

Agen biokontrol dalam akuakultur: Produksi dan aplikasinya

Biocontrol agents in aquaculture: Production and their application

M. Yuhana

*Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor*

ABSTRACT

The use of biocontrol agents have become commonly accepted as a ‘*natural weapon*’ in aquaculture, either as an ecological bioremediator for low environmental quality, as well as the health promoter for cultured organisms. Biocontrol agents, which consist of beneficial microorganisms, are commonly applied as biosupplements in feeds. They are potential in replacing the use of antibiotic in inhibiting the pathogenic organisms. Therefore, their application has revealed the potential as an effective strategy to reduce the over use of antibiotics in controlling the pathogenic agents, avoid the spreading the drug resistance, or environmental deterioration of the negative effect by killing useful microorganisms. The development of suitable technology for microbial agents production, viability and stability, is a key area of research for industrial production. Production of biocontrol agents should be based on the microbial criteria, and the ability to withstand stress during processing and storage of products is crucial. This review makes an overview of biocontrol agents selection studies including techniques for isolation/identification, selection, production and its application in order to be accepted as a valuable product in aquaculture.

Key words: Biocontrol agents, beneficial microorganisms, aquaculture.

ABSTRAK

Pemanfaatan agen biokontrol telah dapat diterima secara luas di dunia akuakultur sebagai *senjata alami*, baik sebagai bioremediator ekologis untuk memperbaiki kualitas lingkungan yang rendah maupun sebagai promotor/pendukung kesehatan untuk organisme-organisme yang dibudidayakan. Agen-agen biokontrol yang terdiri atas berbagai mikroorganisme yang menguntungkan umumnya diaplikasikan sebagai biosuplemen dalam pakan. Mikroorganisme tersebut potensial dalam menggantikan penggunaan antibiotik dalam proses penghambatan terhadap organisme patogenik. Oleh karena itu, aplikasinya yang sangat potensial dapat berguna sebagai strategi efektif untuk mereduksi penggunaan berlebih dari antibiotik dalam pengendalian agen patogenik, mencegah penyebaran sifat resistensi terhadap obat-obatan, atau mencegah kerusakan lingkungan dari kematian mikroorganisme yang bermanfaat. Pengembangan teknologi yang sesuai untuk produksi, viabilitas dan stabilitas dari agen biokontrol tersebut, merupakan kunci dari penelitian untuk produksi masal pada skala industri. Proses produksi dari agen biokontrol harus berdasar pada kriteria mikrobiologis. Sifat-sifat ketahanannya terhadap *stress* selama pemrosesan maupun penyimpanan produk adalah penting. Pada makalah ini disajikan teknik-teknik untuk isolasi, identifikasi, produksi dan aplikasi agen biokontrol untuk dapat diterima sebagai produk yang bernilai ekonomis dalam akuakultur.

Kata kunci: Agen biokontrol, mikroorganisme yang menguntungkan, akuakultur.

PENDAHULUAN

Sehubungan dengan peningkatan permintaan akan protein hewani, selama 2 dekade terakhir, industri akuakultur telah berkembang pesat, baik di bidang perikanan air tawar, payau maupun laut. Akan tetapi, seperti yang terjadi pada banyak industri lain, perkembangan yang pesat ini telah menimbulkan masalah terhadap polusi

lingkungan. Penurunan kualitas lingkungan juga sering kali sangat berperan terhadap timbulnya kejadian wabah penyakit yang banyak menimbulkan kerugian besar, baik kerugian ekonomi yang langsung dirasakan maupun terhadap keberlangsungan jangka panjang dalam usaha budidaya.

Berbagai mikroorganisme telah diidentifikasi dan bertanggung jawab terhadap wabah penyakit, diantaranya adalah dari

golongan virus, bakteri, rickettsia, mycoplasma, alga, fungi, dan parasit. Untuk upaya pencegahan dan pengendalian penyakit, aplikasi dari substansi kimiawi seperti antibiotik, pestisida, dan bahan kimia lainnya dewasa ini semakin dihindari. Beberapa kekhawatiran yang muncul akibat dari aplikasi substansi kimiawi tersebut adalah adanya sifat resistensi mikroorganisme patogenik yang berpotensi bisa ditransfer ke mikroorganisme lain, persistensi bahan-bahan kimia di lingkungan, atau adanya residu obat-obatan dalam produk perikanan yang bisa mengancam kesehatan manusia. Dengan demikian, sudah menjadi fokus kita untuk berupaya dalam meningkatkan kualitas ekologis akuakultur, meningkatkan keamanan produk perikanan, serta memperhatikan kesehatan dan keselamatan para konsumen.

