



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http://lppm.unair.ac.id

SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN PENELITIAN

Nomor : 615/J03.2/PG/2006

Pada hari ini **Rabu** Tanggal **Tujuh** Bulan **Juni** Tahun **Dua Ribu Enam**, kami yang bertanda tangan di bawah ini :

1. Prof.Dr.H. Sarmanu, MS. : Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Rektor Universitas Airlangga, yang selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**
2. **Ir. Endang Dewi Masitha, M.P.** : Staf Pengajar Fakultas **Kedokteran Hewan** dalam hal ini bertindak untuk dan atas nama Fakultas **Kedokteran Hewan** Universitas Airlangga dan selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**

Kedua belah pihak secara bersama-sama telah sepakat mengadakan Perjanjian Pelaksanaan Penelitian berjudul :

Uji Patogenitas Bakteri Pektinolitik terhadap Ikan Bandeng (Chanos chanos), Upaya Seleksi Bahan Pengembangan Probiotik Penekanan Pertumbuhan Mycrocystis aeruginosa

dengan ketentuan sebagai berikut :

**PASAL I
BANTUAN KEUANGAN**

- a. **PIHAK PERTAMA** memberikan dana penelitian kepada **PIHAK KEDUA** sejumlah Rp. 7.500.000,00 (Tujuh Juta Lima Ratus Ribu Rupiah);
- b. Pembayaran dana penelitian tersebut pasal 1 ad. a, dilaksanakan sesuai dengan tahap-tahap penerimaan dana oleh **PIHAK PERTAMA** dari sumber dana DIPA PNBP Universitas Airlangga tahun 2006, yakni tahap pertama sebesar 70%, tahap kedua 30%;
- c. **PIHAK KEDUA** akan dikenai kontribusi sebesar 10% dari setiap tahap pencairan dana penelitian yang diterima dengan rincian sbb :
 1. Sebesar 5%, sebagai ahlikelola dana untuk keperluan :
 - a. Biaya pelaksanaan seminar hasil penelitian **PIHAK KEDUA** yang akan digunakan sebagai :
 - Uang hadir seminar untuk 7 (tujuh) peserta seminar diluar Tim Peneliti
 - Biaya konsumsi dan lain-lain untuk pelaksanaan seminar
 - b. Pembuatan cover dan penjilidan sebanyak 20 (dua puluh) eksemplar, serta untuk pengiriman hasil penelitian ke Instansi terkait;
 2. Sebesar 5%, untuk overhead Universitas Airlangga
- d. **PIHAK KEDUA** akan dikenakan PPh sebesar 1,5%

**PASAL 2
LAPORAN PROYEK PENELITIAN**

PIHAK KEDUA wajib :

- a. Selambat-lambatnya 1 (satu) minggu setelah diterimanya bantuan keuangan dari **PIHAK PERTAMA** memberikan **Laporan Kemajuan Penelitian (Progres Report)** ;
- b. 14 (empat belas) hari sebelum batas akhir penelitian harus menyerahkan **draft laporan akhir hasil penelitian sebanyak 8 (delapan) eksemplar sebagai materi seminar**;
- c. Memberikan laporan lengkap hasil seminar penelitian (Final Report) sesuai dengan format yang telah ditentukan sebanyak 20 (dua puluh) eksemplar disertai dengan "Ringkasan" dalam Bahasa Indonesia "Summary" dalam Bahasa Inggris, juga diwajibkan menyerahkan **ARTIKEL ILMIAH** sebanyak 2 (dua) eksemplar dengan jumlah halaman maksimal 12 (dua belas) halaman berdasarkan laporan akhir hasil penelitian selambat-lambatnya **tanggal 2 Oktober 2006**, **sebagai materi jurnal penelitian sekaligus menyerahkan disketnya**.

PASAL 3
FORMAT LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Laporan akhir hasil penelitian yang tersebut pada pasal 2 ad. (b) dan (c), harus memenuhi ketentuan sebagaimana petunjuk penulisan yang diterbitkan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga.

PASAL 4
PERUBAHAN PADA PELAKSANAAN PENELITIAN

- a. Dalam hal **PIHAK KEDUA** diberhentikan/berhenti dari Jabatan atau pindah/dipindahkan ke Instansi lain sebelum proyek penelitian ini selesai sepenuhnya, **PIHAK KEDUA** harus mempertanggungjawabkan penggunaan dana penelitian yang telah diterima dari **PIHAK PERTAMA**;
- b. **PIHAK PERTAMA** dalam hal demikian berhak menunjuk pengganti untuk melanjutkan memimpin proyek tersebut dan bila perlu akan diminta saran dari Dekan Fakultas yang bersangkutan;
- c. Dalam hal **PIHAK KEDUA** lalai dan atau dianggap tidak mampu menyelesaikan penelitian tepat waktu, maka **PIHAK PERTAMA** bersama Dekan berhak menentukan peneliti pengganti;
- d. **Semua Tim Peneliti yang tercantum dalam SK Rektor bertanggung jawab sepenuhnya atas pelaksanaan dan penyelesaian penelitian;**

PASAL 5
PENGAWASAN

Setiap saat **PIHAK PERTAMA** atau Pejabat yang ditunjuk atau Tim Monitoring dari Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Airlangga, dapat melakukan pengawasan untuk memonitor pelaksanaan penelitian yang sedang berjalan atau yang belum selesai untuk memperoleh keterangan-keterangan yang diperlukan serta penggunaan keuangannya.

PASAL 6
SANKSI

- a. Apabila **PIHAK KEDUA** tidak dapat menyelesaikan penelitiannya tepat waktu, dapat dikenakan denda sebesar 1 (satu) permil setiap hari keterlambatan dan sebanyak-banyaknya 5% dari seluruh dana penelitian;
- b. Dalam hal **PIHAK KEDUA** tidak dapat melaksanakan **Perjanjian Pelaksanaan Penelitian** ini, maka **PIHAK KEDUA** harus mengembalikan kepada **PIHAK PERTAMA** dana penelitian yang telah diterima selambat-lambatnya 30 (tiga puluh) hari setelah **PIHAK KEDUA** dinyatakan tidak dapat menyelesaikan penelitian dimaksud;
- c. Apabila waktu penelitian seperti tersebut di atas pada pasal 2 ayat c tidak dapat dipenuhi oleh **PIHAK KEDUA**, maka untuk selanjutnya **PIHAK PERTAMA** akan menanggukkan usul-usul penelitian peneliti yang bersangkutan;

PASAL 7

Perjanjian pelaksanaan penelitian ini berlaku sejak ditandatangani oleh kedua belah pihak, dan hal-hal lain yang belum diatur dalam perjanjian pelaksanaan penelitian ini, akan ditentukan oleh kedua belah pihak.

PIHAK KEDUA,

Ir. Endang Dewi Masithah, M.P.
NIP. 132 158 476



Surabaya, 7 Juni 2006

PIHAK PERTAMA,

Prof. Dr. H. Sarmanu, MS.
NIP. 130 701 125



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2006

**UJI PATOGENITAS BAKTERI PEKTINOLITIK TERHADAP
IKAN BANDENG (*Chanos chanos*), UPAYA SELEKSI BAHAN
PENGEMBANGAN PROBIOTIK PENEKAN PERTUMBUHAN
*Microcystis aeruginosa***

Peneliti:

**Ir. Endang Dewi Masitha, M.P
Laksmi Sulmartiwi, S.Pi.,M.Si.
Juni Triastuti, M.Si.,S.Pi.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh DIPA Penerimaan Negara Bukan Pajak
Universitas Airlangga Tahun 2006
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4017/J03/PP/2006
Tanggal 2 Juni 2006
Nomor Urut 43

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2006



DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http : //lppm.unair.ac.id

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Uji Patogenitas Bakteri Pektinolitik terhadap Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal), Upaya Seleksi Bahan Pengembangan Probiotik Penekan Pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*
- a. Macam Penelitian : () Fundamental. () Terapan. () Pengembangan. () Institusional
- b. Kategori Penelitian : () I () II () III () IV
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Endang Dewi Masitha, MP.,Ir.
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan dan NIP: Penata Muda Tk. I (Gol. III/b) 132158476
- d. Jabatan Sekarang : Lektor
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : Fakultas Kedokteran Hewan
- f. Univ./Inst. /Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : -
3. Jumlah Tim Peneliti : 3 (tiga) orang
4. Lokasi Penelitian : 1. Lab. Mikrobiologi FMIPA Unair, 2. Lab. Budidaya Perairan dan Kolam Ikan Pendidikan. FKH Unair
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : 7.500.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : -
- b. Hasil Penelitian : () Baik Sekali (V) Baik
() Sedang () Kurang

Surabaya, September 2006



Mengetahui/Mengesahkan :

a.n. Rektor
Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

Prof. Dr. H. Sarmanu, MS.
NIP. 130 701 125

ABSTRACT

Patogenity Assay of Pectinolytic Bacteria to Milk Fish (*Chanos chanos* Forskal),
The Effort to Material Screening of Probiotic to Decrease
Microcystis aeruginosa Population

Endang Dewi Masithah, Laksmi Sulmartiwi and Juni Triastuti
Aquaculture Department, Veterinary Faculty of Airlangga University, Surabaya

The purpose of this research were to know the patogenity effect of pectinolytic bacteria to Milk Fish (*Chanos chanos* Forskal). This effort was as material screening of probiotic bacteria to decrease *Microcystis aeruginosa* population.

The experiment was devided as : 10^1 cell/ml; 10^3 cell/ml; 10^5 cell/ml; 10^7 cell/ml; 10^9 cell/ml concentration and Control. Survival Rate and behavior of fish; pH , Dissolve Oksigen and temperature of water were measure as parameter. The treathment was used until 14 days.

Result of the research shows that pectinolytic bacteria (*Pseudomonas* and *Flavobacterium*) that isolated from Lamongan and Gresik fish pond was not pathogen to Milk fish (*Chanos chanos* Forskal) until 10^9 cell/ml concentration.

RINGKASAN

UJI PATOGENITAS BAKTERI PEKTINOLITIK TERHADAP IKAN BANDENG (*Chanos chanos* Forskal), UPAYA SELEKSI BAHAN PENGEMBANGAN PROBIOTIK PENEKAN PERTUMBUHAN *Microcystis aeruginosa*

Endang Dewi Masithah*, Laksmi Sulmartiwi* dan Juni Triastuti*
2006, 41 hal.

=====

Permasalahan

Informasi pengembangan probiotik untuk mengatasi masalah *Microcystis aeruginosa* di Indonesia belum diketahui, selain produk komersial impor. Padahal bakteri sebagai pengendali hayati bersifat sangat spesifik (Isnansetyo, 2005). Hal ini didukung beberapa penelitian yang membuktikan bahwa, penggunaan bakteri isolat lokal untuk suatu tujuan, memberikan hasil lebih efektif dibanding produk komersial yang umumnya berasal dari luar negeri (Nganro dkk., 1997; Sutanto dan Suprpto, 2004; Susanto dkk., 2005.).

