

## PERFORMA PERTUMBUHAN DAN KETAHANAN STRES STADIA AWAL UDANG GALAH *Macrobrachium rosenbergii* YANG DIBERI *Bacillus* sp.

## GROWTH PERFORMANCE AND STRESS RESISTANCE IN EARLY STAGE OF GIANT PRAWN, *Macrobrachium rosenbergii*, TREATED WITH *Bacillus* sp.

Munti Yuhana<sup>1\*</sup>, Darna Andrian Ramadhan<sup>1</sup>, Hary Krettiawan<sup>2</sup>, Usamah Afiff<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University

<sup>2</sup>Balai Riset Pemuliaan Ikan, Sukamandi, Subang

<sup>3</sup>Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University

\*Korespondensi: muntiyu@apps.ipb.ac.id

### ABSTRACT

The study aimed to evaluate the effect of the water application of probiotic *Bacillus* sp. DMP13 on the growth and stress response of giant freshwater prawn larvae *Macrobrachium rosenbergii*. The larvae used in this experiment were 1-day-old larvae post-hatching with an average body weight of  $2.7 \pm 0.6$  mg and an average length of  $2.1 \pm 0.1$  mm. The larvae were reared in 2 L plastic tanks with a density of  $100 \text{ L}^{-1}$  for 21 days. The study was conducted using 4 treatments with three replications of each, namely A (control without probiotic), B (*Bacillus* sp. DMP13 with cell concentration of  $10^2$  CFU (colony forming unit)  $\text{mL}^{-1}$ ), C (*Bacillus* sp. DMP13 with  $10^4$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ) and D (*Bacillus* sp. DMP13 with  $10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ). Probiotic was applied in the rearing media on days 9<sup>th</sup> up to 18<sup>th</sup> with 3 days intervals. The results showed that application of *Bacillus* sp. DMP13 with a cell density of  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  was able significantly increased the absolute larvae weight ( $29.67 \pm 1.88$  mg), increased larval survival in stress concentrations of  $1,250 \mu\text{L L}^{-1}$  of formalin solution (the highest larval survival rate  $98.3 \pm 2.9\%$ ). Treatment with  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  probiotic cell addition also increasing the total bacterial viable count in the media (the cell density reached  $5.99 \pm 0.28 \log \text{CFU mL}^{-1}$ ). However, other parameters such as the larvae stage index, survival rate, and absolute length of the larvae with probiotic treatments were not significantly different from those of control.

Keywords: *Bacillus* sp. DMP13, giant freshwater prawn, larvae, probiotic, stress response

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek aplikasi probiotik *Bacillus* sp. DMP13 melalui air terhadap respons kinerja pertumbuhan dan ketahanan larva udang galah *Macrobrachium rosenbergii*. Larva yang digunakan dalam penelitian ini berumur 1 hari pasca menetas dengan bobot tubuh rata-rata  $2,7 \pm 0,6$  mg dan panjang rata-rata  $2,1 \pm 0,1$  mm. Larva dipelihara dalam bak plastik bervolume 2 L dengan kepadatan  $100 \text{ L}^{-1}$  selama 21 hari. Penelitian dilakukan dengan 4 perlakuan dengan masing-masing tiga ulangan yaitu A (kontrol tanpa probiotik), B (*Bacillus* sp. DMP13 dengan konsentrasi sel  $10^2$  CFU (*Colony Forming Unit*)  $\text{mL}^{-1}$ ), C (*Bacillus* sp. DMP13 dengan  $10^4$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ) dan D (*Bacillus* sp. DMP13 dengan  $10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ). Pemberian probiotik melalui media pemeliharaan dilakukan pada hari ke-9 sampai ke-18 dengan selang waktu setiap 3 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi probiotik *Bacillus* sp. DMP13 dengan kepadatan sel  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  secara signifikan mampu meningkatkan bobot mutlak larva ( $29,67 \pm 1,88$  mg), meningkatkan daya tahan larva dalam cekaman konsentrasi  $1,250 \mu\text{L L}^{-1}$  larutan formalin (tingkat kelangsungan hidup larva tertinggi  $98,3 \pm 2,9 \%$ ). Perlakuan dengan penambahan sel probiotik  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  juga meningkatkan jumlah total bakteri yang hidup dalam media (kepadatan sel mencapai  $5,99 \pm 0,28 \log \text{CFU mL}^{-1}$ ). Namun parameter lain seperti indeks stadium larva, tingkat kelangsungan hidup, dan panjang absolut larva udang galah pasca pemberian perlakuan probiotik tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Kata kunci: *Bacillus* sp. DMP13, daya tahan stress, larva, probiotik, udang galah

## PENDAHULUAN

Intensifikasi produksi benih udang galah memperlihatkan rendahnya sintasan yang ada di *hatchery*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh berbagai faktor internal dan eksternal. Faktor internal antara lain adanya perkembangan kondisi fisiologis larva di fase transisi, adaptasi terhadap lingkungan pada saat stadia larva, cekaman *stress* lingkungan, kanibalisme, dan adaptabilitas terhadap lingkungan yang masih rendah (Rahiman *et al.* 2010).

