

Seleksi bakteri probiotik dari terumbu karang dan lingkungan budidaya ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Selection of probiotic bacteria from the coral reef and tiger grouper fish (*Epinephelus fuscoguttatus*) farming environment

Ilmiah^{*1,2}, Sukenda³, Widanarni³, Enang Harris³

¹ Program Doktor Ilmu Akuakultur, Pascasarjana Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

² Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Muslim Indonesia
Jl. Kakatua No. 27 Makassar 90121

³ Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga Bogor 16680

*email: ilmikuruseng@gmail.com

ABSTRACT

The use of probiotic bacteria is one of the methods in aquaculture to control infectious diseases. This study aims to obtain candidates probiotic bacteria from the coral reef and tiger grouper aquaculture environment (*Epinephelus fuscoguttatus*). Steps of the study included of: 1) isolation of candidates probiotic bacteria, 2) selection of candidates probiotic bacteria: inhibition test and co-culture methods, 3) enzymatic test, 4) the growth of bacteria test 5) pathogenicity test and 6) the molecular identification of probiotic bacteria. The results showed that of 124 isolates in test zone of inhibition, the four isolates with the widest zone of inhibition of isolate K7, K8, K21, and T4, a total of 51 isolates on co-culture methods, the four isolates were able to suppress the growth of pathogenic *Vibrio* bacteria, isolates K15, K68, K55, and T36. The results of hydrolyzing the highest protease amylase and lipase enzyme, respectively isolates K15 and T36; isolates T41 and K8; isolates K55 and K68. Candidates probiotic bacteria reached the exponential phase at 16–18 h. The results of pathogenicity test isolate K7, K8, T36, and T41 provided the highest survival that can be used as candidates probiotics in the tiger grouper.

Keywords: selection, probiotics, tiger grouper

ABSTRAK

Penggunaan bakteri probiotik merupakan salah satu metode dalam akuakultur untuk pengendalian penyakit infeksi. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri kandidat probiotik dari terumbu karang dan lingkungan budidaya ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Tahap penelitian meliputi: 1) isolasi bakteri kandidat probiotik, 2) seleksi bakteri kandidat probiotik: dengan metode zona hambat dan kultur bersama 3) uji enzimatik, 4) uji pertumbuhan bakteri 5) uji patogenisitas dan 6) identifikasi bakteri probiotik secara molekuler. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 124 isolat pada uji zona hambat, empat isolat dengan zona penghambatan terluas yaitu isolat K7, K8, K21, dan T4, sebanyak 51 isolat pada metode kultur bersama, empat isolat mampu menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen yaitu isolat K15, K68, K55, dan T36. Hasil hidrolisis tertinggi enzim protease amilase dan lipase berturut-turut adalah isolat K15 dan T36; isolat T41 dan K8; isolat K55 dan K68. Kandidat bakteri probiotik mencapai fase eksponensial pada jam ke 16–18. Hasil uji patogenisitas isolat K7, K8, T36, dan T41 memberikan kelangsungan hidup tertinggi yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik pada kerapu macan,

Kata kunci: seleksi, probiotik, kerapu macan

PENDAHULUAN

Ikan kerapu merupakan salah satu komoditas unggulan perikanan Indonesia yang ditargetkan mengalami peningkatan produksi sebesar 30,51% per tahun (KKP, 2010). Nilai ekspor ikan kerapu menurut data

BPS pada tahun 2009 mencapai USD 50,7 juta dan mengalami peningkatan menjadi USD 100 juta pada akhir 2010. Tingginya nilai jual dan permintaan terhadap ikan kerapu hidup dari berbagai negara pengimpor kerapu seperti Singapura, Jepang, Hongkong, Taiwan, Malaysia, dan Amerika telah

mendorong terjadinya peningkatan produksi di berbagai negara produsen kerapu khususnya di Indonesia.

Peningkatan produksi kerapu secara intensif telah mendorong peningkatan serangan penyakit. Vibriosis merupakan salah satu penyakit bakterial yang menyerang hampir semua jenis ikan laut yang dibudidayakan (Plumb, 1994). Serangan vibriosis akibat infeksi bakteri *Vibrio* telah mengakibatkan kematian ikan hingga lebih dari 80% pada budidaya jaring apung (Yuasa *et al.* 2000). Pada ikan kerapu macan, vibriosis disebabkan oleh infeksi bakteri *Vibrio natrigens*, *V. olivaceus*, *V. domsela*, *V. alginolyticus*, dan *V. harveyi* (Sarjito *et al.*, 2009).

Pengendalian penyakit vibriosis biasanya dilakukan dengan menggunakan antibiotik, namun penggunaan antibiotik dapat mengganggu keseimbangan ekologis mikroba dan dapat menyebabkan munculnya patogen resisten antibiotik. Probiotik merupakan salah satu alternatif yang dapat diaplikasikan untuk mengatasi serangan penyakit vibriosis, karena probiotik tidak terakumulasi dalam tubuh ikan dan tidak menyebabkan sifat resistensi pada organisme patogen (Gou *et al.*, 2009), dapat memproduksi senyawa antimikroba, (Farzanfar, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri kandidat probiotik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen serta meningkatkan kelangsungan hidup ikan kerapu. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk pengendalian penyakit vibriosis sehingga dapat mendukung pengembangan budidaya ikan kerapu macan.

