



**PENAMBAHAN EKSTRAK HERBAL JAHE, TEMULAWAK DAN KENCUR
DALAM PEMBUATAN PROBIOTIK IKAN**

*ADDITION HERBAL EXTRACTS OF GINGER, CURCUMA AND KENCUR IN THE MAKING OF FISH
PROBIOTICS*

Yulia Shara Sembiring¹, Febriyanny Eka Setyowati²

^{1,2} Program Studi Kimia Industri Politeknik Santo Paulus Surakarta

Penulis Korespondensi:

Yulia Shara Sembiring

Program Studi Kimia Industri Politeknik Santo Paulus Surakarta

yuliashara2@gmail.com

ABSTRAK

Penggunaan obat-obatan dan bahan kimia dilakukan khususnya pada obat antibiotik sangat dilarang untuk digunakan atau dicampur pada pakan ikan. Pembatasan penggunaan antibiotik dalam kegiatan perikanan diganti dengan probiotik. Antibiotik yang terdiri dari bahan kimia berbeda dengan probiotik yang merupakan mikroorganisme hidup yang sifatnya menguntungkan inangnya serta mampu memperbaiki kualitas perairan. Keberadaan Bakteri Asam Laktat (BAL) pada probiotik ikan berpotensi meningkatkan fungsi fisiologis usus, bagi kesehatan, dan mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk membuat probiotik ikan dengan berbagai jenis bakteri dengan penambahan ekstrak herbal untuk meningkatkan manfaat dari probiotik untuk mengatasi penyakit bakterial dan meningkatkan laju pertumbuhan, kelangsungan hidup ikan serta untuk menguji jumlah total bakteri dan uji kontaminan *Escherichia coli* dan *Salmonella thyphi* yang terdapat dalam probiotik. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan media MRS *broth*, inokulum bakteri, ekstrak herbal, pembuatan probiotik, dan analisis yang digunakan dalam penelitian ini secara kuantitatif dengan prinsip Angka Lempeng Total (ALT). Penggunaan tumbuhan sebagai alternatif suplemen pakan memiliki kelebihan, salah satunya bersifat *biodegradable* dan ramah lingkungan, serta mudah ditemukan di alam, seperti jahe, temulawak, dan kencur. Tumbuhan ini bersifat antibakteri dan antimikroba, serta meningkatkan laju pertumbuhan dan sistem imun ikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total populasi BAL pada probiotik ikan berkisar $4,3 \times 10^8$ CFU/mL dan sudah memenuhi syarat yang ditetapkan SNI: 2015 untuk produk perikanan dan probiotik tidak mengandung kontaminan *Escherichia coli* dan *Salmonella thyphi*.

Kata Kunci: bakteri asam laktat (BAL), herbal, ikan, patogen, probiotik



ABSTRACT

*The use of drugs and chemicals, especially antibiotics, is strictly prohibited to be used or mixed in fish feed. Restrictions on the use of antibiotics in fishing activities are replaced with probiotics. Antibiotics consist of different chemicals from probiotics, which are live microorganisms that are beneficial to the host and are able to improve water quality. The presence of Lactic Acid Bacteria (LAB) in fish probiotics has the potential to improve intestinal physiological function, for health, and prevent the growth of pathogenic bacteria. This research aims to make fish probiotics with various types of bacteria with the addition of herbal extracts to increase the benefits of probiotics to overcome bacterial diseases and increase the growth rate, survival of fish and to test the total number of bacteria and test for contaminants *Escherichia coli* and *Salmonella thyphi* contained in probiotics. The steps carried out in this study were making MRS broth media, bacterial inoculum, herbal extracts, making probiotics, and the analysis used in this study was quantitative with the principle of Total Plate Number (ALT). The use of plants as alternative feed supplements has advantages, one of which is biodegradable and environmentally friendly, and easy to find in nature, such as ginger, temulawak, and kencur. This plant is antibacterial and antimicrobial, as well as increasing the growth rate and fish immune system. The results showed that the total population of LAB in fish probiotics was around 4.3×10^8 CFU/mL and had met the requirements set by SNI: 2015 for fishery products and probiotics do not contain contaminants of *Escherichia coli* dan *Salmonella thyphi*.*

Keywords: lactic acid bacteria, herbal, fish, pathogen, probiotic

PENDAHULUAN

Penyakit bakterial merupakan salah satu penyakit yang sering menimbulkan kerugian bagi pembudidaya ikan, karena dapat mengakibatkan kematian yang tinggi. Selain itu infeksi penyakit bakterial dapat menurunkan mutu daging ikan berupa borok atau luka, serta tampilan menjadi tidak menarik (Umasugi *et al.*, 2018).

