

Pemberian Probiotik Multispecies dalam Media Budi Daya Ikan Lele Dumbo untuk Mencegah Penyakit *Motile Aeromonads Septicemia*

(ADDITION OF MULTISPECIES PROBIOTICS IN THE CULTURE MEDIUM
OF AFRICAN CATFISH TO PREVENT THE MOTILE
AEROMONADS SEPTICEMIA DISEASE)

Hilma Putri Fidyandini¹, Munti Yuhana¹, Angela Mariana Lusiasuti²

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga Bogor 16680.
Telp (0251) 8628755, faks : (0251) 8628755 E-mail : myhn@gmx.ch

²Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan (IP4I),
Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar (BPPBAT),
Depok, Indonesia.

ABSTRAK

Salah satu penyakit yang sering menyebabkan kematian dan gagal panen pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*) adalah penyakit *Motile Aeromonads Septicemia* (MAS) karena infeksi *Aeromonas hydrophila*. Guna mengatasi masalah ini perlu dilakukan upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit secara tepat. Penggunaan probiotik merupakan salah satu cara yang ramah lingkungan dalam mengontrol agen patogen. Ikan lele dumbo yang digunakan dalam penelitian memiliki bobot $1,97 \pm 0,7$ g/ekor dipelihara dalam akuarium berukuran $56 \times 39 \times 34$ cm³, diisi air dengan volume 30 liter dengan padat tebar 25 ekor. Pemberian probiotik dilakukan setiap hari selama 28 hari. Penelitian terdiri dari enam perlakuan dengan tiga ulangan yaitu penambahan bakteri dalam media dengan komposisi (A) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik, ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL; (K+) AH26 NA^R 10³ CFU/mL dalam media dan tanpa penambahan probiotik; (K-) tanpa penambahan probiotik dan tanpa AH26 NA^R pada media sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi probiotik ND2 dan L1k dengan konsentrasi masing-masing 10³ CFU/mL dapat menekan jumlah sel *A. hydrophila* sebesar 40% lebih rendah dibandingkan kontrol positif dan dapat meningkatkan respons imun (kadar hematokrit dan aktivitas *respiratory burst*) dan tingkat kelangsungan hidup ikan lele dumbo sampai akhir penelitian. Pemberian probiotik kombinasi *B. subtilis* ND2 dan *S. lentus* L1k melalui media budi daya, menurunkan populasi bakteri *A. hydrophila* dan meningkatkan kelangsungan hidup serta respons imun ikan lele dumbo.

Kata-kata kunci: probiotik; *Clarias gariepinus*; *motile aeromonads septicemia*

ABSTRACT

One of the disease that often led to mortality in catfish resulting in harvest failure is Motile Aeromonads Septicemia (MAS) caused by infection of *Aeromonas hydrophila*. To avoid this situation, the prevention and control of disease is very crucial. An environmentally friendly approach acceptable in aquaculture is the use of probiotics to control the pathogenic infection. African catfishes used in the study weighted of $1,97 \pm 0,7$ g/fish, and were maintained in the aquarium size of $56 \times 39 \times 34$ cm³ filled with 30 liters of water with stock density of 25 fishes. Probiotic was given daily for 28 days. This research was consisted of 6 treatments; (A) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotics ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotics ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotics P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotics ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL; (K+) AH26 NA^R 10³ CFU/mL,

without probiotics; (K-) Without the addition of probiotics and without AH26 NA^R in the media. Each treatment has 3 replications. The results showed that the combination of probiotics ND2Cef^R10³CFU/mL and L1k Tet^R10³CFU/mL can suppress *A. hydrophila* cell density up to 40% lower, induced immune responses (hematocrit level and respiratory burst activity) and increased the survival rate of catfish until the end of the research.

Keywords: multispecies probiotic; *Clarias gariepinus*; motile aeromonads septicemia

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit yang sering menyebabkan kematian ikan lele dumbo adalah penyakit *Motile Aeromonads Septicemia* (MAS) yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, tidak berspora, bersifat katalase dan oksidase positif, bergerak dengan flagela, dan termasuk bakteri anaerobik fakultatif (Erdem *et al.*, 2011). Menurut Uddin dan Al-Harbi (2010), *A. hydrophila* merupakan bakteri patogen yang mendominasi jenis bakteri pada air kolam budi daya ikan lele dumbo sebesar 25%, *Vibrio cholerae* 11,61% dan *Streptococcus* sp 4,46%. Uddin dan Al-Harbi (2012) juga menyatakan bahwa *A. hydrophila* juga mendominasi jenis bakteri pada air kolam budi daya polikultur ikan lele dumbo dan ikan mas yaitu sebesar 29,93%, sedangkan *Streptococcus* sp. sebesar 2,72%, dan *S. putrefaciens* sebesar 12,25%.

