

**ISOLASI DAN PENAPISAN BAKTERI PENGHASIL ENZIM PROTEASE,
SELULASE, DAN AMILASE DARI SEDIMEN DAN SALURAN PENCERNAAN
TERIPANG HITAM *Holothuria atra***

***ISOLATION AND SCREENING OF PROTEASE, CELLULOSE, AND AMYLASE
ENZYME SECRETION BACTERIA FROM SEDIMENT AND GUT OF SEA
CUCUMBER *Holothuria atra****

Dien Arista Anggorowati*, Hendra Munandar, dan Lisa Fajar Indriana

Balai Bio Industri Laut – LIPI

Jl. Raya Senggigi, Teluk Kodek, Malaka, Lombok Utara, NTB 83352

*E-mail: dien003@lipi.go.id

ABSTRACT

Sea cucumber Holothuria atra has potential value as raw material for pharmacy industry that has been cultivated in Research Development Division for Marine Bio Industry – Indonesian Institute of Sciences (LIPI) since 2016. Disease infections and decreased survival rate are one of the obstacles in this type of sea cucumber cultivation activities especially during broodstock management. One effort to overcome this is the use of probiotic bacteria. This research aims to isolate and select bacteria that produce protease, cellulase, and amylase enzymes as candidates for probiotic bacteria in the sediment and digestive tract of sea cucumber H. atra. The growth of bacteria from sediments and digestive tract on selective media which added cellulose, starch, and casein substrates was carried out to see the potential of bacteria capable of producing cellulase, amylase, and protease enzymes through the hydrolysis process. The two bacterial isolates that had the highest cellulase and amylase enzyme activity were obtained, namely SSe9 isolates with Hydrolysis Capacity 7 mm index and SAM6 isolates with hydrolysis index Capacity 6.6 mm. These results indicate that the two bacterial isolates have the potential to be further developed into probiotic bacteria.

Keywords: *Holothuria atra*, enzyme activity, probiotic bacteria

ABSTRAK

Teripang hitam *Holothuria atra* yang memiliki nilai potensial sebagai bahan baku pada industri farmasi telah dibudidayakan di Balai Bio Industri Laut – LIPI sejak tahun 2016. Infeksi penyakit dan penurunan sintasan hidup menjadi salah satu kendala dalam kegiatan budidaya teripang jenis ini terutama pada saat pemeliharaan induk. Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah penggunaan bakteri probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan seleksi bakteri yang menghasilkan enzim protease, selulase, dan amilase sebagai kandidat bakteri probiotik pada sedimen dan saluran pencernaan teripang *H. atra*. Penumbuhan bakteri dari sedimen dan saluran pencernaan pada media selektif yang ditambahkan substrat selulosa, pati, dan kasein dilakukan untuk melihat potensi bakteri yang mampu menghasilkan enzim selulase, amilase, dan protease melalui proses hidrolisis. Dua isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim selulase dan amilase tertinggi telah diperoleh, yaitu isolat SSe9 dengan indeks *Hydrolysis Capacity* 7 mm dan isolat SAM6 dengan indeks *Hydrolysis Capacity* 6,6 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri tersebut berpotensi untuk dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi bakteri probiotik.

Kata kunci: *Holothuria atra*, aktivitas enzim, bakteri probiotik

I. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi pada biota yang dibudidayakan merupakan salah satu kendala

dalam kegiatan akuakultur. Antibiotik dan pestisida yang telah digunakan secara luas untuk mengontrol penyakit, terungkap dapat menimbulkan efek negatif berupa meningkat-

