

### Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*)

### Isolation and characterization of potential probiotic bacteria in digestive tract of milkfish (*Chanos chanos*)

Sara Silva Beru Ginting<sup>a, \*</sup>, Dwi Suryanto<sup>b</sup>, dan Desrita<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

<sup>b</sup> Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara

#### Abstrak

Bandeng (*Chanos chanos*) adalah ikan ekonomi penting yang dibudidayakan di tambak air payau. Bandeng relatif tahan terhadap penyakit yang mungkin disebabkan oleh bakteri usus terkait untuk meningkatkan kesehatan dan mencegah penyakit. Di usus bandeng dilakukan pengamatan untuk mendapatkan bakteri probiotik potensial untuk dikembangkan sebagai probiotik. Beberapa pengamatan morfologi seperti bentuk dan warna sel dan uji biokimia seperti pati, hidrolisis kasein dilakukan. Uji antagonistik dari isolat bakteri potensial dilakukan pada *Aeromonas hydrophila*. Penelitian ini dilakukan dari bulan Juni hingga September 2017 di Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas 1 Medan, Kuala Namu. Hasilnya menunjukkan bahwa bakteri probiotik potensial dalam saluran pencernaan ikan bandeng adalah *Staphylococcus* spp. (UIM01), *Micrococcus sadentarius* (UIM02), *Lactobacillus acidophilus* (LIM01) dan *Micrococcus lylae* (LIM02). Bakteri ini menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* hingga rendah meluas.

**Kata kunci:** isolasi; identifikasi; potensial probiotik; bandeng; saluran pencernaan

#### Abstract

Milkfish (*Chanos chanos*) is an important economic fish that is cultured in brackish water ponds. Milkfish is relatively resistant to diseases that may be caused by associated gut bacteria to improve health and prevent from disease. In the gut of milkfish was screened to obtain potential probiotic bacteria to be developed as probiotic. Some morphological observation such as shape and color of cell and biochemical test such as starch, casein hydrolysis were conducted. Antagonistic test of the potential bacteria isolate was done to *Aeromonas hydrophila*. This study was conducted from June to September 2017 in Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas 1 Medan, Kuala Namu. The result indicated that potential probiotic bacteria in the digestive tract of milkfish were *Staphylococcus* spp. (UIM01), *Micrococcus sadentarius* (UIM02), *Lactobacillus acidophilus* (LIM01) and *Micrococcus lylae* (LIM02). These bacteria showed to inhibiting growth of *Aeromonas hydrophila* for low extend.

**Keywords:** isolation; identification; probiotic potential; milkfish; digestive tract

\* Korespondensi: Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara. Jl. Prof. A. Sofyan No. 3 Medan, North Sumatera 20155, Indonesia.  
e-mail: sarasilvaginting@gmail.com  
doi: <https://doi.org/10.29103/aa.v5i1.390>

#### 1. Pendahuluan

Produksi ikan bandeng di Indonesia cukup melimpah, dengan jumlah produksi mencapai 626.878 ton (Direktorat Jenderal Perikanan, 2013). Jenis ikan ini mampu mentolerir salinitas perairan yang luas (0-158 ppt) sehingga digolongkan sebagai ikan *euryhaline*. Ikan Bandeng mampu beradaptasi terhadap perubahan lingkungan, seperti suhu, pH, dan kekeruhan air serta tahan terhadap serangan penyakit (Ghufron dan Kordi, 1997).

Ikan bandeng merupakan ikan yang jarang terkena penyakit. Hal ini dapat dilihat dari kebiasaan makan ikan bandeng yang tergolong jenis ikan herbivora yang mempunyai usus yang panjang beberapa kali dari tubuhnya. Didalam saluran

pencernaan ikan bandeng terdapat bakteri yang menghasilkan enzim pencernaan yang dapat merombak nutrisi makro yang masuk melalui pakan untuk kebutuhan bakteri itu sendiri dan memudahkannya untuk diserap oleh ikan bandeng tersebut (Gatesoupe, 1999).

Keberadaan probiotik ini didalam usus inang (baik pada permukaan usus maupun didalam lumen) berperan sebagai pelindung (*barrier*) terhadap proliferasi (pertumbuhan) patogen, diantaranya melalui mekanisme produksi senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan patogen. Berdasarkan uraian tersebut di atas maka akan dilakukan penelitian tentang isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) guna meningkatkan produktivitas pada budidaya ikan Bandeng.