Dewasa ini aplikasi probiotik dalam akuakultur semakin populer karena ramah lingkungan, mampu meningkatkan kesehatan dan pertumbuhan organisme budidaya (Seenivasan *et al.* 2014). Probiotik berperan penting untuk meningkatkan sintasan, mempercepat pertumbuhan, dapat menekan populasi patogen, menjaga lingkungan budidaya, dan berdampak pada peningkatan produksi (Yuhana 2010; Vine *et al.* 2006; Akter *et al.* 2017). Aplikasi probiotik telah meningkatkan perbedaan signifikan pada sintasan udang vaname (Hamsah *et al.* 2017a, b) dan di udang galah (Habib *et al.* 2014, Seenivasan *et al.* 2014). Beberapa penelitian tentang aplikasi probiotik yang dilakukan pada udang vaname menunjukkan hasil bahwa pemberian probiotik mampu meningkatkan respon imun (Ramezani-Fard *et al.* 2014), ketahanan terhadap serangan penyakit, performa pertumbuhan, sintasan, pemanfaatan pakan serta aktivitas enzim pencernaan (Gupta *et al.* 2016). Ada banyak kelompok genus bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik, seperti *Bacillus sp.* (Keysami *et al.* 2007; Rahiman *et al.* 2010), *Lactobacillus* (Dash *et al.* 2014; Seenivasan *et al.* 2014), *Streptococcus*, *Pseudoalteromonas sp.*, *Vibrio sp.* (Widanarni *et al.* 2008), *Aeromonas* dan *Saccharomyces* (Prasad *et al.* 2013).

Bakteri Gram positif, seperti *Bacillus sp.* telah mampu berperan dalam berbagai aspek akuakultur seperti untuk perbaikan kualitas air, pengurangan populasi patogen di lingkungan budidaya, peningkatan tingkat kelangsungan hidup dan pertumbuhan, serta peningkatan kondisi kesehatan inang (Das *et al.* 2017).

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi pengaruh aplikasi probiotik *Bacillus sp.* DMP 13 dengan konsentrasi berbeda dan pengaruhnya terhadap sintasan, pertumbuhan dan daya

tahan larva udang galah *Macrobrachium rosenbergii*.

## METODE PENELITIAN

### Penyediaan isolat *Bacillus sp.* DMP 13

*Bacillus sp.* DMP 13 merupakan bakteri yang diisolasi dari spons laut dengan teknik dan kriteria seleksi bertahap (Yuhana 2010, Abubakar *et al.* 2011). *Bacillus sp.* DMP 13 dikultivasi selama sekitar 20 jam pada media *Marine Agar* (MA, Difco Marine Agar 2216). Media MA mengandung *peptone*, *yeast extract*, *agar bacteriological*, dan semua mineral yang diperlukan untuk menumbuhkan bakteri asal laut (*marine bacteria*). Biakan *Bacillus sp.* DMP 13 kemudian dikulturkan selama sekitar 20 jam dalam media *Marine Broth* (MB, Difco Marine Broth 2216). Kultur sel *Bacillus sp.* DMP 13 diinkubasi di media MB pada suhu 30°C selama 24 jam hingga kepadatan sel mencapai 10<sup>8</sup> CFU mL<sup>-1</sup>. Selanjutnya, kultur yang tumbuh dibagi dalam 2 wadah steril baru, sebagai kultur stok sel probiotik yang disimpan di media agar miring MA yang disimpan di kondisi suhu sekitar 4°C. Bagian kultur sel lainnya adalah biakan yang dipelihara sebagai stok kerja yang dikultur di media MB. Sel bakteri *Bacillus sp.* DMP 13 kemudian dilakukan karakterisasi secara morfologis dan fisiologis serta konfirmasi pewarnaan endospora untuk memastikan bakteri yang digunakan adalah bakteri genus *Bacillus sp.*

### Pengujian patogenisitas *Bacillus sp.* DMP 13 terhadap larva udang galah

Pengujian ini dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa *Bacillus sp.* DMP 13 yang dijadikan kandidat probiotik tidak bersifat patogen (Yuhana 2010). Galur bakteri *Bacillus sp.* DMP 13 ini diuji sifat patogenisitasnya dengan menambahkan suspensi selnya pada konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup> pada media pemeliharaan larva udang galah stadia 2 dan 3. Larva udang galah dipelihara dengan kepadatan 100 ekor L<sup>-1</sup> dan diberi pakan naupli *Artemia*. Pemeliharaan larva udang galah dilakukan selama 5 hari dan larva yang mati dihitung setiap hari. Pada akhir percobaan dihitung sintasan larva dan dibandingkan dengan kontrol, yaitu perlakuan tanpa penambahan isolat bakteri (Widanarni *et al.* 2010).

