

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL PROBIOTIK DENGAN  
DOSIS BERBEDA TERHADAP TINGKAT IMUNITAS IKAN KERAPU  
MACAN *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

**SKRIPSI**

**Oleh**

**RAFIF MUAMMAR GHANI**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN  
JURUSAN PERIKANAN DAN KELAUTAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2020**

## **ABSTRACT**

### **THE EFFECT OF PROBIOTIC MICROCAPSUL USING DIFFERENT DOSAGE ON THE IMMUNITY OF TIGER GROUPER FISH *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

**By**

**RAFIF MUAMMAR GHANI**

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, antibody titer, clinical symptoms, survival rate, and relative percent survival (RPS). 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

## ABSTRAK

### **PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL PROBIOTIK DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP TINGKAT IMUNITAS IKAN KERAPU MACAN *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

Oleh

**RAFIF MUAMMAR GHANI**

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 diinfeksi 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, titer antibodi, gejala klinis, sintasan, dan *relative percent survival* (RPS). 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

**PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL PROBIOTIK DENGAN  
DOSIS BERBEDA TERHADAP TINGKAT IMUNITAS IKAN KERAPU  
MACAN *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

**Oleh**

**RAFIF MUAMMAR GHANI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERIKANAN**

**Pada**

**Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2020**

Judul Skripsi : **PENGARUH PEMBERIAN MIKROKAPSUL PROBIOTIK DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP TINGKAT IMUNITAS IKAN KERAPU MACAN *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)**

Nama Mahasiswa : **Rafif Muammar Ghani**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1514111011

Program Studi : Budidaya Perairan

Jurusan : Perikanan dan Kelautan

Fakultas : Pertanian



**Wardiyanto, S.Pi., M.P.**

NIP. 196907052001121001

**Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc.**

NIP. 197911182002122001

**2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan**

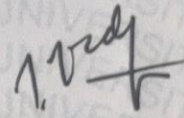
**Ir. Siti Hudaidah, M.Sc.**

NIP. 196402151996032001

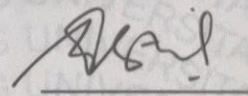
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

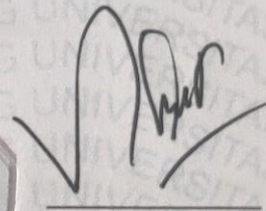
**Ketua : Wardiyanto, S.Pi., M.P.**



**Sekretaris : Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. Abdullah Aman Damai, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**  
NIP. 19611020 198603 1 002

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 17 Desember 2019**



## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (Sarjana/Ahli Madya), baik di Universitas Lampung maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya tulis ini serta sanksi lainnya yang sesuai dengan norma yang berlaku di Perguruan Tinggi ini.

Bandar Lampung, 28 Januari 2020



Rafif Muammar Ghani

NPM. 1514111011

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada 19 Maret 1998 sebagai anak pertama dengan empat bersaudara, dari Bapak Dadan Suhendar dan Ibu Lies Wahyuni. Pendidikan yang pernah ditempuh oleh penulis yaitu Taman Kanak-Kanak (TK) Setia Kawan Bandar Lampung (2002-2003), Sekolah Dasar Negeri 2 Panjang Utara Bandar Lampung (2003-2009), Sekolah Menengah Pertama Negeri 5 Bandar Lampung (2009-2012), dan Sekolah Menengah Atas Negeri 12 Bandar Lampung (2012-2015). Tahun 2015, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berorganisasi menjadi ketua koordinator publikasi dekorasi dan dokumentasi Panitia Khusus (Pansus) Unila tahun 2016, anggota bidang studi dan syiar islam Forum Studi Islam Fakultas Perikanan (FOSI FP) tahun 2016/2017, anggota bidang pengembangan dan penelitian Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) tahun 2016/2017, serta ketua bidang pengembangan dan penelitian Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) tahun 2017/2018. Penulis juga pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Ikhtiologi dan Oceanografi Umum pada tahun 2016/2017, serta



Mikrobiologi Akuatik dan Teknologi Produksi Udang pada tahun 2017/2018. Selanjutnya, penulis telah melaksanakan Praktik Umum (PU) pada Januari-Februari 2018 di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Lampung dengan Judul **“Identifikasi Bakteri Penyebab Penyakit Pada Ikan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Lampung”** dan penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Kampung Baru, Kecamatan Pematang Sawa, Kabupaten Tanggamus selama 40 hari pada Juli-Agustus 2018. Pada tahun 2019, penulis melakukan penelitian dan menyelesaikan tugas akhir dengan menulis skripsi yang berjudul **“Pengaruh Pemberian Mikrokapsul Probiotik Dengan Dosis Berbeda Terhadap Tingkat Imunitas Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)”**.

## MOTIVASI

*Katakanlah: "Hai hamba-hamba-Ku yang malampaui batas terhadap diri mereka sendiri, janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya Allah mengampuni dosa-dosa semuanya. Sesungguhnya Dialah Yang Maha Pengampun lagi Maha Penyayang.*

*(Q. S. Az-Zumar Ayat 53)*

*Uang memang bisa di cari  
Namun kebahagiaan sulit didapat*

*(Rafif Muammar Ghani)*

## SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT. atas berkat dan rahmat-Nya dan juga teruntuk kedua orang tua penulis bapak Dadan Suhendar dan ibu Lies Wahyuni yang telah memberikan doa serta dukungan dalam bentuk moral dan juga finansial sehingga skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Mikrokapsul Probiotik Dengan Dosis Berbeda Terhadap Tingkat Imunitas Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775)” dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M. Si. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
2. Ir. Siti Hudaidah, M. Sc. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Limin Santoso, S. Pi., M. Si. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
4. Wardiyanto, S.Pi, M.P. selaku pembimbing utama dan pembimbing akademik yang telah membimbing, memberi dukungan, saran, dan ilmu dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Esti Harpeni, S.T., M.App.Sc. selaku pembimbing pembantu yang telah memberi dukungan, saran, dan ilmu dalam proses penyelesaian skripsi.

