

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## POTENSI BAKTERI ASAM LAKTAT SEBAGAI PROBIOTIK PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DALAM MENGHADAPI PENYAKIT BERCAK MERAH

Agustina<sup>\*#</sup>, Gina Saptiani<sup>\*</sup>, Sundari Hidayat<sup>\*</sup>

Program Studi Akuakultur, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas  
Mulawarman  
Jalan Gunung Tabur, Kampus Gunung Kelua, Samarinda 75123, Kalimantan Timur

(Naskah diterima: 03 Oktober 2022; Revisi final: 10 Agustus 2023; Disetujui publikasi: 10 Agustus 2023)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan tiga isolat bakteri asam laktat (BAL) dari usus ikan repang (*Puntioplites waandersi*), dalam meningkatkan kinerja pertumbuhan dan ketahanan benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) terhadap infeksi *Aeromonas hydrophila*. Benih ikan nila sebanyak 10 ekor dengan berat rata-rata  $3,38 \pm 0,09$  g dipelihara dalam akuarium volume 30 L serta diberi *Enterococcus faecalis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, dan *Lactococcus lactis* dengan dosis  $0,1 \text{ mL g}^{-1}$  pakan dengan konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$  dan larutan *phosphate buffer saline* sebagai kontrol, secara *ad satiation* sebanyak tiga kali sehari selama 14 hari, perlakuan diberikan pada pagi hari. Pada hari ke-15, ikan diuji tantang dengan *A. hydrophila* pada konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$  secara injeksi *intramuscular* dengan dosis  $0,1 \text{ mL}$  kemudian dipelihara hingga hari ke-21. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian BAL berpengaruh nyata terhadap kinerja pertumbuhan meliputi pertumbuhan berat sebesar 7,12-7,47 g; laju pertumbuhan spesifik sebesar 3,61-3,73 % hari $^{-1}$ , rata-rata pertumbuhan harian sebesar 1,80-1,93 g hari $^{-1}$ . Aktivitas fagositik berkisar antara 24,44-67,78%; jumlah bakteri patogen dalam darah ikan nila pada hari ke-20 lebih rendah dibanding kontrol, yaitu berkisar  $0,44-0,51 \times 10^4 \text{ CFU mL}^{-1}$  dan tingkat kelangsungan hidup berkisar antara 86,67-93,33%. Berdasarkan hasil tersebut, BAL berpotensi sebagai probiotik dalam budidaya ikan nila dalam mengendalikan penyakit bercak merah.

**KATA KUNCI:** *Aeromonas hydrophila*; bakteri asam laktat; *Oreochromis niloticus*; probiotik

**ABSTRACT:** The potential of lactic acid bacteria as probiotics in tilapia (*Oreochromis niloticus*) against red spot disease

*This study aimed to evaluate the ability of three isolates of lactic acid bacteria (LAB) from the intestines of Repang fish (*Puntioplites waandersi*) in increasing the growth performance and resistance of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry against *Aeromonas hydrophila* infection. Ten tilapia seeds with an average weight of  $3.38 \pm 0.09$  g were reared in an aquarium with a volume of 30 L and given *Enterococcus faecalis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, and *Lactococcus lactis* at a dose of  $0.1 \text{ mL g}^{-1}$  feed with a concentration of  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$  and phosphate buffer saline as a control, ad satiation three times a day for 14 days, the treatment*

#Korespondensi: Program Studi Akuakultur, Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman, Kampus Gunung Kelua, Samarinda 75123, Kalimantan Timur  
Email: agustina@fpik.unmul.ac.id

*was given in the morning. On the 15<sup>th</sup> day, the fish were challenged with *A. hydrophila* at a concentration of 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup> by intramuscular injection at a dose of 0.1 mL and then maintained until the 21<sup>st</sup> day. The results showed that BAL significantly affected the fish's growth performance, including weight growth of 7.12-7.47 g, specific growth rate of 3.61-3.73 % day<sup>-1</sup>, average daily growth of 1.80-1.93 g day<sup>-1</sup>. Phagocytic activity ranged from 24.44-67.78%; the number of pathogenic bacteria in the blood of tilapia on the 20<sup>th</sup> day was lower than the control, which ranged from 0.44-0.51x10<sup>4</sup> CFU mL<sup>-1</sup>. and the survival rate ranged from 86.67-93.33%. Based on these results, LAB has the potential as a probiotic in tilapia aquaculture in controlling red spot disease.*

