

**UJI EFEKTIFITAS BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM MENGATASI
Vibrio alginolyticus PADA IKAN KERAPU MACAN
(*Epinephelus fuscoguttatus*)**

Erina Permata Lestari¹, Feliatra², Dessy Yoswati²

1. Mahasiswa Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru, 28293, erinapermatalestari_ik08@yahoo.co.id
2. Dosen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru, 28293

ABSTRACT

Lactic acid bacteria was developed as a replacement for antibiotics to overcome bacterial infection that often affects pathogens in grouper farming, such as infections caused by the bacterium *V. alginolyticus*. The aim of this research was to investigate the ability of mixed lactic acid bacteria with commercial feeding to inhibit the development of *V. alginolyticus* bacteria which infected the body of *E. fuscoguttatus* observe by hematology parameter. The method used was completely random sampling, there are 4 treatments with three time repeated. The result of the research showed that the rate of hematocrit value were between 28%-41%. Leukocyte were (40.000-117.000 cell/ml), neutrophils were (4-24%), monocytes were (13-24%), lymphocytes (53-82%), and phagocytosis activity were (22-58%). Based on the results of this study concluded that the addition of Lactic Acid Bacteria can enhance non-specific immune response tiger grouper.

Keywords: Effectiveness Test of Lactic Acid Bacteria

PENDAHULUAN

Produksi perikanan laut Indonesia terus meningkat setiap tahunnya terutama pada Ikan Kerapu salah satunya Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang mulai populer di pasar domestik dan luar negeri. Semakin meningkat permintaan mengakibatkan ketersediaan ikan di alam semakin berkurang. Disamping itu, terjadi kerusakan lingkungan terumbu karang yang merupakan habitat dari ikan kerapu. Hal ini diakibatkan dari aktivitas penangkapan sehingga perlu dilakukan usaha budidaya untuk mengatasi masalah ini. Namun, usaha budidaya ikan kerapu juga sering menimbulkan masalah bagi petani seperti penyakit. Salah satunya adalah penyakit yang disebabkan oleh kehadiran bakteri patogen.

Bakteri *V. alginolyticus* merupakan bakteri yang paling sering menginfeksi ikan kerapu pada saat dibudidaya dimana dapat menyebabkan kematian masal sehingga menimbulkan kerugian cukup besar bagi petani. Cara yang paling sering dilakukan untuk mengatasi bakteri patogen ialah dengan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik ternyata dapat menimbulkan efek samping yaitu dapat menjadikan bakteri patogen menjadi resisten (Shickney, 2000). Oleh karena itu, perlu dicari alternatif lain yang aman bagi biota dan lingkungannya. Salah satunya yaitu dengan pemberian bakteri asam laktat yang sudah mulai dikembangkan pada saat ini, asam laktat selain sebagai pengganti antibiotik juga dapat membantu memacu pertumbuhan ikan kerapu macan.

Pada penelitian yang dilakukan Nursyirwani (2011), ditemukan 20 isolat BAL yang memiliki aktivitas antivibrio, dimana tiga isolat diantaranya yaitu KSBU 12C, KSBU 5Da, dan KSBU 9 mampu menekan pertumbuhan *V. alginolyticus*.

Berdasarkan hal tersebut dilakukan uji aplikasi dari ketiga jenis isolat BAL tersebut, untuk mengetahui kemampuan bakteri asam laktat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. alginolyticus* pada ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*) yang dilihat melalui parameter hematologi.

Penelitian bertujuan mengetahui kemampuan bakteri asam laktat setelah dicampurkan dengan pakan komersil dalam menghambat perkembangan bakteri *V. alginolyticus* yang menginfeksi tubuh ikan kerapu macan (*E. fuscoguttatus*). Hal ini diharapkan pada masa yang akan datang penyakit vibriosis pada budidaya ikan kerapu dapat diatasi dengan cepat tanpa menimbulkan efek lingkungan lainnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Maret 2012. Tempat penelitian di Laboratorium Manajemen Kesehatan Hewan Akuatik di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara, Jawa Tengah.

