

EFEK PROBIOTIK *Bacillus megaterium* PTB 1.4 DAN *Pediococcus pentosaceus* E2211 TERHADAP REPONS IMUN DAN KELANGSUNGAN HIDUP IKAN LELE (*Clarias* sp.) SELAMA UJI TANTANG *Aeromonas hydrophila*

Muhammad Subhan Hamka^a, Anja Meryandini^b, Widanarni^b, Ardana Kurniaji^{c*}

^aAkademi Komunitas Negeri Rejang Lebong, Jln. Basuki Rahmad No. 27, Rejang Lebong, Bengkulu, Indonesia

^bInstitut Pertanian Bogor, Jln. Raya Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia

^cPoliteknik Kelautan dan Perikanan Bone, Jln. Sungai Musi, Bone, Sulawesi Selatan, Indonesia

*Koresponden penulis: ardana.kji@gmail.com

Abstrak

Penyakit bakterial pada kegiatan budidaya ikan sudah menjadi masalah yang sering dihadapi pembudidaya. Salah satu jenis bakteri yang menyebabkan penyakit pada ikan lele (*Clarias* sp.) adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi efek pemberian probiotik *Bacillus megaterium* PTB 1.4 dan *Pediococcus pentosaceus* E2211 terhadap respons imun dan kelangsungan hidup ikan lele selama uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila*. Probiotik yang digunakan adalah kombinasi 0,5% *B. megaterium* PTB 1.4 dan 0,5% *P. pentosaceus* E2211. Pemberian probiotik dilakukan pada hari ke-0 hingga hari ke-30 melalui pakan. Uji tantang dilakukan pada hari ke-30 hingga hari ke-40. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian probiotik dapat berpengaruh terhadap respons imun dan kelangsungan hidup ikan lele dalam menekan infeksi *A. hydrophila*. Total eritrosit, hemoglobin, hematokrit, total leukosit, aktivitas fagositik dan aktivitas lisozim signifikan ($P < 0,05$) teramati meningkat pada hari ke-35 dan menurun pada hari ke-40. Kelangsungan hidup ikan lele berhasil dipertahankan pada $87,62 \pm 4,83\%$. Total bakteri *A. hydrophila* meningkat pada hari ke-35 dan menurun pada hari ke-40. Pemberian probiotik *B. megaterium* PTB 1.4 dan *P. pentosaceus* E2211 pada dosis 0,5% dapat menekan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan meningkatkan status kesehatan ikan lele.

Kata kunci: *Aeromonas hydrophila*, kelangsungan hidup, probiotik, respons imun

Abstract

Bacterial diseases in aquaculture activities has become a problem often faced by farmers. One type of bacteria that causes disease in catfish (*Clarias* sp.) is *Aeromonas hydrophila* bacteria. The aim of this study that to evaluate the effect of probiotics *Bacillus megaterium* PTB 1.4 and *Pediococcus pentosaceus* E2211 on the immune response and survival of catfish during a challenge test with *A. hydrophila* bacteria. The probiotics used were combination of 0.5% *B. megaterium* PTB 1.4 and 0.5% *P. pentosaceus* E2211. Provision of probiotics was given on day-0 to day-30 through feed. The challenge test was carried out on day 30 to day 40. The results showed that the administration of probiotics could affect the immune response and survival rate of catfish in suppressing *A. hydrophila* infection. Total erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, total leukocytes, phagocytic activity and lysozyme activity were significant ($P < 0.05$) increasing on day-35 and decreasing on day-40. The survival rate of catfish was successfully maintained at $87.62 \pm 4.83\%$. Total *A. hydrophila* bacteria increased on the day-35 and decreased on the day-40. Administration of probiotics *B. megaterium* PTB 1.4 and *P. pentosaceus* E2211 at a dose of 0.5% can suppress the growth of *A. hydrophila* bacteria and improve the health status of catfish.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, immune respons, probiotics, survival rate

PENDAHULUAN

Penyakit menjadi salah satu faktor pembatas produksi budidaya ikan karena dapat menyebabkan kerugian baik pada kegiatan

pembenihan maupun pembesaran ikan. Penyakit ikan biasanya disebabkan karena stres akibat kualitas air yang buruk, nutrisi pakan buruk, padat penebaran tinggi dan infeksi patogen [1]. Penyakit infeksius yang sering

Article history:

Diterima / Received 08 August 2021

Disetujui / Accepted 03 October 2021

Diterbitkan / Published 30 November 2021

©2021 at <http://jfmr.ub.ac.id>

dijumpai pada kegiatan budidaya ikan adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri [2]. Penyakit bakterial pada kegiatan budidaya ikan sudah menjadi masalah yang sering dihadapi pembudidaya. Perkembangan penyakit ini tidak hanya bergantung pada kemampuan bakteri menyebabkan gangguan kesehatan pada ikan, tetapi juga kondisi imunitas, lingkungan dan tingkat virulensi dari bakteri tersebut [3].

Salah satu jenis bakteri yang menyebabkan penyakit pada ikan air tawar adalah bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini merupakan salah satu jenis bakteri yang umum ditemukan dalam budidaya ikan komoditas air tawar selain *Flexibacter columnaris*, *Edwardsiella tarda* dan *Streptococcus iniae* [4]. *A. hydrophila* merupakan strain bakteri yang memiliki virulensi tertinggi karena dapat menyebabkan kematian hingga 100% [5], dan dapat hidup pada kisaran suhu, pH dan kekeruhan yang luas dengan rentang parameter lingkungan yang tinggi [6]. Bakteri ini adalah jenis bakteri gram negatif yang oportunistik, berbentuk batang dan mampu melisis arginin, idole, lysine dan lainnya. Produk ekstraseluler bakteri digunakan untuk menginfeksi inang dan produk intraseluler dihasilkan saat bakteri mati [7].