## 2. Bahan dan metode

### 2.1. Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – September 2017. Pengambilan sampel ikan dilakukan di tambak Pematang Lalang Percut Sei Tuan yang terletak pada titik koordinat 3°43'0.47 LU dan 98°46'34.14 BT. Identifikasi bakteri probiotik dilaksanakan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas 1 Medan, Kuala Namu.

### 2.2. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan Bandeng, isolat bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, medium selektif MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*) medium TSA (*Tryptone Soya Agar*), medium SA (Starch Agar), medium SMA (Skim Milk Agar), medium MIO (Motility Indole Ornithin), medium TSIA (Triple Sugar Iron Agar), medium LIA (Lysine Iron Agar), medium SC (Simmon Citrat Agar), medium Gelatin, medium OF, medium MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*), medium gula-gula (arabinosa, glukosa, galaktosa, laktosa, maltosa, sukrosa, fruktosa, rafinosa, mannitol dan sorbitol), reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, KOH 3%, *methyl-red*, reagen kovacs, iodine 2%, pewarnaan gram (Kristal Violet, lugol, alkohol aseton dan safranin), NaCl fisiologis 0,85%, HCl 0,1 N, minyak emersi, alkohol 70%, akuades, oxidase strips, *paper disk*, kapas, tissue gulung, plastik 10 kg, kertas label dan aluminium foil.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *scalpel*, gunting, pinset, penggaris, mortar porselen, pastel, erlenmeyer, pipet tetes, tabung reaksi, cawan petri, beaker glass, gelas ukur, jarum ose, *object glass*, *cover glass*, batang pengaduk, tabung reaksi, penjepit tabung, rak tabung reaksi, mikroskop, lemari pendingin, *laminar air flow*, inkubator, oven, neraca analitik, bunsen, autoklaf, spatula, jangka sorong dan kamera digital.

### 2.3. Tahapan penelitian

#### 2.3.1. Pengambilan sampel

Ikan yang dijadikan sampel adalah ikan Bandeng yang ada di tambak pembesaran. Ikan Bandeng dibedah untuk diambil usus dan lambungnya, lalu dimasukkan ke dalam larutan fisiologis NaCl 0,85%. Selanjutnya, lambung dan usus dihancurkan atau dihaluskan dengan menggunakan mortar porselen.

#### 2.3.2. Isolasi bakteri probiotik

Usus ikan Bandeng secara aseptis, bagian dalam (isi) usus ikan Bandeng dikerok dengan menggunakan *scalpel*. Hasil kerokan tersebut kemudian dihaluskan dengan menggunakan mortar porselen dan pastel lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril dan diencerkan dengan larutan NaCl steril dengan pengenceran 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, dan 10<sup>-3</sup>. Sebanyak 1 mL hasil pengenceran tadi kemudian diinokulasikan pada medium MRSA kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang menunjukkan zona bening disekitar koloni menunjukkan bahwa koloni tersebut adalah bakteri asam laktat.

#### 2.3.3. Tahap pemurnian kultur bakteri

Pemurnian dimulai dengan memilih koloni-koloni yang disekitarnya terdapat zona bening. Mensterilkan jarum ose, lalu disentuhkan pada permukaan koloni bakteri kemudian diinokulasikan pada permukaan medium MRSA dengan metode gores untuk mendapatkan koloni yang terpisah. Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setiap koloni tunggal yang berbeda dan terbentuk setelah pemurnian kemudian masing-masing diinokulasikan pada medium TSA miring untuk persiapan pengujian selanjutnya.

### 2.4. Uji probiotik

#### 2.4.1. Uji hidrolisis pati (amilum)

Suspensi bakteri hasil biakan murni diambil satu ose dan digoreskan pada cawan yang berisi media *Strach Agar*, dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan uji iodine dengan cara meneteskan iodine pada permukaan agar yang berisi isolat. Uji hidrolisis pati positif ditandai dengan adanya zona kuning bening di sekeliling isolat yang mengindikasikan enzim amilase diproduksi oleh isolat sehingga di daerah tersebut amilum sudah dihidrolisis (Cappucino, 1983).

#### 2.4.1. Uji hidrolisis kasein (protein)

Suspensi bakteri hasil biakan murni diambil satu ose dan digoreskan pada cawan yang berisi media *Skim Milk Agar* (SMA), dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Uji hidrolisis protein positif ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling koloni yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mempunyai aktivitas proteolitik (Fardiaz, 1992).