6. Dr. Abdullah Aman Damai, M.Si. selaku dosen penguji yang telah memberi masukan dan saran dalam penyelesaian skripsi.
7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Perikanan dan Kelautan yang telah memberikan motivasi dan saran selama menjalani studi di Jurusan Perikanan dan Kelautan.
8. Adik-adikku tersayang Ariq Rifqi Ar-Rasyid, Muhammad Rayhan Nursyabani dan Rindu Aisyah Febriani yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
9. Temanku Ignatius Sandra Setyabudi dan Goesti Rara Firanti yang telah memberikan semangat, menemani, dan membantu dalam penelitian ini.
10. Temanku Bella Krismonita dan Nadila Sutrisno yang banyak membantu dan menjadi tempat curhat dalam kehidupanku.
11. Sahabatku presidium Himapik periode 2017/2018 yang telah mengubah hidupku, selalu peduli, dan selalu bersama dalam suka dan duka.
12. Keluargaku Budidaya Perairan angkatan 2015 yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terimakasih untuk saran-saran, perhatian, kebersamaan dan semangat yang diberikan.
13. Semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
14. Almamater tercinta Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 2020

Penulis

Rafif Muammar Ghani

## DAFTAR ISI

	halaman
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
C. Manfaat Penelitian.....	3
D. Kerangka Pemikiran.....	3
E. Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Ikan Kerapu Macan .....	6
B. Penyakit Vibriosis pada Ikan .....	7
C. Bakteri <i>Bacillus</i> sp. D2.2 .....	8
D. Mikrokapsul Probiotik .....	9
E. Immunologi Ikan .....	10

### III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	12
B. Alat dan Bahan Penelitian .....	12
1. Alat dan Bahan Produksi Biomassa Probiotik .....	12
2. Alat dan Bahan Pembuatan Mikrokapsul Probiotik .....	12
3. Alat dan Bahan Percobaan Perlakuan .....	13
4. Alat dan Bahan Uji Tantang .....	13
C. Rancangan Penelitian .....	13
1. Produksi Biomassa Probiotik .....	14
2. Pembuatan Mikrokapsul Probiotik .....	14
3. Pembuatan Pakan .....	15
4. Pemeliharaan Ikan .....	16
5. Uji Tantang .....	16
D. Parameter Pengamatan .....	16
1. Uji Viabilitas Sel Bakteri <i>Bacillus</i> sp. D2.2 .....	16
2. Total Eritrosit .....	17
3. Total Leukosit .....	18
4. Diferensial Leukosit .....	19
5. Titer Antibodi .....	20
6. Gejala Klinis .....	20
7. Sintasan .....	21
8. <i>Relative Percent Survival</i> (RPS) .....	21
E. Analisis Data .....	22

#### **IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

A. Uji Viabilitas Sel Bakteri <i>Bacillus</i> sp. D2.2.....	23
B. Total Eritrosit .....	25
C. Total Leukosit .....	27
D. Diferensial Leukosit .....	30
E. Titer Antibodi .....	36
F. Gejala Klinis .....	38
G. Sintasan .....	40
H. <i>Relative Percent Survival</i> (RPS) .....	41

#### **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

A Kesimpulan.....	43
B Saran .....	43

#### **DAFTAR PUSTAKA**

#### **LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

	halaman
1. Rancangan Percobaan Pemberian Mikrokapsul Probiotik.....	13
2. Jumlah Viabilitas Bakteri Setelah Masuk Ke Dalam Tubuh Ikan .....	23
3. Tabel Titer Antibodi Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian .....	36
4. Hasil Pengamatan Gejala Klinis Ikan Kerapu Macan Setelah Uji Tantang.....	38



## DAFTAR GAMBAR

	halaman
1. Skema Kerangka Penelitian .....	5
2. <i>Time Line</i> Penelitian.....	16
3. Total Eritrosit Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian.....	26
4. Total Leukosit Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian.....	28
5. Persentase Limfosit Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian.....	31
6. Persentase Monosit Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian .....	32
7. Persentase Neutrofil Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian.....	34
8. Persentase Sintasan Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian.....	40
9. Persentase RPS Ikan Kerapu Macan Selama Penelitian .....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
1. Hasil Uji Statistik .....	49
A. Total Eritrosit.....	49
B. Total Leukosit .....	52
C. Persentase Limfosit .....	54
D. Persentase Monosit .....	57
E. Persentase Neutrofil .....	60
2. Dokumentasi .....	63
A. Pembuatan Mikrokapsul Probiotik .....	63
B. Pembuatan Pakan Perlakuan .....	64
C. Pemeliharaan Ikan .....	64
D. Uji Tantang .....	64
3. Ilustrasi Pengamatan .....	66
A. Total Eritrosit.....	66
B. Total Leukosit.....	66
C. Titer Antibodi .....	67

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal, 1775) merupakan jenis ikan air laut yang banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia. Akan tetapi, kendala dalam budidaya ikan kerapu macan yaitu sering ditemukan adanya penyakit. Kualitas air media budidaya yang kurang baik dan pemberian nutrisi yang kurang mencukupi dapat menyebabkan munculnya penyakit. Penyebab penyakit pada ikan juga dapat 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. Sistem imunitas ikan dapat ditingkatkan dengan cara pemberian probiotik ke dalam tubuh. Mekanisme kerja probiotik diantaranya dapat sebagai penstimulasi sistem imun non-spesifik pada ikan. Namun, pemberian probiotik yang

dilakukan secara terus menerus dapat menurunkan keefektifannya, sehingga pemberian probiotik dengan waktu berselang diharapkan akan lebih efektif dan dapat menghasilkan sistem imun yang lebih baik karena setiap probiotik yang masuk ke dalam tubuh dapat langsung merangsang aktifnya sistem imun (Septiarini, 2012).

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.

Viabilitas merupakan suatu daya kelangsungan hidup suatu spesies serta kelangsungan pertumbuhannya yang dipengaruhi oleh keadaan lingkungan.

Dalam menanggulangi penurunan viabilitas sel probiotik, dibutuhkan suatu teknik yang bernama mikrokapsul. Mikrokapsul adalah teknik penyalutan bahan tertentu sehingga bahan tersebut dapat terlindungi. Penggunaan mikrokapsul pada probiotik dapat melindungi mikroba dari pengaruh lingkungan yang tidak menguntungkan seperti panas dan bahan kimia (Triana *et al.*, 2006). Menurut hasil penelitian Utami *et al.* (2015), mikrokapsul probiotik yang disimpan selama 1 bulan memiliki viabilitas sel dengan persentase sebesar 92,54%. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian mengenai pemberian mikrokapsul probiotik pada pakan untuk meningkatkan imunitas ikan kerapu macan yang diinfeksi bakteri *V. alginolyticus*.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh mikrokapsul probiotik terhadap peningkatan imunitas ikan kerapu macan yang diinfeksi bakteri *V. alginolyticus*.

## **C. Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi dan solusi serta menambah wawasan bagi mahasiswa dan pembudidaya tentang manfaat pemberian mikrokapsul probiotik *Bacillus* sp. D2.2 untuk meningkatkan sistem imunitas ikan kerapu macan yang diinfeksi bakteri *V. alginolyticus*.

