

**PENGARUH LAMA PEMBERIAN PROBIOTIK A3-51
TERHADAP JUMLAH TOTAL ENTEROBACTERIACEAE
INTESTINUM *Oreochromis niloticus***

*The Effect of Length of A3-51 Probiotic Supplementation to The Number
of Intestine Enterobacteriaceae in Oreochromis niloticus*

Dewi Desnilasari, Sukanto dan Agus Irianto

Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Kampus Unsoed Grendeng Po Box 30,
Purwokerto 53122

Diserahkan : 30 Nopember 2004; Diterima : 25 Juli 2005

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama pemberian probiotik A3-51 terhadap jumlah total enterobacteriaceae intestinum. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan desain rancangan acak lengkap dengan dasar 4 perlakuan antara lain : La (tanpa probiotik), L1 (penambahan probiotik selama 7 hari), L2 (penambahan probiotik selama 14 hari), L3 (penambahan probiotik selama 21 hari). Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. Hasil menunjukkan peningkatan lama penambahan probiotik memberikan hasil yang sangat signifikan. Walaupun, pada saat yang sama jumlah enterobacteriaceae patogenik menurun. Dan penambahan probiotik meningkatkan daya cerna protein, lemak dan karbohidrat.

Kata kunci : Enterobacteriaceae, intestine, probiotik, daya cerna nutrisi

ABSTRACT

The aim of this research was to know the effect of length of A3-51 probiotic supplementation to the number of intestine Enterobacteriaceae. Research used experimental method using Completely Randomized Design which was based on 4 treatments i.e. La (without probiotic), L1 (probiotic supplementation for 7 days), L2 (probiotic supplementation for 14 days), L3 (probiotic supplementation for 21 days). Each treatment was repeated 3 times. The result showed that the length period of A3-51 probiotic supplementation very significantly ($P < 0,01$) increased the intestine Enterobacteriaceae number. However, in the same time the amount of pathogenic Enterobacteriaceae decreased. In addition, probiotic supplementation improved protein, fat, and carbohydrate digestions.

Key words: Enterobacteriaceae, intestine, probiotic, nutrient digestibility

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan inang. Probiotik memiliki potensi membangun keseimbangan dan mengembalikan

kondisi inang menjadi sehat serta cukup nutrisi. Pemberian probiotik dapat menguntungkan inang dengan merubah populasi mikroba saluran pencernaan khususnya pada bagian usus halus, meningkatkan tingkat kelulusan hidupan, penyerapan nutrisi melalui aktivitas

Total Enterobacteriaceae (D Desnilasari)

enzimatik, respon imun, menekan patogen potensial (Fuller, 1989). Probiotik mampu memperbaiki nutrisi inang antara lain dengan memproduksi vitamin dan detoksikasi pangan (Sugita *et al.*, 1991 dalam Irianto, 2003), memperbaiki laju pertumbuhan, efisiensi konversi pakan dan meningkatkan kesehatan hewan (Soeharsono, 1997).

Probiotik A3-51 merupakan mikroba yang diisolasi dari isi saluran pencernaan *rainbow trout* dan teridentifikasi dengan uji API 20E A3-51 mirip dengan *A. hydrophila* sedangkan berdasarkan uji sequencing DNA diduga *A. sobria*. Probiotik A3-51 mampu menghambat *A. salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *V. harveyi*, dan *Yersinia ruckeri* secara *in vitro*. Probiotik ini juga diuji ketahanan pada pakan ikan yang disimpan dan menunjukkan bahwa A3-51 yang ditambahkan pada pakan yang disimpan pada suhu 20°C mengalami penurunan jumlah dari 2×10^7 CFU/g menjadi $6,3 \times 10^4$ CFU/g dalam 14 hari (Irianto dan Austin, 2002).

