

APLIKASI PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI USUS IKAN LELE
(*Clarias batrachus*) UNTUK MENINGKATKAN PERFORMA PERTUMBUHAN
DAN RESISTENSI IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) TERHADAP INFEKSI
Aeromonas hydrophila

(Application of probiotic bacteria isolated from catfish (*Clarias batrachus*)
intestine to enhance growth performance and resistance of carp (*Cyprinus*
carpio) against *Aeromonas hydrophila*)

Febi S.D. Saragih¹, Henky Manoppo², Suzanne L. Undap², Edwin L.A. Ngangi³,
Sammy N.J. Longdong², Diane J. Kusen².

¹Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas
Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115
Sulawesi Utara, Indonesia

²Staf Pengajar Pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi,
Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia
e-mail: febysaragih28@gmail.com

ABSTRACT

The objective of research was to isolate probiotic bacteria from catfish intestine and to examine its effects on the growth and resistance of carp against *Aeromonas hydrophila*. The probiotic isolated from intestine was grown on MRS agar. Fish used in this research was juvenile of carp with an average weight of 5.5 g obtained from Freshwater Aquaculture Board at Tatelu Village, North Sulawesi Province. Before running the experiment, the juveniles were adapted for one weeks in 15 glass aquaria at a density of 15 individuals each. After acclimatization, the fish were fed diet supplemented with probiotic at different concentrations namely 1×10^9 , 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 cfu/mL for three weeks. The fish were fed two times a day at 08.00 am and 17.00 pm with a dose of 5% of body weight per day. At the end of feeding, the fish were challenged with *A. hydrophila*. Data collected included average growth rate, absolute growth, feed efficiency, and food conversion ratio. Research results found that the addition of probiotic into feed was able to increase growth and feed efficiency and reduce food conversion ratio as well ($p < 0.01$). The best growth, feed efficiency and food conversion ratio were obtained in fish fed diet added with probiotic bacteria at 1×10^8 cfu/mL. The highest survival rate was also observed in fish probiotic diet containing 1×10^8 cfu/mL. As conclusion, probiotic bacteria isolated from catfish intestine was potential to improve growth, feed efficiency, reduce food conversion ratio and increase resistance of fish against bacterial pathogen.

Keywords: probiotic, carp, *Aeromonas hydrophila*, feed efficiency, food conversion ratio

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri probiotik dari usus ikan lele dan menguji pengaruh pemberian probiotik dari usus ikan lele terhadap pertumbuhan dan resistensi ikan mas terhadap infeksi *Aeromonas hydrophilla*. Sumber probiotik diisolasi dari usus ikan lele menggunakan media MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) dan bakteri *Aeromonas hydrophilla* ditumbuhkan pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*). ikan uji diambil dari Balai Budidaya Air Tawar Tatelu, Provinsi Sulawesi Utara. ikan diaklimatisasi selama seminggu dalam 15 akuarium dengan kepadatan 15 ekor/akuarium dan berat awal rata-rata 5,5 g. Setelah diaklimatisasi ikan diberi pakan yang ditambahkan bakteri probiotik sebagai perlakuan dengan konsentrasi berbeda yaitu 1×10^9 , 1×10^8 , 1×10^7 , 1×10^6 cfu/mL selama empat minggu sebanyak 5% /berat tubuh/hari dengan frekuensi

pemberian pakan dua kali sehari yaitu jam 08.00 pagi dan jam 17.00 sore. Setelah diberi perlakuan maka diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophilla*. Data yang dikumpulkan terdiri dari laju pertumbuhan harian, pertumbuhan mutlak, efisiensi pakan, konversi pakan dan uji tantang terhadap bakteri patogen. Hasil penelitian mendapatkan bahwa penambahan bakteri probiotik dalam pakan mampu meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan dan menurunkan konversi pakan ($p < 0.01$). Pertumbuhan, efisiensi pakan dan konversi pakan yang terbaik dicapai pada ikan yang diberi pakan dengan penambahan bakteri probiotik 1×10^8 cfu/mL. Kelangsungan hidup ikan mas yang diuji tantang dengan bakteri patogen yang paling tinggi dicapai pada ikan yang diberi pakan 1×10^8 cfu/mL. Sebagai kesimpulan bahwa bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ikan lele berpotensi meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan, menurunkan konversi pakan serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh pada ikan mas.