## Aplikasi probiotik ke dalam media dan pemeliharaan larva udang galah

Wadah pemeliharaan larva yang digunakan berupa bak plastik berwarna biru gelap dengan volume 2 liter. Sebelum dipakai, wadah didesinfeksi menggunakan hipoklorit 30  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Selanjutnya wadah diisi air payau (salinitas 12‰), tanpa disterilisasi, sebanyak 2 liter media dan diberi aerasi. Hewan uji yang digunakan adalah larva udang galah *Macrobrachium rosenbergii* strain GI Macro II dengan bobot rata-rata  $0,0014 \pm 0,0001$  mg/ekor dan panjang  $2 \pm 0,1$  mm/ekor. Larva dipelihara dengan kepadatan 100 ekor  $\text{L}^{-1}$  selama 21 hari dan diberikan berupa naupli *Artemia* sp. pada pukul 10.00 dan 16.00 WIB, serta pakan tambahan berupa *egg custard* sebanyak 12-20 mg/hari/wadah setelah hari ke-12 pada pukul 08.00, 12.00, dan 14.00. Pada hari ke-9, media pemeliharaan larva ditambahkan kultur cair sel probiotik *Bacillus* sp. DMP 13. Pada saat ini larva mencapai stadia post larva 3-4. Perlakuan penelitian adalah kelimpahan sel probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 yang diberikan melalui media pemeliharaan dengan konsentrasi berbeda, disertai kontrol yaitu tanpa pemberian probiotik (perlakuan A), lalu perlakuan kepadatan sel sebanyak  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  (perlakuan B),  $10^4$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  (perlakuan C), dan  $10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  (perlakuan D). Probiotik yang diperbanyak dalam media kultur cair, diberikan setiap interval 3 hari sekali, dari hari ke-9 hingga hari ke-18 pemeliharaan.

### Parameter pengamatan dan pengolahan data

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah indeks stadia perkembangan larva (LSI, mengacu pada Nhan 2009, yaitu indeks yang merupakan

refleksi perkembangan organ-organ tubuh larva udang galah). Rumus yang digunakan untuk menghitung parameter LSI (Nhan 2009) adalah sebagai berikut:

$$LSI = [(n_1 \times a) + (n_2 \times b) + \dots + (n_n \times k)]/N$$

di mana: a,b, ..., k : Stadia larva, yaitu 1-11  
 $n_1, n_2, \dots, n_n$ : Jumlah larva yang terlihat pada stadium yang sama  
 N: Jumlah total larva yang diamati. Selama pemeliharaan, diamati perkembangan stadia larva (*Larvae Stage Index*) setiap tiga hari sekali selama pemeliharaan menggunakan mikroskop binokuler dengan sampel yang diamati sebanyak 20 ekor larva. Selain indeks LSI, dilakukan observasi pula parameter kinerja pertumbuhan (mengacu pada penelitian Hamsah *et al.* 2017a) yang meliputi: laju pertumbuhan harian (LPH), pertumbuhan bobot mutlak (PBM), pertumbuhan panjang mutlak (PPM), sintasan (SR), daya tahan larva, kelimpahan total bakteri/*total bacterial count* (TBC) di media pemeliharaan. Kualitas air media diukur pada saat awal tengah dan akhir penelitian yang meliputi parameter pH, kandungan oksigen terlarut/*dissolved oxygen* (DO) serta suhu. Data yang diperoleh ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2013, kemudian dianalisis ragam dan diuji lanjut menggunakan uji Tukey dengan bantuan software Minitab 17.0.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakterisasi isolat bakteri *Bacillus* sp. DMP13

Karakterisasi bakteri secara morfologis dan fisiologis serta pewarnaan spora menunjukkan bahwa bakteri DMP 13 tergolong genus *Bacillus* sp. dan memiliki endospora (Tabel 1).

