

Performa Kesehatan Ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus*) Terhadap Pakan Sinbiotik *Bacillus subtilis* yang Diuji Tantang dengan *Aeromonas hydrophila*

Health Performance of Saline Tilapia (*Oreochromis niloticus*) against Synbiotic Feed *Bacillus subtilis* Challenged with *Aeromonas hydrophila*

Rahmi^{*1}, Andi Ninnong Renita Relatami², Akmal³, Bunga Rante Tampangallo³, Iman Sudrajat³, Nur Insana Salam¹, Andi Chadijah¹, Fitri Indah Yani⁴

^{*}) Email koresponden: rahmiperikanan@unismuh.ac.id

¹) Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Makassar, Jl. Sultan Alauddin No. 259, Gn Sari, Kec. Rappocini, Kota Makassar 90221, Sulawesi Selatan

²) Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan km10, Kec. Tamalanrea, Kota Makassar, 90245, Sulawesi Selatan

³) Badan Riset dan Inovasi (BRIN), Jl. Raya Jakarta-Bogor No.32, Pakansari, Kec. Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat 16915

⁴) Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Parepare, Jl. Jend. Ahmad Yani Km. 6, Parepare 91131, Sulawesi Selatan

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui kesehatan ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) dengan pemberian pakan mengandung sinbiotik, yaitu bakteri probiotik *Bacillus subtilis* dan prebiotik tepung pisang 1% terhadap infeksi patogen dengan melihat parameter berupa gambaran darah dan aktifitas fagositosis. Penelitian ini terdiri 4 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu perlakuan pakan buatan tanpa tambahan *B. subtilis*, pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁵CFU/mL, pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁷CFU/mL, dan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁹CFU/mL dengan jumlah sampel yang digunakan sebanyak 20 ekor/perlakuan. Parameter pengamatan gambaran darah (eritrosit, leukosit dan hematokrit) dan aktifitas fagositosis. Jumlah Eritrosit dengan perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁷CFU/mL yaitu 5,50x10⁶sel/mm³ dan terendah diperoleh pada perlakuan dengan penambahan *B. subtilis* 10⁵CFU/mL yaitu 3,5x10⁶sel/mm³. Leukosit tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan penambahan bakteri *B. subtilis* 10⁵CFU/mL yaitu 2,71x10⁴sel/mm³. Nilai kadar hematokrit ikan nila salin berada pada kisaran yang sama 25,83%-56,56%. Diperoleh hasil dimana perlakuan dengan penambahan prebiotik tepung pisang 1% dan dosis probiotik *B. subtilis* 10⁵CFU/mL dalam pakan mampu meningkatkan respon sistem imun ikan nila salin tersebut.

Kata kunci: ikan nila salin; sinbiotik; gambaran darah; fagositik.

ABSTRACT

*This study aims to determine the health of saline tilapia (*Oreochromis niloticus*) on feeding containing synbiotics, namely probiotic bacteria *Bacillus subtilis* and 1% banana flour prebiotic against pathogenic infections by looking at parameters such as blood picture and phagocytic activity. This study consisted of 4 treatments and three replications, namely artificial feed treatment without the addition of *B. subtilis*, artificial feed with the addition of *B. subtilis* 10⁵CFU/mL, artificial feed with the addition of *B. subtilis* 10⁷CFU/mL, and artificial feed with the addition of *B. subtilis* 10⁹CFU/mL with the number of samples used as many as 20 tails/treatment. Parameters for observing blood picture (erythrocytes, leukocytes and hematocrit) and phagocytic activity. The number of erythrocytes treated with artificial feed with the addition of *B. subtilis* 10⁷CFU/mL was 5.50x10⁶cell/mm³, and the lowest was obtained in the treatment with the addition of *B. subtilis* 10⁵CFU/mL, which was 3.5x10⁶cell/mm³. The highest leukocytes were obtained in the treatment with*

the addition of bacteria *B. subtilis* 10^5 CFU/mL, which was 2.71×10^4 cell/mm³. The hematocrit value of saline tilapia was in the same range of 25.83%-56.56%. The results showed that the treatment with the addition of 1% banana flour prebiotic and a dose of 10^5 CFU/mL of probiotic *B. subtilis* in the feed was able to increase the immune system response of the saline tilapia.

Keywords: saline tilapia; synbiotic; blood profile; phagocytic.