**KEYWORDS:** *Aeromonas hydrophila; lactic acid bacteria; Oreochromis niloticus; probiotic*

## PENDAHULUAN

Kegiatan budidaya ikan dalam keramba semakin berkembang di sepanjang Sungai Mahakam, Kabupaten Kutai Kartanegara, Provinsi Kalimantan Timur. Jenis ikan yang dibudidayakan pun semakin beragam seperti ikan mas (*Cyprinus carpio* L.), ikan nila (*Oreochromis niloticus*), ikan patin (*Pangasius* sp.), dan ikan jelawat (*Leptobarbus hoevenii*) (Kukar paper, 2021). Kondisi ini tentu saja berdampak pada peningkatan pendapatan masyarakat di daerah ini. Di sisi lain, ketidakseimbangan antara faktor lingkungan, ikan yang dibudidayakan serta mikroorganisme meningkatkan potensi terjadinya serangan penyakit pada ikan budidaya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, bakteri fakultatif seperti *Aeromonas hydrophila* yang merupakan penyebab penyakit bercak merah atau *motile aeromonad septicemia*, banyak ditemukan di ikan yang sehat maupun ikan yang sakit (Agustina et al., 2014). Gejala klinis yang ditunjukkan antara lain sisik yang lepas, bengkak pada perut (*dropsey*), erosi pada sirip, borok (*ulcer*) pada permukaan tubuh, dan rusaknya organ dalam seperti ginjal (Hamid et al., 2016). Berdasarkan penelitian Agustina et al. (2019), tingkat kelangsungan hidup ikan mas yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* dengan dosis 0,1 m per ekor ikan pada konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup> sekitar 40%. Keberadaannya dalam tubuh ikan maupun di lingkungan perairan berpotensi menjadi masalah dalam kegiatan budidaya ikan.

Pemanfaatan obat-obatan berbahaya kimia maupun antibiotik secara tidak tepat dan dalam waktu yang lama menjadi tidak aman bagi lingkungan perairan maupun manusia sebagai konsumen ikan budidaya. Hal ini terkait residu antibiotik yang mengakibatkan potensi resistensi terhadap antibiotik tertentu (Yuan et al., 2023). Probiotik adalah salah satu cara yang paling menjanjikan serta aman untuk mendukung pertumbuhan normal serta kesehatan ikan budidaya karena mereka berfungsi sebagai sumber nutrisi, vitamin dan enzim pencernaan, dan secara signifikan berkontribusi pada konsumsi pakan, penyerapan nutrisi, dan tingkat pertumbuhan inang (Nath et al., 2019).

Diketahui bahwa beberapa strain bakteri asam laktat (BAL) dapat melindungi ikan dari patogen usus dengan beberapa mekanisme di antaranya produksi zat penghambat, seperti asam organik, hidrogen peroksida, bakteriosin, dan karbon peroksida (Ringø et al., 2020). Mekanisme aksi lainnya ditunjukkan oleh bakteri asam laktat melalui pemanfaatan nutrisi yang lebih baik, sifat antibakteri, serta peningkatan respons imun pada ikan dalam menghadapi infeksi patogen. Di antara kelompok bakteri asam laktat, bakteri yang menunjukkan peran positif tersebut yaitu *Lactococcus lactis*, *Enterococcus* spp., *Lactobacillus plantarum*, dan *Leuconostoc mesenteroides* (Ringø et al., 2018). Di antara kelompok probiotik yang ada, kelompok *Lactobacilli* dianggap sebagai salah satu pengganti antibiotik yang

paling efektif (van Doan *et al.*, 2020).

Komposisi mikrobiota pada saluran pencernaan ikan berbeda tiap habitatnya (Zeng *et al.*, 2020). Kondisi ini menjadikan kelompok bakteri di saluran pencernaan ikan lokal lebih besar peluangnya untuk hidup dan berkembang di saluran pencernaan ikan yang habitatnya sama, sehingga berpotensi besar sebagai probiotik bagi ikan budidaya di perairan yang sama. Agustina *et al.* (2022b) secara *in vitro* menemukan tiga isolat bakteri asam laktat *Enterobacter faecalis*, *Lactiplantibacillus plantarum*, dan *Lactococcus lactis*, dari usus ikan lokal yaitu ikan repang (*Puntioplites waandersi*) yang berpotensi sebagai probiotik. Evaluasi secara *in vivo* ketiga jenis bakteri asam laktat tersebut perlu dilakukan. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan tiga bakteri asam laktat tersebut sebagai probiotik pada ikan nila, terutama terhadap kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan, dan ketahanan ikan dalam menghadapi infeksi bakteri *A. hydrophila*.

## BAHAN DAN METODE

### Persiapan Ikan dan Wadah Uji

Benih ikan nila yang digunakan berasal dari sentra pembenihan di Kota Samarinda sebanyak 200 ekor dengan berat rata-rata  $3,38 \pm 0,09$  g yang diadaptasikan dalam bak plastik yang sebelumnya diisi air PDAM yang sudah diendapkan dan diaerasi selama 3 hari. Adaptasi ini dilakukan selama 5 hari dan ikan diberi pakan dengan pakan komersial dengan protein 32% sebanyak tiga kali sehari secara *ad satiation*. Ikan lalu diuji *screening* untuk menyeleksi ikan yang akan digunakan pada penelitian dengan merendamnya dalam larutan formalin 20 ppm selama 15 menit. Ikan lalu diadaptasikan kembali selama 3 jam, kemudian dipilih ikan yang sehat dengan ciri-ciri pola renang normal, tidak ada kemerahan pada sirip, dan sisik tidak lepas, sebagai hewan uji. Ikan dipuaskan sehari sebelum diberi perlakuan.