Tabel 1. Karakterisasi morfologis dan fisiologis bakteri *Bacillus* sp. hasil isolasi dari spons laut

Isolat	Warna koloni	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	SIM	Oksidase	Katalase	O/F	Spora
DMP13	Putih susu	+	Batang	+	+	+	+/+	+
BR2*	Putih agak krem	+	Batang	+	+	+	+/+	+

Keterangan: (+) = positif uji, (-) = negatif uji, SIM: Sulfit, Indol, Motilitas, O/F: Oksidatif/Fermentatif

\*BR2: *Bacillus cereus* isolat referensi yang sudah disekuens gen 16S rRNANYA

Bakteri *Bacillus* sp. DMP 13 yang diisolasi dari spons laut demospongea (Abubakar *et al.* 2011) merupakan bakteri Gram positif berbentuk batang. Dari pengamatan kami dengan melakukan preparat ulas dan pewarnaan spora, kultur sel yang ditumbuhkan pada media MA dan diinkubasi selama 48-72 jam sudah membentuk endospora. Bentuk endospora memiliki kelebihan dibandingkan sel vegetatif karena memiliki struktur pelindung untuk mempertahankan daya hidup yang lebih lama (Gupta *et al.* 2016). *Bacillus* sp. adalah bakteri Gram positif yang biasa digunakan sebagai probiotik karena memiliki spora. Fase spora ini bersifat lebih stabil dan dapat bertahan lebih lama di lingkungan yang ekstrim atau kurang menguntungkan (Nicholson *et al.* 2000).

### Uji patogenisitas bakteri terhadap larva

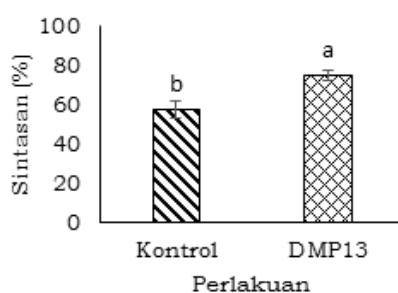
Hasil uji pendahuluan sifat patogenisitas probiotik *Bacillus* sp. DMP 13, pada larva yang diberi suspensi sel probiotik tidak menunjukkan adanya kematian post larva udang galah. Hal ini berarti *Bacillus* sp. DMP 13, tidak berbahaya, tidak bersifat patogenik dan aman digunakan untuk diaplikasikan dalam media pemeliharaan larva udang galah. Dibandingkan dengan larva kontrol yang tidak diberi probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 (Gambar 1), larva udang galah yang dipelihara dalam media dengan aplikasi bakteri *Bacillus* sp. DMP 13 dengan konsentrasi sel  $10^6$  CFU mL<sup>-1</sup> memiliki sintasan sebesar  $75,0 \pm 1,2\%$ , sedangkan nilai sintasan pada perlakuan kontrolnya bahkan hanya  $57,5 \pm 2,6\%$ . Kematian yang terjadi dalam perlakuan kontrol kemungkinan karena adanya bakteri patogen yang konsentrasinya tinggi dalam media, sedangkan penambahan sel probiotik ke dalam media pemeliharaan dapat menekan populasi sel bakteri patogen ini, sehingga menimbulkan kematian dan

penurunan jumlah larva udang galah pada kontrol.

Pengujian in vivo sifat patogenisitas *Bacillus* sp. DMP 13 dilakukan untuk konfirmasi aspek keamanan probiotik terhadap inang. Dari pengujian patogenisitas ini hasilnya menunjukkan bahwa keberadaan *Bacillus* sp. DMP 13 dengan konsentrasi sel yang tinggi dalam media tidak berakibat lebih buruk dibanding perlakuan kontrol (Gambar 1). Pengujian ini menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. DMP 13 tersebut tidak bersifat patogen (Widanarni *et al.* 2010). *Bacillus* sp. adalah genus bakteri yang sangat luas aplikasinya sebagai sumber probiotik pada berbagai organisme (Elshaghabe *et al.* 2017). Sifat non patogenik merupakan salah satu kriteria penting yang menentukan organisme dapat digunakan sebagai kandidat probiotik yang baik (Yuhana 2010; Rahiman *et al.* 2010). Ada beberapa kemungkinan yang menyebabkan nilai sintasan udang kontrol lebih rendah, yaitu kondisi fisiologis larva udang galah pada stadia awal larva ini masih dalam perkembangan kelengkapan organ, selain itu fase transisi atau peralihan sumber nutrisi larva dari kuning telur ke sumber pakan alami *Artemia* sp., diduga masih sangat berkontribusi terhadap tingginya mortalitas larva udang.