I. PENDAHULUAN

Ikan nila salin (*Oreochromis niloticus*) cukup dikenal baik secara nasional maupun internasional dan menjadi sangat populer karena mudah dikembangbiakkan, produksi bibit yang banyak, laju pertumbuhan cepat, mudah beradaptasi dengan lingkungan, ketahanan terhadap penyakit tinggi dan relatif mudah (Anggriani *et al.*, 2020; Nurchayati *et al.*, 2021). Selain itu, ikan nila salin cenderung *omnivorus* sehingga tidak memerlukan pakan khusus (Wardoyo, 2007). Kebutuhan akan ikan nila salin terus meningkat tetapi juga berdampak munculnya berbagai permasalahan pada spesies tersebut, diantaranya terjadi kematian pada ikan nila salin dan peningkatan kerugian secara ekonomi akibat adanya penyakit bakterial (Rahmi *et al.*, 2021). Penyakit bakterial pada ikan nila salin telah banyak ditemui dan juga pengobatan akibat penyakit ini telah banyak diteliti (Hartika *et al.*, 2014; Wirawan *et al.*, 2018). Salah satunya melalui penggunaan antibiotik yang terus menerus dalam mengatasi permasalahan ini, seiring berjalannya waktu dikhawatirkan antibiotik ini akan memberikan dampak buruk pada kesehatan manusia yang mengonsumsi ikan nila salin maupun pada lingkungan hidup. Selain itu penggunaan antibiotik juga dapat mengakibatkan terjadinya resistensi terhadap antibiotik itu sendiri. Untuk menghindari terjadi hal ini, salah satu alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan penggunaan pakan sinbiotik *Bacillus subtilis*. Penggunaan probiotik atau bakteri menguntungkan untuk mengontrol bakteri patogen dengan berbagai mekanisme menjadi salah satu pendekatan alternatif yang menjanjikan (Aly *et al.*, 2008). Penggunaan pakan sinbiotik ini menjadi alternatif yang digunakan untuk pencegahan penyakit (Widanarni *et al.*, 2016).

Penggunaan probiotik sebagai mikroba hidup pada pakan ikan memberikan pengaruh yang menguntungkan karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan ikan (Merrifield *et al.*, 2010). Penambahan prebiotik pada pakan ikan akan menstimulasi perbaikan mikroflora normal didalam saluran pencernaan ikan. Pakan sinbiotik menjadi kombinasi yang seimbang antara probiotik dan prebiotik akan mendukung kelangsungan dan pertumbuhan bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan makhluk hidup (Cerezuela *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2012).

Aeromonas hydrophila dapat menjadi patogen primer yang menyebabkan wabah pada budidaya ikan dengan tingkat mortalitas yang tinggi yang menyebabkan terjadinya kerugian ekonomi pada sektor perikanan (El-Barbary, 2017). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Zulaiha *et al.*, (2017) ditemukan kerusakan pada struktur usus dan hati dari ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Selain itu, pada penelitian sebelumnya juga ditemukan bahwa infeksi dari bakteri patogen *A. hydrophila* dapat menyebabkan perubahan patologi pada jaringan dan organ yang terinfeksi dimana terjadi kerusakan pada hati dan

ginjal (El-Barbary, 2017). Penelitian ini menggunakan *A. hydrophila* dalam uji tantang terhadap ikan nila salin yang diberi pakan sinbiotik terhadap performa kesehatan ikan.

Kesehatan Ikan nila salin dapat dilihat dari parameter gambaran darah pada ikan apabila terjadi infeksi patogen ataupun pengaruh dari bahan pakan yang diberikan. Haematologi dapat digunakan untuk melihat perubahan fisiologi terhadap kondisi stress yang berbeda seperti polutan, penyakit, logam, hipoksia dan lain sebagainya (Nakagawa *et al.*, 2007). Berdasarkan uraian diatas, pemberian pakan sinbiotik diharapkan dapat meningkatkan ketahanan ikan terhadap infeksi patogen dengan melihat parameter berupa gambaran darah dan aktifitas fagositosis yang menjadi salah satu indikator status kesehatan ikan.

II. METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada April sampai Juli 2021 di laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan Maros dan rumah probiotik binaan PT Pertamina DPPU Hasanuddin.

2. Bahan dan Metode

Alat penelitian yang digunakan antara lain alat tulis, baju lab, *cover glass*, *coolbox*, mikroskop, *object glass*, spoit, akuarium ukuran 50×30×30 cm, spoit, jangka sorong, timbangan digital, haemocytometer, tabung eppendorf, pipet eritrosit dan leukosit, hand refraktormeter, botol sampel, ember, kontainer, gelas ukur 2 liter, lakban, spidol, perangkat aerasi, pH meter, dan kamera. Bahan yang digunakan selama penelitian yaitu benih ikan nila salin, isolat bakteri *Aeromonas hydrophila*, air tawar, dan air laut, larutan hayem, larutan methanol, pakan sinbiotik dengan *B. subtilis*, *handscoon*, masker, dan tisu.

