keaslian Penelitian**

Penelitian mengenai “Gambaran Histopatologi Insang Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus var. sangkuriang*) yang Terpapar Limbah Solar Pasca Pemberian Biosurfaktan” belum pernah dilakukan, namun terdapat penelitian serupa, yaitu :

**Tabel 1.** Penelitian serupa. Persamaan dan perbedaan dengan tiga penelitian serupa yang pernah dilakukan sebelumnya

No.	Judul Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	(Simonanto et al., 2008) dengan judul "Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish <i>Prochilodus lineatus</i> exposed to diesel oil"	Penelitian memiliki tujuan serupa melihat dampak paparan limbah solar terhadap hewan akuatik	Perbedaan metoda dan jenis ikan yang digunakan
2.	(Channashettar et al., 2020) dengan judul "Biodegradation of Crude Oil Through Biosurfactant Producing Bacterial Strains Isolated from Oily Sludge"	Penelitian memiliki tujuan serupa yakni memanfaatkan bakteri penghasil biosurfaktan dalam mendegradasi minyak	Perbedaan metode, paramater dan jenis bakteri yang digunakan karena tidak dilakukan identifikasi bakteri

## 1.7 Kajian Pustaka

### 1.7.1 Ikan Lele Sangkuriang

Lele sangkuriang merupakan hasil perbaikan genetika ikan lele yang dilakukan dengan melakukan perkawinan induk ikan lele dumbo di Indonesia. Perkawinan induk lele dumbo di Indonesia perkawinan dilakukan antara induk betina generasi (F2) dari Afrika dan induk F2-6 betina menghasilkan generasi F2 sehingga mendapat hasil lele Sangkuriang (Sunarma, 2004). Menurut (Nwolim dan Wokpeogu, 2018), klasifikasi taksonomi ikan lele Sangkuriang sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Siluriformes
Famili	: Clariidae
Genus	: <i>Clarias</i>
Spesies	: <i>Clarias gariepinus</i>
Strain	: <i>var. sangkuriang</i> (Augusta, 2017)

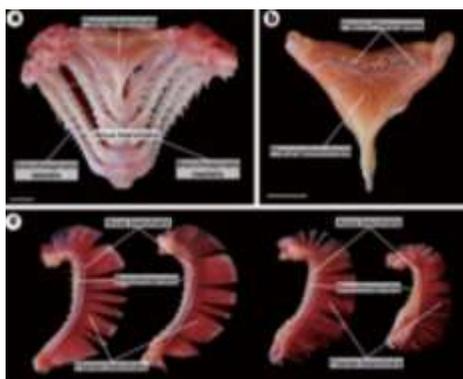


**Gambar 1.** Ciri fisik ikan lele sangkuriang. Ditandai warna abu-abu gelap atau hitam di bagian belakang dan warna putih pada bagian perut serta adanya warna kecoklatan pada tubuhnya (Kordi dan Ghufron, 2010)

Ikan lele sangkuriang memiliki laju pertumbuhan tinggi, mampu hidup dalam tempat terbatas dan kepadatan tinggi dan tahan terhadap penyakit (Suraya et al., 2016). Ikan lele hidup di semua perairan air tawar, dengan kualitas air suhu optimalnya 27°C dengan kandungan oksigen terlarut > 3 ppm, dan pH 6,5-8 (Manik et al., 2022). Jenis ikan lele ini mencapai panjang maksimum 1,7 m dan beratnya bisa mencapai 60kg (130lb). Para peneliti sering menggunakan ikan lele pada percobaan ekotoksikologi (Nwolim dan Wokpeogu, 2018).

### 1.7.2 Insang

#### a. Anatomi dan Fisiologi Insang



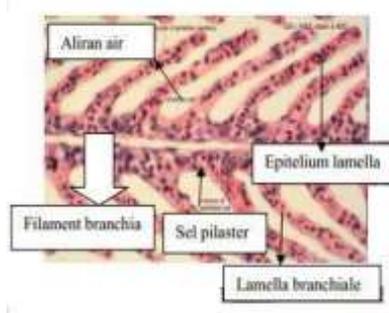
**Gambar 2.** Anatomi insang (Ernita et al., 2020).

Insang merupakan organ respirasi utama yang terbentuk dari lengkungan tulang rawan yang mengeras dengan filamen-filamen di dalamnya. Struktur insang terdiri dari lengkung insang (*arcus branchialis*) berupa tulang rawan berwarna putih dan berbentuk sabit. Tapis insang (*gill rakers*) tersusun dari deretan tulang-tulang rawan pendek berbentuk gerigi dan terletak di sebelah dalam lengkung insang. Filamen insang berwarna merah coklat menyerupai dua ujung tombak (Soliman, 2014).