Dewasa ini pandangan terhadap kebijakan ekologis *back to nature* juga telah menginspirasi berbagai aktivitas di bidang budidaya, antara lain adalah penggunaan obat fitofarmaka atau aplikasi agen biokontrol, baik untuk tujuan pengendalian penyakit maupun peningkatan kualitas air. Berbagai jenis agen biokontrol, baik spesies tunggal maupun campuran sudah dikomersialkan dalam berbagai bentuk baik berupa produk cair, maupun kering (tepung). Eksplorasi dan seleksi mikroorganisme agen biokontrol terhadap berbagai jenis mikroorganisme masih akan dilakukan, terutama dengan fokus pemanfaatan isolat-isolat lokal.

Menurut Verschuere *et al.* (2000), agen biokontrol untuk organisme akuatik adalah mikroorganisme hidup yang berasosiasi dan menguntungkan dengan inang, dengan berbagai sisi positif, antara lain menjamin perbaikan dalam pemanfaatan pakan, memperbaiki nilai nutrisi pakan, meningkatkan respons kekebalan inang terhadap penyakit, maupun memperbaiki kualitas lingkungan perairan. Beberapa contoh mikroba agen biokontrol antara lain: *Vibrio* non patogenik, *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Actynomyces*, Bakteri nitrifikasi dan denitrifikasi, bakteri fotosintetik, beberapa jenis *yeast* (khamir), serta *Bifidobacteria*.

Isolasi dan seleksi mikroorganisme yang berpotensi sebagai agen biokontrol

Kriteria isolasi

Kriteria konvensional yang dapat digunakan untuk seleksi galur-galur mikroba yang dapat berpotensi sebagai agen biokontrol adalah mempunyai sifat-sifat:

1. Aman (memenuhi prasyarat *biosafety* atau yang dikenal sebagai *GRAS microorganisms/Generally Recognized As Safe*) misalnya spesies *Lactobacillus*, atau *Bifidobacterium* dan spesies non-patogenik dari *Streptococcus (Enterococcus)*.
2. Asal muasal dari mikroorganisme agen biokontrol: lebih disukai dari golongan mikroflora normal dari hewan yang menjadi target. Hal ini ditentukan dari tujuan spesifik untuk aplikasi mikroba biokontrol, misalnya spesifikasi dalam hal lokasi isolat maupun untuk kolonisasinya. Galur-galur potensial sebelumnya harus diisolasi dan diidentifikasi secara benar sebelum dimanfaatkan secara luas.
3. Resistensi terhadap kondisi *in vitro* maupun *in vivo*, setelah aplikasi biokontrol maka mikroorganisme selayaknya tahan terhadap kondisi spesifik yang terjadi sebagai mekanisme pertahanan di dalam tubuh hewan target, dan karena akan terjadi interaksi biokontrol-inang dan mikroflora normal yang lainnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi dalam lokasi kolonisasi dan pelekatan pada epithelium usus dan jaringan harus dipertimbangkan. Efek lingkungan gastrointestinal (bahan-bahan nutrient, pH, empedu, garam-garam) dapat berpengaruh terhadap kemampuan kolonisasi.
4. Kemampuan/aktivitas antimikroba harus diuji misalnya penurunan pH dengan produksi asam laktat, penurunan potensial redox, produksi hidrogen peroksida pada kondisi aerobik, produksi komponen-komponen penghambat spesifik seperti bakteriosin. Hal-hal tersebut dapat menjadi sifat-sifat yang unggul dan membantu inang dalam perlindungan terhadap organisme patogenik.

Tahap awal dari proses pencarian isolat yang potensial sebagai agen biokontrol dapat dilakukan dengan mengumpulkan informasi dasar dari sifat-sifat fisiologis maupun terhadap kebutuhan-kebutuhan nutrisi yang diperlukan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang menjadi fokus perhatian. Setelah itu dilakukan pengumpulan isolat agen biokontrol potensial dari berbagai sumber sampel, antara lain dari media pemeliharaan (air dan tanah), dari media tempat kultur pakan alami, dari usus organisme inang atau dari bagian tubuh lainnya.