### Perkembangan dan pertumbuhan larva udang galah

Hasil pengamatan terhadap parameter indeks stadia larva (LSI), serta parameter laju pertumbuhan spesifik (LPH) dan pertumbuhan panjang mutlak (PPM) pemberian probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 dengan kelimpahan berbeda memperlihatkan tidak berbeda nyata terhadap kontrol sedangkan parameter pertumbuhan bobot mutlak (PBM) pada perlakuan B  $3,09 \pm 0,12$  mg berbeda nyata terhadap kontrol  $2,40 \pm 0,1$  (Tabel 2).



Gambar 1. Sintasan larva udang galah yang dipelihara selama 5 hari dalam uji patogenisitas isolat *Bacillus* sp. DMP 13



Tabel 2. Kinerja pertumbuhan, sintasan, dan ketahanan larva udang galah yang diberi probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 dengan konsentrasi sel berbeda melalui media pemeliharaan

Parameter/Perlakuan (Konsentrasi Sel Probiotik CFU mL <sup>-1</sup> )	A (Kontrol)	B (10 <sup>2</sup> )	C (10 <sup>4</sup> )	D (10 <sup>6</sup> )
LSI d21*	6,6 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>	6,8 <sup>a</sup>	6,6 <sup>a</sup>
LPH (%)	17,63 ± 2,09 <sup>a</sup>	19,68 ± 2,29 <sup>a</sup>	18,24 ± 2,62 <sup>a</sup>	18,76 ± 2,6 <sup>a</sup>
PBM (mg)	2,40 ± 0,1 <sup>b</sup>	3,09 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,6 ± 0,3 <sup>ab</sup>	2,77 ± 0,22 <sup>ab</sup>
PPM (mm)	6,25 ± 0,21 <sup>a</sup>	6,71 ± 0,28 <sup>a</sup>	6,04 ± 0,46 <sup>a</sup>	6,21 ± 0,49 <sup>a</sup>
Sintasan SR (%)	53,5 ± 3,6 <sup>a</sup>	55,3 ± 4,3 <sup>a</sup>	49,5 ± 7,4 <sup>a</sup>	49,2 ± 5,3 <sup>a</sup>
SR tes formalin 750 µL L <sup>-1</sup> (%)	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
SR tes formalin 1.000 µL L <sup>-1</sup> (%)	95,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	100,0 ± 0,0 <sup>a</sup>
SR tes formalin 1.250 µL L <sup>-1</sup> (%)	81,7 ± 2,9 <sup>b</sup>	98,3 ± 2,9 <sup>a</sup>	95,0 ± 5,0 <sup>a</sup>	95,0 ± 8,7 <sup>ab</sup>
TBC (log n)	5,22 ± 0,17 <sup>b</sup>	5,99 ± 0,28 <sup>a</sup>	5,74 ± 0,31 <sup>a</sup>	5,73 ± 0,12 <sup>a</sup>

Keterangan: Nilai yang tertera merupakan nilai rata-rata dan simpangan baku. Huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0,05$ ). d21\*: LSI dihitung dengan formula (Nhan 2009; Anggraeni dan Krettiawan 2015)

Indeks LSI adalah parameter untuk menilai perkembangan stadia populasi larva yang dipelihara dalam satu perlakuan (Nhan 2009). Pengamatan yang dilakukan terhadap LSI kontrol dan perlakuan aplikasi probiotik tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan berada di kisaran  $6,7 \pm 0,1$ . Hal ini diduga karena pada masa awal perkembangan hidupnya serta masa transisi dalam memperoleh sumber nutrisi, kecepatan perkembangan larva udang galah relatif sama. Menurut FAO (2002), rata-rata perkembangan larva udang galah hingga mencapai juvenil pada rentang waktu 25-35 hari. Nilai LSI pada udang galah menunjukkan perkembangan larva yang ditandai dengan proses perubahan dan perkembangan bentuk fisik. Larva udang galah akan berganti kulit secara periodik dan akan mengalami 11 kali perubahan bentuk yang berbeda atau penambahan komponen tubuh hingga mencapai fase juvenil yang menyerupai udang galah dewasa (Nhan 2009; Anggraeni dan Krettiawan 2015). Nilai indeks LSI larva yang dipelihara selama 21 hari dalam penelitian ini lebih rendah dari studi yang pernah dilakukan sebelumnya untuk udang galah domestikasi asal Berau sebesar  $8,2 \pm 0,1$  (Anggraeni dan Krettiawan 2015) diduga karena pengaruh faktor

intrinsik yaitu genetik udang galah yang asalnya berbeda.