Metode yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana terdapat empat perlakuan yaitu perlakuan kontrol (ikan diberi pakan tanpa isolat bakteri asam laktat dan tidak diinfeksi *V. alginolyticus*), dan untuk P1 (Ikan diberi pakan ditambah isolat BAL I dosis 10^7 cfu/g dan diinfeksi *V. alginolyticus*), P2 (Ikan diberi pakan ditambah isolat BAL II dosis 10^7 cfu/g dan diinfeksi *V. alginolyticus*), dan P3 (Ikan diberi pakan ditambah isolat BAL III dosis

10^7 cfu/g dan diinfeksi *V. alginolyticus*) dosis bakteri asam laktat sama tetapi dari jenis yang berbeda, dengan tiga kali ulangan dimasing-masing perlakuan.

Pembuatan Pakan Probiotik

Isolat BAL yang telah dikultur pada medium MRS agar dan MRS broth yaitu KSBU 12C, KSBU 5Da, KSBU 9, yang berasal dari usus ikan Kerapu Macan yang berasal dari Situbondo. Penambahan isolat bakteri asam laktat (BAL) pada pelet ikan dilakukan dengan cara *coating*. Isolat BAL disuspensikan didalam 5 ml PBS dengan kepadatan 10^8 sel/ml dan diaduk dengan 5 ml minyak ikan. Emulsi tersebut ditambahkan pada 100 gr pelet ikan dan dikeringanginkan hingga mencapai dosis ekuivalen 10^7 sel/g (Balcazar *et al.*, 2007).

Proses Pemeliharaan

Ikan Kerapu Macan (Saain, 1968) ukuran 10-15 cm sebanyak 300 ekor yang berasal dari BBPBAP Jepara, terlebih dahulu diadaptasikan dalam bak penampungan selama 7 hari. Selanjutnya ikan dibagi kedalam 4 kelompok perlakuan dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing kelompok, dimana terdapat 25 ekor pada setiap bak perlakuan.

Ikan dipelihara dan diberi pakan probiotik selama 3 minggu kecuali, untuk perlakuan kontrol yang hanya diberi pakan komersil dengan campuran minyak ikan. Selanjutnya ikan diinfeksi dengan *V. alginolyticus* dosis 0,2 ml/ikan dengan konsentrasi bakteri 10^9 sel/ml kemudian disuntikkan melalui perut (Desrina *et al.*, 2006).

Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan dengan memingsankan ikan terlebih dahulu menggunakan minyak cengkeh, selanjutnya darah ikan diambil dari bagian kaudal dengan spuit 1 ml.

Penghitungan Nilai Hematokrit (He)

Nilai hematokrit diukur mengikuti Anderson dan Siwicki (1993).

Penghitungan Sel Darah Putih (Leukosit)

Total leukosit dihitung menurut Klonz (1994) yang telah dimodifikasi. Penghitungan menggunakan rumus :

Total Leukosit (sel/ml):

$\frac{\text{Jumlah sel yg dihitung}}{\text{Volume yg dihitung}} \times \text{pengenceran}$

Penghitungan Jenis Sel Darah Putih (Leukosit)

Sel yang dihitung paling sedikit 100 sel dan dilakukan perhitungan persentase jenis leukosit. Angka yang diperoleh merupakan jumlah relatif masing-masing jenis leukosit dari seluruh jenis leukosit.

Penghitungan Aktivitas dan Indeks Fagositosis

Indeks fagositosis dihitung dengan menggunakan metode Salasia (2001) yang dimodifikasi, rumus:

Indeks fagositosis:

$\frac{\text{Jumlah sel bakteri yang difagositosis}}{\text{Jumlah sel yang memfagositosis}}$

Aktivitas fagositosis:

$\frac{\text{Jumlah sel yg memfagositosis}}{100 \text{ sel leukosit}} \times 100\%$

