

PATOGENITAS ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT DARI USUS IKAN REPANG (*Puntioplites waandersi*) TERHADAP IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

*Pathogenicity of Lactic Acid Bacteria Isolates from the Intestines of Ciprinids Fish (*Puntioplites waandersi*) Against Tilapia (*Oreochromis niloticus*)*

Puput Andriani^{1*}, Agustina¹, Gina Saptiani¹

¹Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman
Jl. Gunung Tabur, Gunung Kelua Kecamatan Samarinda Ulu, Kota Samarinda
Kalimantan Timur 75242

*Korespondensi email: puputandr07@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the pathogenicity of lactic acid bacteria from repang fish on clinical symptoms, anatomical pathology, hematology and survival rate of tilapia. This study used a completely randomized design with 5 treatments and 3 replications, namely Phosphate Bufferet Saline (PBS) 0.1 ml/fish as a negative control, *A. hydrophila* 10⁶ CFU/ml as a negative control, *Enterococcus* sp. 10⁶ CFU/ml, *Lactobacillus* sp. 10⁶ CFU/ml and *Lactococcus* sp. 10⁶ CFU/ml, fish given intramuscularly. Parameters observed included clinical symptoms, anatomical pathology. Hematology and survival. Tilapia with an average weight of 30 g/fish were reared for 7 days in an aquarium measuring 50×40×30 cm³ with a volume of 40 L of water, at a density of 10 fish/aquarium. Fish are fed 3 times a day. Administration of lactic acid bacteria *Lactobacillus* sp. showed the highest survival compared to the treatment with other isolates. Hematological parameters were in the normal range in all treatments except for the treatment with *A. hydrophila* bacteria. Changes in clinical symptoms of tilapia treated with injection with *A. hydrophila* showed clinical symptoms of swimming patterns, decreased appetite and also moved more hyperactively. In fish treated with *Enterococcus* sp., *Lactococcus* sp., and *Lactobacillus* sp. generally shows normal condition. Anatomical changes in fish treated with *A. hydrophila* bacteria showed changes in the form of excess mucus, redness on the back, pale body and easily detached scales. The three lactic acid bacteria from the intestines of repang fish are safe for tilapia and can be used in further probiotic tests.

Keywords: *Lactid Acid Bacteria, Pathogenicity, A. hydrophila, Hematology*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat patogenitas bakteri asam laktat dari ikan repang terhadap gejala klinis, patologi anatomi, hematologi dan tingkat kelangsungan hidup ikan nila. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan, yaitu Phosphate Bufferet Saline (PBS) 0,1 ml/ikan sebagai kontrol negatif, *A. hydrophila* 10⁶

CFU/ml sebagai kontrol negatif, *Enterococcus* sp. 10^6 CFU/ml, *Lactobacillus* sp. 10^6 CFU/ml dan *Lactococcus* sp. 10^6 CFU/ml, ikan yang diberikan secara intra muscular. Parameter yang diamati meliputi gejala klinis, patologi anatomi. Hematologi dan kelangsungan hidup. Ikan nila dengan berat rata-rata 30g/ ekor dipelihara selama 7 hari dalam akuarium ukuran $50 \times 40 \times 30$ cm³ dengan volume air 40 L, dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Ikan diberi makan sebanyak 3 kali sehari. Pemberian isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus* sp. menunjukkan kelangsungan hidup tertinggi dibandingkan perlakuan dengan isolat lainnya. Parameter hematologi berada pada kisaran normal pada semua perlakuan kecuali pada perlakuan dengan pemberian bakteri *A. hydrophila*. Perubahan gejala klinis ikan nila yang diberi perlakuan injeksi dengan *A. hydrophila* menunjukkan gejala klinis pada pola renang, penurunan nafsu makan dan juga bergerak lebih hiperaktif. Pada ikan yang diberi perlakuan dengan *Enterococcus* sp., *Lactococcus* sp., dan *Lactobacillus* sp. menunjukkan kondisinya normal pada umumnya. Perubahan anatomi pada ikan yang diberi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan perubahan yaitu berupa lender yang berlebih, terdapat kemerahan di punggung, tubuh pucat dan sisiknya mudah terlepas. Ketiga bakteri asam laktat dari usus ikan rejang bersifat aman bagi ikan nila dan dapat digunakan pada uji probiotik selanjutnya.

Kata kunci: Bakteri Asam Laktat, Patogenitas, *A. hydrophila*, Hematologis

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan jenis ikan konsumsi yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Permintaan ikan nila banyak dalam bentuk ikan segar maupun dalam bentuk fillet, untuk memenuhi permintaan pasar domestik maupun luar negeri seperti Amerika dan Eropa. Produksi ikan nila hasil budidaya di Provinsi Kalimantan Timur pada tahun 2020 mencapai 81.031,60 ton (KKP, 2020).

