

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

## TEKNIK PEMBUATAN PROBIOTIK RICA SERBUK

Nurjanna dan Mujayana

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau  
Jl. Makmur Dg. Sitakka No. 129, Maros 90512, Sulawesi Selatan  
E-mail: [kti.bppbap@gmail.com](mailto:kti.bppbap@gmail.com)

### ABSTRAK

Berbagai cara telah dilakukan untuk penanggulangan penyakit pada budidaya udang di antaranya melalui penggunaan obat-obatan dan antibiotik. Namun cara ini tidak diperbolehkan lagi karena dikhawatirkan merusak lingkungan dan terjadi resisten terhadap organisme patogen. Oleh karena itu, dicari alternatif lain untuk mengganti obat-obatan dan antibiotik yang lebih ramah lingkungan dengan menggunakan bahan alam yang mudah terurai, salah satunya adalah dengan menggunakan probiotik. Bakteri probiotik yang ada di pasaran dapat dijumpai dalam bentuk cair maupun serbuk. Pembuatan probiotik serbuk ini bertujuan untuk lebih mempermudah penggunaannya dan pengaplikasiannya di lapangan. Pembuatan probiotik serbuk dilakukan dengan dua cara yaitu dengan menggunakan *mixer* dan teknik perendaman dengan perbandingan kultur sel dalam media NB dan tepung kanji (2:1). Hasil pengamatan menunjukkan sebelum dibuat serbuk, populasi probiotik RICA-2 adalah  $10^{11}$  cfu/mL dan setelah dibuat serbuk dengan metode pencampuran menggunakan *mixer* mengalami penurunan menjadi  $10^7$  cfu/mL dan  $10^8$  cfu/mL pada metode perendaman. Adapun probiotik RICA-5 mengalami penurunan dari  $10^9$  cfu/mL menjadi  $10^8$  cfu/mL pada kedua teknik pencampuran. Hal ini menunjukkan bahwa teknik pencampuran probiotik dengan tepung tapioka dalam pembuatan probiotik serbuk menggunakan cara perendaman lebih baik dibanding menggunakan *mixer*, baik terhadap penekanan penurunan populasi bakteri probiotik maupun terhadap risiko terjadinya kontaminasi selama proses pencampuran.

**KATA KUNCI:** penyakit; probiotik serbuk; RICA

### PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang sengaja diberikan dengan harapan memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan inang (Tampangallo & Atmomarsono, 2014). Penggunaan probiotik dalam budidaya udang intensif memiliki peranan yang sangat penting karena dapat memperbaiki kualitas air budidaya, menetralkan kandungan amonia dan bahan organik, asam sulfid, dan juga dapat menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* yang dapat merugikan sintasan organisme yang dibudidayakan. Berbagai jenis probiotik telah beredar di pasaran dan digunakan secara meluas di kalangan para pembudidaya terutama pada pemeliharaan budidaya udang windu (Susianingsih & Atmomarsono, 2014). Peruntukan penggunaan probiotik pun berbeda-beda, oleh karena itu, sebelum membeli produk probiotik pembudidaya harus jeli dan hati-hati. Probiotik merupakan salah satu produk yang sangat dibutuhkan terutama bagi pembudidaya. Probiotik sangat potensial untuk dikembangkan karena merupakan kebutuhan dan banyak diminati (Nurjanna & Pasande, 2011).

Salah satu kegiatan yang dikembangkan Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau (BPPBAP) Maros adalah kultur probiotik cair RICA. Probiotik RICA terbagi dari RICA-2 dan RICA-5. Kelima jenis RICA ini mempunyai fungsi yang berbeda-beda (Atmomarsono *et al.*, 2014). Namun secara umum bahwa probiotik RICA memiliki kemampuan mengurangi koloni bakteri patogen, menghambat sel-sel bakteri penyebab *quorum sensing* yang menyebabkan timbulnya patogen (Kadriah & Kurniawan, 2014).

### BAHAN DAN METODE

#### Waktu dan Tempat

Kegiatan ini dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Maros pada bulan Februari 2016.

#### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan serbuk RICA ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Bahan yang digunakan pada pembuatan probiotik RICA dalam bentuk serbuk

Bahan	Kegunaan
Probiotik RICA	Objek pengamatan
Media TSA	Media tumbuh
Media NB	Media kultur perbanyakkan sel
Kanji (tepung tapioka)	Pencampur kultur probiotik
<i>Aquadest</i>	Pelarut media
Tissu	Melap meja
Kapas alkohol	Mensterilkan meja dan alat

## Metode

### Pembuatan Media *Triptic Soy Agar* (TSA)

Media TSA 40 g/L. Pembuatan TSA 500 mL diperlukan TSA sebanyak 20 g (Gambar 1a). TSA dimasukkan dalam wadah erlenmeyer volume 1.000 mL lalu ditambahkan NaCl sebanyak 1,5% (7,5 g) dan dilarutkan dengan *aquadest* steril sebanyak volume yang diinginkan. Larutan dipanaskan di atas *hotplate stirrer* hingga mendidih (Gambar 1b). Larutan diangkat lalu disterilkan pada *autoclave* dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit (Gambar 1c). Larutan dikeluarkan dan didinginkan sampai suhu  $\pm 50^\circ C$  lalu dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL/cawan petri (Gambar 1d) sampai membeku. Media disimpan pada posisi terbalik dan segera dikeringkan

pada inkubator suhu 37°C selama 6-12 jam. Media siap digunakan.

