

Full Paper

**PENGARUH SUPLEMENTASI PROBIOTIK A3-51 TERHADAP DERAJAT IMUNITAS
Oreochromis niloticus DIDASARKAN PADA ANGKA KUMAN PADA GINJAL SETELAH
UJI TANTANG DENGAN *Aeromonas hydrophila* DAN *Aeromonas salmonicida*
*achromogenes***

**THE EFFECT OF PROBIOTIC A3-51 SUPPLEMENTATION ON THE IMMUNITY LEVEL OF
Oreochromis niloticus BASED ON THE KIDNEY'S BACTERIAL NUMBER AFTER
CHALLENGE TEST WITH *Aeromonas hydrophila* AND *Aeromonas salmonicida*
*achromogenes***

Agus Irianto^{*)}, Hernayanti^{*)}, dan Ning Iriyanti^{**)}

Abstract

Objectives of this research was to know the effect of probiotic A3-51 supplementation on food to the total number of bacteria in kidney and mortality of *Oreochromis niloticus* after challenge test with *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida achromogenes*. This research was consisted of two experiments, the first was to know the highest immunity level of fish based on the number of the macrophage and its phagocytic activity. Meanwhile, the second was to know the immunity level of fish challenged with *A. hydrophila* and *A. salmonicida achromogenes* by intra-peritoneal injection. The experiment used Completely Randomized Design in triplicates. The result from the first experiment showed that the highest non specific immune system response, by means number of macrophage, was found in 21 days treatment. The second experiment showed that the highest total number of bacteria in kidney and mortality level were 20.23×10^8 cells/g and 46.67%, respectively, both was found in control fish injected intra-peritoneally with *A. salmonicida achromogenes*.

Key words: probiotic, macrophage, total number of bacteria, mortality

Pengantar

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang tergolong sebagai ikan omnivora. Masalah yang dihadapi pada budidaya ikan nila antara lain penyakit infeksi bakteri yang umumnya timbul apabila kondisi stres (Molinari *et al*, 2003). Salah satu patogen pada ikan nila adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyebabkan penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) yang memiliki tanda-tanda berupa ikan dengan perut busung, peradangan di sekitar luka, pendarahan pada tubuh ikan, insang membusuk, timbul borok, lemas dan mata menonjol (*exophthalmia*) (Irianto, 2005).

Aeromonas yang biasa menginfeksi ikan terdiri dari dua kelompok yaitu *A. salmonicida* dan *A. hydrophila*. *Aeromonas salmonicida* dibedakan menjadi dua strain yaitu strain *A. salmonicida* tipikal yang bersifat psikrofil, non motil dan penyebab penyakit furunkulosis pada ikan salmon dan trout, dan strain *A. salmonicida* atipikal (*achromogenes*) penyebab penyakit pada sejumlah spesies ikan air tawar dan ikan laut non-salmonid, serta dapat hidup di daerah beriklim panas. Perbedaan mendasar dari strain tipikal dan atipikal adalah terbentuknya pigmen warna coklat larut air oleh strain tipikal ketika ditumbuhkan pada medium yang

^{*)} Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Jl. Dr Suparno Purwokerto 53123, Purwokerto

^{**)} Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

^{*)} Penulis untuk korespondensi: E-mail: Maitreya1uk@yahoo.co.uk

mengandung tirosin atau fenilalanin (Irianto, 2004). Adapun *A. hydrophila* bersifat mesofil, motil dengan flagella polar, dan dapat dijumpai di perairan tawar daerah tropis maupun subtropis (Chao *et al.*, 2003).

