

**EFEK SUB LETHAL AMONIA AMBIEN TERHADAP HISTOPATOLOGIS IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) YANG DIPELIHARA DALAM SISTEM BIOFLOK**

*Sublethal Effect of Ambient Amonia to Histopathological Changes of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Reared with Biofloc Technology*

**Sumoharjo<sup>1</sup>, Sulistyawati<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorium Sistem dan Teknologi Akuakultur

<sup>2</sup>Laboratorium Toksikologi Perairan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman

e-mail : sumoharjo@gmail.com; sulistyawati58@gmail.com

**ABSTRACT**

*The purpose of this study were to measure the increasing of unionized amonia during start-up period of biofloc system for growing Nile Tilapia and to figure out its effect on histopathological changes. There was only one treatment that designed with three replications, which was 40 liters of water that contained eight fishes about 22 grams/ind. The biofloc system was treated with C/N ratio 12:1. Total Amonia Nitrogen, pH and temperature were measured daily as long as 14 days. The tissue of gill, liver and kidney were cut off at the end of the experiment for histopathological examination. The result of the experiment showed that the peak of unionized amonia concentration achieved  $0.336 \pm 0.05$  mg/l at 10<sup>th</sup> day. Then, decreased rapidly to  $0.003 \pm 0.0009$  mg/l at 14<sup>th</sup> day. The gill, liver, and kidney had regressive changes as physiological sub lethal response of unionized amonia (NH<sub>3</sub>) exposed.*

**Keywords :** *Biofloc, Total Ammonia Nitrogen, NH<sub>3</sub>, Nile Tilapia, histopathological*

**PENDAHULUAN**

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis komoditas akuakultur andalan oleh semua negara produser produk perikanan, termasuk Indonesia. Ikan nila menjadi spesies yang luas pembudidayaannya, tercatat ada 135 negara yang membudidayakan ikan nila (FAO 2014). FAO (2016) menyatakan bahwa udang, salmon, kerang, ikan nila, ikan mas, dan ikan patin merupakan

komoditas akuakultur yang memiliki permintaan dan konsumsi tertinggi secara global. Selanjutnya, ketiga jenis ikan air tawar tersebut (nila, mas, dan patin) akan terus diupayakan peningkatan produksinya hingga 60 % dari total produksi akuakultur dunia pada tahun 2025 mendatang.

Mengingat semakin terbatasnya lahan untuk pembukaan unit akuakultur yang baru (ekstensifikasi), terutama yang dekat dengan wilayah urban (perkotaan), maka pilihan untuk peningkatan produksi ikan

adalah melalui sistem intensif. Lekang (2013) menyatakan bahwa intensifikasi berarti memelihara ikan dengan kepadatan tinggi pada ruang yang terbatas, berbasis pakan buatan, dan input teknologi untuk pengolahan kualitas air dan pengendalian penyakit guna mempertahankan keseimbangan daya dukung sistem.

*Biofloc Technology* (BFT) adalah salah satu teknologi yang diterapkan pada sebuah sistem akuakultur yang super intensif. Konsepnya berawal dari upaya *zero water exchange* atau tidak ada pergantian air selama satu siklus produksi sebagai upaya efisiensi sumberdaya air dan tanggung jawab terhadap lingkungan. Menurut Avnimelech (2006), pada sistem BFT, pengendalian kualitas air (khususnya amonia nitrogen) dilakukan melalui peningkatan kinerja mikrobial endogenus (heterotrofik) dengan menambahkan karbon organik untuk meningkatkan rasio C:N di dalam air budidaya. Untuk menghindari kondisi anaerobik di dasar bak, semua bagian air harus bercampur (*mixing*) melalui penambahan aerasi yang kuat hingga konsentrasi DO mendekati saturasi (jenuh).

Pada sistem BFT, suspensi padat organik (feses dan sisa pakan) akan terus menerus terakumulasi di dalam air budidaya, sementara konsentrasi DO juga diupayakan cukup tersedia sehingga proses konversi

nutrien akan didominasi oleh heterotrofik. Namun demikian, tidak berarti autotrofik seperti *nitrifier* tidak bekerja. Summerfelt, et al. (2004) menyatakan bahwa pada suatu sistem biofilter proses disimilasi oleh autotrofik bekerja bersama-sama dengan heterotrofik untuk menjalankan fungsi metabolisme TAN dan bahan organik pada level trofik yang sama.

Keberadaan *nitrifier* dalam sistem bioflok memungkinkan siklus nitrifikasi juga terjadi, konsentrasi DO yang tinggi dalam sistem akan mengakibatkan proses oksidasi amonia ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) berjalan baik, hal ini tentu dapat dilacak dari keberadaan nitrit ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) yang terukur dalam air budidaya. Menurut Hargreaves (2013) bahwa seringkali terjadi nitrifikasi yang menimbulkan akumulasi nitrat pada sistem bioflok yang sedikit melakukan pergantian air (*low-exchange biofloc system*) dan bahkan nitrifikasi dapat mengambil bagian biofiltrasi sebesar 25-50% nitrogen dari limbah akuakultur sistem intensif.

Secara konsep pada awalnya, BFT ditujukan untuk mereduksi konsentrasi amonia ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) dari sistem akuakultur melalui proses asimilasi oleh bakteri heterotrofik dan mikroalga. Oleh karena itu, kesiapan subsistem-subsistem bioflok sangat penting untuk menunjang stabilitas pengoperasiannya. Namun, keberadaan

amonia dalam sistem akan sangat dinamis (fluktuatif) karena faktor perubahan pH, suhu, ketersediaan DO, dan populasi mikrobial yang tumbuh dalam sistem akuakultur.

Sistem akuakultur yang menggunakan teknologi bioflok selalu diupayakan untuk tidak melakukan penggantian air dalam satu siklus produksi. Tindakan ini memungkinkan akumulasi amonia sehingga mempengaruhi respon fisiologis ikan yang dipelihara (Hargreaves, 2013). Menurut Benli et al (2008) pada konsentrasi 0,14 mg/l NH<sub>3</sub> sudah menyebabkan hiperemia dan hiperplasia pada insang ikan nila.

## METODE PENELITIAN

### 1. Deskripsi Sistem Percobaan

Penelitian ini menggunakan metode eks-post-fakto (riset tindakan), di mana data penelitian diambil langsung dari kegiatan budidaya ikan nila dengan sistem bioflok skala komersial. Oleh karena itu, analisis dan evaluasi data hanya dilakukan pada sampel dari satu populasi tersebut.

Unit percobaan berupa 3 buah bak plastik dengan diameter 0.5 meter, kedalaman 50 cm (volume air 40 liter). Bak ikan tersebut dilengkapi dengan aerasi dari blower dengan daya 88 Watt dan debit udara (*outflow*) 10 liter/menit.