Tahap selanjutnya adalah melakukan uji kemampuan semua isolat terhadap sifat-sifat unggulnya. Apabila kita fokus terhadap pencarian agen biokontrol untuk pengendalian penyakit, maka kandidat harus diuji kompetisi dengan organisme patogen. Untuk tujuan perbaikan kualitas air media, maka isolat tersebut harus diuji kemampuan metabolismenya dalam mereduksi konsentrasi berbagai senyawa yang berbahaya. Untuk tujuan peningkatan nilai nutrisi pakan, maka kandidat harus diuji kemampuan metabolismenya dalam menghasilkan berbagai jenis enzim pencernaan seperti protease, kitinase, lipase, atau amylase.

Teknik seleksi

Beberapa teknik penapisan isolat yang dapat digunakan, antara lain menggunakan metode cawan gores atau cawan tuang untuk memperoleh isolat potensial. Untuk uji *inhibition* terhadap pertumbuhan bakteri patogen secara kualitatif, antara lain dapat dilakukan dengan metode Kirby-Bauer menggunakan kertas cakram, *cross streak*, maupun *double layer* agar dengan menyertakan mikroorganisme uji yang akan ditandingkan. Potensi terbesar isolat bisa dilihat dari zona hambat di media agar.

Kultur bersama dapat dilakukan untuk analisa penghambatan secara kuantitatif. Hal ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat agen biokontrol bersama-sama dengan patogen pada medium cair dan diikuti dengan pencawan. Isolat patogen harus diberi marker molekuler terlebih dahulu, biasanya sifat resistensi terhadap salah satu jenis antibiotik. Setelah itu, jumlah koloni dari masing-masing jenis mikroorganisme dapat

diketahui, dan adanya penghambatan kandidat agen biokontrol terhadap patogen dapat diketahui (Irianto, 2003; Muliani *et al.*, 2003; Widanarni *et al.*, 2003).

Tahap selanjutnya yang penting untuk diketahui adalah bahwa kandidat agen biokontrol harus tidak memiliki sifat patogenik terhadap inang. Hal ini bisa dilakukan dengan melakukan uji *in vivo* dengan memonitor mortalitas inang untuk memastikan bahwa kandidat agen biokontrol tidak bersifat patogenik. Untuk aplikasi di lapang, sebaiknya dilakukan evaluasi tentang pengaruh agen biokontrol yang dilakukan pada skala laboratorium terlebih dahulu atau aplikasi di lapang (Gomez-Gil dan Roque, 1998).

Mekanisme agen biokontrol

Beberapa mekanisme telah dipelajari untuk mengetahui efek-efek positif dari aplikasi agen biokontrol, yaitu antara lain melalui:

1. Produksi senyawa inhibitor: agen biokontrol mampu mendominasi dan berkompetisi dengan bakteri patogen sehingga akan menjadi penghalang bagi kolonisasi bakteri patogen.
2. Kompetisi terhadap sumber energi atau senyawa kimia: penggunaan agen biokontrol pada ikan juvenil dan dewasa dapat memperbaiki pertumbuhan melalui peningkatan aktivitas enzim saluran pencernaan
3. Kompetisi terhadap tempat pelekatan pada bagian tubuh inang, berkaitan dengan fungsi produksi senyawa inhibitor.
4. Mampu menstimulasi respon imun inang: dengan mengaktifasi kemampuan fagositosis.
5. Perbaikan kualitas media: dapat secara langsung merombak bahan-bahan organik dan berbahaya di dalam air media, sehingga meningkatkan kualitas air. Misalnya aplikasi bakteri fotosintetik anoksigenik serta bakteri nitrifikasi yang memiliki kemampuan metabolisme untuk reaksi-reaksi oksidasi, amonifikasi, nitrifikasi, denitrifikasi, sulfuri-kasi, dan fiksasi nitrogen.
6. Interaksi dengan pakan alami/mikroalga: meningkatkan populasi mikroalga. Ketika agen biokontrol diaplikasikan ke media,

sel-sel agen biokontrol mampu melakukan proses dekomposisi senyawa-senyawa yang diekskresikan ikan atau udang, sisa pakan, sisa-sisa bahan organik lain dan mengkonversikannya menjadi CO₂, nitrat, serta fosfat yang dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan mikroalga. Oksigen terlarut akan dibebaskan ke media dari proses fotosintesis mikroalga yang akan dipakai untuk proses respirasi dari sel-sel agen biokontrol.

