

Aplikasi Probiotik Mikroenkapsulasi Untuk Melawan Bakteri Patogen Akuakultur

Lilik Setiyaningsih^{1*}, Hanisya Putri Kania¹, Sahda Salsabila², Sugeng Hartono², I Gede Suweda Anggana Putera², Irfan Hanifa², Agung Tri Nugroho³, dan Diah Ayu Rahmalia³

¹Prodi Akuakultur, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

² Prodi Manajemen Sumberdaya Perairan, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

³ Prodi Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman,
Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia

*E-mail: lilik.setiyaningsih@unsoed.ac.id (corresponding author)

Abstrak

Intensifikasi dalam budidaya semakin meningkat, seiring dengan hal tersebut timbul masalah kesehatan ikan karena infeksi bakteri patogen. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus menyebabkan resistensi antibiotik dan dampak negatif lainnya. Penggunaan probiotik dapat meningkatkan kesehatan ikan dan kualitas lingkungan budidaya. Bakteri *Bacillus* sp merupakan salah satu kandidat bakteri probiotik yang paling banyak digunakan. Probiotik mikroenkapsulasi diketahui berperan dalam memberikan efek antimikrobial berupa produksi antibiotik, meningkatkan enzim lisozim, protease dan bakteriosin, mampu berperan dalam keseimbangan saluran pencernaan dan lingkungan akuatik, serta meningkatkan pertumbuhan dan daya tahan ikan terhadap serangan patogen. Teknologi mikroenkapsulasi memberikan perlindungan tambahan yang signifikan bagi probiotik selama penyimpanan maupun ketika berada dalam saluran pencernaan. Probiotik mikroenkapsulasi berpotensi sebagai solusi berkelanjutan dalam budidaya ikan menggantikan peran antibiotik. Aplikasi probiotik mikroenkapsulasi memiliki implikasi penting bagi pengembangan budidaya perikanan yang lebih sehat dan ramah lingkungan.

Kata kunci: Bakteri, Mikroenkapsulasi, Patogen, Probiotik

1. Pendahuluan

Usaha budidaya semakin berkembang pesat dalam beberapa dekade terakhir. Beberapa jenis ikan yang dibudidayakan secara intensif adalah ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), ikan Lele (*Clarias* sp), ikan Mas (*Cyprinus carpio*), udang dan ikan Kerapu (*Epinephelus* sp). Intensifikasi budidaya memberikan manfaat lebih besar karena produktivitas yang dihasilkan akan lebih tinggi, namun bersamaan dengan itu muncul masalah kesehatan ikan seperti bakteri patogen sebagai akibat dari tingginya bahan organik dan sisa pakan (22). Tingginya populasi pada budidaya intensif memungkinkan adanya peningkatan munculnya penyakit bakteri yang dapat menyebabkan kematian tinggi (31).

Infeksi bakteri yang sering ditemukan pada budidaya ikan meliputi *Aeromonas hydrophila* (27), *Edwardsiella* sp (32), *Streptococcus* sp (6), dan *Vibrio* sp. Munculnya serangan bakteri pada lingkungan budidaya dapat menyebabkan kematian hingga 100% dan mengakibatkan kerugian ekonomi. Salah satu penanganan yang sering kali dilakukan dalam mengatasi masalah serangan infeksi bakteri adalah melalui penggunaan antibiotik, namun penggunaan antibiotik pada lingkungan budidaya meninggalkan masalah baru yaitu resistensi antibiotik (24) pada mikroorganisme perairan dan residu antibiotik pada jaringan tubuh (15). Usaha yang tepat untuk menggantikan penggunaan antibiotik pada lingkungan budidaya ialah melalui aplikasi probiotik (27).

2. Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang mampu berperan dalam memberikan efek antimikrobial berupa produksi antibiotik (18), meningkatkan enzim lisozim (20) dan protease (1), bakteriosin serta mampu berperan dalam keseimbangan saluran pencernaan (21) dan lingkungan akuatik (12). Probiotik berperan besar dalam mencegah penyakit dengan cara menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan patogen (15) dan bertindak antagonis terhadap mikroba patogen (11), mampu meningkatkan sistem imun di dalam tubuh ikan (24; 17) serta berperan sebagai agen biokontrol

bakteri patogen (34). Dalam lingkungan akuakultur, probiotik harus memiliki efek menguntungkan pada inang dengan cara memodifikasi komunitas mikroba di dalam tubuh inang maupun lingkungan perairan (7).