Ikan nila monosex (jantan) ukuran 22.4±2.9 gram ditebar sebanyak 8 ekor ke

dalam setiap bak. Selama 14 hari pemeliharaan, ikan diberi pakan buatan berupa pelet dengan kadar protein 32 %. Untuk memacu pertumbuhan bioflok, ditambahkan larutan sari tebu sebagai sumber karbon sehingga rasio C:N menjadi 15:1. Penentuan rasio C:N ini mengikuti prosedur De Schryver, et al (2008), sebagai berikut :

Asumsi-asumsi yang digunakan dalam penelitian antara lain:

1. Kadar protein pakan 32%
2. Kadar nitrogen dalam pakan 16%
3. Kadar nitrogen pakan yang terbuang ke media budidaya 75%
4. C/N rasio target 15
5. Kadar karbon dalam sari tebu (% C) 20%

Misalkan F adalah banyaknya pakan yang diberikan pada sistem bioflok, maka protein pakan yang diberikan dengan kandungan protein 32% sebanyak:

$$32\% \times F = 0,32 \times F \text{ kg}$$

Jika kadar nitrogen dalam protein pakan adalah 16%, maka jumlah total nitrogen pada pakan adalah:

$$0,32 F = 0,32 \times (16\% F) = 0,0512 \times F$$

Jika sebanyak 75% nitrogen dalam protein pakan terbuang sebagai hasil metabolisme dan dekomposisi pakan tak termakan, maka jumlah total nitrogen yang terbuang dalam air adalah:

$$0,32 F = 75\% \times 0,0512 F = 0,0384 \times F$$

Pada penelitian ini digunakan C/N rasio 15 sehingga jumlah total karbon yang dibutuhkan untuk asimilasi nitrogen anorganik adalah:

$$0,32 F = 15 \times 0,0384 F = 0,576 \times F$$

Jika persentase karbon pada sumber karbon organik (sari tebu) yang digunakan untuk menumbuhkan biomassa bakteri adalah 20%, maka banyaknya C yang perlu ditambahkan ke dalam media budidaya adalah :

$$C = (0,576 \times F) / 0,2 = 2,88 \times F$$

di mana F adalah jumlah pakan berprotein 32 % yang dimakan oleh ikan.

Sumber air untuk pemeliharaan menggunakan air sumur bor yang telah diendapkan selama 24 jam. Selama pemeliharaan tidak dilakukan pergantian air, penambahan air hanya dilakukan ketika air berkurang karena penguapan.

## 2. Pengumpulan Data dan Analisis

- Parameter Kualitas Air

Selama pemeliharaan dilakukan pengukuran kualitas air setiap hari sekali, meliputi; suhu, pH, DO, dan amonia. Tren perubahan konsentrasi amonia akan menjadi acuan bagi analisa histopatologis insang ikan.

Tabel 2.1. Parameter kualitas air

Parameter	Satuan	Metode
Suhu	°C	Termometer Raksa
pH	-	SNI 06-6989.11-

		2004 (menggunakan pH meter Ezdo 5011)
<i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	mg/L	Potensiometri (Menggunakan DO meter Lutron 5510)
Total Amonia Nitrogen (TAN)	mg/L	SNI 06-6989.30-2005 Menggunakan TAOMSUN 722G Visible Spectrofotometer)

Analisis Hubungan Suhu dan Oksigen Terlarut. Perhitungan kelarutan oksigen tersebut dapat menggunakan persamaan Sidik dan Sumoharjo (2013) berikut :

$$DO_i = \left( \frac{132 S}{T^{0,625}} \right) \left( \frac{760}{760 + E_1 / 32,8} \right)$$

Keterangan;

DO<sub>i</sub> : kelarutan oksigen jenuh (mg/l),

S : konstanta saturasi (0,95),

T : suhu (°F),

E<sub>1</sub> : Altitude (feet)

$$\% DO_s = (DO_m / DO_i) \times 100$$

DO<sub>s</sub> : Prosentase DO saturasi

DO<sub>m</sub> : konsentrasi oksigen terlarut yang terukur (mg/l)

Analisis fraksi NH<sub>3</sub> berdasarkan nilai TAN, pH dan Suhu menggunakan persamaan Wiesman *et al.* (2007) :

$$S_{NH_3-N} = \frac{TAN}{1 + K_{D,NH_3} \times 10^{-pH}} ;$$

$$K_{D,NH_3} = \exp \left( \frac{6344}{273 + T} \right)$$

Keterangan;

$S_{NH_3-N}$  = konsentrasi  $NH_3$  yang terbentuk);

$K_{DNH_3}$  = tetapan disosiasi  $NH_3$

T = suhu ( $^{\circ}C$ )

- Perubahan Histopatologis

Setelah 14 hari pemeliharaan, selanjutnya ikan diambil organnya seperti; insang., liver, dan ginjal. Jaringan dari organ tersebut ditampilkan dalam bentuk gambar (visual) beserta identifikasi kerusakan yang terjadi. Pembuatan preparat histologis dilakukan dengan menggunakan metode paraffin dan pewarnaan Hematoxylin Ehrlic-Eosin (Panigoro, et al., 2007). Untuk analisis tingkat kerusakan jaringan akan menggunakan metode kualitatif menurut Takashima dan Hibiya (1995), yaitu :

1. Perubahan Regressif berupa: oedema, atrophy, dan necrosis
2. Anomali peredaran darah : aneurisma, telangiectasia
3. Perubahan Progressif : inflammasi, dan neoplasma, degenerasi.

Perubahan histopatologi untuk insang ikan seperti; oedema, Hyperplasia, dan fusi dua lamela sedangkan untuk liver, jenis kerusakannya seperti; nekrosis, Cloudy Swelling, granuloma, dan Cirrhosis. Pada ginjal kerusakan yang umum terjadi berupa degenerasi hyaline droplet, Inflamasi, dan nekrosis.

Data sintasan, dan berat ikan diukur untuk menganalisa tingkat kelangsungan

hidup dan pertumbuhannya. Selain itu, jumlah pakan yang dikonsumsi ikan juga dicatat untuk menentukan tingkat produksi amonia dan rasio konversi pakan (FCR).

- Sintasan (*survival rate*)

Perhitungan atas persentase sintasan ikan berdasarkan pada jumlah ikan yang mati dan yang masih hidup sampai akhir penelitian (Zonneveld, et al. 1991).

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100$$

Keterangan :

SR = *Survival rate* (Sintasan) (%);

$N_t$  = Jumlah individu pada hari ke-t (ekor);

$N_o$  = Jumlah individu awal (ekor)

- Pertambahan bobot ikan (*Absolute Growth Rate*)

Untuk pengukuran bobot dilakukan hanya pada awal dan akhir penelitian, sampling mingguan tidak dilakukan untuk menghindarkan ikan dari stress selama percobaan (Zonneveld, et al. 1991).

$$GR = W_t - W_o$$

Keterangan :

GR = Laju Pertumbuhan (g/hari);

$W_t$  = Berat ikan pada hari ke-t (g)

$W_o$  = Berat awal Ikan (g)

Berdasarkan atas data hasil pengukuran bobot awal dan bobot akhir, dilakukan prakiraan atas persentase laju pertumbuhan harian (*specific growth rate*) dengan menggunakan rumus Zonneveld et al (1991).

