

IDENTIFIKASI BAKTERI POTENSIAL PROBIOTIK PADA SALURAN PENCERNAAN IKAN PATIN SIAM (*Pangasius hypophthalmus*)

Siska Sitohang^{1*}, Dwi Suryanto², Yoes Soemaryono².

¹Mahasiswa Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian
Universitas Sumatera Utara

²Staf Pengajar Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Fakultas Pertanian
Universitas Sumatera Utara

*email ssitohang92@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to isolate potential probiotic bacteria from gastrointestinal tract of Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) and to examine its potential in inhibiting *Aeromonas hydrophila* growth. *De Man Ragosa Sharpe Agar* was used to isolate potential probiotic bacteria. Characterization including Gram stain, Probiotic test, catalase test, and motility test was conducted. All isolates showed characterization of probiotic bacteria. Four isolates were identified as *Bacillus coagulans*, *Bacillus badius*, *Streptococcus bovis type I* and *Micrococcus roseus*. Antimicrobial test against *A. hydrophila* showed that all potential probiotic isolates inhibited *A. hydrophila* growth with inhibition zone of 7-9 mm.

Keyword: Probiotic Bacteria, Patin Fish, *Bacillus coagulans*, *Streptococcus bovis type I*, *Bacillus badius* and *Micrococcus roseus*.

PENDAHULUAN

Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) adalah salah satu jenis ikan air tawar yang paling banyak diminati dan dikonsumsi oleh masyarakat. Ikan Patin ini merupakan ikan yang termasuk bernilai ekonomis tinggi. Dagingnya pun rendah sodium sehingga cocok bagi orang yang diet garam dan mudah dicerna oleh usus.

Ikan Patin merupakan spesies ikan dari jenis *Pangasidae* yang memiliki ciri-ciri umum tidak bersisik, tidak memiliki banyak duri, kecepatan tumbuhnya relatif cepat, fekunditas dan sintasannya tinggi, dapat diproduksi secara massal dan memiliki peluang pengembangan skala industri (Yuliartati, 2011).

Saluran pencernaan ikan berturut-turut di mulai dari mulut, rongga mulut, faring, esofagus, lambung, usus, dan anus. Struktur histologi esofagus, lambung, dan

usus ikan secara umum tersusun atas empat lapisan utama yaitu mukosa, submukosa, muskularis, dan serosa. Lapisan mukosa terdiri dari lamina epitelia, lamina propria, dan muskularis mukosa. Lapisan submukosa terdiri dari jaringan ikat padat tidak teratur, pembuluh darah, limfe dan saraf (Nafis *et al.*, 2017).

Prinsip dasar kerja probiotik adalah pemanfaatan kemampuan mikroba dalam meningkatkan penyerapan pada saluran pencernaan ikan. Senyawa - senyawa racun yang dihasilkan pada metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin (Yulvizar *et al.*, 2014). Probiotik tidak hanya menjaga keseimbangan ekosistem dalam saluran pencernaan namun juga dapat menahan aktifitas mikroba pengurai protein sehingga menyebabkan kadar amonia feses menurun. Suplementasi

probiotik dapat memperbaiki fungsi dan kesehatan usus serta meningkatkan *uptake* nutrient (Manin *et al.*, 2012).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan September tahun 2017. Sampel ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) berasal dari Jalan Bunga Sakura No.16, Tanjung Selamat, Medan Tuntungan, Kota Medan, Sumatera Utara. Identifikasi bakteri dilaksanakan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan I, Kuala Namu.

Alat yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi antara lain, inkubator, *autoclave*, pipet tetes, *erlenmeyer*, bunsen, cawan petri, beaker glass, mikroskop Mortar Porselen, kamera digital, pisau, *laminar air flow*, *objek glass*, tabung reaksi, rak tabung, *cover glass*, timbangan digital, sarung tangan, rak tabung, penjepit tabung, gunting, pinset, batang pengaduk, lemari pendingin, jangka sorong, masker, jarum ose dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa organ saluran pencernaan ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) yaitu lambung dan usus, isolate bakteri *Aeromonas hydrophila*, *aluminium foil*, kapas, *aquades*, media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), media MRSA (*Man Ragosa Sharpe Agar*), media TSA (*Tryptone Soya Agar*), media LIA (*Lysine Iron Agar*), media SC (*Simmon Citrat Agar*), media Gelatin, media OF, media SA (*Starch Agar*), media MIO (*Motility Indole Ornithin*), media MR-VP (*Methyl Red dan Voges Proskaurt*), media SIM (*Sulfid Indol Motility*), media gula-gula (glukosa,