Saluran pencernaan merupakan organ yang memiliki fungsi sebagai pencernaan pakan serta fungsi immunologis (sebagian besar sel-sel imun diproduksi di usus). Terkait dengan fungsi pencernaan pakan, penyerapan nutrisi pakan berlangsung optimal apabila kondisi usus dalam keadaan sehat dan baik. Bakteri menguntungkan yang ada di usus halus misalnya bakteri asam laktat (BAL) sedangkan bakteri patogen misalnya bakteri *coliform* (Halimatunnisroh *et al.*, 2017).

Coliform merupakan golongan mikroorganisme yang biasa digunakan sebagai indikator untuk mengetahui pencemaran bakteri patogen pada pangan. Biasanya kelompok dari *coliform* fekal hidup dalam saluran pencernaan manusia (bakteri intestinal), sehingga dijadikan sebagai bakteri patogenik lain dimana jumlah bakteri tersebut berkorelasi positif terhadap keberadaan bakteri patogenik. Kelompok bakteri *coliform*, antara lain *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Citrobacter freundii*, sehingga keberadaan bakteri-bakteri tersebut juga menunjukkan adanya bakteri patogen lain, seperti *Shigella* yang menyebabkan diare hingga muntaber (Kusuma *et al.*, 2016).

Penggunaan tumbuhan sebagai produk fitofarmaka sebagai alternatif suplemen pakan dan



penanggulangan penyakit bakterial karena memiliki sifat *biodegradable* dan ramah lingkungan, serta mudah ditemukan di alam (Syawal *et al.*, 2021). Tanaman herbal yang dapat digunakan sebagai *feed additive* diantaranya jahe, temulawak dan kencur. Jahe (*Zingiber officinale*) mengandung gingerol, shogaol, zingeron, minyak atsiri dan zat-zat antioksidan alami lainnya yang mengobati berbagai penyakit. Sebagai obat tradisional, jahe dapat digunakan secara tunggal ataupun dipadukan dengan bahan obat herbal lainnya yang mempunyai fungsi saling menguatkan dan melengkapi (Aryanta, 2019). Kencur (*Kaempferia galanga*) memiliki aktivitas inflamasi, antifungi, dan antibakteri yang berasal dari senyawa metabolit sekunder seperti, minyak atsiri, polifenol, kuinon, sineol, tannin, saponin, dan flavonoid (Silalahi, 2019); (Rahmi *et al.*, 2016). Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) merupakan bahan nabati yang digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan ikan dan yang juga berperan sebagai imunostimulan untuk meningkatkan daya tahan tubuh ikan. Temulawak mengandung protein, pati, minyak atsiri, alkaloid, kuinon, dan flavonoid berfungsi untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan meningkatkan nafsu makan ikan (Monoarfa *et al.*, 2020).

Menurut (Kurniawan *et al.*, 2020), pemberian suplemen herbal dengan proses fermentasi dalam pakan mampu merangsang nafsu makan ikan, meningkatkan kekebalan ikan terhadap penyakit dan mengurangi tingkat stress ikan terhadap perubahan lingkungan. Proses fermentasi mampu mengurai senyawa kompleks menjadi sederhana yang tidak mudah dicerna. Melalui fermentasi, bahan pangan akan mengalami perubahan fisik dan kimia yang menguntungkan seperti terbentuknya flavor dan aroma yang disukai. Zat aktif yang terkandung dalam suplemen herbal dapat meningkatkan sistem pertahanan tubuh, pertumbuhan dan kesehatan ikan.