- Laju pertumbuhan harian (*Specific Growth Rate*):

$$\alpha = \frac{\ln W_t - \ln W_0}{t} \times 100$$

Keterangan :

$\alpha$  = Laju pertumbuhan harian (% BW/hari);

$W_t$  = Berat ikan pada hari ke-t (g);

$W_0$  = Berat ikan awal (g)

Selanjutnya, dari hasil perhitungan atas laju pertumbuhan dan jumlah pakan yang diberikan selama percobaan dilakukan perhitungan atas tingkat konversi pakan (Zonneveld *et al.* 1991).

- *Food Conversion Ratio* (FCR) :

$$FCR = \frac{\Sigma P}{W_t - W_0} \times 100$$

Keterangan :

FCR = Food Conversion Ratio (g g<sup>-1</sup>);

$\Sigma P$  = Jumlah pakan yang dikonsumsi (g)

$W_0$  = Berat ikan pada awal percobaan (g)

$W_t$  = Berat ikan pada akhir percobaan (g)

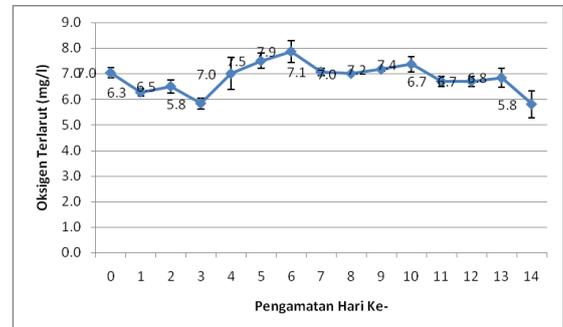
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Karakteristik Kualitas Air Dalam Sistem Bioflok

#### 1. Suhu dan Oksigen Terlarut (*Dissolved Oxygen, DO*)

Selama percobaan, media pemeliharaan ikan dengan teknologi bioflok mendapatkan suplai oksigen rata-rata 10

liter per menit yang berasal dari blower aerator. Hal ini membuat konsentrasi oksigen selama 14 hari percobaan > 5 mg/l.



Gambar 4.1. Konsentrasi oksigen terlarut (mg/l) selama percobaan

Tabel 4.1. Hasil pengukuran konsentrasi oksigen (mg/l) selama percobaan

Hari Ke-	Rata-rata±sd	Kelarutan DO	DO% saturasi
1	7.0±0.2	7.92	88.8%
2	6.3±0.2	7.86	79.7%
3	6.5±0.3	7.87	82.6%
4	5.8±0.2	7.80	74.8%
5	7.0±0.6	7.87	89.0%
6	7.5±0.3	7.92	94.7%
7	7.9±0.4	7.98	98.6%
8	7.1±0.2	7.81	90.5%
9	7.0±0.0	7.72	90.7%
10	7.2±0.1	7.79	92.0%
11	7.4±0.3	7.88	93.5%
12	6.7±0.2	7.88	85.0%
13	6.7±0.2	7.78	86.1%
14	6.8±0.4	7.71	88.7%
15	5.8±0.5	7.69	75.4%

Oksigen terlarut (*Dissolved Oxygen, DO*) sangat berperan penting dalam sistem akuakultur yang menggunakan teknologi bioflok. Konsumsi oksigen sangat tinggi, selain dikonsumsi oleh ikan juga sebagai akibat dari peningkatan rasio C/N dengan penambahan karbohidrat dari sari

tebu sehingga memacu pertumbuhan mikrobial dalam sistem.

Selama 14 hari percobaan tanpa ada pergantian air (*zero discharge*) dalam sistem, menunjukkan fluktuasi konsentrasi oksigen rata-rata adalah  $6,8 \pm 0,3$  mg/l. Meskipun konsumsi oksigen terjadi oleh bakteri, tetapi dari hasil pengukuran pada penelitian ini, suplai oksigen dari aerator tetap menjaga konsentrasi DO hingga 87,3 % saturasi. Pemberian aerasi yang kencang membuat seluruh badan air teraerasi sehingga semua bagian air terhindar dari zona anaerobik. Kondisi DO yang sangat baik dalam sistem bioflok ini juga memberi dampak yang baik pada semua proses biologis dan kimiawi dalam air pemeliharaan ikan.

Fluktuasi konsentrasi DO dalam air selama percobaan dipengaruhi oleh suhu, penurunan suhu akan meningkatkan

kelarutan oksigen dalam air. Hubungan antara suhu dengan DO tersebut terlihat jelas dari konsentrasi DO yang meningkat sebesar rata-rata 7,9 mg/l ketika suhu menurun hingga 27,5 °C sedangkan ketika suhu naik hingga 30,3 °C, konsentrasi DO menurun sampai 5,8 mg/l.

Hubungan antara suhu dan DO ini memberikan persamaan regresi  $Y = -0,392x + 18,19$ . Di mana, setiap peningkatan 1 °C suhu akan terjadi penurunan DO sebesar 0,392 mg/l. Meskipun berdasarkan pada hasil analisis regresi sederhana menunjukkan nilai koefisien ( $R^2$ ) hanya 0,304 yang berarti bahwa suhu hanya memberikan pengaruh sebesar 30,4 % sedangkan 60,6 % sisanya dipengaruhi oleh faktor lain, namun masih menunjukkan hubungan yang signifikan berdasarkan atas hasil uji F ( $P < 0,05$ ).

Tabel 4.1. Hasil uji F<sub>0,05</sub> untuk regresi sederhana dengan variabel suhu (X) dan DO (Y)

<i>Sources</i>	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	1.396559	1.396559	5.681351	0.033087
Residual	13	3.195589	0.245815		
Total	14	4.592148			

Menurut Boyd (1998) bahwa kelarutan oksigen pada perairan tawar ditentukan oleh suhu dan *altitude* (ketinggian lokasi dari permukaan laut).