Akuarium yang digunakan untuk memelihara ikan selama penelitian digunakan sebanyak 12 buah dengan ukuran 50x40x35 cm<sup>3</sup>. Akuarium dibersihkan terlebih dahulu dengan cara dicuci bersih dengan sabun lalu direndam dengan KMnO<sub>4</sub> 7%, kemudian dibilas dan direndam dengan air bersih selama 24 jam serta dikeringkan, selanjutnya diisi air dengan volume 30 L setiap akuarium.

### Persiapan Bakteri Asam Laktat dan *Aeromonas hydrophila*

Isolat bakteri asam laktat yang berasal dari usus ikan repang yaitu *E. faecalis*, *Lp. plantarum*, dan *L. lactis* ditanam dalam media *deMan Rogosa Sharpe broth* (MRSB) lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 36°C selama 24 jam. Sel-sel yang diperpanjang dengan cara sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm kemudian dibilas dan disuspensi kembali dalam *phosphate buffer saline* (PBS). Setiap suspensi bakteri (0,1 mL) mengandung sekitar 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>, sebagaimana ditentukan oleh metode *standar plate count* (Gupta *et al.*, 2014). Masing-masing suspensi yang berisi bakteri dicampur dengan 2% putih telur secara merata lalu disemprotkan ke pakan komersial (kadar protein 39%, berbentuk pelet diameter 0,8-1 mm, produksi PT. Matahari Sakti) dengan dosis 0,1 mL g<sup>-1</sup> pakan, lalu pakan uji tersebut dikeringanginkan, setelah itu siap diberikan pada ikan. Hal yang sama juga dilakukan untuk pakan kontrol hanya saja putih telur sebanyak 2% dicampur dengan larutan PBS.

Isolat bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari ikan nila yang sakit pada penelitian sebelumnya. Isolat *A. hydrophila* ditanam di media *trypticase soy broth* (TSB) lalu diinkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam. Sel-sel yang diperpanjang dengan cara sentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm kemudian dibilas dan disuspensi kembali dalam PBS. Setiap suspensi bakteri (0,1 mL) mengandung sekitar 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>, sebagaimana ditentukan oleh metode *standar plate count* (Gupta *et al.*, 2014). Suspensi berisi bakteri *A. hydrophila* ini

siap digunakan saat uji tantang pada hari ke-15.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan pola rancangan acak lengkap. Terdapat empat perlakuan yang masing-masing terdiri dari pakan kontrol (larutan PBS) sebagai P0, pakan dengan penambahan bakteri *E. faecalis*, bakteri *Lp. plantarum*, dan bakteri *L. lactis*, masing-masing bakteri diberikan dengan dosis  $0,1 \text{ mL g}^{-1}$  pakan pada konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$  dan setiap perlakuan terdiri dari tiga ulangan.

### Pemeliharaan Ikan dan Uji Tantang

Benih ikan nila dimasukkan ke dalam akuarium sebanyak 10 ekor tiap akuarium secara acak. Ikan diberi perlakuan pakan dengan bakteri asam laktat dan kontrol dengan PBS sampai hari ke-14. Pakan uji hanya diberikan pada pagi hari dengan dosis bakteri  $0,1 \text{ mL g}^{-1}$  pakan pada konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$ , sementara pada siang dan sore hari ikan diberi pakan komersial (tanpa perlakuan) secara *ad satiation* (Agustina *et al.*, 2022a). Jumlah pakan yang dimakan oleh ikan setiap perlakuan dihitung sampai hari ke-14 dengan cara menghitung berat pakan awal dikurangi berat pakan yang tersisa. Berat ikan ditimbang pada hari ke-0 dan hari ke-14. Untuk menjaga kualitas air selama penelitian maka diberikan aerasi dan penyipahan setiap hari dengan mengganti air sebanyak 25-50%. Kisaran parameter kualitas air selama penelitian yaitu suhu berkisar  $27,3\text{-}28,5^\circ\text{C}$ ; pH berkisar  $6,4\text{-}6,8$ ; oksigen terlarut berkisar  $5,34\text{-}5,71 \text{ mg L}^{-1}$ ; dan total amoniak nitrogen berkisar  $0,017\text{-}0,023 \text{ mg L}^{-1}$ .

Pada hari ke-15 dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* dengan cara diinjeksikan secara *intramuscular* dengan dosis  $0,1 \text{ mL ikan}^{-1}$  pada konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$ . Ikan diberi pakan komersial (tanpa perlakuan)

secara *ad satiation* setelah uji tantang sampai hari ke-21. Jumlah ikan yang mati dihitung sejak uji tantang sampai hari ke-21.

### Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah kinerja pertumbuhan ikan nila, pemanfaatan pakan, parameter hematologi dan imunitas nonspesifik, jumlah bakteri *A. hydrophila* dalam darah ikan serta tingkat kelangsungan hidup ikan nila. Parameter kinerja pertumbuhan dihitung dari berat awal dan berat akhir ikan. Parameter pemanfaatan pakan, dihitung berdasarkan jumlah pakan yang dimakan ikan mulai hari ke-1 sampai hari ke-14. Parameter hematologis dan imunitas nonspesifik ikan nila, diukur enam kali selama penelitian yaitu pada hari ke-0, 5, 10, 16, 18, dan 20. Jumlah bakteri *A. hydrophila* dalam darah ikan nila, dikumpulkan sebanyak tiga kali selama penelitian yaitu pada hari ke-17, 19, dan 21, berdasarkan metode *total plate count*, menggunakan media *glutamat starch phenile* (GSP). Parameter tingkat kelangsungan hidup ikan nila, diukur berdasarkan persentase jumlah ikan yang hidup di akhir penelitian.