Indikator keberhasilan dalam usaha budidaya ikan adalah dapat tercapainya pertumbuhan ikan yang cepat dan memiliki tingkat kelulus hidupan yang tinggi, sehingga dapat meningkatkan nilai produksi. Upaya yang dilakukan dalam memperbaiki daya cerna pakan ikan sehingga meningkatkan pertumbuhan dengan memberikan probiotik. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dikaji efektivitas dari suplemen herbal terhadap laju pertumbuhan dan kelulus hidupan ikan. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang biasa digunakan sebagai probiotik, terutama galur *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (Nurnaafi *et al.*, 2015). Bakteri probiotik ini terbukti mampu mensintesis enzim amilase dan protease sehingga dapat membantu proses pencernaan inangnya (Sari *et al.*, 2019).

Probiotik merupakan senyawa yang dihasilkan mikroorganisme yang dapat menstimulir pertumbuhan mikroorganisme lain atau suatu mikroorganisme hidup yang bermanfaat bagi kesehatan inang (baik itu hewan maupun manusia). Probiotik ada yang dibuat dari bahan kimia dan ada pula yang dibuat dari bahan alami (herbal) (Chamidah *et al.*, 2019). Probiotik yang berfungsi memecahkan molekul kompleks rantai panjang dari karbohidrat, protein dan lemak menjadi molekul yang lebih sederhana untuk mempermudah penyerapan oleh saluran pencernaan, selain itu mikroorganisme pemecah mendapat keuntungan berupa energi yang diperoleh dari hasil perombakan molekul kompleks. Kemampuan ini diperoleh karena adanya enzim-enzim khusus yang dimiliki oleh mikroorganisme untuk memecah ikatan (Studi *et al.*, 2011). Probiotik merupakan suplementasi sel mikroba hidup pada pakan yang menguntungkan inangnya dengan memperbaiki keseimbangan dalam sistem pencernaan terutama di dalam usus. Dalam dunia perikanan, pemberian probiotik pada pakan dimaksudkan untuk meningkatkan efisiensi pakan agar mudah dicerna pada saluran pencernaan sehingga energi dari pakan yang dikonsumsi daya diserap tubuh lebih optimal untuk pertumbuhan (A'isah and Yusufi, 2016).



Penggunaan antibiotik untuk penyakit bakterial pada ikan sudah banyak dilakukan tetapi memiliki dampak yang buruk bagi manusia yang mengkonsumsi produk perikanan dengan residu antibiotik. Alternatif lain yang dilakukan dengan menggunakan bahan herbal dalam produk probiotik untuk menanggulangi penyakit bakterial pada ikan. Dengan demikian penelitian ini bertujuan untuk pembuatan probiotik ikan dan fungsi dari masing-masing bakteri pada probiotik ikan dan mengetahui mekanisme kerja pada probiotik ikan.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuat probiotik ikan dengan berbagai jenis bakteri dengan penambahan ekstrak herbal untuk meningkatkan manfaat dari probiotik untuk mengatasi penyakit bakterial dan meningkatkan laju pertumbuhan, kelangsungan hidup ikan serta untuk menguji jumlah total bakteri dan uji kontaminan *Escherichia coli* dan *Salmonella thyphi* yang terdapat dalam probiotik.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan probiotik ikan adalah erlenmeyer, *beaker glass*, pipet ukur, cawan petri, pipet volume 5 mL, inkubator, botol kaca, gelas ukur, tabung reaksi, oven, *autoclave*, neraca analitik *Biosafety Cabinet* (BSC), *anaerobic jar*, *vortex*, sumbat kapas, jarum ose, botol kaca, aluminium foil, mikropipet, *magnetic stirer*.

Bahan

Slant bakteri murni *Bifidobacterium bifidum*, *slant* bakteri murni *Bifidobacterium longum*, *Slant* bakteri murni *Lactobacillus bulgaricus*, aquadest, molases, urea, gula aren, gula pasir, temulawak, kencur, media MRS *Broth*, media Endo, media SSA, alkohol 70%.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Media MRS *Broth*

MRS *Broth Oxoid* sebanyak 2,34 g dilarutkan kedalam aquadest sebanyak 45 mL kemudian dipanaskan hingga mendidih. Media yang sudah mendidih dituang kedalam tabung reaksi ulir masing-masing 15 mL. Kemudian media disterilkan dengan menggunakan *autoclave* 121°C; 1,5 atm selama 20 menit, dan didinginkan.