Namun produksi budidaya ikan nila masih mengalami kendala, diantaranya adalah penyakit. Penyakit bakterial

merupakan salah satu masalah penting yang sering timbul dalam usaha budidaya ikan air tawar. Bakteri yang sangat banyak menyerang ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila*. Umumnya bakteri ini hidup pada air tawar yang mengandung bahan organik tinggi. Bakteri ini juga bisa sebagai patogen dari hewan akuatik yang berdarah dingin.

Tingginya mortalitas dan kejadian penyakit bakteri dalam budidaya ikan menyebabkan antibiotik dan bahan kimia sering digunakan untuk pencegahan dan kontrol penyakit tersebut. Penggunaan antibiotik dapat mengganggu mikrobiota usus dan memicu populasi bakteri menjadi resisten, dengan efek jangka panjang pada

kesehatan masyarakat. Oleh sebab itu, penggunaan probiotik telah disarankan sebagai metode alternatif untuk mencegah dan mengontrol berbagai penyakit dalam akuakultur Wang *et al.*, (2008).

Probiotik pada media pemeliharaan ikan dapat meningkatkan pertumbuhan ikan dan dapat meningkatkan populasi mikroba dalam saluran pencernaan ikan dengan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, yaitu enzim amilase dan enzim protease dalam saluran pencernaan ikan. Enzim tersebut berperan sebagai katalisator pada pencernaan karbohidrat dan protein. Pemberian probiotik pada ikan dapat mengkondisikan jumlah dan ragam mikroba yang menghuni saluran pencernaan. Keadaan ini mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen yang merugikan ikan, juga mengurangi atau menyerap senyawa racun di dalam saluran pencernaan, meningkatkan daya tahan tubuh ikan dan pada akhirnya meningkatkan produktivitas usaha budidaya ikan (KKP, 2020).

Probiotik umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL). BAL didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang yang

memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat (Pato, 2003). BAL bermanfaat untuk menjaga mikrobiota saluran pencernaan. BAL pada proses fermentasi karbohidrat dapat menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH. Penurunan nilai pH dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain terutama bakteri patogen (Harimuri *et al.*, 2005).

Potensi ikan lokal sebagai sumber bakteri probiotik perlu diteliti mengingat keberadaan ikan ini masih melimpah di perairan Sungai Mahakam dan danau disekitarnya di Kalimantan Timur. Pada ikan kelabau (*Osteochilus melanopleura*) sudah ditemukan beberapa bakteri yang berpotensi sebagai probiotik pada ikan (Agustina *et al.*, 2018; Agustina *et al.*, 2019). Berdasarkan penelitian Agustina *et al.* (2022) ditemukan 3 jenis bakteri yang berhasil diisolasi dari usus ikan rejang yaitu *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Lactococcus* sp.

Perlu kajian lebih lanjut untuk mengkaji tingkat keamanan BAL dari usus ikan rejang yang secara *in vitro* berpotensi sebagai probiotik, tetapi belum diketahui keamanannya secara *in vivo* pada ikan dan

pengaruhnya terhadap kelangsungan hidup dan kesehatan ikan nila.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan November – Februari 2022, di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi akuarium ukuran 50×40×35 cm³ sebanyak 15 buah, aerator, bak container, mikroskop, spuit ukuran 1 mL, microtube, petridish, beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, Erlenmeyer, mikropipet, jarum ose, sentrifuge, haemocytometer, haemometer sahli, inkubator, oven, hot plate, magnetic stirrer, autoclave, Bunsen, thermometer, pH meter, *Dissolved Oxygen* (DO) meter, dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan meliputi ikan nila sebanyak 150 ekor dengan bobot berkisar 30g/ekor dan panjang ikan 11-13 cm, isolat bakteri asam laktat yang digunakan sebagai perlakuan uji adalah *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan

Lactococcus sp. yang telah diisolasi dari usus ikan repan dan isolat bakteri *A. hydrophila*, media Man Ragosa Sharpe Agar (MRSB), Man Ragosa Sharpe Broth (MRSB), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Trypticase Soy Broth* (TSB), larutan turks, larutan hayem, methanol 90% dan giemsa 7%, alkohol 70%, larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS), pakan ikan merk MS Prima Feed (41%), air Perusahaan Air Minum (PAM), garam

Rancangan Percobaan

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium menggunakan rancangan acak lengkap dengan lima perlakuan dan tiga ulangan dengan padat tebar 10 ekor/akuarium. Perlakuan isolat bakteri diberikan secara intra muskuler di punggung atas sebanyak 1mL/ikan, dengan perlakuan sebagai berikut.

P₀ = PBS

P₁ = *A. hydrophila* 10⁶ CFU/mL

P₂ = *Enterococcus* sp. 10⁶ CFU/mL

P₃ = *Lactobacillus* sp. 10⁶ CFU/mL

P₄ = *Lactococcus* sp. 10⁶ CFU/mL

Prosedur Penelitian

Persiapan Wadah dan Media Air

Wadah diisi air dengan volume 30 L dan masing-masing diberi aerasi. Media air yang digunakan sebelumnya di

tampung di dalam bak besar terlebih dahulu, lalu dilakukan pengendapan selama 14 hari.

