

**PENAPISAN BAKTERI SELULOLITIK PADA SALURAN
PENCERNAAN IKAN KERAPU CANTANG YANG
DIBUDIDAYAKAN DI DESA BABAKAN, KECAMATAN
PANGANDARAN, KABUPATEN PANGANDARAN**

*SCREENING OF CELLULOLYTIC BACTERIA IN THE DIGESTIVE TRACT OF
CANTANG GROUPER CULTIVATED IN BABAKAN VILLAGE, PANGANDARAN
DISTRICT, PANGANDARAN REGENCY*

Ningam Syukri, Kasprijo, P. Hary Tjahja, Hamdan Syakuri, Emyliana Listiowati

1. Program Studi Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, 53123, Indonesia
Email: ningamsyukri@gmail.com

ABSTRAK

Ikan Kerapu Cantang merupakan hasil persilangan dari ikan Kerapu Macan betina dan ikan Kerapu Kertang jantan. Ikan Kerapu Cantang merupakan salah satu komoditas perikanan budidaya yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri selulolitik serta aktivitas bakteri selulolitik pada saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode observasi dengan pengambilan sampel secara *purpose random sampling*. Variabel utama yang diamati pada penelitian ini, yaitu mengamati proporsi bakteri selulolitik dan aktivitas bakterinya pada saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang yang di kultur pada media CMC 1%. Sedangkan variabel pendukung adalah: kelimpahan bakteri, uji Gram KOH, proporsi *Bacillus*, dan pewarnaan Gram. Keberadaan bakteri Selulolitik pada saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang pada penelitian ini ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekeliling koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media spesifik (CMC 1%). Hasil penelitian ini untuk proporsi keberadaan bakteri selulolitik pada bagian anterior 49,33% middle 38,66% dan posterior 28%. Aktivitas bakteri selulolitik dari penelitian ini menunjukkan hasil dengan indeks hidrolisis pada bagian anterior sebesar 0,14 – 1,4, middle 0,1 – 3,3 dan posterior 0,2 – 1,6.

Kata kunci: *bakteri selulolitik, enzim selulase, ikan kerapu cantang, saluran pencernaan, zona bening*

ABSTRACT

Cantang grouper is a cross between female tiger grouper and male Kertang grouper. Cantang grouper fish is one of the cultivated fishery commodities which has high economic value. This study aims to determine the presence of cellulolytic bacteria and the activity of cellulolytic bacteria in the digestive tract of Cantang Grouper fish. The method used in this research is the method of observation with purposive random sampling. The main variables observed in this study were observing the proportion of cellulolytic bacteria and the activity of cellulolytic bacteria in the digestive tract of Cantang Grouper fish. The supporting variables in this study were the abundance of bacteria, Gram KOH test, the proportion of *Bacillus* and gram staining. The presence of cellulolytic bacteria in the digestive tract of Cantang Grouper in this study was indicated by the presence of a clear zone around the bacterial colonies grown on specific media (CMC 1%). The results of this study for the proportion of the presence of cellulolytic bacteria in the anterior 49.33% middle 38.66% and 28% posterior. The activity of cellulolytic bacteria from

this study showed results with hydrolysis index in the anterior of 0.14 - 1.4, middle 0.1 - 3.3 and posterior 0.2 - 1.6.

Keywords: *Cellulolytic bacteria, cellulase enzymes, cantang grouper, digestive tract, clear zone*

1. PENDAHULUAN

Ikan kerapu merupakan salah satu komoditas perikanan laut yang memiliki nilai ekonomis tinggi, kerapu ini dapat dibudidayakan pada padat tebar tinggi dan pertumbuhannya lebih cepat jika dibandingkan dengan jenis kerapu yang lainnya (Rahma-ningsih dan Ari, 2013). Ikan Kerapu Cantang merupakan hasil persilangan atau hibridasi antara Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) betina dan Kerapu Kertang (*Epinephelus lanceolatus*) jantan yang merupakan hasil dari penelitian BPBAP Situbondo (Wibowo, 2010).