Infeksi *Aeromonas* dapat berakibat peradangan dan hemoragik (pendarahan) pada bagian ginjal, jaringan otot punggung dan usus. Nekrosis dapat terjadi pada organ hati dan ginjal dan dapat menyebabkan kematian. Menurut Kirkaúa *et al.* (2002), setelah *Aeromonas* masuk ke dalam tubuh, bakteri ini akan menembus masuk kedalam pembuluh darah dan akhirnya tersebar di seluruh tubuh. Dampak yang terjadi yaitu pembuluh darah di dekat kulit pecah, sehingga permukaan tubuh berwarna kemerahan. Peradangan akan berlanjut ke seluruh bagian tubuh dan organ-organ dalam. Pada kejadian yang demikian maka sel-sel bakteri patogen dapat dijumpai pada organ-organ dalam seperti hati dan ginjal.

Probiotik merupakan suplemen pakan berupa kultur atau sel-sel mikroba hidup yang memberikan keuntungan inang antara lain dengan memperbaiki keseimbangan mikroba di usus (Irianto, 2004). Pemberian probiotik pada ikan utamanya meningkatkan sistem imun nonspesifik seluler berupa peningkatan jumlah makrofag ginjal dan kemampuan aktivitas fagositosis. Hasil penelitian Irianto & Austin (2002), menunjukkan bahwa pemberian pakan yang disuplemen probiotik selama 7 dan 14 hari, mampu meningkatkan jumlah makrofag ginjal dan aktivitas fagositosis pada *rainbow trout*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi antara pemberian probiotik dan lama waktu pemberiannya terhadap derajat imunitas ikan nila (*O. niloticus*) didasarkan pada angka kuman total ginjal dan mortalitas ikan nila (*O. niloticus*) setelah uji tantang dengan *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes*.

Bahan dan Metode

Penelitian dilakukan dalam 2 (dua) tahap percobaan. Metode penelitian yang digunakan dalam tahap 1 (pertama) adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Perlakuan penelitian adalah sebagai berikut :

Tahap I : terdiri dari 2 faktor yaitu :

Faktor 1. Jenis Pakan (P), yang terdiri atas 2 taraf yaitu :

P₀ = Pakan tanpa probiotik

P₁ = Pakan dengan probiotik

Faktor 2. Lama pemberian probiotik (L), yang terdiri atas 4 taraf yaitu :

L₁ = lama pemberian probiotik 7 hari

L₂ = lama pemberian probiotik 14 hari

L₃ = lama pemberian probiotik 21 hari

Dengan demikian diperoleh 6 (enam) buah perlakuan yang terdiri atas kombinasi faktor dan taraf dan setiap perlakuan diulang sebanyak 3 (tiga) kali. Perlakuan kombinasi tersebut adalah :

P₀L₁= pemberian pakan tanpa probiotik selama 7 hari

P₀L₂= pemberian pakan tanpa probiotik selama 14 hari

P₀L₃= pemberian pakan tanpa probiotik selama 21 hari

P₁L₁= pemberian pakan probiotik selama 7 hari

P₁L₂= pemberian pakan probiotik selama 14 hari

P₁L₃= pemberian pakan probiotik selama 21 hari

Tahap II. Berupa uji tantang dengan bakteri patogen. Uji tantang dilakukan untuk melihat angka kuman total ginjal dan tingkat mortalitas ikan nila. Uji tantang dilakukan menggunakan 2 jenis bakteri patogen yaitu *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes*. Uji tantang yang dilakukan tergantung dari hasil penelitian tahap I yaitu tergantung dari ikan nila yang memberikan respon imun non spesifik tertinggi terhadap kombinasi pemberian pakan probiotik dengan lama waktu pemberiannya. Ikan yang memberikan respon imun non spesifik

tertinggi dengan lama pemberian pakan yang disuplementasi probiotik diuji tantang dengan 2 jenis bakteri patogen dan dibandingkan dengan ikan yang diberi pakan tanpa disuplementasi probiotik.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian tahap 2 adalah eksperimental, dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dicobakan terdiri atas :