nya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik. Penggunaan probiotik sebagai upaya pencegahan penyakit yang ramah lingkungan dan berkelanjutan telah banyak digunakan untuk mengatasi masalah tersebut (Newal-Fyzul *et al.*, 2014; Pandiyan *et al.*, 2013). Probiotik adalah produk suplementasi yang terdiri dari sel utuh mikroba dan memiliki sifat menguntungkan terhadap inang (Hapsari *et al.*, 2016) dimana probiotik juga digunakan sebagai perlakuan yang ramah lingkungan untuk mengontrol penyakit, meningkatkan imunitas spesifik dan non-spesifik, menstimulasi pertumbuhan, memperbaiki sintesa vitamin dan pencernaan, atau memperbaiki kualitas air di lingkungan budidaya (Chi *et al.*, 2014). Umumnya sumber kultur bakteri probiotik berasal dari lingkungan akuatik, yaitu air atau pasir, kelenjar mukus, dan khususnya dari saluran pencernaan biota (Newal-Fyzul *et al.*, 2014). Bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan memiliki kemampuan dalam memproduksi enzim ekstraseluler yang berfungsi dalam proses pencernaan misalnya amilase, protease, lipase dan selulase. Enzim tersebut menghidrolisis nutrien pada pakan dengan memecah atau memotong ikatan panjang rantai karbohidrat, protein dan lemak (Putra dan Hermawan, 2014). *Holothuria atra* merupakan salah satu jenis teripang yang dieksploitasi dan mempunyai nilai komersial walaupun rendah (Kinch *et al.*, 2008; Choo, 2008). Studi awal di bidang farmakologi menunjukkan bahwa ekstrak *H. atra* merupakan sumber potensial metabolit bioaktif yang dapat digunakan dalam industri farmasi, selain itu mempunyai kandungan antioksidan yang efektif seperti anti-inflamasi, analgesik, antipiretik, dan aktivitas imunomodulator (Dhinakaran and Lipton, 2014); produk alami yang dapat meringankan toksisitas hepatorenal (Dakrory *et al.*, 2015) dan juga mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, komponen fenolik, terpenoid, saponin, alkaloid (Dhinakaran and Lipton, 2014). Selain itu, beberapa penelitian

menunjukkan bahwa teripang jenis ini memiliki zat bioaktif sebagai anti oksidan dan anti bakteri (Oktaviani *et al.*, 2015). *H. atra* memiliki kemampuan menumbuhkan kembali bagian tubuhnya yang terputus dengan cepat setelah melakukan reproduksi secara aseksual melalui *fission* (Purwati *et al.*, 2009). Potensi *H. atra* yang besar dalam industri farmasi mendorong Balai Bio Industri Laut (BBIL) LIPI untuk melakukan kegiatan budidaya teripang jenis ini sejak tahun 2016.

Salah satu permasalahan dalam budidaya teripang *H. atra* yang dihadapi selama ini adalah menurunnya tingkat kelangsungan hidup pada saat pemeliharaan induk. Induk *H. atra* dipelihara di laboratorium untuk kemudian diseleksi sebelum dilakukan pemijahan untuk menghasilkan larva dan anakan. Pengkajian terhadap peningkatan sistem kekebalan penyakit pada teripang *H. atra* yang dibudidayakan di BBIL LIPI belum pernah dilakukan sebelumnya apabila sistem kekebalan teripang *H. atra* meningkat maka dapat menekan munculnya penyakit dan meningkatkan tingkat kelangsungan hidup sehingga mampu mendukung kegiatan budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan seleksi bakteri yang menghasilkan enzim protease, selulase, dan amilase sebagai kandidat bakteri probiotik pada sedimen dan saluran pencernaan teripang *H. atra*.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Teripang Hitam *Holothuria atra*

Penelitian ini menggunakan sepuluh ekor teripang hitam (*Holothuria atra*) yang dikoleksi dari perairan Pantai Medana, Lombok Utara, Nusa Tenggara Barat. Perairan tersebut merupakan habitat asli teripang *H. atra* dan menjadi salah satu lokasi potensial keberadaan induk untuk mendukung kegiatan budidaya. Sampel teripang *H. atra* di *packing* ke dalam wadah plastik yang berisi sedikit air laut, sedangkan

sampel sedimen diambil dan disimpan ke dalam botol plastik steril volume 50 mL. Selanjutnya dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, BBIL LIPI untuk dilakukan preparasi sampel dan isolasi bakteri.

2.2. Isolasi Bakteri

Sebanyak 1 g sampel sedimen ditambahkan dalam 9 mL air laut steril sebagai pengenceran. Sampel saluran pencernaan teripang diambil secara aseptik dengan menggunakan *dissecting set* dan dibilas dengan larutan alkohol 70 %, kemudian digerus dengan menggunakan mortar. Selanjutnya, 1 g sampel ditambah ke dalam 9 mL air laut steril dan dihomogenasi menggunakan *Vortex* (TAITEC). Kedua jenis sampel yang telah ditambahkan dalam 9 mL air laut steril diencerkan secara bertingkat dari 10^{-1} hingga 10^{-5} . Diambil sebanyak 100 μ L untuk di-inokulasikan pada media *Marine Agar* dan diinkubasi suhu 30 °C selama 24-48 jam.