Pakan merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan (Istiqomah *et al.*, 2019). Proses pencernaan pakan dan penyerapan sari makanan berlangsung di dalam usus (Isnaeni, 2006). Pada pencernaan ikan kerapu banyak terdapat bakteri, salah satunya adalah bakteri selulolitik. Bakteri selulolitik adalah jenis bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi substrat yang mengandung selulosa. Bakteri selulolitik mampu mengubah selulosa menjadi gula yang lebih sederhana untuk sumber karbon dan energi bagi metabolisme dan pertumbuhannya. Kemampuan ini disebabkan bakteri dapat memproduksi enzim selulase (Zhang & Zhang, 2013).

Kemampuan ikan dalam mencerna pakan tergantung pada kelengkapan organ pencernaan serta ketersediaan enzim (Fitriliyani, 2011). Adapun enzim ekstraseluler yang terdapat pada saluran pencernaan ikan yaitu enzim amilase, protease, lipase dan selulase. Enzim ekstraseluler pada ikan tersebut berfungsi untuk proses pencernaan (Putra dan Hermawan, 2014). Enzim selulase merupakan kumpulan dari beberapa enzim yang bekerja bersama untuk hidrolisis selulosa. Mikroorganisme tertentu menghasilkan partikel yang dinamakan selulosom. Partikel inilah yang akan terdisintegrasi menjadi enzim enzim, yang secara sinergis mendegradasi selulosa (Belitz *et al.*, 2008). Enzim selulase menghidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa sehingga menghasilkan glukosa (Afsahi *et al.*, 2007). Enzim ini umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti teknologi pangan, tekstil, pakan ternak, kertas, pertanian, dan dalam pengembangan penelitian (Kovács, 2009). Dalam bidang

perikanan penggunaan enzim selulase juga sudah mulai digunakan untuk peningkatan kualitas pakan ikan sebagai kandidat probiotik (Mulyasari, 2015). Bakteri selulolitik telah ditemukan dalam saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*), kakap merah utara (*Lutjanus sp.*) (Istiqomah *et al.*, 2019).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan bakteri yang bersifat selulolitik dari saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang serta mengetahui berapa besar aktivitas bakteri tersebut yang bersifat selulolitik pada saluran pencernaan.

2. BAHAN DAN METODE

1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2020 di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Sedangkan tempat pengambilan sampel ikan uji dari kolam budidaya di Desa Babakan, Kecamatan Pangandaran, Kabupaten Pangandaran.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah: container, tabung reaksi microtube 1,5mL, *microwave*, lampu bunsen, *vortex*, pipet tetes, tip, gunting bedah, aerator, cawan petri, gelas ukur, *becker glass*, *erlenmeyer*, pelet pastel, autoklaf, *aluminium foil*, plastik, inkubator, kompor gas, spatula, korek api, mikropipet, jarum ose, oven, *glass preparat*, *wrapping*. Sedangkan bahan yang digunakan adalah KOH 3%, larutan fisiologis NaCl 0,9%, *Carboxymethylcellulose* (CMC), akuades, garam, spirtus, kristal violet (gram A), lugol (gram B), etanol 95% (gram C), safranin (gram D), media TSA (Merck), media *Bacillus* agar (Himedia).

3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini saat pengambilan sampel menggunakan metode observasi, dengan teknik pengambilan sampel secara *purposive random sampling*. Jumlah sampel ikan yang di ambil sebanyak 3 ekor dengan panjang rata-rata 14 cm dan bobot rata-rata 43,8 gram.

4. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Media TSA (*Trypticase Soya Agar*)

Media TSA (*Trypticase Soya Agar*) diambil sebanyak 4gram ditambahkan 0,05gram garam dan akuades 100 mL, kemudian dimasukkan ke dalam *erlenmeyer*. Selanjutnya dipanaskan dalam *microwave* sampai mendidih dan tidak ada gelembung udara di atasnya. Setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Larutan TSA disimpan di autoklaf sampai hangat, lalu dimasukkan dalam cawan petri yang telah disterilkan dan disimpan hingga digunakan untuk perlakuan selanjutnya. Media TSA (*Trypticase Soya Agar*) ini digunakan untuk menghitung jumlah total bakteri.

b. Pembuatan Media *Carboxymethylcellulose* (CMC)