Upaya untuk mencegah agar ikan tidak ter-serang penyakit adalah dengan meningkatkan daya tahan tubuh ikan atau dengan mengontrol lingkungan budi daya. Pengendalian lingkungan budi daya dapat dilakukan dengan cara penambahan probiotik melalui media pemeliharaan. Probiotik merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memodifikasi komposisi populasi bakteri dalam saluran pencernaan, air, sedimen serta dapat digunakan sebagai agen biokontrol dan bioremediasi (Flores, 2011).

Sebagai agen biokontrol, probiotik berperan sebagai musuh alami pencegah kerusakan yang disebabkan oleh mikroorganisme yang merugikan sampai batas yang dapat ditoleransi (Nayak, 2011). Sebagai agen bioremediasi, probiotik berperan dalam memperbaiki kualitas air dan mengurangi senyawa toksik.

Fyzul *et al.* (2007) menyatakan bahwa *Bacillus subtilis* (AB1) efektif sebagai probiotik untuk menghambat infeksi *Aeromonas* sp. pada ikan *rainbow trout*. Hasil penelitian Ravi *et al.*, (2007) menyatakan bahwa probiotik dari

jenis *Paenibacillus* spp., *Bacillus cereus* dan *Paenibacillus polymyxa* yang diaplikasikan lewat air dapat menghambat pertumbuhan *Vibrio* pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Penelitian mengenai aplikasi probiotik multispecies sebagai biokontrol agen patogen pada budi daya ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) belum banyak dilaporkan, sehingga penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh penambahan probiotik untuk meningkatkan kinerja budi daya, serta menentukan kombinasi probiotik multispecies yang efektif untuk menekan populasi *A. hydrophila* pada media budi daya ikan lele dumbo.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Kultur Sel Probiotik dan Agen Patogen

Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah probiotik *B. subtilis* (ND2), *B. cereus* (P23), dan *Staphylococcus lentus* (L1k), sedangkan patogen yang digunakan adalah *A. hydrophila* (AH26). Isolat bakteri ND2, P23, dan AH26 merupakan koleksi dari BPPBAT Bogor, sedangkan isolat L1k merupakan koleksi FPIK, IPB. Kultur sel probiotik dilakukan dengan cara mengambil koloni kemudian dikultur dalam media *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator bersuhu 28°C. Probiotik yang telah dikultur pada media TSA diinokulasikan ke dalam media cair *Tryptone Soya Broth* (TSB) 10 mL, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C di dalam inkubator. Kultur sel patogen *A. hydrophila* AH26, dilakukan dengan menggunakan media selektif yaitu *Rimler Shotts* (RS). Bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media RS diinokulasikan ke media TSA dan diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator bersuhu 28°C. Bakteri *A. hydrophila* yang telah dikultur pada media TSA dipindah dan diinokulasikan ke dalam media cair TSB 10 mL dan diinkubasi dalam inkubator bersuhu 28°C selama 24 jam.

Uji *In Vitro*, Pemberian Penanda Resistensi Antibiotik

Antibiotik yang digunakan dalam pemberian penanda ini adalah *Nalidixic Acid* (NA) untuk AH26, *cefadroxil* (Cef) untuk ND2, *ciprofloxacin* (Cip) untuk P23 dan *tetrasiklin* (Tet) untuk L1k dengan dosis antibiotik tersebut masing-masing 100 µg/mL. Bakteri probiotik dengan penanda ND2 Cef^R 100 µg/mL, P23 Cip^R 100 µg/mL, L1k Tet^R 100 µg/mL dan bakteri patogen dengan penanda AH NA^R 100 µg/mL.

Uji *In Vivo*

Ikan lele dumbo yang digunakan berasal dari petani ikan lele dumbo Desa Bojong Gede, Bogor. Ikan tersebut memiliki bobot 1,97±0,70 g/ekor dipelihara dalam akuarium berukuran 56x39x34 cm³, diisi air dengan volume 30 liter dengan padat tebar 25 ekor. Pemberian probiotik dilakukan setiap hari selama 28 hari. Pemberian pakan dilakukan setiap pagi dan sore hari menggunakan pakan komersil dengan kadar protein 34%. Selama penelitian berlangsung tidak dilakukan pergantian air. Konsentrasi yang diberikan pada uji *in vivo* merupakan hasil konsentrasi terbaik kombinasi probiotik dengan AH26 NA^R secara *in vitro* melalui uji kultur bersama.