BAHAN DAN METODE

Isolasi bakteri kandidat probiotik

Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari terumbu karang di perairan Pulau Bone Tambung Makassar dan lingkungan budidaya ikan kerapu yaitu pembenihan ikan kerapu macan di Balai Budidaya Air Payau Takalar dan dari pembesaran kerapu di karamba jaring apung (KJA) di Desa Lawallu, Kabupaten Barru.

Sampel berupa larva, pakan alami dan air media pemeliharaan, diambil menggunakan botol steril, sedangkan sampel ikan dan terumbu karang dimasukkan dalam plastik steril yang ditempatkan dalam *cool box* yang berisi es batu. Larva, usus, dan terumbu karang ditimbang sebanyak 1 g lalu digerus menggunakan mortar dan ditambahkan 9 mL larutan fisiologis steril kemudian dilakukan pengenceran bertingkat. Sebanyak 1000 μL hasil pengenceran sampel, disebar pada media agar *sea water complete* (SWC) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diidentifikasi secara morfologis berdasarkan bentuk, warna, elevasi, dan ukuran koloni (Austin, 1993; Hadioetomo, 1990).

Seleksi bakteri kandidat probiotik

Metode zona hambat

Bakteri *Vibrio* patogen yang digunakan untuk menyeleksi bakteri kandidat probiotik adalah isolat bakteri V6 yang telah diidentifikasi sebagai *V. parahaemolyticus*, dan bakteri kandidat probiotik berumur 24 jam diencerkan hingga memiliki tingkat kekeruhan yang sama dengan konsentrasi biakan dalam suspensi yaitu 10^6 CFU/mL. *Vibrio* patogen isolat V6 disebar pada media SWC sebanyak 100 μL . Kertas cakram (*Whatman antibiotic assay paper*) berdiameter 5 mm diletakkan diatas suspensi bakteri kandidat probiotik sebanyak 6 μL , sebagai kontrol digunakan larutan fisiologis. Media tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, diameter zona bening yang dihasilkan diukur dengan menggunakan mikrometer.

Metode kultur bersama

Isolat-isolat yang tidak menghasilkan zona hambat atau zona hambatnya kecil, diuji kemampuannya melawan *Vibrio* patogen V6 dengan metode kultur bersama. Bakteri kandidat probiotik ditumbuhkan pada media SWC cair dengan kepadatan 10^2 CFU/mL. Pada tabung yang sama ditambahkan 10^2 CFU/mL *Vibrio* patogen V6 kemudian diinkubasi semalam pada inkubator bergoyang pada suhu ruang. Selanjutnya kultur disebar pada media *Thiosulphate*

Citrate Bile-Salt Sucrose yang telah ditambahkan rifampisin 50 µg/mL (TCBS+Rf^R). Apabila *Vibrio* patogen V6 pada tabung kontrol (tanpa bakteri kandidat probiotik) tumbuh jauh lebih banyak dibandingkan dengan kultur campuran (bakteri *Vibrio* patogen V6 dicampur dengan bakteri kandidat probiotik), berarti bakteri kandidat probiotik mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio* V6.

Uji aktivitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik

Uji aktivitas proteolitik dilakukan dengan menginokulasi bakteri kandidat probiotik pada media SWC yang telah dicampur skim milk 2% dan diinkubasi selama 24–48 jam. Diameter daerah jernih diukur sebagai hasil hidrolisis. Uji aktivitas amilolitik dilakukan dengan menginokulasi bakteri kandidat probiotik pada media SWC yang ditambahkan amilum 2% dan diinkubasi 24–48 jam, selanjutnya dituangkan reagen kalium yodida (KI) pada permukaan media dan diameter daerah jernih diukur sebagai hasil hidrolisis. Uji aktivitas lipolitik dilakukan dengan menginokulasi bakteri kandidat probiotik pada media SWC yang ditambahkan minyak zaitun 2%, diinkubasi selama 24–48 jam, kemudian dituangkan kopper sulfat (CuSO₄) jenuh pada permukaan media. Hasil hidrolisis ditunjukkan dengan daerah berwarna hijau mengkilat disekitar koloni.

Isolat bakteri kandidat probiotik yang menghasilkan zona hambat terbesar dan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen pada kultur bersama diuji aktivitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik. Aktivitas protease ditandai dengan zona bening di sekeliling isolat yang ditumbuhkan pada media agar, sedangkan isolat yang tidak mampu menghidrolisis protein tidak terbentuk zona bening di sekitar isolat. Aktivitas amilase ditandai dengan warna kuning cerah disekeliling isolat, sedangkan isolat yang tidak mampu menghidrolisis karbohidrat berwarna gelap. Sedangkan aktivitas lipase ditandai dengan adanya warna hijau terang pada isolat yang ditumbuhkan.