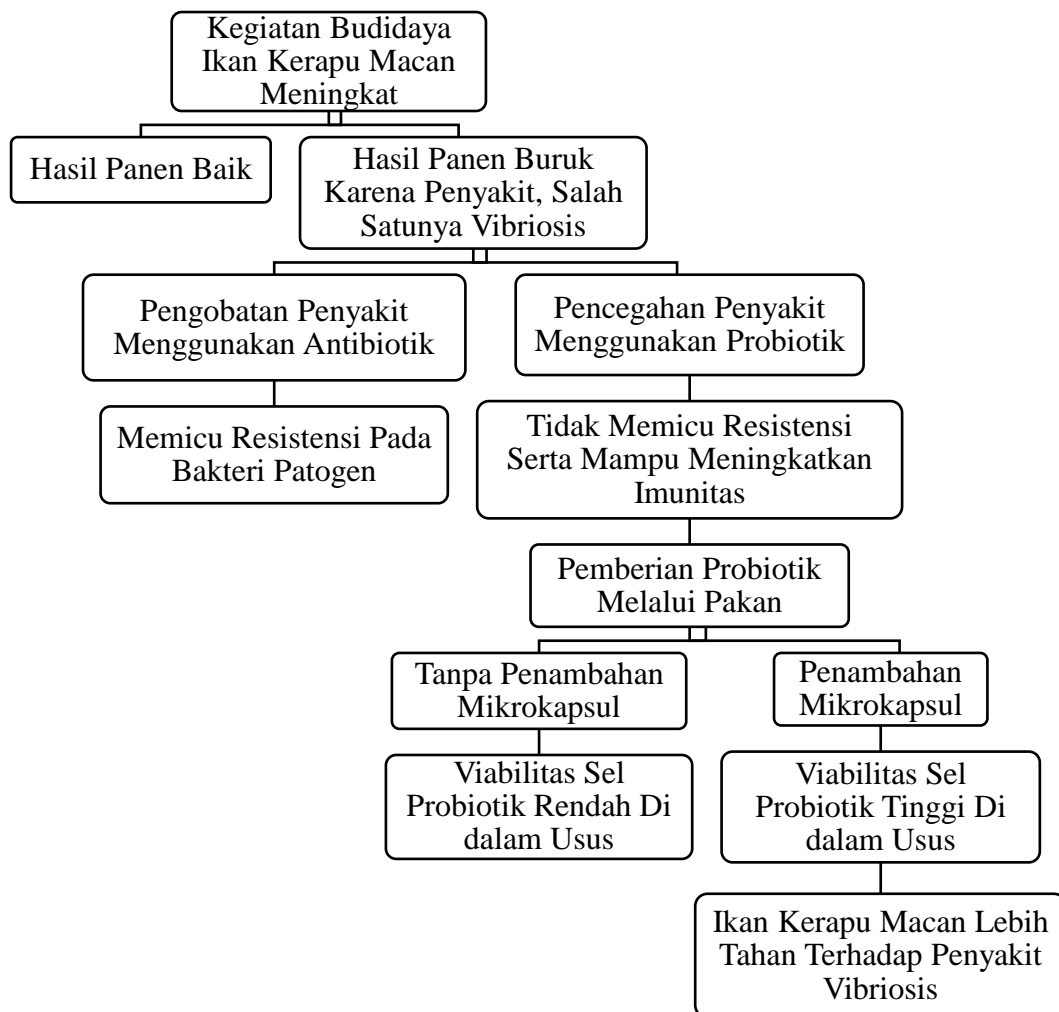
## **D. Kerangka Penelitian**

Permasalahan muncul dikarenakan ikan kerapu macan yang dibudidayakan memiliki sistem imun yang rendah akibat terserang patogen. Sistem imun yang rendah dapat menyebabkan ikan mudah terserang penyakit dan juga menurunkan kualitas hasil produksi budidaya ikan kerapu macan. Permasalahan tersebut dapat diatasi dengan memberikan antibiotik kepada ikan kerapu macan, akan tetapi pemberian antibiotik mampu memicu resistensi terhadap patogen. Oleh karena itu, digunakan probiotik untuk meningkatkan sistem imun ikan kerapu macan untuk menghindari resistensi terhadap serangan patogen.

Salah satu metode pemberian probiotik kepada ikan yang lebih efektif adalah melalui pakan (*oral*). Namun, probiotik yang diberikan lebih rentan rusak sebelum masuk ke dalam tubuh ikan. Yaitu seperti viabilitas sel probiotik yang menurun hingga mencapai kematian sel bakteri. Salah satu teknik dalam permasalahan tersebut adalah pemberian probiotik dengan teknik mikrokapsul.

Mikrokapsul adalah suatu proses pembungkusan suatu bahan inti (dalam hal ini adalah bakteri probiotik) menggunakan bahan enkapsulan tertentu yang bermanfaat untuk mempertahankan viabilitas dan melindungi bakteri probiotik dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti panas, bahan kimia, asam lambung, dan garam empedu. Metode yang umum digunakan dalam proses mikrokapsul adalah pengeringan semprot (*spray drying*), pengeringan beku (*freeze drying*), dan teknik emulsi (Puspawati *et al.*, 2010).

Probiotik dalam menghambat populasi antigen yaitu dengan memproduksi senyawa-senyawa antimikroba, melakukan kompetisi nutrisi pada tempat pelekatan di saluran pencernaan, merubah metabolisme mikrobial dengan meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim serta meningkatkan kadar antibodi dan aktivitas makrofag (Irianto, 2003). Pemberian mikrokapsul probiotik kepada ikan diharapkan dapat meningkatkan viabilitas sel probiotik dan juga kerja sistem imun ikan kerapu macan secara efektif dalam mencegah penyakit Vibriosis. Berikut adalah skema kerangka penelitian yang dilakukan (Gambar 1).



Gambar 1. Skema Kerangka Penelitian

### E. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

$H_0 : \mu_0 = 0$  ; Tidak ada pengaruh pemberian mikrokapsul probiotik terhadap peningkatan imunitas ikan kerapu macan yang di uji tantang dengan bakteri *Vibrio alginolyticus*

$H_1 : \mu_0 \neq 0$  ; Ada pengaruh pemberian mikrokapsul probiotik terhadap peningkatan imunitas ikan kerapu macan yang di uji tantang dengan bakteri *Vibrio alginolyticus*

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Ikan Kerapu Macan

Ikan kerapu macan merupakan salah satu jenis ikan laut yang hidup di perairan laut maupun payau yang bersalinitas 20-35 ppt (Mariskha & Abdulgani, 2012).