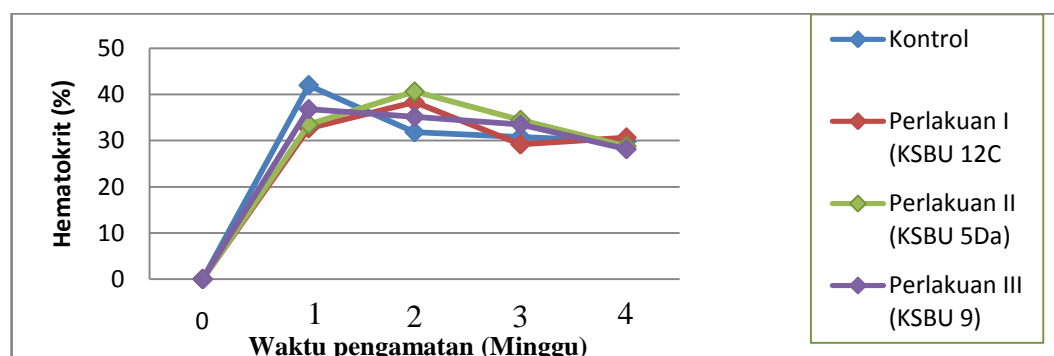
Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dikumpulkan dan ditabulasi dalam bentuk tabel dan grafik. Selanjutnya hasil pengamatan histologi dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analisis of Varian* (Anova) yaitu analisis varian satu faktor (*One Way Anova*) dan diuraikan secara deskriptif.

HASIL

Nilai Hematokrit

Hasil pengamatan nilai hematokrit setelah dilakukan pemberian pakan BAL berkisar antara 28% - 41%. Berdasarkan analisis anova untuk nilai hematokrit hasilnya yaitu, nilai F hitung lebih kecil dibandingkan F tabel, artinya perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Penurunan dan peningkatan nilai hematokrit dapat terlihat pada Gambar 1.

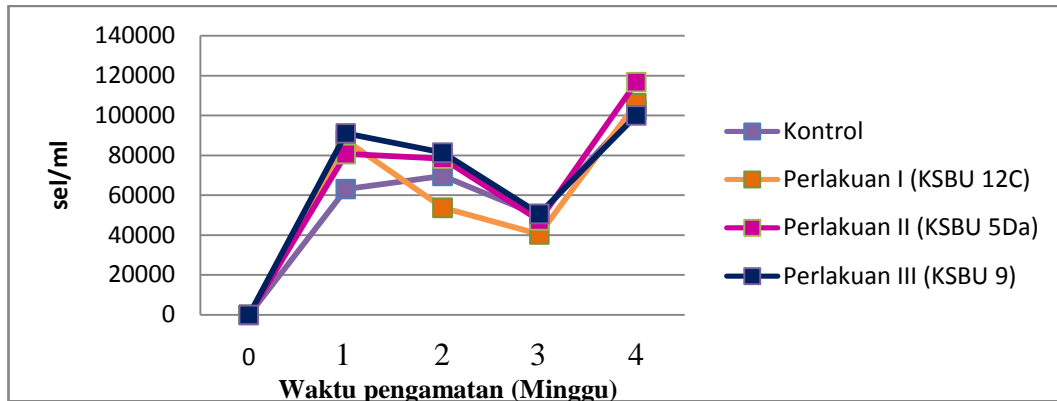


Gambar 1. Grafik nilai hematokrit pada seluruh pengamatan sebelum dan sesudah dilakukan infeksi

Sel Darah Putih (Leukosit)

Hasil perhitungan leukosit yang dilakukan selama pengamatan memperlihatkan jumlah leukosit meningkat setelah dilakukan infeksi yaitu dari 40.000-117.000 sel/ml, dari perhitungan statistik nilai F hitung

lebih kecil dibandingkan F tabel, dimana perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Hasil perhitungan jumlah leukosit dapat dilihat pada Gambar 2.