2.2. Seleksi Bakteri

Bakteri yang tumbuh pada *Marine Agar* dipisahkan berdasarkan ciri morfologi yang berbeda dan dipindahkan pada media selektif *Cellulose Congo Red Agar* (CCRA), *Skim Milk Agar*, dan *Starch Agar* untuk mengetahui aktivitas isolat bakteri penghasil enzim selulase, protease, dan amilase.

2.2.1 Uji Aktivitas Selulase

Media selektif kultur bakteri *Cellulose Congo Red Agar* (CCRA) dengan beberapa modifikasi menurut Charania (2009) dan Supriyatna *et al.* (2012) dalam 100 mL menggunakan komposisi bahan ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05 g; K_2HPO_4 0,5 g; NaCl 0,23 g; *Yeast Extract* 0,245 g; CMC 1 g; Agar 1,5 g; Congo red 0,02 g), digunakan untuk membiakkan bakteri yang akan diuji hidrolisis selulosa (Gupta *et al.*, 2012). Isolat bakteri diisolasikan pada media tersebut dan diinkubasi selama 24-48 jam dalam suhu 30 °C (MEMMERT INB200). Zona bening (*clear zone*) yang muncul di sekeliling koloni

bakteri menunjukkan terjadinya proses hidrolisis selulosa, sebaliknya jika tidak terjadi proses hidrolisis maka tidak akan terlihat zona bening di sekitar koloni yang tumbuh. Isolat bakteri yang membentuk zona bening ditandai dan dikultur ulang pada media *Nutrient Agar* (NA) + 3% (w/v) NaCl untuk dimurnikan.

2.2.2. Uji Aktivitas Amilase

Media selektif kultur bakteri yang digunakan mengandung pati dengan komposisi *Nutrient Agar* 2,8 g dan *Starch* 1% (w/v) dalam 100 mL. Isolat bakteri yang akan diuji diinokulasikan pada media selektif tersebut sebanyak satu mata ose biakan dan diinkubasi selama 24-48 jam dalam suhu 30 °C (MEMMERT INB200). Zona bening (*clear zone*) yang muncul di sekeliling koloni bakteri menunjukkan terjadinya proses hidrolisis amilum, sebaliknya jika proses hidrolisis tidak terjadi maka tidak akan terlihat zona bening di sekitar koloni yang tumbuh. Isolat bakteri yang membentuk zona bening dipisahkan dan dikultur ulang pada media *Nutrient Agar* (NA) + 3% (w/v) NaCl untuk dimurnikan dan digunakan lebih lanjut.

2.2.3. Uji Aktivitas Protease

Media selektif yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein dari susu, dalam 100 mL media agar mengandung *Nutrient Agar* 2,8 g dan media *Skim Milk Agar* 5,15 g. Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media selektif selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30 °C (MEMMERT INB200). Biakan bakteri yang tumbuh dan membentuk zona bening di sekitar koloni, selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan dengan metode *quadrant streak* (Triyanto *et al.*, 2009). Isolat murni disimpan pada media *Nutrient Agar* (NA) + 3% (w/v) NaCl untuk digunakan lebih lanjut.

2.2.4. Uji Hydrolysis Capacity Index

Setiap isolat bakteri yang dapat menghasilkan zona bening diinokulasikan

pada media selektif *Skim Milk Agar*, *CCRA*, dan *Starch Agar* sebanyak masing-masing satu ose dan diinkubasi pada suhu 30 °C (*MEMMERT INB200*) selama tujuh hari. Perhitungan Indeks *Hydrolysis Capacity* yang diukur pada hari ketujuh pengamatan zona bening untuk mengetahui tingkat kemampuan masing-masing biakan bakteri dalam menghidrolisis substrat. Rasio zona bening yang dihasilkan selama tujuh hari pengamatan (*Gupta and Samant, 2012*):

$$\text{Hydrolysis capacity (HC)} = \frac{\text{Diameter Zona Bening (mm)}}{\text{Diameter Koloni (mm)}} \dots\dots\dots (1)$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Isolasi Bakteri