3. Metode Penelitian

a. Persiapan Wadah dan Ikan Uji

Wadah pemeliharaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium berukuran 50×30×30 cm sebanyak 12 buah. Ikan nila salin didatangkan dari Balai Budidaya Air Payau Takalar yang digunakan sebagai ikan uji dengan bobot $\pm 0,21$ g. Ikan nila salin dipelihara di akuarium selama 30 hari dengan kepadatan 20 ekor per akuarium dan diberikan pakan sesuai dengan frekuensi setiap kelompok perlakuan. Pakan diberikan secara *ad satiation*, yaitu pakan diberikan bertahap hingga 80% sudah tidak merespon pakan yang diberikan.

b. Persiapan Pakan Sinbiotik

Pakan dasar yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan buatan yang berasal dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan Maros. Pakan uji dibuat dengan menggunakan pakan dasar dan ditambahkan dengan kandidat probiotik *B. subtilis* kemudian ditambahkan prebiotik (tepung pisang) ke dalam larutan probiotik sebanyak 1% yang mengacu pada penelitian Kurniawan *et al.*, (2019) dengan cara *spray* (disemprot). Pemberian pakan simbiotik diberikan pada 4 kelompok perlakuan dan 3 kali ulangan.

c. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental, dengan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20 ekor ikan nila salin dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Berdasarkan penelitian Kurniawan *et al.*, (2019) yaitu perlakuan pemberian pakan sinbiotik terhadap respon imun ikan nila salin. Perlakuan pakan buatan tanpa tambahan *B. subtilis*, Perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^5 CFU/mL, perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^7 CFU/mL), dan perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^9 CFU/mL dengan perlakuan 4 dengan 3 kali ulangan yang totalnya 12 buah akuarium.

d. Uji Tantang

Uji tantang dilakukan pada ikan nila salin pada hari ke 31. Ikan diinjeksi dengan suspensi bakteri patogen *A. hydrophila* dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL sebanyak 0,1 mL per ekor menggunakan jarum suntik steril secara intramuscular. Selanjutnya ikan nila salin dipelihara kembali selama 10 hari dan dilakukan pengamatan.

4. Parameter Pengamatan

Pengukuran Parameter dilakukan dengan mengambil darah ikan untuk setiap perlakuan (3 ekor/akuarium) melalui *vena caudalis* dengan antikoagulan untuk mengukur parameter hematologi. Gambaran darah yang dilihat adalah eritrosit, leukosit dengan menggunakan *haemocytometer*. Kadar hematokrit diukur berdasarkan metode Anderson dan Siwicki (1993) dan aktifitas fagositosis diukur menggunakan metode Martin (2004).

a. Kadar Hematokrit

Kadar hematokrit diukur berdasarkan metode Anderson dan Siwicki (1993). Darah diambil sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian tabung. Ujung tabung yang telah berisi darah ditutup dengan *crytoceal* dengan cara menancapkan ujung tabung tersebut ke dalam *crytoceal* kira-kira sedalam 1 mm sehingga terbentuk sumbat *crytoceal*. Setelah itu, tabung mikrohematokrit tersebut disentrifugasi selama 5 menit pada 5.000 rpm. Panjang bagian darah yang mengendap (a) dan panjang total volume darah yang terdapat di dalam tabung (b) diukur dengan menggunakan penggaris. Kadar hematokrit merupakan banyaknya sel darah (digambarkan dengan padatan atau endapan) dalam cairan darah. Kadar hematokrit darah dapat dihitung menggunakan Persamaan 1.

$$\text{Kadar hematokrit} = \frac{a}{b} \times 100\% \text{ ----- (1)}$$

b. Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit dihitung menurut Blaxhall dan Daisley (1973). Darah sampel diambil dengan menggunakan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah hingga skala 0,5 (pipet untuk mengukur sel darah merah). Lalu ditambahkan larutan hayem hingga skala 101. Jumlah sel darah merah dihitung pada *haemocytometer* dengan bantuan mikroskop pada perbesaran 400 kali. Jumlah sel darah merah dihitung dengan Persamaan 2.

$$\Sigma \text{eritrosit} = \text{rata-rata} \Sigma \text{sel terhitung} \times \frac{1}{\text{vol.kotak besar}} \times \text{pengencer} \text{ ----- (2)}$$

c. Jumlah Leukosit

Jumlah leukosit dihitung menurut Blaxhall dan Daisley (1973). Sampel darah diambil dengan menggunakan pipet yang berisi bulir pengaduk warna putih hingga skala 0,5 (pipet untuk mengukur sel darah putih). Lalu ditambahkan larutan turk hingga skala 11. Jumlah sel darah putih dihitung pada *haemocytometer* dengan bantuan dengan mikroskop pada perbesaran 400 kali. Jumlah sel darah putih dihitung dengan Persamaan 3.

$$\Sigma \text{leukosit} = \text{rata-rata } \Sigma \text{ sel terhitung} \times \frac{1}{\text{vol.kotak besar}} \times \text{pengencer} \text{ ----- (3)}$$

d. Aktivitas Fagositik

Aktivitas fagositik diukur menurut Anderson dan Siwicki (1993). Sebanyak 50 µl sampel darah dan 50 µl suspensi *A. hydrophila* (10^7 sel/mL) dimasukkan ke dalam tabung eppendorf. Kemudian, suspensi dihomogenisasi dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Sebanyak 5 µl suspensi dibuat preparat ulas darah, dan difiksasi dalam larutan metanol selama 5–10 menit. Setelah itu, preparat ulas dikeringudarkan lalu direndam dalam larutan Giemsa selama 10–15 menit. Preparat ulas dibilas dengan akuades dan dikeringudarkan. Setelah itu, preparat ulas dapat diamati di bawah mikroskop. Persentase sel-sel fagositik dihitung dengan mikroskop dan dihitung jumlah sel yang memfagosit bakteri hingga berjumlah 100 sel dengan Persamaan 4.