Media *Carboxymethylcellulose* (CMC) adalah media spesifik untuk uji aktivitas bakteri selulolitik. Pembuatannya dengan cara menimbang 4gram bubuk TSA, 1% CMC dan akuades 100 mL dituangkan ke dalam tabung *erlenmeyer*. Setelah itu dipanaskan menggunakan *microwave* sampai mendidih dan tidak ada gelembung udara di atasnya. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121° C selama 15 menit, setelah itu dibiarkan hingga suhu 20 ° C baru dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan dan disimpan dalam lemari steril hingga digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

c. Pembuatan Media *Bacillus Agar*

Media *Bacillus Agar* dibuat dengan cara melarutkan setiap 4,92gram bubuk *Bacillus Agar* dan 100 mL akuades lalu dimasukkan dalam tabung *erlenmeyer*. Kemudian *Bacillus Agar* dipanaskan menggunakan *microwave* sampai mendidih dan tidak ada gelembung udara di atasnya. Setelah itu *Bacillus Agar* disterilkan menggunakan *autoklaf* dengan tekanan 121° C selama 15 menit. *Bacillus agar* disimpan sampai hangat, lalu dimasukkan dalam cawan petri yang telah disterilkan dan disimpan hingga digunakan untuk perlakuan selanjutnya.

d. Pengambilan sampel

Sampel ikan Kerapu Cantang yang diambil berasal dari kolam budidaya di Desa Babakan, Kecamatan Pangandaran, Kabupaten Pangandaran. Pada pengambilan sampel, ikan Kerapu Cantang di ambil sebanyak 3 ekor dengan panjang rata-rata 14 cm dan bobot rata-rata 43,8 gram kemudian dibedah kemudian saluran pencernaan diambil dan diukur panjang saluran pencernaannya. Kemudian usus dibagi menjadi tiga bagian, yaitu bagian *anterior*,

middle, dan *posterior* dari masing-masing bagian diambil sepanjang 0,5 cm.

e. Isolasi Bakteri

Pertama usus sampel dimasukan ke dalam *microtube* dan ditimbang beratnya. Kemudian dihaluskan dengan *pellet pastile*, dan ditambahkan sebanyak 1 mL NaCl 0,9% steril, lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*. Persiapan *plating* diawali dengan pengenceran. Tabung reaksi diisi dengan larutan NaCl 0,9% steril sebanyak 4,5 mL/tabung Sampel yang telah di *vortex* diencerkan berseri 10⁻¹ hingga 10⁻⁷. Larutan sampel sebanyak 0,5 ml pada tabung pengenceran 10⁻² hingga 10⁻⁷ dikultur dengan metode *pour plate* pada media TSA simpan di incubator selama 18-24 jam. Kemudian dikultur kembali pada cawan petri yang berisi TSA. Selanjutnya diinkubasi pada incubator dengan suhu 28,5°C selama 18-24 jam agar bakteri tumbuh (Irmawati *et al.*, 2014). Hasil analisis mikrobiologi dengan metode hitung koloni digunakan standar , yaitu TPC (*Total Plate Count*) dengan sistematika koloni yang tumbuh berjumlah di atas 30 dan kurang dari 300 (Sukmawati, 2018). Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu dihitung sebagai satu koloni dan bentuk koloni sangat besar dimana jumlah koloni diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni (Fardiaz, 1992). Perhitungan kelimpahan bakteri dihitung menggunakan rumus kelimpahan bakteri (Damongilala, 2009) :

$$\text{Kelimpahan bakteri} = \sum \text{koloni} \times \frac{1}{\text{pengenceran}} \times \frac{1}{\text{Vol.yang ditanam}} \times \frac{1}{\text{Berat sampel (g)}} \text{ (CFU/g)} \quad (1)$$

f. Uji Gram Positif Negatif

Uji Gram pada penelitian ini dilakukan dengan mencampurkan satu lup isolat bakteri pada kaca objek. Setelah itu ditetesi KOH 3% sebanyak 10 µL, kemudian diamati apakah terbentuk lendir atau tidak. Jika terbentuk lendir maka bakteri tersebut dikelompokkan ke dalam Gram negatif tetapi jika tidak ter-bentuk lendir maka tergolong Gram positif (Kurnia, 2016).

