**EFEKTIVITAS BAKTERI PROBIOTIK *Bacillus* sp.D2.2 DAN EKSTRAK TEPUNG UBI JALAR SEBAGAI SINBIOTIK TERHADAP SERANGAN *STREPTOCOCCOSIS* PADA IKAN NILA *(Oreochromis niloticus)***

Nandya Dwinitasari1, Esti Harpeni2, Limin Santoso1

1Program Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung.

2Program Ilmu Kelautan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Lampung.

**Abstrak**

Budidaya ikan nila secara intenisf untuk meningkatkan total produksi dapat berpotensi menimbulkan infeksi patogen pada ikan. Pengaplikasian sinbiotik merupakan salah satu strategi pengendalian biologis yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan pada organisme budidaya. Sinbiotik merupakan kombinasi antara bakteri probiotik dan prebiotik. Salah satu jenis bakteri probiotik yang dapat digunakan dalam kegiatan budidaya ikan adalah *Bacillus* sp D2.2. dengan kombinasi prebiotik ekstrak tepung ubi jalar. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efektivitas sinbiotik yang terdiri dari ekstrak tepung ubi jalar *(Ipomoea batatas)* dan isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2 berdasarkan kondisi hematologi, nilai *survival rate* (SR) dannilai *relative percent survival* (RPS) pada benih ikan nila yang terserang penyakit *streptococcosis*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2018 di Laboratorium Perikanan, Universitas Lampung. Hasil penelitian ini menunjukan bahwa hewan uji pada perlakuan P4 (PRE 4% PRO 8%) memiliki nilai SR yang paling tinggi dengan tingkat perlindungan relatif yang paling efektif dibandingkan dengan hewan uji pada perlakuan kontrol dan perlakuan lainnya.

**Kata kunci:** sinbiotik, *Bacillus* sp. D2.2, ekstrak tepung ubi jalar, *Streptococcus agalactiae,* sistem imun

**PENDAHULUAN**

Ikan nila adalah salah satu jenis ikan air tawar yang sering dibudidayakan karena memiliki pertumbuhan yang cepat, memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan mudah dibudidayakan. Produksi ikan nila pada tahun 2010 sebesar 491.800 ton dan meningkat menjadi 850.000 ton pada tahun 2012. Target produksi ikan nila pada tahun 2013 ditingkatkan menjadi 1,1 juta ton (KKP, 2013). Upaya yang dapat dilakukan untuk memenuhi permintaan pasar terhadap ikan nila di Indonesia salah satunya adalah meningkatkan dan mengembangkan usaha budi-daya ikan nila secara intensif. Intensifikasi budidaya ikan nila menyebabkan mun-culnya kendala seperti masalah penyakit pada ikan yang disebabkan oleh bakteri patogen.

Penyakit yang sering menyerang ikan nila adalah *Streptococcosis.* Penyakit *Streptococcosis* adalah salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus* sp. *Streptococcosis* menyebabkan ikan berenang tidak beraturan, warna tubuh ikan menjadi gelap, respon terhadap pakan lemah, dan bukaan oper-kulum menjadi lebih cepat (Hardi *et al.,* 2011). Sheehan *et al.,* (2009) melaporkan bahwa bakteri *Streptococcus agalactiae* yang menginfeksi ikan nila ditemukan dalam dua tipe yaitu tipe hemolitik dan tipe non hemolitik. Bakteri tipe hemolitik tumbuh baik (cepat) pada suhu 37oC dan mampu menghidrolisis gula lebih ba-nyak sedangkan bakteri tipe non hemolitik memiliki sifat yang bertolak belakang dengan tipe hemolitik, yaitu tumbuh relatif lebih lambat pada suhu 37oC dan hanya gula tertentu yang mampu dihidrolisis.

Penanggulangan penyakit *Streptococcosis* biasanya dilakukan menggunakan dis-infektan dan antibiotik. Disinfektan diberikan sebagai upaya pencegahan sedang-kan antibiotik diberikan setelah infeksi terjadi. Pemberian disinfektan sebagai upaya pencegahan hanya dapat menanggulangi gejala penyakit akan tetapi tidak mematikan bakteri penyebab penyakit. Sedangkan penanganan saat infeksi telah terjadi menggunakan antibiotik memerlukan biaya yang relatif tinggi dan dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten sehingga dapat menimbulkan masalah baru (Tendencia & de la Pena, 2001; Le *et al*., 2005; Costa *et al*., 2015).

Upaya pencegahan menggunakan sinbiotik dapat menjadi alternatif penanganan infeksi bakteri. Aplikasi sinbiotik merupakan salah satu strategi pengendalian biologis yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan resistensi penyakit organisme akuakultur (Cerezuela *et al.*, 2011).

Sinbiotik tersusun dari probiotik dan prebiotik. Salah satu jenis bakteri probiotik yang dapat digunakan dalam kegiatan budidaya ikan adalah *Bacillus* sp D2.2. Iso-lat bakteri dengan kode D2.2 merupakan bakteri probiotik yang dapat digunakan dalam budidaya ikan karena isolat bakteri tersebut memiliki kekerabatan dekat dengan *Bacillus* sp. (Aji, 2014).

Media kultur bakteri yang umum digunakan untuk pembiakan isolat bakteri D2.2 yaitu *sea water complete* (SWC), akan tetapi penggunaan media SWC untuk pem-biakan isolat bakteri D2.2 memiliki kelemahan yaitu komposisi bahan pembuatan media yang relatif mahal (Widanarni, 2011). Oleh karena itu diperlukan bahan media yang lebih ekonomis yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri D2.2. Salah satu komposisi media teknis penganti yang dapat digunakan yaitu ubi jalar, karena didalam ubi jalar terkandung oligosakarida berupa rafinosa dan su-krosa yang berperan sebagai prebiotik yang dapat menunjang pertumbuhan bak-teri probiotik (Lesmawati *et al.,* 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Septiani (2016) didapatkan informasi bahwa bakteri biokontrol D2.2 mampu tumbuh pada salinitas 0, 10, 20 dan 30 ppt. Sehingga berdasarkan informasi tersebut, bakteri D2.2 ini me-mungkinkan untuk diaplikasikan sebagai probiotik pada budidaya ikan air tawar dengan harapan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh ikan dan mengguna-kan media yang lebih ekonomis.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efektivitas sinbiotik yang terdiri dari ekstrak tepung ubi jalar *(Ipomoea batatas)* dan isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2 berdasarkan kondisi hematologi, nilai *survival rate* (SR) dan nilai *relative percent survival* (RPS) pada benih ikan nila yang terserang penyakit *streptococcosis*.