$$\text{Aktivitas fagositik} = \frac{\Sigma \text{ sel fagosit aktif}}{\Sigma \text{ sel fagosit}} \times 100\% \text{ ----- (4)}$$

e. Kualitas Air

Parameter kualitas air yang diukur meliputi suhu, amonia dan pH. Pengukuran suhu dilakukan setiap hari dengan menggunakan termometer. Pengamatan kadar amonia dan pH dilakukan pada akhir pemeliharaan. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan pH meter ke dalam air. Pengukuran kadar amonia menggunakan metode spektrofotometri.

5. Analisa Data

Penelitian ini menggunakan metode analisis data kualitatif pada gambaran darah ikan nila salin secara deskriptif. Data yang diperoleh dan dianalisa pada gambaran darah meliputi nilai hematokrit, total eritrosit, total leukosit dan aktivitas fagositik. Data disajikan dalam bentuk gambar kemudian dibahas secara deskriptif dengan pendekatan studi literatur.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Gambaran darah Ikan Nila Salin

Hasil pengamatan gambaran darah berupa eritrosit menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan dengan penambahan probiotik dibandingkan perlakuan tanpa penambahan probiotik. Hasil penelitian ikan pada setiap perlakuan menunjukkan nilai kadar eritrosit dengan jumlah tertinggi diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan yaitu $6,875 \times 10^6$ sel/mm³. Lalu diikuti oleh perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^7 CFU/mL yaitu $5,50 \times 10^6$ sel/mm³, kemudian eritrosit pada ikan dengan perlakuan pakan dengan tambahan *B. subtilis* 10^9 CFU/mL yaitu $3,80 \times 10^6$

sel/mm³, dan jumlah eritrosit terendah diperoleh pada perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁵CFU/mL yaitu $3,50 \times 10^6$ sel/mm³. Gambaran darah (eritrosit, leukosit dan hematokrit) pada ikan nila selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Gambaran darah ikan nila salin (*O. niloticus*) selama penelitian.

No	Perlakuan	Gambaran Darah		
		Eritrosit (sel/mm ³)	Leukosit (sel/mm ³)	Hematokrit (%)
1	Pakan buatan tanpa tambahan <i>B. subtilis</i>	6.875.000±425.225,43 ^b	8.000±1.564 ^a	56,56±3,55 ^c
2	Pakan buatan dengan tambahan <i>B. subtilis</i> 10 ⁵ CFU/mL	3.500.000±260.584,28 ^a	27.120±2.491 ^c	25,83±5,34 ^a
3	Pakan buatan dengan tambahan <i>B. subtilis</i> 10 ⁷ CFU/mL	5.500.000±919.238,82 ^a	19.100±1.336 ^b	30,56±8,59 ^b
4	Pakan buatan dengan tambahan <i>B. subtilis</i> 10 ⁹ CFU/mL	3.800.000±535.412,61 ^a	22.250±2.196 ^b	51,52±8,23 ^c

Hasil rata-rata total eritrosit ikan nila salin pada hari pertama menunjukkan bahwa perlakuan tanpa penambahan bakteri kandidat probiotik memiliki kadar eritrosit paling tinggi diikuti perlakuan dengan penambahan bakteri 10⁷CFU/mL, 10⁹CFU/mL dan 10⁵CFU/mL. Hal tersebut dikarenakan ikan mengalami stres akibat perubahan salinitas, semakin tinggi stres ikan akibat tingkat salinitas maka total eritrosit semakin meningkat. Sehingga pada saat ikan stres akibat kadar salinitas berbeda, eritrosit berbanding lurus dengan kadar salinitas. Menurut Wedemeyer dan Yasutake (1977) jumlah eritrosit yang tinggi menandakan bahwa ikan mengalami kondisi yang berakibat stres pada ikan. Hasil yang diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan kandidat probiotik dan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10⁷CFU/mL mengalami peningkatan eritrosit akibat ikan mengalami stres yang meningkat. Seperti halnya pada hematokrit, kadar eritrosit yang rendah menunjukkan terjadinya anemia pada ikan. Sel darah merah merupakan sel darah yang paling banyak jumlahnya dibandingkan dengan sel lainnya (Shabrina *et al.*, 2018). Dalam kondisi normal, jumlah eritrosit mencapai hampir separuh dari volume darah. Jumlah eritrosit normal pada ikan nila yaitu $1,05-3,5 \times 10^6$ sel/mm³ (Putranto *et al.*, 2019).