Uji *one way ANOVA* digunakan untuk menganalisis pengaruh bakteri asam laktat terhadap parameter kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan, aktivitas fagositik, jumlah bakteri *A. hydrophila* dalam darah, dan tingkat kelangsungan hidup ikan nila. Uji Tukey atau beda nyata jujur (BNJ) pada taraf uji 5% selanjutnya digunakan untuk mengetahui rata-rata perbedaan jenis bakteri asam laktat yang diberikan. Parameter hematologis diuji secara deskriptif dalam bentuk tabel, berdasarkan kisaran rata-rata nilai setiap parameter selama enam kali pengamatan.

### HASIL DAN BAHASAN

Pemberian BAL dengan dosis  $0,1 \text{ mL g}^{-1}$  pada konsentrasi  $10^6 \text{ CFU mL}^{-1}$ , selama 14 hari menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap kinerja pertumbuhan ikan nila yaitu

pertumbuhan berat, rata-rata pertumbuhan harian, dan laju pertumbuhan spesifik. Pada hasil uji lanjut Tukey menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan pemberian BAL dengan kontrol ( $p<0,05$ ) (Tabel 1). Hasil ini sejalan dengan hasil yang diperoleh pada penelitian Kong *et al.* (2020), *Channa argus* diberi pakan tiga strain BAL yang berbeda secara tunggal atau bersama-sama, menghasilkan pertumbuhan berat, laju pertumbuhan spesifik, efisiensi pakan, dan

rasio efisiensi protein yang meningkat secara signifikan ( $p<0,05$ ) pada akhir penelitian (56 hari). Pertumbuhan ikan dapat langsung dipengaruhi oleh kecernaan pakan, yang dapat ditingkatkan dengan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan melalui penggunaan probiotik (Hassaan *et al.*, 2018).

Dalam penelitian Kong *et al.* (2020), strain *E. faecalis* W24 (Genbank: MT102746.1), sebagai salah satu flora normal usus hewan, dan menunjukkan hasil positif berpengaruh

Tabel 1. Nilai rata-rata parameter kinerja pertumbuhan dan pemanfaatan pakan ikan nila dengan penambahan bakteri asam laktat

Table 1. Average value of growth performance parameters and feed utilization of tilapia with the addition of lactic acid bacteria

Parameter Parameters	Perlakuan (Treatments)			
	Kontrol Control	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactococcus Lactis</i>
Berat awal (g) <i>Initial weight (g)</i>	3,33 ± 0,07 <sup>a</sup>	3,41 ± 0,10 <sup>a</sup>	3,42 ± 0,15 <sup>a</sup>	3,34 ± 0,07 <sup>a</sup>
Berat Akhir (g) <i>Final weight (g)</i>	5,25 ± 0,16 <sup>a</sup>	7,47 ± 0,29 <sup>b</sup>	7,42 ± 0,24 <sup>b</sup>	7,12 ± 0,29 <sup>b</sup>
Pertumbuhan berat (g) <i>Weight gain (g)</i>	1,89 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,05 ± 0,37 <sup>b</sup>	4,00 ± 0,12 <sup>b</sup>	3,78 ± 0,26 <sup>b</sup>
Laju pertumbuhan spesifik (% hari <sup>-1</sup> ) <i>Specific growth rate</i> (% day <sup>-1</sup> )	2,12 ± 0,22 <sup>a</sup>	3,73 ± 0,31 <sup>b</sup>	3,69 ± 0,10 <sup>b</sup>	3,61 ± 0,16 <sup>b</sup>
Laju pertumbuhan harian (g hari <sup>-1</sup> ) <i>Daily growth rate</i> (g day <sup>-1</sup> )	0,90 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,93 ± 0,18 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,06 <sup>b</sup>	1,80 ± 0,12 <sup>b</sup>
Rasio konversi pakan <i>Feed conversion</i> <i>ratio</i>	1,71 ± 0,15 <sup>a</sup>	1,33 ± 0,09 <sup>b</sup>	1,33 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,49 ± 0,11 <sup>b</sup>
Efisiensi pakan (%) <i>Feed efficiency (%)</i>	58,80 ± 4,80 <sup>a</sup>	75,36 ± 5,50 <sup>b</sup>	75,44 ± 0,74 <sup>b</sup>	67,25 ± 4,76 <sup>b</sup>

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan pada taraf 5% ( $p<0,05$ )

Note: Different superscripts in the same row indicate a significant difference at 5% confidence level ( $p<0.05$ )

terhadap pertumbuhan, kekebalan, dan ketahanan penyakit *C. argus*. Bakteri *E. faecalis* dengan dosis  $10^8$  CFU g<sup>-1</sup> pakan selama 30 hari mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Banos *et al.*, 2019). Sementara pada penelitian ini *E. faecalis* juga menunjukkan kemampuan dalam meningkatkan kinerja pertumbuhan dan pemanfaatan pakan ikan nila walaupun pemberian hanya dilakukan selama 14 hari. Bakteri *E. faecalis* diduga memiliki aktivitas enzim pencernaan terbaik dalam usus dan hati.