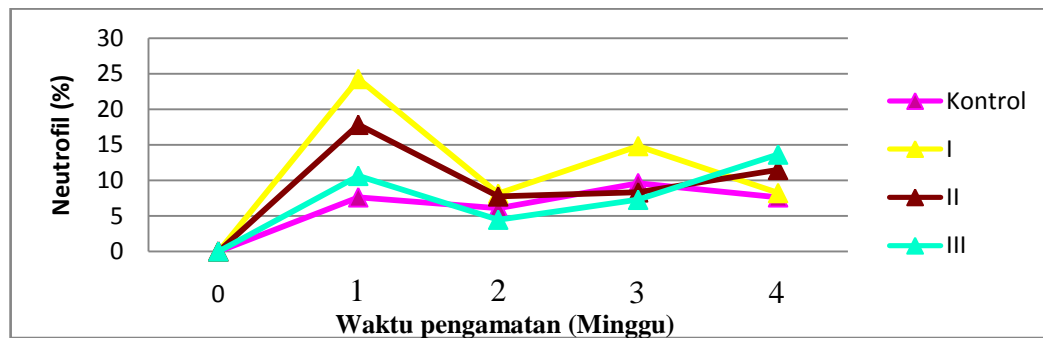


Gambar 2. Grafik jumlah total leukosit yang diamati selama pengamatan

Jenis Sel darah Putih

Sel Neutrofil

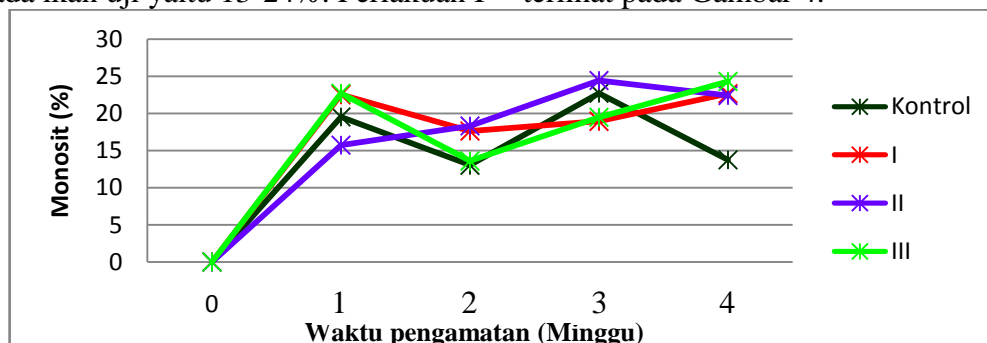
Jumlah sel neutrofil pada pengamatan berkisar antara 4-24%. Selama pengamatan dilakukan sel neutrofil pada ikan mengalami penurunan dan peningkatan seperti yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik jumlah neutrofil ikan uji pada empat pengamatan

Sel Monosit

Hasil pengamatan yang dilakukan selama pengamatan baik sebelum dan sesudah infeksi jumlah sel monosit pada ikan uji yaitu 13-24%. Perlakuan I dan III jumlah sel monosit terus meningkat mulai dari minggu ke-2 sampai minggu ke-4, seperti yang terlihat pada Gambar 4.

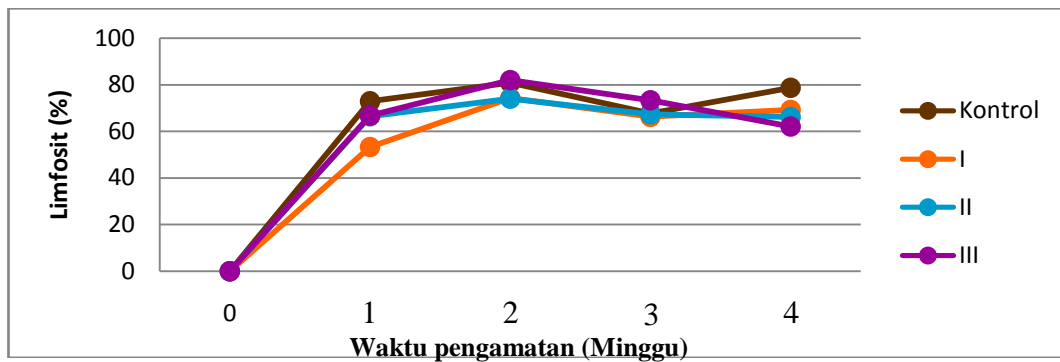


Gambar 4. Grafik jumlah monosit ikan uji selama pengamatan

Limfosit

Nilai difrensial sel limfosit pada setiap pengamatan berbeda-beda yaitu berkisar antara 53-82%, pada beberapa perlakuan jumlahnya terus mengalami

penurunan mulai dari minggu ke-2, pada Gambar 5. Nilai difrensial tersebut dapat dilihat

