



PEMANFAATAN TEKNIK RADIOISOTOP P-32 UNTUK PENENTUAN VIABILITAS ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT A1 SEBAGAI PROBIOTIK PADA IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*)

Adria P.M. dan Irawan Sugoro

Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi – BATAN, Jakarta

Email : adria_batan@yahoo.co.id

Produktivitas ikan patin dapat ditingkatkan dengan memanfaatkan probiotik dari jenis bakteri asam laktat (BAL). Probiotik yang digunakan adalah isolat BAL dengan kode A1 hasil isolasi dari usus ikan patin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu inkorporasi radioisotop P-32 pada sel bakteri dan viabilitasnya di dalam usus ikan patin. Tahapan penelitian terdiri dari penentuan waktu inkorporasi radioisotop P-32 ke dalam sel bakteri A1 dalam medium MRSB dan pengujian pakan mengandung isolat A1 berlabel P-32 pada usus halus ikan patin. Waktu inkorporasi P-32 tertinggi ke dalam sel isolat bakteri A1 terjadi pada jam ke-12 dengan laju 982,6 cpm/jam atau % inkorporasi sebesar 90%. Selanjutnya sel isolat bakteri berlabel P-32 dicampurkan ke dalam pakan dan diujikan pada ikan patin. Hasilnya memperlihatkan bahwa terjadi penurunan viabilitas bakteri hingga hari ke-7 dan hanya 4% bakteri yang tersisa. Berdasarkan hasil tersebut maka dapat diketahui bahwa frekuensi pemberian probiotik isolat bakteri A1 pada ikan patin untuk skala kolam adalah setiap 7 hari sekali.

Kata kunci : Ikan patin, probiotik, radioisotop P-32, viabilitas.

PENDAHULUAN

Ikan patin (*Pangasius pangasius*) telah menjadi salah satu komoditas yang menjanjikan dalam memenuhi kebutuhan masyarakat akan protein hewani. Permintaan yang cukup tinggi menyebabkan tingkat produksi dari budidaya ikan patin mengalami peningkatan yang signifikan. Peningkatan tersebut terlihat dari angka produksi ikan patin pada tahun 2006 yang mencapai 31.000 ton sedangkan pada tahun 2012 meningkat hingga mencapai 651.000 ton. Berkaitan dengan hal tersebut, pemerintah terus memacu peningkatan produksi ikan patin pada tahun 2013 dengan target sebesar 1.107.000 ton. Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) telah menetapkan ikan patin sebagai salah satu komoditas perikanan dalam program percepatan industrialisasi dari jenis komoditas perikanan budidaya (Antara Kalbar, 2013).

Melihat tingginya permintaan ikan patin, maka diperlukan teknologi untuk meningkatkan laju produksi semaksimal mungkin. Salah satu teknologi yang dikembangkan adalah pemanfaatan probiotik. Probiotik adalah sekumpulan mikroorganisme yang memberikan pengaruh menguntungkan untuk pertumbuhan dan kesehatan inang dengan memperbaiki mikroflora indigenus (Fuller, 1999). Probiotik dinilai mampu memecah molekul-molekul kompleks yang terkandung dalam pakan sehingga lebih mudah diserap oleh saluran pencernaan ikan (Effendi, 2002).

Viabilitas bakteri BAL dalam usus ikan sangat menentukan efektivitas kerja probiotik. Oleh sebab itu, penelitian yang dilakukan adalah untuk mengetahui viabilitas bakteri dalam usus ikan. Pengujian viabilitas bakteri BAL di usus ikan patin menggunakan teknik perunut dengan radioisotop P-32 yang terinkorporasi dalam sel bakteri. Probiotik yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri asam laktat (BAL) hasil isolasi dari usus halus ikan patin dengan kode A1, dimana hasil pengujian laboratorium memiliki aktivitas protease tertinggi.