Bakteri *Lp. plantarum* dari usus ikan repang yang digunakan pada penelitian ini mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan dan pemanfaatan pakan ikan nila, lebih tinggi dibanding kontrol. Sementara itu pemberian *L. plantarum* yang berasal dari usus ikan *Pangasius* sebanyak  $10^8$  CFU g<sup>-1</sup> pakan selama 8 minggu mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila, berupa peningkatan berat ikan, laju

pertumbuhan spesifik, dan resistensi terhadap *Streptococcus agalactiae* (van Doan *et al.*, 2019). Studi Liu *et al.* (2021) juga menemukan bahwa suplementasi probiotik dalam diet secara signifikan mendorong pertumbuhan dan meningkatkan kekebalan bawaan pada ikan nila dibandingkan dengan kelompok non-probiotik.

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa pemberian BAL selama 14 hari tidak mengganggu kesehatan ikan nila, berdasarkan nilai beberapa parameter hematologis masih berada pada kisaran normal, seperti hasil penelitian parameter hematologi ikan nila oleh Hartika *et al.* (2014). Terjadi peningkatan pada total leukosit dan diferensial leukosit yang selanjutnya ikut berperan sebagai sistem pertahanan non-spesifik. Hal ini sejalan dengan penelitian pada ikan shabout (*Tor grypus*) yang mengonsumsi bakteri *autochthonous Lactobacillus casei* PTCC1608 ( $5 \times 10^7$  CFU g<sup>-1</sup>)

Tabel 2. Kisaran rata-rata nilai parameter hematologis ikan nila selama pengamatan dengan penambahan bakteri asam laktat

Table 2. The average range of hematological parameter values of tilapia during observation with the addition of lactic acid bacteria

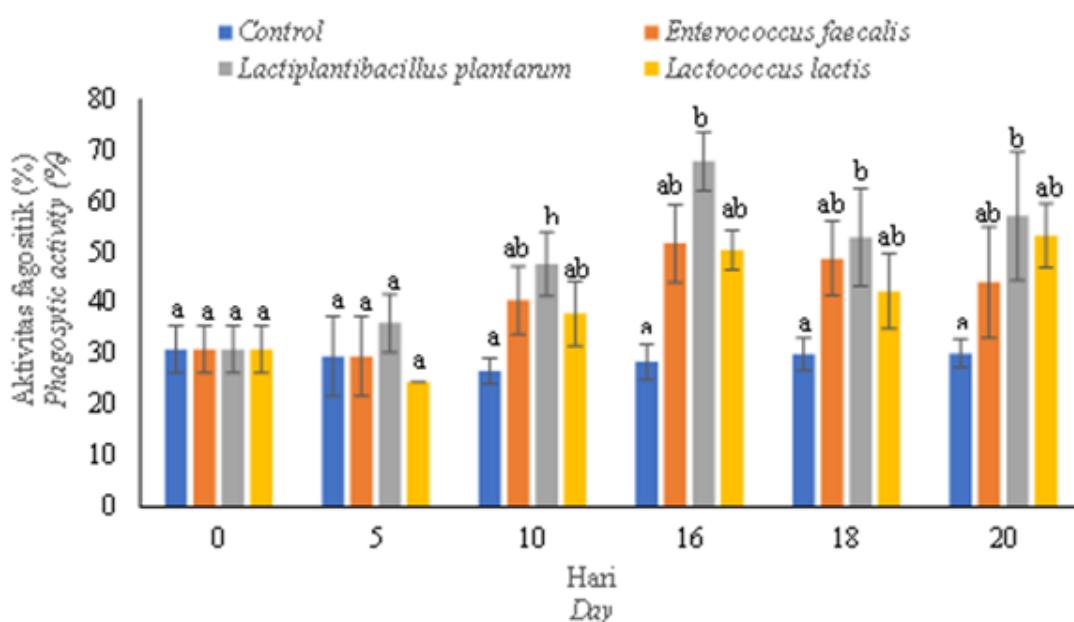
Parameter Parameters	Perlakuan Treatments			
	Kontrol Control	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
Hemoglobin (g dL <sup>-1</sup> )	6,33-7,70	6,77-8,33	7,40-9,17	6,17-8,33
<i>Hemoglobin (g dL<sup>-1</sup>)</i>				
Hematokrit (%)	11,12-22,98	22,53-28,22	22,98-37,69	19,06-22,98
<i>Hematocrit (%)</i>				
Eritrosit (x10 <sup>6</sup> sel mm <sup>-3</sup> )	0,81-1,57	1,40-1,78	1,57-2,68	1,22-1,57
<i>Erythrocytes (x10<sup>6</sup> cells mm<sup>-3</sup>)</i>				
Leukosit (x10 <sup>4</sup> sel mm <sup>-3</sup> )	0,99-1,59	1,55-1,86	1,55-2,0	1,43-1,57
<i>Leukocytes (x10<sup>4</sup> cells mm<sup>-3</sup>)</i>				
Limfosit (%)	75,87-81,93	77,71-83,44	78,27-83,44	73,87-82,34
<i>Lymphocytes (%)</i>				
Monosit (%)	13,50-19,36	13,02-19,36	10,03-19,36	12,22-21,53
<i>Monocytes (%)</i>				
Neutrofil (%)	2,37-7,04	2,37-4,60	2,37-4,46	2,37-6,18
<i>Neutrophils (%)</i>				