Penggunaan probiotik pada budidaya dapat menjadi pilihan yang aman dalam meningkatkan kesehatan dan produktivitas ikan. Ikan nila merupakan ikan air tawar yang populer dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi bila dibandingkan dengan ikan yang lain (Amri dan Khairuman, 2003). Produktivitas ikan dapat menurun sejalan dengan menurunnya kesehatan ikan. Kelompok Enterobacteriaceae merupakan salah satu dari beberapa kelompok bakteri yang berpotensi menimbulkan penyakit pada ikan. *Proteus rettgeri* diketahui mengakibatkan bengkak merah pada perut, *Salmonella choleraesuis* penyebab

septisemia berupa luka pada membran mukosa lambung serta usus, *Serratia liquifaciens* penyebab bengkak ginjal, limpa serta hati, dan *Yersinia ruckeri* penyebab *enteric redmouth* (Austin dan Austin, 1999).

Pemberian probiotik pada ikan nila diharapkan dapat meningkatkan kesehatan dan produktivitasnya. Pemberian probiotik dapat meningkatkan jumlah probiotik pada intestinum hingga mencapai batas tertentu. Jika jumlah probiotik pada intestinum telah maksimum maka pemberian probiotik selanjutnya dapat berfungsi untuk mempertahankan kehadiran probiotik, sehingga probiotik dapat bekerja secara baik menyeimbangkan mikroflora dan mampu meningkatkan kesehatan inang (Ringo *et al.*, 1996 dalam Irianto, 2003). Salah satu mekanisme menyeimbangkan mikroflora yaitu dengan menekan jumlah patogen. Mengingat belum adanya informasi mengenai kemampuan probiotik menekan jumlah patogen yaitu kelompok Enterobacteriaceae pada ikan nila, maka diperlukan suatu penelitian untuk mengetahui pengaruh lama pemberian probiotik terhadap jumlah total Enterobacteriaceae intestinum ikan nila.

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui :

1. pengaruh lama pemberian probiotik A3-51 terhadap jumlah total Enterobacteriaceae intestinum ikan nila,
2. lama pemberian probiotik A3-51 yang menyebabkan jumlah total Enterobacteriaceae yang terkecil pada intestinum ikan nila.

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kemampuan probiotik A3-51 serta lama pemberian yang efektif dalam menekan Enterobacteriaceae patogen intestinum ikan nila.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan secara eksperimental. Perlakuan yang diberikan adalah lama pemberian probiotik yang terdiri dari:

La = tidak diberi probiotik

L1 = Pemberian probiotik selama 7 hari

L2 = Pemberian probiotik selama 14 hari

L3 = Pemberian probiotik selama 21 hari

Perlakuan-perlakuan tersebut disusun menurut Rancangan Acak Lengkap dan diulang 3 kali. Variabel yang digunakan adalah variabel bebas dan variabel tergantung. Variabel bebasnya adalah lama pemberian probiotik, sedangkan variabel tergantungnya adalah keberadaan Enterobacteriaceae. Variabel utama yang diukur adalah jumlah total Enterobacteriaceae, sedangkan variabel pendukungnya adalah jumlah total probiotik, jumlah masing-masing genera Enterobacteriaceae, dan selisih nilai proksimat pakan dengan feses.

Ikan nila ukuran panjang rata-rata 10 cm dipelihara dalam akuarium dengan ukuran 40 x 60 x 40 cm sebanyak 12 buah, dengan masing-masing akuarium diisi 5 ekor ikan. Pemberian probiotik pada pakan menurut Irianto dan Austin (2002) dilakukan dengan cara isolat bakteri A3-51 (*A. sobria*) yang telah ditanam di media TSB (*Tryptone Soya Broth*) dipanen menggunakan sentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 10

menit, dan diresuspensi pada larutan garam fisiologis (0,85%) hingga diperoleh 10¹⁰ sel per mL (melalui perhitungan langsung di *haemocytometer*). Kemudian, 5 mL suspensi tersebut dicampur pada 100 g pellet pakan kering untuk mencapai dosis yang setara dengan 10⁸ sel bakteri per gram pakan. Pemberian pakan dilakukan 3 kali sehari yaitu pada jam 07.00, jam 8.00 dan 17.00 selama 21 hari dengan dosis 3% dari total berat badan. Lama pemberian pakan berdasarkan perlakuan.

