

SELEKSI KANDIDAT PROBIOTIK ANTI *AEROMONAS HYDROPHILA* UNTUK PENGENDALIAN PENYAKIT IKAN AIR TAWAR

Angela Mariana Lusiastuti dan Taukhid

Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar
Jl. Raya Sempur No. 1, Bogor 16154
E-mail: lusiastuti@yahoo.com

(Naskah diterima: 3 Agustus 2011; Disetujui publikasi: 11 Mei 2012)

ABSTRAK

Secara dasar ada tiga model kerja probiotik yaitu menekan populasi mikroba melalui kompetisi dengan memproduksi senyawa anti-mikroba atau melalui kompetisi nutrisi dan tempat pelekatan di dinding usus, mengubah keseimbangan metabolisme mikroba dengan meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim dan menstimulasi imunitas dengan meningkatkan antibodi dan aktivitas makrofag. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh mikroba yang berpotensi sebagai kandidat probiotik untuk dapat diaplikasikan di dalam menekan atau menghambat bakteri patogen sebagai langkah pengendalian penyakit pada ikan air tawar. Penelitian ini terdiri atas dua tahap, tahap pertama adalah tahap seleksi yang dimulai dari koleksi dan isolasi bakteri kandidat probiotik dan tahap kedua adalah tahap pengujian bakteri kandidat probiotik secara *in vitro* menggunakan metode daya hambat dan menguji daya patogenisitas bakteri. Total isolat bakteri yang diperoleh adalah 72 isolat, dan hanya enam isolat terpilih sebagai kandidat probiotik anti *Aeromonas hydrophila*. Probiotik anti *A. hydrophila* adalah sebagai berikut: *Chromobacterium lividum*, *Alcaligenes faecalis*, *Aeromonas caviae*, *Bacteriodes serpens*, *Bacillus firmus*, *Aeromonas caviae* = *A. hydrophila* Subsp. *Anaerogenes*.

KATA KUNCI: kandidat probiotik, anti *A. hydrophila*, pengendalian penyakit ikan air tawar

ABSTRACT: *The selection of probiotic candidates anti Aeromonas hydrophila for freshwater fish disease control. By: Angela Mariana Lusiastuti and Taukhid*

*There are three modes of action of probiotic that is, the reduced population of microbes through competition by producing anti-microbial compounds or through competition from nutritional and place attachment in the intestinal wall, altering the balance of microbial metabolism by increasing or decreasing the activity of enzymes and stimulates immunity by increasing antibody and macrophage activity. The purpose of this study is to obtain the potential microbes as candidate probiotics to be applied in inhibit bacterial pathogens as disease control measures on freshwater fish aquaculture. The study consists of two phase. The first is collection and isolation of candidate probiotic bacteria. The second is in vitro testing of probiotic candidates bacteria. Total bacterial isolates obtained was 72 isolates, and only six isolates were selected as candidate probiotic anti *Aeromonas hydrophila*. Probiotics anti *A. hydrophila* are as follows: *Chromobacterium lividum*, *Alcaligenes faecalis*, *Aeromonas caviae*, *Bacteriodes serpens*, *Bacillus firmus*, *Aeromonas caviae* = *Aeromonas hydrophila* subsp. *Anaerogenes*.*

KEYWORDS: *probiotic candidates, freshwater fish disease control*

PENDAHULUAN

Penerapan sistem intensif pada budidaya perikanan menyebabkan timbulnya timbunan bahan organik dari sisa pakan, pupuk organik dan ekskresi dari ikan yang mengendap di dasar tambak, jika hal ini tidak dibarengi dengan sistem pengelolaan air yang baik maka akan memacu penurunan daya dukung tambak sehingga menyebabkan deplesi oksigen, keracunan dan penurunan daya tahan tubuh yang mengakibatkan timbulnya penyakit pada ikan.

Motile aeromonad Septicemia (MAS) yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan permasalahan yang dihadapi oleh pembudidaya di seluruh dunia. Tahun 2002, Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Bogor melaporkan jumlah total ikan mas yang mati akibat serangan bakteri yang diduga kuat *A. hydrophila* mencapai hingga 200 ton, di lain daerah yakni Pemerintah Daerah Kuningan menyebutkan adanya kematian 800 ton ikan mas siap jual (Dinas Perikanan Jabar, 2005).

