Jenis Artikel : Full Paper

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL PROBIOTIK DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP TINGKAT IMUNITAS IKAN KERAPU**

**MACAN *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

**The Effect of Probiotic Microcapsul Using Different Dosage on The Immunity of Tiger Grouper Fish *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

**Rafif Muammar Ghani1, Wardiyanto1 dan Esti Harpeni2**

1Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro, No. 1, Bandar Lampung, 35145, Indonesia

2Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro, No. 1, Bandar Lampung, 35145, Indonesia

[rafif.muammar1511@students.unila.ac.id](mailto:rafif.muammar1511@students.unila.ac.id)

**Abstrak**

Vibriosis dapat menyerang ikan disebabkan oleh sistem imunitas ikan kerapu macan yang rendah. Sistem imunitas ikan dapat ditingkatkan dengan cara pemberian probiotik ke dalam tubuh. Namun, probiotik yang diberikan kepada ikan umumnya tidak tercerna sepenuhnya ke dalam tubuh secara utuh dikarenakan adanya pengaruh lingkungan yang mampu merusak struktur sel probiotik. Dalam menanggulangi hal tersebut, dibutuhkan suatu teknik yang bernama mikrokapsul. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pemberian mikrokapsul probiotik, probiotik yang digunakan adalah *Bacillus sp. D2.2* dan menentukan dosis yang tepat terhadap tingkat imunitas ikan kerapu macan yang di infeksi bakteri V. *alginolyticus*. Penelitian ini dilakukan secara Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Parameter yang diamati meliputi uji viabilitas bakteri, total eritrosit, total leukosit, differensial leukosit, dan titer antibodi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa parameter respon imun ikan kerapu macan meningkat secara signifikan pada perlakuan pemberian mikrokapsul.

Kata kunci : Total Leukosit, *Bacillus* sp. D2.2, *Vibrio alginolyticus*, Viabilitas

**Abstract**

Vibriosis infected tiger grouper fish while the immunity system relatively low. The fish immune system can be improved by additioning probiotics into the fish body. However, probiotics that given to fish are not fully digested into the digestive tract as a whole due to environmental influences that can damage the structure of probiotic cells. In overcoming this, we need a technique called microcapsules. This study aims to determine the effect of probiotic microcapsules, this study use *Bacillus sp. D2.2*, to the immunity level of tiger grouper that infected with *V. alginolyticus*. This research was conducted in a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and 3 replications. The parameters observed included bacterial viability test, total erythrocytes, total leukocytes, differential leukocytes, and antibody titer. The results showed that the immunity response of tiger grouper fish increased significantly after probiotic microcapsules were given.

Keywords : Total Leukocytes, *Bacillus* sp. D2.2, *Vibrio alginolyticus*, Viability

**PENDAHULUAN**

Dalam budidaya ikan kerapu macan yaitu sering ditemukan adanya penyakit. Penyebab penyakit pada ikan terjadi karena infeksi virus, bakteri, parasit, dan jamur. Pengendalian penyakit yang umum dilakukan yaitu dengan pemberian antibiotik. Namun menurut Syawal *et al.* (2008), penggunaan antibiotik secara terus menerus dapat menimbulkan efek samping terhadap lingkungan dan bakteri resisten terhadap antibiotik yang digunakan. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan kerapu macan adalah penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri jenis *Vibrio alginolyticus*. Penyebab ikan terserang penyakit Vibriosis adalah sistem imunitas ikan kerapu macan yang relatif rendah.

Probiotik yang diberikan kepada ikan umumnya tidak tercerna sepenuhnya ke dalam tubuh secara utuh dikarenakan adanya pengaruh lingkungan yang mampu merusak struktur sel probiotik sehingga dapat menurunkan viabilitas sel probiotik (Triana *et al.*, 2006). Dalam menanggulangi penurunan viabilitas sel probiotik, dibutuhkan suatu teknik yang bernama mikrokapsul. Penggunaan mikrokapsul pada probiotik dapat melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan seperti panas dan bahan kimia. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian mengenai pemberian mikrokapsul probiotik pada pakan untuk meningkatkan imunitas ikan kerapu macan yang diinfeksikan bakteri *V. alginolyticus*.

**METODOLOGI**

**Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2019 di Laboratorium Budidaya Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung serta Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung.