arabinosa, sorbitol, manitol, inositol dan sukrosa), reagen H_2O_2 3% KOH 3%, methyl-red, reagen kovacs, iodine 2%, bahan untuk uji pewarnaan Gram (kristal violet, iodine, safranin, alkohol dan akuades), larutan fisiologis NaCl 0,85 %, HCL 0,2 N, minyak emersi, alcohol 70%, oxidase strips, *paper disk*, kapas, tissue gulung, plastic 10 kg, kertas label, aluminium foil.

Pelaksanaan Penelitian

Ikan sampel diambil dari kolam budidaya yang belum dikasih tambahan probiotik, dimasukkan kedalam kantong plastik yang telah diisi sebanyak 1 ekor ikan patin dengan panjang 90 cm dan bobot 20 gram untuk selanjutnya dibawa dan diperiksa di Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Medan I, Kuala Namu.

Persiapan Pemeriksaan Sampel

Alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan uap 15 lb/in² selama 15 menit (Marlina, 2008). Ikan yang dijadikan sampel adalah ikan Patin yang ada ditambak pembesaran. Ikan Patin dibedah untuk diambil organ pencernaan berupa lambung dan usus ikan yang segar lalu dimasukkan ke dalam larutan fisiologis NaCl 0,85%. Selanjutnya, lambung dihancurkan atau dihaluskan menggunakan mortar porselen.

Isolasi Bakteri

Sampel yang telah dihaluskan, kemudian dilakukan seri pengenceran. Metode seri pengenceran yang dilakukan dengan larutan NaCl fisiologis steril dengan Pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , sampai 10^{-5} . Sebanyak 1 mL hasil pengenceran kemudian dimasukkan ke dalam cawan

petri yang telah berisi medium MRSA dengan menggunakan metode cawan sebar (*spread plate*), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Setelah inkubasi selama 24 jam, koloni dengan penampakan morfologi yang berbeda dari warna, bentuk, tepian, dan elevasi pada medium MRSA kemudian diambil dan dimurnikan (diisolasi) pada media baru MRSA dengan menggunakan metode cawan gores dengan beberapa tahap sampai didapatkan koloni bakteri tunggal sebagai isolat murni, kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Identifikasi Bakteri

Setelah inkubasi selama 24 jam, dilakukan isolasi bakteri dengan metode goresan kuadran beberapa tahap hingga diperoleh 1 isolat yang murni. Setelah koloni tumbuh dimasing-masing media, kemudian koloni yang berbeda dari warna, bentuk, tepian dan elevasi dipilih dan dikultur kembali pada media MRSA dengan menggunakan teknik cawan goresan kuadran beberapa tahap hingga diperoleh isolat yang murni, kultur diinkubasi dengan posisi cawan terbalik selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C. Setiap koloni tunggal yang berbeda dan terbentuk setelah pemurnian, kemudian masing-masing diinokulasikan pada media TSA miring untuk persiapan pengujian selanjutnya sebagai stok bakteri dan dapat di simpan sebagai isolat cadangan apabila terjadi kegagalan pada tahap selanjutnya.

Uji Probiotik

1. Uji Hidrolisis Pati (Amilum)

Suspensi bakteri hasil biakan murni diambil satu ose dan digoreskan pada cawan yang berisi media *Starch Agar*, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, dilakukan

uji iodine dengan cara meneteskan iodine pada permukaan agar yang berisi isolat (Cappucino, 1983).

2. 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 37°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).

Uji Biokimia

1. Uji MR (*Methyl Red*)

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. Sebanyak 5 tetes methyl-red ditambahkan di atas preparat isolat bakteri. Hasil positif apabila terbentuk kompleks berwarna merah muda sampai merah yang menandakan bahwa mikroba tersebut menghasilkan asam (Anastiawan, 2016).