Kata Kunci: Probiotik, Ikan Mas, *Aeromonas hydrophilla*, Pertumbuhan, Efisiensi Pakan, Konversi Pakan

PENDAHULUAN

Budidaya ikan secara intensif dapat berdampak negatif terhadap usaha budidaya apabila tidak ditangani dengan baik khususnya terhadap kesehatan ikan yang dipelihara. Kepadatan ikan yang tinggi dapat menyebabkan ikan stres sehingga cenderung mudah terserang patogen bahkan dapat mengakibatkan kematian pada ikan yang dipelihara. Aktivitas pemberian pakan yang berlebihan dalam budidaya intensif akan menimbulkan penurunan kualitas air sehingga memudahkan terjadinya penyebaran penyakit (Komarudin dan Slembrouck, 2005 dalam Pasaribu, 2015). Oleh karena itu perlu dilakukan penanggulangan penyakit agar tidak terjadi wabah penyakit yang mengakibatkan kerugian secara ekonomi.

Penanggulangan agar tidak terjadinya penyebaran penyakit dapat dilakukan dengan cara pencegahan dan pengobatan. Upaya pencegahan dapat dilakukan melalui karantina, vaksinasi dan desinfeksi sedangkan upaya pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Pengobatan menggunakan antibiotik belum terlalu efektif digunakan dalam menanggulangi penyebaran penyakit karena adanya residu antibiotik dan bahan-bahan kimia yang menyebabkan patogen kebal antibiotik atau *Antibiotic Resistant*

Pathogen, bioakumulasi, polusi (Babu *et al.*, 2013). Tanaman obat juga sudah dilaporkan sangat efektif mencegah serangan penyakit pada usaha budidaya seperti jahe (Payung *et al.*, 2017), bawang putih (Manoppo *et al.*, 2016) dan tanaman kemangi (Sambuanga *dkk.*, 2018). Probiotik juga sangat efektif dalam penanggulangan penyakit dengan berbagai keuntungan seperti tidak meninggalkan residu pada ikan, manusia, mengatur keseimbangan mikroba intestinalnya (Fuller, 1987), serta merupakan metode yang aman bagi lingkungan akuakultur (Environment friendly aquaculture) yaitu menggunakan probiotik. Probiotik merupakan suplemen tambahan berupa sel-sel mikroba hidup, yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi hewan, inang yang mengonsumsinya

Iribarren *et al.* (2012) juga menyatakan penggunaan bakteri probiotik juga merupakan salah satu solusi internal untuk menghasilkan pertumbuhan dan efisiensi pakan yang optimal, mengurangi biaya produksi sehingga pada akhirnya dapat mengurangi beban lingkungan karena akumulasi limbah di media pemeliharaan.

Penelitian ini akan mengkaji potensi probiotik yang di isolasi dari usus ikan lele sangkuriang (*Clarias sp*) untuk meningkatkan pertumbuhan dan resistensi terhadap patogen. Ikan lele

sangkuriang (*Clarias* sp) dipilih sebagai sumber probiotik karena adanya beberapa kelebihan diantaranya ikan lele dapat hidup dalam kondisi lingkungan yang ekstrim dengan kadar oksigen yang rendah, memiliki sifat pertumbuhan yang relatif cepat, membutuhkan waktu yang cukup pendek untuk mencapai ukuran yang maksimal serta rasa daging yang khas dan dapat dibudidayakan dengan kepadatan yang tinggi (Dinas Kelautan dan Perikanan, 2008).