Uji pertumbuhan bakteri

Isolat terbaik pada uji zona hambat dan kultur bersama yang akan digunakan pada uji patogenisitas dilakukan uji kinetik pertumbuhannya untuk mengetahui fase eksponensialnya. Persiapan kultur dilakukan dengan menginokulasikan 0,1 mL suspensi bakteri dikultur ke dalam 10 mL media SWC cair dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator bergoyang bersuhu 29 °C. Sediaan ini kemudian diambil 1 mL dan diinokulasikan ke dalam media SWC steril 100 mL dan diinkubasi kembali pada suhu 29 °C. Pertumbuhan bakteri diamati setiap dua jam dengan mengkonversi nilai kerapatan atau *optical density* (OD) yang terukur dari alat spektrofotometer pada kurva standarnya (Hadioetomo, 1993).

Uji patogenisitas bakteri

Isolat terbaik pada uji metode zona hambat dan metode kultur bersama diuji patogenisitasnya pada juvenil ikan kerapu macan, juvenil dengan bobot rerata 15,00±0,08 g dan panjang 10,00±0,29 cm. Masing-masing isolat bakteri kandidat probiotik dikultur terpisah ke dalam media SWC cair dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang pada inkubator bergoyang. Pemanenan dilakukan berdasarkan pada fase eksponensialnya dan bakteri yang didapatkan diresuspensikan ke dalam larutan *phosphate buffer saline* (PBS). Juvenil ikan kerapu diinjeksi secara intramuskular dengan bakteri kandidat probiotik dengan kepadatan 10⁶ CFU/ekor, sedangkan ikan kontrol diinjeksi dengan PBS. Selanjutnya ikan dipelihara dalam akuarium yang berisi air 50 L air laut steril dengan kepadatan sepuluh ekor/akuarium dengan tiga ulangan. Ikan dipelihara selama satu minggu, pemberian pakan dilakukan tiga kali sehari, pergantian air dilakukan dua kali sehari. Patogenisitas kandidat probiotik diamati melalui kematian ikan, pada akhir pengamatan dihitung tingkat kelangsungan hidup juvenil ikan kerapu macan.

HASIL

Isolat bakteri probiotik

Bakteri kandidat probiotik yang diisolasi

dari perairan Bone Tambung terdiri dari empat jenis terumbu karang karang yaitu *Acrophora* sp., *Hystrix* sp., *Poecillophora* sp., dan *Haliophora* sp. berjumlah 83 isolat. Sebanyak 32 isolat berasal dari *Acrophora* sp., 20 isolat dari *Hystrix* sp., 15 isolat dari *Poecillophora* sp., dan 16 isolat dari *Haliophora* sp. Identifikasi terumbu karang berdasarkan Veron (1986). Kandidat probiotik yang disolasi dari Balai Budidaya Air Payau Takalar sebanyak 20 isolat terdiri dari lima isolat dari bak induk, lima isolat dari bak larva, empat isolat dari larva, tiga isolat dari *Chlorella*, tiga isolat dari pendederan. Sedangkan dari pembesaran ikan kerapu di KJA Barru sebanyak 21 isolat terdiri dari delapan isolat dari saluran pencernaan ikan kerapu, 13 isolat dari media pemeliharaan KJA.

Penampilan koloni isolat kandidat probiotik pada media SWC agar bervariasi, warna koloni terdiri dari krem, putih, putih susu, putih transparan, putih kekuningan dan kuning. Ukuran dan bentuk koloninya juga bermacam-macam ada yang bundar kecil, bundar sedang, bundar besar, dan tidak beraturan dan menyebar. Tepian koloni ada yang licin dan berlekuk. Elevasi koloninya cembung, datar, dan seperti tetesan.

Seleksi bakteri probiotik

Bakteri kandidat probiotik yang memiliki kemampuan menghambat bakteri patogen *Vibrio* V6 menghasilkan zona bening disekitar kertas cakram. Sebanyak 80 isolat dari 124 isolat yang mampu menghasilkan zona hambat berkisar antara 7,0–16,8 mm, 20 isolat yang menghasilkan zona terluas disajikan pada Tabel 1. Ada 4 isolat yang

menghasilkan zona hambat terluas yaitu isolat K7 dan K8 (dari *Acrophora* sp.), K21 (dari *Hystrix* sp.) dan T41 (dari media pembesaran ikan kerapu).