Persiapan Ikan Uji

Ikan nila dengan berat rata-rata 30g/ekor dipelihara selama 7 hari dalam akuarium berukuran 50x40x30 cm³ dengan volume 40 liter. Ikan nila berasal dari tempat pembenihan, di aklimatisasi dahulu dalam wadah penampungan sekitar 2-3 hari. Pada hari pertama ikan dipuasakan, setelah itu ikan diberi makan sedikit-sedikit. Selanjutnya dilakukan uji *screening* terhadap ikan nila dengan memasukan ikan ke dalam larutan garam 100 ppm selama 5 menit. Selanjutnya dipilih ikan yang sehat dan ditimbang bobotnya terlebih dahulu sebelum dimasukkan ke dalam akuarium dengan padat tebar 10 ekor/akuarium.

Persiapan Isolat Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat diperoleh dari isolat usus ikan repang yang sudah dikoleksi oleh Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman. Bakteri yang digunakan sebagai perlakuan adalah : *Enterococcus* sp., *Lactiplantibacillus* sp., dan *Lactococcus* sp. yang merupakan hasil

identifikasi dari penelitian sebelumnya. Masing-masing bakteri ditanam pada media MRSB lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36 °C. Bakteri kemudian diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam microtube. Bakteri dicentrifuge dengan kecepatan 7000 rpm selama 15 menit dan dilakukan pembilasan sebanyak 2 kali menggunakan akuades steril. Bakteri lalu dihomogenkan dengan vortex dan diencerkan sampai 10⁶ pada tabung reaksi yang berisi akuades steril.

A. hydrophila

Bakteri patogen *A. hydrophila* digunakan sebagai perlakuan kontrol positif diperoleh dari hasil isolasi ikan yang sakit dan ditanam di media GSP. *A. hydrophila* diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C kemudian dikultur murnikan di dalam media TSA miring. *A. hydrophila* ditanam di dalam media TSB dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30 °C. *A. hydrophila* sebanyak 1 ml dicentrifuge dengan kecepatan 7000 rpm selama 15 menit dan dilakukan pembilasan sebanyak 2 kali menggunakan akuades steril. Selanjutnya dihomogenkan dengan vortex dan diencerkan sampai 10⁶ pada tabung reaksi yang berisi akuades steril.

Parameter yang Diamati

Gejala Klinis dan Patologi Anatomi

Pengamatan gejala klinis dan patologi anatomi ikan dilakukan setelah perlakuan injeksi bakteri. Gejala klinis yang diamati meliputi nafsu makan, aktifitas gerak, pola renang, gerak operculum dan gerak refleks. Sedangkan patologi anatomi yang diamati meliputi mata, mulut, insang, sirip punggung, sirip dubur, sirip perut, sirip dada, ekor dan tubuh ikan. Pengamatan dilakukan terhadap adanya perubahan bentuk, warna, konsistensi dan perubahan lainnya pada organ tersebut di atas.

Gambaran Darah

Pengamatan gambaran darah dilakukan pada hari ke-0 (sebelum diinjeksi), hari ke-3, 5 dan 7. Parameter darah yang diamati meliputi hemoglobin (%), hematokrit (G%), total eritrosit (sel/mm^3), dan total leukosit (sel/mm^3). Pengambilan darah dengan menggunakan spuit sebanyak 0,3 mL yang sudah diberi EDTA 10% sebagai anti koagulan darah. Darah ikan diambil di vena caudalis.

Perhitungan kadar hemoglobin menurut Wedemeyer dan Yasutake (1977) yaitu tabung sahlometer diisi dengan larutan HCl 0,1 N sampai angka 10 (garis

skala paling bawah pada tabung sahlometer). Tabung tersebut ditempatkan diantara 2 tabung warna standar. Darah ikan dengan pipet sahl sebanyak 0,02 mL, dan ujung pipetnya dibersihkan, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung sahl dan didiamkan 3 menit. Ditambahkan aquades dengan pipet tetes sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan gelas pengaduk sampai warnanya tepat sama dengan warna standar. Kadar hemoglobin dinyatakan dalam g%.

Perhitungan hematokrit menurut Anderson (1993) dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{\text{Panjang volume sel darah merah yang mengendap}}{\text{Panjang total volume darah dalam tabung}} \times 100\%$$

Perhitungan total eritrosit menurut metode Blaxhall dan Daisley (1973) dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Jumlah eritrosit} = \text{Jumlah eritrosit terhitung} \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$$

Perhitungan total leukosit menurut Blaxhall dan Daisley (1973) dihitung sebanyak 5 kotak seperti berikut :

$$\text{Jumlah leukosit} = \text{Jumlah leukosit terhitung} \times 50 \text{ sel}/\text{mm}^3$$

Differensial leukosit diperiksa dengan membuat ulasan darah pada obyek gelas dan setelah kering diberi pewarna giemza selama 20 menit dan setelah itu

dibilas dengan akuades dan dikeringkan. Pemeriksaan differensial leukosit menggunakan mikroskop dan dihitung berdasarkan persentase jenis sel leukosit dengan pengamatan sebanyak 4 lapang pandang. Jenis leukosit yang diamati adalah limfosit, monosit dan neutrofil.