Penelitian ini merupakan rangkaian upaya pengembangan probiotik antagonisme penekan *Microcystis aeruginosa*. Pengembangan probiotik ini berdasarkan sifat bakteri yang memproduksi poly 1,4- α -d galacturonidase yang mampu mendegradasi pektin, suatu polisakarida komponen utama penyusun dinding sel *Microcystis aeruginosa*.

Mikroba probion bersifat sangat spesies spesifik. Artinya, bagi inang tertentu, suatu mikroba dapat bertindak sebagai probiotik penekan mikroba patogen, namun bagi inang yang lain, mikroba tersebut justru bersifat patogen (Isnansetyo, 2005). Oleh karena itu, prosedur seleksi pengembangan mikroba probion untuk akuakultur terdiri dari beberapa tahap utama, salah satunya adalah pengujian patogenitas isolat terhadap inang (Irianto, 2003).

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan permasalahan yaitu : apakah bakteri pektinolitik hasil isolasi dari tambak Lamongan dan Gresik bersifat patogen terhadap ikan bandeng (*Chanos chanos*) ?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat patogenitas bakteri pektinolitik yang telah berhasil diisolasi dari tambak Lamongan dan Gresik terhadap ikan bandeng. Dengan diketahui sifat patogenitas, maka dapat ditentukan potensinya sebagai bahan dalam pengembangan probiotik dan diketahui batas dosis yang dapat digunakan sebagai probiotik antagonisme penekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Unair; Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga dan Kolam Ikan Pendidikan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Penelitian ini dilaksanakan pada awal bulan Juli sampai dengan bulan Oktober 2006.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan 5 perlakuan dan 1 kontrol. Masing-masing perlakuan dan kontrol diulang sebanyak 4 kali. Perlakuan yang diberikan adalah : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^1 sel/ml; 10^3 sel/ml; 10^5 sel/ml; 10^7 sel/ml; 10^9 sel/ml dan tanpa perendaman bakteri (Kontrol)

Uji patogenitas metode perendaman dilakukan pada larva bandeng dalam toples volume 3 liter. Toples diisi air sebanyak 2 liter dan diisi larva bandeng (nener) dengan jumlah 100 ekor per toples dan dilengkapi aerasi. Sebagai parameter utama adalah Survival Rate (%) dan tingkah laku ikan (cara berenang, nafsu makan dan keaktifan) serta adanya tanda-tanda klinis serangan bakteri. Parameter penunjang adalah suhu, DO dan pH air. Semua parameter diamati tiap hari. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap. Data diuji menggunakan ANOVA. Bila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (Steel and Torrie, 1991)

Uji patogenitas metode injeksi dilakukan pada larva berukuran gelondongan, dalam wadah volume 20 liter. Wadah diisi $\frac{3}{4}$ volume dan diisi 5 ekor ikan, dilengkapi aerasi. Injeksi dilakukan secara intramuscular (IM) dengan kepadatan berbeda sebagai perlakuan, yaitu 10^1 , 10^3 , 10^5 , 10^7 dan 10^9 sel/ml sebanyak 0,2 ml (Murdjani dkk., 2005). Sebagai kontrol adalah bandeng tanpa pemberian bakteri. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Lama

pemeliharaan adalah 14 hari. Setelah itu, ikan dibunuh dan dibuat preparat histopat terhadap insang dan hepar. Adanya tanda-tanda serangan bakteri diamati pada preparat histopat. Selain itu dilakukan pula pengamatan terhadap warna insang, warna ginjal, adanya haemoragic pada kulit dan insang serta tingkah laku ikan selama pemeliharaan. Sebagai parameter penunjang adalah suhu, DO dan pH air.

Hasil dan Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri pektinolitik *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* yang diujikan, tidak bersifat patogen terhadap ikan bandeng. Dengan demikian, kedua isolat bakteri tersebut dapat direkomendasikan untuk skrening tahap selanjutnya guna pengembangan probiotik untuk menekan *Microcystis aeruginosa*. Kandidat bakteri penyusun probiotik harus tidak memiliki efek negatif terhadap keseimbangan ekologi perairan dan tidak bersifat patogen terhadap ikan yang dipelihara. Oleh karena itu, dalam upaya pengembangan bakteri probiotik ini, uji patogenitas dan dampak terhadap komposisi phytoplankton dan zooplankton, kualitas air dan ikan yang dipelihara harus dilakukan dengan ketat.

Kualitas air media perlakuan selama penelitian relatif masih sesuai untuk kehidupan ikan bandeng. Oksigen terlarut, pH dan suhu air masing-masing berkisar antara 5-6 ppm, 7-8 dan 27-29⁰C.

Saran

Dilakukan skrening lanjutan terhadap bakteri pektinolitik tersebut sesuai tahapan skrening yang harus dipenuhi dalam standar pengembangan probiotik lingkungan.

* : Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga
Dibiayai Oleh DIPA PNB Universitas Airlangga dengan SK Rektor nomor : 4017/J03/PP/2006, Tanggal 7 Juni 2006

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulisan laporan hasil penelitian dengan judul Uji Patogenitas Bakteri Pektinolitik terhadap Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal), Upaya Seleksi Bahan Pengembangan Probiotik Penekan Pertumbuhan *Microcystis aeruginosa* dapat diselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini disampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan pendanaan penelitian ini melalui SK Rektor No. 4017/JO3/PP/2006.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang telah membantu kelancaran administrasi mulai proses pengajuan proposal sampai dengan Pelaporan Hasil Penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan dan Fasilitas yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini.
4. Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA beserta staf, Kepala Laboratorium Budidaya Perairan dan Kepala Kolam Ikan Pendidikan, FKH Unair yang telah memberikan sarana dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhirnya, kritik dan saran sangat diharapkan untuk perbaikan laporan hasil penelitian ini.

Surabaya, Nopember 2006

Peneliti

DAFTAR ISI

		halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....		i
ABSTRACT.....		ii
RINGKASAN		iii
KATA PENGANTAR.....		vi
DAFTAR ISI.....		vii
DAFTAR TABEL.....		ix
DAFTAR LAMPIRAN.....		x
BAB I	PENDAHULUAN.....	1
1.1	Latar Belakang.....	1
1.2	Rumusan Masalah.....	3
1.3	Hipotesis Penelitian.....	4
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1	Bakteri Pektinolitik.....	5
2.2	<i>Pseudomonas</i> dan <i>Flavobacterium</i>	6
2.3	Patogenitas Bakteri.....	7
2.4	Biologi Ikan Bandeng.....	8
2.5	<i>Blooming Microcystis aeruginosa</i>	9
2.6	Kontrol Populasi <i>Microcystis aeruginosa</i>	11
2.7	Pengembangan Probiotik sebagai Pengendali Kualitas Lingkungan.....	12
BAB III	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	16
3.1	Tujuan Penelitian.....	16
3.2	Manfaat Penelitian.....	16
BAB IV	METODOLOGI PENELITIAN.....	17
4.1	Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
4.2	Metode Penelitian.....	17
4.3	Materi Penelitian.....	18
4.3.1	Peralatan Penelitian.....	18
4.3.2	Bahan Penelitian.....	18
4.4	Pelaksanaan Penelitian.....	19
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
5.1	Hasil Penelitian.....	21
5.1.1	Uji Patogenitas dengan Metode Rendam.....	21
5.1.1.1	Kelulushidupan Ikan Bandeng.....	21
5.1.1.2	Tingkah Laku Ikan Bandeng.....	22
5.1.1.3	Kualitas Air.....	23
5.1.2	Uji Patogenitas dengan Metode Injeksi.....	23
5.2	Pembahasan.....	25
5.2.1	Uji Patogenitas dengan Metode Rendam.....	25
5.2.2	Uji Patogenitas dengan Metode Injeksi.....	29

BAB VI.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	31
6.1	Kesimpulan.....	31
6.2	Saran.....	31
	DAFTAR PUSTAKA.....	32
	LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel		halaman
5.1	Hasil Pengamatan Uji Patogenitas <i>Flavobacterium</i> terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14).....	21
5.2	Hasil Pengamatan Uji Patogenitas <i>Pseudomonas</i> terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14).....	22
5.3	Pengamatan Tingkah Laku Nener Bandeng Selama Perlakuan <i>Flavobacaterium</i>	22
5.4	Pengamatan Tingkah Laku Nener Bandeng Selama Perlakuan <i>Pseudomonas</i>	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		halaman
1	Hasil Pengamatan Terhadap Jumlah Ikan yang Mati pada Tiap Perlakuan Konsentrasi <i>Flavobacterium</i>	36
2	Hasil Uji Anova terhadap Data Uji Patogenitas <i>Flavobacterium</i> terhadap Nener Bandeng.....	37
3	Hasil Pengamatan Terhadap Jumlah Ikan yang Mati pada Tiap Perlakuan Konsentrasi <i>Pseudomonas</i>	39
4	Hasil Uji Anova terhadap Data Uji Patogenitas <i>Pseudomonas</i> terhadap Nener Bandeng.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akhir-akhir ini, kegiatan usaha budidaya bandeng semakin meningkat sebagai akibat meningkatnya kegagalan budidaya udang. Pada beberapa daerah, seperti Lamongan dan Gresik, seringkali didapatkan hasil panen bandeng mempunyai citarasa lumpur, sedangkan di daerah lain, seperti Sidoarjo, kejadian ini tidak didapatkan. Adanya citarasa lumpur dapat menurunkan kualitas dan harga jual bandeng.

Menurut Lowell dan Sackey (1993) serta Lelana (1993), penyebab citarasa lumpur ini adalah senyawa geosmin yang merupakan senyawa metabolit dihasilkan oleh alga tertentu, dari golongan *Blue Green Alga*. Senyawa ini terutama diserap ikan dari lingkungannya melalui insang, kulit dan saluran pencernaan. Hasil penelitian Trisyani (1997) melaporkan, adanya citarasa lumpur berhubungan dengan dominansi alga *Microcystis aeruginosa*, salah satu spesies dari golongan *Blue Green Alga*.

Microcystis aeruginosa sangat sulit diberantas dan tidak disukai ikan sebagai makanan alami. Dinding selnya yang keras dan tebal karena terdiri dari selulose, lignin dan pektin, membuat sukar dicerna oleh ikan, bahkan seringkali masih hidup setelah keluar dari saluran pencernaan ikan (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995). Kerugian lain akibat blooming *Microcystis aeruginosa* adalah karena plankton ini menghasilkan racun yang menyebabkan penyakit *haemocytic enteritis* yang mengakibatkan terganggunya pencernaan ikan.