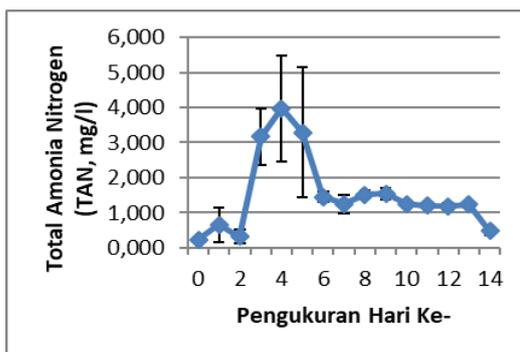
Nilai kelarutan oksigen jenuh dari hasil perhitungan yang berdasarkan pada

persamaan tersebut adalah sebesar 7,84 mg/l, sehingga pada debit aerator 10 liter/menit dapat menyediakan oksigen pada sistem bioflok ini sebesar 112,85 g/hari. Sementara itu, ikan hanya mengkonsumsi oksigen 250 g/kg

pakan/hari (Zonneveld, et al. 1991); (Timmons dan Ebeling, 2010). Maka, pada penelitian ini, ikan hanya mengkonsumsi rata-rata 6,7 g pakan/hari, dan hanya membutuhkan oksigen terlarut sebesar 1,69 g O<sub>2</sub>/hari.

**2. Total Amonia Nitrogen (TAN)**

Menurut Van Rijn *et al.* (2006) total amonia-nitrogen (TAN) terdiri atas amonia tak terionisasi/amoniak (NH<sub>3</sub>) dan amonia terionisasi/amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) sebagai hasil dari metabolisme protein yang diekskresikan melalui insang pada proses osmoregulasi dan mineralisasi protein organik dari feses dan urin. Fraksinasi TAN tergantung pada pH dan suhu, pada pH 7 umumnya TAN berbentuk amonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), tetapi 30 % dari TAN akan berubah menjadi amoniak (NH<sub>3</sub>) pada pH > 8.75.



Gambar 4.2. Konsentrasi TAN selama percobaan

Hasil pengukuran TAN selama percobaan menunjukkan fluktuasi, yakni peningkatan konsentrasi terus terjadi dari hari ke-0 sampai dengan hari ke-4.

Selanjutnya, konsentrasi TAN menurun pada hari ke-6 dan cenderung stabil sampai hari ke-10, tetapi menurun drastis di hari ke-14.

Tabel 4.2. Hasil pengukuran TAN (mg/l)

Hari ke-	Rata-Rata± Standar Deviasi
0	0.226±0.02
1	0.658±0.49
2	0.320±0.20
3	3.173±0.80
4	3.980±1.51
5	3.293±1.87
6	1.451±0.14
7	1.243±0.25
8	1.520±0.11
9	1.540±0.16
10	1.250±0.04
11	1.195±0.05
12	1.177±0.09
13	1.241±0.07
14	0.476±0.12

Dari grafik TAN tersebut menunjukkan bahwa proses akumulasi TAN terjadi pada minggu pertama. Akumulasi tersebut tentu terjadi karena tingkat penyerapan amonia oleh mikrobial masih rendah. Pada masa awal-awal percobaan, nampaknya pertumbuhan populasi mikrobial belum seimbang dengan laju akumulasi nutrisi dalam wadah akuakultur dengan teknologi bioflok ini.

Setelah 4 hari percobaan, penyerapan amonia oleh bioflok cenderung seimbang dengan laju produksi TAN, fluktuasinya cenderung tidak signifikan. Kondisi tersebut terlihat dari

stabilitas TAN hingga hari ke-13 yang

memasuki fase *steady state* selama minggu kedua.

Hasil perhitungan atas konsentrasi NH<sub>3</sub> yang terbentuk dari TAN berdasarkan pada nilai suhu dan pH, menunjukkan nilai NH<sub>3</sub> tertinggi terjadi pada hari ke-4 sebesar 0,29 mg/l dan 0,34 mg/l pada hari ke-10. Timmons dan Ebeling (2010) menyebutkan bahwa batas aman konsentrasi NH<sub>3</sub> untuk ikan nila adalah < 0,025 mg/l.

Tabel 4.3. Hasil analisis fraksi NH<sub>3</sub> (mg/l) yang terbentuk

Hari ke-	Rata-Rata± Standar Deviasi
0	0.020±0.0006
1	0.028±0.0232
2	0.011±0.0043
3	0.293±0.0102
4	0.108±0.0177
5	0.049±0.0101
6	0.033±0.0024
7	0.025±0.0059
8	0.024±0.0044
9	0.034±0.0073
10	0.336±0.0526
11	0.072±0.0218
12	0.082±0.0273
13	0.005±0.0006
14	0.003±0.0009

Konsentrasi NH<sub>3</sub> tersebut secara langsung akan menyebabkan gangguan histopatologi ikan yang dipelihara. Benli, et al (2008) menyatakan bahwa pada konsentrasi NH<sub>3</sub> 0,14 mg/l telah menyebabkan hiperemia dan hiperplasia

berarti bahwa sistem bioflok telah

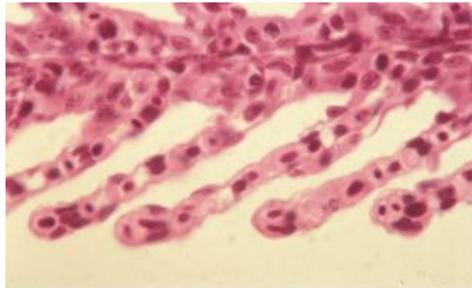
pada sel klorida insang serta cloudy swelling pada jaringan liver. Pada konsentrasi 0,35 mg/l mengakibatkan terjadinya hiperemia, hiperplasia pada sel klorida dan telangiectasis pada lamela insang sedangkan di liver terjadi cloudy swelling dan degenerasi hidropic. Selain itu, kerusakan juga terjadi pada ginjal seperti adanya hiperemia dan glomerulonephritis.

## B. Gambaran Histopatologi ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

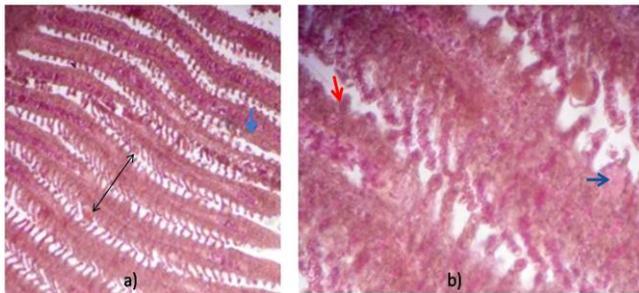
### 1. Histopatologi Insang

Insang seperti diketahui merupakan organ penting yang berperan dalam pertukaran gas, baik gas CO<sub>2</sub> maupun Amonia (NH<sub>3</sub>). Oleh karena itu, gangguan yang terjadi pada organ ini dapat mempengaruhi aktivitas pernafasan ikan. Gambaran perubahan jaringan insang dapat menunjukkan seberapa besar pengaruh dari suatu zat, gas maupun unsur lain yang dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari insang tersebut (Bone dan Moore, 2008; Yoon, et al. 2016).