Diduga kemampuan tumbuh baik tersebut ditunjang oleh asupan nutrisi yang sangat baik sebagai hasil kerja mikroba probiotik yang terdapat dalam organ pencernaan ikan lele. Sejauh ini belum adanya informasi untuk uji resistensi ikan yang diberi probiotik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* terutama terhadap ikan mas sehingga perlu dilakukan penelitian untuk hal tersebut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Akuakultur

untuk pemeliharaan ikan mas secara terkontrol dan pemberian perlakuan, sedangkan untuk pemeliharaan bakteri dan pencampuran probiotik ke dalam pakan dilakukan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Lingkungan dan Toksikologi, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Waktu pelaksanaan penelitian ini berlangsung dari bulan Oktober sampai Desember 2018.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Akuarium, pompa, sibu-sibu, selang, timbangan analitik, autoklaf, laminar flow, inkunator, cawan petri, alat bedah, Bunsen, jarum ose, suntik, sentrifuge, mortar, gelas ukur. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu benih ikan mas, usus ikan lele, media MRS, media TSA, stok bakteri *Aeromonas hydrophila* pakan komersil.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan setiap perlakuan memiliki 3 ulangan. Probiotik sebagai perlakuan terdiri atas 5 konsentrasi probiotik berbeda table 1.

Table 1. Perlakuan dan Konsentrasi pakan dalam Rancangan percobaan

Perlakuan	Konsentrasi
A	Pakan + 0 ml probiotik+ putih telur
B	Pakan + 1×10^9 cfu/ml probiotik
C	Pakan + 1×10^8 cfu/ml probiotik
D	Pakan + 1×10^7 cfu/ml probiotik
E	Pakan + 1×10^6 cfu/ml probiotik

Persiapan Pakan Uji

Pakan uji dibuat dengan cara mencampurkan probiotik yang sudah dimurnikan ke dalam pakan secara merata. Caranya pertama-tama probiotik yang sudah diperbanyak diencerkan sesuai dengan dosis kepadatan yang akan di uji cobakan. Selanjutnya diambil sebanyak 100 mL dari tiap-tiap kepadatan, dimasukkan ke dalam sprayer dan di semprotkan ke dalam pakan secara merata. Pakan yang sudah mengandung probiotik

dikering anginkan kemudian dilapisi (*coating*) dengan putih telur sebanyak 2% kemudian di kering anginkan dan dimasukkan dalam kantong plastik dan disimpan dalam lemari pendingin sampai saat digunakan. Sebagai kontrol, pakan tidak ditambahkan probiotik namun di lapisi (*coating*) dengan putih telur.

Prosedur Penelitian

Sebelum penelitian dilaksanakan, terlebih dahulu dilakukan aklimatisasi

selama 2 minggu. Caranya, benih ikan mas yang diambil dari Balai Perikanan Budidaya Air Tawar (BPBAT) Tatelu, ditebar ke dalam 15 akuarium dengan kepadatan 15 ekor/akuarium masing-masing berukuran 60 x 40 x 40 cm dengan ketinggian air 30 cm. Selama proses aklimatisasi ikan diberi pakan komersial yang belum di tambah bakteri probiotik dengan dosis pemberian pakan 5% dari berat awal tubuh ikan dan diberikan dua kali sehari yaitu pukul 09.00 WITA dan pukul 17.00 WITA. Setelah proses aklimatisasi selesai, ikan selanjutnya diberi pakan yang sudah ditambahkan bakteri probiotik dengan dosis pemberian 5%/berat tubuh/hari dengan frekuensi pemberian dua kali sehari yaitu jam 09. 00 dan 17.00 WITA.

Isolasi Bakteri Probiotik

Usus ikan dikeluarkan, ditimbang sebanyak 1 g kemudian di gerus menggunakan mortar selanjutnya usus yang sudah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan dengan 9 ml NaCl sehingga mendapatkan perbandingan 1:10. Supernatant selanjutnya diencerkan hingga 10^{-2} sampai 10^{-3} kemudian dituang sebanyak 1 mL ke dalam media MRS (*de Man Rogosa Sharpe*) menggunakan batang L hingga rata kemudian di inkubasi di dalam inkubator pada suhu 28 °C selama 24-48 jam.