Kontrol populasi *Microcystis aeruginosa* telah dilakukan baik secara fisik, chemis maupun biologis. Namun selama ini masih menemui kelemahan dan

keterbatasan. Kontrol secara fisik dengan penggantian air atau meningkatkan salinitas, sangat sulit dilakukan mengingat keterbatasan sumber air. Kontrol secara kimia seperti penggunaan cupri sulfat ataupun klorin, dalam jangka panjang akan membawa dampak pada perairan. Kontrol biologis dilakukan dengan penggunaan ekstrak umbi tike dan ekstrak dekomposisi jerami. Namun hal ini juga mengalami keterbatasan, mengingat luasnya lahan dan keterbatasan jumlah bahan.

Salah satu alternatif untuk memberantas keberadaan *Microcystis aeruginosa* di tambak adalah penggunaan probiotik. Pengembangan probiotik untuk menekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*, mulai dikembangkan di luar negeri, sedangkan di Indonesia, hal ini belum tersentuh. Penelitian ini merupakan bagian dari rangkaian upaya pengembangan probiotik, sebagai antagonisme penekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*. Pengembangan probiotik didasarkan pada kemampuan bakteri pektinolitik yang menghasilkan penktinase sehingga diharapkan mampu mendegradasi dinding sel *Microcystis aeruginosa*.

Probiotik merupakan penambahan mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi inang melalui modifikasi bentuk keterikatan (asosiasi) dengan inang atau komunitas mikroba lingkungan hidupnya (Verschuere *et al*, 2000). Gomez Gill (1998) menambahkan penggunaan probiotik merupakan pengendalian biologis dengan menggunakan musuh alami untuk mengurangi kerugian yang ditimbulkan oleh organisme pengganggu hingga batas yang bisa diterima.

Seleksi mikroba sebagai bahan probiotik umumnya menggunakan pendekatan empirik. Pengembangan probiotik untuk akuakultur melalui beberapa tahap, diantaranya adalah pengujian patogenitas isolat terhadap inang (Irianto, 2003). Hal ini diperlukan karena sifat mikroba sebagai probiotik adalah sangat spesies spesifik.

Artinya, bagi inang tertentu, suatu mikroba dapat bertindak sebagai probiotik penekan mikroba patogen, namun bagi inang yang lain, mikroba tersebut justru bersifat patogen (Isnansetyo, 2005).

Berdasarkan latar belakang permasalahan diatas, maka perlu dilakukan penelitian tentang sifat patogenitas isolat bakteri pektinolitik yang telah berhasil diisolasi terhadap ikan bandeng. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang berhasil mengisolasi bakteri pektinolitik sebagai bahan pengembangan probiotik penekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*. Penelitian ini merupakan tahap uji patogenitas sebagai upaya skrening mikroba, sehingga diharapkan diperoleh isolat bakteri yang dapat dikembangkan sebagai bahan probiotik penekan *Microcystis aeruginosa*, yang tidak membahayakan bagi kehidupan ikan bandeng

1.2 Rumusan Masalah

Informasi pengembangan probiotik untuk mengatasi masalah *Microcystis aeruginosa* di Indonesia belum diketahui, selain produk komersial impor. Padahal bakteri sebagai pengendali hayati bersifat sangat spesifik (Isnansetyo, 2005). Hal ini didukung beberapa penelitian yang membuktikan bahwa, penggunaan bakteri isolat lokal untuk suatu tujuan, memberikan hasil lebih efektif dibanding produk komersial yang umumnya berasal dari luar negeri (Nganro dkk., 1997; Sutanto dan Suprpto, 2004; Susanto dkk., 2005.).

Penelitian ini merupakan rangkaian upaya pengembangan probiotik antagonisme penekan *Microcystis aeruginosa*. Pengembangan probiotik ini berdasarkan sifat bakteri yang memproduksi poly 1,4- α -d galacturonidase yang

mampu mendegradasi pektin, suatu polisakarida komponen utama penyusun dinding sel *Microcystis aeruginosa*.

Mikroba probion bersifat sangat spesies spesifik. Artinya, bagi inang tertentu, suatu mikroba dapat bertindak sebagai probiotik penekan mikroba patogen, namun bagi inang yang lain, mikroba tersebut justru bersifat patogen (Isnansetyo, 2005). Oleh karena itu, prosedur seleksi pengembangan mikroba probion untuk akuakultur terdiri dari beberapa tahap utama, salah satunya adalah pengujian patogenitas isolat terhadap inang (Irianto, 2003).

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

- Apakah bakteri pektinolitik hasil isolasi dari tambak Lamongan dan Gresik bersifat patogen terhadap ikan bandeng (*Chanos chanos*) ?

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

- Bakteri pektinolitik hasil isolasi dari tambak Lamongan dan Gresik tidak bersifat patogen terhadap ikan bandeng.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Pektinolitik

Beberapa mikroba tertentu mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan enzim yang dapat menghancurkan pektin. Mikroba tersebut dapat berupa bakteri dan jamur (Doran, 2000). Kemampuan untuk memecah pektin merupakan sifat banyak bakteri dan digolongkan sebagai bakteri pektinolitik. Proses pemecahan pektin oleh mikroba melibatkan berbagai golongan enzim pektinase (Schlegel, 1994).

Istilah kimia enzim pektinase adalah poly (1,4- α -D galakturonide) glycanohydrolase, poly (1,4- α -D-galakturonide) lyase, dan *pectin pectylhydrolase* (Anonimus, 1999). Sedangkan beberapa nama lain enzim ini adalah *phosphorylase*, *pectat lyase*, *pectin lyase*, *pectinesterase*, dan *polygalakturonas*. Berat molekul dari pektin antara 50.000 sampai 150.000 dalton (*www.genome.jp*, 2005).

Beberapa macam bakteri yang dikelompokkan sebagai pektinolitik yaitu *Ralstonia solanacearum* (Kersten *et al.*, 1998; Gonzales and Allen, 2003), *Erwinia chrysanthemi* (Tardy *et al.*, 1997), *Pseudomonas cellulose*, *Rhizobium*, *Amicolata* sp. (Gonzales and Allen, 2003), *Bacillus subtilis* (Gonzales and Allen, 2003), *Azospirillum iroicense* (Bekri *et al.*, 1999).

2.2 *Pseudomonas* dan *Flavobacterium*

Hasil penelitian Masithah dkk. (2005) yang mengisolasi bakteri pektinolitik dari tambak daerah Lamongan dan Gresik mendapatkan bahwa bakteri *Pseudomonas* dan *Flavobacterium* bersifat pektinolitik.

Bakteri *Pseudomonas* merupakan bakteri berbentuk batang pendek, motil dengan flagella polar dan bersifat Gram-negatif (Irianto, 2005). Ditambahkan oleh Tjitrosoepomo (2003) bahwa *Pseudomonas* merupakan bakteri heterotrof, jarang sekali yang bersifat autotrof fakultatif. Sel-selnya seringkali bersifat oksidatif, kadang-kadang fermentative. Beberapa spesies *Pseudomonas*, selain menyebabkan penyakit pada ikan, juga menyebabkan penyakit pada tanaman.

Pseudomonas fluorescens merupakan salah satu spesies *Pseudomonas* yang menyerang ikan air tawar dan merupakan patogen oportunistik. Secara umum tanda-tanda klinis infeksi *Pseudomonas* antara lain terjadinya hemoragik septicemia, hemoragik pada insang dan ekor serta bisul pada kulit (Irianto, 2005).

Flavobacterium merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat Gram-negatif. Secara umum diketahui bahwa *Flavobacterium* sering menjadi penyebab penyakit pada ikan-ikan ornamental seperti granuloma atau penonjolan mata pada ikan molly (*Molliensia sphaenops*). Ikan yang terinfeksi menjadi kurus dan pucat, terjadi nodul-nodul putih pada organ-organ dalam, retina khoroid dan otak. Nodul-nodul tersebut dapat bersifat keras seperti kista atau seperti butiran mineral. Secara histologis, nodul-nodul tersebut merupakan granuloma, makrofag dan limfosit memiliki tepi perifer yang tipis dan kapsul-kapsul berserat (*fibrous capsule*). Cara penularannya belum diketahui dengan jelas (Irianto, 2005).

2.3 Patogenitas Bakteri

Beberapa jenis bakteri yang diketahui potensial bersifat patogen bagi ikan antara lain *Aeromonas salmonicida*, *Renibacterium salmoninarum*, *Nocardia* spp., *Edwardsiella ictaluri*, *Pasterurella piscicida*, *Pseudomonas*, *Aerococcus viridans* (var) *homari*, *Mycobacterium* spp., *Flavobacterium*, *Edwardsiella tarda*, *Streptococcus* spp. dan *Yersinia ruckeri*. Pada umumnya sumber dan cara penularan penyakit akibat serangan bakteri tersebut antara lain melalui ikan yang sakit, ikan karier, air yang terkontaminasi, makanan yang terkontaminasi, telur yang terkontaminasi, alat atau pakaian yang terkontaminasi atau melalui burung air (Anonimus, 2006).

Sebagian bakteri bersifat patogen oportunistik. Pada keadaan biasa, bakteri tersebut ada pada lingkungan perairan atau tubuh ikan tanpa menimbulkan penyakit, tetapi akan menimbulkan penyakit bahkan kematian pada saat terjadi stress atau daya tahan tubuh ikan menurun. Bakteri patogen oportunistik pada dasarnya bersifat saprofitik. Beberapa bakteri yang bersifat oportunistik antara lain *Pseudomonas* dan *Flexibacter*. Hanya sejumlah kecil bakteri yang bersifat patogen, meskipun mampu bertahan hidup sementara waktu di air tetapi tidak dapat tumbuh di luar sel inangnya (Irianto, 2005). Sebagian kecil bakteri bersifat patogen obligat, karena selalu menjadi penyebab utama suatu penyakit. Beberapa bakteri yang termasuk golongan ini antara lain *Aeromonas salmonicida*, *Haemophilus piscium* dan *Renibacterium salmoninarum* (Sano, 1990).

Bakteri dapat menyebabkan penyakit secara mandiri atau bersama-sama satu atau lebih spesies. Diantara bakteri penyebab penyakit, seringkali tanda-tanda visual penyakit yang ditimbulkan mirip. Penyebab penyakit sebenarnya baru dapat

diketahui setelah dilakukan tindakan nekropsi yang menguji lebih lanjut penyebab openyakit termasuk mengenali bakteri yang berhasil diisolasi dari hewan yang sakit. Sebagai contoh yaitu *Aeromonas* dan *Pseudomonas* yang menyebabkan tanda-tanda penyakit yang mirip yaitu bisul pada tubuh eksternal, pembesaran abdomen (*dropsy*) dan eksoptalmia. Infeksi campuran dari beberapa bakteri seringkali terjadi. Dalam hal ini sulit untuk menentukan bakteri mana yang paling berperan sebagai patogen primer atau sekunder (Irianto, 2005).