Pembuatan Inokulum Bakteri

Siapkan *slant* agar miring murni pada masing-masing bakteri murni dengan menyiapkan media MRS *Broth* steril pada tabung reaksi untuk masing-masing bakteri (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaris*) sebanyak 15 mL. Ambil inokulum 1 floop dengan menggunakan jarum ose steril di BSC secara aseptis dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media MRS, selanjutnya homogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 33 °C dan setelah 2 hari ambil bakteri masing-masing 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang steril. Jadi inokulum sebanyak 15 mL (pengerjaan dilakukan di dalam BSC).

Pembuatan Ekstrak Herbal (Temulawak, Jahe, Kencur)

Pembuatan ekstrak herbal menggunakan metode ekstraksi dengan cara dingin (maserasi). Persiapkan temulawak, jahe, kencur dan dibersihkan. Ketiga bahan herbal ditimbang dengan perbandingan 1:1:1 kemudian diiris tipis-tipis semua bahan herbal tersebut dan blender ketiga bahan dengan penambahan sedikit air kemudian diambil ekstraknya dengan penyaringan.



Sterilkan ekstrak tersebut dengan *autoclave* suhu 121 °C , tekanan 1,5 atm selama 20 menit dan didinginkan.

Pembuatan Probiotik

Molases ditimbang sebanyak 87,5 g; 4,3 g; gula pasir 8,3 g dan kemudian dilarutkan dengan menambahkan 500 mL aquadest. Campuran dipanaskan hingga mendidih. Setelah mendidih campuran disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C ; 1,5 atm selama 20 menit. Kemudian campuran didinginkan dan siap untuk diinokulasi di dalam BSC. Media yang tumbuh diinokulasikan dengan 3% inokulum sebanyak 15 mL, 7% campuran ekstrak herbal sebanyak 35 mL. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 33 °C selama 2 hari.

Pengujian Jumlah Total Bakteri

Sampel probiotik ikan dalam bentuk cair dipipet dengan pipet volum sebanyak 25 mL dimasukkan ke dalam larutan berisi garam fisiologis 0,85% sebanyak 225 mL. Kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex selama 30 detik. Setiap perlakuan dilakukan secara aseptis. Tahapan ini adalah pengenceran 10^{-1} . Larutan 10^{-1} dipipet menggunakan mikro pipet sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL ditabung reaksi. Kemudian larutan dihomogenkan dengan vortex selama 30 detik. Setiap perlakuan dilakukan secara aseptis. Tahapan ini adalah pengenceran 10^{-2} . Pengenceran berikutnya dilakukan dengan prosedur yang sama sampai pengenceran 10^{-6} . Sampel pada setiap pengenceran diambil sebanyak 0,1 mL menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Media yang hangat dituang dalam cawan petri dan dihomogenkan dengan cara menggerakkan cawan petri secara perlahan membentuk angka 8. Biarkan media memadat setelah memadat letakkan media dalam keadaan terbalik dan dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* yang diisi *anaerob cult* dan sebelumnya telah diberi aquadest. Diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 48 jam kemudian dihitung jumlah sel yang tumbuh. Dilakukan perhitungan koloni yang muncul pada setiap cawan petri.

Cara Menghitung Koloni

Syarat koloni ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut: satu koloni dihitung 1 koloni; dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni; beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni; dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung 2 koloni; koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung dinyatakan spreader; koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung 1 koloni.