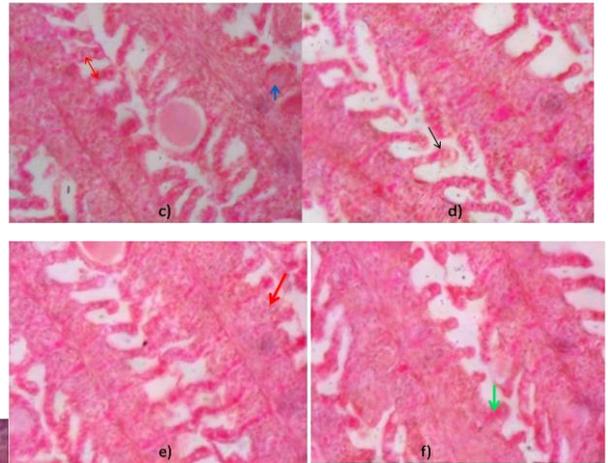
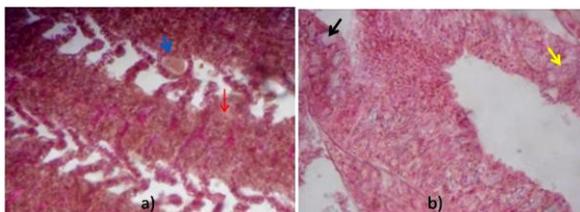
Di bawah ini ditunjukkan beberapa gambaran histopatologis insang ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dipelihara selama 14 hari dalam sistem bioflok.



Gambar 4.3. Gambaran Insang normal  
(Sumber : Genten, *et al.*, 2009)



Gambar 4.4. Insang ikan nila dalam media bioflok selama 6 hari pemeliharaan, a).terlihat adanya microbial yang menempel pada lamella sekunder (panah hitam, posisinya diluar membran sel) serta fusi lamella (panah biru); b). hyperplasia pada lamella dan telangiectasia (panah biru tebal). Fiksatif Bouin; pewarnaan H-E, perbesaran 100 x dan 400 x ; ketebalan irisan 5  $\mu$ m



Gambar 4.5. Insang ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) memperlihatkan (a) hyperplasia sel chloride (panah merah); (b) necrosis sel mucus (panah); (c) telangiectasia lamella sekunder (kepala panah) dan oedema (panah); (d) epitelial lifting (panah); (e) hyperplasia sel-sel epitel; (f) lamellar hypertrophy (panah hijau). Fiksatif Bouin; pewarnaan H-E, perbesaran 400 x ketebalan 5  $\mu$ m

Keseluruhan lamella sekunder mengalami hyperplasia, yang mengindikasikan adanya gangguan pada lamella sekunder, terjadinya pembesaran pembuluh darah pada sel pilaster (telangiectasia) menunjukkan bahwa sel pilaster berusaha memperbesar pembuluh darah, agar sel-sel darah merah dapat mengalir membawa oksigen menuju pembuluh darah afferent yang menuju

jantung. Akan tetapi, adanya penumpukan dari sel-sel darah menyebabkan pembuluh darah menjadi membesar atau membengkak. Hyperplasia epitel lamella umumnya adalah peningkatan jumlah dan berpindahnya sel-sel malpigi pada lamella primer.

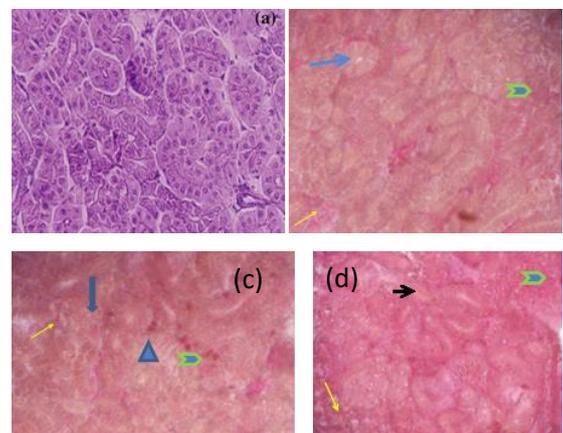
Benli *et.al* (2008) menyatakan bahwa pengaruh dari subletal amonia terhadap insang adalah terjadinya hyperplasia sel-sel chloride, telangiectasia pada lamella dan hyperemia pada epitel. Seperti diketahui dengan jelas bahwa insang merupakan organ target pada ikan, karena organ ini yang pertama bereaksi pada kondisi lingkungan yang tidak sesuai. Beberapa peneliti melaporkan hal yang sama terhadap perubahan yang terjadi akibat amonia. Mallatt (1985) dalam Benli *et.al* (2008); Stickney (1979) mengamati terjadinya telangiectasia, kongesti sel kapiler dan hemmorage pada *Tilapia aureus*, yang diekspose pada konsentrasi akut (2,4 mg/l NH<sub>3</sub>-N) dan konsentrasi kronis (0,43 – 0,53 mg/l NH<sub>3</sub>-N).

Kondisi telangiectasia merupakan karakter perubahan pathologi insang berkaitan dengan trauma fisik atau kimia. Hal ini umum dijumpai pada ikan budidaya yang berkaitan dengan kondisi parasitik atau juga dapat terjadi karena adanya pencemaran kimia dari sisa-sisa

proses metabolisme (Robert, 1989). Seperti diketahui, lamella sekunder merupakan bagian dari insang yang mempunyai peran penting, yaitu sebagai alat respirasi, osmoregulasi dan ekskresi yang sensitif terhadap perubahan fisik dan kimia lingkungan perairan dan mudah mengalami kerusakan akibat adanya pencemar di lingkungan meskipun dalam konsentrasi rendah (Yoon, et. al. 2016). Penggunaan insang untuk mengevaluasi respon fisiologis ikan akibat perubahan lingkungan sudah tepat dilakukan sebagai perangkat biomarker (Montes, et al. 2011).

## 2. Histopatologi Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ginjal merupakan salah satu organ utama dari pengaruh toksik sebagaimana hasil penelitian Thurston, et.al (1978) dalam Benli, et al. (2008)., yang mengamati terjadinya degenerasi hydropik ginjal ikan trout setelah diekspose dalam 0,8 mg/l NH<sub>3</sub>-N. (b)



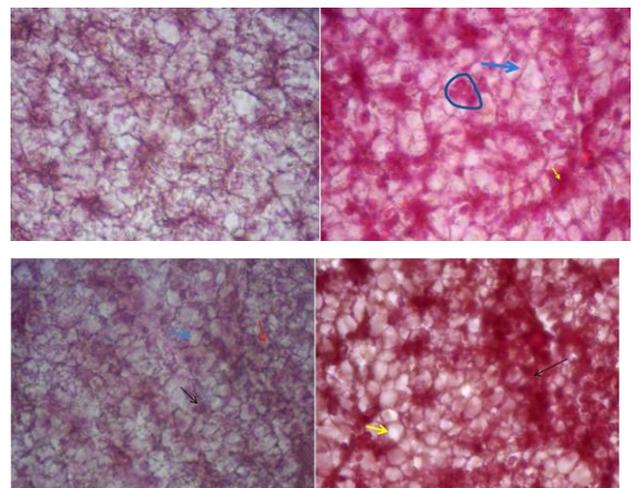
Gambar 4.6. Ginjal ikan nila normal (a) dan gambar ginjal ikan nila dalam media bioflok (b,c dan d). Gambar 7c memperlihatkan kondisi hydrofrik atau degenerasi vakolula (kepala panah), sebagian glomerulus mengalami focal necrosis (panah kuning), Bowman's space (panah biru), tubule distal (panah hitam) dan hematopoietic tissue (panah biru hijau), Fiksatif: Bouin; Pewarnaan Hematoxylin – Eosin; Perbesaran 400 x, Ketebalan irisan 5µm.