Patogenitas bakteri antara lain dinyatakan dengan LD₅₀ dan adanya tanda-tanda klinis (Irianto, 2003). Lone (1999) mendapatkan LD₅₀ bakteri *Pseudomonas fluorescens* terhadap ikan *Onchorynchus mykiss* pada konsentrasi 10⁵ sel/ml dengan perendaman selama 5 hari. Sedangkan Park (2000) memperoleh konsentrasi *Pseudomonas plecoglossicida* dengan konsentrasi 10⁴ sel/ml sudah bersifat patogen terhadap ikan *Plecoglossus altivellis* setelah perlakuan selama 2 minggu. Gracia (2000) membuktikan bahwa *Flavobacterium* bersifat pathogen terhadap *Onchorynchus mykiss* pada konsentrasi 10⁶sel/ml setelah perlakuan selama 2 minggu.

2.4 Biologi Ikan Bandeng

Bandeng merupakan ikan dengan bentuk terpedo, seluruh permukaan tubuh tertutup oleh sisik cycloid yang berwarna perak cerah dan di bagian belakang agak perak kehijauan. Klasifikasi bandeng menurut Schutser (1960) adalah sebagai berikut :

Phylum : Vertebrata

Sub Phylum : Craniata

Klass : Teleostomi
Ordo : Malacopterygii
Famili : Chanidaecus
Genus : *Chanos*
Species : *Chanos chanos* Forskall

Bandeng merupakan ikan yang bersifat euryhaline serta tahan terhadap guncangan salinitas tinggi. Selain itu bandeng juga tahan terhadap temperatur tinggi bahkan mencapai 40⁰C, tetapi sangat sensitive terhadap suhu rendah, bahkan dapat mematikan (Hadi dan Supriatna, 1988 dalam Trisyani, 1997).

Pada dasarnya bandeng dapat beradaptasi dengan pakan buatan. Namun, sampai sejauh ini, peran pakan alami bandeng belum dapat digantikan oleh pakan buatan. Pakan alami utama bandeng adalah kelekap yang tersusun dari Blue green Algae, diatome, protozoa, bakteri, rotifera dan cacing (Anonymous, 2000). Sedangkan pakan buatan hanyalah sebagai pelengkap bila pakan alami tidak mencukupi (Firdaus, 2003). Melihat usus bandeng yang relatif panjang, dapat disimpulkan bahwa pakan bandeng sebagian besar adalah tumbuhan (Mudjiman, 1982).

2.5 Blooming *Microcystis aeruginosa*.

Microcystis aeruginosa merupakan salah satu spesies alga hijau biru. Morfologi *Microcystis* sp. terdiri dari agregate sel bulat yang membentuk koloni kecil sampai besar. Ukuran sel setiap individu lebih besar dari kelompok picoplankton yaitu berdiameter antara 2 – 3 sampai 10 µm. Sel *Microcystis* sp. mempunyai *gas vacuoles* yang berperan penting untuk membuat koloni terapung

di perairan (Paerl, 1988). Dinding sel tersusun atas *exopolysaccharida* yang komposisinya sama seperti pektin (Hoiczky dan Hansel, 2000).

Beberapa jenis plankton ini diketahui bersifat racun untuk hewan invertebrata dan vertebrata (Paerl, 1988). *Microcystis* sp. dapat membahayakan kehidupan ikan apabila terjadi *blooming* yang bersamaan dengan adanya proses pembusukan (Paerl, 1988). *Blooming* alga ini juga menyebabkan tidak terdapatnya alga lain dan bila ada jumlahnya tidak banyak. Selain menyebabkan citarasa lumpur pada ikan, *Microcystis* sp kurang disukai oleh ikan karena sulit dicerna. Kandungan selulose, hemiselulose dan lignin yang menyusun dinding sel, membentuk lapisan yang sulit dicerna, sehingga seringkali ditemukan masih hidup walaupun telah keluar dari saluran pencernaan ikan (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995).

Perairan yang mengalami *blooming Microcystis* sp. menandakan bahwa dalam air terdapat banyak Phosphat dan Nitrat (Sachlan, 1981) karena nutrien ini mampu merangsang pertumbuhan alga dalam waktu yang relatif cepat (Boyd, 1979). Menurut Trisyani (1997) daerah Lamongan dan Gresik sangat cocok untuk pertumbuhan *Microcystis*. Salinitas di tambak Lamongan dan Gresik tergolong rendah karena lokasi tambak jauh dari laut, sehingga sumber air tambak mengandalkan air tawar dan hujan. Pasang laut yang mampu mengairi tambak hanya pasang tertinggi yang terjadi sebulan dua kali. Kondisi salinitas yang rendah akan mendukung perkembangan alga Cyanophyceae (*Blue Green* alga), sehingga *Microcystis aeruginosa* akan mendominasi. Dominansi *Microcystis aeruginosa* diperairan juga dipacu oleh kadar Nitrogen yang tinggi sebagai akibat

sulitnya pergantian air. Akibatnya bahan organik tidak terbuang dari tambak dan merupakan sumber Nitrogen.

2.6 Kontrol *Microcystis aeruginosa*

Beberapa upaya telah dicoba untuk mengatasi blooming *Microcystis aeruginosa*, antara lain memanipulasi level nutrisi sehingga pertumbuhan *Microcystis* bisa digantikan oleh alga lain (Schoeder, 1998). Boyd (1987) menyarankan mengganti air untuk melarutkan buangan organik. Kedua cara ini sulit dilakukan di daerah Lamongan dan Gresik karena keterbatasan air. Lin (2002) memberikan kuprisulfat atau algacidae dalam bentuk kristal / terlarut untuk mengontrol pertumbuhan *Microcystis*, namun senyawa ini bersifat racun terhadap ikan dan mengurangi kandungan karbondioksida. Penggunaan klorin juga akan berbahaya bagi lingkungan, karena sisa klorin akan terbuang ke perairan.

Kontrol secara terhadab blooming *Microcystis* sudah banyak dilakukan di beberapa negara, karena sudah menyebabkan polusi bau pada ikan dan air minum, bahkan beberapa bersifat racun bagi hewan dan manusia. Beberapa penelitian yang berkaitan dengan kontrol *Microcystis* antara lain Welch *et al* (1990); Barret *et al* (1996) serta Ridge and Pillinger (1996) menggunakan dekomposisi jerami padi untuk menekan pertumbuhan *Microcystis*. Sedangkan Gibson *et al* (1990) dan Ridge *et al* (1995) mengkombinasikan dekomposisi jerami padi dan sampah daun-daunan untuk menekan pertumbuhan *Microcystis*. Pillinger *et al* (1996) dan Ridge and Pillinger (1996) menambahkan bahwa kemampuan dekomposisi jerami dan daun-daunan dalam menekan pertumbuhan *Microcystis* adalah karena adanya

senyawa phenol yang dihasilkan dari proses dekomposisi. Ball *et al* (2001) menyempurnakan penggunaan dekomposisi jerami padi dengan menggunakan ekstraknya. Jianzhong *et al* (2004) menggunakan ekstrak kulit jeruk untuk mengatasi pertumbuhan *Microcystis*, namun mempunyai keterbatasan karena jumlah ketersediaan bahan dikaitkan dengan luasnya tambak.

Upaya lain untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* adalah menggunakan mikroorganisme, seperti penggunaan bakteri *Cytophaga* (Yamamoto and Suzuki, 1993), *Myxococcus fulvus* (Yamamoto, 1993) dan *Alcaligenes denitrificans* (Manage *et al.*, 2000). Namun untuk tujuan penggunaan di Indonesia kurang efektif karena perbedaan kondisi lingkungan perairan. Selain itu, karena bakteri yang digunakan untuk kontrol adalah bakteri tunggal, menyebabkan keberhasilan selama ini kurang memuaskan.

2.7 Pengembangan Probiotik sebagai Pengendali Kualitas Lingkungan

Definisi probiotik menurut Veerschuere *et al* (2000) adalah penambahan mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi inang melalui modifikasi bentuk keterikatan (asosiasi) dengan inang atau komunitas mikroba dengan lingkungan hidupnya. Moriarty (1998) menambahkan bahwa probiotik merupakan penambahan bakteri ke dalam tangki atau kolam dimana hewan air berada, karena bakteri tersebut akan memodifikasi komposisi bakteri pada air dan sedimen. Pengertian probiotik yang dikemukakan oleh Irianto (2003) adalah suplementasi sel mikroba pada pakan atau lingkungan hidup yang menguntungkan inang atau hewan yang dipelihara.

Tujuan pemberian probiotik pada lingkungan perairan adalah untuk memperbaiki dan mempertahankan mutu lingkungan tambak (menguraikan bahan organik, menurunkan atau menghilangkan senyawa – senyawa beracun) secara alami melalui kerja bakteri pengurai (Sutanto dan Suprpto, 2004). Fungsi pemberian probiotik pada akuakultur menurut Pribadi (2002) adalah untuk mengatur kondisi mikroorganisme di air maupun sedimen, membantu mengatur atau memperbaiki kualitas air, meningkatkan keragaman mikroorganisme dalam air dan sedimen serta menghambat atau meminimalkan efek bakteri pathogen seperti *Vibrio* sp.

Syarat – syarat probiotik yang digunakan di tambak adalah dapat hidup, mampu tumbuh dan berkembang biak dengan baik dalam tambak (misalnya dalam kondisi aerob, atau anaerob), mampu berfungsi atau bekerja aktif pada bidang yang diharapkan dan bersifat non patogenik (Poernomo, 2004). Fuller (1987) dalam Irianto (2003) menambahkan karakteristik yang harus dimiliki oleh probiotik yaitu dapat disiapkan sebagai produk sel hidup pada skala industri serta dapat terjaga stabilitas dan sintasan untuk waktu yang lama pada penyimpanan maupun di lapangan.

Beberapa kelompok probiotik yang digunakan pada akuakultur berasal dari bakteri, yeast, mikroalgae, serta bakteriofag (Irianto, 2003). Beberapa spesies yang termasuk dalam kelompok organisme probiotik adalah *Cyanophyta* seperti *Spirulina*; bakteri heterotrof non pathogen (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Alteromonas*, *Cellulomonas*); bakteri denitrifikasi (*Aerobacter*, dan *Bividobacterium*); bakteri autotrof (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*); bakteri Fotosintetik (*Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Rhodococcus*, *Chromaticeae*); Mikroalgae (*Tetraselmis* dan

Chlorella), Actinomycetes (Sutanto dan Suprpto, 2004)) dan Yeast (*Saccharomyces cereviceae* dan *Candida albicans* (Yukasano, 2002). Poernomo (2004) menambahkan, kelompok bakteri yang sudah diproduksi secara komersial dan sudah diaplikasikan sebagai probiotik adalah *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Fotosintetik bacteria* seperti *Chromatium* (Purple-S. Bacteria), *Rhodopseudomonas* dan *Rhodobacter* spp (Purple non S. Bacteria) dan *Chlorobium* (Green Bacteria).

Seleksi mikroba untuk probiotik selama ini umumnya menggunakan pendekatan empirik sengan informasi ilmiah yang terbatas. Ketidaktepatan pemilihan metode seleksi seringkali menjadi penyebab kegagalan pengembangan probiotik (Irianto, 2003).