Produksi

Salah satu tahapan yang sangat penting dalam proses produksi skala masal mikroba kandidat agen biokontrol adalah menemukan atau mengetahui media yang paling sesuai dan mempunyai nilai ekonomis, yang sumber bahan bakunya mudah diperoleh, terutama untuk mengantisipasi kebutuhan dalam produksi yang sinambung.

Media produksi yang ekonomis yang sering digunakan sebagai sumber karbon adalah molase. Molase adalah merupakan hasil samping dari proses pembuatan gula tebu, dengan kandungan kadar gula yang tersisa sekitar 48-58% (Novita, 2001). Sumber nitrogen juga perlu ditambahkan dalam komposisi media, karena berfungsi sebagai penyusun asam amino, asam nukleotida dan koenzim. Sumber nitrogen yang cukup ekonomis untuk dimanfaatkan adalah tepung kedelai (*soybean meal*). Tepung kedelai mengandung lisin dan sistein cukup tinggi (Miles dan Jacob, 2003).

Marwiyah (2009) melaporkan bahwa pertumbuhan terbaik *Pseudomonas stutzeri* agen biokontrol adalah pada kombinasi media molase dengan tepung kedelai 0,62% dengan perbandingan volume 1:1 ditambah dengan pupuk TSP 0,5% dan urea 0,1%. Pertumbuhan eksponensial agen biokontrol tersebut tercapai pada jam ke-12 hingga jam ke-72. Sedangkan *Bacillus sp.* LTS 40 memiliki pertumbuhan terbaik pada kombinasi media molase dengan tepung kedelai 0,62% dengan perbandingan volume 1:1 ditambahkan dengan pupuk TSP 0,1%. Pertumbuhan eksponensialnya tercapai pada jam ke-12 hingga jam ke-48. Formulasi untuk aplikasi secara kombinasi kedua jenis bakteri tersebut adalah *P. stutzeri* (10¹² cfu

ml⁻¹): *Bacillus sp.* LTS40 (10⁸ cfu ml⁻¹): = 2:1 yang memberikan efek SR dan pertumbuhan paling tinggi. Kombinasi kedua jenis agen biokontrol ini juga bermanfaat untuk mereduksi ammonia dan nitrit di media pertumbuhan (oleh *P. stutzeri*) dan mengontrol populasi *Vibrio harveyi* (oleh *Bacillus sp.* LTS 40).

Aplikasi agen biokontrol

Pada umumnya ada beberapa metode utama aplikasi agen biokontrol pada organisme akuatik, yaitu melalui:

- pemberian ke media pemeliharaan.
- pemberian melalui pakan (Fuller, 1992).
- pemberian melalui pakan hidup seperti *Rotifera* atau *Artemia sp.*

Lidaenni (2008) melaporkan, aplikasi agen biokontrol melalui media pemeliharaan pada konsentrasi sel 10⁴ cfu ml⁻¹ dari bakteri non patogenik *V. alginolyticus* telah memberikan kelangsungan hidup tertinggi (94,17%) pada larva udang (PL1 yang dipelihara sampai PL10), berbeda dibandingkan dengan kepadatan yang lain 10³ cfu ml⁻¹ hingga 10⁶ cfu ml⁻¹. Tingkat pertumbuhan pada konsentrasi tersebut tidak berbeda dengan perlakuan lain maupun dengan kontrol.

Aplikasi agen biokontrol melalui *Artemia* pada konsentrasi sel 10⁶ cfu ml⁻¹ dari bakteri non patogenik *V. alginolyticus* telah memberikan pertumbuhan panjang dan bobot larva yang berbeda dengan kontrol (hanya *Artemia*) (Elly, 2008), yaitu masing-masing 5,78% dan 18,87% dibandingkan dengan 4,23% dan 12,79%. SR tertinggi (94,17%) pada larva udang (PL1 yang dipelihara sampai PL10), berbeda dibandingkan dengan kepadatan yang lain 10³ cfu ml⁻¹ hingga 10⁶ cfu ml⁻¹. Tingkat pertumbuhan pada konsentrasi tersebut tidak berbeda dengan perlakuan lain maupun dengan kontrol.