METODOLOGI

Pembuatan kurva tumbuh. Kultur bakteri A1 dalam medium NA yang berumur 24 jam diinokulasikan sebanyak 3 ose ke dalam 30 ml medium NB. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm. Setelah itu dinokulasikan sebanyak 10 % v/v ($A_{660nm}=1$) ke dalam 100 ml medium NB dan diinkubasi pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm untuk pembuatan kurva tumbuh. Pencuplikan sampel dilakukan pada jam ke- 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 dan 30 untuk mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang 660 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data yang diperoleh dibuat grafik dengan x : waktu dan y : nilai absorbansi.

Pengukuran % Inkorporasi P-32. Metode yang dilakukan sama dengan pembuatan kurva tumbuh, hanya pada saat inokulasi ke dalam 100 ml medium NB ditambahkan radioisotop P-32 dalam bentuk $(NH_4)_2PO_4$. Pencuplikan sampel dilakukan pada jam ke- 0, 2, 4, 8, 12, 18, 24 dan 30. Sampel disentrifugasi pada 10.000 rpm, lalu supernatan dipisahkan untuk diukur aktivitasnya. Rumus % inkorporasi sebagai berikut :

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A : aktivitas pada hari ke – 0 (cpm)

B : aktivitas pada hari ke – t (cpm)

(Sugoro, 2012)

Pengujian Viabilitas Bakteri pada Ikan menggunakan P-32. Sebanyak 10 ml kultur BAL berumur 24 jam dalam medium NB diinokulasikan ke dalam 100 ml medium NB. Kemudian ditambahkan radioisotop P-32 sebanyak 100 ul dan diinkubasi pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm hingga waktu tertentu. Setelah itu, kultur bakteri disentrifugasi 10.000 rpm dengan pembilasan menggunakan akuades sebanyak 2 kali. Pelet diencerkan kembali dengan akuades dan dicampurkan dengan pakan dengan komposisi 10 ml

probiotik cair, 200 ml air dan 500 g pakan kering lalu dibiarkan selama 2 jam. Setelah itu, pelet diberikan pada ikan sebanyak 10 ekor (5% berat badan/ekor) dan dilakukan pengamatan pada hari ke- 0,1,3,7 dan 14. Viabilitas bakteri diketahui dengan mengisolasi usus halus ikan. Usus halus terlebih dahulu ditimbang dan kemudian dipotong dengan ukuran 0,5 cm, lalu dimasukkan ke dalam 5 ml HCl pekat. Setelah itu dikocok dengan *vortex* dan disentrifugasi 5000 rpm. Supernatan kemudian diukur aktivitasnya dengan bantuan alat *Liquid Scintillation Counter* (LSC). Viabilitas bakteri diketahui dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

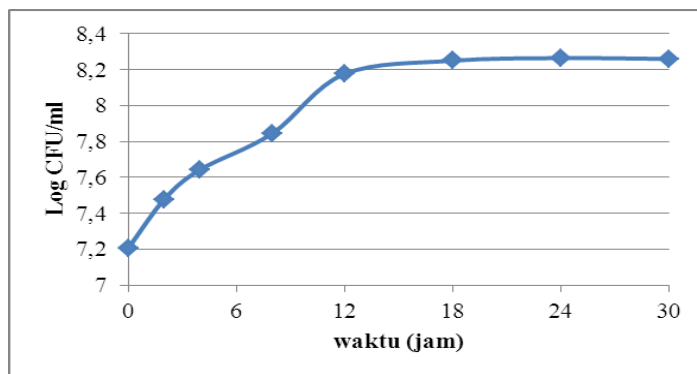
A : aktivitas pada hari ke – t (cpm)

B : aktivitas pada hari ke – 0 (cpm)

(Sugoro, 2012)