Berdasarkan gambaran histopatologinya akan terlihat bahwa sebagian glomerulus mengalami necrosis (panah kuning), dan Hematopoietic tissue terlihat mengalami cloudy swelling (panah hijau). Nekrosis biasanya disebabkan oleh substansi beracun pada konsentrasi tinggi (Rocha, et al. 2010).

Sesuai fungsi utamanya, ginjal berperan dalam mengsekresikan sejumlah besar air yang masuk ke dalam tubuh ikan melalui insang. Oleh karena itu, urine pada ikan air tawar sangat banyak dan rendah konsentrasi elektrolitnya. Di lain pihak, insang merupakan pintu keluar utama untuk produk akhir nitrogen seperti amonia dan urea, akan terpengaruh dengan tingginya nitrit dan amonia di lingkungan hidupnya (Benli, et al, 2008).

Tingginya konsentrasi amonia di lingkungan akan berpengaruh terhadap proses osmoregulasi yang dilakukan oleh ikan, seperti penyusutan glomerulus sehingga dapat mengganggu proses pengaturan kadar cairan tubuh terhadap lingkungan. Menurut Takashima dan Hibiya (1995), renal tubuli dan glomerulus dapat melakukan regenerasi setelah dipulihkan dalam air bersih. Pada tingkat kerusakan menengah (moderat), seperti; nekrosis pada jaringan epitel, penyempitan lumen tubulus proksimal, dan penyusutan glomerulus dapat berregenerasi dalam 14 hari proses pemulihan (Ravindrababu dan Neeraja, 2012).

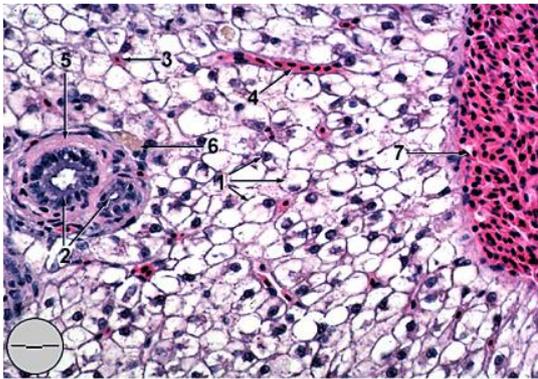
### 3. Gambaran Histopatologi liver Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)



Gambar 4.7. Liver ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dalam media bioflok Kondisi liver mengalami congesti (panah hitam panjang), inti piknotik

(lingkaran), degenerasi lemak (panah kuning tua), necrosis sel-sel kupffer (panah hitam pendek) dan hepatic sel (panah biru), sinusoid terlihat melebar (kepala panah kuning). Fiksatif Bouin; pewarna H-E dan perbesaran 400 x, ketebalan 5  $\mu$ m.

Sebagai pembanding, berikut ditampilkan gambaran histologi liver normal ikan *Pimephales promelas* (Yonkos, et al. 2000)



Keterangan;

1. hepatocytes; 2. empedu; 3. sinusoid dengan 6 hepatocytes yang mengelilingi kapiler; 4. kapiler sinusoid; 5. connective tissue; 6. macrophage; 7. vena.

Gambar 4.8. Histologi liver normal ikan *Pimephales promelas* (Yonkos, et al. 2000)

Liver merupakan organ utama dalam metabolisme dan sekresi, pengaruh toksik bahan kimia biasanya terlihat pada liver. Amonia dapat terbawa masuk melalui pembuluh darah vena pada liver sebagai nutrient dan masuk dalam aktivitas metabolisme liver. Ekspose amonia dapat

menyebabkan vakoulasi glycogen sehingga mengganggu produksi energy (Thurston et al.,1978 dalam Benli et al., 2008).

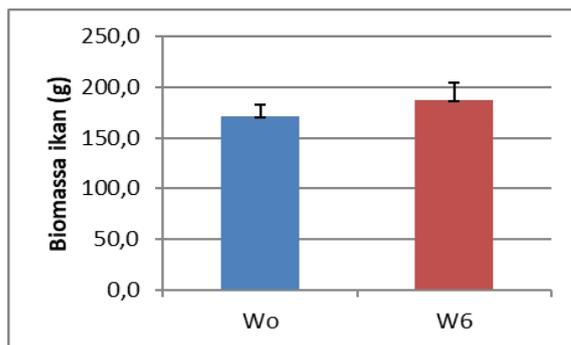
Liver sebagai organ yang mampu melakukan detoksikasi terhadap bahan atau material asing yang masuk ke dalam tubuh ikan, akan memetabolisme setiap material yang masuk ke dalam liver. Sel-sel kupffer bersifat pagosit yang akan menghancurkan bahan-bahan asing, namun apabila sel ini mengalami kematian (nekrosis) akan menyebabkan aktivitas metabolisme terganggu dan liver mengalami kegagalan fungsi fisiologisnya.

Tipe perubahan degenerative adalah degenerasi hidrofik, *cloudy swelling*, vakoulisasi dan fokal nekrosis. Beberapa kondisi ini terlihat pada liver ikan nila yang dianalisis, seperti gangguan pada sinusoid dan terjadinya inti piknotik yang mengganggu kinerja liver sebagai organ metabolik. Kongesti atau penyumbatan dalam pembuluh darah vena pada liver dapat menyebabkan terjadinya atrophy, yaitu berkurangnya ukuran dari sel hepar (liver) dari ukuran normal atau dengan kata lain sel-sel liver menjadi mengecil, materi-materi yang tersimpan di dalamnya menjadi menghilang. Inti sel menjadi piknotik seperti terlihat pada gambar 4.8 di atas. Adanya kondisi necrosis pada sel-sel hati menyebabkan inti menjadi mengecil dan pada tahap lanjutan, menyebabkan inti

menjadi piknotik dan mengalami karyolisis (larutnya membran inti).