Bakteri *A. hydrophila* secara selektif dapat menginfeksi ikan lele, ikan mas, ikan nila dan salmon pada perairan tawar. [6]. Ikan yang ditemukan terinfeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan gejala berupa ulserasi pada kulit dan sirip, pembengkakan pada organ dalam seperti lambung dan usus, luka hemoragik [8]. Pada kondisi tertentu ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* mengalami pendarahan pada organ, berenang abnormal, ulserasi, sisik lepas dan geripis, hipertrofi dan hiperflasia [9]. Penyakit ini juga bisa menjadi infeksi sistemik dan disebut *Motile Aeromona d Septicemia* (MAS) [10].

Infeksi *A. hydrophila* ditemukan pertama kali di wilayah Jawa Barat tahun 1980 dan biasanya ditemukan pada budidaya ikan lele. Kasus kerugian akibat penyakit ini telah banyak ditemukan salah satu diantaranya di Jawa Timur dengan prevalensi kasus infeksi 95% pada ikan lele dumbo di Keramba Jaring

Apung [11]. Kasus kematian ikan lele terus terjadi pada tahun 2003 dan 2004 di Wilayah Banyumas [12]. Salah satu upaya yang dilakukan untuk menekan infeksi *A. hydrophila* pada ikan lele adalah dengan aplikasi probiotik.

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memberikan keuntungan pada inangnya. Aplikasi probiotik telah banyak digunakan untuk pengendalian penyakit ikan [13]. Terdapat tiga peran probiotik secara umum yakni menekan populasi mikroba lain, merubah metabolisme mikrobial melalui aktivitas enzim dan mensitmulus imunitas [14]. Jenis probiotik untuk kegiatan budidaya perikanan juga telah banyak diteliti [15] – [19]. Salah satu probiotik yang telah ditemukan dan mampu meningkatkan pertumbuhan ikan lele adalah bakteri *Bacillus megaterium* PTB 1.4 yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan lele [20], dan *Pediococcus pentosaceus* E2211 yang diisolasi dari hasil fermentasi spontan tepung jagung [21]. Kedua bakteri ini telah dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan dan imunitas ikan lele dari infeksi *A. hydrophila* pada dosis 1% [22]. Probiotik ini diaplikasikan dengan metode oral atau pemberian pakan. Probiotik umumnya merupakan mikroorganisme fermentatif yang jika dicampur pakan maka akan meningkatkan kualitas pakan [14]. Hasil penelitian terkait kombinasi kedua bakteri probiotik dengan dosis 0,5% pada pakan belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek pemberian probiotik *B. megaterium* PTB 1.4 dan *P. pentosaceus* E2211 terhadap respons imun dan kelangsungan hidup ikan lele selama uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* pada dosis 0,5% yang diaplikasikan melalui pakan.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Institut Pertanian Bogor. Untuk preparasi probiotik dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Hewan dan Biomedis, PPSHB LPPM IPB. Pemeliharaan ikan lele dan uji tantang dengan *A. hydrophila* dilaksanakan di kolam penelitian pesantren Nur Ar Rohman, Desa Tegal Waru, Kabupaten Bogor. Pengamatan parameter

imunitas dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.

Kultur Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *B. megaterium* PTB 1.4 [20] dan *P. pentosaceus* E2211 [21]. Bakteri dikultur dan diberi penanda resisten antibiotik Rifampisin. Media *Tryptic Soy Broth* (TSB) digunakan untuk kultur bakteri *B. megaterium* PTB 1.4. Metode kultur dengan inkubasi pada *water bath shaker* 140 rpm dan suhu 29°C selama 12 jam. Media *deMan, Rogosa, and Sharpe Broth* (MRSB) digunakan untuk kultur bakteri *P. pentosaceus* E2211 dengan metode inkubasi menggunakan *anaerobic jar* pada suhu 37°C selama 18 jam. Pada akhir masa kultur, pellet bakteri dipanen dengan menggunakan sentrifuge pada 9.000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya pellet yang dihasilkan dilarutkan pada 0,1 mL NaCl 0,85% steril.

Persiapan Pakan

Pakan yang digunakan adalah pakan komersial dengan komposisi protein 39-41%, lemak min. 5%, serat maksimal 6%, abu maksimal 18% dan kadar air maksimal 10%. Bakteri yang telah disiapkan sebelumnya dipanen pada umur 12-18 jam kemudian dicampur pada pakan komersial. Pencampuran dilakukan dengan dosis 0,5% probiotik *B. megaterium* PTB 1.4 dan dosis 0,5% probiotik *P. pentosaceus* E2211. Viabilitas bakteri diuji setelah bakteri dicampur di pakan. Pengujian menggunakan media tumbuh bakteri dengan campuran 50 µg/mL rifampisin. Hasil pengujian diperoleh bahwa viabilitas bakteri probiotik pada pakan sebesar 10⁶ CFU/g pakan. Selanjutnya pakan dapat diaplikasikan pada ikan dengan pemberian tiga kali sehari.

Preparasi Media Pemeliharaan Ikan

Pemeliharaan ikan dilakukan pada waring berukuran 100×30×80 cm³ yang dipasang dalam kolam beton berisi air tawar yang diperoleh dari sungai sekitar tempat penelitian. Terlebih dahulu media

pemeliharaan dibersihkan dari hama dan kotoran. Kemudian dijemur dan diisi air dengan kedalaman 50 cm. Perlakuan air meliputi pemberian kapur 277,78 ppm, molase 55,56 ppm, pupuk kandang 555,56 ppm dan ragi 1,1 ppm. Air yang telah diberi perlakuan kemudian dibiarkan selama 7 hari sebelum digunakan.