**METODE PENELITIAN**

Penelitian ini terdiri dari tujuh perlakuan dengan tiga kali ulangan menggunakan konsentrasi probiotik dan prebiotik. Pemberian pakan dilakukan sebanyak tiga kali sehari, yaitu pukul 07.00, 12.30 dan 17.30 WIB. Jumlah pakan yang diberikan sebesar 3% sesuai dengan bobot ikan uji pada masing-masing perla-kuan. Analisis uji tantang dilakukan dengan menginfeksi ikan nila menggunakan jenis bakteri patogen *Streptococcus agalactiae.* Selama uji tantang dilakukan, pengamatan gejala klinis dan kematian hewan diamati setiap hari selama satu minggu.

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian yaitu:

|  |  |
| --- | --- |
| P1 : | Kontrol (pemberian pakan tanpa sinbiotik) |
| P2 : | Penambahan prebiotik 4 ml/100 g pakan dan probiotik 4 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g |
| P3 : | Penambahan prebiotik 4 ml/100 g pakan dan probiotik 6 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g |
| P4 : | Penambahan prebiotik 4 ml/100 g pakan dan probiotik 8 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g |
| P5 : | Penambahan prebiotik 6 ml/100 g pakan dan probiotik 4 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g  |
| P6 : | Penambahan prebiotik 6 ml/100 g pakan dan probiotik 6 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g  |
| P7 : | Penambahan prebiotik 6 ml/100 g pakan dan probiotik 8 ml/100 g pakan dengan binder 2 ml/100 g  |

1. **Persiapan Wadah dan Hewan Uji**

Wadah yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah akuarium yang ber-ukuran 50x40x40 cm sebanyak 21 buah yang telah di disinfeksi menggunakan klorin 30 ppm. Hewan uji yang digunakan adalah ikan nila berukuran 13g sebanyak 10 ekor yang dipelihara dalam masing-masing akuarium sesuai perla-kuan dengan volume air ¾ dari tinggi akuarium.

1. **Persiapan Probiotik**

Isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2. dikultur pada media SWC dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 24 jam, kemudian dihitung kepadatan bakteri pada media SWC hingga kepadatan 106 CFU/ml. Setelah diperoleh kepadatan bakteri kemudian bakteri probiotik *Bacillus* D2.2 siap diaplikasikan pada pakan ikan.

1. **Persiapan Prebiotik**

Persiapan prebiotik terdiri dari proses pembuatan tepung ubi jalar dan proses pengekstrakan. Proses pembuatan tepung ubi jalar dilakukan dengan cara me-motong ubi jalar yang kemudian dilanjutkan ke proses pengukusan, ubi jalar tersebut dikukus selama 30 menit, setelah pengukusan selesai ubi jalar diiris-iris tipis yang kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 55°C selama 5 jam, dan ditepungkan menggunakan *blender.* Tepung ubi jalar kemudian dicampur air dengan perbandingan 1:1, lalu dikukus selama 30 menit. Tepung ubi kukus ini dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 55°C selama 5 jam sampai kering (Harpeni *et al*., 2016). Ekstraksi menggunakan air dilakukan dengan mencampur 5 g tepung ubi jalar dalam 40 mL air mendidih sambil diaduk. Ekstrak diaduk selama 10 menit terus-menerus pada suhu 85±2°C (Sukenda *et al.,* 2015).

1. **Persiapan Pakan Uji**

Proses persiapan pakan uji meliputi pencampuran pakan dengan sinbiotik. Proses persiapan pakan uji meliputi pembuatan sinbiotik dengan mencampurkan pro-biotik dan prebiotik pada pakan serta penambahan kuning telur sebagai binder sebanyak 2 ml /100 g pakan yang berfungsi sebagai perekat. Sebelum diberikan ke hewan uji, pakan dikering anginkan terlebih dahulu untuk mengurangi kelem-babannya kemudian pakan yang sudah kering diletakkan pada wadah yang kedap udara dan dapat diaplikasikan pada hewan uji.

1. **Persiapan Patogen**

Patogen yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri *Streptococcus agalactiae* yang telah mengalami pengganasan melalui uji kohabitasi*.* Isolat bakteri diperoleh dari Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan (LP2IL) Serang, Banten.

### Pemeliharaan dan Pemberian Pakan

Pemeliharaan hewan uji dilakukan selama 15 hari dengan pemberian pakan tiga kali sehari. Aklimatisasi dilakukan selama satu minggu sebelum pemberian pakan perlakuan. Pengamatan parameter dilakukan pada awal sebelum diberi perlakuan, pertengahan setelah diberi pakan bersinbiotik dan akhir penelitian setelah dilakukan uji tantang.

1. **Uji tantang**

Uji tantang dilakukan pada ikan nila yang telah diberikan pakan sesuai dengan perlakuan (kontrol dan penambahan sinbiotik) dan dipelihara selama 15 hari. Uji tantang dilakukan pada hari ke-16 dengan cara menginjeksikan isolat bakteri *Streptococcus agalactiae* yang telah mengalami pengganasan sebanyak 0,1 ml/ekor. Penyuntikkan dilakukan secara *intramuscular* pada bagian punggung ikan tepat dibawah sirip punggung dengan sudut kemiringan kira-kira 30°. Ikan nila yang telah diuji tantang diamati gejala klinis dan kematiannya setiap hari selama 7 hari.

1. **Parameter Pengamatan**

Parameter pengamatan yang dilakukan selama penelitian ini yaitu titer antibodi Anderson (1974), kadar hematokrit (Anderson, 2017), total leukosit, diferensial leukosit (limfosit, monosit dan neutrofil), SR (*Survival Rate*), RPS (*relative Percent Survival*) dan kualitas air.