Sejumlah penelitian probiotik untuk akuakultur menggunakan strain yang sebenarnya bukan berasal dari hewan atau lingkungan akuatik. Keadaan ini dapat menghilangkan sifat-sifat yang umum pada habitat aslinya yaitu ketidak mampuan untuk menetap dan tumbuh pada lingkungan dimana probiotik tersebut diaplikasikan. Oleh karena itu seringkali probion hilang dari intestinum atau air kultivasi hanya beberapa hari setelah pemberian probion dihentikan (Nikoskelainen *et al*, 2001)

Pemahaman tentang mekanisme kerja probiotik merupakan hal yang sangat penting untuk menentukan kriteria pemilihan mikroba yang diinginkan Huis *et al*, 1994). Seleksi probion untuk manusia dan hewan terrestrial ditujukan pada mikroba GRAS (Generally Recognized As Safe) dan umumnya diisolasi dari flora mikroba normal inangnya. Penggunaan mikroba yang digolongkan sebagai GRAS untuk akuakultur belum dirumuskan dengan jelas. Beberapa spesies yag

pernah diteliti untuk probion akuakultur, dikenal pula sebagai pathogen pada ikan atau hewan akuatik lainnya seperti *Vibrio alginolyticus* dan *Pseudomonas* (Austin, 1999)

Secara umum prosedur penapisan dan pengembangan mikroba probion untuk akuakultur terdiri atas 8 tahapan utama, yaitu : 1) pengumpulan informasi dari literatur serta lapangan, seperti : informasi operasional tambak atau usaha akuakultur lain, manajemen produksi dan pengendalian penyakit. 2) penapisan mikroba, yaitu proses pemisahan mikroba dari campurannya. 3) pengujian isolat dalam menghambat mikroba pathogen secara in vitro dan in vivo, 4) pengujian patogenitas terhadap inang, 5) pengujian skala laboratorium termasuk melihat pengaruh calon probion secara in vivo terhadap variable imunologi, sintasan dan keragaan inang, serta uji tantang dengan pathogen, 6) Pengujian skala pilot, 7) pengujian skala lapangan, 8) analisa ekonomi (Irianto, 2003).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat patogenitas bakteri pektinolitik yang telah berhasil diisolasi dari tambak Lamongan dan Gresik terhadap ikan bandeng. Dengan diketahui sifat patogenitas, maka dapat ditentukan potensinya sebagai bahan dalam pengembangan probiotik dan diketahui batas dosis yang dapat digunakan sebagai probiotik antagonisme penekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*.

3.2 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan :

- Mengetahui sifat patogenitas silat bakteri pektinolitik yang berhasil diisolasi dari tambak Lamongan dan Gresik.
- Merupakan tahap seleksi terhadap bakteri sebagai bahan pengembangan probiotik antagonisme penekan pertumbuhan *Microcystis aeruginosa*.
- Menambah wahana keilmuan terutama dalam bidang akuakultur, khususnya bioremediasi.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di dua tempat :

- Kultur bakteri, pembuatan kurva baku dan penyiapan bakteri sebagai perlakuan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Unair.
- Uji patogenitas metode rendam dilakukan di Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.
- Uji patogenitas metode injeksi dilakukan di Kolam Ikan Pendidikan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga.

Penelitian ini dilaksanakan pada awal bulan Juli sampai dengan bulan Oktober 2006.

4.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan 5 perlakuan dan 1 kontrol. Masing-masing perlakuan dan kontrol diulang sebanyak 4 kali. Perlakuan yang diberikan adalah :

- A : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^1 sel/ml
- B : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^3 sel/ml
- C : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^5 sel/ml
- D : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^7 sel/ml
- E : Perendaman bandeng pada air dengan konsentrasi bakteri 10^9 sel/ml
- F : Tanpa perendaman bakteri (Kontrol)

4.3 Materi Penelitian

4.3.1 Peralatan Penelitian

Alat – alat yang digunakan untuk penyiapan bakteri adalah : petridish, erlenmeyer, tabung reaksi, ose, beaker glass, spatula, timbangan analitik, kompor, *laminar flow*, *magnetic stirrer*, bunsen, *water bath*, rak tabung reaksi, gelas ukur, *autoclave*, mikroskop, *incubator*.

Peralatan untuk perlakuan perendaman pada larva bandeng adalah ember plastik kapasitas 3 liter, aerator set, selang, kasa penutup bak plastic, batu aerasi, lup dan mikroskop. Sedangkan untk uji injeksi adalah spuit 1 ml, konstruksi kubus kayu dengan plastik sebagai wadah air, tanjaran sebagai tempat stok ikan dan serok.

Alat – alat yang digunakan untuk pengukuran parameter kualitas air tambak adalah : refraktometer untuk mengukur salinitas, DO meter untuk mengukur kandungan oksigen terlarut, pH pen untuk mengukur pH air dan thermometer untuk mengukur suhu.

4.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk media pemeliharaan bakteri pektinolitik adalah : media pektinolitik dengan komposisi sebagai berikut (dalam 500ml):

1. Bactopepton	: 15 gr (3%)
2. Yeast extract	: 2,5 gr (0,5%)
3. K_2HPO_4	: 0,5gr (0,1%)
4. $CaCl_2$: 0,005 gr (0,001%)
5. Na_2CO_3	: 2,5 gr (0,5%)
6. Agar	: 7,5 gr (1,5%)
7. Pektin	: 2,5 gr (0,5%)

(Applied Microbiotechnol, 1996 ; Keen et al., 1984 dalam Soriano, 2000).

Sedangkan untuk penyediaan konsentrasi bakteri sebagai perlakuan adalah Nutrient Brooth.

Bahan-bahan untuk uji perendaman dan injeksi adalah nener bandeng umur 1 minggu, fingerling bandeng umur 1 bulan, bakteri uji yaitu *Flavobacterium* dan *Pseudomonas*, PBS (Phospate Buffer Saline), pakan ikan, klorin dan tissue.

4.4. Pelaksanaan Penelitian

Isolat bakteri pektinolitik telah diperoleh dan diidentifikasi sampai tahap genus, yaitu *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Isolat bakteri ini akan diuji gelatinase yaitu untuk menentukan bakteri gelatinolitik atau bakteri yang menghasilkan enzim gelatinase. Selanjutnya dipilih 2 bakteri yang sekaligus memiliki kemampuan pektinolitik dan gelatinolitik. Spesies bakteri yang telah teridentifikasi, selanjutnya diuji sifat patogenitasnya terhadap bandeng. Uji patogenitas dilakukan menggunakan metode metode perendaman dan metode injeksi.

Uji patogenitas metode perendaman dilakukan pada larva bandeng dalam toples volume 3 liter. Toples diisi air sebanyak 2 liter dan diisi larva bandeng (nener) dengan jumlah 100 ekor per toples dan dilengkapi aerasi. Infeksi buatan dilakukan dengan memberikan bakteri pada kepadatan berbeda sebagai perlakuan, yaitu : 10^1 , 10^3 , 10^5 , 10^7 dan 10^9 sel/ml. Sebagai kontrol adalah bandeng tanpa pemberian bakteri. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Lama pemeliharaan adalah 14 hari (Roza, 1996). Sebagai parameter utama adalah

Survival Rate (%) dan tingkah laku ikan (cara berenang, nafsu makan dan keaktifan) serta adanya tanda-tanda klinis serangan bakteri. Parameter penunjang adalah suhu, DO dan pH air. Semua parameter diamati tiap hari. Rancangan penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap. Data diuji menggunakan ANOVA. Bila terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (Steel and Torrie, 1991)

Uji patogenitas metode injeksi dilakukan pada larva berukuran gelondongan, dalam wadah volume 20 liter. Wadah diisi $\frac{3}{4}$ volume dan diisi 5 ekor ikan, dilengkapi aerasi. Injeksi dilakukan secara intramuscular (IM) dengan kepadatan berbeda sebagai perlakuan, yaitu 10^1 , 10^3 , 10^5 , 10^7 dan 10^9 sel/ml sebanyak 0,2 ml (Murdjani dkk., 2005). Sebagai kontrol adalah bandeng tanpa pemberian bakteri. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Lama pemeliharaan adalah 14 hari. Setelah itu, ikan dibunuh dan dibuat preparat histopat terhadap insang dan hepar. Adanya tanda-tanda serangan bakteri diamati pada preparat histopat. Selain itu dilakukan pula pengamatan terhadap warna insang, warna ginjal, adanya haemoragic pada kulit dan insang serta tingkah laku ikan selama pemeliharaan. Sebagai parameter penunjang adalah suhu, DO dan pH air.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Uji Patogenitas dengan Metode Rendam

5.1.1.1 Kelulushidupan Nener Bandeng

Persentase kelulushidupan nener bandeng dihitung pada pengamatan hari ke-14 sebagai parameter utama. Data persentase kelulushidupan nener bandeng setelah perendaman dengan bakteri *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* masing-masing disajikan pada Tabel 5.1 dan 5.2 berikut :

Tabel 5.1. Hasil Pengamatan Uji Patogenitas *Flavobacterium* terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14)

Ulangan	Persentase <i>survival rate</i> nener bandeng pada akhir pengamatan					
	A	B	C	D	E	F
1	97	100	98	98	100	96
2	97	90	100	94	99	98
3	96	97	98	100	97	97
4	97	91	95	99	97	100
Total	387	378	391	391	393	391
Rata-rata	96,75	94,5	97,75	97,75	98,25	97,75

Tabel 5.2. Hasil Pengamatan Uji Patogenitas *Pseudomonas* terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14)

Ulangan	Persentase <i>survival rate</i> nener bandeng pada akhir pengamatan					
	A	B	C	D	E	F
1	99	99	100	99	97	94
2	98	92	99	94	98	95
3	90	98	97	97	99	94
4	100	97	92	98	99	100
Total	387	376	388	388	393	383
Rata-rata	96,75	96,5	97	97	98,25	95,75

5.1.1.2 Tingkah Laku Nener Bandeng

Tingkah laku nener bandeng diamati selama perendaman dengan kedua bakteri dan disajikan pada Tabel 5.3 dan 5.4 berikut :

Tabel 5.3 Pengamatan Tingkah Laku Nener Bandeng Selama Perlakuan *Flavobacaterium*

Ulangan	Tingkah laku nener bandeng selama perendaman <i>Flavobacaterium</i>					
	A	B	C	D	E	F
1	normal	normal	normal	normal	normal	normal
2	normal	normal	normal	normal	normal	normal
3	normal	normal	normal	normal	normal	normal
4	normal	normal	normal	normal	normal	normal

Tabel 5.4 Pengamatan Tingkah Laku Nener Bandeng Selama Perlakuan *Pseudomonas*

Ulangan	Tingkah laku nener bandeng selama perendaman <i>Pseudomonas</i>					
	A	B	C	D	E	F
1	normal	normal	normal	normal	normal	normal
2	normal	normal	normal	normal	normal	normal
3	normal	normal	normal	normal	normal	normal
4	normal	normal	normal	normal	normal	normal

5.1.1.3 Kualitas Air

Kualitas air media perlakuan selama penelitian relatif masih sesuai untuk kehidupan ikan bandeng. Oksigen terlarut, pH dan suhu air masing-masing berkisar antara 5-6 ppm, 7-8 dan 27-29°C.