Kultur Bakteri *A. hydrophila*

Kultur bakteri dilakukan dengan cara menggores menggunakan jarum

➤ Laju Pertumbuhan Harian

$$ADG (\%) = \frac{\ln(\text{Berat akhir} - \text{Berat awal})}{\text{Lama Waktu pemberian}} \times 100$$

Keterangan : ADG(%) = Average Daily Growth (%)

➤ Efisiensi Pakan

$$EP (\%) = \frac{(\text{Berat akhir} - \text{Berat awal})}{\text{Jumlah pakan yang diberikan selama penelitian}} \times 100$$

Keterangan : EP (%) = Efisiensi Pakan (%)

FCR = Total pakan yang diberikan/total pertambahan berat ikan

ose yang dipanaskan diatas api bunsen. Bakteri diambil menggunakan jarum ose dan di gores secara aseptik pada permukaan media kemudian di inkubasi dalam inkubator pada suhu 28 °C selama 24-48 jam kemudian diamati pertumbuhan koloni bakteri. Bakteri yang sudah tumbuh di simpan dalam lemari pendingin dan siap digunakan.

Uji Tantang

Setelah pemberian pakan selama 21 hari maka selanjutnya ikan diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* melalui penyuntikan secara *intraperitoneal*. Sebelum setiap individu ikan disuntik dengan bakteri *A. hydrophila* dengan konsentrasi kepadatan konsentrasi 1×10^6 cfu/mL yang ditetapkan melalui uji Ld50 yaitu uji patogenesitas yang memberikan kematian 50%.

Pengumpulan Data

Data yang dikumpulkan terdiri dari pertumbuhan mutlak, pertumbuhan harian, efisiensi pakan, nilai ubah pakan dan resistensi ikan.

➤ Pertumbuhan mutlak

Pertambahan berat ikan di hitung menggunakan formula Effendie (1997) sebagai berikut :

$$G = Wt - Wo$$

Keterangan :

G = Pertambahan Berat Ikan (g)

Wo = Berat Ikan Pada Awal Penelitian (g)

Wt = Berat Ikan Pada Akhir Penelitian (g).

➤ Kelangsungan Hidup

Resistensi ikan diukur berdasarkan tingkat Kelangsungan hidup setelah diuji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan formula menurut Effendie (1979) sebagai berikut

$$SR (\%) = Nt/No \times 100$$

Keterangan :

SR = Kelangsungan Hidup (%)

Nt = Jumlah Ikan Hidup Pada Akhir Penelitian

No = Jumlah Ikan Hidup Pada Awal Penelitian

Analisis Data

Untuk mengkaji pengaruh pemberian bakteri probiotik terhadap pertumbuhan, efisiensi pakan dan resistensi ikan mas dilakukan analisis ragam (ANOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk mengevaluasi perbedaan pengaruh antar perlakuan. Analisis data dikerjakan dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions (SPSS)* untuk windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan Mutlak

Penambahan bakteri probiotik dengan konsentrasi yang berbeda setiap perlakuan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pertumbuhan mutlak benih ikan mas. Data pertumbuhan benih ikan mas setelah diberi perlakuan selama 21 hari dapat dilihat pada Gambar 1 sedangkan pertumbuhan mutlak dapat dilihat pada Tabel 2.

Resistensi ikan mas

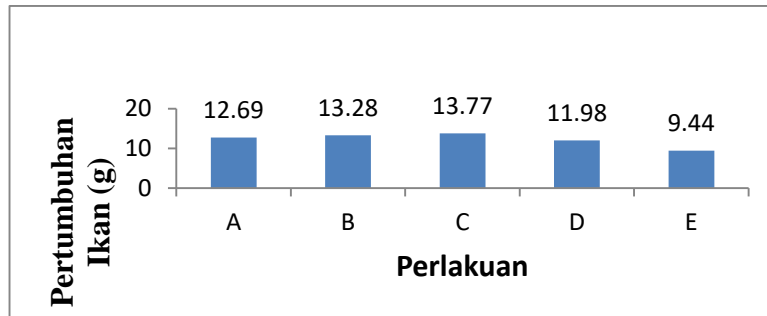
Selain meningkatkan performa pertumbuhan dan efisiensi pakan, probiotik *Lactobacillus* sp yang diisolasi

dari usus ikan lele, probiotik juga mampu meningkatkan kelangsungan hidup ikan terhadap infeksi *A. hydrophila*.