### C. Sintasan dan Pertumbuhan Ikan

Pada penelitian ini, pengamatan terhadap sintasan dan pertumbuhan ikan dilakukan pada hari ke-6. Sintasan ikan nila yang dipelihara mencapai 100 %, secara visual semua ikan dari ketiga ulangan percobaan nampak sehat, tidak ada gejala klinis terinfeksi penyakit. Sementara itu, dari segi pertumbuhan sangat rendah



Gambar 4.8. Biomassa ikan pada hari ke-0 dan hari ke-6

Pertumbuhan total ikan nila selama enam hari pemeliharaan hanya sebesar 16 gram, atau secara spesifik sebesar 1.5 %/biomassa/hari. Tentu saja tingkat pertumbuhan ini tidak terlalu signifikan, mengingat ikan nila yang diperlakukan dalam sistem bioflok ini masih dalam proses adaptasi dengan media pemeliharaan baru sehingga pengaruh *new tank syndrome*, dimana konsentrasi amonia

dapat meningkat drastis karena populasi bakteri perombaknya masih sedikit, sehingga efek amonia yang terakumulasi terhadap fisiologis ikan tidak dapat dihindari (Hargreaves, 2013).

Ridha dan Cruz (2001) juga melaporkan tingginya konsentrasi amonia pada minggu pertama pemeliharaan ikan pada percobaan yang menggunakan sistem resirkulasi, yakni berkisar 0.002 sampai 0.089 mg/l  $\text{NH}_3\text{-N}$ . Namun setelah koloni bakteri nitrifikasi mulai terbentuk barulah  $\text{NH}_3\text{-N}$  berkurang dan tetap pada konsentrasi di bawah 0.02 mg/l.

Berdasarkan pada konsumsi pakan, ikan memakan sebanyak 40.4 gram selama 6 hari percobaan, sehingga jika dihitung berdasarkan tingkat pertumbuhannya, maka konversi pakan (*Feed Conversion Ratio, FCR*) terlalu tinggi, yakni 4,2. Nilai FCR tersebut menunjukkan bahwa konsumsi pakan yang besar, namun tidak memberikan pertumbuhan yang berarti.

Nilai FCR yang diperoleh pada minggu awal pemeliharaan seperti dalam penelitian ini tentu sangat jauh jika dibandingkan dengan rata-rata FCR ikan nila pada umumnya. Githukia, et al. (2015) melaporkan bahwa untuk juvenil ikan nila (*Oreochromis niloticus*), FCRnya bisa mencapai 1,51- 1,98 sedangkan Tawwab, et al (2010) merilis data FCR ikan nila

ukuran kebul (*fry*) hingga ukuran sangkal (*juvenile*) adalah 1,81-2,79.

Pada penelitian ini, pertumbuhan ikan rendah dan FCR tinggi. Pengaruh kronis amonia terhadap ikan nila adalah berupa rendahnya pertumbuhan (Hegazi and Hasanein, 2010). Ikan biasanya tidak mau makan selama periode stress karena amonia (Floyd, et al. 2015).

Tingginya rasio pertumbuhan terhadap konsumsi pakan pada penelitian ini tentu sangat relevan dengan konsentrasi amonia yang tinggi pada percobaan ini. Perubahan histopatologis insang, liver, dan ginjal yang diamati menunjukkan adanya pengaruh tersebut. Menurut Hargreaves dan Kucuk (2001), ekspos singkat (beberapa jam) 1,81 mg/l  $\text{NH}_3\text{-N}$  menurunkan laju pertumbuhan harian dan bahkan dengan pemaparan pada konsentrasi 3,23 mg/l  $\text{NH}_3\text{-N}$  (5 mg/l TAN, pH 9.50) dapat menurunkan pertumbuhan 35 % dibandingkan kontrol, tetapi paparan singkat dalam konsentrasi 0,91 mg/l  $\text{NH}_3$  tidak berdampak pada pertumbuhan maupun FCR ikan nila biru (*O. aureus*).

Kontras dengan penelitian ini, dimana ikan terpapar amonia selama 6 hari baru di ukur pertumbuhannya, meskipun kelangsungan hidup tidak dipengaruhi oleh ekspos amonia selama perlakuan. Namun, sangat berdampak pada tingkat

pertumbuhannya. FCR sebenarnya sudah meningkat signifikan pada saat konsentrasi amonia melebihi 0,068 mg/l  $\text{NH}_3$  (El-Syafai, et al. 2004). Ikan yang terpapar amonia pada konsentrasi subletal akan berpengaruh secara fisiologis, biokimiawi, histopatologis, dan tingkah laku ikan (Rand dan Petrocelli, 1985).

Peningkatan FCR pada penelitian ini menunjukkan bahwa pencernaan protein dan sumber energi lainnya telah terganggu. karena secara biokimia bahwa perombakan lemak, karbohidrat, dan khususnya protein sangat dipengaruhi oleh keberadaan amonia, seperti meningkatnya monoamina pada otak dan menurunnya level enzim ATPase (Hegazi and Hasanein, 2010). Selanjutnya, detoksifikasi amonia membutuhkan energi karena peningkatan amonia dalam sistem akuakultur berpengaruh terhadap biosintesis energi sehingga akan memberikan gangguan terhadap pertumbuhan ikan, berupa adanya peningkatan signifikan dari aktivitas enzim glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), 6-phosphogluconate dehydrogenase (6PGDH) di liver ikan nila (*O. niloticus*) yang terpapar  $\text{NH}_3$  pada konsentrasi 0,053-0,575 mg/l (Hegazi, 2011).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa proses akumulasi amonia tertinggi terjadi pada hari ke-6 atau selama minggu pertama sejak instalasi sistem (start-up). Secara histopatologis, konsentrasi amonia selama percobaan menyebabkan insang ikan mengalami gangguan fungsional seperti terjadinya hiperplasia, telangiectasia, fusi lamella, epitel lifting sedangkan ginjal ikan mengalami necrosis, cloudy swelling dan degenerasi. vakuola Untuk liver ikan mengalami congesti, piknotik, degenerasi lemak dan nekrosis.

Disarankan untuk upaya antisipasi agar berhasil dalam kegiatan budidaya ikan menggunakan media bioflok, maka sebaiknya dilakukan aklimatisasi bioflok dengan menggunakan starter dari air media pemeliharaan ikan lain, serta kepadatan ikan yang lebih rendah selama minggu pertama sejak instalasi. Alternatif lain yang perlu dicoba pada periode start-up ini adalah menggabungkan sistem bioflok dengan sistem resirkulasi dan atau biofiltrasi terpisah, sehingga tidak terjadi peningkatan amonia secara drastis yang dapat menghambat laju pertumbuhan ikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penghargaan dan terima kasih disampaikan kepada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman atas dukungan dana terhadap penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para asisten dan mahasiswa yang turut serta membantu dalam kegiatan persiapan unit percobaan dan analisa di laboratorium sistem dan teknologi akuakultur dan laboratorium toksikologi perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Avnimelech Y. 2006. Bio-filters : the need for an new comprehensive approach. *J. Aquacultural Engineering* 34 : 172-178.
- Benli ACK, Koksal G, Ozkul A. 2008. Sublethal Ammonia Exposure of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* : Effect on Gill, Liver, and Kidney Histology. *Chemosphere* 72 : 1355-1358.
- Bone. Q, R.H. Moore. 2008. *Biologi of Fishes*. 3<sup>rd</sup> Edition. Tylor & Francis. ISBN: 978 0 415 37562 7
- Boyd, EC. 1998. Pond water aeration systems. *Aquacultural Engineering* 18: 9 - 40
- El-Shafai, S.A., F.A. El-Gohary, F. A. Nasr, N.P. Van der Steen, H. J. Gijzen. 2004. Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Aquaculture* 232 (2004) 117–127