#### b. Histologi Insang

Lamela memiliki struktur yang terdiri dari jaringan kartilago, sel-sel epitel tipis di dinding luarnya dan membran dasar serta sel-sel tiang sebagai penyangga di bagian dalamnya. Bagian tepi lamela dilapisi oleh epitel yang mengandung jaringan pembuluh darah kapiler (Strzyzewska et al., 2016). Filamen insang tersusun atas lamela primer dan sekunder. Lamela primer adalah tulang rawan yang dilapisi oleh sel mukosa, sel epitel kuboid, dan sel klorida yang terletak tegak lurus dengan lamela sekunder. Lamela primer berfungsi sebagai pertukaran gas. Lamela sekunder merupakan lipatan

lembaran melintang dan tipis yang terdiri dari epitel pipih di dinding luarnya dan tersusun dari jaringan ikat. Lamela sekunder berfungsi untuk mengambil oksigen dari air (Pertiwi et al., 2017).



**Gambar 3.** Histologi insang ikan (Magfirah, 2015).

### c. Kerusakan Insang

Histopatologi yang terjadi pada insang ikan adalah adanya telangeaktasis, nekrosis, edema, hiperplasia, perhimpitan lamela sekunder, fusi, hemoragi, kongesti dan jaringan yang lepas. Adanya kejadian telangeaktasis dapat ditandai dengan kemunculan bentuk gelembung pada ujung lamela sekunder. hipertropi dan hiperplasia merupakan awal terjadinya nekrosis. Jika edema terjadi secara terus menerus mengakibatkan kematian sel (nekrosis) karena sel kehilangan kemampuan untuk memperbaiki kerusakan yang ada (Juanda dan Edo, 2018).

#### 1.7.3 Limbah Solar

Berdasarkan klasifikasi limbah, limbah minyak merupakan bahan terbuang dari hasil aktivitas industri yang bertekstur cair serta bersifat berbahaya dan beracun (B3). Produksi limbah minyak menjadi salah satu kontributor pencemaran lingkungan karena mengandung konstituen toksik (Amelia dan Titah, 2021). Paparan limbah minyak solar dapat berdampak pada penurunan kualitas air tanah karena komposisi hidrokarbon dan sulfurnya (Garcia dan Purwanti, 2022).

Minyak solar merupakan hasil olahan dari minyak bumi. Polutan minyak bumi merupakan limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) karena membahayakan makhluk hidup dan lingkungannya. Pencemaran dari polutan minyak bumi mengakibatkan ekosistem pesisir terganggu. Minyak bumi yang mencemari lingkungan mengalami proses selama menyebar dan terdispersi. Proses fisika-kimia yang bertanggung jawab pada transformasi hidrokarbon minyak bumi antara lain adalah penyebaran, penguapan, emulsifikasi, disolusi, sedimentasi, dan oksidasi (Astuti dan Titah, 2020).

#### 1.7.4 Biosurfaktan

Biosurfaktan adalah zat permukaan aktif yang disintesis dari permukaan sel mikroorganisme. Biosurfaktan mengandung gugus hidrofobik dan hidrofilik yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan untuk meningkatkan kelarutan hidrokarbon minyak, memiliki toksisitas rendah dan memiliki kemampuan biodegradasi. Mekanisme kerja biosurfaktan dengan memanfaatkan bagian kepala yang bersifat

hidrofilik masuk ke fase hidrofilik dan bagian ekor bersifat hidrofobik masuk ke fase hidrofobik. Interaksi dua gugus ke dalam dua fase meningkatkan luas permukaan senyawa hidrokarbon yang larut menyebabkan penurunan tegangan permukaan antar fase (Amelia dan Titah, 2021).

Biosurfaktan yang disintesis oleh bakteri yang mampu mendegradasi minyak dengan mengurangi tegangan permukaan dalam campuran berair dan hidrokarbon yang digunakan dalam pemulihan minyak yang mencemari lingkungan (Zia dan Linda, 2023). Keberhasilan biodegradasi dapat dipengaruhi kondisi lingkungan, konsentrasi minyak, dan kemampuan bakteri mendegradasi. Bakteri mampu mendegradasi minyak karena menghasilkan enzim monooksigenase dan enzim dioksigenase yang mampu memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan energi (Hasymuddin et al., 2016). Enzim monooksigenase dan enzim dioksigenase akan menjadi katalis dalam membentuk hasil metabolisme yang disebut biosurfaktan (Reningtyas dan Mahreni, 2015). Biosurfaktan dapat dihasilkan dari bakteri *Lysinibacillus fusiformis* dan *Bacillus cereus* (John et al., 2020).