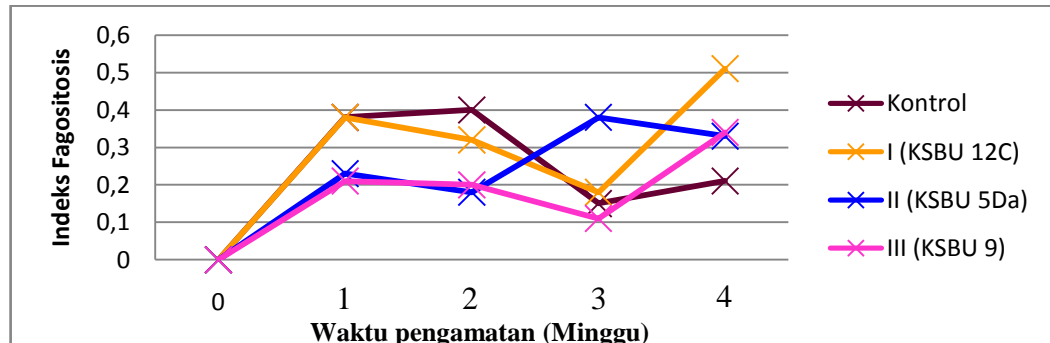


Gambar 5. Grafik jumlah limfosit ikan uji pada tiga minggu pemberian BAL dan seminggu setelah dilakukannya infeksi *V. alginolyticus*

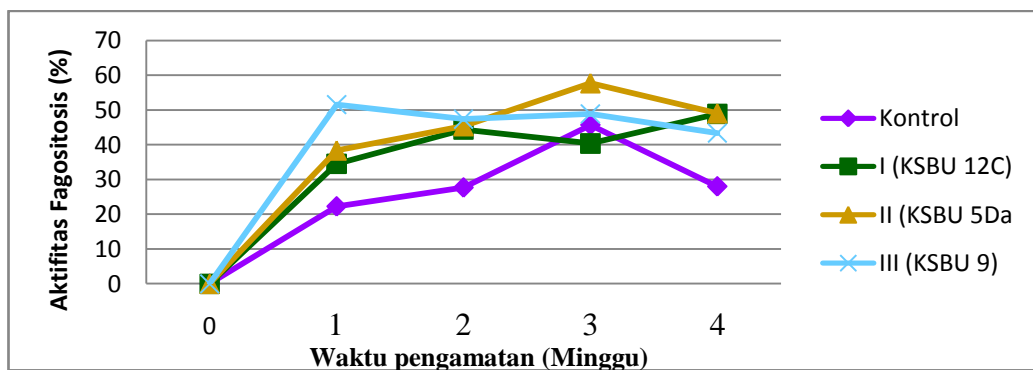
Fagositosis

Indeks fagositosis jumlahnya meningkat pada minggu ke-4 seperti pada perlakuan I dari 0,18 menjadi 0,51. Pada perhitungan statistik anova fagositosis secara keseluruhan terlihat hasil nilai F hitung lebih kecil dibandingkan F tabel, dimana

perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%. Perbedaan aktifitas dan indeks fagositosis antara perlakuan dan kontrol dapat terlihat pada Gambar 6 dan 7.



Gambar 6. Grafik indeks fagositosis ikan uji selama pengamatan



Gambar 7. Grafik aktifitas fagositosis ikan uji

PEMBAHASAN

Hematokrit juga disebut sebagai *Packed Cell Volume* (PCV). Tinggi rendahnya nilai PVC dapat menggambarkan perubahan kondisi kesehatan ikan yang dilihat dari volume eritrosit. Menurut Bastiawan *et al.* (2001), nilai PVC yang tinggi dapat menunjukkan adanya kontaminan dan masalah lain yang dapat mengakibatkan ikan mengalami stress, sedangkan rendahnya nilai PVC dapat menggambarkan ikan kekurangan vitamin ataupun sedang mengalami infeksi, ikan yang mengalami anemia memiliki nilai hematokrit paling rendah yaitu 10%. Sedangkan menurut Johnny *et al.*, (2003) nilai PVC pada ikan kerapu macan normal yaitu 31,5%.

Berdasarkan Hasil perhitungan leukosit yang dilakukan selama pengamatan memperlihatkan dalam keadaan normal yaitu berkisar antara 20.000-150.000 sel/ml darah (Shao *et al.* 2004), dan mengalami peningkatan pada awal pemberian BAL dan setelah dilakukan infeksi sudah diinfeksi bakteri. Hal ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Andayani (2009), yaitu peningkatan jumlah leukosit ikan kerapu macan dimulai dari awal pemberian imunostimulan dan terus meningkat setelah dilakukan infeksi *V. harveyi* pada ikan uji.