**Materi Penelitian**

Labu erlenmeyer, Cawan petri, *Shaker*, Autoklaf, *Centrifuge*, Isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2, Media SWC Agar, Media SWC Broth, Rifampisin, PBS steril, *Freeze dryer*, *Sprayer*, Maltodekstrin, Susu skim, Pakan komersial, Bak kontainer, Timbangan digital, Ikan Kerapu Macan, *Micropipete*, Isolat bakteri *V. alginolyticus*, Air laut steril.

**Rancangan Penelitian**

Pakan perlakuan diberikan selama 30 hari dan disampling pada hari ke-0 (sebelum pemberian perlakuan), hari ke-30 (sebelum uji tantang), dan hari ke-37 (pada akhir uji tantang). Penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kali ulangan yaitu :

K+ : Pemberian pakan dengan probiotik tanpa mikrokapsul

K- : Pemberian pakan tanpa penambahan mikrokapsul probiotik

A : Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 1g/kg pakan

B : Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 2g/kg pakan

C : Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 3g/kg pakan

**Prosedur Kerja**

Persiapan awal yaitu memproduksi massal bakteri *Bacillus* sp. D2.2 hingga kepadatan 108 CFU ml-1. Produksi massal dilakukan menggunakan media SWC Agar yang telah ditambahkan rifampisin sebanyak 50 μg ml-1 sebagai penanda resistensi. Kemudian bakteri yang telah dipanen dicampur dengan bahan penyalut dengan perbandingan komposisi antar probiotik, susu skim, dan maltodekstrin yaitu sebesar 70%:10%:20% dari besaran dosis yang dipakai. Lalu, bahan tersebut dimasukkan kedalam *freeze dryer* selama 36 jam hingga menjadi bubuk.

Wadah yang digunakan pada penelitian ini adalah bak kontainer ukuran 60x40x40 cm yang diisi air laut sebanyak 50 liter dan ikan kerapu macan berjumlah 20 ekor/bak dengan bobot awal ±40gr. Pemberian pakan perlakuan dilakukan selama 30 hari kemudian dilanjutkan uji tantang selama 7 hari.

**Analisis Data**

Data yang diperoleh diolah secara deskriptif dan statistik. Data yang diolah secara statistik diuji menggunakan Repeated Measure ANOVA dan One Way ANOVA serta uji lanjut dengan uji Duncan pada data total eritrosit, total leukosit, differensial leukosit, sintasan, dan RPS. Sedangkan data yang diolah secara deskriptif adalah data viabilitas sel bakteri, gejala klinis, dan titer antibodi.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Uji Viabilitas Bakteri**

Pada hasil uji viabilitas bakteri hari ke-0 kepadatan bakteri Bacillus sp. D2.2 berjumlah 9,7 x 108 CFU ml-1, kemudian sesudah masuk ke dalam tubuh ikan kepadatan bakteri menjadi 1,2 x108 CFU ml-1 untuk perlakuan mikrokapsul dan 9,4 x106 CFU ml-1 untuk perlakuan yang tidak dimikrokapsul (Firanti, 2019)