Pada hari ke-0, 7, 14, dan 21 dilakukan pengambilan sampel intestinum sebanyak 1 g untuk pengenceran hingga 10⁻⁶. Hasil dua pengenceran terakhir disebar sebanyak 0,1 mL pada medium agar MacConkey untuk mengetahui jumlah total Enterobacteriaceae pada intestinum, serta pada P ASA (*Pseudomonas Aeromonas Selektif Agar*) untuk mengetahui jumlah probiotik (Irianto dan Austin, 2002) dan diinkubasi 1 x 24 jam pada 28°C. Koloni yang tumbuh dihitung jumlahnya dengan metode TPC. Selain dihitung jumlah total Enterobacteriaceae, pada media MacConkey koloni yang tumbuh diidentifikasi morfologi koloninya, dikelompokkan berdasarkan generanya dan dihitung jumlahnya (Merck, 2000).

Penentuan selisih nilai proksimat pakan dan feses dilakukan dengan cara pakan dikeringkan menggunakan oven pada 65 °C selama 24 jam kemudian digerus. Sampel pakan ditimbang hingga 10 gram kemudian sampel ini dianalisis nilai proksimatnya. Feses dikumpulkan saat dilakukan penyiponan, kemudian dipisahkan dengan air. Feses dikeringkan dengan oven pada suhu 65 °C selama 24

Total Enterobacteriaceae (D Desnilasari)

jam dan digerus. Feses ditimbang hingga mencapai 10 gram dan dianalisis proksimat. Nilai analisis proksimat pakan diselisihkan dengan nilai proksimat pada feses dan nilai ini dianggap sebagai nilai pencernaan secara kasar.

Data yang diperoleh berupa jumlah total koloni dianalisis menggunakan Analisis Ragam (uji F) pada tingkat kesalahan 5% dan 1% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh perlakuan yang dicobakan, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perlakuan yang terbaik (Sastrosupadi, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan lama pemberian probiotik A3-51 yaitu La (tanpa pemberian probiotik), L1 (pemberian probiotik selama 7 hari), L2 (pemberian probiotik selama 14 hari), dan L3 (pemberian probiotik selama 21 hari) mendapatkan hasil perhitungan jumlah total bakteri Enterobacteriaceae, probiotik, Enterobacteriaceae patogen dan *Enterobacter* intestinum ikan nila (*Oreochromis niloticus*) (Gambar 1).

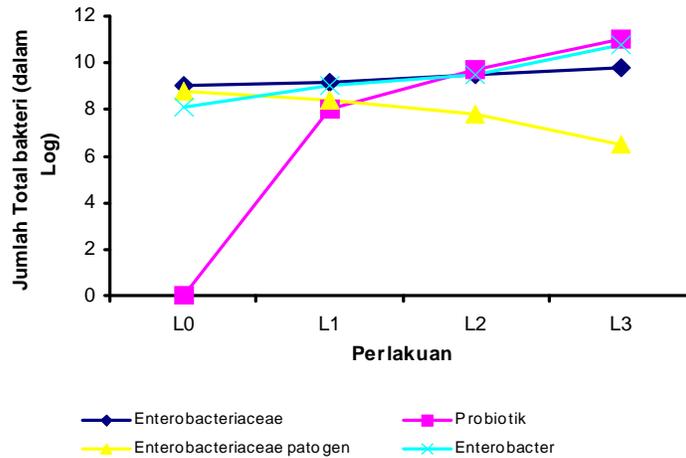
Gambar tersebut menunjukkan bahwa jumlah total Enterobacteriaceae semakin meningkat seiring dengan semakin lamanya pemberian probiotik. Pada perlakuan La (tanpa pemberian probiotik) memberikan jumlah Enterobacteriaceae yang paling rendah yaitu 8,88 ($7,59 \times 10^8$ CFU/g), sedangkan perlakuan L1, L2, dan L3 ternyata mampu meningkatkan jumlah total bakteri Enterobacteriaceae intestinum, dengan jumlah bakteri Enterobacteriaceae tertinggi pada perlakuan L3 yaitu $4,79 \times 10^9$ CFU/g. Hal