Kelangsungan Hidup Ikan

Kelangsungan hidup ikan diamati setelah dilakukan perlakuan sampai hari ke-7 dengan menghitung jumlah ikan yang hidup. Kelangsungan hidup dihitung berdasarkan persentase ikan yang hidup pada akhir penelitian.

Parameter Kualitas Air

Pengamatan kualitas air meliputi suhu, pH, oksigen terlarut dan total amoniak nitrogen (TAN). Pengamatan suhu, pH, dan oksigen terlarut diamati 2 hari sekali dan TAN diamati pada awal, tengah dan akhir penelitian.

Analisis Data

Data gejala klinis, patologi anatomi dan kualitas air dalam penelitian ini dianalisis secara deskriptif dalam bentuk gambar dan tabel. Kelangsungan hidup dianalisis secara statistik menggunakan *Analisis of varian* atau ANOVA dengan menggunakan program IBM SPSS Statistics 24. Jika terdapat perbedaan

nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mendapatkan hasil yang terbaik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

Hasil penelitian pada gejala klinis ikan yang diberi perlakuan *Enterococcus* sp., *Lactococcus* sp. dan juga *Lactobacillus* sp. ikan menunjukkan kondisi pada umumnya ikan nomal. Beberapa ikan hanya mengalami perubahan tingkah laku renang seperti berenang bergerombol dan gerak refleks yang sedikit pasif. Namun pada ikan yang diberi perlakuan *A. hydrophila* menunjukkan gejala lemah, berenang melayang, nafsu makan menurun, respon reflek lemah dan pasif. Menurut Hardi *et al.* (2014) infeksi bakteri *A. hydrophilla* yang dilakukan secara *intramuscular* cepat menyebabkan perubahan tingkah laku pada ikan, seperti ikan berenang lemah, gasping, gerakan operculum lambat, cenderung mendekati aerasi dan nafsu makan menurun. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri asam laktat pada ikan nila secara injeksi tidak menimbulkan gejala klinis yang berarti. Hasil pengamatan gejala klinis ada pada tabel dibawah ini :

Tabel 1. Gejala klinis ikan nila yang diinjeksi bakteri asam laktat

Perlakuan	Hari ke-	Gejala klinis			
		Aktivitas gerak	Pola renang	Nafsu makan	Gerak
P0 (PBS)	0	Aktif	Normal	Normal	Non
	3	Aktif	Normal	Normal	Non
	5	Aktif	Normal	Normal	Non
P1 (<i>A. hydrophila</i>)	7	Aktif	Normal	Normal	Non
	0	Aktif	Normal	Normal	Non
	3	Pasif	Normal	Menurun	Pa
P2 (<i>Enterococcus</i> sp.)	5	Pasif	Melayang	Menurun	Pa
	7	Pasif	Lemah	Menurun	Len
	0	Aktif	Normal	Normal	Non
P3 (<i>Lactobacillus</i> sp.)	3	Aktif	Normal	Normal	Non
	5	Pasif	Melayang	Menurun	Non
	7	Aktif	Normal	Normal	Non
P4 (<i>Lactococcus</i> sp.)	0	Aktif	Normal	Normal	Non
	3	Aktif	Normal	Normal	Non
	5	Aktif	Normal	Normal	Non
	7	Aktif	Normal	Normal	Non

Patologi Anatomi

Hasil pengamatan patologi anatomi pada ikan yang diberi bakteri asam laktat menunjukkan kondisi normal, kecuali pada perlakuan *Enterococcus* sp. yang menunjukkan sirip sedikit gripis, ada bercak merah pada operculum dan mulut sedikit membengkak serta sirip pucat. Sedangkan pada kontrol positif (*A. hydrophila*) menunjukkan kondisi yang parah, yaitu sirip banyak yang gripis dan mudah lepas, pendarahan di mata, mulut, operculum dan punggung, insang pucat dan organ dalam pucat serta perut membengkak, seperti pada Tabel 2. Menurut Mangunwardoyo *et al* (2010), ikan yang terinjeksi bakteri *A. hydrophila* menunjukkan luka pada tubuh karena toksin ekstraseluler yang merusak

pada jaringan tubuh ikan dan hemolisin yang memecah dan melisis sel-sel darah merah hingga menyebabkan luka dan pendarahan pada tubuh dan sirip. Hal ini sesuai dengan pendapat Hardi dan Pebrianto (2012), perubahan gejala abnormalitas pada organ dalam ikan nila yang diinjeksi dengan sel utuh *A. hydrophila* sama dengan gejala ikan yang diinjeksi dengan *Extraceluller Product* (ECP) dan *Intraceluller Product* (ICP) yaitu organ dalam berair dan terjadinya perubahan warna seperti pada ginjal dan hati menjadi berwarna pucat.