- B₀ = Pemberian pakan tanpa probiotik dan tidak diuji tantang (kontrol)
 B₁ = Pemberian pakan tanpa probiotik dan diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*
 B₂ = Pemberian pakan tanpa probiotik dan diuji tantang dengan *Aeromonas salmonicida achromogenes*
 B₃ = Pemberian pakan dengan suplementasi probiotik dan diuji tantang dengan *Aeromonas hydrophila*
 B₄ = Pemberian pakan dengan suplementasi probiotik dan diuji tantang dengan *Aeromonas salmonicida achromogenes*

Setiap perlakuan diulang 3 (tiga) kali. Variabel utama yang diukur adalah angka kuman total pada ginjal dan mortalitas ikan, sedangkan pendukungnya adalah jumlah makrofag, aktivitas fagositosis makrofag, dan persentase neutrofil.

Ikan nila yang digunakan berukuran panjang 13-15 cm dan dalam keadaan sehat serta telah diaklimatisasi selama 2 minggu dalam akuarium berukuran 60 x 40 x 40 cm³. Suplementasi probiotik pada pakan komersial dilakukan menurut Irianto & Austin (2002). Bakteri A3-51 (*A. sobria*) yang telah dikultur dalam medium TSB (Oxoid) selama 2x24 jam pada suhu ruangan (28-30°C), dipanen menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 1000 g selama 10 menit, dan diresuspendi dalam garam fisiologis (0,85% NaCl) hingga diperoleh 10¹⁰ sel/ml dihitung secara langsung dengan haemositometer, kemudian 5 ml suspensi tersebut dicampur pada 100 g pellet

pakan kering untuk mencapai dosis yang setara dengan 10⁸ sel/g pakan.

Uji tantang dilakukan menggunakan *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes* yang dikultur pada medium TSB dan diinkubasi 2 x 24 jam pada suhu ruangan. Suspensi bakteri dicuci dengan sentrifugasi (3000 rpm, 15 menit) menggunakan garam fisiologis sebanyak 3 kali, dan dihitung kepadatan selnya menggunakan haemositometer. Bakteri siap diinfeksi ke ikan uji dengan konsentrasi 10⁵ sel/ml/ekor ikan secara suntikan intra-peritoneal.

Ikan yang telah diuji tantang dengan *A. hydrophila* atau *A. salmonicida achromogenes* dipelihara selama 7 hari, kemudian dihitung mortalitasnya. Sampel ginjal ikan yang mati atau terinfeksi karena uji tantang dengan *A. hydrophila* atau *A. salmonicida achromogenes* diambil sebanyak 1 g (*pooled*) dan dilakukan seri pengenceran hingga 10⁻⁷. Dua pengenceran terakhir ditumbuhkan secara sebar ulas (*spread plate*) duplo pada media TSA (Oxoid). Kemudian diinkubasi 24 jam dan dilakukan perhitungan secara *Total Plate Count* (TPC).

Pada perlakuan tahap I, jumlah makrofag pada ginjal ikan dihitung pada hari ke- 0, 7, 14, dan 21 dengan Haemositometer Neubauer (Irianto & Austin, 2002). Sebagian ikan dibunuh dan dibedah. Ginjal diambil dengan spatel secara aseptis, ditimbang, dihancurkan dengan *tissue grinder*, dan diencerkan dengan perbandingan 1:10 pada RPMI 1640 (Gibco/BRL) yang mengandung 1 µg per 100 ml penstrep, 0,2 mg per 100 ml heparin dan 10% (v/v) *Fetal Bovine Serum* (FBS, Sigma) (selanjutnya disebut sebagai RPMI 1640+) yang disterilkan dengan penyaring bakteri steril 0,22 µm (Millipore Millex). Perhitungan total makrofag dilakukan dengan cara memeriksa bilik hitung dengan mikroskop perbesaran sedang (40x).