Perlakuan yang diberikan pada uji *in vivo* yaitu: (A) penambahan bakteri dalam media dengan komposisi AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) penambahan bakteri dalam media dengan komposisi AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) penambahan bakteri dalam media dengan komposisi AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) penambahan bakteri dalam media dengan komposisi AH26 NA^R 10³ CFU/mL, probiotik, ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL; (K+) penambahan AH26 NA^R 10³ CFU/mL dalam media dan tanpa penambahan probiotik sebagai kontrol positif; (K-) tanpa penambahan probiotik dan tanpa AH26 NA^R pada media sebagai kontrol negatif.

Parameter Uji

Tingkat Kelangsungan Hidup. Kelangsungan hidup/*Survival Rate* (SR) dihitung berdasarkan Effendi (2002) yaitu: $SR = N_t \times N_o^{-1} \times 100$. Dalam hal ini SR=Tingkat kelangsungan hidup (%); N_t=Jumlah ikan yang hidup pada akhir pengamatan (ekor); N_o = Jumlah ikan yang hidup pada awal ujiantang (ekor).

Monitoring Populasi Sel Bakteri.

Media yang digunakan untuk menghitung total bakteri adalah media TSA, media RS untuk menghitung total bakteri *A. hydrophila*, dan TSA+NA 100µg/mL untuk menghitung total bakteri AH26 NA^R, TSA+Cef 100 µg/mL untuk menghitung total bakteri probiotik ND2 Cef^R, TSA+Cip 100 µg/mL untuk menghitung total bakteri probiotik P23 Cip^R, TSA+Tet 100 µg/mL untuk menghitung total bakteri probiotik L1k Tet^R. Total bakteri dalam media pemeliharaan dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) yang dilakukan setiap minggu pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28.

Kadar Hematokrit. Kadar hematokrit diperiksa menurut Anderson dan Siwicki (1995) menggunakan tabung mikro hematokrit kemudian dihitung dengan persamaan: $He = a \times b^{-1} \times 100$. Dalam hal ini He : Kadar hematokrit (%); a: bagian darah yang mengendap (mm); b: bagian seluruh darah dalam tabung mikro hematokrit (mm).

Respiratory Burst Activity. Uji *respiratory burst activity* menggunakan reagen *Nitro Blue Tetrazolium* (NBT) berdasarkan metode Secombes (1990). Darah dari ikan sampel diambil sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam *micro plate*, diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C, kemudian supernatan dibuang dan dicuci PBS 50 µL sebanyak tiga kali, ditambahkan 50 µL NBT 0,2% diinkubasi selama satu jam pada suhu 37°C. Fiksasi metanol 100% (50 µL) 2-3 menit lalu dibilas dengan metanol 30% (50 µL) tiga kali dan dikeringudarkan, kemudian ditambah KOH 60 µL + DMSO 70 µL dan pengecekan *optical density* (dibaca pada panjang gelombang 540 nm).

Parameter Kualitas Air. Parameter kualitas air yang diamati pada penelitian ini adalah pengukuran suhu dengan menggunakan thermometer, pH dengan menggunakan pH meter, *Dissolved Oxygen* dengan menggunakan DO meter dan amonia dengan menggunakan spektrofotometer yang diukur pada hari ke-0, 7, 14, 21, dan 28.

Analisis Data. Rancangan perlakuan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan, dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Data tingkat kelangsungan hidup, kadar hematokrit, *Respiratory Burst activity* dianalisis menggunakan sidik ragam, dengan program SPSS 16 dengan selang kepercayaan 95%, dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda

Duncan untuk menentukan jenis perlakuan yang paling baik. Hasil monitoring populasi sel bakteri dalam air dan parameter kualitas air disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tingkat Kelangsungan Hidup

Tingkat kelangsungan hidup ikan lele dumbo selama 28 hari pemeliharaan disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan nilai tingkat kelangsungan hidup diketahui bahwa perlakuan B yakni pemberian kombinasi probiotik ND2 Cef^R dan L1k Tet^R menunjukkan tingkat kelangsungan hidup yang paling tinggi, yaitu sebesar 89,33±4,62 yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan perlakuan lainnya, kecuali dengan perlakuan C (80,00±4,00). Tingkat kelangsungan hidup paling rendah pada perlakuan kontrol positif, yaitu sebesar 54,67±6,11. Tingginya tingkat kelangsungan hidup pada perlakuan B diduga seiring dengan menurunnya jumlah bakteri *A. hydrophila* setelah pemberian bakteri probiotik sehingga dapat mengurangi tingkat stres pada ikan uji. Stres pada ikan menyebabkan penurunan pertumbuhan, tingkah laku yang abnormal, penurunan sistem imun ikan, dan resistensi terhadap penyakit (Lupatsch *et al.*, 2009). Bakteri *B. subtilis* menghasilkan beberapa zat antimikrob atau

produk yang dapat menghambat *A. hydrophila* antara lain bakteriosin, subtilin, koagulin dan antibiotik surfaktan, iturins dan basilin (Balcazar *et al.*, 2004).