#### a. *Lysinibacillus fusiformis*

Bakteri *Lysinibacillus fusiformis* merupakan bakteri yang menghasilkan biosurfaktan dengan kandungan peptida dan lipid berupa biosurfaktan glikolipid dan lipopeptida. Biosurfaktan dari *Lysinibacillus fusiformis* memiliki kandungan enzim *alkane monooxygenase* dimanfaatkan mendegradasi minyak dengan kandungan hidrokarbon alifatik seperti solar. *Lysinibacillus fusiformis* memproduksi biosurfaktan dengan memanfaatkan sumber nitrogen dan karbon pada suhu 35°C dan pH 7 (John et al., 2021). Biosurfaktan glikolipid dapat digunakan sebagai antibiotik dan mampu mendegradasi hidrokarbon. Glikolipid berperan dalam pengolahan limbah minyak bumi dalam proses bioremediasi (Reningtyas dan Mahreni, 2015).



**Gambar 2.** Mikrografi elektron *Lysinibacillus fusiformis* (Sari dan Simarani, 2019)

#### b. *Bacillus cereus*

Bakteri *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif yang menghasilkan biosurfaktan berupa lipopeptida. *Bacillus cereus* memproduksi biosurfaktan dengan memanfaatkan sumber karbon pada suhu 37°C dan pH 6. Biosurfaktan lipopeptida dapat digunakan sebagai antibiotik dan anti jamur (Mardiah et al., 2022). Biosurfaktan

dari *Bacillus cereus* memiliki kandungan enzim *alkane monooxygenase* dimanfaatkan mendegradasi minyak (Mohammed et al., 2023).



**Gambar 3.** Mikrografi elektron *Bacillus cereus*. Dilihat pada gambar bakteri tersebut berbentuk batang (Jiang et al., 2019)

## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari hingga Maret 2024. Hewan uji didapatkan dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Balai Benih Ikan Parang Tambung yang akan dipelihara dan diberikan perlakuan di Konservasi Aquatic Celebes program pemberdayaan masyarakat PT Pertamina Patra Niaga Depot Pengisian Pesawat Udara (DPPU) Hasanuddin. Pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Patologi Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Hasanuddin.

#### 2.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris untuk melihat gambaran histopatologi insang ikan lele sangkuriang yang terpapar limbah solar pasca pemberian biosurfaktan.

#### 2.3 Metode Penelitian

##### 2.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu akuarium berukuran 80 x 40 x 40 cm, *blade* No.11, inkubator, mikroskop Olympus CX22 beserta Optilab 22, mikrotom, meteran, pinset anatomis, plastik sampel, *scalpel* No.3, timbangan digital, dan wadah tertutup

##### 2.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu 24 ekor ikan lele sangkuriang dengan bobot 100-150 gram dan ukuran 30-35 cm, air, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol *absolute* (100%), biosurfaktan dari ODB 3 (*Lysinibacillus fusiformis*) dan ODB 5 (*Bacillus cereus*), *cover glass*, *entellan*, formalin 10%, *handscoon*, label, masker, minyak solar, parafin, perwarna *hematoxilin-eosin*, *object glass*, dan *xylo*.

#### 2.4 Prosedur Penelitian

##### 2.4.1 Persiapan Sampel

Sampel percobaan merupakan ikan lele sangkuriang yang akan diobservasi dan diberi intervensi berupa pemberian biosurfaktan. Sampel dihitung menggunakan rumus *federer* untuk mendapatkan jumlah sampel per kelompok percobaan, yaitu:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

**Keterangan:**

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok/perlakuan

Penelitian akan menggunakan 4 kelompok perlakuan yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok yang diberi perlakuan. Oleh karena itu, nilai  $t$  pada rumus *federer* yang digunakan adalah 4 dan didapatkan hasil sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(4 - 1) \geq 15$$

$$3(n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan rumus *federer* didapatkan jumlah hasil sampel yang akan digunakan, yaitu 6 per kelompok, sehingga total sampel yang digunakan adalah 24 ekor ikan untuk 2 kali pengambilan sampel.