Aktivitas fagositosis pada hari ke 7, 14 dan 21 dihitung menurut Irianto & Austin (2002) dengan menggunakan sisa suspensi sel makrofag dari kegiatan penghitungan sel. Sebanyak suspensi sel makrofag 3 ml di teteskan pada *object glass* secara merata, diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar dan dijaga tetap basah. *Object glass* kemudian dicuci dengan RPMI 1640+ untuk menghilangkan sel yang tidak melekat pada *object glass*, selanjutnya ditambahkan 1,0 ml suspensi yeast yang mengandung 10^9 sel/ml dan diinkubasi pada suhu kamar selama 60 menit. *Object glass* selanjutnya dicuci 3 kali dengan RPMI 1640+, difiksasi dengan metanol 96% (v/v) dan dibiarkan selama 3-5 menit pada suhu kamar. Setelah dikering-anginkan, selanjutnya diwarnai dengan larutan Giemsa, dibiarkan selama 20-30 menit selanjutnya dicuci dengan air. *Object glass* diperiksa dengan mikroskop perbesaran 400x dan dihitung untuk penentuan perbandingan sel yang menelan sel yeast dengan yang tidak. Aktivitas fagositosis dirumuskan sebagai berikut:

$$PA = \frac{\text{jumlah makrofag yang menelan yeast}}{100 \text{ makrofag}} \times 100\%$$

Penghitungan persentase sel neutrofil pada sampel darah ikan nila dilakukan dengan menghitung komposisi darah pada preparat apus. Pembuatan preparat apus dilakukan dengan membersihkan *object glass*, selanjutnya darah ikan ditetaskan pada salah satu ujung. Darah diulaskan kearah depan menggunakan

object glass yang lain dengan sudut 45° . Setelah preparat apus kering, preparat difiksasi dengan metanol ± 5 menit. Preparat diwarnai dengan pewarna Giemsa. Preparat apus selanjutnya dicuci dengan air, dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Jenis-jenis leukosit yang ada dihitung dari tiap 100 sel leukosit dan hasilnya dinyatakan dalam persen (%).

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Ragam (uji F) pada tingkat kesalahan 5% dan 1% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang dicobakan. Hasil yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan yang paling berpengaruh (Steel & Torrie, 1980).

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis ragam pemberian pakan probiotik (P) dan lama waktunya (L) pada ikan nila menunjukkan bahwa pemberian pakan probiotik dan lama waktunya berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah total makrofag ginjal ikan nila ($P < 0,01$). Pengaruh interaksi antara jenis pakan dengan lama waktu juga memberikan hasil yang sangat nyata ($P < 0,01$). Karena interaksi antara jenis pakan dengan lama waktu memberikan hasil yang sangat nyata, maka dilakukan pengujian lanjut dengan uji beda nyata terkecil (Tabel 1).

Tabel 1. Jumlah makrofag ginjal ikan nila yang diberi probiotik dengan lama waktu yang berbeda

Perlakuan probiotik dan lama waktu pemberian	Rerata jumlah makrofag \pm Standar deviasi ($\times 10^8$)
P ₀ L ₁	1,37 \pm 0,2082 ^a
P ₀ L ₂	1,44 \pm 0,2309 ^{ab}
P ₀ L ₃	1,37 \pm 0,2309 ^a
P ₁ L ₁	1,76 \pm 0,1528 ^b
P ₁ L ₂	2,3 \pm 0,1000 ^c
P ₁ L ₃	3,08 \pm 0,2309 ^d

Keterangan : Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$)