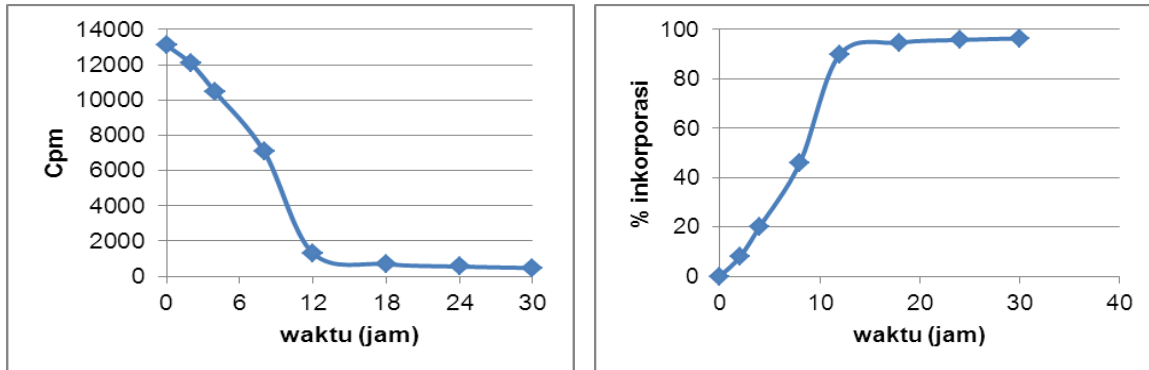
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel bakteri A1 dapat tumbuh dalam medium NB (Gambar 1). Isolat bakteri A1 tidak memerlukan fase adaptasi dan langsung masuk fase eksponensial yang terjadi hingga jam ke-12. Setelah itu, pertumbuhan selnya cenderung stasioner. Hal ini terjadi karena medium kultur inokulum yang sama dengan medium kurva tumbuh yaitu NB sehingga isolat bakteri A1 tidak perlu melakukan adaptasi. Fase stasioner terjadi karena mulai berkurangnya nutrisi dalam media sehingga jumlah sel yang membelah sebanding dengan yang mati (Pelczar & Chan, 1992).



Gambar 1 Pertumbuhan isolat bakteri A1 dalam medium NB yang diinkubasi pada suhu ruang dan agitasi 120 rpm.

Terjadinya pertumbuhan sebanding dengan % inkorporasi P-32. Hal ini sesuai dengan gambar 2A yang menunjukkan terjadinya pengurangan aktivitas radioisotop P-32 pada medium. Pengurangan ini memperlihatkan bahwa sel bakteri A1 menyerap radioisotop P-32 dan menjadi terlabeli (Gambar 2A). Aktivitas awal radioisotop P-32 dalam medium adalah 13106,9 cpm dan mengalami penurunan drastis hingga jam ke-12 menjadi 1315,3 cpm. Setelah itu, mengalami perlambatan penyerapan hingga jam ke-30 karena fosfor dalam bentuk P-32 telah berkurang.

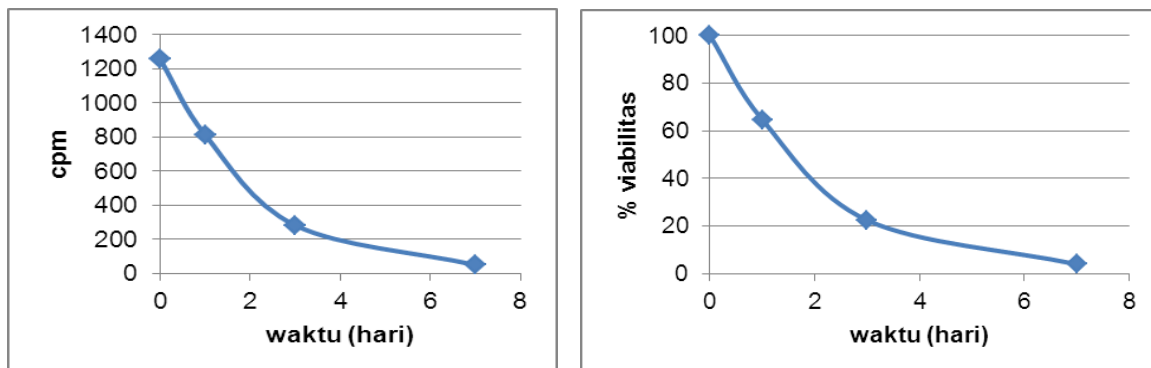


Gambar 2 Aktivitas radioisotop P-32 pada media (A) dan % inkorporasi sel bakteri A1 (B).