Tabel 2. Patologi anatomi organ dalam dan luar ikan nila

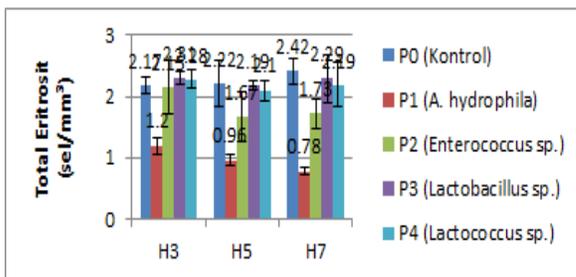
Perlakuan	Hari ke-	Bagian tubuh yang mengalami kerusakan
P0 (PBS)	2	Normal
	3	Normal
	6	Normal
P1 (<i>A. hydrophila</i>)	1	Pendarahan pada operculum, sirip gripis, mata membengkak, hati pucat.
	2	Pendarahan pada operculum, mulut membengkak, sirip ekor gripis, organ dalam pucat.
	4	Pendarahan pada punggung dan operculum, mata keruh, sirip gripis, organ dalam pucat.
	5	Pendarahan pada punggung dan operculum, sirip gripis, sisik mudah terlepas, mata keruh, mulut membengkak, perut membengkak, organ dalam pucat dan berair.
P2 (<i>Enterococcus</i> sp.)	7	Pendarahan pada punggung dan operculum, terdapat luka borok, perut membengkak, sisik mudah terlepas, sirip gripis, organ dalam berair dan pucat.
	2	Sirip gripis, pendarahan pada operculum.
P3 (<i>Lactobacillus</i> sp.)	3	Sirip gripis, mulut membengkak, insang pucat.
	2	Normal
P4 (<i>Lactococcus</i> sp.)	4	Normal
	3	Normal
	4	Normal

Gambaran Darah

Total Eritrosit

Hasil pengamatan jumlah eritrosit semua perlakuan cenderung meningkat 3 hari pasca injeksi, kecuali kontrol positif

P1 (*A. hydrophila*). Pada hari ke-5 semua perlakuan mengalami penurunan, kecuali P0 (PBS). Menurut Susanto *et al.* (2004) faktor yang mempengaruhi jumlah eritrosit adalah spesies, umur, nutrisi pakan, perbedaan induk, ukuran, aktivitas fisik, dan kondisi lingkungan. Gejala klinis pada perlakuan P1 menunjukkan nafsu makan yang menurun, tingkah laku berenang mendekati aerasi, serta gerak reflek yang pasif. Ini terjadi karena adanya serangan dari bakteri *A. hydrophila*. Bakteri ini bersifat *septicemia*, yaitu bakteri beredar dan berkembang melalui peredaran darah, sehingga dapat menyebabkan terganggunya kesehatan pada ikan. Hasil pengamatan total eritrosit ikan nila dapat dilihat pada Gambar 1. di bawah :

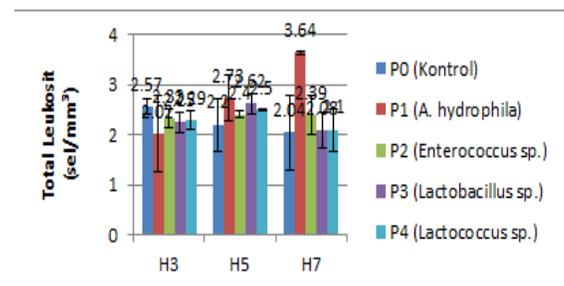


Gambar 1. Rata-rata total eritrosit ikan nila

Total Leukosit

Rata-rata total leukosit ikan nila selama penelitian mengalami kenaikan dan penurunan tetapi masih dalam kisaran normal. Menurut Lagler *et al.* (1997)

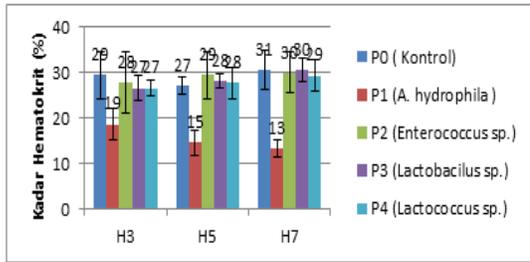
kisaran normal leukosit ikan nila 20.000-150.000 sel/mm³. Faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah leukosit adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan. Leukosit merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Leukosit membantu membersihkan tubuh dari masuknya benda asing. Termasuk invasi patogen melalui sistem tanggap kebal dan respon lainnya. Hasil pengamatan total leukosit ikan nila dapat dilihat pada Gambar 2. di bawah ini :