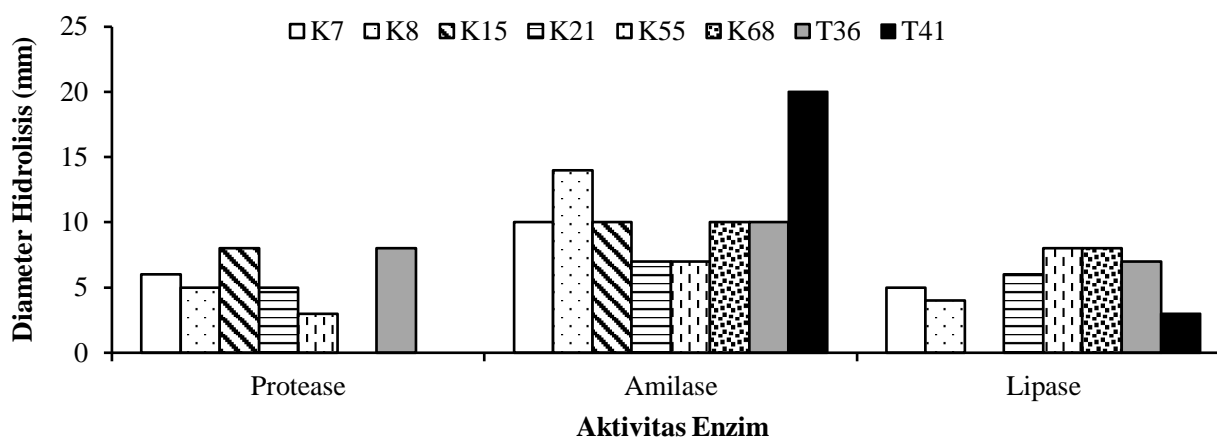
Hasil uji penghambatan secara *in vitro* dari 51 isolat bakteri kandidat probiotik yang dilakukan kultur bersama terhadap bakteri *Vibrio* patogen isolat V6 disajikan pada Tabel 2. Uji *in vitro* bakteri kandidat probiotik dengan metode kultur bersama dilakukan dengan membandingkan jumlah koloni bakteri *Vibrio* patogen isolat V6 yang tumbuh pada tabung kontrol dengan kultur campurannya. Ada empat isolat yang mampu menekan pertumbuhan *Vibrio* patogen V6 yaitu isolat K15 (dari *Acrophora* sp.), K55 (dari *Haliophora* sp.), K68 (dari *Poecillophora* sp.) dan T36 (dari saluran pencernaan ikan kerapu).

Aktivitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik

Hasil uji aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik bakteri kandidat probiotik disajikan pada Gambar 1. Aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling koloni isolat, hasil pengukuran diameter hidrolisis protease didapatkan dua isolat dengan diameter tertinggi sebesar 8 mm yaitu K15 dan T36. Aktivitas amilolitik ditandai warna kuning bening di daerah isolat yang ditumbuhkan, isolat yang mampu menghidrolisis amilase tertinggi yaitu T41 dengan diameter 20 mm dan K8 dengan diameter 14 mm. Aktivitas lipolitik ditunjukkan dengan adanya warna hijau di sekeliling koloni, isolat yang mampu menghidrolisis lipase paling tinggi yaitu isolat K55 dan K68 dengan diameter 8 mm.

Tabel 1. Zona hambat (mm) yang dihasilkan oleh bakteri kandidat probiotik terhadap *Vibrio* patogen isolat V6

No.	Kode isolat	Diameter (mm)	No.	Kode isolat	Diameter (mm)
1	K5	9,4	11	K60	9,9
2	K6	10,5	12	K70	10,0
3	K7	15,5	13	K72	9,3
4	K8	16,8	14	T28	9,4
5	K10	9,2	15	T41	11,0
6	K16	9,2	16	T44	9,4
7	K21	12,6	17	T49	9,4
8	K22	10,1	18	T50	9,4
9	K24	9,1	19	T51	9,8
10	K51	9,1	20	T56	9,8



Gambar 1. Diameter hidrolisis (mm) enzim proteolitik, amilolitik, dan lipolitik isolat yang berasal dari *Achropora* sp. (K7, K8, dan K15), *Hystrix* sp. (K21), *Haliophora* sp. (K55), *Poecillophora* sp. (K68), saluran pencernaan ikan kerapu (*Epinephelus fuscoguttatus*) (T36), dan media pembesaran ikan kerapu (*E. fuscoguttatus*) (T41).

Pertumbuhan bakteri probiotik

Kurva pertumbuhan kedelapan isolat bakteri kandidat probiotik yang patogen disajikan pada Gambar 2. Kurva pertumbuhan selama 24 jam periode pengamatan memperlihatkan pola pertumbuhan yang hampir sama diantara isolat. Fase eksponensial terjadi antara jam kesepuluh hingga jam ke-16 untuk ketiga isolat pada media SWC cair, dan selanjutnya mengalami penurunan secara gradual hingga pada jam ke-24.