Cara menghitung sel relatif CFU's per mL :

$$\text{CFU's / ml} = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}$$

Uji Kontaminan (*Escherichia coli* dan *Salmonella typhosa*) Yang Terdapat Dalam Probiotik

Pada uji patogen ini menggunakan teknik *streak plate* pembuatan media Endo agar untuk *Escherichia coli* dengan menimbang media sebanyak 39 g kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 L. Larutan direbus hingga mendidih kemudian media disterilisasi dengan *autoclave* 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Pembuatan media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dengan menimbang 63 g media SSA dilarutkan dengan aquadest 1 L. Larutan direbus hingga



mendidih kemudian media disterilisasi dengan *autoclave* 121 °C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media Endo dan SSA dimasukkan dalam masing-masing cawan petri yang sudah disterilkan dan dibiarkan memadat. Sampel yang diambil sebanyak 25 mL dan dimasukkan dalam Erlenmeyer berisi garam fisiologi 0,85% 225 mL dihomogenkan dengan vortex 30 detik. Jarum ose dibakar dari pangkal dalam terus hingga bagian lup sampai berpijar kemudian masukkan jarum ose ke dalam erlenmeyer secara aseptis, kemudian keluarkan. Bagi empat permukaan cawan petri yang akan *distreak* dengan spidol. Sebelum penggoresan pada setiap kuadran lakukan pensterilan jarum ose. *Streak* ke atas permukaan agar dengan perlahan-lahan dan jangan sampai tergores. Inkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan ada tidaknya bakteri patogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Mula-mula dilakukan pembuatan untuk bakteri yang akan dijadikan sebagai inokulum, yaitu bakteri *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus*. Ketiga bakteri tersebut adalah bakteri anaerob fakultatif. Anaerob fakultatif adalah organisme yang dapat bertahan hidup dengan adanya oksigen, dapat menggunakan oksigen dalam respirasi aerobik, tetapi juga dapat bertahan hidup tanpa oksigen melalui fermentasi atau respirasi anaerobik. Tetapi bakteri jenis ini dapat tumbuh maksimal dalam keadaan anaerob (tanpa oksigen). Mikroba probiotik adalah bakteri gram positif, contohnya genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri yang sering digunakan sebagai probiotik antara lain termasuk dalam spesies *Lactobacillus* (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus plantarum*), *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium thermophilum*), dan *Streptococcus lactis* (Suciati *et al.*, 2019).

Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif dan katalase negatif yang menghasilkan asam laktat dalam fermentasi karbohidrat, dan merupakan flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan hewan, baik itu hewan air dan hewan darat. Bakteri asam laktat memiliki peran penting dalam kehidupan ikan, karena secara alami bakteri ini mampu meningkatkan sistem imun dan membantu organ pencernaan dalam melakukan pencernaan. Bakteri asam laktat cenderung mampu meningkatkan sistem imun spesifik dan non spesifik, seperti aktivitas lisozim dalam tubuh, makrofagi, letupan respirasi (Irwansyah, 2018).

Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk mengontrol bakteri patogen. Asam laktat yang tinggi menyebabkan potensial hidrogen (pH) saluran pencernaan menjadi rendah atau asam dan mikroba lain terutama mikroba *coliform* atau patogen tidak dapat tumbuh selain itu asam organik dapat menurunkan produksi toksin oleh bakteri dan mengubah morfologis di dinding usus halus dan mengurangi klonisasi bakteri patogen (Rahmah *et al.*, 2013). Bakteri asam laktat memproduksi beberapa metabolit seperti asam organik (laktat dan asetat), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin (Mutmainah *et al.*, 2014).

Pada kondisi anaerobik (tidak tersedia oksigen), suatu sel akan dapat mengubah asam piruvat menjadi CO₂ dan etil alkohol serta membebaskan energi (ATP). Atau oksidasi asam piruvat dalam sel otot menjadi CO₂ dan asam laktat serta membebaskan energi (ATP). Bentuk proses reaksi yang terakhir disebut, lazim dinamakan fermentasi.

Pada pembuatan inokulum dengan ketiga bakteri tersebut, media yang digunakan adalah media *MRS Broth*. Media ini adalah media spesifikasi yang paling umum digunakan untuk



menumbuhkan bakteri asam laktat seperti 3 bakteri tersebut. Setelah dilakukan pembuatan media, selanjutnya dilakukan inokulasi yang dilakukan dalam BSC pada kondisi steril. Ini dilakukan dengan tujuan agar bakteri yang diinginkan terbebas dari adanya kontaminasi yang berasal dari lingkungan kerja ataupun dari media yang digunakan. Bakteri yang sudah diinokulasi selanjutnya diinkubasi dengan suhu 35 °C selama 2 hari.

