

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfillment of the requirements for the Degree of Master of Science

QUORUM SENSING DEGRADER PROBIOTICS BACTERIA AS BIOCONTROL AGENTS AGAINST *Aeromonas hydrophila* INFECTION IN RED HYBRID TILAPIA CULTURE (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*).

NOOR SYAZWANI BINTI OMAR

2021

Main Supervisor : Sharifah Noor Emilia binti Syed Jamil Fadaak, Ph.D
Co-Supervisor : Associate Professor Ts. Muhd Danish Daniel bin Abdullah, Ph.D
Faculty : Faculty of Fisheries and Food Science

Red hybrid tilapia has become the dominant species of tilapia cultured in Malaysia. *Aeromonas hydrophila* has been recognized as significant pathogenic bacteria that cause disease outbreak in worldwide fish farming. Antibiotics are the major approach to protecting aquatic animals from bacterial infection. Nevertheless, the frequent usage of antibiotics had led to the emergence of antibiotics-resistance bacteria. The virulence factor of pathogenic bacteria is regulated by quorum sensing. Quorum sensing (QS) is a communication process of bacteria by cell-to-cell, based on the recognition, production and release of small signal molecules. The interruption of QS has been proposed as an anti-infective strategy to control bacterial pathogenicity. In this study, potential probiotics bacteria as QS degrader were isolated from juvenile tilapia gut. By AHL degradation assay, three isolates (CPi12, CBA5, & CBA7) could completely degrade the QS signal, N-acyl homoserine lactone (AHL). By using 16s rDNA, isolates were identified as *Klebsiella pneumoniae* (CPi12), *Enterobacter tabaci* (CBA5) and *Enterobacter tabaci* (CBA7). These isolates were undergone hemolytic activity and it was observed that these three isolates were nonpathogenic bacteria. By *in vitro* assay, these isolates were co-cultured with a pathogen, *Aeromonas hydrophila*, for five days. Results showed that all of these isolates could reduce the AHL production by *A. hydrophila* and decrease the pathogen's growth. Then, challenge test: *in vivo* assay with *A. hydrophila* was done. It was observed that the survival rate of the fish group fed with CPi12 was

100% and significantly higher ($p<0.05$) compare to the control group of fish that provided with commercial pellet (50%). Meanwhile, for the fish group fed with CBa5 and CBa7, both survival rates were 50%. In term of growth performance, mean weight gain (MWG), weight gain (WG), specific growth rate (SGR), and average daily growth (ADG), the fish group fed with CBa7 was significantly higher ($p<0.05$) compare to other groups of fish and the control group. Criteria in selecting probiotics candidates are microorganisms that can improve host health, facilitate host growth and increase the host resistance towards pathogens. Results proved that CPi12 as QS degrader probiotics bacteria could degrade the virulence factor of *A. hydrophila*, reduce its pathogenicity, and decrease the mortality of the fish. Meanwhile, CBa7 as QS degrader probiotics bacteria was significant in promoting the growth performance of tilapia. These results indicated that probiotics bacteria as QS degrader could control the fish disease more bio-friendly in aquaculture.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu
sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Sarjana Sains

**BAKTERIA PROBIOTIK PENGURAI PENGINDERAAN KUORUM
SEBAGAI AGEN KAWALAN BIOLOGI TERHADAP JANGKITAN
Aeromonas hydrophila DALAM PENTERNAKAN TILAPIA MERAH HYBRID
(*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*).**

NOOR SYAZWANI BINTI OMAR

2021

Penyelia : Sharifah Noor Emilia binti Syed Jamil Fadaak, Ph.D
**Penyelia Bersama : Profesor Madya Ts. Muhd Danish Daniel bin Abdullah,
Ph.D**
Fakulti : Fakulti Perikanan dan Sains Makanan

Tilapia merah hibrid telah menjadi spesies tilapia yang dominan yang dikultur di Malaysia. *Aeromonas hydrophila* telah dikenalpasti sebagai bakteria patogen utama yang menyebabkan wabak penyakit dalam penternakan ikan di seluruh dunia. Antibiotik adalah pendekatan utama dalam melindungi haiwan akuatik daripada jangkitan bakteria. Walau bagaimanapun, penggunaan antibiotik secara kerap telah membawa kepada kemunculan bakteria rintang antibiotik. Faktor kevirulenan bakteria patogen dikawal oleh penginderaan kuorum. Penginderaan kuorum (QS) ialah proses komunikasi bakteria dari sel-ke-sel, di mana ia adalah berdasarkan pengenalan, pengeluaran, dan pembebasan isyarat molekul-molekul kecil. Gangguan QS telah dicadangkan sebagai salah satu strategi anti-jangkitan dalam mengawal kepatogenesis bakteria. Dalam kajian ini, bakteria probiotik yang berpotensi dalam mendegradasi QS telah dipencilkan daripada usus ikan tilapia. Melalui ujian degradasi AHL, tiga pencilan (CPi12, CBa5, & CBa7) dapat mengurai isyarat QS dengan sepenuhnya. Dengan menggunakan analisis 16s rDNA, pencilan-pencilan ini dapat dikenalpasti sebagai *Klebsiella pneumonia* (CPi12), *Enterobacter tabaci* (CBa5) dan *Enterobacter tabaci* (CBa7). Pencilan-pencilan ini seterusnya menjalani ujian hemolisis dan didapati ketiga-tiga pencilan ini merupakan bakteria bukan patogen. Kemudian, ketiga-tiga pencilan ini dikultur bersama patogen, *Aeromonas hydrophila* selama lima hari menggunakan ujian *in vitro*. Keputusan menunjukkan

bahawa kesemua pencilan ini dapat mengurangkan pengeluaran AHL oleh *A. hydrophila* dan mengurangkan pertumbuhan patogen. Setelah itu, pencilan-pencilan ini melalui ujian cabaran: ujian *in vivo* dengan *A. hydrophila*. Pemerhatian menunjukkan kadar kemandirian kumpulan ikan yang diberi makan dengan CPi12 ialah 100% dan ia adalah signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan kumpulan ikan kawalan yang diberi makan makanan ikan komersial. Sementara itu, kumpulan ikan yang diberi makan dengan CBa5 dan CBa7, secara berasingan, kadar kemandirian bagi kedua-dua kumpulan ini adalah 50%. Bagi prestasi pertumbuhan, purata pertambahan berat (MWG), pertambahan berat (WG), kadar pertumbuhan khusus (SGR) dan purata pertumbuhan harian (ADG), kumpulan ikan yang diberi makan CBa7 adalah ternyata lebih tinggi ($p < 0.05$) berbanding kumpulan ikan lain dan kumpulan kawalan. Kriteria dalam pemilihan calon bakteria probiotik ialah mikroorganisma yang dapat meningkatkan kesihatan perumah, membantu pertumbuhan perumah dan meningkatkan rintangan perumah terhadap patogen. Keputusan membuktikan bahawa CPi12 sebagai bakteria probiotik pengurai QS dapat mengurai faktor virulens *A. hydrophila* dan seterusnya mengurangkan kepatogenesis bakteria serta mengurangkan kematian ikan. Sementara itu, CBa7 sebagai bakteria probiotik pengurai QS menggalakkan prestasi pertumbuhan tilapia dengan signifikan. Hasil kajian ini menunjukkan bahawa bakteria probiotik sebagai pengurai QS mampu mengawal penyakit ikan dengan lebih mesra-bio dalam akuakultur.