Pemberian bakteri probiotik ke dalam media pemeliharaan bertujuan untuk meningkatkan kesehatan ikan dengan cara menekan populasi bakteri patogen, meningkatkan kualitas perairan atau membantu mendegradasi limbah organik (Irianto, 2005). Bakteri probiotik dapat diperoleh dari lingkungan perairan yang memiliki persamaan habitat dengan bakteri patogen dan ikan. Menurut Moriarty (1999), kriteria probiotik yang paling cocok dalam budidaya ikan adalah bakteri yang dapat memberikan pengaruh positif terhadap ekosistem dan rantai makanan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh mikroba yang berpotensi sebagai kandidat probiotik yang dapat diaplikasikan untuk menekan atau menghambat bakteri patogen sebagai langkah pengendalian penyakit pada ikan air tawar.

BAHAN DAN METODE

Riset ini dilakukan pada skala laboratorium. Penelitian ini juga terdiri atas dua tahap. Tahap pertama adalah tahap koleksi, isolasi dan purifikasi bakteri kandidat probiotik. Tahap kedua adalah tahap pengujian bakteri kandidat probiotik secara *in vitro* menggunakan metode daya hambat dan menguji daya patogenitas bakteri. Prosedur pelaksanaan secara garis besar adalah sebagai berikut:

1. Tahap isolasi yaitu koleksi sampel mikroba berasal dari bakteri indigenus air dan lumpur

kolam budidaya ikan serta dari usus ikan air tawar bagian anterior, sentral atau posterior. Sampel air dan lumpur berasal dari kolam yang memenuhi persyaratan bahwa produksinya selalu lebih baik dibandingkan hasil produksi dari kolam-kolam lain di sekitarnya walaupun semua perlakuannya sama (seperti benih, kualitas air, persiapan kolam dan lain-lain). Pengambilan air menggunakan *water sampler*. Selanjutnya dilakukan pengkulturan bakteri pada media kultur TSA (*Tryptic Soy Agar*). Setelah diperoleh koloni yang mampu hidup pada media bakteri tersebut, maka setiap koloni yang diperoleh dipisahkan dan dimurnikan.

2. Uji potensi daya hambat kandidat bakteri probiotik dapat dilakukan dengan melihat ada tidaknya zona hambat di sekitar kertas cakram dan diukur diameter zona hambat tersebut. Uji ini bertujuan untuk memperoleh kandidat bakteri probiotik yang dapat berkompetisi dengan bakteri *A. hydrophila*. Uji daya hambat menggunakan kertas cakram. Sebelumnya, cawan petri sudah ditanam bakteri *A. hydrophila* dan diratakan menggunakan *L glass*. Uji potensi dilakukan terlebih dahulu sebelum identifikasi dan karakterisasi bakteri agar diperoleh kepastian kemampuan bakteri sebagai anti *A. hydrophila*.
3. Daya patogenitas probion. Setelah uji potensi dilakukan uji patogenitas untuk mengetahui apakah kandidat probiotik patogen atau tidak terhadap ikan uji. Procion yang diperoleh diuji patogenitasnya terhadap 3 jenis ikan air tawar (lele, nila, gurame) menggunakan 90 ekor ikan sehat yang sudah diaklimatisasi. Ikan dibagi 3 ulangan. Grup ikan I dan ke-II diinjeksi secara intra peritoneal (IP) dengan 0,3 mL saline yang berisi 10^7 sel probion/mL yang diinkubasi dalam 24 jam. Sedangkan ikan grup ke-III diinjeksi saline IP sebagai kontrol (Irianto & Austin, 2002). Parameter yang diukur adalah *survival rate* dan gejala klinis yang tampak.
4. Identifikasi dan karakterisasi: dilakukan setelah kandidat lolos dari uji potensi dan uji patogenitas, yaitu isolat murni kandidat probiotik dilakukan identifikasi dan karakterisasi yang berpedoman pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1998; Cowan & Steel's, 1974; Frerichs & Millar, 1993)

dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia yaitu uji pewarnaan Gram, uji motilitas, pengamatan bentuk sel, sifat aerobik dan anaerobik, kemampuan tumbuh pada suhu tertentu dan identifikasi menggunakan tes API 20 E, API 20 NE, API 50 CH serta pengamatan kemampuan memproduksi katalase dan oksidase.