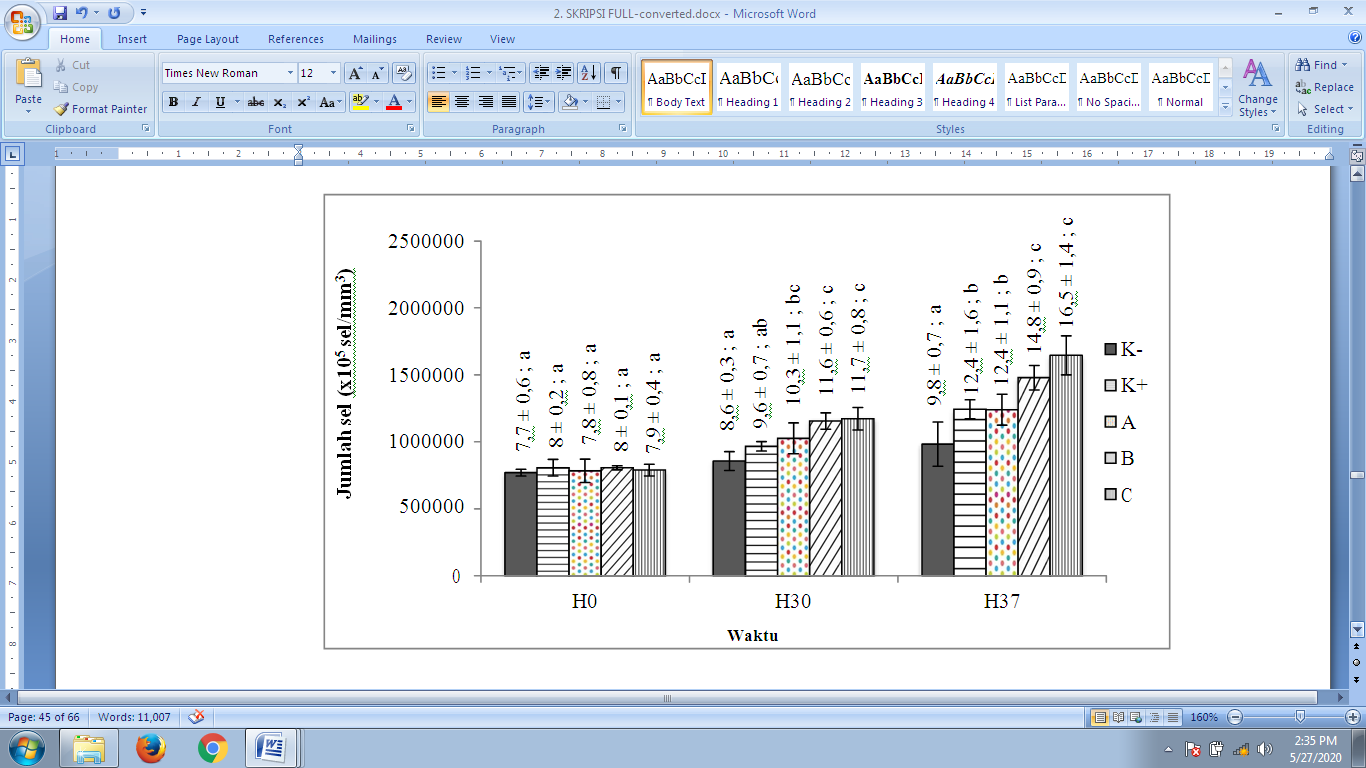
Tabel 1. Jumlah viabilitas bakteri setelah masuk ke dalam tubuh ikan (CFU ml-1)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Perlakuan | Viabilitas Awal | Viabilitas di Dalam Usus |
| Mikrokapsul | 9,7x108 | 1,2x108 |
| Tanpa Mikrokapsul | 9,4x106 |

Pada hasil penelitian dapat dilihat bahwa kepadatan bakteri yang disalut mikrokapsul setelah masuk ke dalam tubuh ikan lebih tinggi dibandingkan yang tidak dimikrokapsul. Hal tersebut disebabkan karena probiotik Bacillus sp. D2.2 diberikan bahan penyalut yang mampu melindungi probiotik terhadap kondisi lingkungan dan pencernaan ikan kerapu macan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sumanti (2016), bahwa mikrokapsul yang diberikan kepada bakteri dapat melindungi sel bakteri dari pengaruh lingkungan yang dapat menurunkan viabilitas sel bakteri seperti suhu dan bahan kimia.

**Total Eritrosit**

Pengamatan total eritrosit dilakukan untuk mengetahui respon sel-sel eritrosit terhadap adanya antigen. Pada penelitian ini, total eritrosit ikan kerapu macan mengalami peningkatan pada setiap pengamatan yang telah dilakukan.