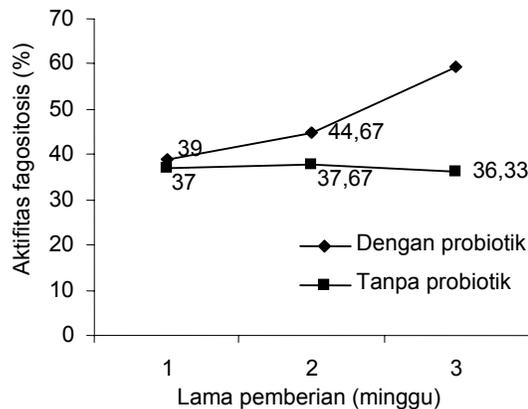
Pemberian pakan probiotik selama 21 hari (P₁L₃) meningkatkan rerata jumlah total makrofag ginjal ikan nila tertinggi yaitu sebesar 3,08 x 10⁸ sel/mm³. Pemberian probiotik selama 7 hari (P_iL₁) memberikan pengaruh yang hampir sama dengan kontrol tanpa probiotik selama 14 hari (P₀L₂), sedangkan pemberian pakan probiotik selama 14 hari (P₁L₂) meningkatkan rerata jumlah makrofag ginjal sebesar 2,3 x 10⁸ sel/mm³. Kontrol pemberian pakan tanpa probiotik dengan lama waktu yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan rerata jumlah total makrofag ginjal ikan nila karena didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Peningkatan rerata jumlah makrofag sudah mulai terlihat pada pemberian pakan probiotik 7 hari. Jumlah ini semakin meningkat sampai hari ke 21. Peningkatan rerata jumlah makrofag terjadi karena sel-sel monosit yang distimulasi oleh adanya probiotik yang ditambahkan ke dalam pakan ikan. Hal ini didukung oleh penelitian Irianto (2002), bahwa peningkatan rerata jumlah makrofag pada ginjal ikan *rainbow trout* (*O. mykiss*) terjadi karena proses proliferasi dan diferensiasi dari sel-sel yang distimulasi oleh adanya probiotik yang berfungsi sebagai imunostimulan yang di tambahkan ke dalam pakan.

Menurut Irianto & Austin (2002), selain meningkatkan jumlah sel makrofag ginjal, pemberian probiotik juga meningkatkan kemampuan aktivitas fagositosis. Peningkatan respon fagosit dari sel makrofag dapat diketahui dengan pemberian sel yeast sebagai antigen dalam pengamatan setiap 7 hari (Gambar 1).

Perbedaan aktivitas fagositosis dari makrofag ginjal pada ikan yang diberi probiotik mulai terlihat nyata pada hari ke 14. Aktivitas fagositosis terus meningkat sampai hari ke 21 dengan peningkatan mencapai 20,33%. Peningkatan aktivitas fagositosis pada perlakuan pakan probiotik menunjukkan bahwa semakin lama pemberian pakan probiotik, semakin tinggi pula aktivitas fagositosis. Pada perlakuan kontrol tanpa probiotik, aktivitas fagositosis mengalami kenaikan pada hari ke 14 tetapi terjadi penurunan sebesar 1% pada hari ke-21. Respon imun yang baik antara lain didasarkan pada aktivitas fagositosis yang tinggi (Ceulemans *et al.*, 2002).

Neutrofil ditemukan pada stadium pertama peradangan (Roberts, 2001). Fungsi utama sel neutrofil adalah penghacuran bahan asing melalui proses fagositosis. Jumlah neutrofil akan mengalami peningkatan jumlah sebagai bentuk respon imun terhadap hadirnya suatu antigen atau protein asing.



Gambar 1. Aktifitas fagositosis sel makrofag pada ginjal ikan nila

Jumlah neutrofil tertinggi didapat pada hari ke 7 setelah pemberian probiotik yaitu sebesar 35%. Pada hari ke 21 terjadi penurunan sebesar 13,33%, sedangkan pada kontrol sampai hari ke 21 didapatkan jumlah yang relatif sama (Gambar 2). Jumlah yang tinggi pada awal pemberian probiotik menunjukkan bentuk respon terhadap masuknya bakteri probiotik, sama halnya dengan respon terhadap infeksi akut (Bratawidjaja, 2000).