Konsentrasi bakteri yang diperoleh dari sampel sedimen 3x10⁷ CFU/g dan saluran pencernaan 1,8x10⁷ CFU/g ditemukan 35 isolat bakteri dengan ciri morfologi berbeda (*Tabel 1*) yang terdiri dari 14 isolat berasal dari saluran pencernaan teripang *H. atra* sedangkan 21 isolat lainnya berasal dari sedimen. Rendahnya jumlah isolat bakteri yang berbeda secara morfologi dari dalam saluran pencernaan diduga salah satunya disebabkan oleh kondisi mikro habitat saluran pencernaan teripang tersebut. Hal tersebut sesuai dengan hasil dari

penelitian *Gao et al. (2014)* yang menunjukkan indikasi keanekaragaman komposisi bakteri dalam sedimen lebih tinggi dibandingkan yang ditemukan dalam saluran pencernaan teripang. Perbedaan jumlah isolat-isolat bakteri secara morfologi yang didapatkan dari sedimen dan saluran pencernaan memiliki tiga kemungkinan: 1) pemilihan makanan oleh teripang; 2) reproduksi mikroba spesifik di dalam saluran pencernaan; dan 3) mikroflora yang menempel pada dinding saluran pencernaan (*Gao et al., 2014*). Perbedaan tersebut juga ditemukan oleh *Ward-Rainey et al. (1996)*, menyatakan bahwa jumlah bakteri yang dapat ditumbuhkan pada media kultur *Marine Agar* dari sampel saluran pencernaan teripang *H. atra* lebih rendah daripada yang diperoleh dari sampel sedimen. Sebaliknya, hasil berbeda ditunjukkan ketika digunakan metode penghitungan secara langsung dengan *epifluorescence microscopy* (*Deming and Colwell, 1982*) dimana populasi bakteri meningkat di dalam saluran pencernaan teripang hitam dibandingkan dalam sedimen. Hal ini dapat disebabkan oleh satu atau lebih dari tiga sumber yang memungkinkan yaitu 1) bakteri yang tersisa dari sedimen yang melewati pencernaan, 2) bakteri dari air laut yang difilter ke dalam saluran pencernaan, dan 3) jumlah mikroflora yang menempel pada dinding saluran pencernaan (*Ward-Rainey et al., 1996*).

Tabel 1. Ciri-ciri isolat bakteri yang diisolasi dari sedimen dan saluran pencernaan teripang hitam pada media *Marine Agar* (MA) dengan suhu 30 °C.

Sampel	Kode Isolat	Warna	Karakteristik Optik	Bentuk	Elevasi	Margin	Permukaan
Saluran pencernaan	GAm1	putih	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	GSe1	putih	transparan	circular	umbonate	entire	Halus
	GAm2	putih	translucent	irregular	umbonate	lobate	Halus
	GPr1	krem	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	GPr2	putih	opaque	irregular	flat	undulate	Kasar
	GSe2	putih	transparan	circular	convex	entire	Halus
	GSe3	krem	transparan	circular	convex	entire	Halus
	GAm4	putih	opaque	irregular	umbonate	lobate	Berkerut

Sampel	Kode Isolat	Warna	Karakteristik Optik	Bentuk	Elevasi	Margin	Permukaan
Sedimen	GAm5	krem	transparan	irregular	flat	lobate	Halus
	GAm6	putih	opaque	irregular	convex	entire	Kasar
	GPr2	krem	transparan	circular	umbonate	entire	Halus
	GPr3	putih	transparan	circular	convex	entire	Halus
	GPr4	putih	opaque	circular	raised	filamentous	Halus
	GPr5	putih	opaque	circular	raised	filamentous	Kasar
	SPr1	putih	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	SSe1	putih	transparan	circular	convex	entire	Halus
	SSe3	krem	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	SAm1	putih	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	SSe4	krem	transparan	circular	convex	entire	Halus
	SSe2	krem	opaque	irregular	flat	lobate	Halus
	SAm2	krem	translucent	circular	flat	entire	Halus
	SAm3	putih	translucent	circular	convex	entire	Halus
	SSe5	krem	translucent	circular	raised	undulate	Halus
	SAm4	putih	opaque	circular	umbonate	entire	Halus
	SAm5	putih	opaque	irregular	flat	serrate	Kasar
	SAm6	putih	opaque	circular	flat	lobate	Kasar
	SPr2	putih	translucent	circular	convex	entire	Halus
	SSe6	putih	translucent	circular	raised	entire	Halus
	SAm7	krem	translucent	circular	flat	entire	Halus
	SAm8	putih	translucent	circular	umbonate	entire	Halus
	SPr3	krem	opaque	circular	convex	entire	Halus
	SSe7	krem	transparan	circular	flat	entire	Halus
	SSe8	krem	transparan	circular	flat	entire	Halus
	SPr4	putih	translucent	circular	convex	entire	Halus
	SSe9	putih	translucent	circular	umbonate	entire	Halus