Sebagian besar penelitian mengenai probiotik berfokus pada penggunaan spesies tunggal bakteri probiotik, namun beberapa kombinasi spesies bakteri probiotik telah mulai dikembangkan (16). Berbagai macam probiotik telah digunakan dalam budidaya mencakup bakteri gram positif maupun gram negatif. Efisiensi probiotik dari satu jenis bakteri probiotik untuk ikan yang berbeda terkadang memberikan pengaruh berbeda, misalnya penggunaan bakteri *Bacillus* sp pada ikan kerapu mampu meningkatkan performa pertumbuhan dan status kesehatan ikan, namun pada kepiting hanya mampu meningkatkan status kesehatan tidak disertai dengan performa pertumbuhan. Beberapa penelitian mengenai penggunaan kombinasi bakteri probiotik pada spesies ikan mampu memberikan efek sinergi. Penggunaan bakteri probiotik *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan dan imunitas ikan Mas (*Labeo rohita*) (8), sedangkan kombinasi bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus lentus* mampu meningkatkan kinerja pertumbuhan, respon imun dan resistensi ikan lele yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* (27).

3. Probiotik Potensial

Bakteri probiotik potensial secara umum dapat ditemukan di lingkungan (26) maupun di dalam saluran pencernaan ikan (3). Beberapa penelitian bakteri potensial probiotik telah dilakukan. Seleksi bakteri kandidat probiotik didasarkan pada target fungsional bakteri tersebut, misalnya target pada saluran pencernaan ikan sehingga probiotik bakteri yang dihasilkan mampu berperan terhadap proses pencernaan. Mikroba alami yang terdapat pada saluran pencernaan sebagian besar memiliki kemampuan dalam meningkatkan pemanfaatan pakan di saluran cerna serta mampu menekan pertumbuhan patogen (34). Seleksi probiotik secara umum berdasarkan pada antagonisme in vitro, adhesi, kolonisasi, tidak menyebabkan toksigenik, tidak mengakibatkan infeksi, tidak memiliki kemampuan mentransfer materi genetik. Informasi mengenai karakteristik pertumbuhan dalam kondisi yang berbeda, resistensi antibiotik, sifat hemolitik dan potensi patogen dari kandidat bakteri probiotik harus selalu diperhatikan (21).

Seleksi dapat dilakukan secara kualitatif berdasarkan kemampuan menghasilkan senyawa anti bakteri dan enzim proteolitik ekstraseluler. Deteksi produksi senyawa antibakteri dilakukan menggunakan uji zona hambat pada isolat bakteri patogen yang ditentukan (25). Deteksi enzim proteolitik dilakukan melalui media pengujian berdasarkan terbentuknya enzim proteolitik ekstraseluler.

Bakteri *Bacillus* sp merupakan salah satu kandidat bakteri probiotik. Bakteri genus *Bacillus* sp tersebar luas keberadaannya di tanah, air dan udara serta merupakan bakteri gram positif, memiliki kemampuan yang tinggi dalam memproduksi spora. Beberapa penelitian mengenai bakteri *Bacillus* sp sebagai bakteri probiotik telah dilakukan. *B. velezensis* dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan ikan lele dan meningkatkan kualitas air kolam (28). Penggunaan bakteri *Bacillus* diketahui telah terbukti lebih baik dalam memerangi berbagai penyakit patogen seperti *A. hydrophila* (9), *Vibrio* (30), *Streptococcus* (14), *Pseudomonas* (10) dibandingkan dengan probiotik bakteri dari genus yang lain (14). Probiotik *Bacillus* sp dilaporkan dapat mengurangi tingkat kematian ikan yang terserang *Aeromonas* sp dan menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* (2).

4. Teknologi Mikroenkapsulasi

Penggunaan bakteri probiotik diketahui memiliki pengaruh yang baik terhadap kesehatan ikan dan keseimbangan mikroba di lingkungan perairan. Aplikasi bakteri dalam bentuk kultur sel memiliki keterbatasan dalam masa penyimpanan dan mudah rusak oleh pengaruh lingkungan. Penggunaan bakteri probiotik segar harus disimpan di dalam lemari es sehingga bakteri tetap hidup dan mampu bekerja secara optimal karena viabilitas bakteri dapat berkurang selama proses penyimpanan. Kondisi penyimpanan yang tidak ideal bagi kehidupan bakteri probiotik akan menyebabkan perubahan

reaksi biokimia dan enzimatis serta berpengaruh terhadap kelangsungan hidup bakteri probiotik. Viabilitas bakteri probiotik sangat penting untuk diperhatikan sehingga probiotik tersebut tetap memiliki peran yang maksimal ketika diaplikasikan.