Pemberian kombinasi probiotik ND2 Cef^R dan L1k Tet^R dapat meningkatkan laju pertumbuhan spesifik, yaitu sebesar 1,75±0,08 yang berbeda nyata dengan kontrol positif, yaitu 1,46±0,03 dan dapat menurunkan rasio konversi pakan pada ikan lele dumbo sebesar 1,33±0,10 yang berbeda nyata dengan kontrol positif, yaitu 2,73±0,46 (Lusiastuti, 2015: pers com.). Jumlah pakan yang dikonsumsi berpengaruh terhadap pertumbuhan ikan. Selain itu, peningkatan pertumbuhan diduga disebabkan karena penurunan tingkat stres ikan terhadap kondisi lingkungan, sehingga energi dari pakan yang masuk ke dalam tubuh ikan sebagian besar diarahkan untuk pertumbuhan. Fu *et al.* (2007) menyatakan bahwa energi yang masuk ke dalam tubuh ikan yang berasal dari pakan, sebagian besar digunakan untuk metabolisme, sebagian lagi digunakan untuk pertumbuhan dan sisanya dibuang dalam bentuk feses. Menurut Irianto dan Austin (2002), *Bacillus* spp. dapat meningkatkan penggunaan pakan dengan menghasilkan enzim protease, lipase, dan amilase sehingga memberikan dampak positif terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup.