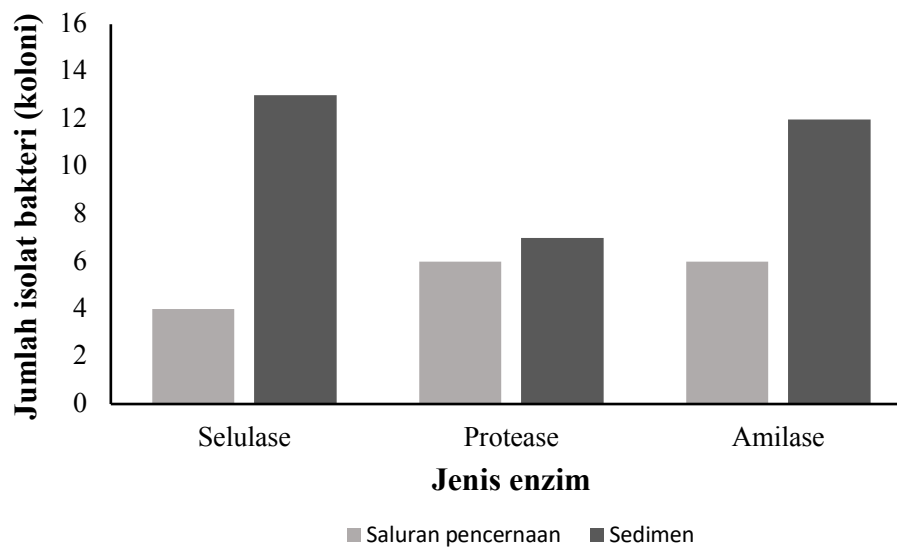
Sebagian besar perbedaan jumlah jenis bakteri yang ditemukan pada sedimen dan saluran pencernaan kemungkinan disebabkan oleh pemilihan makanan (*selective feeding*) (Gao *et al.*, 2014; Uthics and Karez, 1999; Amon and Herndl, 1991).

3.2. Seleksi Bakteri

3.2.1. Aktivitas Enzim Selulase, Protease, dan Amilase

Isolat bakteri ditanam pada media selektif *Skim Milk Agar*, *Starch Agar*, dan *CCRA* dimana reaksi positif akan ditunjukkan apabila bakteri memiliki enzim ekstraselular maka koloni bakteri akan menghasilkan zona inhibisi (*clear zone*) disekeliling koloni. Jumlah koloni bakteri yang mampu menghasilkan enzim ekstraselular ditampilkan pada Gambar 1.

Berdasarkan data yang ditunjukkan dapat diketahui bahwa jumlah isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim ekstraselular lebih banyak diperoleh di sedimen dibandingkan dalam saluran pencernaan teripang *H. atra*. Isolat bakteri selulolitik yang ditemukan dalam pencernaan teripang cukup rendah yaitu sebanyak 4 isolat sedangkan, bakteri yang ditemukan pada sedimen relatif tinggi yaitu sejumlah 13 isolat. Isolat bakteri yang memiliki aktivitas amilase dan protease jumlahnya sama masing-masing 6 isolat.



Gambar 1. Jumlah koloni bakteri yang memiliki aktivitas enzim ekstra selular.