### 2.5. Uji biokimia

#### 2.5.1. Uji gram

Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan teknik pewarnaan gram. Pertama-tama ulasan bakteri dibuat pada gelas objek dan dilakukan fiksasi. Sebanyak 2-3 tetes gram A (kristal violet) diteteskan pada koloni bakteri, diamkan selama 60 detik. Kemudian preparat dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringanginkan. Sebanyak 2-3 tetes gram B (larutan lugol) diteteskan di atas preparat dan dibiarkan selama 60 detik. Preparat dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Preparat kemudian ditetesi 2-3 tetes larutan alkohol-aseton dan dibiarkan selama 60 detik lalu dicuci kembali dan dikeringanginkan. Selanjutnya preparat ditetesi dengan larutan safranin sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 60 detik, lalu dicuci dan dikeringanginkan. Setelah itu diamati di bawah mikroskop.

### 2.5.2. Uji katalase

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose (ose bulat) dari masing-masing stok kultur kemudian dicelupkan ke dalam reagen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yang telah ditetaskan pada *object glass*. Hasil positif apabila terbentuk gelembung gas pada ose, dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung gas.

### 2.5.3. Uji oksidase

Uji oksidase dilakukan dengan mengoleskan koloni tunggal pada *Oxidase Test Strip* dengan menggunakan ose. Lalu dilihat perubahan yang terjadi. Apabila daerah tempat *Oxidase Test Strip* yang terkena bakteri berwarna biru tua keunguan maka oksidase positif, jika berwarna putih (tetap) maka bersifat negatif.

### 2.5.4. Uji motilitas

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara ditusuk pada medium MIO, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif (motil) apabila terdapat rambatan-rambatan di sekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose pada medium.

### 2.5.5. Uji TSA

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi ke dalam media TSA dengan cara menusuk tegak lurus pada bagian *butt* (tusuk) dan cara zig zag pada bagian *slant* (miring) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Perubahan warna kemudian diamati, apabila bagian *slant* berwarna merah dan *butt* berwarna kuning maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, sedangkan apabila bagian *slant* dan *butt* keduanya berwarna kuning maka bakteri mampu memfermentasi sukrosa dan laktosa (Yusuf, 2009).

### 2.5.6. Uji gelatin

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada media cair Gelatin dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Uji positif ditandai dengan media cair tetap mencair apabila telah diletakkan di dalam lemari es selama beberapa menit dan uji negatif ditandai dengan membekunya media gelatin jika diletakkan di dalam lemari es.

### 2.5.7. Uji citrat

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara zig-zag pada permukaan agar miring media *Simmons Citrate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi biru dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008).

### 2.5.8. Uji MR (*methyl red*)

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi ke dalam media MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Setelah inkubasi selama 24 jam, media ditambahkan 3-4 tetes indikator *methyl red*. Uji positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah, artinya terbentuk asam dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media (Hadioetomo, 1993).

### 2.5.9. Uji VP (*voges proskauer*)

Sebanyak 1 ose (ose bulat) isolat bakteri diambil dari stok kultur dan diinokulasikan pada medium MR-VP cair dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Medium kemudian ditambahkan 0,2 mL KOH 40% dan 0,6 mL alfa-naftol lalu dikocok selama 30 detik. Hasil positif jika medium berubah warna lembayung.

### 2.5.10. Uji LIA

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasi secara tusuk lalu zig-zag pada permukaan agar miring media LIA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi ungu dan uji negatif ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna pada media (Sudarsono, 2008).

### 2.5.11. Uji gula-gula

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung reaksi yang berisi arabinosa, glukosa, galaktosa, laktosa, maltosa, sukrosa, fruktosa, rafinosa, mannitol dan sorbitol diinkubasi selama 24 jam pada suhu 29°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning dan apabila dalam tabung terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO<sub>2</sub>). Uji negatif ditandai dengan tidak berubahnya warna medium.

## 2.6. Uji daya hambat bakteri patogen

Bakteri patogen yang digunakan adalah *Aeromonas hydrophila*. Metode yang digunakan adalah metode cawan sebar (*spread plate*). Bakteri patogen dan bakteri potensial probiotik disuspensikan hingga kekeruhannya sama dengan larutan suspensi *Mc Farland* yaitu 10<sup>8</sup> CFU/ml. Bakteri patogen (*Aeromonas hydrophila*) diisolasi kedalam cawan petri yang berisi media TSA dengan teknik cawan sebar (*spread plate*), kemudian *paper disk* yang telah direndam ke dalam kultur cair isolat bakteri potensial probiotik ditanam dengan cara ditekan ke atas media TSA. Selanjutnya inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah inkubasi diamati adanya indikasi penghambatan dengan terbentuknya zona bening pada media yang berarti menunjukkan kemampuan menghambat bakteri uji patogen. Kemudian diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong.