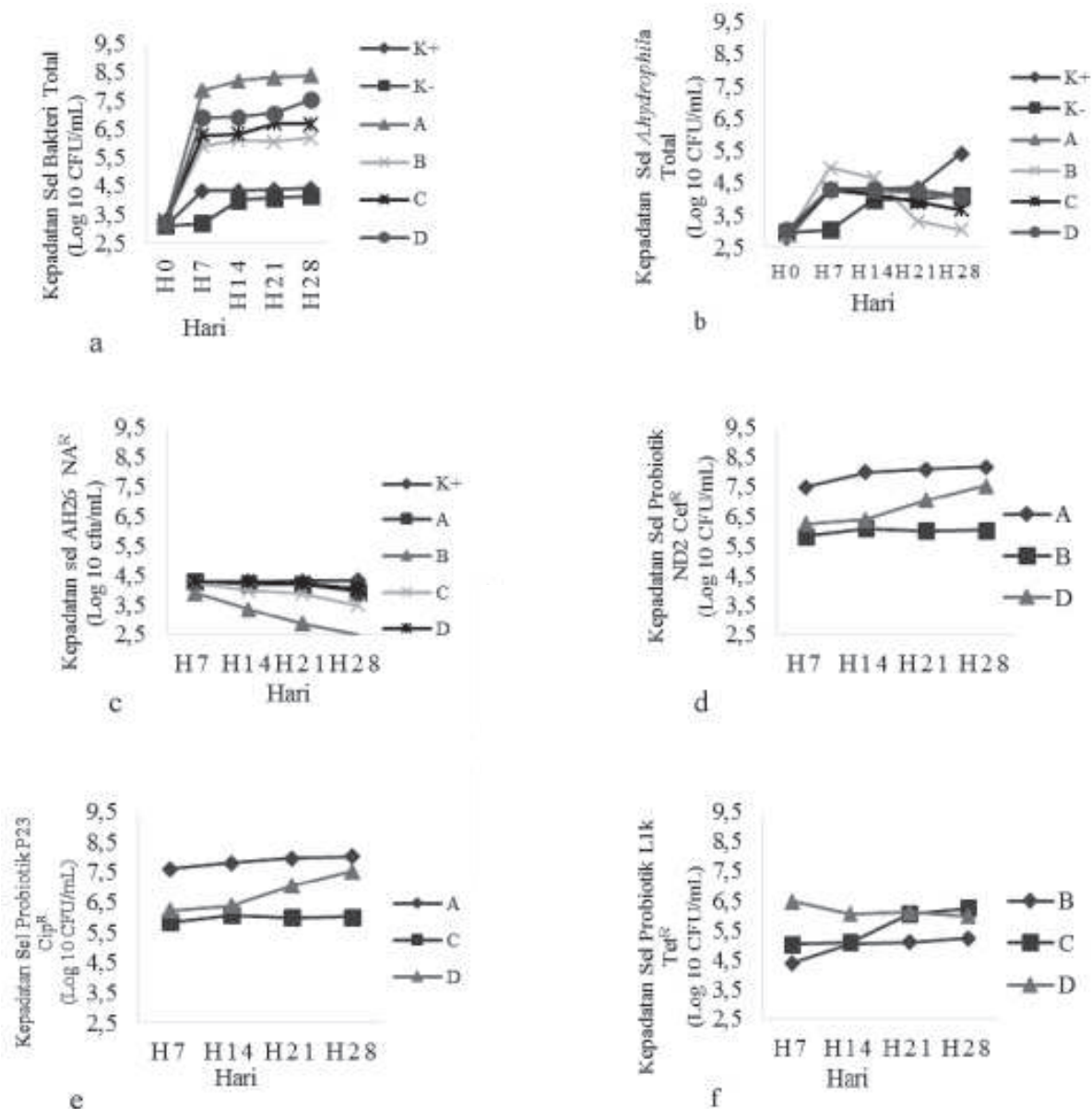
Monitoring Populasi Sel Bakteri

Kepadatan sel bakteri selama pemeliharaan disajikan pada Gambar 1. Kepadatan total sel bakteri pada media pemeliharaan disajikan pada Gambar 1a sampai akhir perlakuan menunjukkan nilai tertinggi pada perlakuan probiotik A (10^8 CFU/mL), diikuti perlakuan D (10^7 CFU/mL), C (10^5 CFU/mL), B (10^5 CFU/mL), dan kontrol positif (10^5 CFU/mL) dan kepadatan total sel bakteri terendah pada kontrol negatif yaitu sebesar 10^4 CFU/mL. Kepadatan sel *A. hydrophila* total sampai akhir penelitian disajikan pada Gambar 1b menunjukkan jumlah kepadatan sel *A. hydrophila* total tertinggi pada kontrol positif (10^5 CFU/mL), diikuti kepadatan sel yang sama pada kontrol negatif, perlakuan probiotik A, C, dan D yaitu sebesar 10^4 CFU/mL. Bakteri *A. hydrophila* total pada perlakuan B menunjukkan pola penurunan dari kepadatan 10^4 CFU/mL pada hari ke-7 menjadi 10^3 CFU/mL pada akhir penelitian. Pada kontrol positif dan kontrol negatif kepadatan sel bakteri A.

Tabel 1. Tingkat kelangsungan hidup ikan lele dumbo selama 28 hari pemeliharaan

Perlakuan	SR (%)
K+	54,67
K-	73,33
A	78,67
B	89,33
C	80,00
D	68,00

Keterangan: (K+) Kontrol positif; (K-) Kontrol negatif; (A) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10^5 CFU/mL dan P23 Cip^R 10^5 CFU/mL; (B) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10^3 CFU/mL dan L1k Tet^R 10^3 CFU/mL; (C) Perlakuan probiotik P23 Cip^R 10^4 CFU/mL dan L1k Tet^R 10^4 CFU/mL; (D) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10^5 CFU/mL, P23 Cip^R 10^5 CFU/mL dan L1k Tet^R 10^5 CFU/mL.



Gambar 1. Kepadatan sel bakteri total (1a), kepadatan sel *A. hydrophila* total (1b), kepadatan sel *A. hydrophila* NA^R (1c), kepadatan sel probiotik ND2 Cef^R (1d), kepadatan sel probiotik P23 Cip^R (1e), kepadatan sel probiotik L1k Tet^R (1f) pada media pemeliharaan ikan lele dumbo
Keterangan:

(K+) Kontrol positif; (K-) Kontrol negatif; (A) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) Perlakuan probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL.

hydrophila cenderung meningkat. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian probiotik multispesies mampu menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* pada media budi daya ikan lele dumbo. Kepadatan sel bakteri probiotik ND2 Cef^R, P23 Cip^R dan L1k Tet^R sampai akhir penelitian menunjukkan peningkatan jumlah

sel probiotik (Gambar 1d, 1e, 1f), hal ini menunjukkan bahwa ketiga probiotik mampu tumbuh dan bertahan sampai akhir penelitian.

Defoirt *et al.* (2010) menyatakan bahwa *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. subtilis*, dan *B. thuringiensis* terbukti menghasilkan senyawa *N-acylhomoserine lactone* yang dapat mencegah

terjadinya *quorum sensing* dari *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *Edwardsiella tarda*, dan *Vibrio salmonicida*. Penurunan jumlah *A. hydrophila* diiringi dengan meningkatnya jumlah bakteri probiotik selama pemeliharaan karena bakteri probiotik berkompetisi dengan bakteri patogen dalam mendapatkan ruang dan nutrisi sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sorokulova et al. (2007) menyatakan bahwa probiotik dari golongan *Bacillus* telah banyak diaplikasikan untuk kepentingan bioteknologi termasuk jenis enzim dan asam amino yang dihasilkan serta produksi antibiotik untuk pengendalian patogen. *S. lentus* merupakan bakteri heterotrof non patogenik. Penambahan bakteri heterotrof non patogenik pada media pemeliharaan diduga mampu meningkatkan populasi bakteri total.