Habitat benih ikan kerapu macan adalah pantai yang banyak ditumbuhi algae jenis *Reticulata* dan *Gracilaria*. Sutrisna (2011) mengatakan bahwa, ikan kerapu macan digolongkan pada :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Chondrichthyes
Ordo	: Percomorphi
Divisi	: Perciformes
Family	: Serranidae
Genus	: <i>Epinephelus</i>
Spesies	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> Forsskal, 1775
Nama lain	: <i>Brown-marbled grouper</i> , <i>tiger grouper</i> ; nama lokal Indonesia : kerapu macan, balong macan.



Ikan kerapu macan memiliki bentuk tubuh memanjang agak membulat dengan mulut berukuran lebar. Posisi mulut serong keatas dan bibir bawah menonjol keatas. Warna dasar ikan kerapu macan adalah coklat, dengan perut berwarna putih serta bercak hitam dan putih disekujur tubuh yang tidak beraturan. Dalam siklus hidupnya, ikan kerapu macan muda (ukuran 12-20 cm) menyukai perairan pantai dekat muara dengan kedalaman 0,5-3,0 m. Selanjutnya ketika memasuki ukuran 30-50 cm, ikan kerapu macan dewasa beruaya ke perairan terbuka dengan kedalaman 7-40 m (Sutrisna, 2011).

## **B. Penyakit Vibriosis pada Ikan**

Secara umum, *Vibrio* berbentuk poros kurva atau bengkok, motil dengan satu flagella pada kutub sel, gram negatif, tidak *acid-fast*, tidak menghasilkan endospora, tidak mempunyai kapsul, metabolisme respirasi dan fermentatif, oksidasi positif, serta fakultatif anaerob (Feliatra, 1999). Penyakit *Vibriosis* disebabkan oleh bakteri gram negatif *Vibrio*, yaitu *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, dan *V. Parahaemolyticus*. Penyakit tersebut dapat dideteksi dengan mengisolasi bakteri dari tubuh organisme inang sakit dan menanamnya pada media agar selektif TCBS agar. Pada media ini koloni bakteri yang tumbuh tampak berwarna kuning dan hijau (Effendi *et al.*, 2006).

Karakteristik utama bakteri *V. alginolyticus* yaitu flagela bercabang pada ujung sel monotorik, tumbuh pada media padat, dan termasuk penghasil asam. Karakteristik penyakit yang disebabkan nya tergolong septisemik, dapat menginfeksi ikan yang lemah, berkulit gelap atau pada saat bertukar kulit. Koloni bakteri

berwarna kuning muda transparan pada media TSA maupun TCBS agar. Diameter koloni lebih besar bila dibandingkan dengan koloni bakteri lain, tumbuh bagus pada media TCBS agar pada suhu 30<sup>0</sup>C (Prajitno, 1990).

### **C. Bakteri *Bacillus* sp. D2.2**

Bakteri *Bacillus* sp. D2.2 merupakan isolat bakteri kandidat biokontrol yang diperoleh dari tambak udang windu tradisional di Desa Mulyosari, Kecamatan Pasir Sakti, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Isolat ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* sebanyak 0,34% dari 293 isolat, ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri agen biokontrol. Dari 293 isolat bakteri yang berhasil dikoleksi, hanya terdapat satu isolat (D2.2) yang potensial menghambat *Vibrio harveyi* pada uji antagonisme dengan media *double layer* agar (Mariska, 2013).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Aji (2014), isolat bakteri biokontrol dengan kode D2.2 telah melalui proses identifikasi dengan metode analisis 16S rDNA yang menunjukkan kekerabatan yang sangat dekat dengan *Bacillus* sp. Isolat bakteri D2.2 menunjukkan kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Aeromonas hydrophila* secara *in vitro*. Bakteri *Bacillus* sp. D2.2 termasuk ke dalam golongan gram positif dan berbentuk batang (*bacil*). Bakteri ini mampu bersifat aerob obligatif atau fakultatif anaerob (dapat bertahan dalam kondisi aerob dan anaerob), umumnya motil,

bersifat katalase, dan oksidatif positif. Endospora oval, kadang-kadang bundar atau silinder dan sangat resisten pada kondisi yang tidak menguntungkan.

Dalam penelitian Hardiyani (2016), menunjukkan bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada udang vaname yang diujikan secara *in vivo*. Bakteri *Bacillus* sp. D2.2 merupakan bakteri yang memiliki pertumbuhan dan aktifitas antibakteri pada tingkat pH dan salinitas yang berbeda. Adanya zona hambat yang dihasilkan bakteri *Bacillus* sp. D2.2 terbukti positif dalam menghambat pertumbuhan patogen terutama pada bakteri *Vibrio alginolyticus*.

#### **D. Mikrokapsul Probiotik**

Mikrokapsul adalah suatu proses pembungkusan suatu bahan inti guna melindungi dan meningkatkan kualitas bahan inti. Tujuan mikrokapsul menurut Chen & Chen (2007) adalah sebagai proses fisikokimia atau mekanik yang dapat melindungi suatu zat dalam suatu bahan pengemas sehingga menghasilkan suatu kapsul dengan beberapa ukuran diameter yang berbeda yakni mulai dari nanometer hingga milimeter. Mikrokapsul yang diberikan kepada bakteri dapat melindungi sel bakteri dari pengaruh lingkungan yang dapat menurunkan viabilitas sel bakteri seperti suhu dan bahan kimia.

Dalam pembuatan mikrokapsul, bahan yang sangat penting untuk digunakan merupakan bahan penyalut atau bahan enkapsulan. Bahan penyalut adalah bahan

yang digunakan untuk melapisi bahan inti (umumnya berasal dari karbohidrat, gum dan protein) dengan tujuan menutupi rasa dan bau yang tidak enak, perlindungan terhadap pengaruh lingkungan, meningkatkan stabilitas, dan mencegah penguapan (Sumanti *et al.*, 2016).

### **E. Immunologi Ikan**

Respon imun pada ikan terdiri dari respon imun spesifik dan non spesifik. Sistem imun non-spesifik merupakan pertahanan kekebalan tubuh yang merespon pertama kali adanya benda asing yang masuk ke dalam tubuh sehingga menjadi sensitasi sel-sel sistem imun tersebut. Sedangkan sistem imun spesifik merupakan pertahanan kekebalan tubuh dalam menghadapi serangan patogen yang dirangsang setelah sistem imun non-spesifik bekerja. Berbagai sel penting yang berperan yaitu limfosit B atau sel B merupakan sistem imun spesifik humoral dan limfosit T atau sel T merupakan sistem imun spesifik selular. Sedangkan beberapa sel penting lainnya adalah antibodi, sitokin, dan molekul adhesin (Bratawidjaja, 2006).