Setelah 2 hari waktu inkubasi, inokulum bakteri yang sudah digoreskan tersebut diambil 5 mL per masing-masing bakteri. Dengan jumlah tersebut maka inokulum bakteri yang akan ditambahkan pada media probiotik sebanyak 15 mL (3% inokulum).

Pembuatan ekstrak herbal dilakukan dengan mencampurkan temulawak, jahe, dan kencur dengan perbandingan 1:1:1. Selanjutnya campuran ketiga herbal tersebut diblender dan disaring untuk diambil ekstraknya. Fungsi dari bahan herbal ini adalah sebagai antibiotik alami yang ditambahkan dengan konsentrasi tertentu untuk kekebalan tubuh pada ikan. Sedangkan pembuatan media probiotiknya dilakukan dengan mencampurkan molases sebanyak 87,5 g; urea sebanyak 4,3 g; gula pasir sebanyak 8,3 g yang selanjutnya dilarutkan dengan 500 mL aquadest dan kemudian disterilkan.

Setelah proses pembuatan media, ekstrak herbal, dan inokulum selesai, langkah selanjutnya yaitu mencampurkan ekstrak herbal sebanyak 35 mL atau 7% ke dalam media probiotik. Setelah itu, bakteri dicampurkan dengan konsentrasi 3% dari total keseluruhan (15 mL) ke dalam media probiotik. Inkubasi dilakukan dalam kondisi anaerob selama 2 hari. Dan dilakukan pengamatan pada hari berikutnya dengan parameter aroma, warna, dan fisiknya (keaktifan bakteri).

Tabel 1. Pengamatan Probiotik Ikan

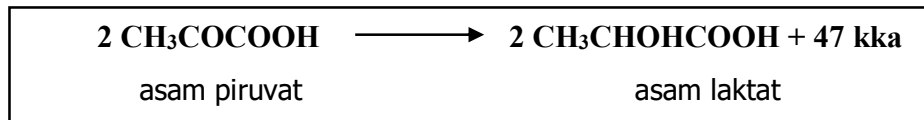
Hari ke	Warna	Aroma	Fisik
0	Coklat tua	Khas molases	Belum ada gelembung
2	Coklat tua	Khas molases, berbau asam	Gelembung sedikit
5	Coklat	Khas molases, berbau asam	Gelembung banyak

Bahan-bahan yang digunakan memiliki karbohidrat yang kompleks yaitu polisakarida yang tidak langsung dapat digunakan oleh mikroorganisme sehingga harus difermentasi dengan penambahan probiotik yang akan mengubah senyawa kompleks tersebut menjadi sederhana. Fermentasi dengan menggunakan bahan-bahan tersebut dapat menjadi salah satu upaya peningkatan populasi bakteri probiotik (Citria *et al.*, 2018). Salah satu bahan herbal yang ditambahkan dalam probiotik ikan yakni temulawak mengandung kurkumin dapat mendenaturasi dan merusak membran sel bakteri patogen sehingga proses metabolisme berkurang dan aktivitasnya terhambat. Penurunan jumlah bakteri patogen akan meningkatkan jumlah bakteri non patogen diantaranya yaitu bakteri asam laktat (BAL) (Halimatunnisroh *et al.*, 2017).

Pada saat fermentasi probiotik berlangsung aktivitas sel hewan (juga manusia) terutama pada sel-sel otot yang bekerja keras, energi yang tersedia tidaklah seimbang dengan kecepatan pemanfaatan energi karena kadar O₂ yang tersedia tidak mencukupi untuk kegiatan respirasi



aerob (reaksi yang membutuhkan oksigen). Proses fermentasi asam laktat dimulai dari lintasan glikolisis yang menghasilkan asam piruvat. Karena tidak tersedianya oksigen maka asam piruvat akan mengalami degradasi molekul (secara anaerob) dan dikatalisis oleh enzim asam laktat dehidrogenase dan direduksi oleh NADH untuk menghasilkan energi dan asam laktat (Kusuma *et al.*, 2020). Secara sederhana reaksi fermentasi asam laktat ditulis sebagai berikut.