ini menunjukkan bahwa perlakuan L3 merupakan perlakuan yang optimal dalam meningkatkan jumlah total Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae diketahui merupakan mikroflora normal intestinum ikan air tawar (Ringo dan Birkbeck, 1999). Peningkatan jumlah Enterobacteriaceae disebabkan oleh pemberian probiotik ternyata mampu meningkatkan kehadiran flora normal intestinum ikan.

Gambar tersebut juga menunjukkan bahwa perlakuan L3 memiliki jumlah probiotik pada intestinum yang paling tinggi yaitu hingga $9,79 \times 10^{10}$ CFU. Hal ini membuktikan bahwa semakin lama pemberian probiotik maka keberadaan probiotik semakin mantap pada intestinum. Probiotik tersebut mampu tumbuh hingga mencapai jumlah yang cukup tinggi pada lama pemberian probiotik 21 hari. Menurut Gismondo *et al.*, (1999) kemampuan kolonisasi pada intestinum merupakan salah satu syarat penting bagi suatu probiotik karena probiotik harus dapat berkembang biak dan melekat pada usus.

Jumlah koloni yang tipikal sebagai *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* dan *Proteus* memperlihatkan jumlah yang semakin menurun sejalan dengan semakin lamanya pemberian probiotik. Hasil ini juga terlihat dari Gambar 1 yang memperlihatkan penurunan kurva dari La hingga L3. Lama pemberian probiotik berpengaruh terhadap penurunan jumlah mikroba patogen dan ini berarti bahwa probiotik A3-51 mampu menekan patogen.

Enterobacter diketahui merupakan bakteri yang menguntungkan bagi ikan. Menurut Sakata dan Kakimoto (1979) dalam Ringo dan Birkbeck (1999)



Gambar 1. Jumlah total Enterobacteriaceae, probiotik, Enterobacteriaceae patogen (*Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, dan *Yersinia*) dan *Enterobacter* intesinum pada masing-masing perlakuan (transformasi log).

Enterobacter yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan diketahui mampu memproduksi enzim seperti amilase, protease, khitinase dan lechitinase. Kemampuan penghasiian enzim ini dapat meningkatkan proses pencernaan ikan.

Semakin tinggi enzim pencernaan dapat berakibat pada semakin banyak makanan yang dapat tercerna oleh ikan tersebut. Selisih antara jumlah nutrien yang masuk dan yang keluar dalam feses menunjukkan jumlah yang dicerna disebut tingkat kecernaan (Cole dan Ronning, 1974 dalam Ranjhan, 1981).

Tabel 1. Selisih nilai proksimat sampel pakan dengan feses masing-masing perlakuan.

Perlakuan	Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)
La	20,421	3,371	59,737
L1	20,444	3,619	60,281
L2	20,456	3,64	61,571
L3	20,496	4,1	61,724

Dari hasil tersebut terlihat bahwa selisih nilai proksimat protein, lemak, serta karbohidrat pakan dengan feses pada perlakuan L3 paling tinggi dibanding dengan perlakuan yang lain.

Hal ini berarti bahwa probiotik dapat meningkatkan kecernaan protein, lemak serta karbohidrat. Menurut Soedibya (2000) mikroba probiotik yang ditambahkan dalam tubuh ikan akan tinggal di saluran pencernaan dan membantu proses-proses yang terjadi dalam saluran pencernaan bisa dengan penghasilan enzim pencernaan sendiri atau dengan meningkatkan jumlah mikroba yang menghasilkan enzim pencernaan.

Perlakuan lama pemberian probiotik berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah total Enterobacteriaceae intesinum. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung (42,13) yang lebih besar dari F tabel 0,05 (4,07) dan 0,01 (7,59). Hasil tersebut membuktikan bahwa lama pemberian probiotik A3-51 berpengaruh sangat besar terhadap jumlah total

Total Enterobacteriaceae (D Desnilasari)

Enterobacteriaceae intestinum ikan nila, sehingga hipotesis pertama diterima.