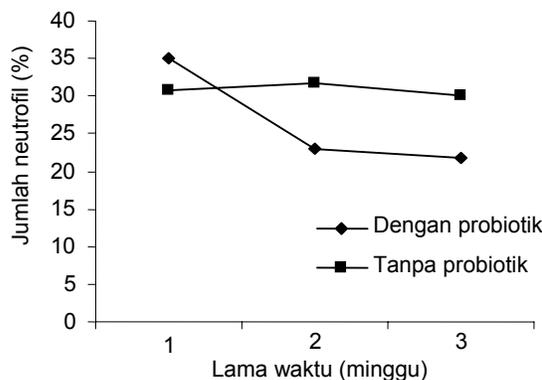
Berdasarkan hasil penelitian tahap I, menunjukkan bahwa peningkatan sistem imun non spesifik tertinggi terjadi pada hari ke 21. Hal itu diketahui dari gambaran makrofag dan aktivitasnya. Dari hasil penelitian tahap I dilakukan uji tantang pada tahap II. Uji tantang dilakukan untuk mengetahui dan mengukur tingkat kekebalan tubuh ikan yang diinfeksi dengan bakteri patogen. Tingkat kekebalan diketahui dari jumlah angka kuman total ginjal dan mortalitas ikan uji.

Hasil uji tantang dengan *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes* menunjukkan bahwa jumlah angka kuman total dari ikan yang diberi pakan probiotik mengalami penurunan dibandingkan dengan kontrol tanpa probiotik. Analisis ragam dari TPC jumlah angka kuman total ginjal ikan nila menunjukkan bahwa pemberian probiotik berpengaruh sangat

nyata terhadap jumlah total angka kuman ginjal ikan nila ($P < 0,01$) (Tabel 2).

Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata jumlah bakteri ginjal pada perlakuan B₀ sebesar 6,0491 ($11,95 \times 10^5$ cfu/g) merupakan keadaan normal tanpa uji tantang. Jumlah kuman total dari ginjal ikan uji terbesar pada perlakuan B₁ yaitu 9,3054 ($20,23 \times 10^8$ cfu/g). Pada perlakuan B₂ tanpa penambahan probiotik dalam pakan dan diuji tantang dengan *A. hydrophila* didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan B₃ yang ditambahkan pakan probiotik selama 21 hari dan diuji tantang dengan *A. salmonicida achromogenes* yaitu 9,1245 ($13,51 \times 10^8$ cfu/g) dan 9,1901 ($15,72 \times 10^8$ cfu/g).

Pengaruh probiotik terhadap jumlah angka kuman total ginjal ikan nila dapat dilihat antar perlakuan yang diuji tantang dengan patogen yang sama. Ikan uji yang ditantang dengan *A. hydrophila* tanpa probiotik (B₁) mempunyai rerata jumlah angka kuman total sebesar 9,3054 ($20,23 \times 10^8$ cfu/g), sedangkan ikan uji yang diberi probiotik selama 21 hari (B₃) mempunyai rerata jumlah angka kuman total sebesar 9,1901 ($15,72 \times 10^8$ cfu/g). Perbedaan jumlah juga terjadi pada ikan yang diuji tantang dengan *A. salmonicida achromogenes* (perlakuan B₂ dan B₄) yaitu 9,1245 ($13,51 \times 10^8$ cfu/g) dan 8,5011 ($3,19 \times 10^8$ cfu/g).



Gambar 2. Jumlah neutrofil (%) darah ikan nila setelah pemberian probiotik

Tabel 2. Jumlah angka kuman total pada ginjal ikan nila yang diberi probiotik selama 21 hari setelah uji tantang dengan *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes*

Perlakuan	Rerata jumlah bakteri ginjal \pm Standar deviasi (dalam log)
B ₀	6,0491 \pm 0,1636 ^a
B ₁	9,3054 \pm 0,0265 ^d
B ₂	9,1245 \pm 0,0720 ^c
B ₃	9,1901 \pm 0,0625 ^c
B ₄	8,5011 \pm 0,0498 ^b

Keterangan : Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)

Data di atas jelas menunjukkan bahwa penambahan probiotik dalam pakan ikan dapat mengurangi jumlah angka kuman total dari ginjal ikan nila. Iriyanti & Rimbawanto (2001) menyatakan bahwa pemberian probiotik dalam pakan mampu menurunkan populasi bakteri patogen, seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp.