**Tabel 2.** Kelompok percobaan. Sampel penelitian dikelompokkan menjadi 4 kelompok perlakuan, terdapat kelompok kontrol dan kelompok yang diberi perlakuan

Kode	Perlakuan
A	Perlakuan kontrol negatif tanpa limbah solar
B	Perlakuan kontrol positif dengan minyak solar 200 ppm
C	Perlakuan minyak solar 200 ppm + biosurfaktan ODB 3 ( <i>Lysinibacillus fusiformis</i> ) 600 ppm
D	Perlakuan minyak solar 200 ppm + biosurfaktan ODB 5 ( <i>Bacillus cereus</i> ) 600 ppm

Sebelum diberi perlakuan, ikan lele sangkuriang akan diadaptasikan selama 7 hari dan diberi pakan komersil sebanyak 2x sehari secara *ad satiation*. Pemberian biosurfaktan menggunakan perbandingan 3:1 dengan bahan kontaminan (minyak solar) (Sopiah et al., 2011).

#### 2.4.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada hari ke-0 (sebelum pemberian perlakuan) dan hari ke-7 (akhir penelitian). Pengambilan sampel dilakukan dengan terminasi 3 ekor ikan lele sangkuriang pada masing-masing perlakuan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel organ hati yang akan diambil dengan melakukan nekropsi terhadap ikan lele lalu organ insang akan disimpan dalam plastik sampel berisikan formalin 10% dan diberi label berdasarkan kelompok percobaan.

#### 2.4.3 Pembuatan Preparat Histologi

Organ insang diperoleh dengan melakukan nekropsi terhadap ikan lele. Selanjutnya dilakukan pengeluaran organ *viscera* dan insang dipisahkan untuk diisolasi. Selanjutnya fiksasi yang merupakan proses penambahan Formalin 10% yang bertujuan untuk memberhentikan aktifitas sel agar tidak membelah dan mencegah sel/jaringan mengalami pembusukkan (Rahmawanti et. al., 2021). Selanjutnya dehidrasi dilakukan dengan proses pengenceran alkohol menggunakan empat konsentrasi alkohol yaitu alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96% dan alkohol absolut (100%) (Rahmawanti et. al., 2021).

*Embeding* merupakan proses pengecoran sampel dengan parafin menggunakan *mold*/cetakan. Fungsi dari proses *embedding* adalah mencetak sampel di dalam parafin untuk memudahkan proses pemotongan. Pemotongan (*cutting*) merupakan proses yang dilakukan sebelum pewarnaan sampel. Ukuran potongan sampel yang sudah melalui proses *embedding* adalah 4  $\mu\text{m}$  dengan menggunakan alat mikrotom. Tahapan selanjutnya yaitu kaca preparat dimasukkan ke dalam inkubator agar sampel pada preparat mengering (Rahmawanti et. al., 2021).

Pewarnaan (*staining*) adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga jaringan dapat dikenali dan memudahkan dalam pengamatan jaringan dengan mikroskop. Pulasan (pewarna) yang sering digunakan secara rutin adalah pewarnaan yang dapat digunakan untuk memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pulasan hematoksin-eosin (HE). Pada pulasan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan *counterstaining* hematoksin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Pratiwi dan Abdul, 2015).

Penempelan (*Mounting*) merupakan proses penempelan coverglass pada kaca preparat dengan menggunakan cairan perekat yang disebut dengan entellan. Penggunaan coverglass bertujuan untuk melindungi kaca preparat sampel dari lensa mikroskop pada saat pengamatan (Rahmawanti et. al., 2021).

#### **2.4.4 Pengamatan Mikroskopik**

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop, menggunakan perbesaran lensa subjektif 10x dan lensa objektif 10x. Pengamatan dan pengambilan gambar dilakukan dengan menggunakan mikroskop Olympus CX22 beserta Optilab 22, jenis mikroskop cahaya binokuler dilengkapi kamera mikroskop *optilab advanced*. Preparat histologi insang ikan kemudian diamati perubahan struktur sel.

#### **2.5 Analisis Data**

Analisis data dilakukan dengan cara analisis kualitatif. Analisis kualitatif meliputi data visual dengan membandingkan gambaran histopatologi antara kelompok kontrol dan perlakuan dengan mengamati tampilan normal dan kerusakan yang ditemukan. Setelah itu, dilakukan perbandingan dengan pemberian skor (0 sampai 3). Sistem penilaian histopatologi semi-kuantitatif dikembangkan yang terdiri dari indeks dan kriteria tambahan untuk digunakan selama studi longitudinal. Kriteria indeks dipilih

sebagai perubahan patologis umum yang terjadi sebagai respons terhadap setiap gangguan insang.

**Tabel 3.** Deskripsi indeks dan kriteria tambahan serta skor yang relevan untuk protokol penilaian insang (Hiperplasia) (Mitchell et al., 2012).