Gambar 2. Rata-rata total leukosit ikan nila

Hematokrit

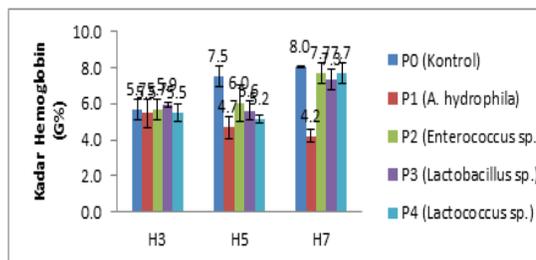
Hasil pengamatan hematokrit tiga hari pasca injeksi semua perlakuan mengalami penurunan hematokrit. Menurut Lukistyowati dan Kurniasih (2012) kehilangan nafsu makan mengakibatkan penurunan kadar hematokrit. Ikan juga mengalami anemia dan stress terhadap serangan bakteri *A. hydrophila*. Hematokrit ikan nila dapat dilihat pada Gambar 3. di bawah ini :



Gambar 3. Rata-rata hematokrit ikan nila

Hemoglobin

Hasil pemeriksaan hemoglobin selama penelitian mengalami kenaikan dan penurunan. Menurut Rey *et al.* (2009) penyebab penurunan hemoglobin salah satunya dapat disebabkan oleh serangan bakteri patogen pada tubuh ikan. Produk ekstraseluler yang dihasilkan *A. hydrophila* dapat menurunkan kadar protein di dalam darah dan menyebabkan perubahan hemodinamika dalam darah. Hasil pengamatan hemoglobin ikan nila pada hari ke-3 hingga hari ke-7 dapat dilihat pada Gambar 4. di bawah ini :

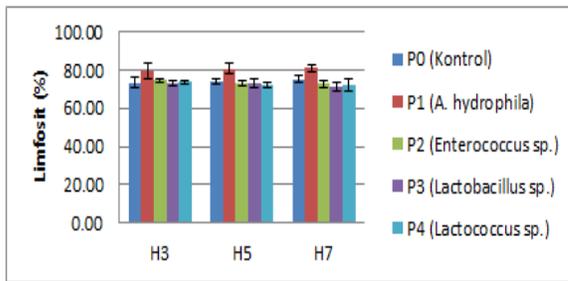


Gambar 4. Rata-rata hemoglobin pada ikan nila

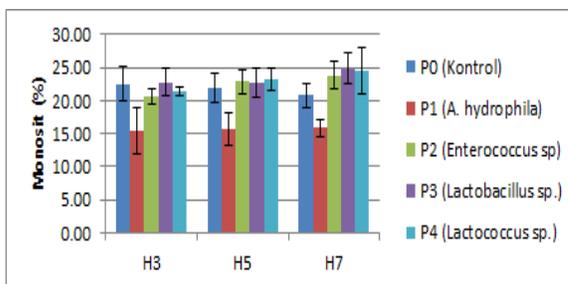
Diferensial Leukosit

Jumlah limfosit mengalami kenaikan dan penurunan, namun masih dalam keadaan stabil. Menurut Hardi (2011) jumlah presentase limfosit ikan nila normal berkisar 68-86%. Adanya peningkatan intensitas infeksi oleh patogen akan meningkatkan kebutuhan limfosit dan menimbulkan ternyadinya pengurangan sel limfosit (Rustikawati, 2012).

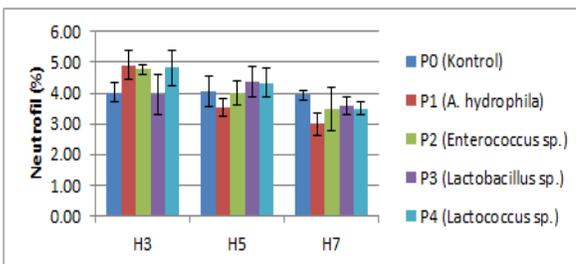
Hasil pengamatan jumlah monosit dan neutrofil juga mengalami kenaikan dan penurunan. Jumlah persentase monosit pada ikan nila normal berkisar 4.67-17.33% (Hardi, 2011). Jumlah presentase neutrofil pada ikan nila normal berkisar 10-18.1%. kisaran jumlah neutrofil pada P0, P2, P3 dan P4 masih dalam kisaran yang baik untuk ikan nila. Menurut Devitha (2013), terjadinya infeksi dalam tubuh ikan akan merangsang monosit bergerak lebih cepat dan menuju daerah yang terinfeksi untuk melakukan fagositosis. Hasil pengamatan limfosit, monosit dan neutrofil pada ikan nila pada hari ke-3 hingga hari ke-7 dapat dilihat pada Gambar di bawah :