Pertumbuhan bobot larva udang galah berbeda nyata terhadap kontrol yaitu pada perlakuan B  $3,10 \pm 0,12$  mg dan D  $2,77 \pm 0,22$  mg (Tabel 2). Gupta *et al.* (2016) menyatakan bahwa larva udang galah yang diberikan probiotik *Bacillus coagulan* memperlihatkan performa pertumbuhan yang signifikan dan mampu meningkatkan bobot tubuh. Sedangkan pertumbuhan panjang mutlak larva udang galah tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 2). Dalam penelitian ini nilai PBM yang signifikan berbeda dari perlakuan B tidak berkorelasi positif dengan parameter lain seperti parameter sintasan dan LSI.

Nilai sintasan udang uji pasca perlakuan pemberian probiotik tidak berbeda secara signifikan antar perlakuan (Tabel 2). Meskipun sintasan yang didapatkan tidak berbeda signifikan, namun perlakuan B memiliki sintasan yang terbaik jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pemberian probiotik komersial mampu memberikan sintasan yang lebih baik meskipun tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan (Ghosh *et al.* 2016). Habib *et al.* (2014) melaporkan bahwa larva udang galah yang dipelihara

menggunakan probiotik dengan dosis yang berbeda memiliki sintasan 58% dan 46% pada perlakuan dan kontrol.

Daya tahan larva udang galah terhadap cekaman media formalin pada dosis rendah ( $750 \mu\text{L}^{-1}$ ) dan sedang  $1.000 \mu\text{L}^{-1}$  tidak berbeda signifikan antara kontrol dan perlakuan. Sedangkan pada konsentrasi formalin tinggi ( $1.250 \mu\text{L}^{-1}$ ) ternyata perlakuan pemberian probiotik mampu meningkatkan daya tahan larva secara signifikan dibandingkan kontrol tanpa probiotik. Pemberian probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 diduga mampu menstimulasi daya tahan tubuh larva udang galah. Menurut Dash *et al.* (2014), larva udang galah yang diberikan paraprobiotik *L. plantarum* mampu meningkatkan parameter imun dan perlindungan dari serangan penyakit. Aplikasi *Bacillus* sp. dari penelitian sebelumnya dilaporkan mampu mengaktifkan sistem imun inang (Rahiman *et al.* 2010; Laranja *et al.* 2017). Hasil penelitian Khasani *et al.* (2013) menyatakan bahwa pasca larva udang galah terseleksi memiliki daya tahan cekaman media yang ditambahkan formalin  $500 \text{mg L}^{-1}$  lebih tinggi dibandingkan pasca larva kontrol, dengan kematian  $0,3 \pm 0,1\%$  dan  $1,3 \pm 0,15\%$ . Berdasarkan KEPMEN-KP No. 23 (2014) tentang Pelepasan Udang Galah GI Macro II, udang galah strain GI Macro II memiliki toleransi terhadap paparan formalin  $750 \text{ppm}$  dengan nilai sintasan sebesar 98%. Pemberian probiotik pada larva udang galah memberikan pengaruh yang lebih baik hingga mampu bertahan pada dosis paparan formalin yang lebih tinggi.

Dari hasil perhitungan kelimpahan total bakteri di akhir penelitian dalam media pemeliharaan larva udang galah memperlihatkan peningkatan kepadatan sel dan berbeda secara signifikan jika dibandingkan dengan kontrol (Tabel 2). Kelimpahan total bakteri tertinggi didapatkan pada perlakuan B sebesar  $5,99 \pm 0,28 \text{CFU mL}^{-1}$  (log n). Larva udang galah yang diberikan penambahan *Bacillus* sp. dan *Vibrio* sp. dan dipelihara selama 60 hari memiliki kelimpahan total bakteri sebesar  $10^7 \text{CFU mL}^{-1}$  (Rahiman *et al.* 2010). Dash *et al.* (2014) melaporkan bahwa pemberian *L. plantarum* pada larva udang galah yang dipelihara selama 90 hari memiliki kelimpahan bakteri sebesar  $10^9 \text{CFU mL}^{-1}$

di media air. Namun penambahan probiotik ke dalam media pemeliharaan, meskipun dilakukan dengan kelimpahan tertinggi, tidak selalu diiringi dengan peningkatan kepadatan sel probiotik di dalam tubuh larva (Widanarni *et al.* 2010).