<b>Patologi (skor)</b>	<b>Hiperplasia</b>
<b>Kriteria indeks</b>	
<b>Tidak ada (0)</b>	Tidak signifikan-tidak ada atau sangat kecil
<b>Ringan (1)</b>	Peningkatan ringan pada sel epitel (tingkat rendah fokal atau meluas hiperplasia, mempengaruhi < 10% dari jaringan insang)
<b>Sedang (2)</b>	Sedang meluas atau multifokal hiperplasia, mempengaruhi 10-50% dari jaringan
<b>Parah (3)</b>	Hiperplasia lamelar yang luas, >50% dari jaringan insang terpengaruh

**Tabel 4.** Deskripsi indeks dan kriteria tambahan serta skor yang relevan untuk protokol penilaian insang (Fusi Lamela) (Mitchell et al., 2012).

<b>Patologi (skor)</b>	<b>Fusi lamela</b>
<b>Kriteria indeks</b>	
<b>Tidak ada (0)</b>	Tidak signifikan-tidak ada atau sangat kecil
<b>Ringan (1)</b>	Fusi fokal filamen sesekali (<10% dari jaringan insang yang terpengaruh)
<b>Sedang (2)</b>	Area fusi multifokal (sedang hiperplasia luas yang mempengaruhi 10-50% jaringan insang) diselingi dengan jaringan insang normal
<b>Parah (3)</b>	Fusi yang luas dan hilangnya arsitektur normal arsitektur normal, (50% jaringan insang terpengaruh)

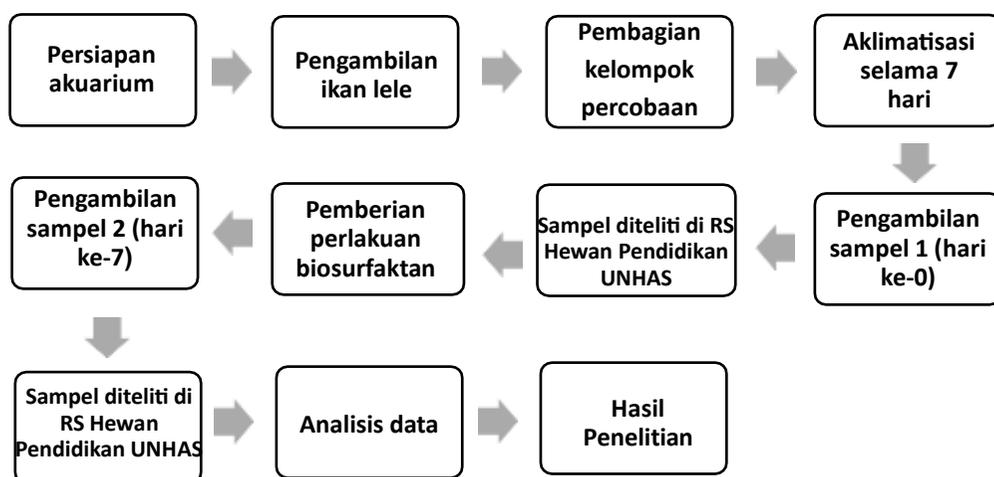
**Tabel 5.** Deskripsi indeks dan kriteria tambahan serta skor yang relevan untuk protokol penilaian insang (Anomali Sel) (Mitchell et al., 2012).

<b>Patologi (skor)</b>	<b>Anomali sel</b>
<b>Kriteria indeks</b>	
<b>Tidak ada (0)</b>	Tidak signifikan-tidak ada atau sangat kecil
<b>Ringan (1)</b>	Tersebar sesekali sel yang mengalami degenerasi atau nekrosis atau area fokus pengelupasan kulit
<b>Sedang (2)</b>	Sel yang mengalami degenerasi, nekrotik sel dan / atau pengelupasan sel di area multifokal di seluruh jaringan
<b>Parah (3)</b>	Nekrosis yang meluas, degenerasi dan/atau pengelupasan terlihat di seluruh bagian

**Tabel 6.** Deskripsi indeks dan kriteria tambahan serta skor yang relevan untuk protokol penilaian insang (Edema Lamela) (Mitchell et al., 2012).

Patologi (skor)	Edema Lamela
<b>Kriteria indeks</b>	
Tidak ada (0)	Tidak ada
Ringan (1)	Pemisahan epitel-kapiler dengan cairan berprotein dalam epitel-kapiler ruang:<10% dari jaringan insang terpengaruh
Sedang (2)	10-50% dari jaringan insang terpengaruh
Parah (3)	>50% dari jaringan insang terpengaruh

## 2.6 Alur Penelitian



**Gambar 4.** Alur penelitian