### Pembuatan Media *Nutrient Broth* (NB)

Media NB 8 g/L. Pembuatan *nutrient broth* sebanyak 700 mL memerlukan NB sebanyak 5,6 g dan NaCl 1,5% (10,5 g). Bahan-bahan dimasukkan ke dalam wadah erlenmeyer 1.000 mL dan dilarutkan dengan *aquadest* steril sesuai dengan volume yang diinginkan. Larutan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atmosfer selama 15 menit.

### Larutan Fisiologis 0,85%

NaCl sebanyak 6,8 g ditambahkan *aquadest* sebanyak 800 mL dan dihomogenkan sampai larut. Larutan sebanyak 9 mL dipipet dan dipindahkan ke dalam botol

Tabel 2. Peralatan yang digunakan pada pembuatan serbuk RICA

Alat	Kegunaan
<i>Autoclave</i>	Mensterilkan alat dan bahan (basah)
<i>Oven</i>	Mensterilkan alat (kering)
Erlenmeyer	Tempat pengenceran
Mikropipet	Mengambil larutan dengan jumlah tertentu
Lampu spiritus	Mesterilkan alat yang digunakan secara aseptik
Kertas pembungkus	Membungkus alat sebelum disterilkan
Plastik	Membungkus botol pengenceran sebelum disterilkan
Gelas ukur	Tempat mengencerkan hasil ekstraksi
Spidol	Menulis label
Wadah pencucian	Mencuci seluruh alat yang telah digunakan
Lemari penyimpanan	Menyimpan alat dan bahan steril
<i>Shaker</i>	Menghomogenkan larutan
<i>Mixer</i>	Membuat simplasi
Aluminium foil	Menutup erlenmeyer yang akan dipanaskan
Spatula	Mengaduk probiotik
Gelas Ukur	Mengukur <i>aquadest</i> yang akan digunakan



Gambar 1. Proses pembuatan media kultur TSA; (A) penimbangan media, (B) melarutkan media, (C) sterilisasi media, dan (D) penuangan media ke dalam cawan petri

volume 50 mL atau dalam tabung reaksi sebanyak 4,5 mL. Larutan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atmosfer selama 15 menit.

#### Tepung Tapioka (Kanji)

Tepung tapioka dimasukkan dalam wadah beker gelas dan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, dan tekanan 1 atm.

#### Peremajaan Bakteri

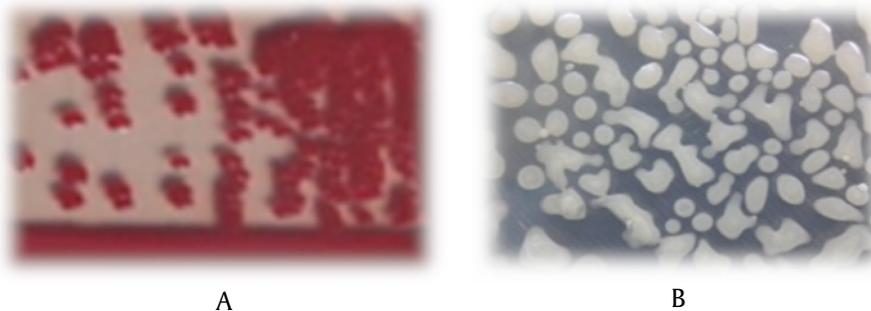
Isolat murni probiotik RICA-2 (Gambar 2a) dan RICA-5 (Gambar 2b) diremajakan terlebih dahulu pada media agar TSA dengan sistem goresan, lalu diinkubasi selama 24-48 jam dalam inkubator suhu 28°C-30°C.

#### Kultur Massal Probiotik RICA Cair

Koloni yang tumbuh diinokulasi ke dalam media kultur cair *nutrient broth* (NB) secara aseptik sebanyak 1-2 jarum ose steril, diinkubasi pada *shaker* bergoyang dengan kecepatan 150 rpm selama 24-48 jam (Gambar 3). Hasil kultur probiotik massal digunakan untuk pembuatan probiotik serbuk dengan menggunakan dua teknik.

#### Teknik Pembuatan Probiotik Serbuk

Pembuatan probiotik serbuk dilakukan dengan mencampur antara probiotik cair dalam media *nutrient broth* dengan tepung kanji dengan perbandingan 2:1. Pencampuran antara probiotik cair dengan tepung kanji



Gambar 2. Koloni bakteri probiotik RICA-2 (A) dan koloni bakteri probiotik RICA-5 (B)



Gambar 3. Kultur massal probiotik RICA-2 dan RICA-5 menggunakan media *nutrien broth*

dalam proses pembuatan probiotik serbuk dilakukan dengan dua cara:

#### Pencampuran Menggunakan Mixer

Tepung kanji yang sudah disterilkan dimasukkan dalam wadah steril lalu ditambahkan sedikit demi sedikit kultur probiotik sampai habis, sambil di-*mixer* supaya probiotik yang ditambahkan ke dalam kanji tercampur rata (Gambar 4). Campuran probiotik dan tepung kanji dituang ke dalam talenan steril, dibungkus menggunakan kertas lalu dikeringkan dalam oven suhu  $40^{\circ}C$  selama 3-4 hari.