Hasil pengamatan gambaran darah berupa leukosit menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P < 0,05$) antara perlakuan dengan penambahan probiotik kepadatan 10⁵ CFU/mL, 10⁷ CFU/mL dan 10⁹ CFU/mL dibandingkan perlakuan tanpa penambahan probiotik pada pakan ikan nila salin selama penelitian. Nilai kadar leukosit tertinggi diperoleh pada perlakuan dengan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10⁵ CFU/mL yaitu $2,71 \times 10^4$ sel/mm³, kemudian penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10⁹ CFU/mL, yaitu $2,22 \times 10^4$ sel/mm³ selanjutnya diikuti oleh ikan nila salin dengan penambahan bakteri probiotik kepadatan 10⁷ CFU/mL yaitu $1,91 \times 10^4$ sel/mm³ dan jumlah leukosit terendah terdapat pada ikan tanpa penambahan probiotik yaitu $0,8 \times 10^4$ sel/mm³.

Penambahan probiotik dalam pakan terbukti dapat meningkatkan jumlah leukosit pada ikan nila (Hartika *et al.*, 2014). Hal ini terlihat setelah dilakukan ujiantang dengan *A. hydrophila*, jumlahleukosit padaikan dengan penambahan probiotik *B. subtilis* untuk setiap perlakuan berada pada kisaran normal, sedangkan kisaran leukosit pada ikan tanpa penambahan probiotik sangat rendah. Widanarni *et al.*, (2014) mengemukakan bahwa jumlah kisaran normal leukosit ikan nila salin 20.000 sel/mm³-150.000 sel/mm³. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan. Moyle and Cech (2004) mengemukakan leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh dan membantu membersihkan tubuh dari benda asing, termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Jumlah total leukosit selama penambahan probiotik *B. subtilis*dalam pakan ikan nila salin mengalami peningkatan dibandingkan sebelum penambahan probiotik *B. subtilis* sehingga berperan cukup besar terhadap peningkatan gambaran darah atau ketahanan tubuh ikan nila salin terhadap serangan penyakit dan infeksi.

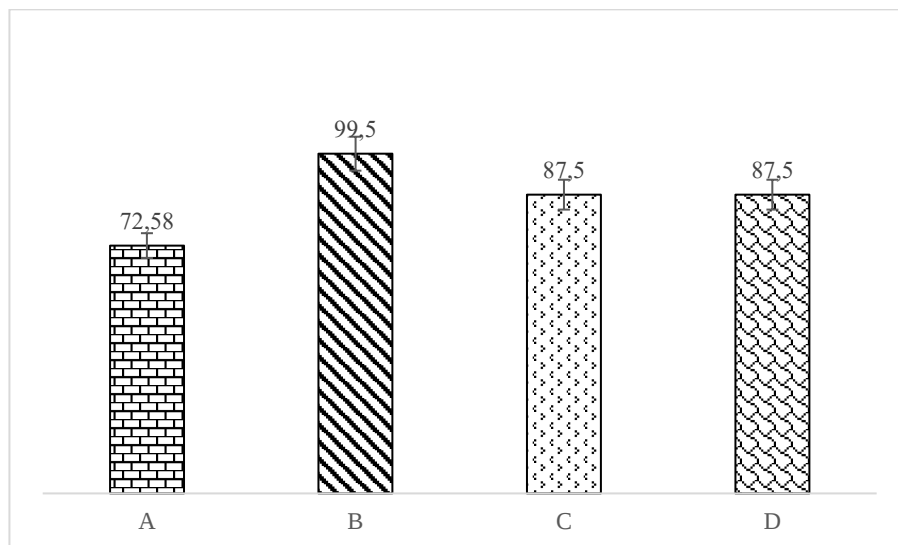
Hasil pengamatan gambaran darah berupa leukosit menunjukkan nilai yang berbeda nyata ($P<0,05$) antara perlakuan dengan dengan penambahan probiotik kepadatan 10⁵ CFU/mL, 10⁷ CFU/mL dan 10⁹ CFU/mLdibandingkan perlakuan tanpa penambahan probiotik pada pakan ikan nila salin selama penelitian. Penambahan probiotik 10⁵ CFU/mLpada pakan ikan nila salin memberikan kenaikan secara perlahan pada perlakuan. Nilai kadar hematokrit ikan nila salin tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa penambahan probiotik yaitu 55,55%, diikuti oleh perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10⁹ CFU/ml yaitu 51,52% setelah itu diikuti oleh perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10⁷CFU/ml yaitu 30,56% dan nilai kadar hematokrit terendah yaitu pada perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10⁵ CFU/ml dengan nilai 25,83% yang artinya dalam darah ikan nila salin mengandung 25,83% sel darah merah. Nilai kadar hematokrit pada perlakuan berdasarkan nilai terendah akan semakin mengalami kenaikan secara perlahan karena ikan sudah mulai beradaptasi dengan lingkungan baru dengan mulai mendapatkan pasokan nutrisi dari pakan yang dimakan. Hal ini diperkuat dengan Kuswardani (2006) bahwa kadar hematokrit bervariasi tergantung faktor nutrisi, umur ikan, jenis kelamin,ukuran tubuh dan masa pemijahan.