2. 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 3x24 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 (Lestari, 2016).

3. Uji Gelatin

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan pada media cair Gelatin dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°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 (Anastiawan, 2016).

4. Uji Oksidase

Tujuan uji oksidase adalah untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri dengan menggunakan *paper oksidase* yang dapat dilihat perubahan warna yang terjadi pada *paper oksidase*. Sebanyak satu ose isolat bakteri digoreskan pada kertas *Oxidase Test Strip*. Tunggu selama 1 menit, lalu amati hasilnya. Uji positif ditandai dengan perubahan warna menjadi biru violet dan uji negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada kertas *oxidase test strip* (Lestari, 2016).

5. Uji Motilitas

Sebanyak 1 ose (ose lurus) isolat dari stok kultur lalu diinokulasikan dengan cara ditusuk pada medium SIM tegak, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif (motil) apabila terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (non motil) bila tidak terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose pada medium (Anastiawan, 2016).

6. Uji Katalase

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose (ose bulat) dari masing-masing stok kultur kemudian dicelupkan ke dalam reagen H₂O₂ yang telah diisi ke dalam

tabung reaksi. Hasil positif apabila terbentuk gelembung gas pada ose, dan hasil negatif apabila tidak terbentuk gelembung gas (Lestari, 2016).

7. Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Isolat bakteri diambil sebanyak 1 ose (ose lurus) dari masing-masing stok kultur kemudian diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada medium TSIA. Kemudian diambil lagi 1 ose (ose bulat) isolat bakteri dari masing-masing stok kultur dan digores pada permukaan medium. Selanjutnya diinkubasi selama 2-3x24 jam pada suhu 37°C (Anastiawan, 2016).

8. Uji Gula-Gula

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam tabung-tabung reaksi yang berisi medium fermentasi glukosa, arabinosa, sorbitol, manitol, inositol dan sukrosa, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning dan apabila dalam tabung terdapat gelembung, berarti fermentasi tersebut menghasilkan gas (CO₂) (Lestari, 2016).

9. Uji Daya Hambat Bakteri Patogen *Aeromonas hydrophila*

Metode yang digunakan adalah metode teknik cawan sebar (*spreadplate*). Bakteri *A. hydrophila* serta bakteri potensial probiotik disuspensikan hingga kekeruhannya sama dengan larutan suspensi *Mc Farland* yaitu 108 CFU/ml. *A. hydrophila* diisolasi kedalam cawan petri yang terdapat media TSA dengan teknik cawan sebar kemudian *paper disk* yang telah direndam dalam suspensi bakteri potensial probiotik diletakkan diatas sebaran *A. hydrophila* dalam cawan petri.

Kultur diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah inkubasi dilakukan, kemudian diamati adanya indikasi penghambatan dengan terbentuknya zona bening pada media yang berarti menunjukkan kemampuan dalam menghambat bakteri uji pathogen. Kemudian diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong (Samosir *et al.*, 2017)

Analisis Data

Setelah uji morfologi dan uji biokimia selesai maka 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’s (1974) Manual for The Identification of Medical Bacteria*”

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Bakteri Potensial Probiotik pada Lambung dan Usus Ikan Patin Siam

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa jumlah isolat bakteri potensial probiotik dari isolasi lambung dan usus ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) ditemukan sebanyak 4 isolat bakteri, yaitu terdapat 2 isolat bakteri dari hasil isolasi 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 Patin (*P. hypophthalmus*) sehingga diperoleh isolat bakteri yang memang merupakan potensial probiotik.