Persiapan dan Pemeliharaan Ikan Uji

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele (*Clarias* sp.) dengan bobot 7,36 ± 0,21 g/ekor. Ikan diperoleh dari pembudidaya di Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Saat penebaran, ikan terlebih dahulu diaklimatisasi selama satu minggu dengan pemberian pakan biasa (tanpa probiotik) dengan frekuensi tiga kali sehari secara *at satiation*. Kepadatan ikan diatur sebanyak 30 ekor/waring. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 30 hari (1 bulan). Selama pemeliharaan ikan diberikan pakan dengan campuran probiotik dosis 0,5% *B. megaterium* PTB 1.4 dan 0,5% probiotik *P. pentosaceus* E2211 dengan frekuensi tiga kali sehari secara *at satiation*.

Uji Tantang *A. hydrophila*

Setelah pemeliharaan ikan lele selama 30 hari dengan pemberian pakan + probiotik, selanjutnya pada hari ke-31 dilakukan uji tantang. Uji tantang dilakukan selama 10 hari (hingga hari ke-40 pemeliharaan). Selama uji tantang ikan tidak diberikan probiotik atau pakan standar tanpa campuran bakteri probiotik dan dilakukan pengamatan mortalitas. Bakteri yang digunakan untuk uji tantang adalah bakteri *A. hydrophila* yang sebelumnya telah diremajakan. Suspensi bakteri diinjeksikan intramuscular dengan konsentrasi 10⁶ CFU/mL sebanyak 0,1 mL/ekor menggunakan suntik steril volume 1 mL

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi respons imun, kelangsungan hidup pasca uji tantang dan populasi bakteri *A. hydrophila*. Pengamatan parameter respons imun dilakukan pada Hari ke-0, 30, 35 dan 40 pemeliharaan, sedangkan

populasi bakteri diamati pada hari ke-30, 35 dan 40 hari pemeliharaan. Adapun tahapan pengujian parameter sebagai berikut:

Respons Imun

Parameter respons imun yang diamati yakni gambaran darah, aktivitas lisozim, aktivitas *respiratory burst*, aktivitas fagositik. Darah ikan diambil pada pangkal ekor sebanyak 0,2 mL menggunakan suntik volume 1 mL yang berisi antikoagulan (3,8% natrium sitrat). Darah selanjutnya dimasukkan dalam tube 1,5 mL dan disimpan pada suhu 4°C untuk pengujian selanjutnya. Total eritrosit dan total leukosit dihitung dengan metode [23] dengan rumus:

$$\text{Sel Darah (sel/mm}^3\text{)} = \sum \text{ST} \frac{1}{\text{Vol Kotak Besar}} \times \text{FK}$$

Ket.

ST = Sel Darah Terhitung

FK = Faktor Pengenceran

Kadar Hematokrit dan aktivitas fagositik (AF) dihitung dengan mengacu pada [24]:

$$\text{Hematokrit (\%)} = \frac{\text{panjang endapan darah}}{\text{panjang seluruh darah}} \times 100$$

$$\text{AF (\%)} = \frac{\sum \text{sel fagosit melakukan fagosit}}{\sum \text{sel fagosit}} \times \text{FK}$$

Kadar hemoglobin diukur menggunakan metode Sahli [25]. Adapun aktivitas *respiratory burst* dianalisis dengan mengacu pada metode [26] dan aktivitas lisozim mengacu pada metode [27].

Kelangsungan Hidup

Kelangsungan hidup dihitung setelah ujiantang. Perhitungan kelangsungan hidup mengacu pada metode [28] dengan rumus:

$$\text{KH (\%)} = \frac{\text{Jumlah Ikan Akhir (ekor)}}{\text{Jumlah Ikan Wal (ekor)}} \times 100$$

Total Bakteri *A. hydrophila*

Perhitungan total bakteri *A. hydrophila* dilakukan pada hari ke-30, 35 dan 40 dengan mengacu pada metode [29]. Organ target yang

dijadikan sampel adalah hati dan ginjal yang diambil masing-masing sebanyak 0,1 g. Sampel kemudian digerus dan diencerkan secara berseri pada larutan PBS steril. Hasil pengeceran disebar pada media *Rimler-shotts* (RS) sebanyak 0,05 mL untuk mengetahui jumlah bakteri dilakukan metode *total plate count* (TPC).

Analisis data

Data yang telah diperoleh berupa gambaran darah, aktivitas lisozim, aktivitas *respiratory burst*, aktivitas fagositik, kelangsungan hidup dan total bakteri ditabulasi dengan microsoft office dan dianalisis secara statistik setiap waktu pengamatan. Analisis data menggunakan oneway-ANOVA (*analysis of variance*) melalui program SPSS versi 16 dengan selang kepercayaan 95%, perbedaan antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respons Imun dan Kelangsungan Hidup

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi probiotik dosis 0,5% *B. megaterium* PTB 1.4 dan 0,5% probiotik *P. pentosaceus* E2211 memberikan pengaruh terhadap performa respons imun ikan lele. Adapun hasil pengamatan respons imun dan kelangsungan hidup ikan lele dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Respons imun dan kelangsungan hidup ikan lele