## 2.7. Analisis data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif dengan mendeskripsikan secara sistematis dan akurat secara ilmiah. Hasil uji terhadap isolat-isolat yang diperoleh, dilakukan upaya identifikasi bakteri berdasarkan karakter biokimia sesuai dengan tabel biokimia dengan berpedoman pada buku Cowan and Steels (1974).

## 3. Hasil dan pembahasan

### 3.1. Hasil

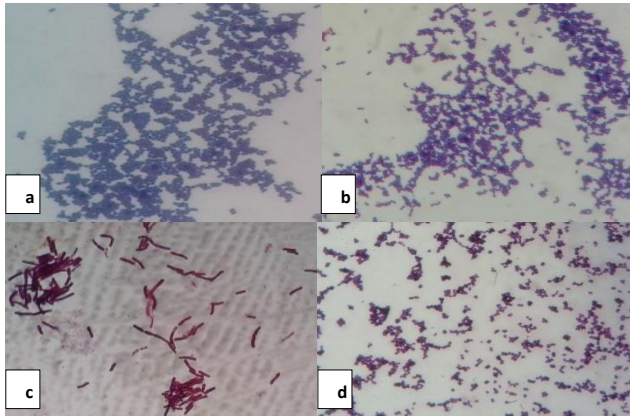
#### 3.1.1. Isolasi bakteri potensial probiotik

Hasil isolasi bakteri dari lambung dan usus ikan bandeng (*Chanos chanos*) diperoleh 4 isolat yang memperlihatkan adanya zona bening pada medium MRSA. Terdapat 2 isolat bakteri dari hasil isolasi pada lambung dan 2 isolat bakteri dari hasil isolasi

pada usus. Hasil tersebut diperoleh setelah dilakukan uji untuk menyeleksi seluruh isolat yang ditemukan dari lambung dan usus ikan bandeng.

### 3.1.2. Morfologi koloni dan sel bakteri potensial probiotik

Isolat-isolat bakteri potensial probiotik yang ditemukan dari hasil isolasi lambung dan usus ikan dilakukan pengamatan morfologi koloni yang meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna. Adapun ciri-ciri morfologi dari keempat koloni yang berhasil diperoleh, dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pewarnaan gram (a) UIM01 (b) UIM02 (c) LIM01 (d) LIM02

Tabel 1 menunjukkan bahwa ke-4 isolat bakteri potensial probiotik yang diperoleh memiliki kesamaan pada bentuk, tepian dan elevasi, yaitu memiliki bentuk bulatan kecil, tepian rata dan berelevasi cembung. Warna koloni memiliki perbedaan yaitu pada isolat UIM01 memiliki warna putih susu sedangkan ke-3 isolat lainnya UIM02, LIM01 dan LIM02 memiliki warna putih kekuningan.

Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa semua isolat merupakan bakteri gram positif yang ditandai dengan sel bakteri yang berwarna ungu dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 4. Dua macam bentuk bakteri yaitu basil (batang) seperti terlihat pada isolat LIM01 serta bentuk coccus (bulat) seperti pada isolat UIM01, UIM02 dan LIM02.

### 3.1.3. Hidrolisis pati (amilum) dan kasein (protein) pada isolat bakteri

Uji hidrolisis pati (amilum) dan kasein (protein) dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan enzim amilase dan protease. Pengamatan hasil uji hidrolisis pati

dan kasein ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling isolat yang ditumbuhkan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 2.

Bakteri yang dapat menghidrolisis pati dan kasein yaitu *Staphylococcus arlettae*, *Micrococcus sedentarius*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Micrococcus lylae*. Dari hasil pengamatan terlihat bahwa semua isolat dapat menghidrolisis kasein yang artinya aktivitas enzim protease yang memecah protein menjadi asam amino. Bakteri mampu menghidrolisis amilum karena dapat menghasilkan enzim amilase yang memecah tepung menjadi glukosa, maltosa dan dekstrin.

Tabel 1

Morfologi koloni isolat bakteri potensial probiotik.

Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna
UIM01	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih susu
UIM02	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih kekuningan
LIM01	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih kekuningan
LIM02	Bulatan kecil	Rata	Cembung	Putih kekuningan

Tabel 2

Kemampuan isolat kandidat probiotik menghidrolisis pati dan kasein.