Patogenisitas bakteri kandidat probiotik

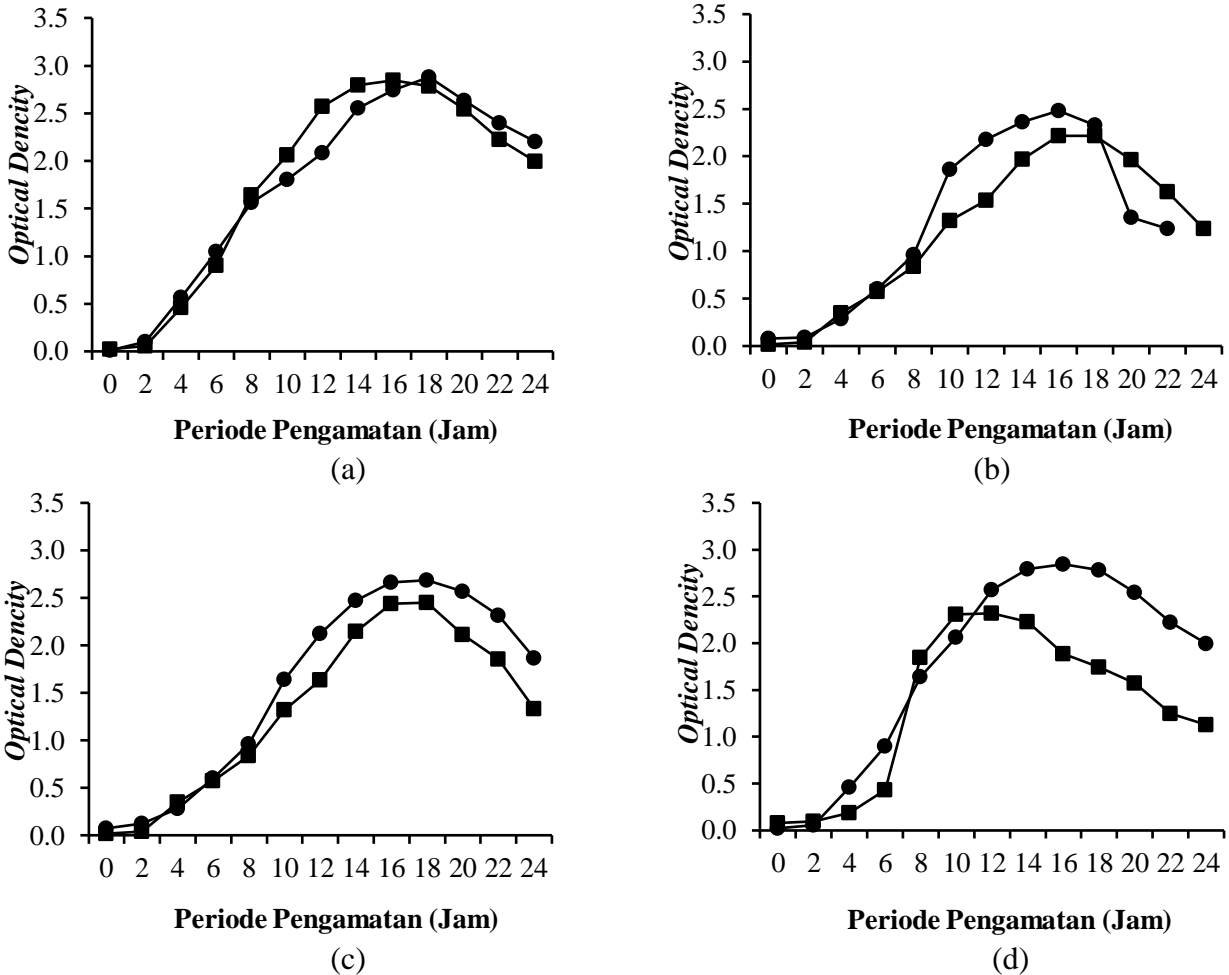
Kelangsungan hidup juvenil ikan kerapu macan pada uji patogenisitas isolat bakteri kandidat probiotik disajikan pada Gambar 3. Beberapa isolat bakteri kandidat probiotik bersifat patogen, terlihat dengan tingkat kelangsungan hidup yang berbeda dengan kontrol ($p < 0,05$). Isolat K15 dan K55 dengan kelangsungan hidup terendah yaitu 53,33%, kemudian isolat K68 sebesar 73,33%, isolat K21 sebesar 80,00%, isolat K7, K8, dan T41 sebesar 86,67%, dan tertinggi isolat T36 dan kontrol sebesar 93,33%.