Parameter	Hari Ke-	Hasil
Total Eritrosit (10^6 sel/mm ³)	0	0,65±0,02 ^a
	30	1,08±0,02 ^b
	35	1,54±0,09 ^d
	40	1,22±0,03 ^c
Total Leukosit (10^4 sel/mm ³)	0	1,45±0,35 ^b
	30	1,61±0,10 ^b
	35	4,32±0,10 ^c
	40	1,05±0,05 ^a
Hemoglobin (g/dL)	0	4,03±0,21 ^a
	30	5,80±0,36 ^b
	35	8,27±0,50 ^d
	40	6,67±0,12 ^c
Hematokrit (%)	0	22,50±0,50 ^a
	30	24,50±0,50 ^b
	35	30,74±0,41 ^d
	40	25,62±0,55 ^c
Aktivitas Fagositik (%)	0	10,71±0,71 ^a
	30	14,64±0,36 ^b
	35	33,89±0,96 ^c
	40	15,56±1,92 ^b
Tingkat Kelangsungan Hidup (%)	40	87,62±4,83

Ket: huruf *superscript* berbeda (a,b,c,d) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (Duncan, P<0,05)

Pemberian probiotik dapat mempertahankan kelangsungan hidup ikan lele yang diuji tantang *A. hydrophila* sebesar 87,62 ± 4,83%. Sejalan dengan hasil [17] bahwa kelangsungan hidup ikan lele yang diberi *P. pentosaceus* E2211 dan diuji tantang *A. hydrophila* sebesar 88,46%, sehingga probiotik sangat berperan penting dalam menjaga kesehatan ikan dari infeksi patogen. Ikan lele yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* biasanya mengalami mortalitas hingga 90% dalam waktu 48 jam [30]. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ikan lele yang diuji tantang dengan *A. hydrophila* mengalami kematian hingga 100% [31],[32],[33]. Probiotik berperan dalam meningkatkan imunitas ikan sehingga mencegah infeksi patogen [34].

Respons imun dapat diamati dari parameter gambaran darah ikan yakni total eritrosit, total leukosit, hematokrit, hemoglobin [28]. Total eritrosit pada penelitian ini menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05) antara setiap waktu pengamatan. Total eritrosit

terendah diamati pada hari ke-0 (awal) kemudian meningkat secara signifikan pada hari ke-30 dan mencapai nilai tertinggi pada hari ke-35. Total eritrosit pada hari ke-40 secara signifikan mengalami penurunan dari pengamatan sebelumnya. Kisaran nilai total eritrosit yang teramati adalah 0,65-1,54×10⁶ sel/mm³. Kisaran ini masih termasuk dalam kategori normal sebagaimana pernyataan [35] bahwa total eritrosit ikan lele sehat adalah 1,0-3,0×10⁶ sel/mm³. Peningkatan total eritrosit terjadi setelah uji tantang sebagai bentuk repons stres karena infeksi patogen. Ikan yang stres biasanya mengalami peningkatan eritrosit karena mengganti sel eritrosit yang lisis akibat infeksi [36].

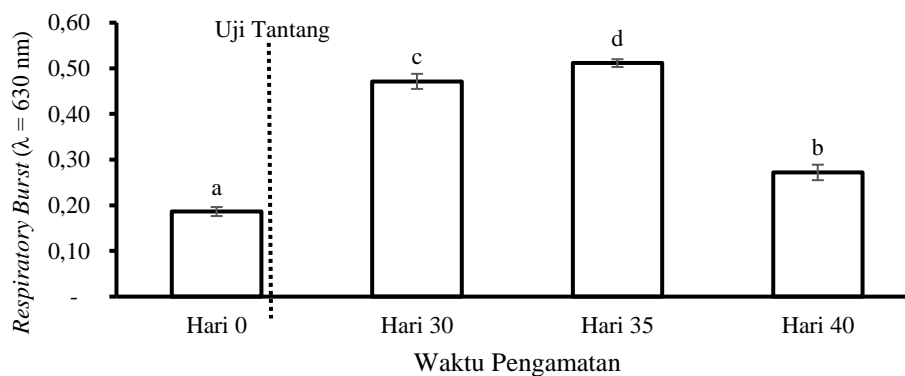
Peningkatan total leukosit biasanya diikuti oleh perubahan kadar hemoglobin [37]. Kadar hemoglobin ikan lele pada penelitian ini menunjukkan fluktuasi yang sama dengan total eritrosit. Nilai terendah teramati pada hari ke-0 (awal) pengamatan. Selanjutnya secara signifikan meningkat pada hari ke-30 dan mencapai nilai tertinggi pada hari ke-35. Kadar hemoglobin menurun pada hari ke-40 dan berbeda nyata dengan pengamatan sebelumnya (P<0,05). Kisaran kadar hemoglobin yang diamati adalah 4,03-8,27 g/dL. Bakteri *A. hydrophila* menghasilkan eksotoksin yang dapat melisis sel darah merah dan membebaskan hemoglobinya [38]. Kadar hemoglobin berkorelasi dengan total eritrosit. Semakin tinggi hemoglobin semakin tinggi total eritrosit [39].