g. Uji *Bacillus*

Media kultur *Bacillus* dituangkan ke dalam cawan petri. Kemudian isolat mikroba Gram positif streak pada media *Bacillus*. Bakteri diinkubasi pada lemari inkubator selama 1 hari pada suhu 37°C.

h. Penentuan Indeks Bakteri Selulolitik

Media kultur yang mengandung *Carboxymethylcellulose* (CMC) dituangkan ke dalam cawan petri. Kemudian isolat mikroba ditotolkan pada media agar CMC. Bakteri diinkubasi selama 1 hari pada suhu 37°C dalam incubator dan kemudian dilakukan uji aktivitas

bakteri dengan menambahkan congo red 0,1% sebanyak 15 mL dan didiamkan selama 30 - 60 menit. Pada uji aktivitas selulase semakin besar indeks selulolitik yang dihasilkan maka semakin besar enzim yang dihasilkan oleh isolat bakteri tersebut (Mulyasari, 2015). 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. Menurut Sumardi *et al.*, (2010) untuk menentukan indeks bakteri Selulolitik, yaitu dengan cara :

$$\text{Indeks hidrolisis selulolitik} = \frac{\text{diameter zona bening bakteri}}{\text{diameter koloni bakteri}} \quad (2)$$

i. Pewarnaan Gram

Perwarna Gram dilakukan dengan cara 1–2 tetes aquades steril diletakkan di atas kaca objek, aquades steril dan sebarakan hingga merata. Kemudian Koloni bakteri diambil satu ose secara aseptik dan dioleskan pada *object glass*. Biarkan olesan tersebut kering karena udara. Isolat bakteri ditetesi kristal violet (Gram A) dan didiamkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dikering-hingga kering, kemudian ditetesi dengan larutan iodine (Gram B) dan didiamkan selama 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Setelah itu ditetesi etanol 95% (Gram C) selama 30 detik, kemudian dialiri air mengalir dan dianginkan hingga kering. Terakhir ditetesi safranin (Gram D) selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Berikut dilakukan pengamatan

menggunakan mikros-kop (Waluyo, 2010). Bakteri Gram positif akan ditandai dengan warna ungu, sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah (Nurhidayanti *et al*, 2015).

5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini berupa kelimpahan bakteri, proporsi Gram KOH, Proporsi *Bacillus*, proporsi aktivitas bakteri Selulolitik, indeks hidrolisis Selulolitik serta pewarnaan Gram. Data kelimpahan bakteri dan proporsi bakteri Selulolitik dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Variance*), hasil yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Tukey. Data indeks hidrolisis selulolitik, uji gram KOH, Uji *Bacillus* dan pewarnaan Gram dianalisis secara deskriptif. Data disajikan dalam bentuk gambar dan tabel serta dibandingkan dengan Referensi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAAN

1. Kelimpahan Bakteri di Saluran Pencernaan Kerapu Cantang

Kelimpahan bakteri pada saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang dihitung dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Damongilala, (2009) yaitu dengan metode TPC (Total Plate Count). Bakteri yang di hitung dalam penelitian ini diambil dari usus ikan Kerapu Cantang pada bagian depan, tengah dan belakang yang di tumbuhkan dalam media TSA. Hasil perhitungan kelimpahan bakteri pada saluran pencernaan ikan kerapu Cantang disajikan dalam bentuk tabel serta dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Kelimpahan Bakteri Bagian Anterior Middle dan Posterior pada Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Cantang

Sampel	Jumlah Total Bakteri		
	Anterior CFU/gram	Middle CFU/gram	Posterior CFU/gram
Kerapu Cantang 1	$4,142 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$8,255 \times 10^8$
Kerapu Cantang 2	$4,357 \times 10^8$	$4,888 \times 10^8$	$7,27 \times 10^8$
Kerapu Cantang 3	$5,062 \times 10^8$	$5,34 \times 10^8$	$7,82 \times 10^8$
Rata - Rata	$4,52 \pm 0.48^a \times 10^8$	$5,14 \pm 0.23^a \times 10^8$	$7,78 \pm 0.49^b \times 10^8$