Respon imun ikan dapat diukur dengan cara mengamati darah dalam tubuh ikan. Darah memiliki beberapa bagian yaitu eritrosit, leukosit, serta plasma darah yang memiliki peran masing-masing. Eritrosit atau sel darah merah merupakan sel yang paling banyak jumlahnya. Jumlah eritrosit pada ikan teleostei berkisar antara 1.000.000-3.000.000 sel/mm<sup>3</sup> (Chinabut *et al.*, 1991). Leukosit atau sel darah putih merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai perta-

hanan spesifik yang akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen melalui fagositosis. Total leukosit merupakan salah satu indikasi adanya fase pertama infeksi, stress, ataupun leukemia (Anderson, 1974). Penghancuran patogen oleh leukosit melalui mekanisme fagositosis oleh aktivitas fagositik sel makrofag menunjukkan adanya peningkatan imunitas di dalam tubuh. Pola peningkatan persentase aktivitas fagositosis ini merupakan fungsi dari peningkatan total leukosit dan juga bagian leukosit lainnya seperti limfosit, monosit, dan neutrofil (Zainun, 2007).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

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.

#### **B. Alat dan Bahan Penelitian**

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

##### **1. Alat dan Bahan Produksi Biomassa Probiotik**

Alat : Labu erlenmeyer, Cawan petri, *Shaker*, Autoklaf, Jarum ose, *Centrifuge*.

Bahan : Isolat bakteri *Bacillus* sp. D2.2, Media SWC Agar, Media SWC Broth, Rifampisin, PBS steril, Air laut steril.

##### **2. Alat dan Bahan Pembuatan Mikrokapsul Probiotik**

Alat : *Freeze dryer*, Labu erlenmeyer, *Sprayer*, *Box storage*.

Bahan : Maltodekstrin, Susu skim, Pakan komersial, Air, Telur putih.

### 3. Alat dan Bahan Percobaan Perlakuan

Alat : Bak kontainer, Selang aerasi, Batu aerasi, Timbangan digital, Selang Siphon, Serokan.

Bahan : Ikan Kerapu Macan, Pakan yang sudah tercampur mikro kapsul probiotik, Air laut.

### 4. Alat dan Bahan Uji Tantang

Alat : *Micropipete, Microtube, Yellow Tip*, Ember.

Bahan : Isolat bakteri *V. alginolyticus*, Air laut steril.

## C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan dan 3 kali ulangan seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1. 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).

Tabel 1. Rancangan Percobaan Pemberian Mikro kapsul Probiotik

Perlakuan	Keterangan
K+	Pemberian pakan dengan probiotik tanpa mikro kapsul
K-	Pemberian pakan tanpa penambahan mikro kapsul probiotik
A	Pemberian pakan dengan mikro kapsul probiotik dosis 1g/kg pakan
B	Pemberian pakan dengan mikro kapsul probiotik dosis 2g/kg pakan
C	Pemberian pakan dengan mikro kapsul probiotik dosis 3g/kg pakan

## 1. Produksi Biomassa Probiotik

Bakteri probiotik yang digunakan adalah *Bacillus* sp. D2.2. Persiapan probiotik diawali dengan menumbuhkan *Bacillus* sp. D2.2 pada media *Sea Water Complete* (SWC) broth 50 ml (*bacto peptone* 0,5%, *yeast extract* 0,1%, *glycerol* 0,3%, air laut 75% dan akuades 25%) yang telah diberi penanda resistensi menggunakan antibiotik Rifampisin dosis 50 µg ml<sup>-1</sup>. Kemudian diinkubasi dalam *shaker* dengan kecepatan 140 rpm pada suhu 29°C selama 24 jam. Selanjutnya probiotik ditumbuhkan pada 500 mL SWC Broth selama 18 jam (Putra *et al.*, 2015).

Panen kultur probiotik dilakukan dengan cara suspensi bakteri dipindahkan ke dalam tabung *corning* kemudian dipisah menggunakan sentrifuse pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit untuk memisahkan sel *Bacillus* sp. D2.2 dengan media kultur. Kemudian hasil panen tersebut disuspensikan ke dalam larutan *Phosphat Buffer Saline* PBS (1,5 M NaCl; 15 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 100 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 30 mM KCl, 1000 ml akuades) sebanyak 2 kali hingga diperoleh pellet bakteri dengan kepadatan 10<sup>8</sup> CFU ml<sup>-1</sup>, lalu dihomogenkan dan disentrifusi selama 15 menit pada kecepatan 6000 rpm. Setelah itu, ditambahkan larutan PBS sebanyak 50 ml dandihomogenisasi. Hasil dari suspensi ini merupakan probiotik yang kemudian dicampurkan dengan bahan penyalut.

## 2. Pembuatan Mikrokapsul Probiotik

Komposisi bahan penyalut yang digunakan dalam pembuatan mikrokapsul probiotik berdasarkan Sumanti *et al.* (2016) adalah dengan perbandingan komposisi probiotik, susu skim dan maltodextrin sebesar 70% : 10% : 20% dari besaran



dosis yang dipakai. Bahan-bahan tersebut dihomogenkan menggunakan stirer plate selama 30 menit. Selanjutnya, proses *freeze drying* dilakukan menggunakan *freeze dryer* selama 36 jam hingga mengering menjadi bubuk.

Tahapan kerja *freeze dryer* dalam pembuatan mikrokapsul yaitu pertama, probiotik dibekukan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ . Setelah probiotik beku selanjutnya ditempatkan di bawah vakum, dalam hal ini terjadi proses sublimasi. Tahapan ini juga memanfaatkan energi panas untuk mempercepat proses sublimasi. Dalam proses ini kristal es yang berada pada probiotik dipaksa masuk melalui proses sublimasi. Sebagaimana mekanisme alat *freeze dryer*, uap air yang dihasilkan kemudian disedot dan dikondensasikan sehingga tidak membasahi produk yang sedang dikeringkan.