5. Analisis data: data hasil pengamatan dari uji daya hambat dan uji patogenitas dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN BAHASAN

Total isolat yang diperoleh untuk kandidat probiotik adalah 72 isolat bakteri. Hasil isolasi dari sampel air dan lumpur budidaya diperoleh isolat kandidat probiotik dengan berbagai ciri, yaitu bentuk dan warna isolat yaitu bulat kecil, bulat besar, warna yang bervariasi mulai dari putih, krem, kuning sampai coklat. Isolasi dari saluran pencernaan ikan nila, ikan mas, gurame, dan lele diperoleh 24 buah isolat yang diperoleh dari usus bagian anterior, sentral dan posterior dengan berbagai bentuk dan warna seperti bulat dan warna putih sampai dengan krem.

Dari 72 isolat, ada 17 isolat yang mampu melisis *A. hydrophila* secara *in vitro* dengan perincian sebagai berikut: yang berasal dari air budidaya ada dua isolat (AP2PR, A1C5), satu buah isolat dari lumpur budidaya ikan yaitu isolat L1C5. Dari saluran cerna terdapat 9 isolat yaitu dari gurame (GB1, GD2, GB2, GD1), lele (LD1, LB2, LT3), nila (NB1) dan dari ikan mas (MB1). Isolat dari probiotik komersial yang teregister (legal) dan tidak teregister (ilegal)

ada 5 isolat yaitu P11, P12, P22, AP1PR, dan P23. Isolat yang berhasil diisolasi dari ikan gurame, berasal dari usus bagian anterior dan posterior. Kandidat probiotik dari ikan lele berhasil diisolasi dari usus bagian anterior, sentral dan posterior. Sedangkan yang berhasil diisolasi dari ikan nila dan ikan mas, masing-masing dari usus bagian posterior. Uji berikutnya adalah mengetahui potensi kandidat probiotik di dalam menghambat atau membunuh *A. hydrophila*. Uji ini dilakukan terlebih dahulu sebelum identifikasi dan karakterisasi, agar dapat diperoleh kepastian bahwa kandidat tersebut sebagai anti *A. hydrophila*. Zona hambat yang dibentuk oleh kandidat probiotik terhadap *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 1.

Isolat AP2.PR, P1.1, P2.2, dan AP1.PR mempunyai diameter zona hambat yang cukup luas yaitu antara 4 sampai 5 mm jika dibandingkan dengan isolat yang lain. Hanya ada tiga buah isolat yang mempunyai diameter zona hambat di bawah satu mm yaitu isolat-isolat A1.C5, NB1 dan MB1 dengan diameter 0,5 mm. Jika antibiotika mempunyai kriteria tertentu untuk minimum zona hambat yang memenuhi persyaratan yaitu diameter 11 mm, maka dalam melihat kemampuan bakteri probiotik tidak memiliki kriteria tersebut. Zona hambat antibiotika tidak bisa disamakan dengan probiotik karena antibiotika merupakan zat bio-aktif murni sehingga dipastikan kemampuan penghambatannya lebih baik dibandingkan probiotik. Walaupun zona hambat probiotik tidak luas tetapi itu sudah memberikan indikasi bahwa bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghambat



Gambar 1. Sampel diambil dari air dan lumpur kolam di Cianjur (kiri); sampel dari air dan lumpur dari kolam di Parung (kanan)

Figure 1. Water and mud samples from ponds in Cianjur (left); and ponds in Parung (right)



Gambar 2. Searah jarum jam, sampel diisolasi dari saluran cerna ikan gurame, ikan mas, ikan lele, dan ikan nila

Figure 2. Clockwise, the sample is isolated from the gastrointestinal tract of gouramy, carp, catfish, and tilapia



Gambar 3. Isolat kandidat probiotik dalam proses dimurnikan

Figure 3. The probiotic candidates in the process of purified

pertumbuhan patogen yang nantinya dapat diteliti lebih mendalam tentang produksi zat hambat pada saat yang tepat dan konsentrasi tertinggi yang dapat diproduksi dan jenis zat

hambat tersebut. Ternyata ke-17 kandidat probiotik mempunyai kemampuan menghambat *A. hydrophila* dengan kisaran zona hambat dari 0,5 sampai 5,3 mm.