Penyerapan fosfor dalam bentuk radioisotop P-32 karena dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pembelahan sel. Bagian-bagian sel yang membutuhkan fosfor adalah terutama membran sel (fosfolipid), RNA, DNA dan ATP (Alberts et al. 2009). Penurunan yang drastis hingga jam ke-12 didukung oleh pertumbuhan yang mengalami fase eksponensial akhir pada jam yang sama (Gambar 1). Hasil perhitungan % inkorporasi radioisotop P-32 atau % banyaknya P-32 terserap oleh sel bakteri A1 terjadi pada jam ke-12 sebesar 90% (Gambar 2B). Oleh sebab itu, maka umur kultur isolat bakteri A1 berlabel P-32 yang digunakan untuk pengujian viabilitas adalah 12 jam.

Hasil pengujian viabilitas menunjukkan bahwa isolat bakteri A1 dapat hidup dalam usus halus ikan patin. Akan tetapi, viabilitasnya mengalami penurunan hingga 4% pada hari ke-7 berdasarkan aktivitas radioisotop P-32 di dalam usus halus ikan patin (Gambar 3). Hal ini terjadi karena isolat bakteri A1 dalam usus halus mengalami eksresi keluar tubuh ikan melalui organ pencernaan selanjutnya. Meskipun begitu, isolat bakteri A1 tetap mampu bertahan di dalam usus ikan patin. Menurut Fuller (2004), probiotik yang masuk ke dalam tubuh tidak harus mengalami pertumbuhan karena dapat mengganggu dinamika populasi mikroba dalam sistem pencernaan. Probiotik yang ditambahkan haruslah dalam dosis yang tepat. Dilihat dari hasil pengamatan kondisi fisik ikan patin selama pengujian

viabilitas tidak menunjukkan adanya abnormalitas, tetapi pengujian lanjutnya sebaiknya dilakukan optimasi jumlah sel dari bahan probiotik.



Gambar 3 Aktivitas radioisotop P-32 pada media (A) dan % inkorporasi sel bakteri A1 (B).

Dengan demikian, berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa pemberian probiotik BAL A1 sebaiknya dilakukan 7 hari sekali. Probiotik yang beredar di masyarakat umumnya, menyarankan pemberian dilakukan setiap hari (BROSUR). Akan tetapi dengan pengukuran viabilitas menggunakan radioisotop P-32 dapat diketahui frekuensi pemberian sehingga mengurangi biaya pemeliharaan ikan.

KESIMPULAN

Radioisotop P-32 dapat digunakan untuk melabel isolat BAL A1 sehingga dapat digunakan untuk mengukur viabilitasnya di dalam usus halus ikan patin. Waktu inkorporasi P-32 tertinggi ke dalam sel isolat bakteri A1 terjadi pada jam ke-12 dengan laju 982,6 cpm/jam atau % inkorporasi sebesar 90% dan viabilitas bakteri mengalami penurunan hingga hari ke-7 dan hanya 4% bakteri yang tersisa.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, B.D. Bray, K. Hopkin & A.D. Johnson. 2009. Essential Cell Biology. Garland Publishing.
- Antara Kalbar. 2013. KKP Optimistis RI Jadi Produsen Ikan Patin Terbesar Dunia, diunduh: <http://www.antarakalbar.com/berita/312574>
- Effendi MI. 2002. Biologi Perikanan. Yogyakarta : Yayasan Pustaka Nusatama.
- Fuller, R. 1999. Probiotics for Farm Animals. In: Tannock, G. W., ed. Probiotics: A critical review. New York : Horizon Scientific Press, Hlm 15-22.
- Fuller, R. 2004. What is a Probiotic? *Biologist* 51: 232.
- Pelczar, M.J. & Chan, E.C.S., 2005, Dasar-dasar Mikrobiologi 1, Alih bahasa: Hadioetomo, R. S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S. dan Angka, S. L. Jakarta : UI Press.
- Sugoro, I. 2012. Prosedur Kerja: Pelabelan bakteri dan Pengujian Viabilitas Bakteri, PATIR – BATAN.