Peningkatan jumlah kepadatan sel bakteri total yg terlihat di akhir penelitian terjadi baik pada perlakuan kontrol maupun perlakuan aplikasi probiotik. Kemungkinan besar hal ini disebabkan jenis atau kelompok bakteri yang dominan di kelompok perlakuan ini berbeda. Air media yang mendapatkan perlakuan penambahan probiotik, diduga populasinya sangat didominasi oleh *Bacillus* sp. DMP 13, sedangkan perlakuan kontrol kemungkinan besar didominasi bakteri lain yang mungkin bersifat patogenik. Hal ini besar kemungkinannya karena parameter sintasan larva pada perlakuan kontrol juga rendah yaitu  $53,5 \pm 3,6\%$ . Sintasan pada perlakuan pemberian probiotik tidak berbeda dengan kontrol, meskipun bobot mutlak pada perlakuan B berbeda. Jadi korelasi positif kedua parameter ini tidak terjadi. Mortalitas yang cukup tinggi pada perlakuan penambahan probiotik melalui air untuk stadia awal larva mungkin terjadi akibat fase transisi perkembangan larva yang sangat cepat dan hal ini memerlukan energi yang besar. Daya adaptasi larva terhadap perubahan lingkungan berkurang, sehingga mortalitas sering terjadi. Untuk peningkatan efektivitas pemberian probiotik pada fase awal larva perlu dipertimbangkan aplikasi dengan teknik bioenkapsulasi yang terbukti menghasilkan performa dan sintasan tinggi dibandingkan kontrol, seperti pada studi sebelumnya (Hamsah *et al.* 2017a). Peluang sel probiotik untuk dapat masuk ke dalam tubuh larva dan melekat serta berproliferasi dari aplikasi dengan bioenkapsulasi diduga lebih baik dibandingkan dengan aplikasi melalui air, namun ini masih perlu dibuktikan dengan penelitian.

### **Kualitas air**

Hasil pengukuran kualitas air pada penelitian ini ditampilkan dalam Tabel 3. Kualitas air pada media pemeliharaan larva udang galah masih berada dalam kisaran toleransi untuk pertumbuhannya.

Tabel 3. Parameter kualitas air pada pemeliharaan larva udang galah yang diberi perlakuan probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 dengan kelimpahan berbeda

Parameter	Perlakuan				Literatur
	A	B	C	D	
Suhu (°C)	27,0-30,0	27,0-30,0	27,0-30,0	27,0 -30,0	26-31 (Gupta <i>et al.</i> 2016)
DO (mg L-1)	5,6-7,4	5,3-6,5	5,8-6,1	5,6-6,9	>5,0 (Gupta <i>et al.</i> 2016)
pH	7,9-8	7,8-8,0	7,9-8,0	7,9-8,0	5,0-9,0 (Gupta <i>et al.</i> 2016)

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Aplikasi pemberian probiotik *Bacillus* sp. DMP 13 pada larva udang galah dengan konsentrasi yang berbeda mampu memberikan kinerja pertumbuhan yang lebih baik pada parameter pertumbuhan bobot mutlak, ketahanan *stress* terhadap konsentrasi formalin tinggi (1.250  $\mu\text{L L}^{-1}$ ), dan kelimpahan total bakteri dalam media dan aplikasi terbaik adalah kepadatan sel probiotik sebesar  $10^2$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ .

### Saran

Berdasarkan penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi *Bacillus* sp. DMP 13 dengan bioenkapsulasi pakan alami larva berupa *Artemia* sp., menggunakan konsentrasi sel berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar H, Wahyudi AT, Yuhana M. 2011. Skrining Bakteri yang Berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16: 35-40.
- Anggraeni F, Krettiawan H. 2015. Evaluasi Perkembangan Larva Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*) Asal Berau pada Proses Domestikasi. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. p. 25-30.
- Akter R, Hossain MR, Rahman MM, Rahman BMS, Ahmed KKKU. 2017. The Effect of Commercial Probiotics on Health and Production of Shrimp (*Penaeus monodon*). *Asian Journal Medical and Biological Research*. 3(1): 88-93.
- Das S, Mondal K, Haque S. 2017. A Review on Application of Probiotic, Prebiotic, and Synbiotic for Sustainable Development of Aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 5(2): 422-429.
- Dash G, Raman RP, Prasad KP, Marappan M, Pradeep MA, Sen W. 2014. Evaluation of *LactoBacillus planarum* as A Water Additive on Host Associated Microflora, Growth, Feed Efficiency and Immune Response of Giant Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1979). *Aquaculture Research*. 47(3): 804-818.
- Elshaghabe FMF, Rokana N, Gulhane RD, Sharma C, Panwar H. 2017. *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspectives. *Frontiers in Microbiology*. 8:1-15.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2002. Farming Freshwater Prawn: A Manual for The Culture of Giant River Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). FAO Fisheries Technical Paper 428. Rome (IT) : 1-72.
- Ghosh AK, Bir J, Azad MdAK, Md Hasanuzzaman AF, Islam MdS, Huq KA. 2016. Impact of Commercial Probiotics Application on Growth and Production of Giant Fresh Water Prawn (*Macrobrachium rosenbergii* De Man, 1879). *Aquaculture Reports*. 4: 112-117.
- Gupta A, Verma G, Gupta P. 2016. Growth Performance, Feed Utilization, Digestive Enzyme Activity, Innate Immunity and Protection Against *Vibrio harveyi* of Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* fed diets supplemented with *Bacillus coagulans*. *Aquaculture International*. 24: 1379-1392.
- Habib A, Das NG, Hossain MB. 2014. Growth Performance and Survival Rate of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1979) Larvae Using Different Doses of Probiotics. *Pakistan Journal of Biological Science*. 17(7): 920-924.

- Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana M, Zairin JrM. 2017a. Bacterial Population, Activity of Enzymes and Growth Rate of Pacific White Shrimp Larvae Administered *Pseudoalteromonas piscicida* and Mannan-oligosaccharides Through Bioencapsulation of *Artemia* sp. *Research Journal of Microbiology*. 12: 128-136.
- Hamsah, Widanarni, Alimuddin, Yuhana M, Junior MZ. 2017b. The Nutritional Value of *Artemia* sp. Enriched with The Probiotic *Pseudoalteromonas piscicida* and The Prebiotic Mannan-oligosaccharide. *AACL Bioflux*. 10(1): 8-17.
- Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 23/KEPMEN-KP/2014 Tentang Pelepasan Udang Galah GI MACRO II.
- Keysami MA, Saad CR, Sijam K, Daud HM, Alimon AR. 2007. Effect of *Bacillus subtilis* on Growth Development and Survival of Larvae *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Nutrition*. 13: 131-136.
- Khasani I, Sopian A. 2013. Pertumbuhan dan Sintasan Benih Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) pada Pendederan Berbasis Sistem Heterotrof dengan Padat Tebar Berbeda. *Jurnal Riset Akuakultur*. 8(3): 373-382.
- Laranja JLQ, Amar EC, Ludevese-Pascual GL, Niu Y, Geaga MJ, Schryver PD, Bossier P. 2017. A Probiotic *Bacillus* Strain Containing Amorphous Poly-beta-hydroxybutyrate (PHB) Stimulates The Innate Response of *Panaeus monodon* Postlarvae. *Fish and Shellfish Immunology*. 68: 202-210.
- Nicholson WL, Munakata N, Horneck G, Melosh HJ, Setlow P. 2000. Resistance of *Bacillus* Endospores to Extreme Terrestrial and Extraterrestrial Environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, p. 548-572.
- Nhan DT. 2009. Optimization of Hatchery Protocols for *Macrobrachium rosenbergii* Culture in Vietnam. PhD thesis, Ghent University, Belgium, p. 265.
- Prasad K, Nayak BB, Srivastava PP, Reddy AK, Kohli MPS. 2013. Use of Brewer's Yeast *Saccharomyces cerevisiae* as Growth Promoter in Giant Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) Post Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 13: 447-452.
- Rahiman KMM, Jesmi Y, Thomas AP, Hatha AAM. 2010. Probiotic Effect of *Bacillus* NL110 and *Vibrio* NE17 on the Survival, Growth Performance and Immune Response of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquaculture Research*. 41: 120-134.
- Ramezani-Fard E, Zokaeifar H, Ebrahimi M, Kamarudin MS, Goh YM, Ehteshami F. 2014. Probiotic Administration of *Litopenaeus vannamei*: Is There Any Negative Effect on The Fatty Acid Profile of Meat?. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 13(3): 550-559.
- Seenivasan C, Radhakrishnan S, Muralisankar T, Bhavan PS. 2014. Effect of Probiotics on Survival, Growth and Digestive Enzymes Activities in Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man 1979). *Zoological Society (IND): Springer*.
- Vine NG, Leukes WD, Kaiser H. 2006. Probiotics in Marine Larviculture. *Federation of European Microbial Societies*. 30: 404-427.
- Widanarni, Sukenda, Setawati M. 2008. Bakteri probiotik dalam budidaya udang: seleksi, mekanisme aksi, karakterisasi dan aplikasinya sebagai agen biokontrol. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 13(2): 80-89.
- Widanarni, Rajab F, Sukenda, Setiawati M. 2010. Isolasi dan Seleksi Probiotik dari Lingkungan Tambak dan Hatchery untuk Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Larva Udang Windu, *Panaeus monodon*. *Jurnal Riset Akuakultur*. 5(1): 103-113.
- Yuhana M. 2010. Biocontrol Agents in Aquaculture: Production and Their Application. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 9(1): 16-20.