Fluktuasi hemoglobin juga berkaitan dengan kadar hematokrit. Hasil pengamatan kadar hematokrit juga menunjukkan hal yang sama dengan kadar hemoglobin. Nilai terendah teramati pada hari ke-0 (awal) pengamatan dan terus meningkat secara signifikan hingga hari ke-35. Nilai tertinggi diamati pada hari ke-35. Kadar hematokrit menurun secara signifikan pada hari ke-40 pengamatan. Kisaran nilai kadar hematokrit adalah 22,50 – 30,74%. Nilai ini masih dalam kondisi normal yakni antara 20-35% [40]. Peningkatan kadar hematokrit diduga karena adanya infeksi saat uji tantang. Ikan yang terinfeksi bakteri *A. hydrophila* biasanya akan mengalami peningkatan kadar hematokrit [41]. Hematokrit merupakan jumlah sel darah merah terhadap volume darah

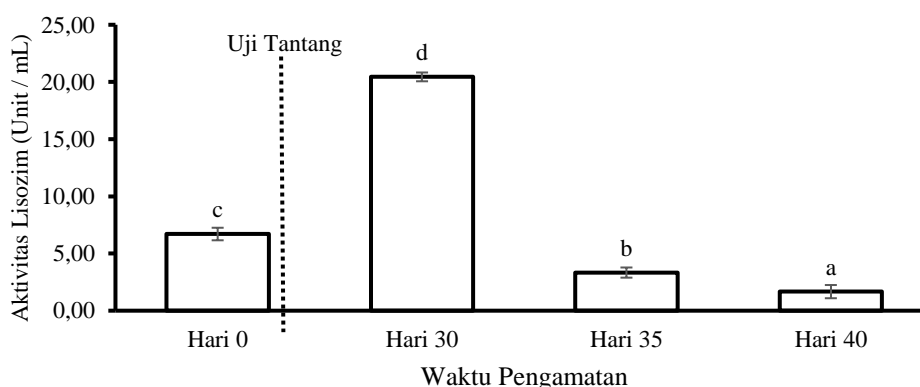
dalam satuan persen sehingga fluktuasinya diikuti dengan eritrosit. Adanya peningkatan total eritrosit, hemoglobin dan hematokrit pada hari ke-0 hingga 30 (sebelum ujiantang menunjukkan adanya respon ikan terhadap pemberian probiotik. Keberadaan probiotik diduga meningkatkan status kesehatan ikan sehingga dapat membantu menetralkan infeksi patogen. Hal ini diketahui dari nilai total eritrosit, hemoglobin dan hematokrit yang masih dalam kisaran normal meskipun meningkat pada saat ujiantang.

Pengamatan pada total leukosit menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada hari ke-0 (awal) dan hari ke-30 ($P > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian probiotik tidak secara signifikan mempengaruhi total leukosit. Peningkatan

secara signifikan baru terjadi setelah ujiantang yakni pada hari ke-35 pengamatan. Total leukosit mengalami penurunan terendah pada hari ke-40 sehingga berbeda nyata dengan hari pengamatan sebelumnya. Leukosit merupakan sel imunitas yang berperan dalam sistem kekebalan non-spesifik. Jumlahnya dapat menjadi indikator status kesehatan ikan. Adanya infeksi menyebabkan total leukosit meningkat untuk melawan infeksi bakteri *A. hydrophila* [22]. Leukosit akan berdiferensiasi menjadi sel-sel makrofag (*antigen presenting cells*) untuk aktivitas fagositosis. Oleh karena itu peningkatan total leukosit berkorelasi dengan peningkatan aktivitas fagositik. Leukosit merupakan komponen darah yang salah satu fungsinya adalah fagositosis [42].



Gambar 1. Aktivitas *respiratory burst* ($\lambda = 630 \text{ nm}$) ikan lele, huruf *superscript* berbeda (^{a,b,c,d}) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (Duncan, $P < 0,05$)



Gambar 2. Aktivitas lisozim (Unit/mL) ikan lele, huruf *superscript* berbeda (^{a,b,c,d}) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (Duncan, $P < 0,05$)

Hasil pengamatan aktivitas fagositik menunjukkan bahwa nilai rendah pada awal pengamatan dan meningkat secara signifikan pada hari ke-30. Peningkatan aktivitas

fagositik terus terjadi secara signifikan pada hari ke-35 dan menurun pada hari ke-40. Tidak ada perbedaan nyata antara aktivitas fagositik pada hari ke-30 dan 40. Aktivitas fagositik

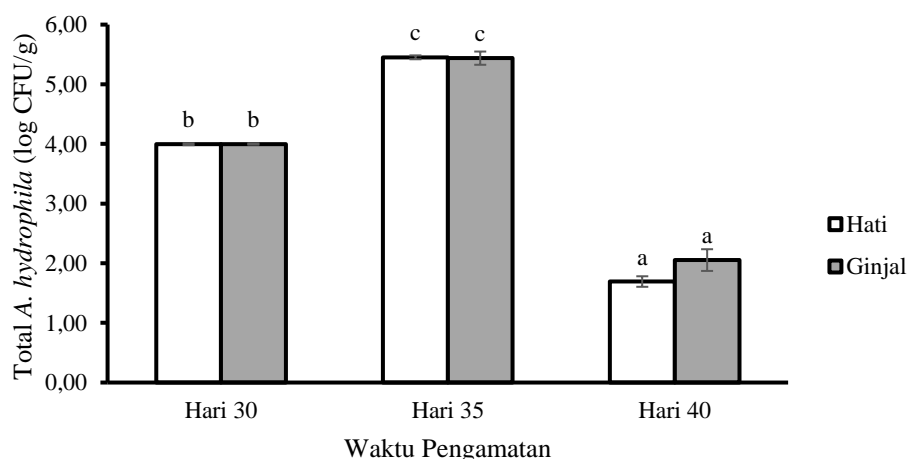
memiliki peranan dalam melisis patogen dan mempresentasikannya di permukaan sel untuk dikenali sebagai antigen [43].