5.1.2 Uji Patogenitas dengan Metode Injeksi

Uji patogenitas menggunakan metode injeksi dilakukan pada bandeng ukuran fingerling. Uji ini tidak berhasil dilaksanakan. Pada awalnya direncanakan dilakukan metode standar uji patogenitas dengan injeksi seperti yang dilakukan pada spesies ikan lain (disamping metode rendam). Namun ketika metode tersebut diterapkan pada ikan bandeng, ikan selalu mengalami kematian sebelum berhasil diinjeksi. Ikan selalu mengalami kematian ketika masa adaptasi pada wadah perlakuan.

Beberapa wadah yang telah dicobakan adalah :

- Bak plastik kapasitas 16 liter bening
- Bak plastik kapasitas 25 liter bening
- Bak plastik kapasitas 1 m³ warna merah
- Bak plastik kapasitas 1 m³ warna hitam

- Bak plastik kapasitas 1 m³ bening

Tiap wadah perlakuan diatas sudah dicoba dengan bermacam penggunaan air :

- Air PDAM tanpa klorinasi
- Air PDAM dengan klorinasi
- Air kolam dengan klorinasi
- Air kolam tanpa klorinasi

Semua usaha untuk adaptasi diatas tidak menghasilkan kelulushidupan fingerling bandeng seperti yang diharapkan untuk persiapan perlakuan dengan kejadian berikut :

- Awal adaptasi, ikan gelisah, berenang lebih cepat dengan gerakan panik, tidak mau makan.
- Adaptasi lebih kurang 12 jam, ikan berenang lamban, kadang dengan posisi kepala condong ke bawah dan tidak mau makan
- Setelah adaptasi 24 jam beberapa ikan mulai mati
- Pada hari kedua, seluruh ikan mati

Setelah melalui berbagai upaya, akhirnya didapatkan wadah yang mampu menghasilkan kelulushidupan ikan selama masa adaptasi. Hal tersebut dicapai dengan cara membuat konstruksi kayu berbentuk kubus, kemudian diberi kantong plastik. Rangkaian ini ditenggelamkan ke kolam. Dengan cara demikian ikan bandeng bisa bertahan hidup.

Kendala ditemui lagi karena pada saat perlakuan, ikan selalu mati 24 jam setelah dipegang dan disuntik. Kematian tidak saja terjadi pada ikan yang diberi perlakuan suntik, tetapi ikan kontrol juga mengalami kematian. Dari keadaan ini disimpulkan bahwa kematian ikan setelah 24 jam, bukan karena perlakuan injeksi bakteri, tetapi karena penanganan selama perlakuan. Belum ditemukan literatur yang menjelaskan hal ini. Selain itu, juga belum ditemukan literatur uji patogenitas pada

ikan bandeng dengan metode injeksi ukuran fingerling. Uji patogenitas pada bandeng hanya ditemui pada ukuran larva.

5.2 Pembahasan

5.2.1 Uji Patogenitas Metode Rendam

Hasil percobaan diketahui bahwa kedua isolat bakteri pektinolitik yaitu *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* tidak patogen terhadap nener bandeng sampai kepadatan 10^9 sel /ml selama perendaman 14 hari, baik pada perlakuan maupun kontrol. Hal ini dimungkinkan karena nener bandeng memiliki ketahanan lebih tinggi terhadap kedua jenis bakteri dibanding spesies ikan lain yang pernah diteliti.

Beberapa penelitian terdahulu membuktikan larva bandeng memiliki ketahanan lebih tinggi dibanding jenis ikan lain, baik terhadap *Flavobacterium* maupun *Pseudomonas*. Ikan *Onchorynchus mykiss* mengalami kematian pada perendaman dengan *Pseudomonas fluorescens* setelah 15 hari dengan konsentrasi 10^5 sel/ml (Lone, 1999). Sedangkan dengan perendaman *Flavobacterium psychrophilum*, ikan *Onchorynchus mykiss* mengalami kematian pada dosis 10^6 sel/ml setelah perendaman 14 hari (Celine, 2000). Bakteri *Pseudomonas plecoglossicida* bersifat patogen terhadap ikan *Plecoglossus altivelis* pada dosis 10^4 sel/ml, 14 hari setelah perlakuan (Park, 2000).

Selain lebih tahan terhadap *Flavobacterium* dan *Pseudomonas*, larva bandeng juga lebih tahan terhadap *Vibrio*, dibanding jenis ikan lain. Hasil penelitian Roza dkk. (1996) mendapatkan bahwa larva bandeng yang direndam tiga jenis *Vibrio* yaitu *Vibrio alginolyticus*, *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* sampai kepadatan 10^9 sel /ml, tidak mengalami kematian yang berarti. Dapat dikatakan bahwa bakteri *Vibrio alginolyticus*, *V. harveyi* dan *V. parahaemolyticus* tidak bersifat patogen bagi larva

bandeng sampai kepadatan 10^9 sel /ml. Sedangkan terhadap larva udang windu, *Vibrio harveyi* sudah menyebabkan kematian 100% dalam waktu 24 jam dengan perendaman $8,35 \times 10^4$ sel /ml (Zafran dan Roza,1993). Lee *et al* (1996) mendapatkan LD_{50} *Vibrio alginolyticus* terhadap *Pennaeus monodon* setelah 7 hari dengan perlakuan 10^6 sel / ml. Hameed (1995) mendapatkan LD_{50} *Vibrio campbelli* terhadap *Pennaeus monodon* pada dosis 10^6 sel / ml setelah perendaman 3 hari. Roza dkk (2001) mendapatkan bahwa *V. varveyi* bersifat patogen terhadap larva kepiting pada perendaman 10^4 sel/ml jam. Roza dkk (1996) menyarankan penelitian tentang faktor pakan dan kecukupan gizi (kualitas pakan), terutama pakan alami sebagai faktor utama penyebab kematian ikan bandeng. Karena penggunaan pakan berkualitas rendah sering menyebabkan terjadinya kasus kematian dengan kepala lebih besar dibanding bagian tubuh lain yang sering dikenal dengan istilah *kepala gentong*. Selain itu penyakit yang sering menyerang larva bandeng adalah mata perak. Penyakit ini ditandai dengan bandeng tidak mau makan karena mata tidak berfungsi akibat sinar matahari terlalu tinggi . larva cenderung bergerak berputar tidak beraturan dan akan mati setelah 24 – 48 jam.

Pengamatan terhadap tingkah laku selama penelitian juga menunjang bahwa nener bandeng tidak terpengaruh oleh perlakuan perendaman bakteri yang diberikan. Selama penelitian, tingkah laku nener bandeng tetap gesit, nafsu makan normal serta tidak menunjukkan gejala terserang penyakit seperti berenang lamban, berputar-putar, mengambang ataupun megap-megap. Menurut Ahmad, *et al* (2000), gejala yang umum terjadi pada bandeng bila terserang penyakit adalah bergerak berputar tidak beraturan dan biasanya setelah 24 – 48 jam akan mengalami kematian.

Pada akhir penelitian dilakukan pengamatan terhadap kondisi kulit dan insang nener bandeng. Hasil pengamatan tidak menunjukkan gejala serangan bakteri

Flavobacterium maupun *Pseudomonas*. Menurut Inka (2004), salah satu gejala terjadinya serangan *Pseudomonas* pada ikan adalah munculnya luka pada tubuh ikan. Infeksi *Pseudomonas anguilli* ditandai dengan munculnya luka kemerahan di sekitar mulut, operkulum dan daerah ventral. Sedangkan infeksi *Pseudomonas fluorescent* ditandai dengan adanya kerusakan sirip dan ekor, luka-luka berdarah pada kulit, hemoragic pada insang, ginjal, hati dan usus. Infeksi *Pseudomonas chlororaphis* ditandai dengan adanya haemoragic pada permukaan tubuh dan adanya cairan pada rongga perut. Luka terbuka yang terjadi dapat menyebabkan ikan menjadi sangat lemah. Pada kondisi yang parah dimana terjadi kerusakan kulit yang luas, dapat mengakibatkan gangguan pada sistem pengaturan osmotik ikan dan menyebabkan ikan rentan terhadap infeksi sekunder. Sedangkan *Flavobacterium* merupakan bakteri yang secara umum diketahui sering menjadi penyebab penyakit pada ikan ornamental seperti granuloma atau penonjolan mata pada ikan molly (*Molliensia sphaenops*). Ikan yang terinfeksi menjadi kurus dan pucat, terjadi nodul-nodul putih pada organ-organ dalam, retina khoroid dan otak (Irianto, 2005).

Tingkat patogenitas bakteri terhadap inang berbeda-beda, dipengaruhi oleh faktor pertahanan inang dalam melawan patogen maupun faktor patogenitas yang ada pada patogen (kemampuan memproduksi toksin, enzim, mengatasi ketahanan inang serta kecepatan berkembang biak). Bakteri memiliki plasmid sebagai faktor keganasan. Perbedaan jenis plasmid yang dimiliki tiap bakteri menyebabkan perbedaan tingkat keganasan (Kamiso, 1996). Sementara itu, inang (ikan) memiliki salah satu sistem pertahanan tubuh berupa protein (laktoferin dan transferin). Protein tersebut akan mengikat zat besi sebagai unsur esensial yang dibutuhkan bakteri sehingga bakteri tidak dapat bertahan hidup (Neilands, 1981 dan Irianto, 2005).

Tidak semua ikan akan mengalami sakit ketika terjadi serangan patogen. Beragam faktor mempengaruhi tiap individu dalam menanggapi suatu patogen potensial. Patogen harus dapat menembus sistem imun ikan untuk dapat menimbulkan penyakit. Daya tahan alami memungkinkan suatu hewan menjadi terbebas dari serangan patogen karena tidak adanya jaringan spesifik atau reseptor seluler bagi kolonisi patogen atau tidak mampu mendukung syarat-syarat optimum terhadap kecukupan nutrisi maupun parameter lingkungan bagi pertumbuhan patogen (Irianto, 2005).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri pektinolitik *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* yang diujikan, tidak bersifat patogeni terhadap ikan bandeng. Dengan demikian, kedua isolat bakteri tersebut dapat direkomendasikan untuk skrining tahap selanjutnya guna pengembangan probiotik untuk menekan *Microcystis aeruginosa*. Kandidat bakteri penyusun probiotik harus tidak memiliki efek negatif terhadap keseimbangan ekologi perairan dan tidak bersifat patogen terhadap ikan yang dipelihara. Oleh karena itu, dalam upaya pengembangan kombinasi bakteri probiotik ini, uji patogenitas dan dampak terhadap komposisi phytoplankton dan zooplankton, kualitas air dan ikan yang dipelihara harus dilakukan dengan ketat.