Gambar 5. Rata-rata limfosit pada ikan nila



Gambar 6. Rata-rata monosit pada ikan nila

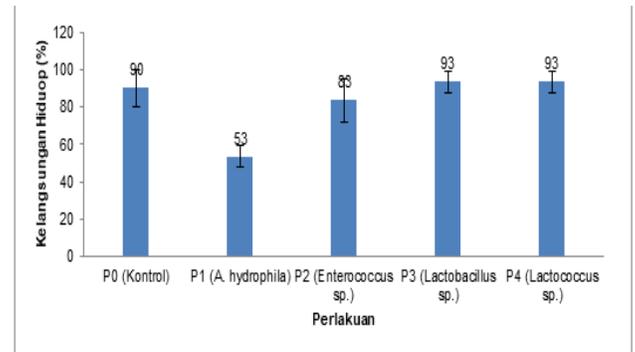


Gambar 7. Rata-rata neutrofil pada ikan nila

Kelangsungan Hidup (SR)

Hasil perhitungan kelangsungan hidup ikan nila yang diinjeksi dengan bakteri asam laktat menunjukkan tingkat kelangsungan hidup pada P0 atau perlakuan kontrol negatif sebesar 90%, P1

kontrol positif yang diberi *A. hydrophilla* sebesar 53%, P2 yang diberi *Enterococcus* sp. sebesar 83%, sedangkan P3 yang diberi *Lactobacillus* sp. dan P4 *Lactococcus* sp. menunjukkan nilai kelangsungan hidup sebesar 93%, seperti pada gambar 8.



Gambar 8. Kelangsungan hidup ikan nila

Perlakuan P3 dan P4 berbeda nyata dengan kontrol positif (P1) ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri asam laktat pada ikan nila, jenis *Lactobacillus* sp. dan *Lactococcus* sp. Paling tinggi kelangsungan hidupnya dan aman digunakan. Menurut Wassom dan Kelly (1990) perbedaan tingkat resistensi pada ikan dapat ditentukan dengan memperkirakan tingkat kelangsungan hidup mereka setelah terinfeksi bakteri. Pada studi ini *Oreochromis niloticus* memiliki ketahanan tertinggi terhadap terhadap *Lactobacillus* sp. dan *Lactococcus* sp. dibandingkan dengan

perlakuan lainnya terutama P1 (*A. hydrophila*). Hasil serupa juga diperoleh oleh Noviana *et al.* (2014) yang memelihara ikan nila dengan memberikan pakan yang ditambahkan dengan *lactobacillus* sp. menghasilkan sintasan sebesar 90%.

Kualitas Air

Hasil rata-rata pengukuran kualitas air yang dilakukan pada media pemeliharaan ikan nila pada hari pertama hingga hari ke-7 penelitian dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Kisaran parameter kualitas air pada media pemeliharaan ikan nila.

Perlakuan	Parameter			
	Suhu (°C)	DO (mg/L)	pH	TAN (mg/l)
P0	27.1-28.3	5.4-6.4	7.4-7.5	0.31-0.42
P1	27.4-28.3	5.3-6.1	7.4-7.6	0.32-0.44
P2	27.2-28.3	5.4-6.8	7.5-7.6	0.31-0.48
P3	27.4-28.3	5.3-6.4	7.6-7.7	0.35-0.46
P4	27.1-28.5	5.3-6.3	7.4-7.6	0.33-0.43

Suhu

Hasil pengamatan kualitas air pada media pemeliharaan ikan nila selama penelitian yang terdapat pada Tabel. 3 di atas menunjukkan bahwa suhu air berkisar 25-29°C. Kisaran suhu tersebut

menunjukkan suhu yang optimal untuk kelangsungan hidup ikan nila. Hal ini sesuai dengan pendapat Kordi (2010), suhu yang cocok untuk pemeliharaan ikan dalam kegiatan budidaya adalah 23-32°C.

pH

Hasil pengukuran pH berkisar 7,1-7.8. Nilai ini menunjukkan pH yang cocok untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila. Hal ini sesuai dengan pendapat Kordi (2009), bahwa pH air yang cocok untuk ikan nila adalah 6-8.5 dan nilai pH yang masih dapat ditoleransi ikan nila adalah 5-11.

Oksigen Terlarut

Oksigen terlarut merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan sebagai pilihan utama untuk menentukan layak tidaknya air untuk budidaya ikan (Arifin, 2016). Nilai oksigen terlarut selama penelitian berkisar antara 5.3-6.8 mg/L, dimana nilai ini menunjukkan nilai yang optimal untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila. Secara umum ikan nila dapat hidup dalam air dengan kandungan oksigen 3-5 mg/L.

Total Ammonia Nitrogen

Hasil penelitian menunjukkan nilai ammonia berkisar 0.31-0.48 mg/L nilai ammonia ini masih berada pada batas yang

normal, hal ini sesuai dengan pernyataan Siegers *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa batas konsentrasi ammonia pada perairan tidak lebih dari 1mg/L, karena akan menyebabkan kematian pada ikan yang disebabkan adanya penghambatan daya serap hemoglobin darah terhadap oksigen.