Pengaruh perlakuan seperti kadar hematokrit, total leukosit, diferensiasi leukosit, *relative percent survival* dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) setelah data memenuhi asumsi homogen dan terdistribusi normal. Apabila hasil uji antar perlakuan berbeda nyata maka akan dilakukan uji lanjut menggunakan uji F dengan tingkat kepercayaan 95% untuk membandingkan antar perlakuan. Data pengamatan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

* 1. **Pengamatan titer antibodi**

Hasil pengamatan titer antibodi pada benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 1:

Tabel 1. Hasil pengamatan nilai titer antibodi pada benih ikan nila.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Waktu Pengamatan | Perlakuan | Titer Antibodi (Sumuran Ke-) |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Pemeliharaan(Hari Ke 0) | P1 (KONTROL) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Setelah pemberian sinbiotik(Hari Ke 14) | P1 (KONTROL) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Setelah uji tantang(Hari Ke 21) | P1 (KONTROL) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - |
| (+) adanya aglutinasi terbentuknya antibodi(-) tidak adanya aglutinasi, tidak terbentuknya antibodi |
|  |

Pengukuran titer antibodi dilakukan untuk mengetahui efektivitas sinbiotik atau respon antibodi terhadap antigen yang dimasukan dalam tubuh ikan atau menge-tahui pengaruh vaksinisasi terhadap jumlah antibodi dalam serum benih ikan. Respon antibodi ikan ditandai dengan adanya aglutinasi terhadap antigen terlarut (Nitimulyo &Triyanto, 1990). Hasil pemeriksaan titer antibodi pasca uji tantang menunjukan bahwa adanya perbedaan titer antibodi antara ikan yang diberikan sinbiotik dan ikan kontrol (tanpa pemberian sinbiotik). Titer antibodi pada ikan yang diberikan sinbiotik relatif lebih tinggi dibandingkan ikan kontrol (tanpa pemberian sinbiotik). Hal ini menunjukan bahwa penambahan sinbiotik dalam pakan dapat menstimulasi kekebalan pada tubuh ikan uji sehingga terjadi pening-katan titer antibodi. Hasil pengamatan titer antibodi pada perlakuan kontrol masih ditemukan titer antibodi walaupun dalam jumlah sedikit. Hal ini menunjukan bahwa secara alamiah ikan nila sudah mempunyai sistem kekebalan tubuh. Peningkatan titer antibodi pada ikan yang diberikan sinbiotik mengindikasikan adanya pengaktifan respon imum spesifik terhadap antigen *S. agalactiae.*

* 1. **Kadar hematokrit**

Kadar hematokrit benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 2:

Tabel 2. Nilai rata-rata persentase hematokrit benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Hematokrit hari ke \* (%) |
| 0 | 14 | 21 |
| P1 (KONTROL)  | 29,40 ± 0,84 | 28,93 ± 1,09 | 19,09 ± 0,51 a |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 28,65 ± 0,36 | 28,40 ± 0,74 | 19,72 ± 1,16 a |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 29,20 ± 0,73 | 29,13 ± 0,49 | 21,94 ± 1,01 a |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 29,05 ± 0,97 | 28,50 ± 0,53 | 30,18 ± 1,13 bc |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 29,15 ± 0,34 | 29,16 ± 0,13 | 32,56 ± 1,18 c |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 28,82 ± 1,36 | 28,58 ± 0,51 | 37,28 ± 1,02 d |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 28,78 ± 1,13 | 28,90 ± 0,88 | 29,51 ± 1,74 b |
| Kadar hematokrit ikan nila normal \*\* | 27,30 – 37,80 |
| Keterangan: \* Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0,05). \*\* Menurut Hardi (2011) |

Hasil pengamatan nilai rata-rata persentase hematokrit benih ikan nila pada hari ke-0 menunjukan kisaran nilai antara 28,65-29,40. Nilai hasil persentase kadar hematokrit pada ikan nila tersebut masih berada pada kisaran normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hardi (2011) tentang kadar hematokrit ikan nila normal yang berkisar antara 27,30 – 37,80. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut dapat diasumsikan bahwa benih ikan nila yang akan diberikan perlakuan dan digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini berada dalam kondisi yang sama dan dalam keadaan normal.

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase hematokrit pada benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan. Persentase hematokrit benih ikan nila pada pemeliharaan hingga hari ke-14 pemeliharaan mengalami kenaikan pada perlakuan P5 dan P7, sedangkan pada perlakuan P1, P2, P3, P4 dan P6 terjadi penurunan, akan tetapi kenaikan dan penurunan pada perlakuan-perlakuan tersebut tidak signifikan dan masih berada dalam kisaran normal untuk kadar hematokrit pada ikan nila yang berkisar antara 27,30 – 37,80 (Hardi, 2011).

Sedangkan untuk hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase nilai hematokrit pada benih ikan nila pada perlakuan dengan kombinasi prebiotik 4% dan probiotik 8% (P4), prebiotik 6% dan probiotik 4% (P5), prebiotik 6% dan probiotik 6% (P6), prebiotik 6% dan probiotik 8% (P7) pada hari ke-21 pasca uji tantang dengan persentase nilai hematokrit berkisar antara 29,51-37,28. Kisaran persentase nilai hematokrit tersebut berada pada kisaran normal untuk kadar hematokrit pada ikan nila yaitu berkisar antara 27,30-37,80 (Hardi, 2011).

Sedangkan pada perlakuan P1, P2 dan P3 pasca uji tantang terjadi penurunan persentase nilai hematokrit menjadi 19,09-21,94. Persentase nilai hematokrit tersebut berada dibawah kisaran normal untuk kadar hematokrit pada ikan nila. Menurut Jawad *et al.*(2004) faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya penurunan persentase hematokrit adalah adanya infeksi atau akibat perubahan lingkungan yang secara cepat sehingga dapat menurunkan nafsu makan ikan dan jumlah sel darah merah menjadi berkurang.