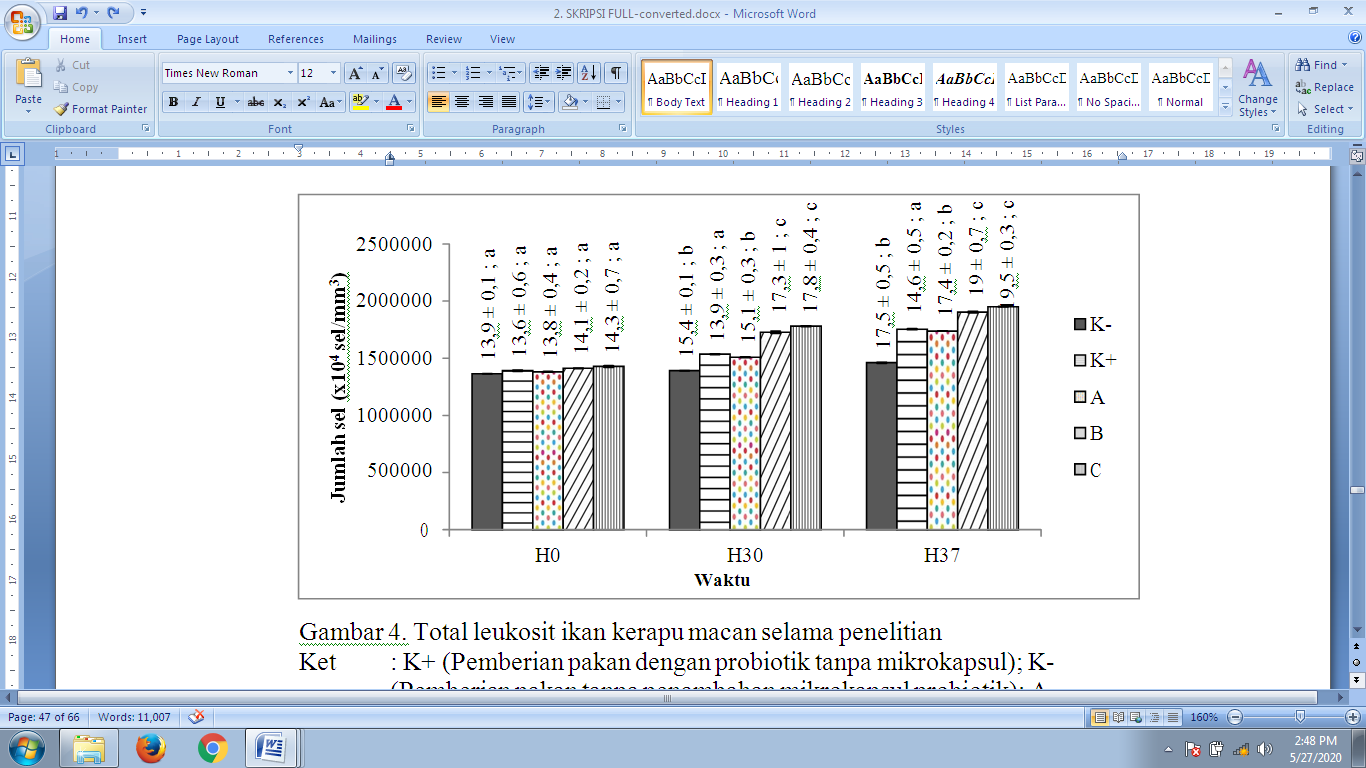


Gambar 1. Total eritrosit ikan kerapu macan selama penelitian (Keterangan : K+ (Pemberian pakan dengan probiotik tanpa mikrokapsul); K- (Pemberian pakan tanpa penambahan mikrokapsul probiotik); A (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 1g/kg pakan); B (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 2g/kg pakan); C (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 3g/kg pakan)).

Meningkatnya jumlah eritrosit dalam darah disebabkan karena ikan dalam keadaan terinfeksi bakteri patogen pada saat proses uji tantang. Menurut Jiang *et al* (2007), ketika sel eritrosit mengalami proses lisis oleh patogen maka hemoglobin di dalam eritrosit akan melepaskan radikal bebas yang akan menghancurkan dinding dan membran sel patogen, serta membunuhnya.

**Total Leukosit**

Total leukosit ikan kerapu macan mengalami peningkatan setiap waktu pengamatan yang telah dilakukan.