Morfologi Koloni dan Sel Bakteri Potensial Probiotik pada Ikan Patin

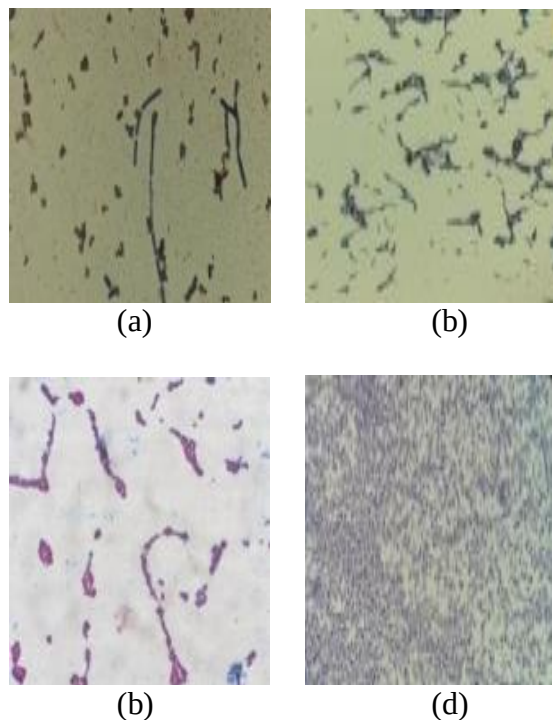
Isolat bakteri potensial probiotik yang ditemukan dari hasil isolasi lambung dan usus ikan Patin (*P. hypophthalmus*) dapat dilihat dari morfologi koloni meliputi tepian, elevasi dan warna koloni. Adapun ciri-ciri morfologi dari keempat koloni yang berhasil diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 dapat dijelaskan bahwa ke-4 jenis bakteri memiliki kemiripan pada tepian yaitu bertepi licin, sedangkan pada elevasi ada terbagi dua yaitu berelevasi datar dan cembung. Pada warna dan bentuk memiliki perbedaan yaitu ke-2 isolat ada berwarna kuning dan 2 isolat lainnya berwarna putih dengan bentuk batang dan kokus.

Tabel 1. Morfologi Koloni Isolat Bakteri Potensial Probiotik pada Ikan Patin

Kode Isolat	Koloni			Morfologi Sel	
	Tepian	Elevasi	Warna	Gram	Bentuk
U103	Licin	Datar	Putih Kuning	+	Basil
U105	Licin	Cembung	Putih	+	Kokus
L105	Licin	Cembung	Kuning	+	Kokus
L103	Licin	Datar		+	Basil

Pewarnaan gram dilakukan secara mikroskopik dengan pembesaran 100x kemudian didapat hasil pewarnaan gram dari ke-4 isolat bakteri yaitu berwarna ungu yang merupakan bakteri Gram positif karena mampu mengikat kristal violet. Dari ke-4 isolat bakteri yang didapat, terdapat 2 isolat bakteri yang berbentuk batang atau basil dan yang 2 lagi berbentuk kokus atau bulat. Hasil dari pewarnaan Gram dari isolat bakteri

potensial probiotik yang sudah dilakukan dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Bentuk sel dari isolat (a) U103 (b) L105 (c) L103 (d) U105 dengan skala mikroskop pembesaran 100x

Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik pada Ikan Patin

Hasil pengamatan morfologi sel baik pewarnaan Gram dan Uji Biokimia dari ke-4 isolat merupakan bakteri gram positif yang ditandai dengan sel bakteri yang mampu mengikat kristal violet (ungu) dapat dilihat pada Gambar 1. Terdapat 2 macam bentuk bakteri yang telah diamati yaitu basil (batang) seperti terlihat pada gambar Hasil uji Biokimia dari ke-4 bakteri yang diperoleh menurut buku *Cowan and Steel's (1974) Manual for The Identification of Medicall Bacteria*.

Tabel 2. Karakterisasi Isolat Bakteri Potensial Probiotik pada Ikan Patin

Uji biokimia	U103	L105	L103	U105
Morfologi sel				
Gram	+	+	+	+
Bentuk	Basil	Basil	Kokus	Kokus
Spora	-	-	-	-
Biokimia				
TSIA	k/k	k/k	k/k	k/k
- Gas	-	-	-	-
- H ₂ S	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+
Okasidase	+	+	-	+
Pepton				
- Motilitas	+	+	-	-
- Indol	-	-	-	-
MR	-	+	+	+
VP	-	-	-	-
Citrat	+	-	-	-
OF	F	O	O	O
LIA	-	-	-	-
Ornithin (MIO)	+	+	-	-
Gelatin	-	-	-	-
Karbohidat				
- Glukosa	-	+	+	+
- Laktosa	-	+	+	+
- Sukrosa	+	-	+	-
- Manitol	+	-	-	-
- Sorbitol	-	-	-	-
- arabinosa	-	-	-	+
- rafinosa	-	+	+	-
- fruktosa	-	-	-	-
- maltosa	-	-	+	-
Spesies Bakteri	<i>Bacillus badius</i>	<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Streptococcus bovis type I</i>	<i>Micrococcus roseus</i>