Teknologi mikroenkapsulasi merupakan salah satu inovasi dalam memberikan perlindungan fisik berupa lapisan maupun penghalang terhadap mikroorganisme yang dapat digunakan untuk memperpanjang masa simpan bakteri probiotik, meningkatkan viabilitas dalam suhu ruang (33) maupun di dalam sistem pencernaan ikan (23; 29) serta memberikan perlindungan terhadap kondisi buruk (19). Mikroenkapsulasi merupakan salah satu teknik membungkus bakteri menggunakan zat pelapis dengan bahan dasar karbohidrat maupun protein. Enkapsulasi diharapkan mampu menunda oksidasi lipid, karena proses dehidrasi akan bertindak sebagai penghalang terhadap transfer oksigen. Efektivitas perlindungan tersebut tergantung pada sifat bahan pelapis. Pemilihan kombinasi bahan pelapis mempengaruhi sifat emulsi dan karakteristik partikel bakteri probiotik setelah pengeringan dan selama penyimpanan (5).

4.1. Freeze drying

Metode freeze drying merupakan teknik paling umum yang digunakan untuk mendehidrasi bakteri probiotik dengan bahan pelapis atau menggunakan produk susu. Metode ini merupakan salah satu metode terbaik untuk mengurangi kerusakan bakteri probiotik akibat perubahan suhu. Kombinasi bahan enkapsulasi dan metode pengeringan yang sesuai dengan pengaturan optimal seperti proporsi formulasi, suhu, waktu dan tekanan dapat meningkatkan stabilitas bakteri probiotik selama penyimpanan maupun ketika berada di saluran pencernaan ikan.

4.2. Spray drying

Spray drying merupakan salah satu metode mikroenkapsulasi yang dapat menghasilkan partikel kecil dan mudah diaplikasikan dalam skala kecil. Beberapa penelitian terbaru melaporkan bahwa penggunaan susu skim dan maltodextrin menunjukkan efektivitas dalam meningkatkan viabilitas bakteri probiotik (4). Penggunaan maltodextrin memberikan perlindungan terhadap bakteri probiotik selama proses mikroenkapsulasi.

5. Kesimpulan

Penggunaan probiotik, khususnya *Bacillus* sp., dapat menjadi alternatif yang efektif untuk meningkatkan kesehatan ikan dan kualitas lingkungan dalam budidaya perikanan. Probiotik terbukti mampu meningkatkan sistem imun ikan dan menekan pertumbuhan bakteri patogen yang sering menyebabkan penyakit pada ikan. Teknologi mikroenkapsulasi berhasil meningkatkan viabilitas probiotik selama penyimpanan dan pemberian, serta memperpanjang masa simpan. Probiotik *Bacillus* sp. mikroenkapsulasi memiliki potensi besar sebagai solusi berkelanjutan untuk menggantikan antibiotik dalam budidaya ikan. Aplikasi probiotik dapat mendukung pengembangan praktik budidaya yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Daftar Pustaka

- [1]. Afrilasari W, Widanarni, Meryandini A. 2017. Effect of Probiotic *Bacillus megaterium* PTB 1.4 on the Population of Intestinal Microflora, Digestive Enzyme Activity and the Growth of Catfish (*Clarias* sp.). HAYATI Journal of Biosciences. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hjb.2016.12.005>.
- [2]. Agustina P, Sarjito, Haditomo AHC. 2019. Study of *Bacillus methylotrophicus* as a Probiotic Candidate Bacteria with Different Concentration Against *Aeromonas hydrophila* on Water as a Cultivation Media of Tilapia (*Oreochromis niloticus*). IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/246/1/012030.
- [3]. Ashokkumar S, Mayavu P. 2013. Screening, identification and antagonistic activity of halo stable *Bacillus* sp. Mk22 used as probiotic in *Penaeus monodon* Fabricius, 1798. African Journal of Food Science. 8(1):48-53. DOI: 10.5897/AJFS2013.1048.