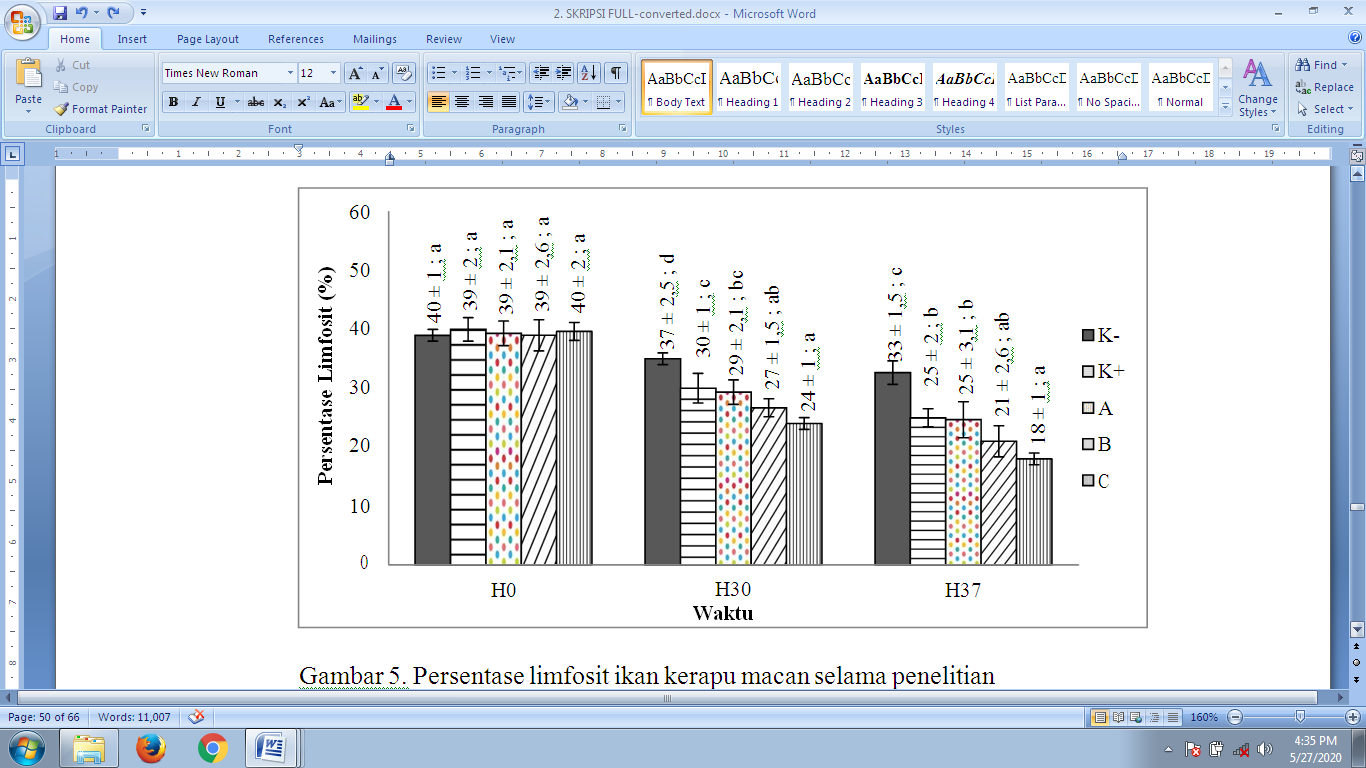


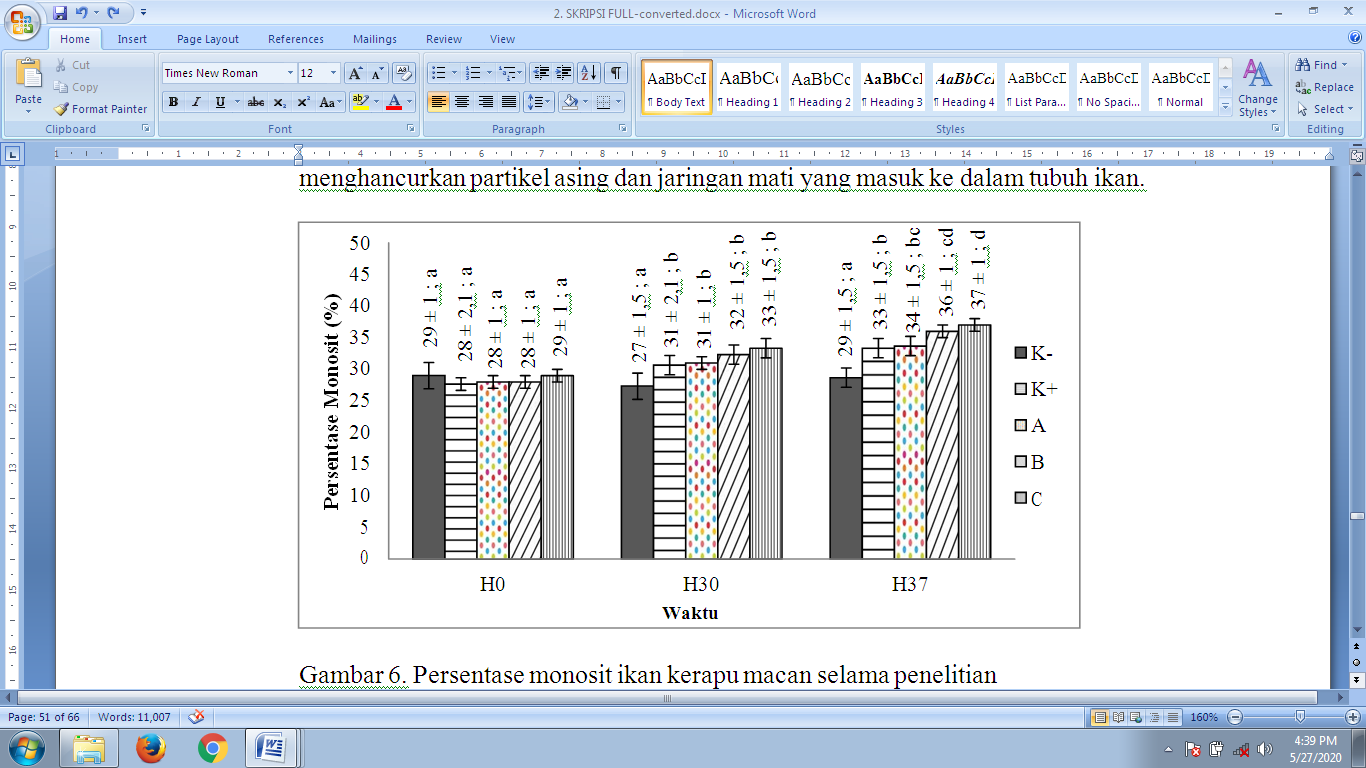
Gambar 2. Total leukosit ikan kerapu macan selama penelitian (Keterangan : K+ (Pemberian pakan dengan probiotik tanpa mikrokapsul); K- (Pemberian pakan tanpa penambahan mikrokapsul probiotik); A (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 1g/kg pakan); B (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 2g/kg pakan); C (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 3g/kg pakan)).