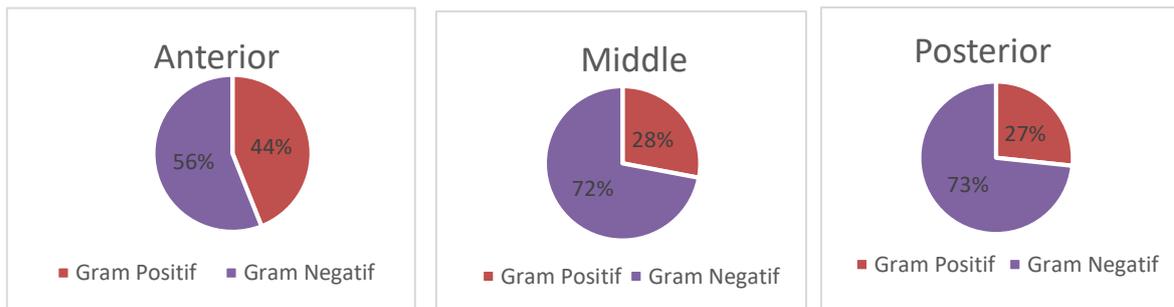
Berdasarkan **Tabel 1** hasil uji statistik ANOVA ($P < 0.05$) menunjukkan bahwa setiap bagian anterior, middle, dan posterior pada saluran pencernaan ikan kerapu cantang berpengaruh terhadap jumlah kelimpahan bakteri. Hasil menunjukkan kelimpahan bakteri semakin meningkat dari anterior hingga bagian posterior. Adanya peningkatan total bakteri pada bagian posterior di sebabkan karena faktor

kondisi lingkungan dan sturuktur saluran pencernaan. Menurut pendapat Debases *et al.*, (2014) bahwa jumlah kelimpahan bakteri Saluran Pencernaan ikan terjadi peningkatan dari bagian anterior sampai posterior. Perbedaan jumlah kelimpahan bakteri di sebabkan karena bebrapa faktor diantaranya struktur saluran pencernaan, pakan dan lingkungan (Lee *et al.*, 1986).

2. Pengamatan Gram KOH (3 %)

Uji Gram KOH 3% bertujuan untuk mengetahui proporsi jumlah bakteri Gram positif dan Gram negatif pada saluran pencernaan ikan kerapu cantang. Bakteri Gram positif, yaitu bakteri yang tidak membentuk lendir saat dilakukannya Uji Gram-KOH. Hal ini disebabkan karena dinding sel pada bakteri lebih resisten terhadap KOH dan membuat dinding sel tersebut tidak pecah. Sebaliknya pada gram negatif dinding sel lebih sensitif dan tidak memiliki

ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH yang menyebabkan dinding sel tersebut pecah dan mengakibatkan DNA yang terdapat dalam bakteri ke luar. Karena DNA bersifat sangat kental di dalam air, oleh karena itu saat dilakukan uji Gram-KOH akan terbentuklah lendir (Purwohadisantoso *et al.*, 2009). Proporsi sifat Gram bakteri saluran pencernaan ikan kerapu cantang tersaji pada **Gambar 4**.

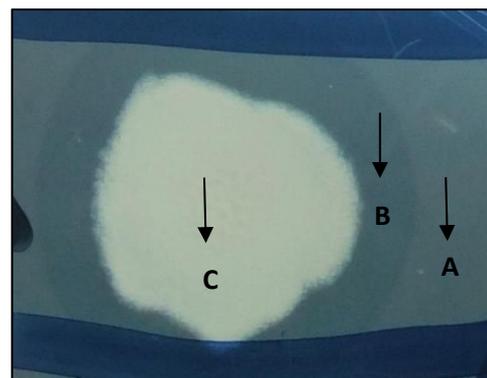


Gambar 4. Proporsi bakteri Gram positif dan Gram negatif pada bagian anterior, middle dan posterior

Berdasarkan **Gambar 4** Proporsi bakteri Gram negatif pada saluran pencernaan ikan kerapu cantang di posterior, middle dan anterior lebih banyak dibandingkan dengan gram positif. Hal ini disebabkan karena bakteri Gram negatif memiliki ketahanan lebih tinggi dibandingkan dengan Gram positif. Menurut Pelczar & Chan, (2005) bakteri Gram negatif memiliki ketahanan lebih tinggi dan tidak rentan terhadap gangguan fisik, serta persyaratan nutrisi Gram negatif lebih sederhana dibandingkan dengan gram positif. Bakteri gram negatif juga memiliki ketahanan lebih tinggi terhadap suasana asam dan lingkungan di sekitar karena gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih tebal dan kompleks (Purwohadisantoso *et al.*, 2009).