Data kualitas air selama penelitian berada pada kisaran normal, relatif sesuai untuk kehidupan ikan bandeng, walaupun selama penelitian tidak dilakukan penyiponan. Penyiponan tidak dilakukan dengan pertimbangan untuk menghindari berkurangnya konsentrasi bakteri perlakuan melalui air yang terbuang. Nilai parameter kualitas air yang normal selama penelitian, dimungkinkan sebagai hasil kombinasi beberapa hal berikut :

- Pemberian aerator yang menambah suplai oksigen serta pemberian pakan secara *ad libitum* yang meminimalkan sisa bahan organik dalam perairan.

- Sifat bakteri *Pseudomonas* yang oportunistik dimana pada keadaan normal, bakteri tersebut ada pada lingkungan perairan atau tubuh ikan tanpa menimbulkan penyakit. Bakteri akan menimbulkan penyakit pada saat terjadi stress atau daya tahan tubuh ikan menurun.
- Sifat bakteri oportunistik yang umumnya saprofitik (Irianto, 2005), sehingga mampu mendekomposisi sisa pakan dan feses ikan. Didukung adanya aerasi, maka oksigen akan tersedia sehingga proses dekomposisi terjadi secara aerobik yang cenderung tidak menghasilkan asam organik seperti H₂S yang bersifat racun.
- Suhu perairan yang normal, sehingga mendukung sistem imun ikan dengan baik. Irianto (2005) menjelaskan bahwa sistem imun ikan sangat terpengaruh suhu karena ikan bersifat poikilothermal.

5.2.2 Uji Patogenitas Metode Injeksi

Matinya gelondong bandeng selama adaptasi dalam wadah kemungkinan disebabkan karena fluktuasi suhu antara siang dan malam yang tidak mampu ditolerir oleh bandeng. Menurut Hadi dan Supriatna (1988 dalam Trisyani, 1997), bandeng toleran terhadap suhu tinggi hingga mencapai 40^oC, namun sangat sensitif terhadap suhu dingin, yang dapat menyebabkan kematian. Volume air dalam bak kemungkinan tidak mampu mempertahankan panas yang telah diserap air hingga dini hari. Sehingga fluktuasi air tidak mampu ditolerir bandeng. Pada kolam yang memiliki kepadatan plankton cukup (kecerahan 40 – 60 cm), fluktuasi suhu antara siang dan malam cenderung lebih tidak bergejolak dibanding perairan miskin plankton. Hal ini disebabkan molekul plankton mampu mempertahankan panas lebih lama setelah tidak ada panas matahari (matahari tenggelam). Panas dilepaskan secara perlahan, sehingga

selama malam hari, suhu air terpelihara tidak terlalu dingin. Dengan kata lain, berfluktuasi tidak terlalu dingin. Sedangkan molekul air cenderung lebih cepat melepaskan panas. Sehingga setelah tidak ada cahaya matahari, panas yang telah diserap molekul air dengan cepat dilepaskan. Akibatnya suhu perairan pada malam air menjadi lebih dingin. Dengan kata lain, fluktuasi menjadi lebih besar (Sachlan, 1981).

Kematian bandeng yang dipelihara di kolam, setelah penyuntikan, kemungkinan disebabkan karena bandeng mengalami stress. Penjelasan secara teori belum ditemukan. Penjelasan diperoleh dari praktisi lapang, bahwa ikan bandeng membutuhkan penanganan yang benar-benar halus. Sebagai contoh, pemindahan bandeng dari satu tempat ke tempat lain dengan cara mengayunkan air di sekitar ikan, bukan dengan memegang ikan, walaupun ikan bandeng tersebut sudah berukuran besar (lebih besar dari fingerling). Sehingga upaya untuk menangkap, memegang dan menyuntik bandeng, dimungkinkan sudah mengakibatkan ikan mengalami stres dan mati.

Upaya mencari metode adaptasi pra perlakuan tersebut memakan waktu cukup lama (3 bulan), sehingga uji patogenitas metode injeksi belum berhasil dilakukan dengan waktu penelitian yang tersedia. Walaupun begitu, masih akan dicoba upaya lain yaitu memegang ikan menggunakan kaos tangan dan spon. Walaupun belum mendapatkan hasil tentang uji patogenitas pada ikan bandeng dengan metode injeksi, namun tahapan penelitian ini setidaknya memberikan informasi bagaimana penanganan bandeng dalam penelitian laboratorium.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menyimpulkan :

- Bakteri pektinolitik hasil isolasi dari tambak daerah Lamongan dan Gresik yaitu *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* yang diujikan, tidak bersifat patogen terhadap larva bandeng, pada perendaman selama 14 hari, masing –masing sampai kepadatan 10^9 sel / ml

6.2 Saran

Berdasar hasil penelitian, disarankan hal-hal sebagai berikut :

- Dilakukan skrening lanjutan terhadap bakteri pektinolitik tersebut sesuai tahapan skreening yang harus dipenuhi dalam standar pengembangan probiotik lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2006. Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri. Pusat Karantina Ikan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Austin, B. 1999. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farmed and Wild Fish. 3rd edition. Springer-Praxix, Goldaming.
- Ball AS., Williams M., Vincent D and Robinson J. 2001. Algal Growth Control by a Barley Straw Extract. Applied and Environmental Microbiology, 66(11) : 2321-2340.
- Bekri, M, A., J. Desair., V. Keijers., P. Proost., M. S. Leeuwen., J. Vanderleyden and A. Broek. 1999. *Azospirillum irakense* Produces a Novel Type of Pectate Lyase. Journal of Bacteriology 181(8) : 2440 – 2447.
- Boyd, C.E.,1979. Water Quality Management in Pond Fish Culture. Lieberman Press. Canada
- Boyd, C.E. 1987. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Proyek Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- Doran, J.2000. Final Report For Screening of *Aspergillus niger* Strains for Enzyme Production in Sugar Beet Pulp Fermentations to Produce Fuel Ethanol. Central Michigan University. 5 p.
- Garcia de La Banda. 2000. Influence of Lactic Acid Bacaterial Additives on Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Larvae Culture. Boletin di Institutio Espana. Oceanographie : 247 -254.
- Gomez-Gil, B. 1998. Evaluation of Potential probionts for Use in Penaeid Shrimp larval Culture. PhD Thesis. Institute of Aquaculture. University of Stirling. Stirling.
- Gonzales, E,T., and C. Allen. 2003. Molecular Plant Microbe Interaction 16 (6) : 536 – 544.
- Haryanti., G. N. Permana., S. B. Moria., N. A. Giri dan K. Sugama. 2002. Penggunaan Bakteri Probiotik *Alteromonas* sp. BY – 9 Dalam Pemeliharaan Larva Udang Melalui Pakan Alami dan Buatan. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia VIII, 5 : 55 – 66.
- Hameed, A.S.S. 1995. Susceptibility of Three *Penaeus* Species to a *Vibrio campbelli*-like bacterium. J. World Aqua. Soc., 26:315-319.
- Hoiczuk, E. dan A. Hansel. 2000. Cyanobacterial Cell Walls : News From an Unusual Prokaryotic Envelope. J, Bacteriol, 182 (5) : 1191 – 1199.

- Huis in't Veld; J.H.J Havenaar and Marteau, P.H. 1994. Establishing a Scientific Basis for Probiotic R&D. trends in biotechnology 12 : 6-8.
- Irianto, A. 2003. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press. 125 hal.
- Irianto, A. 2005. Patologi Ikan Teleostei. Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Isnansetyo dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Isnansetyo, A. 2005. Bakteri Antagonis sebagai Probiotik untuk Pengendalian Hayati pada Aquaculture. Jurnal Perikanan VII (1): Februari 2005.
- Jianzhong C, Z Liu and G. Ren. 2004. Control of *Microcystis aeruginosa* with batangas mandarin skin and dwarf banana peel. Water S.A J. 30(2)279-282.
- Lee, C.S., Gordon, M.S. and Watanabe, W.O. 1996. Aquaculture of Milk Fish (*Chanos chanos*) : State of The Art. The Oceanic Institute Makapu Point. USA.
- Lelana T.I.Y., 1993. The Effect of Dinoflagellata Blooming on Off Flavour of Channel catfish in Alabama. Doctoral Dissertation. Auburn University. Canada.
- Linn, J., 2002. The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome : Food and Agriculture Organization of The United Nations. Rome.
- Lowell, J. and B.R. Sackey, 1993. Earthy Musty Odor in Channel catfish and relativity with Water Quality. Auburn University. Canada.
- Manage, P., Z.E. Kawabata and S. Nakano. 2000. Algacidal Effect of The Bacterium *Alcaligenes denitrificans* on *Microcystis* spp. Aquat Microb Ecol. 22:111-117
- Masithah, E.D., Laksmi S. dan Juni T. Isolasi Bakteri Pektinolitik Asal Tanah Tambak Sebagai Bahan Pendegradasi Dinding Sel *Microcystis aeruginosa* Penyebab Cita Rasa Lumpur Ikan Bandeng di Tambak Kabupaten Lamongan. Laporan Penelitian. Program Studi budidaya Perairan. Fakultas kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Moriarty, D, J, W. 1998. Control of Luminous *Vibrio* Species in Penaeid Aquaculture Ponds. Aquaculture 164 :351 – 358.
- Mudjiman, A. 1982. Makanan Ikan. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Nikoskelainen, S; A. Ouwehand; G. Bylund; S. Salminen and E.M. Lilius. 2001. Benefit of a Human probiotic Strain *Lactobacillus rhamnosus* for The Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) Health. In Books of Abstract. European Association of Fish Pathologists Tenth international Conference "Disease of fish and Shellfish". 9th – 14th September 2001.
- Nganro, N.R., I Nyoman P.A., Pingkan, A dan Dea I.A. Pengembangan Paket produk Bakteri Penghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen *Vibrio* pada Budidaya Tambak Udang. Departemen Biologi. Institut Teknologi Bandung.
- Paerl, H, W. 1988. Growth And Reproductive Strategies Of Fresh Water Phytoplankton. Cambridge University Press. pp.261 – 315.
- Park, S.C. 2000. Isolation of Bacteriophages Specific to a Fish Pathogen, *Pseudomonas plecoglossida*, as Candidate for Disease Control. Applied and Environmental Microbiology 66 : 1416 – 1422.
- Poernomo, A. 2004. Teknologi Probiotik Untuk Mengatasi Permasalahan Tambak Udang dan Lingkungan Budidaya. Makalah Seminar The National Symposium on Development and Scientific and Tecnology Innovation in Aquaculture, Semarang, 27 – 29 Januari 2004. 24 hal
- Pribadi, J. 2002. Probiotik Dalam Budidaya Udang. Majalah Mitra Bahari Edisi VII (3) : 140 – 147.
- Ridge I and J.M. Pillinger, 1994. Towards Understanding the Nature of Algal Inhibitors From Barley Straw. Hydrobiol. 340; 301-305.
- Ridge I, John Walters and Mike Street.1995. Algal Growth Control by Terrestrial Leaf Litter. Hydrobiol. 395/396 : 173-180.
- Roza, D.; T. Aslianti; Zafran dan I. Taufiq. 1996. Uji Patogenitas bakteri *Vibrio* yang Dominan di Pantan Benih Skala Rumah Tangga terhadap Larva Bandeng (*Chanos chanos* Forsskal). Jurnal penelitian Perikanan indonesia. Vol.II No.3 tahun 1996.
- Sachlan, M. 1981. Planktonologi. Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro.
- Schlegel, H, G. 1994. Mikrobiologi Umum. Gadjah Mada University Press. 688 hal.
- Schroeder, 1998. Fish mariculture, A Practical Manual. Departemen of Fisheries. The University of papua New Guinea. Port Moresby. Papua New Guinea
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1991. Principles and Procedures of Staistics. A Biometrical Approach. International Student Edition. McGraw Hill international Book Company. 633 pp.