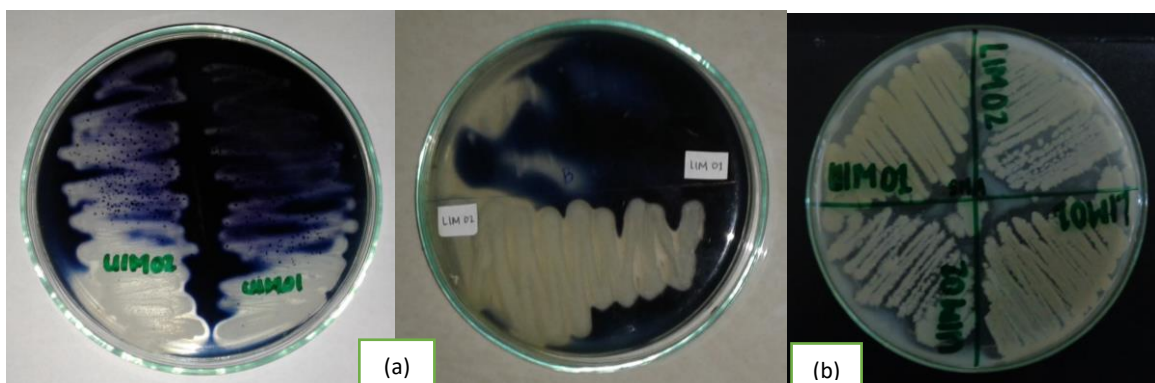
Kode Isolat	Hidrolisis	
	Kasein	Pati
LIM-01	+	+
LIM-02	+	+
UIM-01	+	+
UIM-02	+	+

Keterangan: (+) positif, (-) negatif

### 3.1.4. Indikasi penghambatan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Isolat-isolat bakteri yang mampu menghidrolisis pati (amilum) diuji tantang dengan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Uji tersebut bertujuan untuk memastikan bahwa ke-4 isolat bakteri tersebut merupakan isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila*. Ke-4 isolat tersebut di uji daya hambatnya dengan *A. hydrophila* disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 3.

Besarnya daerah zona bening di sekitar *paper disk* yang dihasilkan tiap-tiap isolat berbeda-beda berdasarkan tingkat daya hambat bakteri terhadap bakteri uji. Kemampuan penghambatan pertumbuhan patogen ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar *paper disk*.



Gambar 2. (a) hidrolisis pati (b) hidrolisis kasein.

Berdasarkan nilai indikasi hambatan (Tabel 3) untuk bakteri *Staphylococcus arlettae* (UIM01) 7,2 mm, bakteri *Micrococcus sadentarius* (UIM02) sebesar 8,3 mm, bakteri *Lactobacillus acidophilus* (LIM01) sebesar 9 mm dan bakteri *Micrococcus lylae* (LIM02) sebesar 6,6 mm. Menurut Pan et al. (2009) Zona penghambatan potensi probiotik dibagi menjadi tiga yaitu <11 mm potensi rendah, 9-11 mm potensi moderat, dan >11 mm potensi tinggi. Oleh karena itu, isolat LIM01 termasuk dalam potensi moderat, sedangkan LIM02, UIM01 dan UIM02 termasuk dalam potensi rendah.



Gambar 3. Indikasi penghambatan bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Tabel 3  
Uji daya hambat.

Nama isolat	Diameter zona hambat (mm)
Uim01	7,2
Uim02	8,3
Lim01	9
Lim02	6,6

### 3.1.5. Karakterisasi dan identifikasi bakteri potensial probiotik

Hasil karakterisasi dan identifikasi ke-4 isolat bakteri (Tabel 4) dengan kode isolat LIM01 merupakan *Staphylococcus arlettae*, isolat dengan kode isolat LIM02 merupakan *Micrococcus sedentarius*, isolat dengan kode isolat UIM01 merupakan *Lactobacillus acidophilus* dan isolat dengan kode isolat UIM02 merupakan *Micrococcus lylae*. Hasil pengamatan uji biokimia dari ke-4 isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil uji Biokimia dari ke-4 bakteri yang diperoleh diidentifikasi menurut buku Cowan and Steels (1974).