Sebaliknya, hasil tersebut berbeda dengan yang ditemukan pada teripang pasir (*Holothuria scabra*) di mana bakteri yang ditemukan pada saluran pencernaan teripang pasir 73,3 % menghasilkan enzim protease dan 13,3% menghasilkan enzim amilase (Hatmanti dan Purwati, 2011). Pada sedimen, jumlah bakteri tertinggi ditemukan pada isolat yang menghasilkan aktivitas enzim selulase yaitu 13 isolat, selanjutnya isolat bakteri yang dapat menghasilkan enzim amilase sejumlah 12 isolat dan jumlah terendah adalah isolat bakteri penghasil enzim protease sebanyak 7 isolat. Hal ini, kemungkinan dipengaruhi oleh habitat teripang *H. atra* di perairan Medana yang didominasi oleh tumbuhan lamun dan pecahan karang mati, sehingga bakteri

pendegradasi selulosa ditemukan dalam jumlah lebih tinggi dibandingkan jenis lainnya. Bakteri penghasil enzim ekstra-selular juga terdapat dalam saluran pencernaan teripang merah *Holothuria leucospilota* dengan keanekaragaman jumlah jenis tertinggi diperoleh pada isolat bakteri yang mampu mendegradasi amilum (Zhang *et al.*, 2012).

3.2.2. Indeks *Hidrolisis Capacity*

Hasil pengujian *Hidrolisis Capacity Index* untuk mengukur tingkat kemampuan bakteri dalam menghidrolisis substrat melalui rasio zona bening yang dihasilkan selama tujuh hari pengamatan (Prasetya, 2010) (Tabel 2).

Tabel 2. Isolat bakteri penghasil enzim protease, selulase, dan amilase berdasarkan zona inhibisi yang dihasilkan.

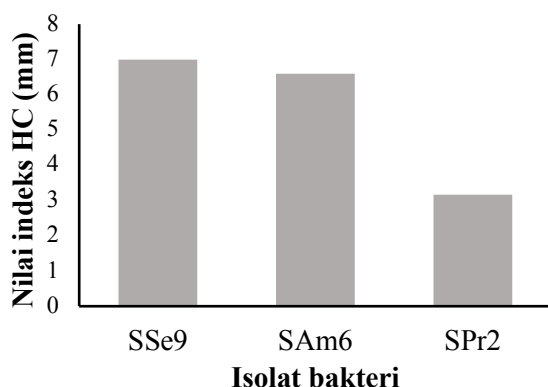
Jenis Enzim	Isolat	Diameter koloni (mm)	Diameter zona bening (mm)	Indeks HC (mm)
Selulase	GSe1	10	33	3,3
	SSe1	4	15	3,75
	SSe2	7	12	1,71
	SSe3	4	8	2
	SSe4	6	15	2,5
	SSe5	4	9	2,25

Jenis Enzim	Isolat	Diameter koloni (mm)	Diameter zona bening (mm)	Indeks HC (mm)
Amilase	SSe6	5	12	2,4
	SSe7	11	43	3,9
	SSe8	7	13	1,85
	GSe2	7	17	2,43
	GSe3	2	6	3
	SSe9	4	28	7
	SAM1	8	15	1,875
	GAm1	15	23	1,53
	GAm2	9	16	1,78
	GAm6	30	46	1,53
	SAM7	19	40	2,11
	SAM8	6	15	2,5
	SAM2	7	-	-
	SAM3	8	27	3,375
	GAm4	30	46	1,53
	GAm5	83	-	-
Protease	SAM4	15	41	2,73
	SAM5	56	79	1,41
	SAM6	5	33	6,6
	GPr1	22	34	1,54
	SPr1	15	22	1,46
	GPr2	29	47	1,62
	SPr2	12	38	3,16
	GPr2	2	-	-
	GPr3	2	-	-
	GPr4	42	62	1,47
GPr5	4	-	-	
SPr3	40	45	1,13	
SPr4	3	9	3	

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa nilai rasio tertinggi pertama ditemukan pada isolat bakteri SSe9 yaitu 7 mm kemudian 6,6 mm pada isolat SAM6. Rasio HC lebih dari 3 mm diperoleh sebanyak 7 isolat bakteri. Rasio HC tertinggi sebesar 7 mm ditemukan pada isolat bakteri dari sedimen yang mampu mendegradasi substrat selulosa. Kandungan serasah daun lamun dalam sedimen yang tinggi dapat menjadi penyebab banyaknya jenis bakteri penghasil enzim selulase yang hidup dan berfungsi sebagai dekomposer. Hal ini sesuai dengan Gambar 1 bahwa jenis bakteri selulolitik ditemukan dalam jumlah yang

paling tinggi pada sedimen. Selulosa merupakan polisakarida organik sebagai komponen utama penyusun dinding sel pada tumbuhan. Menurut Meryandini *et al.* (2009) setiap bakteri selulolitik menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda-beda, tergantung dari gen yang dimiliki dan sumber karbon yang digunakan.