Parameter Gambaran Darah

Kadar hematokrit menunjukkan penurunan pada hari ke-7 dan kembali naik pada hari ke-28. Nilai tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 44,00±0,00 yang berbeda nyata dengan kontrol positif 28,99±0,59 (P<0,05). Penurunan nilai hematokrit ini diduga karena adanya infeksi yang disebabkan oleh bakteri *A. hydrophila*. Bakteri tersebut mengeluarkan produk ekstraseluler antara lain aerolisin dan hemolisin yang berkaitan dengan tingkat virulensi bakteri tersebut (Yours et al., 2007). Aerolisin dan hemolisin menunjukkan aktivitas hemolisis terhadap eritrosit secara *in vitro* (Chirila et al., 2008) dan *in vivo* (Kumar dan Ramulu, 2013). Nilai hematokrit pada ikan lele dumbo sehat berkisar antara 30,8-45,5% (Bastiawan et al., 2001). Nilai hematokrit yang

rendah menunjukkan ikan mengalami anemia. Meningkatnya jumlah hematokrit diduga karena efek dari pemberian probiotik. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Mocanu et al. (2010) yang menyatakan bahwa probiotik dari jenis *B. licheniformis* dan *B. subtilis* dapat meningkatkan nilai hematokrit ikan *rainbow trout (Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Nilai hematokrit pada ikan lele dumbo disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 3 ditunjukkan aktivitas *respiratory burst* selama 28 hari pemeliharaan. Aktivitas *respiratory burst* mengalami peningkatan pada hari ke-7 dan menurun pada hari ke-28. Nilai tertinggi terdapat pada perlakuan B dengan nilai 0,072±0,00 OD dan berbeda nyata (P<0,05) dibandingkan dengan kontrol positif sebesar 0,061±0,00 OD. Produksi oksigen radikal dari fagositosis dalam darah dapat diamati dengan pewarnaan *nitroblue tetrazolium* (NBT). Menurut Irianto (2005) NBT direduksi oleh formazan pada reaksi dengan radikal oksigen yang diproduksi dari neutrofil dan monosit. Nilai NBT semakin tinggi menunjukkan bahwa produksi radikal oksigen bebas pada aktivitas *respiratory burst* semakin besar. Peningkatan produksi radikal bebas tersebut digunakan untuk melawan patogen. Ikan memiliki mekanisme membunuh sel-sel fagosit melalui oksigen bebas dalam vakuola lisosom yang mampu meningkatkan permeabilitas sel bakteri sehingga bisa menyebabkan masuknya substansi dan cairan dalam sel bakteri yang kemungkinan bisa menyebabkan plasmolisis.

Parameter Kualitas Air

Tabel 2. Kadar hematokrit ikan lele dumbo selama 28 hari pengamatan

Perlakuan	Hari Pengamatan				
	H0	H7	H14	H21	H28
K+	34,45	26,25	26,56	27,79	28,99
K-	34,45	29,70	31,13	35,71	35,50
A	34,45	27,79	29,14	35,50	39,05
B	34,45	28,13	31,96	37,55	44,00
C	34,45	26,22	34,61	38,12	39,05
D	34,45	24,90	29,14	35,50	41,56

Keterangan: (K+) Kontrol positif; (K-) Kontrol negatif; (A) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) Perlakuan probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL.

Tabel 3. Aktivitas *respiratory burst* ikan lele dumbo selama 28 hari pengamatan

Perlakuan	Hari pengamatan				
	H0	H7	H14	H21	H28
K+	0,0498	0,0673	0,0613	0,0610	0,0495
K-	0,0485	0,0687	0,0506	0,0678	0,0567
A	0,0533	0,0575	0,0526	0,0714	0,0529
B	0,0496	0,0574	0,0480	0,0721	0,0519
C	0,0507	0,0555	0,0505	0,0618	0,0492
D	0,0485	0,0514	0,0608	0,0641	0,0470

Keterangan: (K+) Kontrol positif; (K-) Kontrol negatif; (A) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) Perlakuan probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL.

Tabel 4. Kisaran hasil pengukuran kualitas air pada setiap perlakuan selama penelitian

Perlakuan	Parameter			
	Suhu (°C)	pH	DO (ppm)	Amonia (ppm)
K+	26-28	6-7,5	4-5,6	0,0002-0,01
K-	26-28	5,9-6,5	4-5,8	0,0002-0,001
A	26-28	5,7-7	4-5,7	0,0002-0,001
B	26-28	5,6-7	4-5,9	0,0001
C	26-28	5,7-7	4-5,6	0,0002-0,001
D	26-28	5,5-7	4-5,6	0,0001-0,0003

Keterangan: (K+) Kontrol positif; (K-) Kontrol negatif; (A) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL dan P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL; (B) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10³ CFU/mL dan L1k Tet^R 10³ CFU/mL; (C) Perlakuan probiotik P23 Cip^R 10⁴ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁴ CFU/mL; (D) Perlakuan probiotik ND2 Cef^R 10⁵ CFU/mL, P23 Cip^R 10⁵ CFU/mL dan L1k Tet^R 10⁵ CFU/mL.