Perlakuan L2 dan L3 berbeda sangat nyata terhadap La. Perlakuan L2 dan L3 juga berbeda sangat nyata terhadap L1 ($P < 0,05$). Bila dilihat dari nilai jumlah Enterobacteriaceae perlakuan L3 merupakan perlakuan terbaik dalam meningkatkan jumlah Enterobacteriaceae yaitu hingga $9,676 (4,742 \times 10^9)$ CFU/g. Perlakuan L2 sama baiknya dengan perlakuan L3 dalam meningkatkan jumlah Enterobacteriaceae intestinum. Hal ini terlihat dari huruf yang sama di belakang nilai rerata jumlah Enterobacteriaceae. Ini berarti hipotesis kedua ditolak, namun demikian dari penelitian ini dapat dilihat bahwa pemberian probiotik dapat menekan jumlah Enterobacteriaceae patogen. Seperti halnya penelitian Byun *et al.*, (1997) pemberian probiotik *Lactobacillus* sp. DS-12 pada ikan *Paralichthys olivaceus* mengakibatkan terjadinya kenaikan jumlah Enterobacteriaceae pada intestinum dari $1,99 \times 10^4$ CFU/g menjadi $6,3 \times 10^4$ CFU/g pada akhir perlakuan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. lama pemberian probiotik A3-51 berpengaruh terhadap peningkatan jumlah total Enterobacteriaceae intestinum ikan nila,
2. pemberian probiotik A3-51 selama 7 hari menyebabkan hasil jumlah total Enterobacteriaceae terkecil pada intestinum ikan nila.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mikroflora menguntungkan lainnya untuk meningkatkan kesehatan ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri, K dan Khairuman. 2003. "Budidaya ikan Nila secara intensif", Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Austin, Band D.A. Austin. 1999. "Bacterial fish pathogens disease of farmed and wild fish", Third (Revised) edition. Praxis Publishing Ltd., Chichester. Bridson, E.y. 1998. Oxoid Manual. 8th edition. Oxoid Ltd., New York.
- Byun, J.W, Y. Benno, and T.K. Oh. 1997. "Short Communication. Effect of *Lactobacillus* sp. DS-12 in Flounder (*Paralichthys olivaceus*)", Journal Applied Microbiology 43: 305-308.
- Fuller, R. 1989. a Review: "Probiotic in men and animal", Journal Application Bacteria 66 : 365 – 378.
- Irianto, A. 2003. *Probiotik untuk pengendalian penyakit infeksi dalam akuakultur*. Diktat Perkuliahan Fakultas Biologi. Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. (tidak dipublikasikan).
- Irianto, A and B. Austin. 2002. "Use of probiotics to control furunculosis in Rainbow trout, *Onchorynchus mykiss* (Walbaum)", Journal of Fish Diseases 25: 333-342.

- Merck. 2000. "Microbiology Manual", KgaA, Darmstardt. Prescott, L.M, J.P.Harley and D.A.Klein. 1996. Microbiology. Fourth edition. McGrawHill Companies, New York.
- Ranjhan, S.K. 1981. "Animal nutrition in tropic". Vicas Publishing House PVT Ltd., New Delhi.
- Ringo, E, and T.H. Birkbeck. 1999. A review: "Intestinal micro flora of Fish Larvae and Fry", Aquaculture 30: 73-93.
- Sastrosupadi, A. 2000. "Rancangan percobaan praktis bidang pertanian", Edisi Revisi. Kanisius, Yogyakarta.
- Soeharsono, H. 1997. "Probiotik : alternatif pengganti Antibiotik", Buletin PPSKI 9:3-5.
- Soedibya, P.H.T. 2000. *Penerapan mikroba probiotik untuk memacu laju tumbuh ikan Gurami (Osphronemus gouramy Lac.)*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. (tidak dipublikasikan).