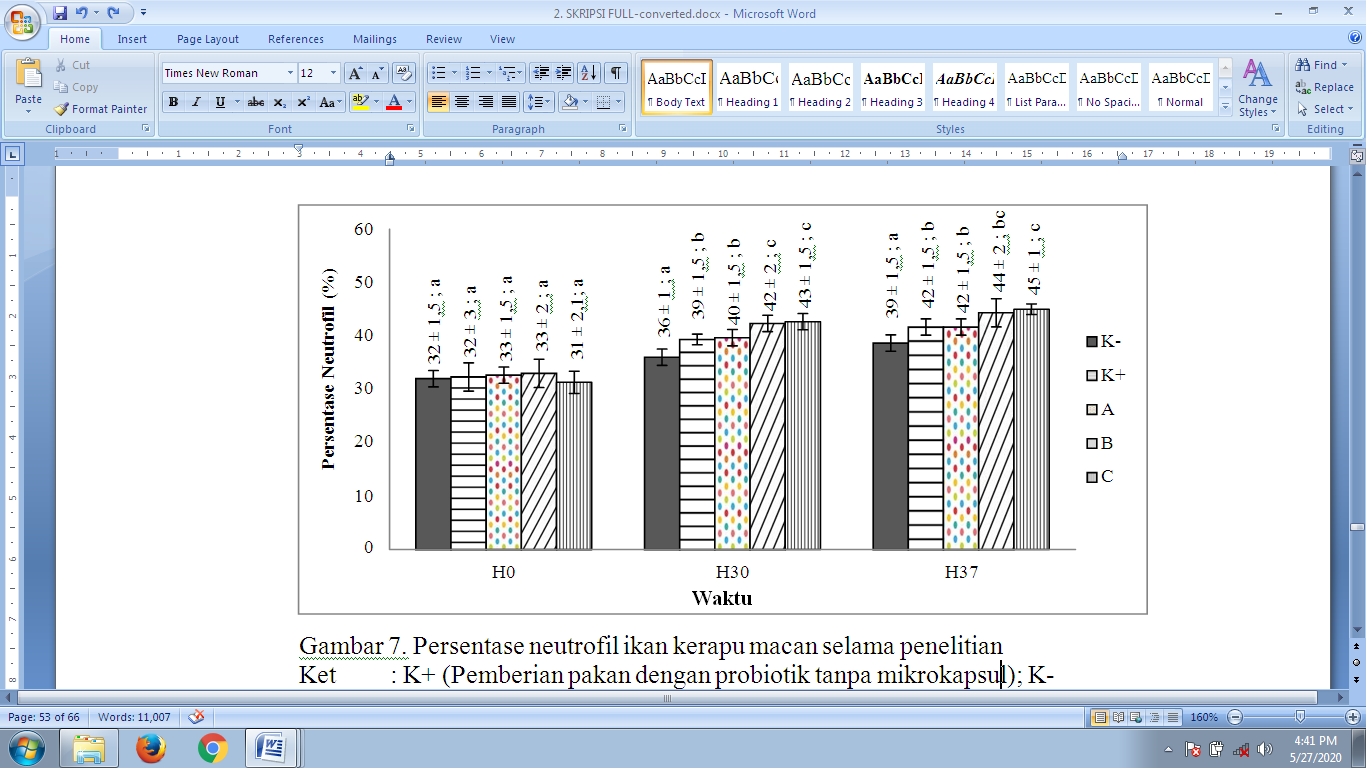
Jumlah leukosit mengalami peningkatan pasca dilakukan uji tantang. Hal ini disebabkan karena leukosit merupakan salah satu agen penghasil antibodi terbesar dalam tubuh. Sehingga ketika antigen masuk ke dalam tubuh maka sistem antibodi akan bekerja dengan cepat sebagai fagosit. Seperti yang dinyatakan oleh Sakai et al,. (1995) peningkatan jumlah leukosit dapat terjadi sebagai akibat infeksi bakteri sehingga ikan mengirimkan leukosit dalam jumlah yang lebih banyak ke area infeksi sebagai upaya pertahanan tubuh terhadap serangan bakteri.

**Differensial Leukosit**

Differensial leukosit dilakukan pengamatan pada hari ke-0, hari ke-21, dan hari setelah uji tantang. Sel yang diamati adalah sel limfosit, monosit dan neutrofil. Sel limfosit terlihat terjadi penurunan pada setiap pengamatan.







Gambar 3. Persentase limfosit, monosit, dan neutrofil ikan kerapu macan selama penelitian (Keterangan : K+ (Pemberian pakan dengan probiotik tanpa mikrokapsul); K- (Pemberian pakan tanpa penambahan mikrokapsul probiotik); A (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 1g/kg pakan); B (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 2g/kg pakan); C (Pemberian pakan dengan mikrokapsul probiotik dosis 3g/kg pakan)

Persentase limfosit dalam darah mengalami penurunan setelah ikan diuji tantang. Hal ini dikarenakan setelah diinfeksi patogen, sel limfosit memproduksi antibodi dalam jumlah banyak sehingga tubuh ikan mengalami penuru- nan persentase limfosit. Pernyataan tersebut sesuai dengan penjelasan Iwama (1996), ketika patogen menginfeksi tubuh ikan, makrofag akan memfagosit antigen dan mengirimkan sinyal kepada jaringan limfosit agar membentuk antibodi. Antibodi yang terbentuk akan menurunkan toksisitas racun dan melemahkan patogen agar tidak menyebar sehingga sel fagosit akan lebih mudah menyerang patogen tersebut.

Persentase monosit semua perlakuan mengalami peningkatan. Peningkatan tersebut disebabkan ketika uji tantang berlangsung, monosit akan memperbanyak jumlah untuk memfagosit antigen yang masuk ke dalam tubuh. Peran monosit sangat penting sebagai sel fagosit utama dalam meng- hancurkan berbagai patogen yang menyerang dan berperan pula sebagai Antigen Presenting Cells (APC) yang berfungsi untuk menyajikan antigen dan mengirim- kan sinyal kepada sel limfosit untuk memproduksi antibodi (Kresno, 2001).