## 3.2. Pembahasan

### 3.2.1. Bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng

Bakteri probiotik merupakan bakteri yang aman dan relatif menguntungkan dalam saluran pencernaan yaitu lambung dan usus ikan. Pada lambung dan usus memiliki bakteri yang menghasilkan enzim pencernaan yang memiliki kemampuan merombak nutrisi yang masuk melalui pakan untuk kebutuhan bakteri itu sendiri maupun inangnya. Sehingga memberikan dampak bagi peningkatan keseimbangan mikroba. Bakteri ini menghasilkan zat yang tidak berbahaya bagi inang tetapi justru menghambat bakteri patogen pengganggu sistem pencernaan. Dari hasil isolasi maka didapatkan isolat murni sebanyak 4 isolat,

yaitu terdapat 2 isolat bakteri pada lambung dan 2 isolat bakteri pada usus.

### 3.2.2. Morfologi koloni dan sel bakteri potensial probiotik

Berdasarkan hasil pengamatan koloni dari ke-4 isolat bakteri potensial probiotik pada Tabel 1, diketahui bahwa morfologi pada ke-4 isolat bakteri memiliki kesamaan pada

Tabel 4  
Karakterisasi isolat bakteri potensial probiotik.

Uji morfologi dan biokimia	UIM01	UIM02	LIM01	LIM02
Morfologi sel				
Gram	+	+	+	+
Bentuk	Kokus	Kokus	Basil	Kokus
Spora	-	-	-	-
Biokimia				
TSIA	k/k	k/k	k/k	k/k
- Gas	-	-	-	-
- H <sub>2</sub> S	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+
Okasidase	-	+	-	+
Pepton				
- Motilitas	-	-	-	-
- Indol	-	-	+	+
MR	-	-	-	-
VP	-	-	-	-
Citrat	-	-	-	-
OF	-	-	-	-
LIA	+	-	-	-
Ornithin (MIO)	-	-	-	-
Gelatin	-	-	-	-
Karbohidrat				
- Glukosa	-	-	-	-
- Laktosa	-	-	+	-
- Sukrosa	+	-	-	-
- Manitol	+	-	-	-
- Sorbitol	-	-	-	-
- Arabinose	+	+	-	-
- Rafinosa	+	+	-	-
- Fruktosa	+	+	-	+
- Maltose	+	+	+	-
Spesies Bakteri	<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>Micrococcus sedentarius</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Micrococcus lylae</i>

Keterangan: (+) positif, (-) negatif, (K) alkali

bentuk, tepian dan elevasi, dimana ke-4 isolat bakteri tersebut memiliki bentuk bulatan kecil, tepian licin dan elevasi cembung. Ke-4 isolat tersebut berasal dari hasil isolasi lambung dan usus ikan Bandeng. Terdapat 1 isolat bakteri dari hasil isolasi pada lambung yang memiliki warna putih susu dan 3 isolat bakteri dari hasil isolasi pada usus yang memiliki warna putih kekuningan. Furoida et al. (2014), menyatakan bahwa morfologi koloni bakteri berguna dalam identifikasi awal spesies bakteri. Berbagai macam warna pigmentasi koloni yakni hitam, abu-abu, kuning, putih, merah muda dan jingga dapat ditemukan pada media kultur.

Pengamatan morfologi sel bakteri potensial probiotik dilakukan dengan pewarnaan Gram. Berdasarkan pewarnaan seluruh isolat bakteri potensial probiotik merupakan bakteri dengan gram positif yang mampu mempertahankan warna ungu (kristal violet) setelah pelunturan dengan alkohol aseton. Hal ini sesuai dengan James et al. (2008), yang menyatakan bahwa bakteri yang menyerap Gram A (Kristal violet) akan tetap berwarna ungu setelah pelunturan dengan Gram C (Alkohol aseton) disebut Bakteri Gram Positif, sedangkan bakteri yang warna ungunya luntur pada pencucian dengan alkohol, akan menyerap zat warna Gram D (Safranin) sehingga akan berwarna

merah muda disebut Bakteri Gram Negatif. Hasil pewarnaan gram yang diperoleh terdapat 2 macam bentuk bakteri yaitu basil (batang) pada isolat LIM01 dan coccus (bulat) pada ketiga isolat lainnya yaitu LIM02, UIM01 dan UIM02 dapat dilihat pada Gambar 1.