- Susanto, B., I. Setyadi, D. Syahidah, M. Marzuqi dan I. Rusdi. 2005. Penggunaan bakteri Probiotik sebagai Kontrol Biologi dalam Produksi Massal Benih Rajungan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11 : 1
- Sutanto, I. dan Suprpto. 2004. Peranan Probiotik Dalam Budidaya Udang Intensif. Makalah Seminar The National Symposium on Development and Scientific and Tecnology Innovation in Aquaculture, Semarang, 27 – 29 Januari 2004. 22 hal.
- Kersten, J., Y. Guan and C. Allen. 1998. *Ralstonia solanacearum* Pectin Methylesterase Is Required for Growth on Methylated Pectin but Not for Bacterial Wilt Virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12) : 4918 – 4923.
- Tardy, F., W. Nasser., J.R. Baudouy and N. H. C. Pattat. 1997. Comparative Analysis of the Five Major Erwinia chrysanthemi Pectat Lyases : Enzyme Characteristics and Potential Inhibitors. *Journal of Bacteriology* 179 (8) : 2503 – 2511.
- Trisyani, N. 1997. Hubungan Antara Kualitas Air Tambak Dan Pertumbuhan Alga Cyanophyceaea Terhadap Citarasa Lumpur Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal). Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 92 hal.
- Verschuere. L., G. Rombaut., P. Sorgeloos and W. Verstraete. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 655 – 671. <http://mmbbr.asm.org/cgi/content/full/64/4/655/T1>
- www.genome.jp. 2005. Database Enzyme Search Term : Pectin. http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bfind_sub?mode=bfind&max_hit=1000&dbkey=enzyme&keywords=pectin. 4 hal
- Yamamoto Y. and Suzuki K. 1993. Distribution and Algal-lysing Activity of Fruiting Myxobacteria in Lake Suwa. *J. Phycol* 26:457-492.
- Yamamoto Y., Nuzuma S., Kuroda N., Sakamoto M. 1993. Occurrence of Heterothrophic Bacteria causing Lysis of Cyanobacteria in Euthrophic Lake. *J. Phycol* 41:215-220.
- Yukasano, D. 2002. Teknik Mengontrol Mikroba Dalam Budidaya Udang Intensif. *Majalah Mitra Bahari Edisi VII* (3) : 140 – 147.

Lampiran 1. Hasil Pengamatan Terhadap Jumlah Ikan yang Mati pada Tiap Perlakuan Konsentrasi *Flavobacterium*

Pengamatan hari ke-	Ulangan ke -	Jumlah ikan yang mati pada perlakuan konsentrasi <i>Flavobacterium</i> (ekor)					
		10^1 sel/ml (A)	10^3 sel/ml (B)	10^5 sel/ml (C)	10^7 sel/ml (D)	10^9 sel/ml (E)	Kontrol (F)
2	1	0	0	0	2	0	2
	2	1	3	0	1	0	1
	3	0	0	0	0	1	0
	4	0	4	0	1	1	0
4	1	0	0	1	0	0	0
	2	0	0	0	3	0	0
	3	2	0	0	0	0	1
	4	0	4	1	0	0	0
6	1	1	0	0	0	0	0
	2	0	5	0	0	0	0
	3	0	0	1	0	0	2
	4	3	0	2	0	1	0
8	1	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	1	0	0
	3	0	2	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	1	0
10	1	1	0	0	0	0	0
	2	2	0	0	0	0	1
	3	0	1	0	0	0	0
	4	0	0	2	0	0	0
12	1	0	0	0	0	0	2
	2	0	2	0	1	0	0
	3	0	0	1	0	2	0
	4	0	0	0	0	0	0
14	1	1	0	1	0	0	0
	2	0	0	0	0	1	0
	3	2	0	0	0	0	0
	4	0	1	0	0	0	0

Lampiran 2. Hasil Uji Anova terhadap Data Uji Patogenitas *Flavobacterium* terhadap Nener Bandeng

Tabel Hasil Pengamatan Uji Patogenitas *Flavobacterium* terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14)

Ulangan	Rata-rata persentase <i>survival rate</i> nener bandeng pada akhir pengamatan					
	A	B	C	D	E	F
1	97	100	98	98	100	96
2	97	90	100	94	99	98
3	96	97	98	100	97	97
4	97	91	95	99	97	100
Total	387	378	391	391	393	391
Rata-rata	96,75	94,50	97,75	97,75	98,25	97,75

$$FK = \frac{(2331)^2}{6 \times 4} = 226398,375$$

$$JKT = 97^2 + 97^2 + 96^2 + \dots + 100^2 - FK = 156,625$$

$$JKP = \frac{(387)^2 + (378)^2 + \dots + (391)^2}{4} - FK = 37,875$$

$$JKS = JKT - JKP = 118,75$$

$$KTP = \frac{37,875}{t-1} = \frac{37,875}{5} = 7,5750$$

$$KTS = \frac{118,75}{t(n-1)} = \frac{118,75}{18} = 6,5972$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KTP}{KTS} = 1,1482$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	37,875	7,575	1,1482	2,77	4,25
Sisa	18	118,750	6,5972			
Total	23	156,625				

Hasil sidik ragam = F hitung < F table

Berarti tidak terdapat perbedaan diantara perlakuan

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q 5\% (t, \text{ db sisa}) \times \frac{\text{KTS}}{n} \\
 &= 4,49 \times \frac{6,5972}{4} \\
 &= 4,49 \times 1,2842 \\
 &= 5,77
 \end{aligned}$$

Perlakuan	x	x - B	x - A	x - C	x - D	x - F	BNJ 5%
E	98,25 ^a	3,75	1,50	0,50	0,50	0,50	5,57
F	97,75 ^a	3,25	1,00	0	0		
D	97,75 ^a	3,25	1,00	0			
C	97,75 ^a	3,25	1,00				
A	96,75 ^a	2,25					
B	94,50 ^a						

Kesimpulan : antara perlakuan tidak menunjukkan perbedaan (tidak berbeda nyata)

Lampiran 3. Hasil Pengamatan Terhadap Jumlah Ikan yang Mati pada Tiap Perlakuan Konsentrasi *Pseudomonas*

Pengamatan hari ke-	Ulangan ke -	Jumlah ikan yang mati pada perlakuan konsentrasi <i>Pseudomonas</i> (ekor)					
		10 ¹ sel/ml (A)	10 ³ sel/ml (B)	10 ⁵ sel/ml (C)	10 ⁷ sel/ml (D)	10 ⁹ sel/ml (E)	Kontrol (F)
2	1	0	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	3
	3	3	0	0	0	1	0
	4	0	2	1	0	0	0
4	1	0	0	0	0	0	1
	2	0	2	0	1	0	0
	3	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	3	0	0	0
6	1	0	0	0	0	0	2
	2	0	2	0	1	0	0
	3	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0
8	1	1	0	0	0	2	0
	2	0	0	0	3	0	0
	3	2	0	1	0	0	3
	4	0	0	2	0	0	0
10	1	1	0	0	0	0	0
	2	0	4	0	0	0	0
	3	0	0	1	0	0	0
	4	0	0	2	0	1	0
12	1	0	0	0	0	0	2
	2	0	0	1	1	1	0
	3	1	2	0	3	0	3
	4	0	0	0	0	0	0
14	1	0	0	0	1	1	1
	2	2	0	0	0	1	2
	3	1	0	0	0	0	0
	4	0	1	0	2	0	0

Lampiran 4. Hasil Uji Anova terhadap Data Uji Patogenitas *Pseudomonas* terhadap Nener Bandeng

Tabel Hasil Pengamatan Uji Patogenitas *Pseudomonas* terhadap Nener Bandeng pada Akhir Perlakuan (hari ke-14)

Ulangan	Rata-rata persentase <i>survival rate</i> nener bandeng pada akhir pengamatan					
	A	B	C	D	E	F
1	99	99	100	99	97	94
2	98	92	99	94	98	95
3	90	98	97	97	99	94
4	100	97	92	98	99	100
Total	387	376	388	388	393	383
Rata-rata	96,75	96,50	97,00	97,00	98,25	95,75

$$FK = \frac{(2325)^2}{6 \times 4} = 225234,375$$

$$JKT = 99^2 + 98^2 + 90^2 + 100^2 + 99^2 + 92^2 + 97^2 + 97^2 + 99^2 + 94^2 + 98^2 + 95^2 - FK = 156,625$$

$$JKP = \frac{(387)^2 + (386)^2 + \dots + (383)^2}{4} - FK = 13,375$$

$$JKS = JKT - JKP = 171,25$$

$$KTP = \frac{13,375}{t-1} = \frac{13,375}{5} = 2,675$$

$$KTS = \frac{171,25}{t(n-1)} = \frac{171,25}{18} = 9,5139$$

$$F \text{ hitung} = \frac{KTP}{KTS} = 0,2812$$

Tabel Analisis Sidik Ragam

Sumber Keragaman	d.b	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	5	13,375	2,675	0,2812	2,77	4,25
Sisa	18	171,250	9,5139			
Total	23	184,625				

Hasil sidik ragam = F hitung < F table
 Berarti terdapat perbedaan diantara perlakuan

$$\begin{aligned}
 \text{BNJ 5\%} &= Q 5\% (t, \text{ db sisa}) \times \frac{\text{KTS}}{n} \\
 &= 4,49 \times \frac{9,5139}{4} \\
 &= 4,49 \times 1,5422 \\
 &= 6,9245
 \end{aligned}$$

Perlakuan	x	x - F	x - B	x - A	x - D	x - C	BNJ 5%
E	98,25 ^a	2,5	1,75	1,50	1,25	1,25	6,92
C	97,00 ^a	1,25	0,50	0,25	0		
D	97,00 ^a	1,25	0,50	0,25			
A	96,75 ^a	1,00	0,25				
B	96,50 ^a	0,75					
F	95,75 ^a						

Kesimpulan : antara perlakuan tidak menunjukkan perbedaan (tidak berbeda nyata)