Hasil penelitian yang sama juga telah dilaporkan oleh beberapa peneliti seperti Lakhsmi *et al* (2015), melaporkan bahwa probiotik yang diisolasi dari ikan mas mampu membatasi penyakit *white spot* pada udang, kemampuan ini terjadi karena bakteri probiotik menghasilkan bahan kimia dan bahan-bahan biologi yang bersifat antagonistik.

Karthik *et al* (2014), menggunakan probiotik *Lactobacillus* sp yang diisolasi dari curd sampel. Hasil penelitiannya mendapatkan bahwa udang vannamei yang diberi pakan dengan penambahan probiotik dan di uji tantang dengan *vibrio harveyi* selama 10 hari mengalami mortalitas 12% sedangkan udang yang tidak diberi probiotik (kontrol) mengalami mortalitas 100%, sedangkan pada udang *Penaeus monodon* diberi probiotik kematian mencapai 6% dan pada udang yang tidak diberi probiotik mencapai kematian 80% pada udang.

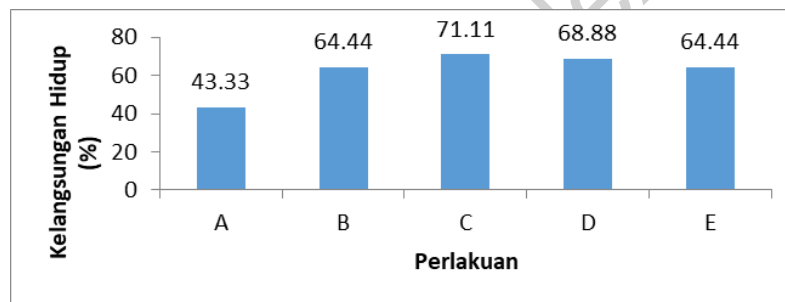
Hasil yang serupa juga dilaporkan oleh Ravi *et al* (2007), dimana *Lactobacillus* yang diisolasi dari air laut, sedimen dan lambung ikan laut mampu menghambat penyakit pada udang yang disebabkan oleh patogen *vibrio harveyi* dan *vibrio* spp pada larva udang. Mulyasari *et al* (2016), melakukan penelitian menggunakan bakteri probiotik yang diisolasi dari organ pencernaan ikan gurami (*Osphronimus goramy*) hasil penelitian mandapatkan bahwa benih ikan nila (berukuran rata-rata $0,85 \pm 0,15$ gram) yang diberi pakan dengan penambahan probiotik selama 40 hari memiliki pertumbuhan harian dan efisiensi pakan yang lebih tinggi dari ikan yang diberi probiotik.



Gambar 1. Grafik pertumbuhan benih ikan mas setelah diberi pakan dengan penambahan probiotik selama 21 hari

Tabel 2. Pertumbuhan mutlak ikan uji yang diberi perlakuan probiotik selama 21 hari

Perlakuan	Pertumbuhan mutlak (gram)
A	5.56±1.23 ^{ab}
B	7.47±0.96 ^c
C	7.90±1.11 ^c
D	6.52±0.31 ^{bc}
E	3.82±0.90 ^a



Gambar 2. Grafik Kelangsungan Hidup ikan mas setelah diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophilla*

KESIMPULAN

1. Pemberian bakteri probiotik *Lactobacillus* sp hasil isolasi dari usus ikan lele secara oral pada benih ikan mas memberi pengaruh yang nyata terhadap performa pertumbuhan, efisiensi pakan, nilai konversi pakan dan resistensi ikan mas terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla*.
2. Pemberian bakteri probiotik dapat meningkatkan performa pertumbuhan, efisiensi pakan dan resistensi ikan terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophilla* dengan dosis terbaik dicapai pada perlakuan C (penambahan bakteri probiotik 1×10^8 cfu/mL).