PEMBAHASAN

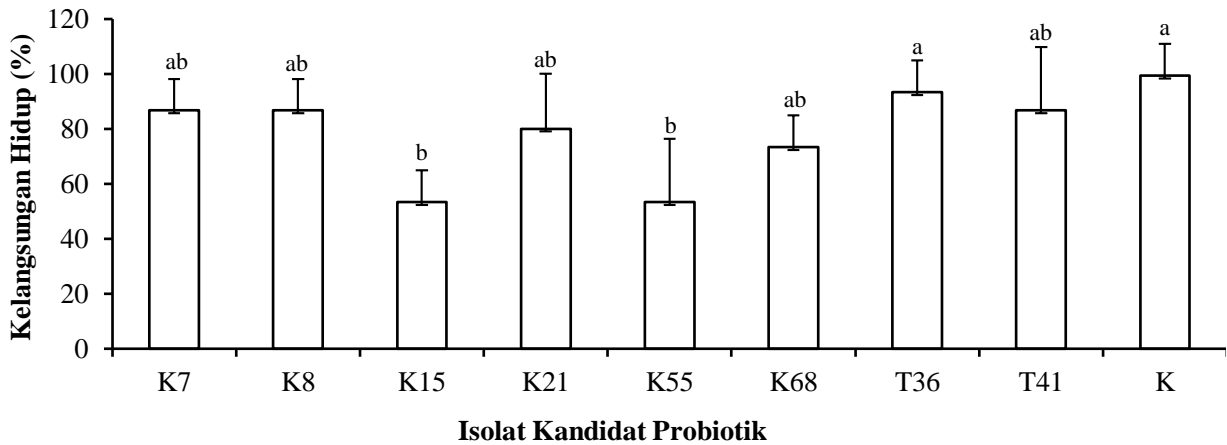
Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari terumbu karang yang merupakan habitat alami ikan kerapu macan dan lingkungan budidaya ikan kerapu macan diperoleh 124 isolat. Zona bening yang terdapat disekitar kertas cakram menunjukkan bahwa senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri

kandidat probiotik mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* patogen isolat V6. Kepekaan bakteri *Vibrio* patogen V6 terhadap antimikroba ditunjukkan oleh luasnya zona bening sekitar pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen isolat V6, selain itu berkaitan dengan kecepatan berdifusi bahan antimikroba dalam media (Lay, 1994). Populasi mikroba dapat melepaskan substansi kimia yang mempunyai kemampuan bakterisidal atau bakteristatis yang dapat memengaruhi populasi mikroba lain. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain dikarenakan satu atau kombinasi dari beberapa faktor seperti: produksi antibiotik, bakteriosin, siderophores, lisosim, protease, dan atau hidrogen peroksida atau memengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu (Verschuere *et al.*, 2000).

Hasil seleksi dengan metode zona hambat 80 isolat yang mampu menghasilkan zona hambat yang berkisar antara 7,0–16,8 mm. Radjasa *et al.* (2004) mengisolasi TAB 4.2 dari *Acropora* sp. yang menghasilkan zona bening 11,75 mm ketika diuji *in vitro* dengan *V. harveyi*. TAB 4.2 diidentifikasi sebagai bakteri *Pseudoalteromonas* yang menghasilkan metabolit sekunder berupa polipeptida. Fjellheim *et al.* (2010) mendapatkan 21 isolat bakteri yang diisolasi dari larva ikan cod yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *V. Anguillarum*. Bjornsdottir *et al.* (2010) mendapatkan 13 isolat bakteri yang diisolasi dari *Atlantic halibut* (*Hippoglossus hippoglossus* L) yang



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri dari kandidat isolat probiotik yang berasal dari berbagai macam media. 2a. *Achropora* sp. (K7 [—●—], K8 [—■—]); 2b: *Achropora* sp. (K15 [—●—], *Hystrix* sp. (K21 [—■—]); 2c. *Haliophora* sp. (K55 [—●—]), *Poecillophora* sp. (K68 [—■—]); 2d: saluran pencernaan ikan kerapu (T36 [—●—]), dan media pembesaran ikan kerapu (*Epinephelus fuscoguttatus*) (T41 [—■—]).



Gambar 3. Kelangsungan hidup juvenil ikan kerapu macan pada uji patogenisitas isolat bakteri kandidat probiotik yang berasal dari *Achropora* sp. (K7, K8, dan K15), *Hystrix* sp. (K21), *Haliophora* sp. (K55), *Poecillophora* sp. (K68), saluran pencernaan ikan kerapu (T36), dan media pembesaran ikan kerapu (*Epinephelus fuscoguttatus*) (T41).

mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *V. anguillarum* dan *Aeromonassalmonicida*. Bourouni et al. (2007) mendapatkan 11 isolat dari 168 isolat yang aktif terhadap *Vibrio* sp.

Penghambatan pertumbuhan bakteri tidak selalu berkaitan dengan produksi senyawa antimikroba, tetapi dapat juga terjadi karena adanya kompetisi terhadap bahan kimia atau

energi yang tersedia. Hal ini dapat menggambarkan bagaimana populasi bakteri yang berbeda menempati ekosistem yang sama (Verschuere *et al.*, 2000).

Hasil penelitian diperoleh empat dari 51 isolat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen isolat V6 hingga 10^4 CFU/mL. sedangkan pada tabung kontrol populasi bakteri *Vibrio* patogen mencapai 4×10^8 CFU/mL. Hasil yang didapat lebih tinggi dari hasil penelitian yang diperoleh Riquelme *et al.* (1997) bahwa dari 57 isolat bakteri yang diisolasi dari air laut, tiga diantaranya (5%) potensial menghambat pertumbuhan *V. anguillarum*. Isolat SV1, yang tidak memperlihatkan adanya zona penghambatan pada uji *in vitro* ternyata dapat meningkatkan kelangsungan hidup kerang-kerangan pada uji *in vivo*.