selama 60 hari terlihat peningkatan yang signifikan dalam jumlah sel darah putih dan konsentrasi hemoglobin (Muhammadian *et al.*, 2018).

Fluktuasi nilai parameter hematologis terjadi setelah uji tantang menunjukkan bahwa tubuh ikan memberikan respons terhadap masuknya antigen ke dalam tubuh. Ketahanan ikan nila terhadap penyakit bercak merah pada penelitian ini didukung dengan parameter hematologis dan imunitas non-spesifik, yaitu

aktivitas fagositik dalam darahnya dengan perlakuan BAL berkisar antara 24,44-67,78% sedangkan kontrol sebesar 26,64-30,87% (Gambar 1). Aktivitas fagositik tertinggi pada perlakuan *Lp. plantarum* sebesar 30,87-67,78%. Hal ini membuktikan bahwa pemberian probiotik dapat menjadi strategi nutrisi untuk meningkatkan respons imun ikan (Ramos *et al.*, 2017).

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa setelah uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* sampai



Gambar 1. Aktivitas fagositik ikan nila selama pengamatan dengan penambahan bakteri asam laktat

Figure 1. *Phagocytic activity of tilapia during observation with the addition of lactic acid bacteria*

hari terakhir pengamatan, jumlah bakteri patogen tersebut dalam darah mengalami fluktuasi. Jumlah *A. hydrophila* dalam darah ikan nila lebih rendah dibanding kontrol ( $p < 0,05$ ). Jumlah bakteri *A. hydrophila* pada perlakuan BAL pada akhir perlakuan masing-masing  $0,44$ ;  $0,45$ ; dan  $0,51 \times 10^4$  CFU mL $^{-1}$  untuk perlakuan *E. faecalis*, *Lp. Plantarum*, dan *L. lactis*, sementara pada kontrol  $2,55 \times 10^4$  CFU mL $^{-1}$ . Hasil ini diduga berkaitan dengan aktivitas fagositik dalam darah ikan nila.

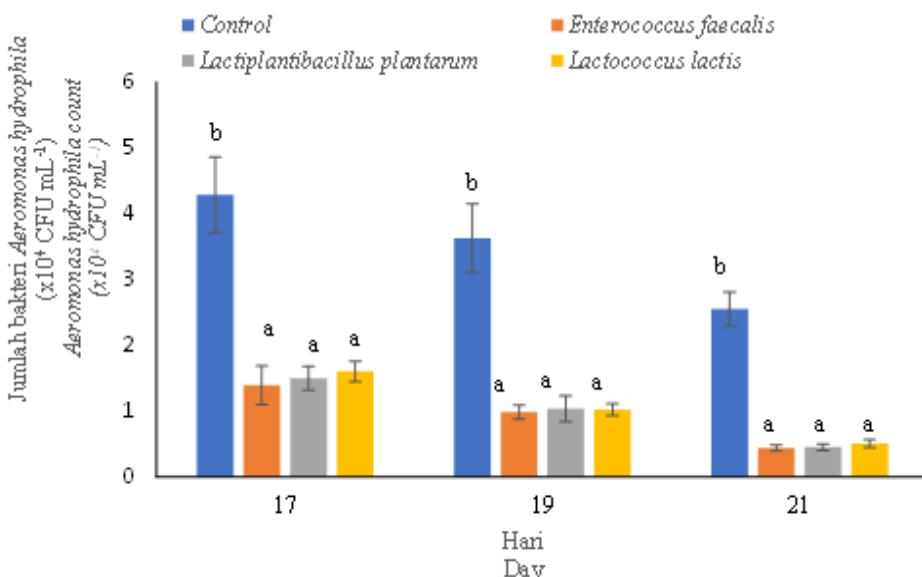
Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa pemberian bakteri asam laktat dalam pakan

mampu menghasilkan tingkat kelangsungan hidup lebih tinggi setelah diinfeksi dengan bakteri patogen, yaitu berkisar antara 86,67-93,30% dibanding kontrol yang hanya 63,33% ( $p < 0,05$ ). Pada penelitian Zhu *et al.* (2021), eksperimen uji tantang menunjukkan bahwa ikan dalam kelompok *L. lactis* 3-c-18 memiliki tingkat kematian yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Ini kemungkinan terkait dengan kombinasi peningkatan kesehatan hati dan usus, peningkatan kapasitas antioksidan darah, dan peningkatan flora usus karena dimasukkannya

*L. lactis* 3-c-18 dalam pakan.