Fagositosis merupakan pertahanan tubuh awal untuk membatasi dan menghancurkan benda asing. Jenis sel fagosit yakni monosit dan neutrophil. Umumnya aktivitas fagositik sinergi dengan *respiratory burst* dan aktivitas lisozim dalam menetralkan patogen [44]. Pengamatan *respiratory burst* menunjukkan nilai rendah pada awal pengamatan (hari ke-0) selanjutnya meningkat secara signifikan pada hari ke-30 hingga hari ke-35, dan pada hari ke-40 menurun secara nyata seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Kondisi ini menunjukkan adanya korelasi positif antara peningkatan leukosit dan *respiratory burst* saat tubuh ikan mengalami infeksi. Penurunan nilai *respiratory burst* pada hari ke-40 diduga sebagai bentuk *recovery* ikan menjadi normal. Aplikasi probiotik *B. megaterium* PTB 1.4 dan *P. pentosaceus* E2211 pada dosis 1% dapat membantu proses *recovery* ikan lele pada hari ke-10 setelah terinfeksi *A. hydrophila* [22]. Selanjutnya pada

Gambar 2 menunjukkan aktivitas lisozim diamati meningkat secara signifikan pada hari ke-30 dan perlahan menurun pada hari ke-35 dan 40. Pemberian probiotik dapat menstimulus peningkatan aktivitas lisozim. Menurut [34] bahwa probiotik dapat memicu lisozim pada ikan teleostei. Penurunan nilai lisozim diduga karena masa *recovery* ikan menuju normal.

Total Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Pengamatan total populasi bakteri *A. hydrophila* dilakukan sebelum dan setelah uji tantang pada organ target yakni hati dan ginjal. Hasil pengamatan pada organ hati yang disajikan pada Gambar 3. menunjukkan bahwa bakteri *A. hydrophila* hari ke-30 (sebelum uji tantang) berkisar antara $4,0 \pm 0,02$ log CFU/g. Selanjutnya meningkat secara signifikan pada total populasi tertinggi hari ke-35 (pasca uji tantang) berkisar $5,45 \pm 0,03$ log CFU/g. Total bakteri menurun secara signifikan pada hari ke-40 yakni $1,69 \pm 0,09$ log CFU/g.



Gambar 3. Total bakteri *A. hydrophila* (log CFU/g) pada organ hati dan ginjal ikan lele, huruf superscript berbeda (^{a,b,c,d}) pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan (Duncan, $P < 0,05$)

Hasil pengamatan pada organ ginjal juga yang disajikan pada Gambar 3. menunjukkan hal yang sama yakni pada hari ke-30 (sebelum uji tantang) berkisar antara $4,0 \pm 0,01$ log CFU/g. Selanjutnya meningkat secara signifikan pada total populasi tertinggi hari ke-35 (pasca uji

tantang) berkisar $5,44 \pm 0,11$ log CFU/g. Total bakteri menurun secara signifikan pada hari ke-40 yakni $2,05 \pm 0,18$ log CFU/g. Peningkatan populasi bakteri pada hati dan ginjal hari ke-35 menunjukkan bahwa bakteri *A. hydrophila* yang diinjeksikan pada masa uji tantang

tumbuh dan berkembang pada organ target. Hal ini menyebabkan berbagai perubahan parameter imunitas sebagai bentuk respons pertahanan tubuh.

Bakteri *A. hydrophila* umumnya menginfeksi hati, ginjal, kulit dan usus dan menghasilkan biofilm, hemolisin, enzim lipase [45]. Kerusakan hati dan ginjal menyebabkan ikan sakit dan menurunkan nafsu makan dan kemampuannya bertahan hidup [42]. Adanya pemberian probiotik sebelum uji tangkang diduga erat berkaitan dengan penurunan populasi bakteri *A. hydrophila* secara signifikan terjadi pada hari ke-40. Pemberian probiotik dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan lele, menekan pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dan meningkatkan status kesehatan ikan [46].

KESIMPULAN

Pemberian kombinasi probiotik *B. megaterium* PTB 1.4 dan *P. pentosaceus* E2211 dengan dosis 0,5% pada masing-masing bakteri dapat memberikan pengaruh positif pada respons imun dan mempertahankan kelangsungan hidup ikan lele hingga $87,62 \pm 4,83\%$. Hal ini menyebabkan penurunan populasi bakteri *A. hydrophila* dan meningkatkan status kesehatan ikan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Departemen Budidaya Perairan, Departemen Biologi, Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor serta Bapak H. Saiful Ilhamsyah Agus, pemilik Kolam Penelitian Pesantren Nur Ar Rahman, Ciampea, Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. Ç. Öztürk dan I. Altinok, "Bacterial and viral fish diseases in Turkey," *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.*, vol.14, no.1, hal. 275–297, Feb 2014.
- [2] P. K. Sahoo, A. Paul, M. K. Sahoo, S. Pattanayak, P. R. Kumar, dan B. L. Das, "Incidences of Infectious Diseases in Freshwater Aquaculture Farms of Eastern India: A Passive Surveillance based Study from 2014-2018," *J. Aquac. Res. Development*, vol.11, no.1, hal. 579–584, Jan 2020
- [3] A. Pękala-Safińska, "Contemporary threats of bacterial infections in freshwater fish," *J. Vet. Res.*, vol.62, no.3, hal. 261–267, Dec 2018.
- [4] S. M. Aly, "A Review of Fish Diseases in the Egyptian Aquaculture Sector. Working Report," *Cgiar*, hal. 1–41, Jul 2013.
- [5] S. M. Ahmed dan A. M. Shoreit, "Bacterial haemorrhagic septicemia in *Oreochromis niloticus* at Aswan fish hatcheries," *Assiut Vet. Med. J.*, vol.45, no.89, hal. 190–206, Jan 2001.
- [6] J. M. Janda dan S. L. Abbott, "The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol.23, no.1, hal. 35–73, Jan 2010.
- [7] E. H. Hardi, C. A. Pebrianto, dan G. Saptiani, "Toksitas Produk Ekstraseluler dan Intraseluler Bakteri *Pseudomonas* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)," *Jurnal Veteriner*, vol.15, no.3, hal. 312–322, Sep 2013.
- [8] H. Kartikaningsih, Yahya, F. Z. Rohman, dan A. A. Jaziri, "Characteristics of *Aeromonas hydrophila*-infected Catfish (*Clarias* sp.)," presented at the IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci., 2019.
- [9] E. H. Hardi, C. A. Pebrianto, T. Hidayanti, dan R. T. Handayani, "Infeksi *Aeromonas hydrophila* melalui jalur yang berbeda pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur," *J. Ked. Hewan*, vol.8, no.2, hal. 130–133, Sep 2014.
- [10] B. Austin dan D. A. Austin, *Bacterial Fish Pathogens Disease of Farmed and Wild Fish*, Ed.4. Swiss, CH: Springer