Isolat-isolat lainnya juga mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* patogen isolat V6, meskipun dengan daya hambat yang berbeda-beda (Tabel 2). Hal ini terlihat dari jumlah koloni bakteri *Vibrio* patogen V6 yang tumbuh pada biakan yang dicampur dengan bakteri kandidat probiotik lebih rendah dibanding dengan tabung kontrol (isolat V6). Hal ini menunjukkan bahwa ke 51 isolat yang ada, sebenarnya potensial menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* patogen V6. Hasil uji aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona bening di

sekeliling koloni isolat, aktivitas amilolitik ditandai zona kuning bening di daerah isolat yang ditumbuhkan dan aktivitas lipolitik ditunjukkan dengan adanya warna hijau di sekeliling koloni isolat. Bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu menghasilkan eksoenzim protease yang merombak protein menjadi asam amino. Bakteri proteolitik akan memanfaatkan asam amino sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri lipolitik adalah bakteri yang mampu menghasilkan eksoenzim lipase yang akan mencerna trigliserida dan menghasilkan asam lemak berantai panjang dan gliserol yang dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan gliserol. Bakteri amilolitik adalah bakteri yang menghasilkan eksoenzim amilase yang akan mendegradasi zat pati menjadi maltosa dan glukosa, yang digunakan sebagai sumber karbon dan energi (Atlas *et al.*, 1984; Lay 1994).

Keberadaan bakteri probiotik dalam saluran pencernaan bermanfaat dalam meningkatkan absorpsi pakan, dan aktivitas enzim pencernaan. Peranan probiotik terhadap absorpsi pakan serta aktivitas enzim pencernaan telah direview oleh Balca'zar *et al.* (2006) dan Vine *et al.* (2006). Hasil penelitian Geovanny & Shen (2008) menunjukkan adanya peningkatan yang nyata pada aktivitas enzim proteolitik pada udang yang diberi perlakuan probiotik

Tabel 2. Populasi bakteri *Vibrio* patogen V6 Rf^R pada kultur bersama dengan bakteri kandidat probiotik (log CFU/mL)

No.	Kode isolat	Populasi bakteri	No.	Kode isolat	Populasi bakteri	No.	Kode isolat	Populasi bakteri
1	V6 Rf ^R	8,49	19	K39	6,74	37	K66	7,69
2	K12	6,90	20	K40	7,50	38	K67	9,11
3	K13	7,13	21	K41	7,46	39	K68	4,60
4	K15	6,20	22	K43	7,19	40	K71	7,19
5	K18	7,09	23	K44	7,89	41	K78	7,88
6	K19	7,45	24	K45	6,98	42	K79	8,76
7	K23	7,19	25	K46	8,30	43	K81	7,71
8	K25	6,88	26	K47	7,70	44	K83	7,46
9	K26	8,76	27	K53	6,90	45	T13	6,98
10	K27	7,76	28	K55	5,04	46	T34	7,08
11	K29	6,78	29	K56	6,90	47	T35	7,60
12	K30	8,07	30	K57	7,88	48	T36	5,69
13	K31	7,46	31	K58	8,80	49	T54	7,28
14	K32	7,08	32	K61	8,61	50	T55	7,19
15	K33	6,98	33	K62	6,90	51	T57	7,99
16	K35	7,99	34	K63	8,45	52	T59	7,89
17	K37	8,08	35	K64	7,13			
18	K38	8,69	36	K65	7,47			

dibandingkan kontrol. Penelitian yang sama mengenai pengaruh pemberian probiotik terhadap aktivitas enzim pencernaan juga dilakukan oleh Ziaei-Nejad *et al.* (2006), menetapkan kemampuan untuk mencerna protein sebagai salah satu kriteria seleksi probiotik.

Melalui hasil penelitian ini tidak terlihat adanya perbedaan yang jelas pada pola pertumbuhan bakteri kandidat probiotik dalam media SWC cair kecuali pada isolat T41, namun ada perbedaan pada uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik isolate K15 dan K55 menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah dibandingkan dengan bakteri kandidat probiotik lainnya yaitu hanya 53,33%. Kemudian isolat K68 sebesar 73,33%, isolat K21 sebesar 80,00%, isolat K7, K8 dan T41 sebesar 86,67% dan tertinggi isolat T36 dan kontrol sebesar 93,33%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa bakteri probiotik yang diberikan tidak menyebabkan ikan sakit atau tidak patogen baik dalam kondisi normal maupun stres pada inang sehingga bakteri probiotik tersebut dapat digunakan (Verschuere *et al.*, 2000). Hasil penelitian Aly *et al.* (2008), yaitu *Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus acidophilus* yang diinjeksi intraperitoneal (IP) tidak berbahaya dan tidak menimbulkan kematian pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Tingkat patogenisitas bakteri terhadap inang berbeda-beda, tergantung faktor pertahanan inang dalam melawan patogen, maupun kemampuan patogen memproduksi toksin, enzim dalam mengatasi ketahanan inang serta kecepatan berkembang biak (Pelczar & Chan 1986).