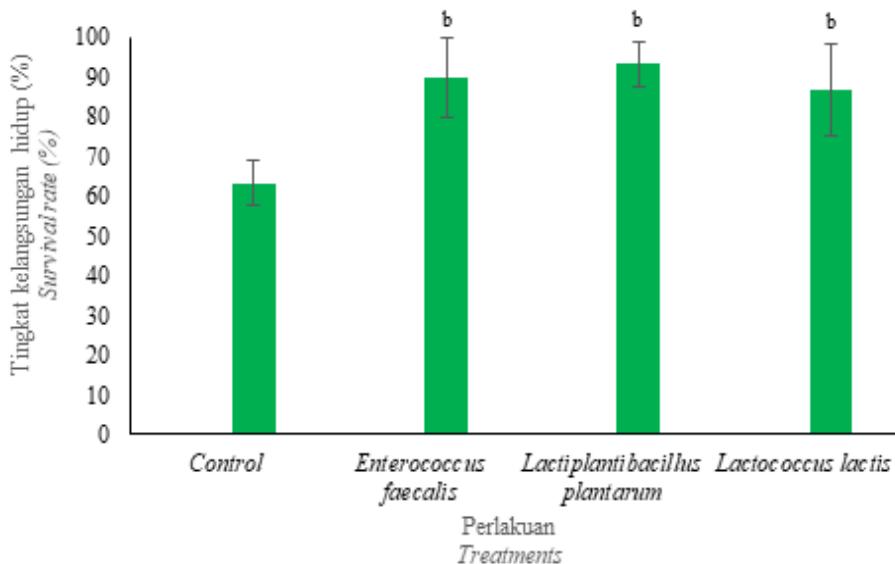
Bakteri asam laktat yang diberikan dalam pakan ikan nila pada penelitian ini diduga dapat melekat, hidup, dan berproliferasi dalam usus ikan nila sehingga mampu meningkatkan

kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan, dan ketahanan ikan terhadap penyakit bercak merah. Oleh karena itu, BAL pada penelitian ini memenuhi beberapa kriteria penting untuk menjadi kandidat sebagai probiotik.



Gambar 2. Jumlah bakteri *Aeromonas hydrophila* dalam darah ikan nila dengan penambahan bakteri asam laktat

Figure 2. *Aeromonas hydrophila* bacteria count in the blood of tilapia with the addition of lactic acid bacteria



Gambar 3. Tingkat kelangsungan hidup ikan nila pada akhir penelitian dengan penambahan bakteri asam laktat

Figure 3. The survival rate of tilapia at the end of study with the addition of lactic acid bacteria

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa pemberian BAL berpengaruh nyata terhadap kinerja pertumbuhan, pemanfaatan pakan, parameter hematologis normal, aktivitas fagositik, jumlah bakteri *A. hydrophila* dalam darah, dan tingkat kelangsungan hidup ikan nila setelah diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*. Bakteri *E. faecalis*, *Lp. plantarum*, dan *L. lactis* berpotensi sebagai calon probiotik pada budidaya ikan nila dalam mengendalikan penyakit bercak merah.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui program Penerimaan Negara Bukan Pajak Universitas Mulawarman tahun 2021. Penulis juga menyampaikan penghargaan kepada Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan serta Kepala Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman yang telah memfasilitasi penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

- Agustina, A., Pebrianto, C.A., Ma'ruf, M., Susanto, A., & Jannah, M. (2014). Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. pada Ikan yang Dibudidayakan dalam Karamba di Danau Melintang dan Sungai Mahakam Kabupaten Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. In *Prosiding Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*, 59-70.
- Agustina, Prayitno, S. B., Sabdono, A., & Saptiani, G. (2019). Pathogenicity assay of probiotic-potential bacteria from the Kelabau fish (*Osteochilus melanopleurus*). *AACL Bioflux*, 12(5), 1994-2003.
- Agustina, A., Prayitno, S.B., Sabdono, A. & Saptiani, G. (2022a). Pemanfaatan bakteri dari usus ikan kelabau (*Osteochilus melanopleurus*) dalam menghadapi infeksi bakteri *Pseudomonas* sp. *Jurnal Perikanan Unram*, 12(3), 438-449. doi: <http://doi.org/10.29303/jp.v12i3.362>
- Agustina A., Saptiani G., & Hardi E. H. (2022b). Isolation and identification of potential lactic acid bacteria as probiotics from the intestines of repang fish (*Puntioplites waandersi*). *AACL Bioflux*, 15(1), 24-33.
- Banos, A., Ariza, J.J., Nu~nez, C., Gil-Martinez, L., Garcia-Lopez, J.D., Martinez-Bueno, M., & Valdivia, E. (2019). Effects of *Enterococcus faecalis* UGRA10 and the enterocin AS-48 against the fish pathogen *Lactococcus garvieae*. Studies in vitro and in vivo. *Food Microbiology*, 77, 69-77. doi: <http://doi.org/10.1016/j.fm.2018.08.002>
- Gupta, A., Gupta, P., & Dhawan, A. (2014). Dietary supplementation of probiotics affects growth, immune response and disease resistance of *Cyprinus carpio* fry. *Fish & Shellfish Immunology*, 41, 113-119. doi: <http://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.08.023>
- Hamid, N.H, Hassan M.D., Md. Sabri, M.Y., Hasliza, A.H., Hamdan, R.H., Afifah, M.N.F., Raina, M.S., Nadia, A.B.S., & Fuad, M.M. (2016). Studies on Pathogenicity Effect of *Aeromonas hydrophila* Infection in Juvenile Red Hybrid Tilapia *Oreochromis* sp. In *Proceedings of International Seminar on Livestock Production and Veterinary Technology 2016*. 532-39.
- Hartika, R., Mustahal, & Achmad, N.P. (2014). Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis prebiotik yang berbeda dalam pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 4 (4), 259-267. doi: <http://dx.doi.org/10.33512/jpk.v4i4.174>
- Hassaan, M., Soltan, M., Jarmołowicz, S., & Abdo, H. (2018). Combined effects of dietary malic acid and *Bacillus subtilis* on growth, gut microbiota and blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 24, 83-93. doi: <https://doi.org/10.1111/anu.12536>
- Kong, Y., Gao, C., Du, X., Zhao, J., Lia, M., Shan, X., & Wang, G. (2020). Effects of single or conjoint administration of lactic acid