* 1. **Total leukosit (sel darah putih)**

 Jumlah leukosit (sel darah putih) benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 3:

Tabel 3. Nilai rata-rata sel darah putih benih ikan nila

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Total Leukosit hari ke\* (x 104 sel/mm3) |
| 0 | 14 | 21 |
| P1 (KONTROL)  | 3,22 ± 0,08 | 3,27 ± 0,03 | 4,22 ± 0,10 a |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 3,27 ± 0,06 | 3,35 ± 0,09 | 4,09 ± 0,14 ab |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 3,42 ± 0,06 | 3,27 ± 0,08 | 4,07 ± 0,06 ab |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 3,42 ± 0,20 | 3,30 ± 0,05 | 3,93 ± 0,08 bc |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 3,43 ± 0,05 | 3,38 ± 0,03 | 3,80 ± 0,05 c |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 3,42 ± 0,10 | 3,42 ± 0,03 | 3,93 ± 0,06 bc |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 3,32 ± 0,06 | 3,25 ± 0,09 | 3,97 ± 0,06 bc |
| Jumlah leukosit ikan nila normal \*\* | 3,2–14,6 |
| Keterangan:\*Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang samamenunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0,05). \*\* Menurut Hartika *et al.*(2014) |

Berdasarkan hasil ui statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap rata-rata jumlah leukosit benih ikan nila pada hari ke 0. Hasil pengamatan jumlah leukosit benih ikan nila pada hari ke-0 menun-jukan kisaran nilai antara 3,22-3,43. Jumlah leukosit pada ikan nila tersebut masih berada pada kisaran normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hartika *et al.* (2014) tentang jumlah leukosit ikan nila normal yang berkisar antara 3,2–14,6. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut dapat diasumsikan bahwa benih ikan nila yang akan diberikan perlakuan dan digunakan sebagai hewan uji dalam peneli-tian ini berada dalam kondisi yang sama dan dalam keadaan normal berdasarkan hasil pengamatan total leukosit yang telah dilakukan.

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap rata-rata jumlah leukosit benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan. Rata-rata leukosit benih ikan nila pada pemeliharaan hingga hari ke-14 pemeliharaan mengalami kenaikan pada perlakuan P1 dan P2, sedangkan pada perlakuan P3, P4, P5 dan P7 terjadi penurunan, akan tetapi ke-naikan dan penurunan tersebut tidak signifikan dan masih berada dalam kisaran normal untuk total leukosit pada ikan nila yang berkisar antara 3,2–14,6 (Hartika *et al.,*2014).

Sedangkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik memberikan pengaruh yang ber-beda nyata terhadap rata-rata jumlah leukosit pada benih ikan nila yang ditandai dengan adanya interaksi antar tiap perlakuan yang tidak terlalu signifikan pada hari ke-21pasca dilakukannya uji tantang.

Total leukosit benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan hingga hari ke-21 pasca uji tantang mengalami peningkatan pada semua perlakuan. Pening-katan total leukosit tertinggi ada pada perlakuan P1 (Kontrol) tanpa penambahan kombinasi prebiotik dan probiotik, yaitu sebesar 0,95 x 104 sel/mm3, sedangkan peningkatan terendah ada pada perlakuan P5 (PRE 6% dan PRO 4%) yaitu sebe-sar 0,42 x 104 sel/mm3. Peningkatan total leukosit yang terjadi pada semua perla-kuan pasca uji tantang disebabkan karena adanya infeksi pada tubuh ikan setelah dilakukannya injeksi berupa isolat bakteri *Streptococcus agalactiae*. Peningkatan total leukosit ini merupakan respon imun alami yang muncul pada tubuh ikan sebagai bentuk pertahanan dan perlindungan diri terhadap zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan. Sedangkan pada perlakuan P5 (PRE 6% dan PRO 4%) total leukosit mengalami peningkatan terendah jika dibandingkan dengan keenam perlakuan lainnya.

Menurut Moyle & Cech (2004), faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah sel darah putih adalah kondisi dan kesehatan tubuh ikan hingga kondisi kualitas air. Sel darah putih merupakan sel darah yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh yang membantu membersihkan tubuh dari benda asing yang masuk ke dalam tubuh melalui sistem imun untuk melakukan adaptasi atau mensintesa antibodi.

* 1. **Diferensiasi leukosit**
1. **Neutrofil**

Persentase neutrofil pada benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 4:

Tabel 4. Nilai rata-rata persentase neutrofil benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Presentase neutrofil hari ke\* (%) |
| 0 | 14 | 21 |
| P1 (KONTROL)  | 13,67 ± 0,58 | 13,33 ± 0,58 |  9,33 ± 1,52 |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 15,67 ± 0,58 | 14,67 ± 1,53 |  9,00 ± 1,73 |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 15,33 ± 0,58 | 15,33 ± 0,58 |  9,67 ± 1,16 |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 15,33 ± 1,16 | 14,67 ± 0,58 | 10,67 ± 0,58 |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 13,67 ± 1,16 | 14,33 ± 0,58 | 10,67 ± 1,16 |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 13,33 ± 0,58 | 12,67 ± 1,16 |  9,33 ± 0,58 |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 15,00 ± 1,00 | 15,33 ± 1,16 |  9,67 ± 0,58 |
| Persentase neutrofil ikan nila normal \* | 10,00 – 18,10 |

Keterangan: \* Menurut Hardi(2011)

Hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai rata-rata persentase neutrofil benih ikan nila pada hari ke-0 pemeliharan. Hasil pengamatan nilai rata-rata persentase neutrofil benih ikan nila pada hari ke-0 menunjukan kisaran nilai antara 13,33-15,67%. Nilai hasil rata-rata persentase neutrofil pada ikan nila tersebut masih berada pada kisaran normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hardi (2011) tentang persentase neutrofil ikan nila normal yang berkisar antara 10,00 –18,10%. Berdasarkan hasil pengamatan persentase neutrofil tersebut dapat diasumsikan bahwa benih ikan nila yang akan diberikan perlakuan dan digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini berada dalam kondisi yang sama dan dalam keadaan normal.

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai rata-rata persentase neutrofil benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan. Persentase neutrofil benih ikan nila pada hari ke-0 pemeliharaan hingga hari ke-14 pemeliharaan mengalami kenaikan pada perlakuan P5 (PRE 6 PRO 4) dan P7 (PRE 6 PRO 8), sedangkan pada perlakuan P1, P2, P4 dan P6 terjadi penurunan, akan tetapi kenaikan dan penurunan pada perlakuan-perlakuan tersebut tidak signifikan dan masih berada dalam kisaran normal untuk persentase neutrofil pada ikan nila yang berkisar antara 10,00 – 18,10 (Hardi, 2011).