- [4]. Astutiningrum OP, Akhirini N, Harimurti S. 2020. Viability of Probiotic Lactic Acid Microencapsulated with Maltodextrin in the Simulated Gastric Juice and Bile Salt. *Animal Production International Seminar*.
- [5]. Aberkane L, Roudaut G, Saurel R. 2014. Encapsulation and Oxidative Stability of PUFA-Rich Oil Microencapsulated by Spray Drying Using Pea Protein and Pectin. *Food Bioprocess Technol.* 7:1505-1517. DOI 10.1007/s11947-013-1202-9.
- [6]. Aruety T, Brunner T, Gross A, Sowers K, Zilberg D. 2015. Decreasing levels of the fish pathogen *Streptococcus iniae* following inoculation into the sludge digester of a zero-discharge recirculating aquaculture system (RAS). *Aquaculture*. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.08.002.
- [7]. Feckaninova A, Koscova J, mudronova D, Popelka P, Toropilova J. The use of probiotic bacteria against *Aeromonas* infections in salmonid aquaculture. *Aquaculture*. doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.11.042
- [8]. Giri SS, Sukumaran, Sen SS, Jena PK. Effects of Dietary Supplementation of Potential Probiotic *Bacillus subtilis* VSG1 Singularly or in Combination with *Lactobacillus plantarum* VSG# or/and *Pseudomonas aeruginosa* VSG2 on the Growth, Immunity and Disease Resistance of *Labeo rohita*. *Aquaculture Nutrition*. 20:163-171. doi: 10.1111/anu.12062.
- [9]. Haditomo AHC, Lusiastuti AM, Widanarni. 2016. Studi *Bacillus firmus* sebagai Kandidat Probiotik dalam Menghadapi *Aeromonas hydrophila* pada Media Budidaya. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 11(2):111-114.
- [10]. Hindu SV, Chandrasekaran1 N, Mukherjee1 A, Thomas J. 2017. Effect of Dietary Supplementation of Novel Probiotic Bacteria *Bacillus vireti* 01 on Antioxidant Defence System of Freshwater Prawn Challenged with *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics & Antimicro. Prot.* DOI 10.1007/s12602-017-9317-3.
- [11]. Jinendiran S, Boopathi S, Sivakumar N, Selvakumar G. Functional Characterization of Probiotic Potential of Novel Pigmented Bacterial Strains for Aquaculture Applications. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9353-z>
- [12]. Kewcharoen W, Srisapoome P. 2019. Probiotic effects of *Bacillus* spp. from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) on water quality and shrimp growth, immune responses, and resistance to *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strains). *Fish and Shellfish Immunology*. 94:175-189.
- [13]. Kuebutornye FKA, Abarike ED, Lu Y, Hlordzi V, Sayki ME, Afriyie G, Wang Z, Li Y, Xie CX. 2020. Mechanisms and the role of probiotic *Bacillus* in mitigating fish pathogens in aquaculture. *Fish Physiol Biochem*. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00754-y>
- [14]. Kuebutornye FKA, Tang J, Yu H, Wang Z, Abarike ED, Lu Y, Li Y, Afriyie G. 2020. In vivo assessment of the probiotic potentials of three host-associated *Bacillus* species on growth performance, health status and disease resistance of *Oreochromis niloticus* against *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735440>
- [15]. Lee JS, Damte D, Lee SJ, Hossain MA, Belew S, Kim JY, Rhee MH, Kim JC, Park SC. 2014. Evaluation and Characterization of a Novel Probiotic *Lactobacillus pentosus* PL11 Isolated from Japanese Eel (*Anguilla japonica*) for its use in Aquaculture. *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1111/anu.12176
- [16]. Lin HL, Shiu YL, Chiu CS, Huang SH, Liu CH. Screening probiotic candidates for a mixture of probiotics to enhance the growth performance, immunity, and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch), against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.026>.