Ikan uji yang ditantang dengan *A. hydrophila* mempunyai jumlah total kuman pada ginjal yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan uji yang ditantang dengan *A. salmonicida achromogenes*. Hal ini menunjukkan bahwa *A. salmonicida* kurang virulen terhadap ikan nila, sejauh ini laporan tentang *A. salmonicida* disampaikan oleh Irianto (2002) dan Irianto & Austin (2004) bahwa *A. salmonicida achromogenes* dapat menyebabkan penyakit eritrodermatitis dan borok pada ikan karp dan karp koi. Kemungkinan *A. salmonicida achromogenes* memiliki inang spesifik atau memiliki tingkat virulensi yang berbeda terhadap jenis ikan yang berbeda.

Penambahan probiotik dalam pakan ikan selain menurunkan jumlah angka kuman total dari ginjal ikan nila juga menurunkan tingkat mortalitas. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penambahan probiotik selama 21 hari memberikan pengaruh sangat nyata terhadap tingkat mortalitas ikan (P<0,01)(Tabel 3).

Tabel 3 menunjukkan bahwa rerata tingkat mortalitas tertinggi terjadi pada perlakuan B₁ yaitu sebesar 46,67%. Penambahan probiotik dalam pakan ikan

mampu menurunkan tingkat mortalitas dari ikan uji yang ditunjukkan dari perlakuan B₃ yaitu penambahan probiotik dalam pakan selama 21 hari yang ditantang dengan patogen yang sama yaitu *A. hydrophila*. Penurunan tingkat mortalitas mencapai 50% yaitu dari prosentase 46,67% sampai 23,33%. Hal ini menunjukkan bahwa probiotik efektif dalam mencegah timbulnya penyakit yang disebabkan oleh *A. hydrophila*.

Perlakuan dengan uji tantang *A. salmonicida achromogenes* tidak menyebabkan kematian pada ikan uji baik dengan atau tanpa penambahan probiotik. Hal ini ditunjukkan dari perlakuan B₂ dan B₄ yang menghasilkan 0% tingkat mortalitas. Dari hasil penelitian yang diperoleh dimungkinkan *A. salmonicida achromogenes* bukan merupakan jenis bakteri patogen penyebab penyakit pada ikan nila walaupun patogen ini mampu menyebabkan penyakit pada ikan mas (*C. carpio*).

Gejala-gejala klinis hanya ditimbulkan oleh ikan uji yang ditantang dengan *A. hydrophila* antara lain, nafsu makan berkurang, gerakan ikan yang lamban, timbul borok pada sisik, mata menonjol, insang pucat dan terjadi pendarahan pada tutup insang. Oliver *et al.* (1981) *cit.* Taufik (2001) menyatakan bahwa patogen *A. hydrophila* disamping menyerap nutrisi dan merusak jaringan organ tubuh juga mengeluarkan toksin yang disebarkan ke seluruh tubuh melalui aliran darah sehingga menyebabkan hemolisis dan pecahnya pembuluh darah.