Sedangkan untuk hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik juga tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase neutrofil pada benih ikan nila pada hari ke-21 pasca uji tantang. Persentase neutrofil pada hari ke-21 pasca uji tantang mengalami penurunan pada semua perlakuan. Penurunan nilai persentase neutrofil berkisar antara 3,34-5,67%. Penurunan nilai persentase neutrofil yang terjadi pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8) dan P5 (PRE 6 PRO 4) masih berada dalam kisaran normal rata-rata persentase neutrofil pada ikan nila yaitu berkisar antara 10-18,1% dari jumlah total sel darah putih (Hardi, 2011). Sedangkan penurunan nilai persentase neutrofil yang terjadi pada perlakuan P1, P2, P3, P6 dan P7 berada dibawah kisaran normal rata-rata persentase neutrofil pada ikan nila.

Neutrofil merupakan sel berumur pendek yang berfungsi untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seluler seperti bakteri dan virus. Neutrofil melawan penyakit dan zat-zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan dengan cara memfagosit zat-zat asing tersebut. Satu sel neutrofil dapat memfagosit 5 hingga 20 zat asing. Berdasarkan informasi tersebut dapat diasumsikan bahwa jumlah sel neutrofil dalam darah ikan pada hari ke-21 pasca uji tantang yang berfluktuatif dan cenderung rendah dikarenakan sel neutrofil tergolong kedalam jenis sel yang berumur pendek dan akan mati setelah memfagosit zat-zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan.

1. **Monosit**

Persentase monosit pada benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 5:

Tabel 5. Nilai rata-rata persentase monosit benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Persentase monosit hari ke\* (%) |
| 0 | 14 | 21 |
| P1 (KONTROL)  | 4,67 ± 0,58 | 4,33 ± 0,58 | 3,67 ± 0,58 |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 5,33 ± 0,58 | 4,67 ± 0,58 | 3,67 ± 0,58 |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 4,33 ± 0,58 | 4,33 ± 0,58 | 3,67 ± 0,58 |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 5,33 ± 0,58 | 4,67 ± 0,58 | 4,33 ± 0,58 |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 4,33 ± 0,58 | 4,33 ± 0,58 | 4,67 ± 0,58 |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 5,00 ± 1,00 | 4,67 ± 0,58 | 3,33 ± 0,58 |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 4,67 ± 0,58 | 4,33 ± 0,58 | 3,67 ± 1,16 |
| Persentase monosit ikan nila normal \* | 3,9 – 5,9 |

Keterangan: \* Menurut Hardi (2011)

Hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai rata-rata persentase monosit benih ikan nila pada hari ke-0 pemeliharaan. Hasil pengamatan nilai rata-rata persentase monosit benih ikan nila pada hari ke-0 menunjukan kisaran nilai antara 4,33-5,33%. Nilai hasil rata-rata persentase monosit pada ikan nila tersebut masih berada pada kisaran normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hardi (2011) tentang persentase monosit ikan nila normal yang berkisar antara 3,9 –5,9. Berdasarkan hasil pengamatan persentase monosit tersebut dapat diasumsikan bahwa benih ikan nila yang akan diberikan perlakuan dan digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini berada dalam kondisi yang sama dan dalam keadaan normal.

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai rata-rata persentase monosit benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan. Persentase monosit benih ikan nila pada hari ke-0 pemeliharaan hingga hari ke-14 pemeliharaan mengalami penurunan pada perlakuan P1 (Kontrol), P2 (PRE 4% PRO 4%), P4 (PRE 4% PRO 6%), P6 (PRE 6% PRO 6%) dan P7 (PRE 6% PRO 8%), sedangkan pada perlakuan P3 (PRE 4% PRO 6%) dan P5 (PRE 6% PRO 4%) tetap stabil. Penurunan nilai rata-rata persentase monosit pada perlakuan-perlakuan tersebut tidak signifikan dan masih berada dalam kisaran normal untuk persentase monosit pada ikan nila yaitu berkisar antara 3,9–5,9% (Hardi, 2011).

Sedangkan untuk hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik juga tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase monosit pada benih ikan nila pada hari ke-21 pasca uji tantang. Persentase monosit pada hari ke-21 pasca uji tantang mengalami penurunan pada semua perlakuan kecuali pada perlakuan P5 (PRE 6% PRO 4%) yang mengalami kenaikan sebesar 0,34%.

Penurunan nilai persentase monosit yang terjadi pada perlakuan P4 (PRE 4% PRO 8%) dan P5 (PRE 6% PRO 4%) masih berada dalam kisaran normal rata-rata persentase monosit pada ikan nila yaitu berkisar antara 3,9-5,9% dari jumlah total sel darah putih (Hardi, 2011). Sedangkan penurunan nilai persentase neutrofil yang terjadi pada perlakuan P1 (Kontrol), P2 (PRE 4% PRO 4%), P3 (PRE 4% PRO 6%), P6 (PRE 6% PRO 6%) dan P7 (PRE 6% PRO 8%) berada dibawah kisaran normal rata-rata persentase monosit pada ikan nila.

Monosit merupakan salah satu jenis sel leukosit fagosit yang kuat dan berumur pendek. Monosit berfungsi untuk melawan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme seluler seperti bakteri dan virus dengan cara memfagosit zat-zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan. Berdasarkan informasi tersebut dapat diasumsikan bahwa jumlah sel monosit dalam darah ikan pada hari ke-21 pasca uji tantang yang berfluktuatif dan cenderung rendah dikarenakan sel neutrofil tergolong kedalam jenis sel yang berumur pendek dan akan mati setelah memfagosit zat-zat asing yang masuk kedalam tubuh ikan.

1. **Limfosit**

Persentase limfosit pada benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 6:

Tabel 6. Nilai rata-rata persentase limfosit benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Persentase limfosit hari ke\* (%) |
| 0 | 14 | 21 |
| P1 (KONTROL)  | 81,67 ± 0,58 | 82,33 ± 1,16 | 82,00 ± 2,00 a |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 79,00 ± 1,00 | 80,67 ± 1,16 | 87,33 ± 1,16 b |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 80,33 ± 0,58 | 80,33 ± 1,16 | 86,67 ± 1,53 b |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 79,33 ± 0,58 | 80,67 ± 0,58 | 85,00 ± 1,00 b |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 82,00 ± 1,00 | 81,33 ± 0,58 | 84,67 ± 0,58 b |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 81,67 ± 0,58 | 82,67 ± 0,58 | 87,33 ± 1,16 b |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 80,33 ± 1,16 | 80,33 ± 0,58 | 86,67 ± 0,58 b |
| Persentase limfosit ikan nila normal \*\* | 68 – 86 |

Keterangan: \* Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0,05).