Uji hambat secara *in vitro* dari kandidat probiotik terhadap *A. hydrophila* disajikan pada Gambar 4.

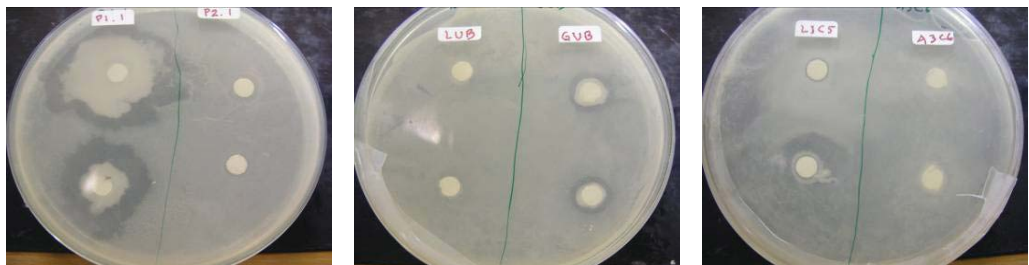
Ke-17 isolat tersebut di atas kemudian dilakukan uji patogenitas untuk mengetahui apakah kandidat probiotik tersebut patogen atau tidak. Ikan uji dilakukan aklimatisasi selama satu minggu. Ikan yang digunakan adalah ikan lele, ikan nila dan gurame. Pemilihan ketiga jenis ikan karena ketiganya adalah ikan target infeksi dari *A. hydrophila* dan uji patogenitas harus dapat dibuktikan tidak bersifat patogenik pada ikan target. Pelaksanaan uji patogenitas isolat kandidat probiotik pada ikan lele dan ikan nila disajikan pada Gambar 5.

Injeksi secara Intra Peritoneal dari 17 isolat kandidat probiotik pada tiga jenis ikan uji disajikan pada Tabel 2.

Kriteria yang ditentukan agar isolat kandidat probiotik terpilih untuk pengujian

Tabel 1. Diameter zona hambat dari kandidat probiotik terhadap *A. hydrophila*
 Table 1. The diameter of Inhibition zone from probiotic candidates of *A. hydrophila*

Kode isolat <i>Isolate code</i>	Asal isolat <i>Isolate origin</i>	Zona hambat <i>Inhibition zone (mm)</i>
AP2.PR	Air (<i>water</i>)	5.3
A1.C5	Air (<i>water</i>)	0.5
L1.C5	Lumpur (<i>mud</i>)	3.5
GB.1	Usus gurame (<i>gouramy intestine</i>)	2.0
P1.1	Probiotik bubuk (<i>probiotic powder</i>)	4.5
NB.1	Usus nila (<i>tilapia intestine</i>)	0.5
MB.1	Usus mas (<i>Cyprinus carpio intestine</i>)	0.5
GD.2	Usus gurame (<i>gouramy intestine</i>)	1.0
P1.2	Probiotik bubuk (<i>probiotic powder</i>)	3.0
P2.2	Probiotik bubuk (<i>probiotic powder</i>)	4.0
LD1	Usus lele (<i>catfish intestine</i>)	2.0
AP1.PR	Air probiotik (<i>liquid probiotic</i>)	5.0
P2.3	Probiotik bubuk (<i>probiotic powder</i>)	3.0
LB.2	Usus lele (<i>catfish intestine</i>)	2.0
LT.2	Usus lele (<i>catfish intestine</i>)	2.0
GB.2	Usus gurame (<i>gouramy intestine</i>)	3.0
GD.1	Usus gurame (<i>gouramy intestine</i>)	1.0



Gambar 4. Uji hambat secara *in vitro* dari beberapa isolat kandidat probiotik terhadap *A. hydrophila*
 Figure 4. *In vitro* inhibition test of several probiotic candidates isolates on *A. hydrophila*

selanjutnya adalah isolat probiotik harus dilakukan uji patogenitas pada minimal dua jenis ikan uji dengan hasil yang menunjukkan total kematian dari 0 sampai 4 ekor ikan dalam waktu dua minggu (Irianto 2005).