### **3. Pembuatan Pakan**

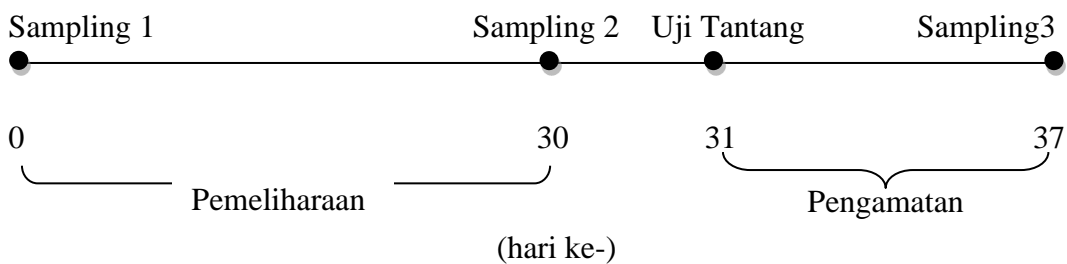
Pakan perlakuan yang mengandung mikrokapsul probiotik dibuat dengan cara mencampur pakan komersil yang sudah dihancurkan terlebih dahulu dengan mikrokapsul probiotik kemudian dicetak menjadi pellet. Sedangkan pakan perlakuan yang mengandung probiotik tanpa mikrokapsul (kontrol positif) dibuat dengan cara mencampur pakan komersil dengan probiotik *Bacillus* sp. D2.2 kepadatan  $10^8$  CFU  $\text{ml}^{-1}$  dosis 6% dalam 1 kg pakan menggunakan sprayer dan disemprot setiap 7 hari sekali.

#### 4. Pemeliharaan Ikan

Wadah yang digunakan pada penelitian ini adalah bak kontainer ukuran 60x40x40 cm dan diisi air laut sebanyak 50 liter. Kemudian masing-masing bak diisi ikan kerapu macan berjumlah 20 ekor/bak dengan bobot awal  $\pm 40$  gr. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 30 hari dengan frekuensi pemberian pakan perlakuan sebanyak 3 kali sehari, kemudian diberikan pakan komersil tanpa pencampuran probiotik pada saat uji tantang selama 7 hari.

#### 5. Uji Tantang

Ikan kerapu macan yang telah diberikan perlakuan selama 30 hari, kemudian di uji tantang pada hari ke-31 dengan cara injeksi bakteri *V. alginolyticus*  $10^7$  CFU ml<sup>-1</sup> pada ikan perlakuan. Pada saat uji tantang, ikan diberikan pakan tanpa mikro-kapsul probiotik untuk setiap perlakuan (Yunarty, 2015). Pengamatan gejala klinis dilakukan selama 7 hari pasca perendaman.



Gambar 2. *Time line* penelitian

#### D. Parameter Pengamatan

##### 1. Uji Viabilitas Sel Bakteri *Bacillus* sp. D2.2

Uji viabilitas sel bakteri diamati setelah pakan yang sudah dicampur dengan *Bacillus* sp. D2.2 masuk ke dalam usus ikan. Tujuan pengamatan ini untuk membandingkan viabilitas sel bakteri di dalam usus antara probiotik yang di salut

mikrokapsul dan yang tidak disalut mikrokapsul. Pengujian viabilitas dilakukan dengan cara mengisolasi bakteri dari sampel usus ikan pada media yang sudah dicampur rifampisin, kemudian dihitung menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) yaitu perhitungan jumlah koloni yang tumbuh di cawan lalu dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$N = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}} \times \frac{1}{\text{Volume pengenceran}}$$

Keterangan :

N : Jumlah kepadatan bakteri (CFU ml<sup>-1</sup>)

Faktor pengenceran : Tingkat pengenceran yang dilakukan

Volume pengenceran : Volume pengenceran yang dilakukan

Keterangan : Bila jumlah koloni per cawan lebih besar dari 300 pada seluruh pengenceran, maka pelaporan hasilnya adalah Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD)

## 2.Total Eritrosit

Total eritrosit ikan dihitung pada hari ke-0, sebelum ujiantang, serta pada akhir perlakuan ujiantang. Pertama, darah ikan diambil menggunakan spuit 1 cc yang dibilas menggunakan EDTA (dilarutkan EDTA dan aquades dengan perbandingan 1:10) kemudian dipindahkan ke dalam hematokrit darah sampel dihisap dengan pipet yang berisi bulir pengaduk warna merah sampai skala 1 (pipet untuk mengukur jumlah sel darah merah), lalu tambahkan larutan Hayem sampai skala 101. Pengadukan darah di dalam pipet dilakukan dengan mengayunkan tangan yang memegang pipet seperti membentuk angka 8 selama 3-5. Dua tetes pertama larutan darah pipet dibuang, selanjutnya teteskan pada *Neubauer* dan tutup dengan

gelas penutup. Kemudian, hitung jumlah sel darah merah dengan bantuan mikroskop dan diamati pada 5 kotak kecil dan jumlahnya dihitung dengan rumus berdasarkan Blaxhall & Daisley (1973) yaitu :

$$\Sigma \text{Eritrosit} = N \times \frac{P}{V}$$

Keterangan :

N : Jumlah sel darah merah dalam 5 kotak yang dihitung

P : Pengenceran yang digunakan (200 kali)

V : Volume yang digunakan dalam 5 kotak (0,02 mm<sup>3</sup>)

### 3. Total Leukosit

Total leukosit ikan dihitung pada hari ke-0, sebelum ujiantang, serta pada akhir perlakuan ujiantang. Pertama, darah sampel dihisap dengan pipet berisi bulir pengaduk berwarna putih sampai skala 0,5. Lalu, tambahkan larutan Turk sampai skala ke-11, pipet diayun membentuk angka 8 selama 3-5 menit sehingga darah bercampur rata. Setelah itu, dua tetes pertama larutan darah dari dalam pipet dibuang, kemudian teteskan larutan pada *Haemocytometer*, setelah itu ditutup dengan gelas penutup. Cairan akan memenuhi ruang hitung secara kapiler. Jumlah leukosit total diamati dengan bantuan mikroskop kemudian dihitung dengan cara menghitung sel yang terdapat dalam 4 kotak besar dan jumlahnya dihitung dengan rumus berdasarkan Blaxhall & Daisley (1973) yaitu :

$$\Sigma \text{Leukosit} = N \times \frac{P}{V}$$

Keterangan :

N : Jumlah sel darah putih dalam 64 kotak yang dihitung

P : Pengenceran yang digunakan (100 kali)

V : Volume yang digunakan dalam 64 kotak (0,4 mm<sup>3</sup>)