Jenis leukosit yang sering ditemukan pada ikan yaitu neutrofil, monosit, dan limfosit. Pada hasil dapat terlihat jumlah sel neutrofil meningkat pada perlakuan II dan III setelah dilakukan infeksi, karena pada umumnya jumlah neutrofil meningkat pada saat terjadi kasus infeksi bakteri, sementara itu menurut Andayani (2009), jumlah sel neutrofil pada ikan kerapu macan normal yaitu 6%. Secombes (1996), menyatakan bahwa neutrofil merupakan salah satu bagian

dari leukosit yang terlibat langsung dengan proses pengrusakan bakteri atau benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan, sehingga jumlahnya akan meningkat seiring dengan peningkatan benda asing yang masuk ke dalam tubuh.

Pada perlakuan terlihat jumlah monosit pada ikan yang diberi BAL lebih tinggi yaitu 24,30% dibandingkan perlakuan kontrol hanya 13,37% setelah ikan diinfeksi *V. alginolyticus*. Jumlah sel monosit hampir tidak jauh berbeda dibandingkan jumlah neutrofil dalam populasi leukosit. Menurut Iwama dan Nakanishi (1996), jumlah monosit dapat meningkat sampai 30% dalam waktu singkat apabila terjadi infeksi, monosit memiliki bentuk sel yang besar dan bervariasi, berfungsi sebagai makrofag dan memfagosit benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh serta memiliki kemampuan fagositik yang tahan lama dibandingkan sel neutrofil.

Hasil yang diperoleh nilai limfosit memiliki persentase yang lebih tinggi dibandingkan neutrofil dan monosit yaitu, jumlahnya mencapai 73,27% dan terus menurun menjadi 62,07% pada perlakuan III setelah dilakukannya infeksi, hal ini kemungkinan disebabkan timbulnya stres pada ikan. Menurut Andayani (2009), stres dapat memacu keluarnya hormon kortisol sehingga dapat menekan sistem imun dan dapat menimbulkan depresi limfosit.

Fagositosis yaitu suatu kegiatan sel-sel fagosit untuk melakukan fagositosis dalam suatu sistem kekebalan non-spesifik, dengan melibatkan sel mononuklier (monosit dan makrofag), granulosit (neutrofil), dan limfosit (Esteban *et al.*, 2001). Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan nilai indeks fagositosis

mengalami peningkatan diminggu ke-4 pada beberapa perlakuan yaitu pada perlakuan I dan III, sedangkan untuk perlakuan II walaupun mengalami penurunan, tetapi jumlahnya lebih tinggi dibandingkan kontrol. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Panigrahi *et al.* (2005), dimana indeks fagositosis mengalami peningkatan setelah dilakukan pemberian probiotik, karena probiotik merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi respon imun ikan.

Aktifitas fagositosis lebih tinggi pada ikan yang diberi perlakuan dibandingkan dengan ikan kontrol, seperti pada perlakuan I yaitu 48,83% dimana nilai ini jauh lebih tinggi dibandingkan kontrol yang hanya senilai 28%. Menurut Johnny *et al.* (2010), peningkatan aktifitas fagositosis dapat terjadi pada awal respon dari pemberian imunostimulan atau awal terjadinya infeksi, sedangkan jumlah yang rendah diakibatkan dari ikan yang mengalami stres, kekurangan protein dan vitamin, serta infeksi kronis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penambahan Bakteri Asam Laktat (BAL) dapat meningkatkan respon imun non-spesifik ikan kerapu macan, berupa peningkatan nilai hematokrit, leukosit, differensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil), serta indeks dan aktifitas fagositosis yang bermanfaat dalam mengatasi *V. alginolyticus*. Setelah dilakukan perhitungan statistik *Analisis of Varian* (Anova) secara keseluruhan hasilnya nilai F hitung lebih kecil dibandingkan F tabel, dimana perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan perhitungan makrofag yang diisolasi dari ginjal, sehingga hasil pengamatan hematologi yang dilakukan untuk melihat efektifitas BAL dalam mengatasi *V. alginolyticus* yang menginfeksi ikan Kerapu Macan lebih lengkap.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas kesediaan Bapak Prof. Dr. Ir. H. Feliatra, DEA sebagai pembimbing I, Ibu Dr. Dessy Yoswaty, S. Pi, M. Si sebagai pembimbing II, dan Ibu Nursyirwani yang telah memberikan bimbingan dalam menyelesaikan penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang sudah banyak membantu dalam pembuatan laporan penelitian, semoga dapat bermanfaat bagi kita semua.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, S. 2009. Respon Non-Spesifik Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus Fuscoguttatus*) Terhadap Immunostimulan Senyawa Aktif Alkaloid Ubur-Ubur (*Bougainvillia* Sp) Melalui Pakan. Jurnal Penelitian. Hayati Edisi Khusus: 3B (67–73), 2009.
- Anderson, D. P. And A. K. Siwicki. 1993. Basic Haematology and Serology for Fish Health Program. Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture “Aquatic Animal Health and the Environment” Phuket, Thailand. 25-29 Oct 1993.
- Balcazar, J. L. T. Rojas-Luna & D. P. Cunningham. 2007. Effect Of The Addition Of Four Potential Probiotic Strains On The Survival Of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)