Jumlah neutrofil mengalami peningkatan pada setiap waktu pengamatan. Hal ini dikarenakan neutrofil hanya meningkat ketika terjadi infeksi akibat patogen atau partikel asing yang masuk ke dalam tubuh ikan. Neutrofil bergerak sampai ke daerah infeksi dalam kurun waktu 2-4 jam, tetapi beberapa jam kemudian (7-8 jam) sel yang mendomi- nasi adalah monosit.

**Titer Antibodi**

Respon imun yang terbentuk pada titer antibodi merupakan respon imun spesifik terhadap bakteri V. alginolyticus pada saat uji tantang. Hasil pengamatan titer antibodi pada masing-masing perlakuan yang diuji tantang menunjukkan hasil positif atau terjadi aglutinasi

Tabel 3. Tabel titer antibodi ikan kerapu macan selama penelitian

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  | Pengenceran | | |  |  |  |  |
| Perlakuan | 100 | 101 | 102 | 103 | 104 | 105 | 106 | 107 | 108 | 109 | 1010 |
| K+ | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - |
| K- | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| A | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - |
| B | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| C | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |

Keterangan : + = Terjadi aglutinasi

- = Tidak terjadi aglutinasi.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian Bacillus sp. D2.2 dapat meningkatkan titer antibodi pada serum darah ikan. Pada perlakuan kontrol masih ditemukan titer antibodi namun jumlahnya sedikit. Ini mengindikasikan bahwa sebenarnya secara alami ikan kerapu macan sudah mempunyai sistem kekebalan tubuh. Sesuai dengan pernyataan Hastuti (2011), bahwa pemberian probiotik akan memacu sistem kekebalan alami sehingga terjadi peningkatan titer antibodi.

**KESIMPULAN**

**Kesimpulan**

Pemberian mikrokapsul probiotik *Bacillus* sp. D2.2 dalam pakan mampu memberikan pengaruh peningkatan imunitas pada ikan kerapu macan yang di infeksi *Vibrio alginolyticus* pada parameter pengamatan total eritrosit, total leukosit, diferensial leukosit, dan titer antibodi.

**DAFTAR PUSTAKA**

Firanti, G. R. (2019). Efektivitas Pemberian Mikrokapsul Probiotik Terhadap Komposisi Bakteri Pada Usus Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscogutattus* (Forsskal, 1775). *Skripsi*. Universitas Lampung, Lampung.

Hastuti, S. & Subandiyono (2011), Performa hematologis ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dan kualitas air media pada sistim budidaya dengan penerapan kolam biofiltrasi. *Jurnal Saintek Perikanan*, 6(2), 1-5.

Jiang, N., Tan, N. S., Ho, B., & Ding, J. L. (2007). Respiratory protein-generated reactive oxygen species as an antimicrobial strategy. *Nature immunology*, 8(10), 11-14.

Iwama, G. (1996). *The fish immune system*. Academic press, San Diego- London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto. 68-95pp.

Kresno, S. B. (2001). *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur laboratorium Edisi 4*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indoneisa. Jakarta. 4-5 pp.

Sakai, M., Futamata, H., Urashima, Y., & Matsuguchi, T. (1995). Effect of cations on the growth of fluorescent pseudomonad isolates from spinach roots grown in soils with different salinity levels. *Soil science and plant nutrition*, 41(3), 605-611.

Sumanti, D. M., Lanti, I., Hanidah, I., Sukarminah, E., & Giovanni, A. (2016). Pengaruh konsentrasi susu skim dan maltodekstrin sebagai penyalut terhadapviabilitas dan karakteristik mikrokapsul suspensi bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan metode freeze drying. *Jurnal Penelitian Pangan*, 1(1), 2-6.

Syawal, H., Syafriadiman, & Hidayah, S. (2008). Pemberian ekstrak kayu siwak (*Salvadora persica* L.) untuk meningkatkan kekebalan ikan mas (*Cyprinus carpio* L*.*) yang dipelihara dalam keramba. *Biodiversitas*, 9(1), 44-47.

Triana, E., Yulianto, E., & Nurhidayat, N. (2006). Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. terenkapsulasi. *Biodiversitas*, 7(2), 114-117.