DAFTAR PUSTAKA

- Babu, D.T., S.P.Antony, S.P.Joseph, A.R. Bright, R. Philip. 2013. Marine yeast *Candida aquatexloris* S527 as a potential immunostimulant black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Journal of Invertebrate Pathology* 122: 243-252.
- Dinas Kelautan dan Perikanan. 2008. *Produksi Nasional Perikanan Air Tawar tahun 2008*. <http://www.dkp.go.id/> Diakses tanggal 7 Oktober 2018.
- Hemaiswarya S., Raja R, Ravikumar R, Calvalho I. S. 2013 Mechanism of action of probiotics. *Brazilian archives of biology and technology* 56 (1) : 113-119.

- Irribaren, D., P. Daga, M.T Moreira., G. Feijoo. 2012. Potential Enviromental Effect of Probiotics used in Aquaculture. *Aquacult Int* 20 : 779-89.
- Karthik, R., A.J.Hussain, R.Muthezhilan. 2014. Effectiveness of *Lactobacillus sp* (AMET1506) as Probiotic against Vibriosis in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* Shrimp Aquaculture. *Bioscience Biotechnology Research Asia* Vol. 11:297-305.
- Lara-Flores M., Olvera-Novoa M.A. 2013. The use of lactic acid bacteria isolated from intestinal tract of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) as growth promotor in fish fed low protein diets. *Latin American Journal of Aquatic Research* 41 (3) : 490-497.
- Lakshmi B., Viswanath, B.Gopal. DVR.S., 2015. In vitro assessment of antiviral efficacy of probiotik bacteria isolated from fish prawn againts white spot syndrome virus (WSSV). in : *New Horizons in Biotechnology*. (Eds. Viswanath B and Indravathi G) Paramount Publishing House, India.
- Manoppo H., M. E.F. Kolopita, R. Malatunduh.2016. Dietary ginger (*Zingiber officinale*) enhance resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of PharmTech Research*. vol 9 (4) : 283-288
- Mulyasari., Widanarni, A. Suprayudi, Jr. Zairin., M.T.D. Sunarno. 2016. Screening of Probiotics From the digestive tract of gouramy (*Osphronemus gouramy*) and their potency to enhance the growth of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *AACC Bioflux* 9 (5), Pp.1121-1132.
- Novitarizky I.,A., H. Manoppo, S.N.J Longdong. 2018. Isolasi bakteri probiotik *Lactobacillus sp* dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Budidaya Perairan*. Vol. 6 (2) :17-24
- Novitarizky I.,A., H. Manoppo, S.N.J Longdong. 2018. Isolasi bakteri probiotik *Lactobacillus sp* dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Budidaya Perairan*. Vol. 6 (2) :17-24
- Pasaribu.W. 2015. Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*impatiens balsamina L*) Untuk Meningkatkan Respon Imun Non Spesifik Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Sam Ratulangi Manado.
- Payung C. N., Tumbol R. A., Manoppo H., 2017 Dietary ginger (*Zingiber officinale*) enhance resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *AACL Bioflux* 10(4):962-968.
- Ravi, A.V., K.S. Musthafa, G. Jegathammbal, K. Kathiresan, S.K. Pandian., 2007. Screening and evaluation of probiotics as a biocontrol agent againt pathogenic Vibrios in marine aquaculture. *Letter in Applied Microbiology* 45 : 219-223
- Sakai, M. 1999. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 172 : 63-92
- Sambuaga, M.E., S.N.J. Longdong, H. Manoppo. 2018. Sensitivitas ekstrak tanaman kemangi (*Ocimum sactum*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal budidaya perairan*. Vol 6(1):1-7
- Sumaraw J.T, H. Manoppo, R.A. Tumbol, I.F.M. Rumengan, H.A. Dien, D.A. Sumilat. 2019. Evalution of the effect probiotik bacteria on growth performance and survival rate of carp, *Cyprinus carpio*. *Jurnal Ilmiah Platax* Vol 7 (1) : 243-255.