Parameter yang berpengaruh terhadap pengukuran volume sel darah merah adalah hematokrit. Hematokrit sendiri merupakan persen volume sel darah merah di dalam darah. Nilai hematokrit normal pada ikan nila berkisar antara 20–30 %, dan pada beberapa spesies ikan laut sekitar 42% (Bond 1979). Apabila terkena infeksi, nafsu makan ikan akan menurun dan nilai hematokrit darah akan menurun. Pada kasus seperti anemia mikrositik, jumlah dan ukuran sel darah merah berkurang, sehingga kadar hematokrit juga rendah (Rejeki dan Haditomo 2014).

Berdasarkan hasil pada Gambar 1, diperoleh bahwa ikan pada perlakuan B memiliki nilai hematokrit yang normal, sedangkan perlakuan A dan D memiliki nilai hematokrit yang tinggi hal ini menandakan ikan A dan D mengalami stress. Hal ini didukung dengan penelitian Azhar (2013) yang menyatakan bahwa kenaikan kadar hematokrit juga terjadi pada ikan yang stress.

2. Aktivitas Fagositik pada Ikan Nila Salin

Salah satu mekanisme respon imun yang dibentuk oleh tubuh ikan dalam mempertahankan diri dari serangan mikroorganisme patogen adalah melalui proses fagositosis. Nilai aktifitas fagositik selama penelitian yang dilakukan cukup bervariasi. Adapun hasil pengamatan terhadap persentase aktifitas fagositik gambaran darah ikan pada setiap perlakuan dengan nilai kadar leukosit pada perlakuan tanpa penambahan probiotik sebesar 72,58%, pada perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10^5 CFU/ml sebesar 99,5%, pada perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik kepadatan 10^7 CFU/ml dan kepadatan 10^9 CFU/ml yaitu sebesar 87,5%. Aktivitas fagositik pada ikan nila selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan: Perlakuan pakan buatan tanpa tambahan *B. subtilis* (A), Perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^5 CFU/mL (B), perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^7 CFU/mL (C), dan perlakuan pakan buatan dengan tambahan *B. subtilis* 10^9 CFU/mL (D).

Gambar 1. Perbandingan Rata-Rata Total Aktivitas Fagositik pada Ikan Uji.

Berdasarkan hasil pada Gambar 1. menunjukkan perlakuan dengan penambahan dosis probiotik 10^5 CFU/mL dalam pakan ikan nila salin mampu meningkatkan respon imun ikan tersebut. Peningkatan aktifitas fagositik pada perlakuan pakan ikan nila salin menunjukkan bahwa penambahan probiotik tersebut dapat meningkatkan kinerja leukosit dalam memfagosit antigen yang masuk. Hasil penelitian tersebut sejalan dengan pernyataan Tizard (1982) yang menyatakan bahwa, salah satu upaya dari tubuh ikan untuk mempertahankan diri terhadap serangan patogen adalah dengan menghancurkan patogen tersebut melalui proses fagositik. Aktivitas fagositik mencerminkan tingkat agresifitas dari sel leukosit dalam menghancurkan antigen yang masuk dalam tubuh.

Pada penelitian ini, hasil menunjukkan bahwa pemberian probiotik melalui pakan dapat meningkatkan aktifitas fagositik ikan yang lebih tinggi dibanding yang tidak mendapat perlakuan probiotik. Peningkatan indeks fagositik pada perlakuan penambahan probiotik

menunjukkan bahwa penambahan probiotik dapat meningkatkan kinerja leukosit dalam memfagosit antigen yang masuk.

Air adalah media tempat ikan dapat hidup dan berkembang sehingga menjadi sangat penting dalam kegiatan pemeliharaan dan budidaya. Kualitas air pada wadah pemeliharaan selama penelitian ini berlangsung meliputi pengukuran Suhu, pH dan kadar amonia. Pengukuran suhu selama penelitian masih berada pada kondisi normal bagi kehidupan ikan nila berkisar anatar 29⁰C-32⁰C. Pengamatan pH pada setiap perlakuan berkisar antara 7 – 8.37 dan nilai pH tersebut masih dalam kisaran nilai normal dalam pemeliharaan ikan nila sesuai dengan persyaratan SNI 7550: 2009 yaitu sebesar 6,5–8,5. Kadar amonia dalam air pada wadah pemeliharaan berkisar antara 0,17–0,37 yang masih dalam batas non-toksik sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningsih dan Gitarama (2020) bahwa nilai toksisitas amonia pada ikan yang dibudidayakan lebih dari 1,5 mg/L. Hal ini menunjukkan penggunaan pakan sinbiotik yang mengandung probiotik tetap menjaga kualitas air dalam kadar stabil dan layak untuk budidaya. Penggunaan probiotik pada lingkungan budidaya perairan memberikan efek pada kualitas air (Watson *et al.*, 2008). Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Pratama *et al.*, (2017) juga menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat menurunkan kadar amonia. Probiotik mengandung mikroorganisme yang dapat mengurai amonia sehingga dapat membantu permasalahan pada kualitas air.