KESIMPULAN

Sebanyak 124 isolat bakteri kandidat probiotik yang diperoleh, seleksi dengan metode zona hambat dan kultur bersama masing-masing diperoleh empat isolat potensial yaitu isolat K7, K8, K21, T41, dan isolat K15, K55, K68, T36. Aktivitas enzim protease, amilase dan lipase tertinggi yaitu K15 dan T36; K8 dan T41; K55 dan K68. Hasil uji patogenisitas empat isolat yang mempunyai kelangsungan hidup tinggi yaitu

isolat K7, K8, T36, dan T41.

DAFTAR PUSTAKA

- Aly SM, Abd El-Rahman AM, John G, Mohamed MF. 2008. Characterization of some bacteria isolated from *Oreochromis niloticus* and their potential use as probiotics. *Aquaculture* 277:1–6.
- Atlas RM, Brown AE, Dobra KW, Miller L. 1984. *Experimental Microbiology Fundamental and Application*. New York, USA: Macmillan Publishing Company.
- Austin B 1993. *Methods in Aquatic Bacteriology*. New York, USA: John Willey and Sons Chichester.
- Balca'zar JL, deBlas I, Ruiz-Zarzuola I, Cunningham D, Vendrell D, Mu'zquiz J L. 2006. The role of probiotics in aquaculture: review. *Veterinary Microbiology* 114: 173–186.
- Bjornsdottir REG, Karadottir, Johannsdottir J, Thorarinsdottir EE, Smaradottir H, Sigurgisladottir S, Gudmundsdottir BK. 2010. Selection of bacteria and the effects of bacterial treatment of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) eggs and larvae. *Aquaculture* 302: 219–227.
- Bourouni OC, El Bour M, Mrauna R, Abdennaceur H, Boudabous A. 2007. Preliminary selection study of potential probiotic bacteria from aquacultural area in Tunisia. *Annals of Microbiology* 57: 185–190.
- Farzanfar, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture: mini review. *FEMS. Immunol. Med. Microbiol.* 48: 149–158.
- Fjellheim AJ, Klinkenberg G, Skjermo J, Aasen IM, Vadstein O. 2010. Selection of candidate probiotics by two different screening strategies from Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) larvae. *Veterinary Microbiology* 144: 153–159.
- Geovanny DGR, Shen MA. 2008. Influence of probiotics on the growth and digestive enzyme activity of white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *J. Ocean Univ. Chin.* 7: 215–218.
- Guo JJ, Liu KF, Cheng SH, Chang C, Lay JJ, Hsu YO, Yang JY, Chen TY. 2009. Selection of probiotic bacteria for use in shrimp larvae culture. *Aquaculture*

- Research 40: 609–618.
- Hadioetomo RS. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur dalam Laboratorium. Jakarta: Gramedia.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2010. Rencana Strategi Kementerian Perikanan dan Kelautan 2010–2014. <http://kkp.go.id>. [12 Februari 2011]
- Lay BW. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi. Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL (penerjemah) Jakarta: UI-Press.
- Plumb JA. 1994. Health Maintenance of Culturen Fishes, Principal Microbial Diseases. Florida, USA: CRC Press.
- Radjasa OK, Martens T, Grossart HB, Sabdono A, Simon M, Bachtiar T. 2004. Antibacterial property of a coral associated bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* against shrimp pathogenic *Vibrio harveyi* (*in vitro* study). *Journal of Coastal Development* 7: 169–121
- Requilme C, Araya R, Vergara N, Rojas A, Guaita M, Candia M. 1997. Potencial probiotic strain in the culture of the Chilean scallop *Argopectra purpuratus* (Lamarck 1819). *Aquaculture* 154:17–26.
- Sarjito, Radjasa OK, Sabdono A, Prayitno SB, Hutabarat S. 2009. Phylogenetic diversity of causative agents of vibriosis associated with grouper fish from Karimmunjawa islands, Indonesia. *Current Research Bacteriol.* 2: 14–21.
- Verschure L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol and Mol. Biol. Rev.* 64: 655–671.
- Veron JEN. 1986. Coral of Australia and The Indo Pasific. Australia: Angus and Roberts.
- Vine NG, Eukes WDL, Kaiser H. 2006. Probiotics in marine larviculture. *FEMS. Microbiol. Rev.* 30: 404–27.
- Yuasa K, Des Rosa, Koesharyani I, Johnny F, Mahardika K. 2000. General remarks on fish disease diagnosis. Training Course on Fish Disese diagnosis. Lolitkanta–JICA. Booklet. No.12: 5–18.
- Ziaei-Nejad S, Rezaei MH, Takami GA, Lovett DL, Mirvaghefi AR, Shakouri M. 2006. The effect of *Bacillus* spp. bacteria used as probiotics on digestive enzyme activity, survival and growth in the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252: 516–524.