Viabilitas agen biokontrol

Viabilitas dan stabilitas biokontrol yang diaplikasikan telah menjadikan tantangan teknis maupun pemasaran bagi kalangan industri. Agen biokontrol yang mampu berfungsi harus mampu hidup dan dalam dosis yang mencukupi, baik dalam tahap prosesing dari produk dalam skala massal,

selama *delivery* (proses pengiriman) maupun dalam proses penyimpanan. Produk ini juga harus tetap *survive* melawan faktor-faktor tekanan dalam lingkungan mikro gastro-intestinal supaya fungsi biologisnya dalam lokasi pelekatan inang tetap terjaga.

Teknologi mikroenkapsulasi tersedia dan memungkinkan supaya mikroorganisme menguntungkan ini dapat tertransportasi dengan selamat untuk mencapai saluran gastro-intestinal. Proses-proses pemanasan untuk memperoleh bentuk-bentuk yang dapat disimpan dengan praktis dan pemilihan matriks yang sesuai selama produksi pellet mikroenkapsulasi harus sempurna.

Mikroorganisme termofilik/termotoleran memiliki keuntungan karena ketahanan mereka terhadap suhu tinggi selama pemrosesan, transportasi maupun penyimpanan. Mereka mempunyai kesempatan yang lebih baik untuk tetap hidup selama proses pengeringan, maupun penyemprotan dalam kondisi kering. Akan tetapi, pemanfaatan jenis mikroorganisme ini dalam dunia akuakultur belum banyak dimanfaatkan. Upaya-upaya ini perlu dilakukan dengan cara melakukan isolasi dan penapisan mikroorganisme biokontrol dari lingkungan-lingkungan yang bersuhu tinggi.

Beberapa faktor telah disebutkan bertanggung jawab terhadap viabilitas agen biokontrol seperti tingkat keasaman produk selama proses produksi maupun penyimpanan dalam suhu dingin (*refrigerator*) atau yang disebut *post acidification*, turunnya level oksigen dalam produk, serta adanya sifat sensitivitas substansi-substansi antimikroba yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Adapun strategi-strategi untuk meningkatkan viabilitas biokontrol adalah menggunakan *container* yang bersifat *impermeable* terhadap oksigen, fermentasi dua tahap dalam proses produksi, mikroenkapsulasi, adaptasi stress, dan penambahan mikronutrien dalam proses produksi seperti peptide dan asam amino.

DAFTAR PUSTAKA

Elly, 2008. Pemberian bakteri agen biokontrol *Vibrio* SKT-b pada larva udang windu

melalui pengkayaan *Artemia*. [Skripsi] Bogor: IPB.

Fuller, R., 1992. History and Development of Probiotics. *In: Fuller R (Ed). Probiotics the Scientific Basis*. London: Chapman and Hall. hlm 1-8.

Gomez-Gil B, Roque, A., 1998. Selection of probiotic bacteria for use in aquaculture. *In: Flegel TW (Ed). Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum; Chiangmai, Thailand*. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. hlm 175.

Irianto, A., 2003. Agen Biokontrol Akuakultur. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

Lidaenni, A., 2008. Pengaruh pemberian bakteri agen biokontrol *Vibrio* SKT-b dengan dosis yang berbeda terhadap kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva udang windu, *Penaeus monodon*. [Skripsi] Bogor: IPB.

Marwiyah, 2009. Komposisi media produksi *Pseudomonas stutzeri* dan *Bacillus sp.* LTS40 dan formulasinya untuk agen biokontrol pada tambak udang. [Tesis] Bogor: IPB.

Miles, R.D., Jacob, J.P., 2003. Understanding why this feed ingredient is so valuable in poultry diets. Review of Fish Meal. IFAS, Florida.

Muliani, Suwanto, A., Hala, Y., 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *Hayati* 10, 6-11.

Novita, E., 2001. Optimasi koagulasi flokulasi pada limbah cair yang mengandung melanoidin. *J. Ilmu Dasar* 2, 61-67.

Verschuere, L, Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 655-671.

Widanarni, Suwanto, A., Sukenda, Lay, B.W., 2003. Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. *Biotropia* 20, 11-23.