Sampel probiotik herbal dilakukan pengenceran disimpan dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengenceran Pengujian Jumlah Total Bakteri

Pengenceran	Jumlah Koloni
10^{-1}	TBUD
10^{-1}	TBUD
10^{-1}	TBUD
10^{-1}	TBUD
10^{-1}	TBUD
10^{-1}	43

*TBUD = terlalu banyak untuk dihitung

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan salah satu cara untuk mempermudah dalam satu pengujian mikroorganisme dalam suatu produk, adanya mikroorganisme dapat dilakukan dengan mengamati secara visual atau kaca pembesar pada media penanaman, kemudian dihitung untuk standar terhadap mikroorganisme (Elfariyanti *et al.*, 2019).

Hasil perhitungan jumlah total koloni :

$$\Sigma \text{ sel} = \Sigma \text{ koloni} \times \frac{1}{f_{px} \text{ vol. plating}} = 43 \times 1 / 10^{-6} \times 0,1 = 4,3 \times 10^8$$

Pemberian bakteri probiotik dilakukan setiap minggu yang dimulai sejak minggu kedua setelah penebaran tokolan udang windu hingga panen (minggu XVI). Bakteri probiotik diberikan setelah dilakukan fermentasi selama 4-5 hari dengan menggunakan campuran media berupa tepung dedak (1.000 g), tepung ikan (400 g), ragi (yeast, 100 g), molase (500 g), dan dimasak dengan air tambak (20 L) (Poernomo, 2004). Total bakteri dalam probiotik diatur dalam Peraturan pemerintah Nomor 1/ PERMEN-KP/2019 tentang obat ikan yang di dalamnya berisi syarat total bakteri yang layak untuk diedarkan dan juga cemaran bakteri patogen yang terdapat dalam probiotik.



KESIMPULAN

Pembuatan probiotik dengan penambahan bahan herbal dapat meningkatkan berbagai manfaat dari pakan ikan seperti mengatasi penyakit bakterial, meningkatkan laju pertumbuhan ikan, dan kelangsungan hidup ikan sehingga menambah nilai jual. Bakteri yang digunakan dalam pembuatan probiotik adalah *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus* yang ketiga bakteri tersebut termasuk bakteri asam laktat yang bersifat anaerob fakultatif yang berperan penting dalam probiotik. *Bifidobacterium bifidum* berfungsi mencegah perkembangbiakan bakteri patogen *Escherichia coli*, *Salmonella* dan *Clostridium*. Bakteri ini juga memproduksi asam laktat dan asam asetat yang menurunkan pH usus dan mencegah pertumbuhan bakteri jahat. *Bifidobacterium longum* sebagai bakteri yg berkontribusi meningkatkan nilai gizi makanan dengan memproduksi vitamin melalui sintesis enzim pencernaan, dan *Lactobacillus bulgaricus* dapat melakukan perbaikan mutu pakan sehingga dapat meningkatkan pencernaan yang pada gilirannya dapat meningkatkan pertumbuhan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total populasi Bakteri Asam Laktat (BAL) pada probiotik ikan berkisar $4,3 \times 10^8$ CFU/mL dan sudah memenuhi syarat yang ditetapkan SNI: 2015 untuk produk perikanan dan probiotik tidak mengandung kontaminan *Escherichia coli* dan *Salmonella thyphi*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan Prodi Kimia Industri Politeknik Santo Paulus Surakarta sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- A'isah, N. D., Yusufi, T. M.. 2016. Pengaruh Pemberian Berbagai Jenis Probiotik Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila Merah (*Oreochromis Sp.*), *PENA Akuatika*, 13(1).
- Aryanta, R, I. W.. 2019. Manfaat Jahe Untuk Kesehatan. *Widya Kesehatan*. 1(2): 39–43.
- Chamidah, D., Wijaya, U., Surabaya, K.. 2019. Efektivitas Probiotik Herbal Sebagai Perangsang Pakan Alami Benih Ikan Air Tawar', *Jurnal Inovasi*. 10(2): 41-49.
- Citria, I., Abidin, Z., Astriana, B. H.. 2018. Sumber Karbon Yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Udang Vanname (*Litopenaeus Vannamei*) The Growth Of White Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) Given Probiotic. *Jurnal Perikanan*. 8(1): 14–22.
- Elfariyanti., Ismayanti, N.. 2019. Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Ikan Kayu yang Dijual di Pasar Peunayong Kota Banda Aceh. *Jukema*. 5(1): 392-396.
- Halimatunnisroh, R., Yudiarti, T., Sugiharto. 2017. BAL Dan Total Bakteri Usus Halus Ayam Broiler Yang Diberi Kunyit. *Jurnal Peternakan Indonesia*. 19(2): 81–87.
- Kurniawan, R., Syawal, H., Effendi, I.. 2020. Efektivitas Penambahan Suplemen Herbal Pada Pellet Terhadap Pertumbuhan Dan Kelulushidupan Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*). *Jurnal Ruaya : Jurnal Penelitian Dan Kajian Ilmu Perikanan Dan Kelautan*. 8(1): 69–76.
- Kusuma, G. P. A. W., Nocianitri, K. A., Pratiwi, I. D. P. K.. 2020. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fermented Rice Drink Sebagai Minuman Probiotik Dengan Isolat *Lactobacillus Sp. F213*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 9(2): 181-192.
- Monoarfa, V. D., Mansyur, K., Tis'in, M., Ndobe, S.. 2020. Penambahan Tepung Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) Pada Pakan Terhadap Pertumbuhan Ikan Mas Koi (*Cyprinus Carpio*). 2(1): 96-105.
- Nurnaafi, A., Setyaningsih, I., Desniar.. 2015. Probiotic Potential Of Bekasam Lactic Acid Bacteria