Dari hasil uji patogenitas pada tiga jenis ikan uji yaitu ikan lele, nila dan gurame diperoleh enam isolat kandidat probiotik terpilih, yang selama 2 minggu observasi hanya terdapat kematian kurang dari empat ekor ikan uji setelah injeksi IP. Isolat-isolat tersebut adalah (L1.C5, GB.1, GD.2, P1.2, P2.3

dan GB.2). Keenam kandidat probiotik tersebut berturut-turut berasal dari lumpur kolam, usus dan air kolam, sehingga kemungkinan nantinya kandidat yang berasal dari lumpur dan air kolam dapat diaplikasikan melalui air, sedangkan yang berasal dari usus dapat diaplikasikan melalui pakan. Kemudian ke enam isolat tersebut di atas dilakukan karakterisasi (Tabel 3).

Dari hasil yang disajikan pada Tabel 3, lima isolat probiotik adalah gram negatif dan hanya satu isolat yang gram positif yaitu isolat P23.



Gambar 5. Searah jarum jam: Ikan lele semasa aklimatisasi; ikan lele yang diinjeksi dengan kandidat probiotik; plotting uji patogenisitas probiotik; injeksi probiotik secara IP pada ikan nila

Figure 5. Clockwise: Catfish during acclimatization; catfish injected with the probiotic candidates; plotting of probiotic pathogenic test; IP injection of probiotics in tilapia

Semua isolat mempunyai bentuk koloni yang sama yaitu bulat, katalase positif dan motil. Kelima isolat positif oksidase hanya satu isolat yaitu P12 negatif. Untuk test Nitrat hanya 2 isolat yang positif yaitu GB1 dan P12. Untuk test O/F dan glukosa, isolat positif yaitu L1C5, GD2, dan GB2.

Kemampuan enam isolat tersebut di dalam menghidrolisis kasein (K), Pati (P), dan Lemak (L) disajikan pada Tabel 4.

Semua isolat probiotik mampu menghidrolisis protein (kasein). Hidrolisis pati tidak bisa dilakukan oleh P23. Sedangkan untuk hidrolisis lemak hanya 3 isolat yang mampu melakukannya yaitu L1C5, GD2 dan GB2. Kemampuan sebagai proteolitik dan lipolitik perlu diketahui jika nanti kandidat probiotik ini diaplikasikan melalui pakan maka sekaligus dapat membantu meningkatkan efektifitas saluran cerna inang.

Sedangkan hasil uji resistensi antibiotika terhadap ke enam jenis isolat probiotik anti *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 5.

Uji resistensi terhadap antibiotika perlu dilakukan dan perlu diketahui hasilnya untuk mengantisipasi jika nantinya probiotik digunakan sebagai sediaan untuk memperbaiki kualitas air budidaya atau digunakan untuk mengendalikan penyakit tetapi ternyata probiotik tersebut tidak berfungsi sama sekali atau tidak bekerja secara maksimal, maka diduga terdapat antibiotika atau residunya di perairan budidaya ataupun di saluran cerna ikan yang mengganggu keberadaan probiotik. Terutama jika probiotik tersebut sensitif terhadap berbagai jenis antibiotika. Jika probiotik tersebut resisten terhadap antibiotika justru tidak mengkhawatirkan karena probiotik tersebut tidak akan bereaksi terhadap antibiotika yang berada bebas baik di perairan atau di saluran cerna ikan. Dari Tabel 5, dapat dilihat hampir semua kandidat probiotik resisten terhadap dua atau lebih antibiotika sehingga dapat digunakan sebagai bakteri probiotik.