KESIMPULAN

Gejala klinis dan patologi anatomi ikan nila yang diirikan isolate bakteri asam laktat berupa dengan *Enterococcus* sp., *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp. secara umum menunjukkan kondisi normal dan lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif. Demikian juga kondisi hematologis ikan nila lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif. Ikan nila yang diinjeksi *Lactobacillus* sp. dan *Lactococcus* sp. dari usus ikan repang (*P. waandersi*) kelangsungan hidupnya tertinggi yaitu 93 %, diikuti dengan bakteri *Enterococcus* sp. sebesar 83%. Isolat bakteri asam laktat dari hasil penelitian ini berpotensi sebagai kandidat probiotik,

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan puji syukur kepada Allah SWT, kepada pembimbing yang melibatkan dalam proyek penelitian PNPB dan semua pihak yang telah mensupport dan membantu.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, A., Saptiani, G. and Hardi, E.H., 2022. Isolation and identification of potential lactic acid bacteria as probiotis from the intestines of repang fish (*Puntioptes waandersi*). *AAFL Bioflux* 15(1): 24-33.
- Anderson, D.P., 1993. *Disease of fishies*. Book 4 : Fish Immunology. Edited by S. Snieszcke and R. Axelrod, TFH Publication Ltd. Neptune City.
- Arifin, Y., 2016. Pertumbuhan dan Survival Rate Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Strain Merah dan Strain Hitam yang dipelihara pada Media Bersalinitas. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari*, 16(1): 159-166.
- Blaxhall, P.C. and Daysley, 1973. The haemathological assesment of the health of fresh water fish. A Review of Selected Literature. *Journal of Fish Biology* 4 : 593-604.
- Devitha, 2013. Gambaran Parameter Hematologis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan Dosis yang Berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 2 (4): 7-20
- Hardi, E.H. dan Pebrianto, A.C., 2012. Isolasi dan Uji Postulat Koch

- Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Sentra Budidaya Loa Kulu Kabupaten Kutai Kartanegara. *Jurnal ilmu perikanan tropis*. 16(2): 35-39.
- Hardi, E.H., Pebrianto, A.C., Hidayanti, T. dan Handayani, R.T., 2014. Infeksi *Aeromonas hydrophilla* Melalui Jalur yang Berbeda pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. *Jurnal Kedokteran Hewan*. 8 (2).
- Hardi, E.H., Sukenda, Harris, A.M. dan Lusiasuti, 2011. Toksisitas Produk Ekstraseluler (ECP) *Streptococcus agalactiae* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Natur Indonesia*, 13.3:187-199.
- Harimuri, S., Rahayu, E.S., Nasroedin, dan Kumasih. 2005. Bakteri Asam Laktat dari Intestin Ayam Sebagai Agensia Probiotik. *Animal Production*, 9(2): 82 – 91.
- Kordi, H., 2009. *Budidaya Perairan*. Bandung, PT Citra Aditya Bakti.
- Lukistyowati, I. dan Kurniasih, 2012. Pelacakan Gen Aerolysin dari *Aeromonas hydrophilla* pada Ikan Mas yang diberi Pakan Ekstrak Bawang Putih. *Jurnal Veteriner* 13(1): 43-50.
- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R. dan Riani, E., 2010. Uji Patogenitas dan Virulensi *Aeromonas hydrophilla* Stanier pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) Melalui Postulat Koch. *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(2): 245-255.
- Noviana, P., Subandiyono dan Pinandoyo, 2014. Pengaruh Pemberian Probiotik dalam Pakan Buatan Terhadap Tingkat Konsumsi Pakan dan Pertumbuhan Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Acuaculture Management dan Technology*, 3 (4) : 183 – 190.
- Pato, 2003. *Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari sadih untuk menurunkan resiko penyakit kanker*. Pekanbaru. Universitas Riau.
- Rey, A., Verjan, N., Ferguson, H.W. and Iregui, C., 2009. Pathogenesis of *Aeromonas hydrophilla* strain KJ99 infection and its extracelullar products in two spesies fish. *Veterinary Record* 164: 493-499.
- Siegers. W.H., Prayitno, Y. dan Sari, A., 2019. Pengaruh Kualitas Air Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Nirwana (*Oreochromis* sp.) pada Tambak Payau. *The Journal of Fiheries Development* 3(2): 95-104.
- Wang, Y.B., Li, J.R. and Lin, J., 2008. Probiotics in Aquaquulture. Challenges and Outlook. *Aquaquulture* 281: 1-4.
- Wassom, D.L., E.A.B. and Kelly, 1990. Peran kompleks histokompatibilitas utama dalam resistensi terhadap infeksi parasit. *Lasan Kritis dalam Imunologi* 10: 31-52.
- Wedemeyer, G.A. and Yasutake, 1997. *Clinical methods for the assesment on the effect of enviromental stress on fish health*. Technical Paper of The US Departement of The Interior Fish and the Wildlife Service 89 : 1-17.