 \*\* Menurut Hardi (2011)

Hasil pengamatan nilai rata-rata persentase limfosit benih ikan nila pada hari ke-0 menunjukan kisaran nilai antara 79-82%. Nilai hasil rata-rata persentase limfosit ikan nila pada seluruh perlakuan tersebut masih berada pada kisaran normal, hal ini sesuai dengan pendapat Hardi (2011) tentang persentase limfosit ikan nila normal yang berkisar antara 68 –86%. Berdasarkan hasil pengamatan persentase limfosit pada seluruh perlakuan tersebut dapat diasumsikan bahwa benih ikan nila yang akan diberikan perlakuan dan digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian ini berada dalam kondisi yang sama dan dalam keadaan normal.

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bah-wa pemberian kombinasi prebiotik dan probiotik tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap nilai rata-rata persentase limfosit benih ikan nila pada hari ke-14 pemeliharaan. Persentase limfosit benih ikan nila pada hari ke-0 pemeliharaan hingga hari ke-14 pemeliharaan mengalami kenaikan pada perlakuan P1, P2, P4 dan P6, sedangkan pada perlakuan P5 terjadi penurunan dan stabil pada perlakuan P3 dan P7. Kenaikan dan penurunan pada perlakuan-perlakuan tersebut tidak signifikan dan masih berada dalam kisaran normal untuk persentase limfosit pada ikan nila yang berkisar antara 68–86% (Hardi, 2011).

Sedangkan untuk hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase limfosit pada benih ikan nila dibandingkan dengan perlakuan P1 (Kontrol) pada hari ke-21 pasca uji tantang dengan nilai persentase limfosit berkisar antara 82,00-87,33%. Nilai persentase limfosit normal pada hari ke-21 ada pada perlakuan P1 (Kontrol), P4 (PRE 4% PRO 8%) dan P5 (PRE 6% PRO 4%), karena kisaran normal nilai persentase limfosit ikan nila yaitu berkisar antara 68-86 (Hardi, 2011). Sedangkan pada perlakuan P2, P3, P6 dan P7 pasca uji tantang terjadi kenaikan persentase nilai limfosit menjadi 86,67-87,33. Persentase nilai limfosit tersebut berada diatas kisaran normal untuk nilai limfosit pada ikan nila. Berdasarkan hasil pengamatan nilai persentase limfosit pada hari ke-21 diketahui bahwa perlakuan yang diberi penambahan kimbinasi sinbiotik menunjukkan nilai kadar limfosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Limfosit merupakan salah satu jenis sel leukosit yang tidak bersifat fagositik tetapi berperan di dalam pembentukan antibodi.

* 1. ***Survival Rate* (SR)**

Tingkat kelangsungan hidup ditentukan setelah dilakukannya uji tantang pada ikan nila. Hasil analisis kelangsungan hidup ditampilkan pada Tabel 7:

Tabel 7. Nilai rata-rata persentase kelangsungan hidup benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Nilai *Survival Rate* (SR) \* (%) |
| P1 (KONTROL) | 46,29 ± 3,21a |
| P2 (PRE 4 PRO 4) | 56,02 ± 6,26 ab |
| P3 (PRE 4 PRO 6) | 61,58 ± 5,61 ab |
| P4 (PRE 4 PRO 8) | 67,22 ± 7,52 b |
| P5 (PRE 6 PRO 4) | 57,50 ± 6,61 ab  |
| P6 (PRE 6 PRO 6) | 56,03 ± 6,26 ab |
| P7 (PRE 6 PRO 8) | 50,00 ± 5,60 ab |

Keterangan: \* Huruf *superscript* yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang berbeda nyata (P<0,05).

Berdasarkan hasil uji statistik pada tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa pemberian kombinasi probiotik dan prebiotik memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap tingkat kelangsungan hidup benih ikan nila setelah dilakukan uji tantang, ditandai dengan adanya interaksi antar tiap perlakuan yang tidak terlalu signifikan. Persentase kelangsungan hidup benih ikan nila setelah dilakukan uji tantang berada pada kisaran 46,29%-67,22%. Persentase tingkat kelulushidupan terendah setelah dilakukan uji tantang ada pada perlakuan P1 (Kontrol), sedangkan persentase tingkat kelulus-hidupan tertinggi setelah dilakukan uji tantang ada pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8). Berdasarkan data tersebut dapat diketahui bahwa tingkat kelulushidupan benih ikan nila yang diberikan perlakuan penambahan sinbiotik lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan sinbiotik (kontrol). Hal tersebut sesuai dengan penyataan Wijayanti (2017) bahwa tingkat kelulushidupan perlakuan yang diberi pakan sinbiotik lebih tinggi dari pada tingkat kelulus-hidupan perlakuan kontrol.

* 1. ***Relative Percent Survival* (RPS)**

Nilai *Relative Percent Survival* pada benih ikan nila ditampilkan pada Tabel 8:

Tabel 8. Nilai *Relative Percent Survival* (RPS) benih ikan nila.

|  |  |
| --- | --- |
| Perlakuan | Nilai *Relative Percent Survival* (RPS) (%) |
| P2 (PRE 4 PRO 4) |  23,76 ± 10,85 |
| P3 (PRE 4 PRO 6) |  33,39 ± 9,72 |
| P4 (PRE 4 PRO 8) |  43,18 ± 13,02 |
| P5 (PRE 6 PRO 4) |  26,33 ± 11,46 |
| P6 (PRE 6 PRO 6) |  23,76 ± 10,85 |
| P7 (PRE 6 PRO 8) |  13,30 ± 9,67 |

*Relative Percent Survival* (RPS) adalah tingkat perlindungan relatif yang diguna-kan untuk melihat efektivitas penggunaan sinbiotik pada ikan nila yang diinfeksi dengan bakteri *Streptococcus agalactiae*. Nilai RPS didapatkan dari perhitungan nilai proporsi mortalitas benih ikan nila yang diberikan penambahan sinbiotik dengan ikan kontrol selama periode uji tantang. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut didapatkan nilai RPS pada perlakuan-perlakuan tersebut berkisar antara

13,30%-43,18%. Nilai RPS terendah ada pada perlakuan P7 (PRE 6 PRO 8) sebesar 13,30% dan nilai RPS tertinggi ada pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8) sebesar 43,18%.