Keterangan : (+) Positif, (-) negative, (F) Fermentatif, (O) Oksidatif

Hidrolisis Pati (Amilum) dan Kasein (Protein) pada Isolat Bakteri

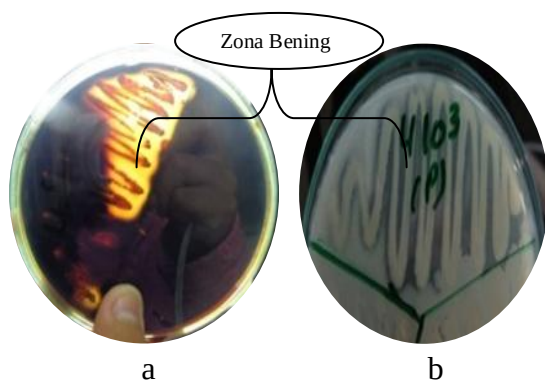
Uji hidrolisis pati (amilum) dan kasein (protein) dilakukan yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan enzim amylase dan protease yang merupakan tahap awal dalam seleksi seluruh isolasi bakteri untuk mendapatkan kandidat bakteri yang berpotensi probiotik pada ikan Patin. Uji hidrolisis dilakukan dengan menggoreskan masing-masing koloni bakteri pada media uji pati (amilum) dan kasein (protein). Pengamatan hasil uji hidrolisis pati dan kasein ditandai dengan adanya zona bening disekeliling isolat yang telah

ditumbuhkan seperti pada Gambar 2 dan Tabel 3.

Tabel 3. Kemampuan Isolat Kandidat Probiotik Menghidrolisis Pati dan Kasein

Kode Isolat	Hidrolisis	
	Kasein	Pati
U103	+	+
U105	+	+
L103	+	+
L105	+	+

Keterangan : (+) Positif, (-) Negatif, (U) Usus, (L) Lambung



Gambar 2. (a) Hidrolisis Pati
(b) Hidrolisi Kasein

Indikasi Penghambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Isolat-isolat bakteri yang mampu menghidrolisis pati (amilum) dan kasein (protein) tersebut selanjutnya dilakukan ujiantang pada bakteri *Aeromonas hydrophila* untuk mengetahui adanya indikasi penghambatan terhadap *A. hydrophila*. Uji tersebut dilakukan untuk dapat memastikan bahwa ke-4 isolat bakteri tersebut merupakan isolat bakteri yang berpotensi probiotik pada ikan Patin karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila*. Pengujian daya hambat dari ke-4 isolat bakteri yang

didapat dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 3.



Gambar 3. Indikasi Penghambat Bakteri *A. hydrophila*

Tabel 4. Uji Daya Hambat

Nama Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)
U103	7
U105	7
L103	8
L105	9

Pembahasan

Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Patin

Hasil isolasi maka didapatkan isolat murni sebanyak 4 isolat, yaitu terdapat 2 isolat bakteri dari lambung dan 2 isolat lainnya dari usus ikan Patin. Dari hasil uji morfologi dan biokimia diperoleh bahwa bakteri yang berpotensi sebagai kandidat probiotik dari saluran pencernaan ikan Patin adalah *Bacillus badius*, *Bacillus coagulans*, *Micrococcus roseus* dan *Streptococcus bovis type I*. Hal ini sesuai dengan Anggriani *et al.*, (2012) yang menyatakan *Bacillus* sp. Berperan sebagai bakteri probiotik yang mampu merombak pakan relatif lebih singkat dan menekan bakteri patogen yang ada dalam saluran pencernaan dan aktifitas bakteri dalam pencernaan akan berubah dengan cepat ketika ada mikroba yang masuk melalui pakan dan air.