### 3.2.3. Hidrolisis pati (amilum) dan kasein (protein) pada isolat bakteri

Uji hidrolisis pati dan kasein dilakukan untuk mengetahui adanya aktivitas enzim amilase dan protease pada bakteri. Pengujian hidrolisis pati dan kasein merupakan salah satu syarat dalam seleksi kandidat probiotik. Aktivitas enzim amilase dan protease akan meningkatkan kinerja enzim endogenous yang ada pada saluran pencernaan ikan sehingga secara tidak langsung keberadaan bakteri tersebut dapat menguntungkan inangnya. Hal ini sesuai dengan Subagyo dan Ali (2011), yang menyatakan bahwa adanya aktivitas enzim protease, lipase dan amilase tersebut akan memicu peningkatan enzim endogenous yang diproduksi oleh bakteri dalam saluran pencernaan. Sehingga secara tidak langsung keberadaan bakteri dapat menguntungkan inangnya.

Pada pengamatan hasil uji hidrolisis pati ditandai dengan terbentuknya zona bening setelah ditetaskan iodine pada isolat bakteri. Hal ini terjadi karena molekul pati merupakan molekul yang larut dalam air dan memberikan warna biru apabila tercampur dengan larutan iodine dan akan membentuk zona bening apabila menghidrolisis pati. Berdasarkan hasil penelitian seluruh isolat yang diperoleh mampu menghidrolisis pati yang artinya isolat-isolat tersebut memiliki aktivitas enzim amilase yang memecah tepung menjadi glukosa, maltosa dan dekstrin.

Uji hidrolisis kasein positif ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling bakteri yang telah ditanam pada media Skim Milk Agar. Berdasarkan hasil penelitian seluruh isolat mampu menghidrolisis kasein yang artinya isolat-isolat tersebut memiliki aktivitas enzim protease yang mampu memecah protein menjadi asam amino. Menurut Kaiser (2005), hidrolisis protein menjadi asam amino tunggal dengan tujuan menggunakan asam amino tersebut untuk sintesis protein dan molekul seluler yang lain atau sumber energi.

### 3.2.4. Indikasi penghambatan bakteri *Aeromonas hydrophila*

Untuk melihat kemampuan ke-4 isolat bakteri potensial probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen maka dilakukan uji daya hambat terhadap bakteri patogen. Bakteri uji yang digunakan yaitu *Aeromonas hydrophila*. Bakteri ini merupakan bakteri yang paling sering menyerang ikan karena bakteri ini merupakan bakteri oportunistik yang hampir selalu terdapat di dalam air dan sering menyerang ikan pada saat sistem pertahanan tubuh ikan sedang menurun akibat stress yang menimbulkan terjadinya bercak merah pada ikan, kerusakan pada kulit, insang dan organ dalam. Bakteri probiotik biasanya menghasilkan bakteriosin yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini sesuai dengan Surono (2004), menjelaskan bahwa beberapa jenis bakteri asam laktat menghasilkan bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri yang berupa protein yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, uji daya hambat bakteri *Aeromonas hydrophila* menunjukkan bahwa calon probiotik sensitif terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan ditunjukkan terbentuknya zona hambat. Besar zona hambat yang terbentuk untuk bakteri *Staphylococcus arlettae* (UIM01) 7,2 mm, *Micrococcus sadentarius* (UIM02) sebesar 8,3 mm, *Lactobacillus acidophilus* (LIM01) sebesar 9 mm dan

*Micrococcus lylae* (LIM02) sebesar 6,6 mm. Isolat LIM01 termasuk dalam potensi moderat, sedangkan LIM02, UIM01 dan UIM02 termasuk dalam potensi rendah. Walaupun zona hambat probiotik tidak luas tetapi itu sudah memberikan indikasi bahwa bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan patogen yang nantinya dapat diteliti lebih mendalam tentang produksi zat hambat pada saat yang tepat dan konsentrasi tertinggi yang dapat diproduksi dan jenis zat hambat tersebut (Lusiastuti dan Tauhid, 2011).

Zona hambat tertinggi kandidat probiotik yaitu pada LIM01 sebesar 9 mm. Isolat tersebut merupakan kandidat probiotik jenis *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus* sp merupakan BAL yang paling sering ditemukan pada ikan. *Lactobacillus* sp memiliki daya hambat yang cukup besar yaitu 6,2-9,15 mm terhadap pertumbuhan bakteri patogen (Sujaya et al., 2008). Hjelm et al. (2004), menjelaskan bahwa kemampuan antagonis terhadap bakteri patogen ditetapkan sebagai salah satu kriteria utama dalam seleksi probiotik. Sehingga bakteri *Lactobacillus* dan *Micrococcus* dapat dikembangkan sebagai pembentukan konsorsium probiotik.