Semua isolat tumbuh pada media CCRA yang mengandung CMC 1% sebagai komponen inducernya. Isolat bakteri dengan rasio HC tertinggi kedua (6,6 mm) (gambar 2) diperoleh dari isolat yang menghidrolisis substrat pati dengan enzim amilase dengan hasil akhir maltosa.



Gambar 2. Isolat bakteri yang memiliki nilai indeks HC tertinggi yang menghasilkan jenis enzim yang berbeda.

Amilum atau pati merupakan karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air dan sebagai bahan utama yang dihasilkan tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa. Sebaliknya, nilai HC tertinggi pada kelompok bakteri penghasil enzim protease hanya 3 mm merupakan yang terendah dibandingkan nilai HC dari kelompok bakteri penghasil enzim selulase dan amilase. Semua isolat bakteri yang menghasilkan HC tertinggi dari ketiga enzim yang diuji, ditemukan pada sampel sedimen (gambar 2). Dalam hal ini mungkin dapat disebabkan oleh tekstur sedimen yang mempengaruhi kelimpahan bakteri (Karbadehi *et al.*, 2017), di habitatnya *H. atra* ditemukan di daerah pesisir atau pasang surut yang ditumbuhi lamun dengan 15-25% pecahan karang mati, pasir kasar (0,7-1,2 mm), dan 2-3,5% kandungan organik (Dissanayake and Stefansson, 2012).

Kandidat bakteri probiotik yang diperoleh dari hasil penelitian dapat digunakan untuk uji lanjutan dengan diaplikasikan pada fase pemeliharaan induk teripang *H. atra* yang merupakan salah satu tahapan kegiatan budidaya.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini diperoleh dua isolat bakteri SSe9 dan SAm6 sebagai

kandidat probiotik yang mampu menghasilkan enzim ekstraselular, yaitu selulase dan amilase dengan rasio indeks *Hidrolisis Capacity* masing-masing yaitu 7 mm dan 6,6 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri berpotensi untuk dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi bakteri probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amon, R.M.W. and G.J. Herndl. 1991. Deposit feeding and sediment: I. Interrelationships between *Holothuria tubulosa* (*Holothuridae: Echinodermata*) and the sediment microbial community. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 12:63-174. <http://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1991.tb00250.x>
- Chi, C., J-Y. Liu, S-Z. Fei, C. Zhang, Y-Q. Chang, X-L. Liu, and G-X. Wang. 2014. Effect of intestinal autochthonous probiotics isolated from the gut of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) on immune response and growth of *A. japonicus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 38:367-373. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.04.001>
- Choo, P.S. 2008. Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in Asia. *In: Toral-Granda, V., A. Lovatelli and M. Vasconcellos (eds). Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 516. Rome, FAO. 81-118 pp.*
- Dakrory, A.I., S.R. Fahmy, A.M. Soliman, A.S. Mohamed, and S.A.M. Amer. 2014. Protective and curative effects of the sea cucumber *Holothuria atra* extract against DMBA-induced hepatorenal diseases in rats. *BioMed Research International*, 2015:1-11. <http://dx.doi.org/10.1155/563652>.
- Deming, J.W and R.R. Colwell. 1982. Barophilic bacteria associated with digestive tracts of abyssal