Berdasarkan standar yang ditetapkan oleh Kementrian Kelautan Perikanan (KKP) suatu vaksin dapat dikatakan efektif jika nilai RPS yang dihasilkan ≥ 50% (Direktorat Jendral Perikanan Budidaya, 2013). Nilai RPS pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8) sebesar 43,18% merupakan nilai RPS tertinggi dan hampir men-dekati nilai 50% dibandingkan dengan nilai-nilai RPS pada perlakuan lain. Berda-sarkan nilai tersebut dapat diketahui bahwa penambahan dosis sinbiotik pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8) paling efektif jika dibandingkan dengan perlakuan-perlakuan lain. Hal ini ditandai dengan nilai RPS dan SR yang berbanding lurus pada perlakuan P4 (PRE 4 PRO 8), semakin efektif penambahan sinbiotik yang dilakukan maka semakin tinggi nilai SR yang didapatkan pada ikan uji.

**G. Analisis kualitas air**

Pengukuran kualitas air pada media dilakukan sebanyak 3 kali pada awal, perte-ngahan dan akhir pemeliharaan. Paramater kualitas air yang diukur meliputi pH, DO dan suhu.

Tabel 9. Kualitas air media pemeliharaan benih ikan nila

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No. | Parameter | Hari pengamatan | Nilai optimum |
| Sebelum pengujian | Saat pemeliharaan | Setelah uji tantang |
| 1 | pH | 7 | 7 | 7 | 6,5 – 8,5\* |
| 2 | DO (mg/l) | 5 | 6 | 7 | ≥ 3\* |
| 3 | Suhu (oC) | 28 | 27 | 28 | 25 – 32\* |

Sumber:\* BSN (Badan Standarisasi Nasional), (2009)

Pengukuran kualitas air dilakukan sebanyak tiga kali selama masa penelitian yaitu pada awal, pertengahan dan akhir penelitian. Selama kurun waktu tersebut dila-kukan penyiponan, pergantian air dan penambahan aerasi pada media pemeli-haraan untuk menjaga nilai DO, pH dan suhu agar tetap dalam kondisi optimal sehingga nilai kualitas air tidak akan mempengaruhi hasil pengamatan ikan uji untuk parameter lainnya.

Hasil pengukuran kualitas air pada media pemeliharaan yang meliputi pengukuran DO, pH dan suhu selama penelitian berada pada kisaran normal. Hasil pengu-kuran tersebut sesuai dengan ketetapan BSN (2009) tentang kisaran nilai yang baik untuk mendukung kehidupan ikan nila, yaitu untuk kadar oksigen terlarut >3 mg/l, pH 6,5-8,5 dan suhu 25-32oC. Berdasarkan hasil tersebut dapat diasumsikan bahwa kualitas air pada media pemeliharaan selama penelitian berada pada kisa-ran optimal dan tidak mempengaruhi nilai hasil pengukuran yang dilakukan terha-dap parameter lainnya.

**KESIMPULAN**

Hewan uji pada perlakuan P4 (PRE 4% PRO 8%) memiliki nilai SR tertinggi dengan tingkat perlindungan relatif yang paling efektif dibandingkan dengan hewan uji pada perlakuan kontrol dan perlakuan lainnya.

**DAFTAR PUSTAKA**

Aji, M. B. 2014. Aktivitas Senyawa Antimikroba dari Bakteri Biokontrol D2.2 terhadap Bakteri pada Udang dan Ikan secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

Anderson D. P. 1974. Fish immunology. Hongkong: TFH Publication Ltd. Pp 182.

Anderson, D.P & Siwick A. 2017. Basic hematology and serology for fish health programs. *Second Symposium on Decease in Asia Aquaculture “Aquatic Animal Health and Environment”.* Asia Fisheries Society.96 hlm.

Boyd, C. E. 2004. *Farm Level Issues in Aquaculture Certification*: Tilapia. WWF-US. Auburn, Alabama.

BSN. 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. SNI 7550:2009.Jakarta. Diakses dari: [www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id). Diakses: 28 September 2018.

Cerezuela, R., Meseguer, J., & Esteban, M. A. 2011. Current Knowledge in Synbiotic Use for Fish Aquaculture: *A Review. J Aquac Res Development* S1:008.doi:10.4172/2155-9546.S1- 008.

Costa, R. A., Araújo, R. L., Souza, O. V., & dos Fernandes Vieira, R. H. S. 2015. Antibiotic-Resistant Vibrios in Farmed Shrimp, *BioMed Research International, 2015*, Article ID 505914, 5 pages. doi:10.1155/2015/505914.

Dellman, H.D & Brown, E.M. 1989. *Buku Teks Histologi Veteriner.* Jakarta:Universitas Indonesia. 279 hlm.

Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. 2013. Pengujian mutu obat ikan golongan biologik dalam metode pengujian mutu dan obat ikan untuk mendapatkan nomor registrasi dari Kementrian Kelautan dan Perikanan. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya (tidak dipublikasikan).

Effendie, M. I. 1979. *Metode Biologi Perikanan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Filho, C.I., Muller, E.E., Giardano, L.G.P., & Bracarense, A.P.F.R.L. 2009. Histological Findings of Experimental *Streptococcus agalactiae* Infection in Nile Tilapias *(Oreochromis niloticus).* Braz J Vet Pathol, 2009, 2 (1), 12-15

Guyton A. C & Hall J. E. 2014. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran.*Edisi 12Jakarta:EGC. P. 1172 hlm.

Handari, S. & Suntoro. 1983*. Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhatara Karya Aksara.

Hardi E. H., Sukenda., Haris E., & Lusiastuti AM. 2011. Karakteristik dan Patogenisitas *Streptococcus agalactiae* tipe â-hemolitik dan non-hemolitik pada ikan nila. *Jurnal* *Veteriner* 12(2) : 152-164.