- De Schryver, P, R. Crab, T. Defoirdt, N. Boon, W. Verstraete. 2008. The basics of bio-flocs technology: The added value for aquaculture. *J. Aquaculture* 277 : 125–137.
- FAO. 2014. *The State of Fisheries and Aquaculture*. Food And Agriculture Organization of The United Nations. Rome. Italy.
- FAO. 2016. *The State of Fisheries and Aquaculture*. Food And Agriculture Organization of The United Nations. Rome. Italy.
- Ruth Francis-Floyd, Craig Watson, Denise Petty, and Deborah B. Poudner. 2015. Ammonia in Aquatic Systems. IFAS Extension. University of Florida.
- Genten, F, T, Terwinghe, A. Dangui. 2009. *Atlas of Fish Histology*. Science Publishers, Enfield, New Hampshire 03748, United States of America.
- Githukia, C.M., EO. Ogello, E.M. Kembenya, A.O. Achieng, K.O. Obiero, J.M. Munguti. 2015. Comparative Growth Performance of Male Monosex and Mixed Sex Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) Reared in Earthen Ponds. *Croatian Journal of Fisheries*, 73 : 20 – 25
- Hargreaves, J. A., S. Kucuk. 2001. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia. *J. Aquaculture*. 195:163-181.
- Hargreaves, JA. 2013. Biofloc Production Systems for Aquaculture. South Regional Aquaculture Center (SRAC). No. 4503.
- Hegazi, M.M. and Hasanein, S.S. 2010. Effects of chronic exposure to ammonia concentrations on brain monoamines and ATPases of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 151:420-425.
- Hegazi, MM. 2011. Effect of chronic exposure to sublethal of ammonia concentrations on NADP+-dependent dehydrogenases of Nile tilapia liver. *Egypt J. Aquat. Biol. & Fish.*, Vol.15, No.1: 15- 28.
- Lekang. O.I. 2013. *Aquaculture Engineering*. 2<sup>nd</sup> Edition. Wiley-Blackwell Publishing. UK.
- Montes, CdS., J.S.R. Filho, R.M. Rocha. 2011. "Histological Biomarker As Diagnostic Tool For Evaluating The Environmental Quality of Guajará Bay – PA - Brazil". Environmental Monitoring, Dr Ema Ekundayo (Ed.), ISBN: 978-953-307-724-6, InTech.
- Panigoro, N., I. Astuti, M. Bahnan, D.C. Prayuda, Salfira, K. Wakita. 2007. *Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-Dasar Histologi Ikan*. Balai Budidaya Air Tawar (BBAT) Jambi dan Japan International Cooperation Agency (JICA).
- Rand, G.M., Petrocelli, S.R., 1985. Introduction. In: Rand, G.M., Petrocelli, S.R. (Eds.), *Fundamentals of Aquatic Toxicology*. Hemisphere Publishing, Washington, DC, pp. 1–28.
- Ravindarbabu. G, and P. Neeraja. 2012. Histological Changes in Certain Tissues of Fish on Ambient Ammonia Stress and Post Ammonia State (RECOVERY). *Int.J. of Adv.Bio.Research*. 2(3): 430-435.
- Ridha, M.T and E.M. Cruz. 2001. Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. reared in a simple recirculating system. *Aquacult. Eng.* 24 : 157-166.
- Rocha, R.M.; R.P. Coelho, C.S. Montes, S.S.D. Santos, M.A.P. Ferreira, 2010. Histopathological evaluation of the liver of *Brachyplatystoma rousseauxii* (castelnau, 1855) from Guajará Bay,

- belém, pará. *Brazilian animal science*. 11: 101-109.
- Sidik, SA dan Sumoharjo. 2013. Sistem Filtrasi dalam Akuakultur. Pusat Kajian Kelautan dan Perikanan (PUSKIP) Universitas Mulawarman. ISBN:978-602-14198-0-9
- Sorour, J.M and D. Al Harbey. 2012. Histological and Ultrastructural Changes in Gills of Tilapia Fish from Wadi Hanifah Stream, Riyadh, Saudi Arabia. *J. of American Science* 8 (2): 180-186.
- Stickney, R.R. 1979. Principles of Warm Water Aquaculture. John Wiley and Sons Inc. New York. Pp 223-229.
- Summerfelt, S.T., Sharrer, M.J., Hollis, J., Gleason, L.E., Summerfelt, S.R., 2004. Dissolved ozone destruction using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. *Aquacultural Engineering* 32, 209–224.
- Suresh, A.V., Lin, C.K., 1992. Effect of stocking density on water quality and production of red tilapia in a recirculated water system. *Aquacult. Eng.* 11, 1–22.
- Takasima, F dan Hibiya, T. 1995. *An Atlas of Fish Histology*. Normal and Patological Features. 2<sup>nd</sup> Edition. Kodasha, Tokyo.
- M.A. Tawwab, M.H. Ahmad, Y.A.E. Khattab, A.M.E. Shalaby. 2010. Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.)
- Timmons, MB and J.M. Ebeling. 2010. *Recirculating Aquaculture*. 3<sup>rd</sup> Edition. Cayuga Aqua Ventures. NRAC Publication No. 401-2010
- Van Rijn J, Tal Y, Schreir HJ. 2006. Denitrification in Recirculating Systems : Theory and Applications. *J. Aquacultural Engineering* 34 : 364-376.
- Wiesman. U, I.S Choi, M. Dombrowski. 2007. *Fundamental of Biological Wastewater Treatment*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim. Germany.
- Yonkos, L.T., Fisher, D.J., Reimschuessel, R., and Kane, A.S. 2000. *Atlas of fathead minnow normal histology*. An online publication of the University of Maryland Aquatic Pathobiology Center (<http://aquaticpath.umd.edu/fhm>).
- Yoon. T.H., S. Won , D.H. Lee , J.W. Choi , C.Ra and J.D. Kim. 2016. Effect of a new phosphorus source, magnesium hydrogen phosphate (MHP) on growth, utilization of phosphorus, and physiological responses in carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 19:39
- Zonnenveld A, E.A. Huisman, J.H. Boon. 1991. *Prinsip-Prinsip Budidaya Ikan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.