#### 4. Differensial Leukosit

Differensial Leukosit ikan dihitung pada hari ke-0, sebelum ujiantang, serta pada akhir perlakuan ujiantang. Pertama, pegang gelas obyek dengan telunjuk dan ibu jari. Teteskan sel darah putih yang telah diukur dengan hematokrit pada gelas obyek bersih bagian sebelah kanan. Kemudian, letakkan gelas obyek lain disebelah kiri tetesan darah membentuk sudut 30<sup>0</sup>. Tarik gelas obyek ke kanan sampai menyentuh darah tersebut. Setelah darah menyebar sepanjang tepi gelas obyek kedua, dorong gelas obyek kedua tersebut ke kiri dengan tetap membentuk sudut 30<sup>0</sup> agar didapat preparat darah yang cukup tipis sehingga mudah diamati. Setelah itu ulas dikering-udarkan. Selanjutnya, ulas darah pada gelas obyek difiksasi dalam larutan metanol selama 5 menit. Setelah itu, rendam preparat ulas dalam larutan Giemsa yang diencerkan (perbandingan larutan Giemsa dan buffer pH 7,2 sebesar 1:20) selama 15 menit. Kemudian, bilas dengan akuades dan dikering-udarkan. Preparat yang telah jadi kemudian diamati dibawah mikroskop.

Persentase sel-sel leukosit dihitung dengan cara mengamati sebanyak 10 lapang pandang dan masing-masing jenis diferensial leukosit yang terhitung dikelompokkan menurut jenisnya (limfosit, monosit, dan neutrofil). Adapun perhitungan jumlah diferensial leukosit menggunakan rumus berdasarkan Amlacher (1970) :

$$\text{Persentase Limfosit} = \frac{\text{Jumlah sel Limfosit}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Monosit} = \frac{\text{Jumlah sel Monosit}}{100} \times 100\%$$

$$\text{Persentase Neutrofil} = \frac{\text{Jumlah sel Neutrofil}}{100} \times 100\%$$

## **5. Titer Antibodi**

Pengukuran titer antibodi dilakukan pada hari ke-0, sebelum ujiantang, serta pada akhir perlakuan ujiantang. Titer antibodi dilakukan dengan menggunakan lempeng *microdilution* berdasarkan Thune & Plumb (1984). Pertama, ambil darah menggunakan spuit 1 cc kemudian pisahkan plasma darah dalam hematokrit tanpa heparin. Plasma darah yang telah dipisahkan dibiarkan beku kemudian dimasukkan ke dalam sentrifuse hingga terpisah antara serum dan plasma darah. Sumur nomor 1 dan nomor 2 diisi dengan serum masing-masing 25 µl serta sumur nomor 2 sampai nomor 10 diisi dengan 25 µl PBS steril. Kemudian, lakukan pengenceran dengan cara mengambil 25 µl larutan menggunakan mikropipet dari sumur nomor 2 sampai dengan nomor 11.

Selanjutnya, antigen yang berasal dari bakteri ditambahkan sebanyak 25 µl dari sumur nomor 1 sampai dengan nomor 12 lalu lempeng *microdilution* ditutup dan digoyang-goyangkan membentuk angka 8 selama 3 menit. Kemudian didiamkan selama 1 jam dan disimpan dalam refrigerator selama 24 jam. Reaksi aglutinasi antigen dan antibodi ditandai dengan munculnya titik menggumpal menyebar di dasar sumuran. Sedangkan jika tidak terjadi aglutinasi ditandai dengan munculnya titik menggumpal yang terpusat di tengah-tengah dasar sumuran.

## **6. Gejala klinis**

Gejala klinis diamati setiap hari setelah diinfeksi *V. Alginolyticus* selama 7 hari pada setiap perlakuan. Pengamatan klinis meliputi pemantauan aktifitas perilaku

dan morfologi/kondisi fisik. Selanjutnya dilakukan pemberian skor terhadap gejala klinis yang muncul pada ikan uji, kriteria skor pada ikan yang diuji tantang adalah sebagai berikut :

- 0 : Ikan Normal/Sehat
- 1 : Radang
- 2 : Nekrosis
- 3 : Radang dan Nekrosis
- 4 : Ikan Mati

## **7. Sintasan**

Sintasan adalah perbandingan antara jumlah individu yang hidup pada akhir percobaan dengan jumlah individu pada awal percobaan atau peluang hidup dalam suatu saat tertentu (Effendi *et al.*, 2006). Sintasan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Sintasan} = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

$N_t$  : Jumlah ikan pada akhir pengamatan

$N_0$  : Jumlah ikan pada awal pengamatan

## **8. *Relative Percent Survival (RPS)***

*Relative Percent Survival (RPS)* ikan kerapu macan merupakan tingkat kelangsungan hidup ikan dengan membandingkan ikan yang diberi perlakuan dan ikan

yang tidak diberi perlakuan/kontrol dengan rumus yang digunakan dalam Effendi *et al.*,(2006).

$$RPS = 1 - \left( \frac{Mv}{Mc} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

RPS : *Relative Percent Survival* (%)

Mv : Mortalitas ikan dengan perlakuan (%)

Mc : Mortalitas ikan tanpa perlakuan/kontrol (%)

## **E. 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.



## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

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

### **B. Saran**

Penelitian lanjutan dapat diadakan untuk pencarian metode pembuatan mikrokapsul lain yang lebih murah serta mencari waktu optimal viabilitas sel bakteri setelah disalut mikrokapsul.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aji, M. B. (2014). Aktifitas Senyawa Antimikroba dari Bakteri Biokontrol D2.2 Terhadap Bakteri Patogen pada Udang dan Ikan Secara In Vitro. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Amlacher, E. (1970). *Textbook of fish diseases*. New Jersey. 302 p.
- Aoki. (1999). Motile aeromonas (*Aeromonas* sp.). *J. Laboratory of Genetic and Biochemistry*, 11(1), 427-435.
- Bahar, S. I., Harpeni, E., & Effendi, E. (2017). Respon imun spesifik larva ikan mas (*Cyprinus carpio*) melalui imunitas maternal yang diberi vaksin inaktif *whole cell* (*Aeromonas salmonicida*). *Biospecies*, 10(1), 37-43.
- Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W.(1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal Fish and Biology*, 5(1), 577-581.
- Bratawidjaja, K. G. (2006). *Immunologi Dasar* (6th ed.). Balai Penerbitan Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia. Jakarta. 153 p.
- Casadevall, A. & Pirofski, L. (1999). Host-pathogen Interaction: Redifining the basic Concepts of Virulence and Pathogenicity. *J. Infection and Immunity*, 67(8), 3703 -3713.
- Chen, M. J. & Chen, K. N. (2007). *Applications of probiotic encapsulation in dairy products. Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. 83-112 pp.
- Chinabut, S., Limsuwan, C., & Kitsawat, P. (1991). *Histology Of The Walking Catfish, Clarias batrachus*. International Development Research Centre. 135 p.
- Djauhari, R., Widanarni, Sukenda, Suprayudi, M. A., & Zairin, J. M. (2016). Characterization of *Bacillus* sp. NP5 and its application as probiotic for common carp (*Cyprinus carpio*). *Research Journal of Microbiology*, 11(1), 101–111.