### 3.2.5. Karakterisasi dan identifikasi bakteri potensial probiotik

Identifikasi bakteri dilakukan dengan teknik konvensional yaitu dengan membandingkan bakteri yang sedang diidentifikasi dengan bakteri yang telah teridentifikasi sebelumnya. Bila tidak terdapat bakteri yang ciri-cirinya 100% mempunyai kemiripan ciri-ciri, maka dilakukan pendekatan terhadap bakteri yang memiliki ciri-ciri yang paling menyerupai. Oleh karena itu teknik identifikasi dengan metode konvensional akan selalu menghasilkan suatu bakteri tertentu yang sudah teridentifikasi sebelumnya dan tidak akan dapat menemukan spesies baru (Holt et al., 1994).

## 4. Kesimpulan

Karakteristik bakteri potensial probiotik yang didapatkan pada saluran pencernaan ikan Bandeng (*Chanos chanos*) yaitu mampu menghidrolisis pati dan kasein serta dapat menghambat bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dengan nilai hambat pada masing-masing bakteri *Staphylococcus arlettae* (UIM01) 7,2 mm, bakteri *Micrococcus sadentarius* (UIM02) sebesar 8,3 mm, bakteri *Lactobacillus acidophilus* (LIM01) sebesar 9 mm dan bakteri *Micrococcus lylae* (LIM02) sebesar 6,6 mm.

Bakteri potensial probiotik yang didapatkan pada saluran pencernaan ikan Bandeng (*Chanos chanos*) adalah *Staphylococcus arlettae*, *Micrococcus sadentarius*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Micrococcus lylae*.

## Bibliografi

- Cowan, S.T., Steel, K.J., 1974. Characterization Test Method for The Identification off Medical Bacteria. Edisi ke-2. Cambridge University Press, New York.
- Cappucino, J.G., 1983. Microbiology: A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company.
- Direktorat Jenderal Perikanan, 2013. Statistik Perikanan Indonesia, Jakarta.
- Furoida, Y., Kusumawardani, B., Ermawati, T., 2014. Identifikasi Warna Koloni Bakteri Anaerob pada *Gingival Crevicular Fluid* Pasien Gingivitis dan Periodontiti Kronis. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Universitas Jember, Jember.

- Gatesoupe, F.J., 1999. The Use of Probiotics in Aquaculture. *Aquaculture*. 180, 147-165.
- Ghufron, M., Kordi, H., 1997. Budidaya Kepiting dan Ikan Bandeng di Tambak Sistem Polikultur. Dahara Prize, Semarang.
- Hadioetomo, R.S., 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Penerbit Gramedia, Jakarta
- Hjelm, M., O. Bergh, A., Riaza, J., Nielsen, J., Melchiorson, S., Jensen, H., Duncan, P., Ahrens, H., Gram, B.L., 2004. Selection and Identification of Autochthonous Potential Probiotic Bacteria from Turbot Larvae (*Scophthalmus maximus*) Rearing Units System. *Appl. Microbiol.* 27, 360–371.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., William, S.T., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippincott William and Wilkins, New York.
- James, J., Baker, C., Swain, H., 2008. Prinsip-Prinsip Sains untuk Keperawatan. Erlangga, Jakarta.
- Kaiser, C., Merwe, R.V. D., Bekker, T. F., Labuschange, N., 2005. In-vitro Inhibition of Mycelial Growth of Several Phytopathogenic Fungi, Including *Phytophthora cinnsmomi* by Soluble Silicon. *South African Avocado Growers Association Yearbook*. 28, 70-74.
- Lusiastuti, A.M., Taukhid, 2011. Seleksi Kandidat Probiotik Anti *Aeromonas hydrophila* untuk Pengendalian Penyakit Ikan Air Tawar. Laporan Balai Riset Penelitian Budidaya Air Tawar Bogor, Bogor.
- Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H., Zhao, Z., 2009. The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *J. Food Control*. 20, 598-602.
- Subagiyo, Ali, D., 2011. Skrining Kandidat Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Berdasarkan Aktivitas Antibakteri dan Produksi Enzim Proteolitik Ekstraseluler. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16(1), 41-48.
- Sudarsono, A., 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Sujaya, I.N., Dwipayanti, N.M.U., Suariani, N.L.P., Widarini, N.P., Nociantri, K.A., Nursini, N.W., 2008a. Potensi *Lactobacillus* spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa sebagai Probiotik. *J. Vet.* 9 (1), 33 – 40.
- Surono, I. S., 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya, Jakarta.
- Yusuf, R.W., 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infeksi Ektoparasit *Argulus* sp. Universitas Erlangga, Surabaya.