Morfologi Koloni dan Sel Bakteri Potensial probiotik pada Ikan Patin

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 tepian yaitu licin sedangkan pada elevasi, warna dan bentuk terbagi menjadi 2 yaitu elevasi cembung dan datar, warna putih dan kuning serta pada bentuk bulat dan batang. Ke-4 isolat yang didapat yaitu berasal dari hasil isolasi usus dan lambung ikan Patin. Terdapat 2 isolat bakteri dari hasil isolasi dari lambung dan 2 isolat bakteri lainnya berasal dari hasil isolasi usus.

Berdasarkan pewarnaan pada seluruh isolat bakteri potensial probiotik bahwa yang mampu mempertahankan warna ungu (Kristal violet) setelah pelunturan dengan alkohol aseton adalah bakteri dengan gram positif. Hal ini sesuai dengan Mastang (2016) yang menyatakan bahwa Pengecatan gram memisahkan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif pada pewarnaan Gram berwarna biru keunguan hal ini disebabkan kompleks *crystal violet* yang masuk ke dalam sel bakteri Gram positif tidak dapat tercuci oleh alkohol karena adanya lapisan peptidoglikan yang kokoh pada dinding sel.

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik

Isolat yang berhasil diisolasi dan dikarakterisasi dari saluran pencernaan ikan Patin berupa usus dan lambung ada terdapat 4 isolat dimana dua diantaranya merupakan bakteri potensial probiotik *Bacillus badius* dan *Bacillus coagulans* dengan kode isolat U103 dan L105. Hal ini sesuai dengan Pelczar *et al.* (1976) yang menyatakan bahwa *Bacillus* merupakan

bakteri yang berbentuk batang dapat dijumpai di air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks.

Hidrolisis Pati (Amilum) dan Kasein (Protein) pada Isolat Bakteri

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, uji hidrolisis protein dari ke-4 isolat yang didapat mampu menghasilkan zona bening disekeliling bakteri yang ditanam pada media *Skim Milk Agar* atau media susu skim yang mengandung kasein yang dapat dipecah oleh mikroorganisme proteolitik. Uji hidrolisis protein dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan protein dengan menghasilkan enzim protease.

Dari hasil penelitian diperoleh bahwa isolat bakteri potensial probiotik berasal dari genus *Bacillus* sp. *Micrococcus roseus* dan *Streptococcus bovis* melalui uji yang telah dilakukan. *Bacillus* sp. merupakan salah satu jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan protease dan merupakan jenis bakteri yang terdapat di hampir semua tempat termasuk di dalam saluran pencernaan. Hal ini sesuai dengan Fardiaz (1992) yang menyatakan bahwa *Bacillus* sp. mempunyai sifat dapat mensekresikan enzim protease, lipase dan amilase. Jenis dari marga *Bacillus* sp. mempunyai kemampuan enzimatik yang berbeda-beda dalam menghasilkan enzim, diantaranya dalam menghasilkan enzim amilase, protease, dan lipase.

Indikasi Penghambat Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Dari ke-4 isolat yang diperoleh, semuanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Salah satu

isolat diantara ke-4 merupakan jenis *Micrococcus* sp. yang juga memiliki indikasi penghambatan *A. hydrophila*. Hal ini sesuai dengan Subagiyo *et al* (2010) menyatakan bahwa *Micrococcus* dapat dikembangkan sebagai pembentukan konsorsium probiotik. Pembentukan konsorsium probiotik pada ikan menghasilkan senyawa antibakteri terhadap patogen dan mampu hidup didalam saluran pencernaan dan bersifat non patogen dan memberikan efek yang menguntungkan bagi ikan.