- Djunaedi, D. (2013). Pengaruh Probiotik Pada Respon Imun. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 23(1), 22-27.
- Effendi, I., Bugri, H. J., & Widarnani. (2006). Pengaruh padat penebaran terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan benih ikan gurami (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5(2), 127-135.
- Eliyani, Y., Widanarni, & Wahjuningrum, D. (2013). Pengaruh penggunaan probiotik *Lactobacillus brevis* dan prebiotik oligosakarida (*Fructooligosakarida - Galaktooligosakarida*) Terhadap Gambaran Darah Patin Siam (*Pangasionodon hypophthalmus*) yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2), 241-251.
- Firanti, G. R. (2019). Efektivitas Pemberian Mikrokapsul Probiotik Terhadap Komposisi Bakteri Pada Usus Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskal, 1775). *Skripsi*. Universitas Lampung, Lampung.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (1997). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi ke-9*. CV EGC. Jakarta. 1172 p.
- Hadie, W., Angela, L. M., Sularto, & Evi, T. (2010). Imunitas maternal terhadap *Aeromonas hydrophila* pengaruhnya terhadap fekunditas dan daya tetas ikan patin siam (*Pangasionodon hypophthalmus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 5(2), 229-235.
- Hardiyani, S. (2016). Uji patogenisitas dan studi *in vivo* bakteri biokontrol *Bacillus* sp. D2.2 terhadap *Vibrio alginolyticus* pada pemeliharaan udang vannamei (*Litopennaeus vannamei*). *AQUASAINS Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 5(1), 422-423.
- 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
- Irianto, A. (2003). *Probiotik Akuakultur*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 125 p.
- Iribarren, D., Daga, P., Moreira, M. T., & Feijoo, G. (2012). Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture. *Aquaculture international*, 20(4), 779-789.
- Iwama, G. (1996). *The fish immune system*. Academic press, San Diego-London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto. 68-95pp.
- 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.

- Kresno, S. B. (2001). *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur laboratorium Edisi 4*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indoneisa. Jakarta. 4-5 pp.
- Lacroix, C. & Yildirim, S. (2007). Fermentation technologies for the production of probiotic with high viability and functionality. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(1), 176-183.
- Lagler, K. F., Bardach, J. E., Miller, R. R., & Passino, D. R. M. (1977). *Ichthyology*. John Willey and Sons. Inc. New York, London. 505 p.
- Lin, C. C., Lin, S. Y., & Hwang, L. S. (1995). Microencapsulation of Squid Oil with Hydrophilic Macromolecules for Oxidative and Thermal Stabilization. *Journal of Food and Science*, 6(1), 36-39.
- Lukistyowati, I., Windarti, & Riauwati, M. (2007). Analisis Hematologi sebagai Penentu Status Kesehatan Ikan Air Tawar di Pekanbaru. *Laporan Hasil Penelitian Fundamental. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru*.
- Maftuch, H., Nursyam, & Sukarni. (2012). Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap hematologi ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal Experiment Life and Science*, 2(2), 65-69.
- Mariska, D. C. (2013). Penapisan kandidat bakteri biokontrol dari perairan tambak udang tradisional terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Mariskha, R. P. & Abdulgani, N. (2012). Aspek reproduksi ikan kerapu macan (*Epinephelus sexfasciatus*) di Perairan Glondonggede Tuban. *Jurnal Sains dan Seni*, 1(1), 27-29.
- Prajitno, A. (1990). *Vibrio spp* dan MBV Primadona Penyakit Udang Windu di Tambak. *Makalah Penelitian Nasional Keterampilan dan Bina Usaha Mandiri Bidang Budidaya Air Payau dan Tawar dan Payau. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, Malang*. 17 p.
- Puspawati, N. N., Nuraida, L., & Adawiyah, D.B. (2010). Penggunaan berbagai jenis bahan pelindung untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat yang di isolasi dari air susu ibu pada proses pengeringan beku. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 21(1), 59-65.
- Putra, A. N., Utomo, N. B. P., & Widanarni. (2015). Growth performance of tilapia *Oreochromis sp.* fed with probiotic, prebiotic and synbiotic in diet. *Pakistan Journal of Nutrition*, 14(1), 263-268.

- Qomariyah, N., Suprpto, H., & Sudarno. (2017). Pemberian vaksin *formalin killed cell* (FKC) *Vibrio alginolyticus* untuk meningkatkan *survival rate* (SR), titer antibodi dan fagositosis leukosit pada kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) setelah uji tantang bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 9(1), 15-24.
- 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.
- Septiarini, Harpeni, E., & Wardiyanto. (2012). Pengaruh waktu pemberian probiotik yang berbeda terhadap respon imun non-spesifik ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas salmonicida*. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 1(1), 39-46.
- Sumanti, D. M., Lanti, I., Hanidah, I., Sukarminah, E., & Giovanni, A. (2016). Pengaruh konsentrasi susu skim dan maltodekstrin sebagai penyalut terhadap viabilitas dan karakteristik mikrokapsul suspensi bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan metode freeze drying. *Jurnal Penelitian Pangan*, 1(1), 2-6.
- Sutrisna, A. (2011). Pertumbuhan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal, 1775) di perairan Pulau Panggang, Kepulauan Seribu. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 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.
- Thune, R. L., & Plumb, J. A. (1984). Evaluation of hyperosmotic infiltration for the administration of antigen to channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 36(1-2), 1-8.
- Todar, K. (2002). *Todars Text Book of Bacteriology*. University of Wisconsin. Department of Bacteriology Madison. 56 p.
- Triana, E., Yulianto, E., & Nurhidayat, N. (2006). Uji viabilitas *Lactobacillus* sp. terenkapsulasi. *Biodiversitas*, 7(2), 114-117.
- Utami, D. A. S., Widanarni, & Suprayudi, M. A. (2015). Quality of dried *Bacillus* NP5 and its effect on growth performance of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(1), 89-93.
- Zainun, Z. (2007). Pengamatan parameter hematologis pada ikan mas yang diberi immunostimulan. *Buletin Teknisi Litkayasa Akuakultur*, 6(1), 45-48.