- Of Tilapia Fish. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. 26(1): 109–114.
- Poernomo, A.. 2004. *Technology of probiotics to solve the problems in shrimp pond cul* Pengaruh kombinasi jenis bakteri probiotik berbeda, dalam "(Endang Susianingsih) 497 ture and the culture environment. Paper presented in *The National Symposium on Development and Scientific and Technology Innovation in Aquaculture*, January 27-29, 2004. Patrajasa Hotel, Semarang, 25 pp.
- Rahmah, A., Suthama, N., Yuniyanto, V. D.. 2013. Total Bakteri Asam Laktat Dan Escherichia Coli Pada Ayam Broiler Yang Diberi Campuran Herbal Dalam Ransum. *Anial Agriculture Journal*, 2(3): 39–47.
- Rahmi, A., Roebiakto, E, Lutpiatina, L.. 2016. Potensi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) Menghambat Pertumbuhan Candida Albicans. *Medical Laboratory Technology Journal*. 2(2): 70.
- Sari, P., Hariani, D., Trimulyono, G.. 2019. Aplikasi Probiotik, Prebiotik Dan Sinbiotik Pada Pakan Terhadap Pertumbuhan Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy* Lac.). *Lenterabio*. 7(2): 137–141.
- Silalahi, M.. 2019. Kencur (*Kaempferia Galanga*) Dan Bioaktivitasnya. *Jurnal Pendidikan Informatika Dan Sains*. 8(1): 127.
- Studi, P. 2011. Peran Probiotik Untuk Kesehatan Endang Nur Widiyaningsih', *Jurnal Kesehatan*, 4(1): 14–20.
- Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Masithat, E. D., Pramono, H.. 2019. Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla Spp.*) Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*. 8(2): 94-108.
- Syawal, H., Riau waty, M., Nopilita, E. 2021. Improving Haematological Profile Of Catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) Due To Addition Of Herbal Supplements In Feed', *Jurnal Veteriner*. 22(1): 16–25.
- Umasugi, A., Tumbol, R. A., Kreckhoff, R. L., Manoppo, H., Pengemanan, N. P. L., Ginting, E. L.. 2018. Penggunaan Bakteri Probiotik Untuk Pencegahan Infeksi Bakteri *Streptococcus Agalactiae* Pada Ikan Nila, *Oreochromis Niloticus*. *E-Journal Budidaya Perairan*. 6(2): 39–44.