- [17]. Maidon R, Doolgindachbaporn S, Jamjan W, Sakai K, Tashiro Y, Okugawa Y, Tongpim S. 2017. A novel probiotic *Bacillus siamensis* B44v isolated from Thai pickled vegetables (Phak-dong) for potential use as a feed supplement in aquaculture. J. Gen. Appl. Microbiol. doi 10.2323/jgam.2016.12.002.
- [18]. Mohapatra S, Chakraborty T, Kumar V, Deboeck G, Mohanta KN. 2012. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. Journal of Animal physiology and Animal Nutrition. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2012.01301.x.
- [19]. Moore S, Kailasapathy K, Phillips M, Jones MR. 2015. Development of a Viability Standard Curve for Microencapsulated Probiotic Bacteria Using Confocal Microscopy and Analysis Software. Journal of Microbiological Methods. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2015.04.002>.
- [20]. Nandi A, Banerjee G, Dan SK, Ghosh K, Ray AK. 2017. Probiotic efficiency of *Bacillus* sp. in *Labeo rohita* challenged by *Aeromonas hydrophila*: assessment of stress profile, haemato-biochemical parameters and immune responses. Aquaculture Research. doi:10.1111/are.13255.
- [21]. Nayak SK, Mukherjee SC. 2011. Screening of gastrointestinal bacteria of Indian major carps for a candidate probiotic species for aquaculture practices. Aquaculture Research. 42:1034-1041. doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02686.x.
- [22]. Ozturk RC, Altinok I. Bacterial and Viral Fish Diseases in Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 14: 275-297. DOI: 10.4194/1303-2712-v14_1_30.
- [23]. Piano MD, Carmagnola S, Ballare M, Balzarini M, Montino F, Pagliarulo M, Anderloni A, Orsello M, Tari R, Sforza F, Mogna L, Mogna G. 2012. Comparison of the Kinetics of Intestinal Colonization by Associating 5 Probiotic Bacteria Assumed Either in a Microencapsulated or in a Traditional, Uncoated Form. J Clin Gastroenterol. 46(1):85-92.
- [24]. Roman L, Padilla D, Acosta F, Sorroza L, Fatima E, Deniz S, Grasso V, Bravo J, real F. 2015. The effect of probiotic *Enterococcus gallinarum* L-1 on the innate immune parameters of outstanding species to marine aquaculture. Journal of Applied Animal Research. 43(2):177-183. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2014.928635>
- [25]. Sarjito, haditomo AHC, Ariyanti RW, Sabdaningsih A, Desrina, Prayitno SB. 2018. Screening of potential isolate candidates probiotic against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. Journal of Physics: Conf. Series. doi:10.1088/1742-6596/1217/1/012147
- [26]. Schreier HJ. 2019. Draft Genome Sequence of Marine *Bacillus* sp. Strain ISO11, a Candidate Finfish and Shellfish Probiotic. American Society for Microbiology. 7(15).
- [27]. Setiyaningsih L, Widanarni, Lusiastuti AM, Yuhana M. 2017. Pengaruh Pemberian Mikrokapsul Probiotik *Bacillus cereus* P22 dan *Staphylococcus lentus* L1K pada pakan terhadap Kinerja Pertumbuhan, Respon Imun dan Resistensi ikan Lele, *Clarias gariepinus* Burcell 1822 yang diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Ikhtologi Indonesia. 17(2):143-154.
- [28]. Thurlow CM, Williams MA, Carrias A, Ran C, Newman M, Tweedie J, Allison E, Jescovitch LN, Wilson AE, Terhune JS, Liles MR. 2018. *Bacillus velezensis* AP193 exerts probiotic effects in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and reduces aquaculture pond eutrophication. Aquaculture. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.051>
- [29]. Uribe NDA, Villadiego OSR, Campuzano OIM, Ramirez LAG. 2018. Viability of probiotic bacteria *Bacillus polymyxa*, *Bacillus megaterium* and *Lactobacillus delbruekii* subsp. bulgaricus microencapsulated under the spray-

drying technique. Universidad Nacional De Colombia Sede Medellin Facultad De Minas. 85(204):272-276. DOI: <http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v85n204.61644>

- [30]. Vidal JMA, Pessoa MND, Santos FLD, Mendes PDP, Mendes ES. Probiotic Potential of *Bacillus cereus* against *Vibrio* spp. In Post Larvae Shrimps. Universidade Federal Rural do Semi-Árido Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. 31(2):495-503 <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252018v31n226rc>
- [31]. Wise AL, Lafrentz BR, Kelly AM, Khoo LH, Xu T, Liles MR, Bruce TJ. 2021. A Review of Bacterial Co-Infections in Farmed Catfish: Components, Diagnostics, and Treatment Directions. *Animals*. doi.org/10.3390/ani11113240.
- [32]. Xu T, Zhang H. 2013. *Edwardsiella tarda*: an intriguing problem in aquaculture. *Aquaculture*. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.12.001
- [33]. Ying DY, Phoon MC, Weerakkody R, Bugar I, Augustin MA. 2010. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG Powders: Relationship of Powder Physical Properties to Probiotic Survival during Storage. *Journal of Food Science*. 75(9):588-595. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01838.x
- [34]. Zhou S, Xia Y, Zhu C, Chu W. 2018. Isolation of Marine *Bacillus* sp. with Antagonistic and Organic-Substances-Degrading Activities and Its Potential Application as a Fish Probiotic. *Marine Drugs*. doi:10.3390/md16060196