Aktifitas penghambat keempat bakteri potensial terhadap *A. hydrophila* berturut-turut dari yang paling besar adalah *Bacillus coagulans* (L105) dengan diameter 9 mm, *Streptococcus bovis type I* (L103) sebesar 8 mm. *Bacillus badius* dan *sphaerius* (U103) sebesar 7 mm dan zona penghambat paling kecil yaitu bakteri *Micrococcus roseus* (U105) sebesar 7 mm. Walaupun zona hambat probiotik tidak luas dan hanya menunjukkan indikasi penghambatan, tetapi itu sudah memberikan indikasi bahwa bakteri-bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan patogen yang nantinya dapat diteliti lebih mendalam tentang uji penggunaan bakteri tersebut secara langsung pada ikan (*in vivo*) (Butar-butur *et.al.*, 2015)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Bakteri potensial probiotik yang diperoleh dari saluran pencernaan ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) adalah *Bacillus badius*, *Bacillus coagulans*, *Micrococcus roseus* dan *Streptococcus bovis type I*.
2. Isolat bakteri potensial probiotik yang berhasil diidentifikasi menunjukkan indikasi penghambatan terhadap bakteri

patogen *A. hydrophila* dengan nilai masing-masing hambatan yaitu 7 mm, 7 mm, 8 mm, dan 9 mm.

Saran

Identifikasi isolat bakteri potensial probiotik masih berdasarkan karakteristik secara manual, sehingga seharusnya perlu dilakukan karakterisasi secara molekuler dan perlu dilakukan lebih lanjut terhadap ikan dalam uji daya hambat secara *in vivo* dengan pemberian isolat bakteri potensial probiotik pada media air ikan dan pembaharuannya menjadi pakan ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anastiawan. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Makassar
- Anggriani, R., Iskandar dan A. Taofiqurohman. 2012. Efektivitas Penambahan *Bacillus* Sp. Hasil Isolasi dari Saluran Pencernaan Ikan Patin pada Pakan Komersial Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). Jurnal Perikanan dan Kelautan. 3(3) :75-83.
- Butar-butur, E., D. Suryanto., M. Dalimunthe dan I. H. Parinduri. 2015. Asai Bakteri Potensial Probiotik dari Ikan Gurami (*Osphronemus Gouramy* Lac) dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas Hydrophila*. Jurnal Aquacoastmarine.8(3).

- Cappuccino, J. G. 1983. Mikrobiology: A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company.
- Cowan ST, Steel KJ. 1974. *Characterization Test Method*. Di dalam: *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Ed ke-2. New York: Cambridge University Press.
- Fardiaz S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Lestari, P. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Saluran Pencernaan Ikan Sidat (*Anguilla bicolor*) yang Berpotensi Sebagai Kandidat Probiotik. [SKRIPSI]. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Airlangga. Surabaya.
- Manin, F., E. Hendalia dan Yusrizal. 2012. Potensi Bakteri *Bacillus* dan *Lactobacillus* sebagai Probiotik untuk Mengurangi Pencemaran Amonia pada Kandang Unggas. Jurnal Peternakan Indonesia, 14 (2).
- Marlina. 2008. Identifikasi Bakteri *Vibriop arahaemolitycus* dengan Metode Biologi dan Deteksi Gen *ToxR* nya Secara PCR. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 13(1):11-17.
- Mastang, 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) pada Endapan Sedimen Kanal Sekitar Rumah Susun Kota Makassar. Fakultas Sains dan Teknologi, Uin Alauddin Makassar.
- Nafis, M., Zainuddin dan D. Masyitha. 2017. Gambaran Histologi Saluran Pencernaan Ikan Gabus (*Channa striata*). JIMVET. 01(2): 196-202, ISSN : 2540-9492
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan, and N.R. Krieg 1976, *Microbiology*. Me Graw Hill Book Company, New York : 896 pp.
- Samosir, M. F., D. Suryanto dan Desrita. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Subagiyo, A. Junaedi. 2010. Desain dan Konstruksi Konsorsium Probiotik sebagai Strategi Penyehatan pada Budidaya Benih Ikan Kerapu. Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro.
- Yulvizar, C., I. Dewiyanti dan C. N. Defira. 2014. Seleksi Bakteri Berpotensi Probiotik dari Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Indegenous Jantho Berdasarkan Aktivitas Antibakteri Secara In Vitro. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Syiah Kuala, Darussalam.
- Yulvizar. C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. Universitas Syiah Kuala. Aceh.:1-7