Parameter kualitas air yang diamati selama penelitian adalah suhu, pH, *dissolved oxygen*, total amonia nitrigen (TAN), dan amonia yang diukur pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28. Hasil pengukuran disajikan pada Tabel 4, yang menunjukkan suhu pemeliharaan berkisar antara 26-28°C, pH 5,5-7,6, DO 4-6 ppm, TAN 0,1-0,4 ppm. Kandungan amonia pada kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan A cenderung meningkat selama pemeliharaan, nilai amonia tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol positif, yaitu 0,01 ppm pada akhir penelitian. Pada perlakuan B, C, dan D nilai amonia cenderung menurun sampai akhir penelitian dengan konsentrasi amonia terendah pada perlakuan B sebesar 0,0001 ppm. Hal tersebut diduga karena efek pemberian probiotik *S. lentus* pada media pemeliharaan. Menurut

Sekar *et al.* (2012), *S. lentus* merupakan strain bakteri yang biasa digunakan dalam bioremediasi limbah industri dan detoksifikasi xenobiotik.

Sebagai biokontrol, probiotik berperan sebagai musuh alami yang mencegah kerusakan yang disebabkan oleh mikroorganisme merugikan sampai batas yang dapat ditoleransi (Nayak 2011). Pemberian bakteri probiotik dalam media pemeliharaan dapat memengaruhi komposisi bakteri dalam media terutama bakteri patogen. Sebagai bioremediasi, *Bacillus* spp. dan *S. lentus* berperan dalam memperbaiki kualitas air dan mengurangi senyawa tidak menguntungkan. Penambahan probiotik melalui media budi daya dapat memainkan peran yang penting dalam dekomposisi bahan organik, pengurangan nitrogen dan fosfor serta

pengendalian amonia, nitrit dan hidrogen sulfida (Boyd dan Massaut, 1999).

Respons imun pada ikan terdiri dari respons imun nonspesifik dan spesifik. Sistem imun nonspesifik jumlahnya dapat meningkat karena infeksi oleh patogen. Sistem imun nonspesifik resistensinya tidak mengalami perubahan untuk setiap infeksi yang menyerang. Berbagai bahan dalam sirkulasi darah seperti komplemen, interferon, *C-Reactive Protein*, dan kolektin berperan dalam pertahanan nonspesifik humoral. Perangkat pertahanan tubuh lainnya seperti fagosit, makrofag, dan sel *natural killer* berperan dalam sistem imun nonspesifik seluler. Nayak (2010) menyatakan bahwa probiotik dapat meningkatkan ketahanan inang terhadap patogen melalui peningkatan sistem imun nonspesifik. Dalam kondisi jumlah bakteri patogen menurun, sistem imun ikan yang baik serta didukung parameter kualitas air budi daya yang layak untuk pemeliharaan maka akan berdampak pada meningkatnya kinerja budi daya antara lain meningkatkan kelangsungan hidup dan laju pertumbuhan spesifik serta menurunkan rasio konversi pakan (Irianto dan Austin, 2002).

SIMPULAN

Pemberian probiotik dengan kombinasi probiotik *B. subtilis* ND2 dan *S. lentus* L1k yang diaplikasikan melalui media budi daya ikan lele dumbo, dapat menurunkan populasi bakteri *A. hydrophila* dan dapat meningkatkan kelangsungan hidup serta respons imun ikan lele dumbo.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemberian probiotik melalui media pemeliharaan dengan perbedaan frekuensi pemberian untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor yang telah memberikan dana penelitian. Seluruh jajaran pimpinan, peneliti, teknis, administrasi dan rekan-rekan di IP4I