Tabel 3. Pengaruh pemberian pakan probiotik selama 21 hari terhadap mortalitas ikan nila setelah uji tantang dengan *A. hydrophila* dan *A. salmonicida achromogenes*

Perlakuan	Rerata mortalitas \pm Standar deviasi (%)
B ₀	0 \pm 0,00 ^a
B ₁	46,67 \pm 9,43 ^c
B ₂	0 \pm 0,00 ^a
B ₃	23,33 \pm 4,71 ^b
B ₄	0 \pm 0,00 ^a

Keterangan : Huruf superskrip yang tidak sama pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata (P<0,05)

Kesimpulan

Interaksi antara pemberi pakan yang disuplementasi probiotik dan lama waktu pemberiannya memberikan perbedaan yang nyata terhadap respon imun non spesifik ikan nila (*O. Niloticus*) ditunjukkan dengan kemampuannya menekan jumlah angka kuman total ginjal sebesar $4,51 \times 10^8$ cfu/g dan menurunkan tingkat mortalitas ikan nila sampai 50% setelah uji tantang dengan *A. hydrophila*. Pemberian probiotik selama 21 hari juga mampu menekan jumlah angka kuman total ginjal sebesar $10,32 \times 10^8$ cfu/g setelah uji tantang dengan *A. salmonicida achromogenes*.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Pemerintah Republik Indonesia melalui Departemen Pendidikan Nasional atas Hibah Bersaing XII yang digunakan untuk penelitian ini dan Ferina Nusanti yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Bratawidjaja, K.G. 2000. Imunologi dasar. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 315 p.
- Ceulemans, S., P. Coutteau, L. Tort, and J. Rotllant. 2002. Supplemented feeds stimulate immune systems of gilthead seabream. *Global Aquaculture Advocate*, October 2002. 5 (5): 47-49.
- Chao, K-K., C-C. Chao, and W-L. Chao. 2003. Suitability of microbial

indicators and their enumerating methods in the assessment of fecal pollution of subtropical freshwater environments. *J. Microbiology and Immunology Infection*. 36: 288-293.

- Iriyanti, N. dan E.A. Rimbawanto. 2001. Pengaruh suplementasi probiotik *Lactobacillus* sp. dalam ransum unggas terhadap aktivitas antagonisme dan kompetisi *Lactobacillus* sp. pada saluran pencernaan unggas. *Biosfera*. 18(2): 68-72.
- Irianto, A. 2002. A study of probiotics effective for the control of *Aeromonas salmonicida* infection in fish. PhD Thesis. Edinburgh: Heriot-Watt University. 173 p.
- Irianto, A. 2004. Probiotik akuakultur. Gadjahmada University Press. Yogyakarta. 125 p.
- Irianto, A. 2005. Patologi ikan teleostei. Gadjahmada University Press. Yogyakarta. 256 p.
- Irianto, A. and B. Austin. 2002. Use of probiotic to control furunculosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Diseases*. 25: 333-342.
- Irianto, A. dan B. Austin. 2004. Respon imun ikan komet (*Carassius auratus*) terhadap suplementasi probion A3-51 per oral melalui pakan dan kelulusan hidupnya pada uji tantang dengan *Aeromonas salmonicida* atipikal. Prosiding

- Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity. Purwokerto: 86-90.
- Kirkaúa, M., H. Uzbülek, Vavuzcan, and Yıldiz. 2002. A report on spontaneous diseases in the culture of grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val. 1844). Turkey Journal of Veterinary Animal Science. 26: 407-410.
- Molinari, L.M., D.O. Scoaris, R.B. Pedroso, N.L.R. Bittencourt, F.C.V. Nakamura, T.U Nakamura, B.A. Abreu, and B.P.D. Filho. 2003. Bacterial microflora in the gastrointestinal tract of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, cultured in a semi-intensive system. Acta Scientiarum. 25 (2): 267-271.
- Roberts, R.J. 2001. Fish pathology. 3rd ed. Churchill Publisher. Livingstone. 495 p.
- Soeharsono, H. 1997. Probiotik alternatif pengganti antibiotik. Buletin PPSKI. 9 (X): 3-5.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1980. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 2nd ed. McGraw-Hill. New York. 633 p.
- Taufik, P. 2001. Ketahanan ikan baung, *Mystus nemurus*, terhadap patogen *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Ilmu-ilmu Perairan. 4 (2): 6-12.