- holothurians. *Applied Enve. Microbiology*, 44(5):1222-1230.
- Dhinakaran, D.I. and A.P. Lipton. 2014. Pharmacological potentials of sea cucumber *Holothuria atra* extracts from the Indian Ocean. *Asian J. of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(35):36-43. <http://10.15272/ajbps.v4i35.537>.
- Dissanayake, D.C.T. and G. Stefansson. 2012. Habitat preference of sea cucumber: *Holothuria atra* and *Holothuria edulis* in the coastal water of Sri Lanka. *J. of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 92(3):581-590. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315411000051>
- Gao, F., F. Li, J. Tan, J. Yan, and H. Sun. 2014. Bacterial community composition in the gut content and ambient of sea cucumber *Apostichopus japonicus* revealed by 16S rRNA gene pyrosequencing. *PLoS ONE* 9(6):e100092. <http://10.1371/journal.pone.0100092>
- Hatmanti, A. dan P. Purwati. 2011. Bacteria associated holothurians: the key of habitat preference, diet, and functions. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 3(1):73-81. <http://dx.doi.org/10.29244/jitkt.v3ij.7836>.
- Hapsari, T., W. Tjahjaningsih, M.A. Alamsjah dan H. Pramono. 2016. Aktivitas enzimatik bakteri proteolitik asal gastrointestinal udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Pena Akuatik*, 16(1):22-37. <http://dx.doi.org/10.31941/penaakuatik.v16i1.522>.
- Gupta, P., K. Samant, A. Sahu. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International J. of Microbiology*. 2012:1-5. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/578925>.
- Karbasdehi, V.N., S. Dobaradaran, I. Nabipour, A. Ostovar, H. Arfaenia, A. Vazirizadeh, R. Mirahmadi, M. Keshtkar, F.F. Ghasemi, and F. Khalifei. 2017. Indicator bacteria community in seawater and coastal sediment: the Persian Gulf as a case. *J. of Environmental Health Science and Engineering*, 15(6):1-15. <http://dx.doi.org/10.1186/s40201-017-0266-2>.
- Kinch, J., S. Purcell, S. Uthicke, and K. Friedman. 2008. Population status, fisheries and trade of sea cucumbers in the Western Central Pacific. *In: Toral-Granda, V., A. Lovatelli and M. Vasconcellos (eds) Sea cucumbers. A global review of fisheries and trade. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 516. Rome, FAO. 7-55pp.*
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T.C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi bakteri selulolitik dan karakterisasi enzimnya. *Makara Sains*, 13(1):33-38. <https://doi.org/10.7454/mss.v13i1.369>.
- Newal-Fyzul, A., A.H. Al-Harbi, and B. Austin. 2014. Developments in the use of probiotics for diseases control in aquaculture. *Aquaculture*, 431:1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.08.026>.
- Oktaviani, D., Y. Mulyani, dan E. Rochima. 2015. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak jeroan teripang *Holothuria atra* dari pantai Pulau Biawak. *J. Perikanan Kelautan*, 2 (1): 1-6.
- Pandiyan, P., D. Balaraman, R. Thirunavukkarasu, E.G.J. George, K. Subaramanian, S. Manikkan, and B. Sadayappan. 2013. Probiotic in aquaculture. *Drug Inventory Today*, 5:55-59. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dit.2013.03.003>.
- Purwati, P., S.A.P. Dwiono, L.F. Indriana, and V. Fahmi. 2009. Shifting the natural fission of *Holothuria atra* (Aspidochirotida, Holothuroidea,

- Echinodermata). *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, 29: 16-18.
- Putra, A.N. dan D. Hermawan. 2014. Seleksi Bakteri Probiotik Amilolitik pada Saluran Pencernaan Ikan Gurame (*Ospbronemus gauramy*). *J. Ilmu Pertanian dan Perikanan*, 3 (1):37-45.
- Triyanto, T.A. Isnansetyo, I.D. Prijambada, dan J. Widada. 2009. Isolasi, karakterisasi dan uji infeksi bakteri proteolitik dari kawasan hutan bakau. *J. Perikanan*, 11 (1): 13-18. <https://doi.org/10.22146/jfs.2966>.
- Uthicke, S. and R. Karez. 1999. Sediment patch selectivity in tropical sea cucumbers (Holothuridae: Aspidochirotida) analysed with multiple choice experiments. *J. Experimental Marine Biology and Ecology*, 236:69-87. [https://doi.org/10.1016/S0022-1981\(98\)00190-7](https://doi.org/10.1016/S0022-1981(98)00190-7).
- Ward-Rainey, N., F.A. Rainey, and E. Stackebrandt. 1996. A study of the bacterial flora associated with *Holothuria atra*. *J. of Experimental Marine Biology and Ecology*, 203: 11-26. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(96\)02566-x](https://doi.org/10.1016/0022-0981(96)02566-x).
- Zhang, X., T. Nakahara, M. Miyazaki, Y. Nogi, S. Taniyama, O. Arakawa, T. Inoue, and T. Kudo. 2012. Diversity and function of aerobic culturable bacteria in the intestine of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*. *The J. of General and Applied Microbiology*, 58: 447-456. <https://doi.org/10.2323/jgam.58.447>.

Received : 19 July 2018
Reviewed : 06 March 2019
Accepted : 04 July 2019