Berdasarkan hasil uji-uji di atas, spesies ke enam isolat tersebut berturut-turut dari nomor

Tabel 2. Total kematian yang diperoleh dari uji patogenisitas terhadap tiga jenis ikan uji
 Table 2. Total deaths obtained from pathogenic tests on three types of test fish

Kode isolat Isolate code	Total kematian selama 2 minggu Total deaths in 2 weeks						Asal isolat Isolate from
	Ikan lele Catfish		Ikan nila Tilapia		Ikan gurame Gouramy		
	Jumlah awal Initial amount	Setelah uji After test	Jumlah awal Initial amount	Setelah uji After test	Jumlah awal Initial amount	Setelah uji After test	
AP2.PR	10	5	10	4	10	3	-
A1.C5	10	7	10	1	10	0	-
L1.C5	10	1	10	1	10	0	Lumpur Mud
GB.1	10	2	10	2	10	0	Usus Intestine
P1.1	10	6	10	6	10	1	-
NB.1	10	9	10	4	10	9	-
MB.1	10	6	10	7	10	0	-
GD.2	10	2	10	4	10	1	Usus Intestine
P1.2	10	2	10	3	10	0	Probiotik Probiotic
P2.2	10	3	10	4	10	0	-
LD.1	10	3	10	4	10	1	-
AP1.PR	10	6	10	2	10	0	-
P2.3	10	0	10	4	10	0	Probiotik Probiotic
LB.2	10	8	10	10	10	0	-
LT.2	10	6	10	10	10	6	-
GB.2	10	2	10	3	10	4	Usus Intestine
TSB (Kontrol) TSB (Control)	10	2	10	2	10	0	-

Tabel 3. Karakterisasi enam isolat kandidat probiotik anti *A. hydrophila*
 Table 3. Characterization of six isolates of probiotic candidates anti *A. hydrophila*

Kode Sampel Sample code	Gram	Bentuk Shape	Motility	Glukose	Oksidase	Katalase	Nitrat Nitrate	O/F
L1.C5	Neg	B	pos	+,+	+	+	Neg	+
GB.1	Neg	B	Pos	--	+	+	+	Neg
GD.2	neg	B	Pos	+,+	+	+	Neg	+
P1.2	Neg	B	Pos	--	--	+	+	Neg
P2.3	Pos	B	Pos	--	+	+	Neg	Neg
GB.2	Neg	B	pos	+,+	+	+	Neg	+

Tabel 4. Kemampuan enam isolat kandidat probiotik anti *A. hydrophila* sebagai proteolitik, amilolitik, dan lipolitik

Table 4. The ability of six isolates of probiotic candidates anti *A. hydrophila* as proteolytic, amylolytic, and lipolytic

Kode sampel Sample code	Hidrolisis (Hydrolysis)		
	Kasein (Casein)	Pati (Amylum)	Lemak (Fat)
L1.C5	+	+	+
GB.1	+	+	--
GD.2	+	+	+
P1.2	+	+	--
P2.3	+	--	--
GB.2	+	+	+

Tabel 5. Uji resistensi kandidat probiotik anti *A. hydrophila* terhadap antibiotika

Table 5. Resistance test of probiotic candidates anti *A. hydrophila* to antibiotics

Kode sampel Sample code	Zona hambat antibiotik (Antibiotic inhibition zone) (mm)							
	NV	CN	TE	C	NA	E	MET	AMP
L1.C5	R	R	R	14	14	R	-	-
GB.1	R	14	R	12	10	14	10	11
GD.2	R	R	R	15	R	R	-	-
P1.2	14	R	11	15	-	10	10	12
P2.3	R	R	R	11	R	10	R	-
GB.2	R	R	12	14	16	R	-	-

Keterangan (Note):

NV, novobiocin 30 µg; CN, centamicin 10 µg; TE, tetracycline 30 µg; C, chloramphenicol 30 µg; NA, nalidixid acid 30 µg; E, erythromycin 15 µg; MET, methicilin 5 µg; AMP, ampicilin 10 µg, R, resisten (zona < 10 mm); -, tidak ada zona lisis

NV, novobiocin 30 µg; CN, centamicin 10 µg; TE, tetracycline 30 µg; C, chloramphenicol 30 µg; NA, nalidixid acid 30 µg; E, erythromycin 15 µg; MET, methicilin 5 µg; AMP, ampicilin 10 µg, R, resisten (zona < 10 mm); -, no lysis zone