IV. KESIMPULAN

Perlakuan dengan penambahan dosis probiotik *B. subtilis* 10⁵CFU/mL dalam pakan ikan nila salin mampu meningkatkan respon sistem imun ikan nila salin tersebut. Peningkatan indeks fagositik pada perlakuan pakan ikan nila salin menunjukkan penambahan probiotik tersebut dapat meningkatkan kinerja leukosit dalam memfagosit antigen yang masuk.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi Republik Indonesia, LP3M Universitas Muhammadiyah Makassar, DPPU Hasanuddin Makassar, Kepala Pusat Penelitian Perikanan Budidaya Air Payau dan Penyuluhan Perikanan (RICAFE) atas fasilitas laboratorium yang digunakan dalam penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Balai Perikanan dan Budidaya Air Payau Takalar (BPBAP) atas kontribusi ikan nila salin yang digunakan dalam penelitian ini.

VI. REFERENSI

- Anggriani, R, Halid I, H Sari Baso. 2020. Analisis Pertumbuhan Dan Kelangsungan Hidup Benih Ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus*, Linn) Dengan Dosis Pakan yang Berbeda. Fisheries of Wallacea Journal. 1(2):1-9.
- Aly SM, Abdel-Galil Ahmed Y, Abdel-Aziz Ghareeb A, Mohamed MF. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune

- response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. *Fish Shellfish Immunol.* 25(1–2):128–136.doi: [10.1016/j.fsi.2008.03.013](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.03.013)
- Anderson DP dan Siwicki AK.1993. Basic hematology and serology for fish health programs. *Paper presented in the second symposium on disease in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and Environment"*. 1(1):10–17.
- Azhar, F.2013. Pengaruh Pemberian Probiotik dan Prebiotik terhadap Performa Juvenile Ikan Kerapu Bebek (*Chromileptes altivelis*). *Buletin Veterine Udayana.*, 6(1):1-9.
- BSN (Badan Standar Nasional). 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*Bleeker). Kelas Benih Sebar. BSN (Badan Standar Nasional). SNI 7550:2009. 12 hlm
- Bond, C.E. 1979. *Biology of Fishes*. Philadelphia: Saunders Colege Publishing. Hlm 514.
- Blaxhall, PC dan Daisley KW. 1973. Routine Haematological Method For Use With Fish Blood. *J. Fish Biol.* 5(3): 577–581. doi : [10.1111/j.1095-8649.1973](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973).
- Cerezuela R, Meseguer J, Esteban A. 2011. Current knowledge in synbiotic use for fish aquaculture: a review. *J. Aquac. Res. Development.* <http://dx.doi.org/10.4172/2155-95546.S1-008>.
- El-Barbary MI. 2017. Serum biochemical and histopathological changes associated with *Aeromonas hydrophila* isolated from *Oreochromis niloticus* and *Sparus aurata* with multiple antibiotic resistance index. *J. Biol. Sci.* 17(5):222–234.doi:[10.3923/jbs.2017.222.234](https://doi.org/10.3923/jbs.2017.222.234).
- Hartika, R., Mustahal, M., & Noerkhaerin Putra, A. 2014. Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Penambahan Dosis Prebiotik Yang Berbeda Dalam Pakan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 4(4), 259–267. <https://doi.org/10.33512/jpk.v4i4.174>.
- Kurniawan, A., Suminto, S., & Haditomo, A.2019. Pengaruh Penambahan Bakteri Kandidat Probiotik *Bacillus Methylothropicus* Pada Pakan Buatan Terhadap Profil Darah Dan Performa Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Diuji Tantang Dengan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Sains Akuakultur Tropis: Indonesian Journal Of Tropical Aquaculture.* 3 (1): 82-92.doi:<https://doi.org/10.14710/sat.v3i1.3956>
- Kuswardani, Y. 2006. Pengaruh pemberian resin lebah terhadap gambaran darah maskoki *Carassius auratus* yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.
- Lin S, Mao S, Guan Y, Luo L, Luo L, Pan L. 2012. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity, and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture.* 342–343: 36–41.
- Martin, M. L., Pilarsky, F., Onaka, E. M., Nomura, D. T., Fenerick-Junior, J., Ribeiro, K., et al.,. 2004. Hematology and acute inflammatory response of *Oreochromis niloticus* (*Osteichthyes: Cichlidae*) submitted to single and consecutive stress of capture. *Boletim do Instituto de Pesca*, 30(1), 71–80.
- Merrifield DL, Dimitroglou A, Foley A, Davies SJ, Baker RTM, Bogwald J, Castex M, Ringo E. 2010. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for Salmonids. *Aquaculture.* 302: 1-18.
- Moyle, P.B. dan Jr. J. Cech. 2004. *Fishes: An Introduction to Ichthyology*. Prentice Hall, USA, 597 hlm.