- bacteria as potential probiotics on growth, immune response and disease resistance of snakehead fish (*Channa argus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 102, 412-421. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.003>
- Kukarpaper. (2021). Inilah Sebaran Perzona Komoditi Budidaya Perikanan Kukar. <https://kukarpaper.com/inilah-sebaran-perzona-komoditi-budidaya-perikanan-kukar/>Liu, Q., Wen, L., Pan, X., Huang, Y., Du, X., Qin, J., Zhou, K., Wei, Z., Chen, Z., Ma, H., Hu, T., & Yong, L. (2021). Dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and *Enterococcus faecalis* can effectively improve the growth performance, immunity, and resistance of tilapia against *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture Nutrition*, 00, 1-13. doi: <https://doi.org/10.1111/anu.13256>
- Mohammadian, T., Alishahi, M., Tabandeh, M.R., Nejad, A.J., Karami, E., & Zarea, M. (2018). Effects of autochthonous probiotics, isolated from *Tor grypus* (Karaman, 1971) intestine and *Lactobacillus casei* (PTCC 1608) on expression of immune-related genes. *Aquaculture International*, 27, 239-260. doi: <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0320-9>
- Nath, S., Matozzo, V., Bhandari, D., & Faggio, C. (2019). Growth and liver histology of *Channa punctatus* exposed to a common biofertilizer. *Natural Product Research*, 33, 1591-1598. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1428586>
- Ramos, M.A., Batista, S., Pires, M.A., Silva, A.P., Pereira, L.F., Saavedra, M.J., Ozório, R.O.A., & Rema, P. (2017). Dietary probiotic supplementation improves growth and the intestinal morphology of Nile tilapia. *Animal*, 11 (8), 1259-1269. doi: <https://doi.org/10.1017/S1751731116002792>
- Ringø, E., Hossein, H.S., Koushik, G., Van, D.H., Ram, B.B., & Kyu, S.S. (2018). Lactic acid bacteria in finfish – an update. *Frontier in Microbiology*, 9, 1818. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01818>
- Ringø, E., Van Doan, H., Lee, S.H., Soltani, M., Hoseinifar, S.H., Harikrishnan, R., & Song, S.K. (2020). Probiotics, Lactic Acid Bacteria and Bacilli: Interesting Supplementation for Aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 129, 116-136. doi: <https://doi.org/10.1111/jam.14628>
- van Doan, H., Hoseinifar, S.H., Ringø, E., Angeles Esteban, M., Dadar, M., Dawood, M.A.O., & Faggio, C. (2020). Host-associated probiotics: a key factor in sustainable aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 28, 16-42. doi: <https://doi.org/10.1080/23308249.2019.1643288>
- van Doan, H., Kurian, A., Hoseinifar, S.H., Sel-audom, M., Jaturasitha, S., Tong Siri, S., & Ringø, E. (2019). Dietary inclusion of orange peels derived pectin and *Lactobacillus plantarum* for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured under indoor biofloc systems. *Aquaculture*, 508, 98-105. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.067>
- Yuan, X., Lv, Z., Zhang, Z., Han, Y., Liu, Z., & Zhang, H. (2023). A review of antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and resistance genes in aquaculture: occurrence, contamination, and transmission. *Toxics*, 11, 420. doi: <https://doi.org/10.3390/toxics11050420>
- Zeng, A., Tan, K., Gong, P., Lei, P., Guo, Z., Wang, S., Gao, S., Zhou, Y., Shu, Y., Zhou, X., Miao, D., Zeng, F., & Liu, H. (2020). Correlation of microbiota in the gut of fsh species and water. *3 Biotech*, 10:472. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02461-5>
- Zhu, C-Z., Li, D., Chen, W-J., Ban, S-N., Liu, T., Wen, H. & Jiang, M. (2021). Effects of dietary host-associated *Lactococcus lactis* on growth performance, disease resistance, intestinal morphology and intestinal microbiota of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*). *Aquaculture*, 540, 736702. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736702>