#### Pencampuran Secara Perendaman

Teknik ini lebih aman dari risiko kontaminasi karena dilakukan secara terkontrol tanpa melibatkan alat yang berisiko terjadinya kontaminasi. Kultur probiotik dituang sekitar 50-100 mL ke dalam *beaker glass* steril lalu ditambahkan dengan kanji sedikit demi sedikit sampai kanji tersebut terserap oleh biakan bakteri probiotik (Gambar 5a). Apabila kanji sudah meresap maka ditambahkan lagi kanji, dan dituangkan lagi kultur probiotik proses ini dilakukan sampai habis, untuk mencampurkan lebih rata dan homogen maka digunakan spatula steril sebagai pengaduk. Setelah tercampur dituang ke dalam talenan dibungkus kertas

dan dikeringkan dalam oven suhu  $40^{\circ}C$  selama 3-4 hari (Gambar 5b).

#### HASIL DAN BAHASAN

Pembuatan probiotik serbuk dengan teknik pencampuran menggunakan *mixer* dan pencampuran secara perendaman menghasilkan populasi bakteri probiotik serbuk yang relatif sama kecuali pada RICA-2 (Tabel 3). Pada Tabel 3 terlihat bahwa populasi probiotik RICA-2 dengan teknik *mixer* lebih rendah dibanding teknik perendaman.

Sebelum dibuat serbuk, populasi probiotik RICA-2 adalah  $10^{11}$  cfu/mL dan setelah dibuat serbuk dengan metode pencampuran menggunakan *mixer* mengalami penurunan menjadi  $10^7$  cfu/mL dan  $10^8$  cfu/mL pada metode perendaman. Adapun probiotik RICA-5 mengalami penurunan dari  $10^9$  cfu/mL menjadi  $10^8$  cfu/mL pada kedua teknik pencampuran. Hal ini menunjukkan bahwa teknik pencampuran probiotik dengan tepung tapioka dalam pembuatan probiotik serbuk menggunakan cara perendaman lebih baik dibanding menggunakan *mixer*, baik terhadap penekanan penurunan populasi bakteri probiotik maupun terhadap risiko terjadinya kontaminasi selama proses pencampuran.



Gambar 4. Pencampuran bakteri probiotik cair dengan tepung tapioka menggunakan *mixer*



A



B

Gambar 5. Teknik pembuatan probiotik serbuk secara perendaman (A) dan pengeringan probiotik serbuk menggunakan oven (B)

Tabel 3. Populasi bakteri probiotik RICA-2 dan RICA-5 sebelum dan setelah diserbukan

Jenis probiotik	Populasi probiotik cair (sebelum di serbuk)	Populasi probiotik diserbuk dengan metode <i>mixer</i>	Populasi probiotik diserbuk dengan metode perendaman
RICA-2	10 <sup>11</sup> cfu/mL	10 <sup>7</sup> cfu/mL	10 <sup>8</sup> cfu/mL
RICA-5	10 <sup>9</sup> cfu/mL	10 <sup>8</sup> cfu/mL	10 <sup>8</sup> cfu/mL

## KESIMPULAN

Teknik perendaman dalam pembuatan probiotik RICA serbuk dapat menekan penurunan populasi bakteri probiotik dan risiko terjadinya kontaminasi selama proses pencampuran.

## DAFTAR ACUAN

- Atmomarsono, M., & Nurbaya. (2014). Pengaruh pergiliran jenis bakteri probiotik berbeda terhadap sintasan dan produksi udang windu di tambak ekstensif. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya. Jakarta, hlm. Media Akuakultur, 37-42.
- Kadriah, I.A.K., & Kurniawan, K. (2014). Deteksi dini vibrio patogen pada benur setelah aplikasi probiotik RICA. *Prosiding Nasional Perikanan Indonesia Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. Sekolah Tinggi Perikanan. Jakarta, hlm. 181-187.
- Nurjanna, & Pasande, R. (2011). Teknik isolasi bakteri dari rumput laut. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 9(1), 69-73.
- Susianingsih, E., & Atmomarsono, M. (2014). Pemantauan kualitas air pada budidaya udang vaname sistem tradisional plus dengan penggiliran probiotik RICA. *Prosiding Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Penelitian Kelautan dan Perikanan*. Universitas Gadjah Mada, Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian. Yogyakarta, hlm. 433-442.
- Tampangallo, B.R., & Atmomarsono, M. (2014). Aplikasi probiotik RICA pada pemeliharaan larva udang windu, *Penaeus monodon* di hatchery. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi akuakultur 2015*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya. Jakarta, hlm. 467-474.