Hardiyani, S., Harpeni, E., Setyawan, A., & Supono, S. 2016. Pathogenicity and In Vivo Study of Local Isolate Bacillus sp. D2. 2 at The Vannamei Culture *(Litopenaeus vannamei)*. *Jurnal Aquasains*, *5*(1), 441-446.

Harpeni, E., Setyawan, A., Santoso, L., & Arifin, Z. 2016. Efektivitas ekstrak tepung ubi jalar sebagai media teknis bakteri probiotik. *In Proceeding Seminar Nasional MIPA* (Vol. 2016, pp. 127-130).

Hartika, R, Mustahal & Putra A. N. 2014. Gambaran darah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan penambahan dosis prebiotic yang berbeda dalam pakan. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 4 (4): Hal 259-240.

Haryati, T., & Supriyati. 2010. Pemanfaatan Senyawa Oligosakarida dari Bungkil Kedelai dan Ubi Jalar pada Ransum Ayam Pedaging*. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, *15* , 253 − 260.

Isnansetyo, A. 2005. Bakteri Antagonis sebagai Probiotik untuk Pengendalian Hayati pada Aquakultur*.* *Jurnal Perikanan*, 7(1) : 1-10.

Jawad, L.A, Al Mukhtar, M.A, & Ahmed, H.K. 2004. The relationship between hematokrit and some biological parameters of the indian shad, *Temalosa ilisha*. *Animal Biodiversity and Concersation Journal,* 27:47-52.

Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2013. Statistik Menakar Target Ikan Air Tawar Tahun 2013. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Jakarta. Diakses dari www.djpb.kkp.go.id (2 Juni 2018).

Kottelat, M, Whitten, A.J, Kartikasari, S.N, & Wirjoatmojo, S. 1993. *Freshwater Fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Hong Kong: Periplus Editions.344 hlm.

Kuswardhani, R.A.T. 2006. Penatalaksanaan hipertensi pada lanjut usia. *Jurnal Penyakit Dalam*, 7(2): 135-140.

Lagler KF., Bardach JE., RR Miller., & Passino DRM. 1977. *Ichthyology*, John Willey.

Le, X. T., Munekage, Y., & Kato, S. 2005. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas. *Science*

Lesmawati, W. Widanarni., Sukenda., & Purbiantoro, W. 2013. Potensi Ekstrak Oliosakarida Ubi Jalar Sebagai Prebiotik bakteri probiotik akuakultur. *Jurnal Sains Terapan*, 3, 1-25.

Mariska, D. C. 2013. Penapisan Kandidat Bakteri Biokontrol dari Perairan Tambak Udang Tradisional terhadap Bakteri Vibrio harveyi. *Skripsi.* Universitas Lampung. Lampung.

Marlis, A. 2008. Isolasi oligosakarida ubi jalar (*Ipomoea batatas* L) dan pengaruh pengolahan terhadap potensi prebiotiknya [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Mudjiman, A. 2001*. Makanan Ikan Cetakan IX*. Jakarta: Penebar Swadaya. 190 hlm.

Moyle, P.B & Jr.J.Cech. 2004. *Fishes: An Introduction to Ichthiology*. Parentice Hall, USA, 597 hlm.

Saanin, M. 1984. *Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan*. Bandung: Binacipta. 256 hal.

Santoso. B. 1996. *Budidaya Ikan Nila*. Yogyakarta: Kanisius.

Septiani, D. R. 2016. Uji Kinetika dan Aktivitas Antibakteri dari Bakteri Biokontrol D2.2 pada Salinitas dan pH yang Berbeda. *Skripsi.* Universitas Lampung. Lampung.

Sheehan B., Lauke L., Lee YS., Lim WK., Wong F., Chan J., Komar C., Wendover N., & Grisez L*.* 2009. Streptococcal diseases in farmed tilapia. *Aquaculture Asia Pacific* 5 : 6.

Suardana, I.W., & I.B.N Swacita. 2009. Higiene Makanan. Kajian Teori dan Prinsip Dasar. *Udayana University Press*. ISBN 978-979-8286-76-6.

Sugiarto. 1988. *Tekhnik Pembenihan Ikan Mujair dan Nila*. Bogor: CV. Simplex. 74 hal

Sukenda, Nuryati, S., Sari, I.R. (2015). Pemberian Meniran *Phyllanthus neruri* untuk Pencegahan Infeksi IMNV (Infectious Myonecrosis Virus) pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)*. Jurnal Akuakultur Indonesia*, *10*, 192-202.

Svobodova, Z., & B. Vyukusova. 1991. Diagnostic, Prevention and Therapy of Fish Disease and Intoxication. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany Czechoslovakia. Czechoslovakia.

Tendencia, E. A., & de la Pena, L. D. 2001. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture, 195*(3-4): 193–204.

Trewavas, E. 1983. Tilapias: Taxonomi and Speciation. *British Mus. Nat. Hist*., London, UK. Hal 583.

Triyanto. 1990. Patogenisitas beberapa isolat Aeromonas hydrophila terhadap ikan lele (Clarias batrachus L.). Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang 16-18 Januari. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta:116-121.

Wedemeyer, G.A, & Yasutake, W.T. 1997. Clinical methods for assesment of the effect of environmental stress on fish health. *Thechnical papers of the U.S Fish and Wildlife Service, Fish and Wildlife Service* 89:1-17.

Widanarni., Wira, H., Saputra., & Dinamella Wahjuningrum. 2011. Pengaruh penambahan molase terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu Penaeus monodon Fab. yang diberi bakteri probiotik Vibrio SKT-b. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor*. Jurnal Akuakultur Indonesia* 10 (2), 106‒11

Wijayanti, A., Harpeni, E., & Wardiyanto. 2017. Efektivitas Pemberian Bakteri Probiotik *Bacillus* Sp. D2.2 Dan Ekstrak Ubi Jalar Sebagai Sinbiotik Terhadap Serangan Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Vaname *(Litopenaeus vannamei)*. *Skripsi.* Universitas Lampung. Lampung.

Yanong RPE & R Francis-Floyd. 2002. Streptococcal Infections of Fish. Circular FA-57. University of Florida IFAS Cooperative Extension Service.