- Nakagawa H, Minoru Sato M, Gatlin DM III. 2007. *Dietary Supplements for Health and Quality of Cultured Fish*. Washington DC (US): CABI.
- Nurchayati, S., Haeruddin, H., Basuki, F., & Sarjito, S. 2021. Analisis Kesesuaian Lahan Budidaya Nila Salin (*Oreochromis niloticus*) Di Pertambakan Kecamatan Tayu (Analysis On Land Suitability Cultivation Of Saline Tilapia (*Oreochromis niloticus*) at The Pond in Tayu District). *Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*; Vol 17, No 4 (2021): SAINTEK PERIKANANDO-10.14710/Ijfst.17.4.224-233
<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/saintek/article/view/37067>.
- Pratama WD, Prayogo, Manan A. 2017. Pengaruh Pemberian Probiotik Berbeda dalam Sistem Akuaponik terhadap Kualitas Air pada Budidaya Ikan Lele (*Clarias* sp.). *J. Aquaculture Sci.* 1(1):27–35.doi: <https://doi.org/10.31093/joas.v1i1.4>
- Putranto WD, Syaputra D, Prasetyono E. 2019. Gambaran Darah Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Diberi Pakan Terfortifikasi Ekstrak Cair Daun Salam (*Syzygium polyanthum*). *JAA.* 4(2):22–28.doi:<https://doi.org/10.33019/aquatropica.v4i2.2222>
- Rahmi, Akmal, & Nur Insana Salam, N. 2021. Optimasi Ketahanan Benih Ikan Nila Salin (*Oreochromis niloticus*) Terhadap Infeksi Streptococcosis Optimization of The Resistance of Tilapia Salin (*Oreochromis niloticus*) Seed Against Streptococcosis Infections. *Jurnal galung Tropika.* 10(1). <https://doi.org/10.31850/jgt.v10i1.764>.
- Rejeki, S., & Haditomo, A. H. C. 2014. Pengaruh salinitas yang berbeda terhadap profil darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of aquaculture management and technology*, 3(2), 109–117.
- Shabrina, D. A., Hastuti, S., & Subandiyono. 2018. Pengaruh probiotik dalam pakan terhadap performa darah, kelulushidupan, dan pertumbuhan ikan tawes (*Puntius javanicus*). *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 2(2), 26–35.
- Tizard I. (1982). *Pengantar Immunologi Veteriner*. Airlangga University Press.
- Watson,A.K., Kaspar,H.,Lategan,M.J., & Gibson,L.2008. Probiotic in Aquaculture:The Need, Principles and Mecanism of Action and Screening Processes. *Science Direct. Aquaculture*.272 (2008) : 1- 14.
- Wardoyo, E.W. 2007. Ternyata Ikan Nila, *Oreochromis niloticus* mempunyai Pontensi Yang Besar Untuk Dikembangkan. *Media Akuakultur*, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar, Bogor, 2(1): 147:150.
- Wahyuningsih, Sri dan Arbi Mei Gitarama. 2020. Amonia Pada Sistem Budidaya Ikan. *JII.* 5(2) : 112–125. Doi : [/10.36418/syntax-literate.v5i2.929](https://doi.org/10.36418/syntax-literate.v5i2.929)
- Widarni, Jeanni Indah Noermala dan Sukenda. 2014. Prebiotik, Probiotik, danSinbiotik untuk Mengendalikan Koinfeksi *Vibrio harveyi* dan IMNV pada Udang Vaname. *Jurnal Akuakultur Indonesia.* 13 (1) : 11-20. doi:[10.19027/jai.13.11](https://doi.org/10.19027/jai.13.11)
- Widanarni, W., Sukenda, S., & Septiani, GR. 2016. Aplikasi Sinbiotik Untuk Pencegahan Infeksi Infectious Myonecrosis Virus Pada Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) (Synbiotic Application For Prevention Of Infectious Myonecrosis Virus Infection In White Shrimp (*LitopenaeusVannamei*)). *J Vet Sci.* 10(2), 121–127. doi: [/10.21157/j.ked.hewan.v10i2.5041](https://doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v10i2.5041)
- Wirawan, I. K. A., Suryani, S. A. M. P., & Arya, I. W. 2018. Diagnosa, Analisis dan Identifikasi Parasit yang Menyerang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Pada Kawasan

-
- Budidaya Ikan Di Subak “Baru” Tabanan. *Gema Agro*, 23(1), 63.
<https://doi.org/10.22225/ga.23.1.661.63-78>.
- Wedemeyer G, Yasutake WT. 1977. Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health. Technical paper 89, USA. Department of the Interior Fish and Wildlife Service, Washington, D.C.
- Zulaiha Z, Riau waty M, Syawal H. 2017. Histopathology of Liver and Gut of *Pangasius Hypophthalmus* That Were Fed with Curcumin Extract (*Curcuma domestica*) and Were Infected with *Aeromonas hydrophila*. *JOM Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*. 4(1):1–10.