- Netherlands, 2007.
- [11] Y. T. Prayogi, R. Kusdarwati, dan Kismiyati, "Isolasi, identifikasi dan presentasi ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* yang dipelihara di keramba jaring apung di Bozem Moro Krembangan, Surabaya," *J. Aqua. Fish Health*, vol.5, no.2, hal. 22–27, Jun 2016.
- [12] D. S. Mulia, "Keefektivan vaksin *Aeromonas hydrophila* untuk mengendalikan penyakit MAS (Motile Aeromonas Septicemia) pada gurami (*Osporonemus gouramy* Lac.)," *J. Pemb. Pedesaan*, vol.7, no.1, hal.43–52, Apr 2007.
- [13] P. M. Cruz, A. L. Ibáñez, O. A. M. Hermosillo, dan H. C. R. Saad, "Review Article: Use of Probiotics in Aquaculture," *ISRN Microbiology*, vol. 2012, hal 1–13, Agu 2021.
- [14] A. Mansyur dan A. M. Tangko, "Probiotik: pemanfaatannya untuk pakan ikan berkualitas rendah," *Media Akuakultur*, vol.3, no.2, hal. 145–149, Des 2008
- [15] M. S. Hamka, A. Meryandini, Widanarni, L. O. Wahidin, dan A. Kurniaji, "Peran probiotik *Bacillus megaterium* PTB 1.4 dan *Pediococcus pentosaceus* E2211 dalam meningkatkan pertumbuhan dan konsumsi pakan ikan lele (*Clarias* sp.)," *Jurnal Perikanan Darat dan Pesisir*, vol.1, no.2, hal. 46–54, Apr 2021.
- [16] N. Tarigan, F. Meiyasa, G. K. Efruan, D. A. Sitaniapessy, dan D. U. Pati, "Aplikasi probiotik untuk pertumbuhan ikan lele (*Clarias batrachus*) di Kelurahan Malumbi, Sumba Timur," *J. Mitra*, vol.3, no.1, hal. 50–57, Mei 2019.
- [17] E. R. Turnip, Widanarni, A. Meryandini, "Selection of lactic acid bacteria as a probiotic and evaluated its performance on gnotobiotic catfish *Clarias* sp.," *Jurnal Akuakultur Indonesia*, vol.17, no.1, hal. 68–80, Mei 2018.
- [18] W. Munaeni, M. Yuhana, dan Widanarni, "Effect of Micro-encapsulated Synbiotic at Different Frequencies for Luminous Vibriosis Control in White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)," *Microbiology Indonesia*, vol.8, no.2, hal. 73–80, Jun 2014.
- [19] M. Arief, N. Fitriani, dan S. Subekti, "Pengaruh pemberian probiotik berbeda pada pakan komersial terhadap pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan lele sangkuriang (*Clarias* sp.)," *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, vol.6, no.1, hal. 49–53, Apr 2014.
- [20] Hamtini, Widanarni, dan A. Meryandini, "Isolasi dan seleksi *Bacillus* sp. dan ikan lele (*Clarias* sp.) serta potensinya sebagai probiotik," *Jurnal Biologi Indonesia*, vol.11, no.1, hal. 11–19, Jan 2015.
- [21] E. Rosyidah, A. Meryandini, dan T. C. Sunarti, "The Use of Lactic Acid Bacteria and Cellulolytic Bacteria to Improve the Chemical Properties of Corn Flour," *Makara J. Sci.*, vol.17, no.3, hal. 75–80, Des 2013.
- [22] M. S. Hamka, A. Meryandini, dan Widanarni, "Growth performance and immune response of catfish *Clarias* sp. given probiotics *Bacillus megaterium* PTB 1.4 and *Pediococcus pentosaceus* E2211," *Jurnal Akuakultur Indonesia*, vol.19, no.1, hal. 50–60, Jun 2020.
- [23] P. C. Blaxhall dan K. W. Daisley, "Routine haematological methods for use with fish blood," *J. Fish Biol.*, vol.5, no.6, hal. 771–781. Nov 1973.
- [24] D. P. Anderson dan A. K. Siwicki, "Basic hematology and serology for fish health programs" dalam *Book Report: Disease in Asian Aquaculture II*, M. Shariff, J. R. Arthur, dan J. P. Subasinghe, editor. Filipina: Asian Fisheries Society, Fish