- Following Immersion Challenge With *Vibrio Parahaemolyticus*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 96: 147–150.
- Bastiawan, D. A. Wahid, M. Alifudin, dan I. Agustiawan. 2001. Gambaran Darah Lele Dumbo (*Clarias gariiepinus*) yang diinfeksi cendawan *Aphanomyces spp.* Pada pH yang Berbeda. *J. Pen. Per. Indonesia*. 7(3):44-61.
- Desrina, A. Taslihan, Ambariyanto & S. Suryaningrum. 2006. Uji Keganasan Bakteri *Vibrio* Pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Ilmu Kelautan*, 11 (3): 119-125.
- Esteban, M.A., Cuesta, A., Oetuna, J and J. Meseguer. 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on Gilthead Seabream (*Sparus auratus L*) Innate immun system. *J. Fish and Shellfish Immunology*. Vol 11. 303–313 p.
- Iwama, G. and T. Nakanishi. 1996. *The Fish Immune System : Organism, Pathogen and Environment*. Academic Press. California: 79-88.
- Johnny, F. Zafran. D. Roza. K. Mahardika. 2003. Hematologis Beberapa Spesies Ikan Laut Budidaya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Vol. 9
- Johnny, F. D. Roza dan I. Mastuti. 2010. Aplikasi Imunostimulan Untuk Meningkatkan Imunitas Non-Spesifik Ikan Kerapu Macan (*Epenephelus fuscogutatus*) Terhadap Penyakit Infeksi di Hacheri. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. 945-949.
- Klontz, G. W. 1994. *Fish Hematology*. In Stolen et.al. (Eds). *Techniques in Fish Immunology* -3. Sos Publication, Fair Haven, NJ 07704-3303. USA. 121-131 p.
- Nursyirwani, W. Asmara, A.E.T.H. Wahyuni dan Triyanto. 2011. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan Potensinya Sebagai Antivibrio. *Jurnal Ilmu Kelautan*. ISSN 0853-7291. Vol. 16 (2) 70-77.
- Panigrahi, A. V. Kiron, J. Puangkaew, T. Kobayashi, S. Satoh dan H. Sugita. 2005. The Viability of Probiotic Bacteria as A Factor Influencing The Immune Response In Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 243: 241 – 254.
- Saanin, H. 1968. *Taksonomi Ikan dan Kunci Identifikasi Ikan*. Bina Cipta. Bandung. 520 hal.
- Salasia, S.I.O. 2001. Resistency *Streptococcus Equi* Subsp. *Zooepidemicus* On Bactericidal Activities Of Polymorphonuclear Leucocyte. *J. Saint. Vet*. 29 (1): 1-6.
- Secombes, C. J. 1996. *The Nonspecific Immune System : Cellular defenses*. In Iwama & Nakanishi (Eds) *The fish immune system : Organism, Pathogen, and Environment*. Academic Press. California, USA. Pp. 63-105.
- Shao, Z.J. Liu, J. and L.X. Xiang. 2004. *Aeromonas Hydrophila* induces apoptosis in *Carassius auratus* Lymphocytes in Vitro. *J. Aquaculture*, 229: 11–23 p.
- Shickney, R. R. 2000. *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley and Sons. Inc. New York. p. 418.