Tabel 6. Nama bakteri probiotik hasil karakterisasi

Table 6. Characterization name of probiotic bacteria

Kode sampel Sample code	Identifikasi bakteri Bacteri identification	Keterangan Remark
L1C5	<i>Chromobacterium lividum</i>	-
GB1	<i>Alcaligenes faecalis</i>	-
GD2	<i>Aeromonas caviae</i>	-
P12	<i>Bacteriodes serpens</i>	-
P23	<i>Bacillus firmus</i>	-
GB2	<i>Aeromonas caviae</i> = <i>A. hydrophila</i> Subsp. <i>Anaerogenes</i>	-



Gambar 6. Uji API 20 NE
Figure 6. API 20 NE test

satu sampai enam adalah: *Chromobacterium* sp., *Alcaligenes* sp., *Chromobacterium* sp., *Bacteriodes* sp., *Bacillus* sp., dan *Chromobacterium* sp. Untuk kepastian lebih lanjut nama spesiesnya dilanjutkan dengan uji API 20 NE, API 20 E, dan API 50 CH seperti yang disajikan pada Gambar 6.

Hasil uji karakterisasi probiotik anti *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 6.

Melalui uji API 50 CH, API 20 NE, dan API 20 E, pada *Bacillus* sp. hasilnya mengerucut pada 3 jenis *Bacillus* sp. Yaitu: *B. firmus*, *B. Pantothenticus*, dan *B. brevis*, sehingga untuk membedakan ketiganya maka uji dilanjutkan dengan pertumbuhan ketiga probiotik tersebut pada media NaCl 7% dan pertumbuhan probiotik secara anaerob pada media glukosa broth. Dari hasil uji tersebut, *Bacillus* sp. tersebut teridentifikasi sebagai *Bacillus firmus*. Uji API 20 NE dan API 20 E yang mengarah kepada isolat 3 dan 6 juga mengarah kepada dua spesies *Aeromonas* yaitu *A. sobria* dan *A. caviae* tetapi bisa dibedakan dengan reaksi aesculin, dan ternyata isolat tersebut adalah *A. caviae* karena hanya *A. caviae* yang dapat menghidrolisis aesculin.

Keenam isolat probiotik tersebut di atas mampu berkompetisi dengan patogen *A. hydrophila* yang merupakan salah satu syarat terpenting dalam kriteria seleksi bakteri probiotik.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Diperoleh masing-masing 6 isolat probiotik anti *Aeromonas hydrophila* atau berperan sebagai kompetitor dari patogen *A. hydrophila*
2. Enam isolat anti *A. hydrophila* adalah: *Chromobacterium lividum*, *Alcaligenes faecalis*, *Aeromonas caviae*, *Bacteriodes serpens*, *Bacillus firmus* dan *Aeromonas caviae* = *A. hydrophila* Subsp. *Anaerogenes*

Saran

Penelitian lebih lanjut akan dilakukan terdapat aplikasi *in vivo* isolat probiotik dan menguji kemampuannya jika diberikan simultan untuk memperoleh efek meningkatkan sistem imun, menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila* dan membantu memperbaiki daya cerna.

DAFTAR ACUAN

- Cowan, S.T. & Steel's. 1974. Manual for The Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press, London, 238 pp.
- Dinas Perikanan Jawa Barat. 2005. Laporan Produksi Perikanan Air Tawar Jawa Barat Tahun 2004. Diskan Jabar, Bandung, 175 hlm.
- Frerichs, G.N. & Millar, S.D. 1993. Manual for The Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens. Pisces Press. Stirling, 60 pp.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & William, S.T. 1998. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, 565 pp.
- Irianto, A. 2005. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 125 hlm.
- Irianto, A. & Austin, B. 2002: Use of dead probiotics to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish. Diseases*, 25: 333-342.
- Moriarty, D.J.W. 1999. Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria *In*: Bell C.R., Brylinsky M., and Johnson_Green, P. (Ed.) Microbial Biosystem: New Frontiers, Proceedings of The 8th International Symposium on Microbial Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, Canada, 7 pp.