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar Bogor atas segala bantuan dan fasilitas yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson DP, Siwicki AK. 1995. Basic haematology and serology for fish health programs. Dalam: Shariff M, Authur JR, Subasinghe RP. (Ed). *Diseases in Asian Aquaculture II*. Philippines. Fish Health Section, Asian Fisheries Society. Hlm. 185-202.
- Balcazar JL, de-Blas I, Ruiz-Zarzuola I, Vendrell D, Muzquiz JL. 2004. Probiotics: a tool for the future of fish and shellfish health management. *Journal of Aquaculture in the Tropics* 19: 239-242.
- Bastiawan D, Wahid A, Alifudin M, Agustiawan. 2001. Gambaran darah lele dumbo (*Clarias spp.*) yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces* sp. pada pH yang berbeda. *Jurnal Penelitian Indonesia* 3: 44-47.
- Boyd CE, Massaut L. 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquaculture Engineering* 20: 113-132.
- Chirila F, Fit N, Nadas G, Negrea O, Ranga R. 2008. Isolation and characterization of an *Aeromonas hydrophila* strain in a Carp (*Cyprinus carpio*) toxemia focus. *Veterinary Medicine* 65: 244-247.
- Defoirdt T, Thanh LD, Delsen BV, Schryver PD, Sorgeloos P, Boon N, Bossier P. 2010. N-acetylhomoserine lactone-degrading *Bacillus* strains isolated from aquaculture animals. *Journal Aquaculture* 311: 258-260.
- Effendi MI. 2002. *Biologi Perikanan*. Bogor. Yayasan Pustaka Nusantara. Hlm. 1-163.
- Erdem B, Kariptas E, Cil E, Isik K. 2011. Biochemical identification and numerical taxonomy of *Aeromonas* spp. isolated from food samples in Turkey. *Turkey Journal of Biology* 35: 463-472.
- Flores ML. 2011. The use of probiotic in aquaculture: an overview. *International Research Journal of Microbiology* 2(12): 471-478.
- Fu C, Li HW, Wang Y, Zhu W. 2007. Growth and energy budget of F₂ 'all-fish' growth hormone gene transgenic common Carp. *Journal of Fish Biology* 70: 347-361.

- Fyzul AN, Al-Harbi AH, Austin B. 2007. Development in the use of probiotics for disease control in aquaculture. *Journal Aquaculture* 431: 1-11.
- Irianto A. 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press. Hlm. 256.
- Irianto A, Austin B. 2002. Review probiotics in aquaculture. *Journal Fish Diseases* 25: 633.
- Kumar MP, Ramulu KS. 2013. Haematological changes in *Pangasius hypophthalmus* infected with *Aeromonas hydrophila*. *International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences* 3(1): 70-75.
- Lupatsch I, Santos GA, Schrama JW, Verreth JAJ. 2009. Effect of stocking density and feeding level on energy expenditure and stress responsiveness in European sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Journal Aquaculture* 298: 245-250.
- Lusiastuti AM, Yuhana M, Fidyandini HP. 2015 Aplikasi probiotik multispecies dalam meningkatkan kinerja budi daya dan respons imun ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar. Bogor. (komunikasi pribadi)
- Mocanu M, Cristea V, Dediu L, Bocioc E, Grecu RI, Ion S, Vasilean I. 2010. The effect of probiotic diet on growth and hematology parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792). *Lucrari Stiintifice-Sera Zooteniie* 59: 258-263.
- Nayak SK. 2010. Probiotic and immunity: A fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology* 29: 1-14.
- Nayak SK. 2011. Biology of eukaryotic probiotics. Dalam: Liong, MT (Ed). *Textbook of biology, genetics and health aspects, probiotics*. London. Springer. Hlm. 29-55.
- Ravi AV, Musthafa KS, Jegathammbal G, Kathiresan K, Pandian SK. 2007. Screening and evaluation of probiotics as a biocontrol agent against pathogenic vibrios in marine aquaculture. *Applied Microbiology* 45: 219-223.
- Secombes SJ. 1990. Isolation of Salmonid macrophage and analysis of their Killing activity. Dalam: Stolen DP, Fletcher BS, Anderson MV, Winkel WB. (Ed). *Techniques in Fish Immunology*. USA. SOS Publication. Hlm. 137-152.
- Sekar S, Surianarayanan M, Perinkulam RD, Bhuvanesh KS, Phani K, Asit BM. 2012. The metabolic advantage of choline lactate in growth media: an experimental analysis with *Staphylococcus lentus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 169: 380-392
- Sorokulova IB, Pinchuk IV, Denayrolles M, Osipova IG, Huang JM, Cutting SM, Urdaci MC. 2007. The safety of two *Bacillus* probiotic strain for human use. *Digestive Diseases and Sciences* 53: 954-963.
- Uddin N, Al-Harbi AH. 2010. Bacterial population of African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) cultured in earthen ponds. *Journal of Applied Aquaculture* 22: 187-193
- Uddin N, Al-Harbi AH. 2012. Bacterial Flora of Polycultured Common Carp (*Cyprinus carpio*) and African Catfish (*Clarias gariepinus*). *International Aquatic Research* 4(10): 1-9.
- Yousr AH, Napis S, Rusul GRA, Son R. 2007. Detection of aerolysin and hemolysin genes in *Aeromonas* spp. isolated from environmental and shellfish sources by polymerase chain reaction. *ASEAN Food Journal* 14(2): 115-122.