- Health Section, 1993, hal. 185–202.
- [25] G. A. Wedemeyer dan W. T. Yasutake, "Clinical methods for the assessment of the effects of environmental stress on fish health," Amerika Serikat: U.S. Fish and Wildlife Service, 1977 hal. 18.
- [26] C. J. Secombes, "Isolation of salmoid macrophages and analysis of their killing activity" dalam *Techniques in fish immunology*, Vol 1, J. S. Stolen, T. C. Fletcher, D. F. Anderson, B. S. Roberson, W. B. von Mulsvinkel, editor. New Jersey: SOS Publications, Fair Haven, 1990, hal. 137–155.
- [27] A. Hanif, V. Bakopoulos, dan G. J. Dimitriadis, "Maternal transfer of humoral specific and non-specific immune parameters to sea bream (*Sparus aurata*) larvae," *Fish Shellfish Immunol.*, vol.17, no.5, hal. 411–435. Nov 2004.
- [28] A. Kurniaji, S. Nuryati, S. Murtini, dan Alimuddin, "Maternal immunity response and larval growth of anti cyhv-3 dna vaccinated common carp (*Cyprinus carpio*) at different pre-spawning time," *Pak. J. Biotechnol.*, vol.15, no.3, hal. 689–698, Agu 2018
- [29] J. P. Harley dan L. M. Prescott, "Laboratory Exercises in Microbiology," Edisi 5, New York: The McGraw-Hill Companies, 2002.
- [30] D. Zhang, D Xu, dan C Shoemaker, "Experimental induction of motile aeromonas septicemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) by waterborne challenge with virulent *Aeromonas hydrophila*," *Aquaculture Reports*, vol.3, hal. 18–23, Mei 2016.
- [31] A. Zubaidah, S. Samsundari, dan Hidayaturrahmi, "Effectiveness of strychnine bush extract (*Strychnos ligustrina* Blume) on the prevalence and survival rate of Dumbo catfish (*Clarias gariepinus*) infected by *Aeromonas hydrophila*," *Indonesian Journal of Tropical Aquatic*, vol.2, no.1, hal. 1–8, Feb 2019.
- [32] Q. Astria, S. Nuryati, K. Nirmala, dan Alimuddin, "Effectiveness of ambon banana stem juice as immunostimulatory against *Aeromonas hydrophila* infections in catfish *Clarias gariepinus*," *Jurnal Akuakultur Indonesia*, vol.16, no.2, hal 154–163, Jul 2017.
- [33] A. Indriyanti, P. G. S. Julyantoro, dan N. P. P. Wijayanti, "Protection of Thiophenone in Catfish (*Clarias* sp.) Larvae When Challenged with *Aeromonas hydrophila*," *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*, vol.5, no.1, hal. 23–28, Feb 2021.
- [34] S.K. Nayak, "Review: Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish Shellfish Immunol.*, vol.29, no.1, hal. 2–14. Jul 2010.
- [35] I. E. Alamanda, N. S. Handajani, dan A. Budiharjo, "Penggunaan metode hematologi dan pengamatan endoparasit darah untuk penetapan kesehatan ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) di kolam budidaya Desa Mangkubumen Boyolali," *Biodiversitas*, vol.8, no.1, hal 34–38, Jan 2007.
- [36] E. H. Hardi, E. Harris, dan A. M. Lusiastuti, "Karakteristik dan Patogenesis *Streptococcus agalactiae* Tipe β -hemolitik dan Non-hemolitik pada Ikan Nila," *Jurnal Veteriner*, vol.12, no.2, hal. 152–164. Nov 2011.
- [37] S. Purwanti, Suminto, dan A. Sudaryono, "The description of blood profile catfish *Clarias gariepinus* that is fed with a combination of artificial feed and earthworm *Lumbricus rubellus*," *Journal of Aquaculture Management and Technology*, vol.3, no.2, hal. 53–60, Apr 2014.

- [38] Triyaningsih, Sarjito, dan S. B. Prayitno, "Patogenitas *Aeromonas hydrophila* yang diisolasi dari ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari Boyolali," *Journal of Aquaculture Management and Technology*, vol.3, hal. 11–17, Mar 2014.
- [39] K. Alipin, dan T. A. Sari, "Indikator kesehatan ikan kerapu cantik (*Epinephelus* sp.) yang terdapat pada budidaya keramba Pantai Timur Pangandaran," *Metamorfosa Journal of Biological Sciences*, vol.7, no.2, hal. 285–292, Sep 2020.
- [40] B. T. Adeyemo, R. A. Obande, dan S. G. Solomon, "Haematological reference ranges of cultured *Clarias gariepinus* in the Lower Benue River Basin , Nigeria. Comparative Clinical Pathology," vol.23, Okt 2014.
- [41] S. Rahmaningsih, M. Zenuddin, dan A. Sudianto, "Gambaran hematokrit darah ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*) yang diberi pakan serbuk daun majapahit (*Crescentia cujete* L) dan diinfeksi dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Kelautan Dan Perikanan Terapan*, vol.1, no.2, hal. 63–67, Des 2018.
- [42] Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum, dan A. Hasan, "Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo *Clarias* sp.," *Jurnal Akuakultur Indonesia*, vol.7, no.2, hal. 159–169, Feb 2008.
- [43] I. Tizard, *Veterinary Immunology: An Introduction*. Edisi ke-10. Amerika Serikat, US: Elsevier Health Sciences. 2016.
- [44] C. Uribe, H. Folch, R. Enriquez, dan G. Moran, " Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinarni Medicina*, vol.56, hal. 486–503, Jan 2011.
- [45] P. T. Fowoyo, dan F. Achimugu, "Virulence of *Aeromonas hydrophila* isolated from fresh water catfish," *Journal of Biosciences and Medicines*, vol.7, no.1, hal. 1–12, Jan 2019.
- [46] A. M. Lusiastuti, T. Sumiati, dan W. Hadie, "Probiotik *Bacillus firmus* untuk pengendalian penyakit *Aeromonas hydrophila* pada budidaya ikan lele dumbo, *Clarias gariepinus*," *Jurnal Riset Akuakultur*, vol.8, no.2, hal. 253–264, Jul 2013.