3. Aktivitas Bakteri Selulolitik Pada Saluran Pencernaan Ikan kerapu Cantang

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi substrat yang mengandung selulosa. Keberadaan bakteri Selulolitik dideteksi menggunakan media yang mengandung CMC 1%. Terdapatnya zona bening di sekitar koloni bakteri pada media CMC 1% menandakan adanya aktivitas bakteri selulolitik. Adapun zona bening yang terbentuk pada media dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Zona Bening dari Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Cantang. *Keterangan: [A] Media tidak terhidrolisis, [B] Zona bening, [C] Koloni bakteri*

Zona bening yang terbentuk pada isolat ikan kerapu cantang karena adanya aktivitas bakteri selulolitik. Zona bening tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim selulase. Menurut Purkan, (2015) enzim selulose merupakan kumpulan dari beberapa enzim yang bekerjasama untuk menghidrolisis selulosa. Selulosa merupakan bahan yang sulit dicerna oleh saluran pencernaan, kandungan selulosa yang cukup tinggi dalam pakan akan menyebabkan terjadinya respons berupa adaptasi biologis atau penyesuaian alat pencernaan seperti usus dan lambung. Adaptasi yang dilakukan, yaitu dengan cara memperpanjang usus dan peningkatan bobot lambung. Peningkatan panjang usus tersebut menyebabkan bobot usus

meningkat serta pertumbuhan bakteri yang terdapat dalam usus meningkat (Yandes *et al*, 2003 dalam Rohy, 2014). Hasil dari proporsi aktivitas bakteri selulolitik bagian anterior,

middle dan posterior pada saluran pencernaan Ikan Kerapu Cantang terdapat pada **Tabel. 2** dan **Tabel. 3** sebagai berikut.

Tabel 2. Proporsi Bakteri Selulolitik pada Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Cantang

Sampel		Jumlah isolat	Jumlah Isolat selulolitik	Persentase (%)
Ikan Kerapu Cantang 1	Anterior	25	16	64
	Middle	25	14	56
	Posterior	25	4	16
Ikan Kerapu Cantang 2	Anterior	25	12	48
	Middle	25	7	28
	Posterior	25	9	36
Ikan Kerapu Cantang 3	Anterior	25	9	36
	Middle	25	8	32
	Posterior	25	8	32

Tabel 3. Rata – Rata Proporsi Bakteri Selulolitik Bagian Anterior, Middle dan Posterior

Sampel	Jumlah Total isolat	Jumlah Isolat aktivitas Selulolitik	Persentase Rata-Rata Proporsi (%)
Anterior	25	12,33±3,511 ^a	49,33 %
Middle	25	9,66±3,78 ^a	38,66 %
Posterior	25	7±2,64 ^a	28%

Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa bakteri selulolitik pada saluran pencernaan ikan kerapu cantang dengan jumlah yang sedikit karena ikan kerapu cantang merupakan jenis ikan kanivora. Hal ini sesuai pendapat Debases *et al.*, (2014) bahwa populasi bakteri selulolitik yang lebih tinggi terdapat pada ikan herbivore. Sedikitnya jumlah bakteri selulolitik pada saluran pencernaan karena bakteri usus berubah dengan perilaku makan hewan (Kar dan Ghosh, 2008). Banyaknya bakteri *bacillus subtilis* dan *bacillus coagulans* pada penelitian ini yang dapat dilihat pada **Gambar. 6** merupakan salah satu indikasi adanya bakteri selulolitik karena kedua bakteri ini dapat memproduksi enzim selulase. Hal ini sesuai pendapat Fitriliyani, (2011) bahwa

bakteri *bacillus subtilis* dan *bacillus coagulans* dapat memproduksi enzim amilase, selulase, protease dan lipase. Data pada **Tabel. 3** menunjukkan proporsi bakteri selulolitik pada bagian anterior lebih tinggi dibandingkan dengan bagian middle maupun posterior. Tingginya proporsi bakteri selulolitik pada bagian anterior di sebabkan adanya proses penyerapan sari sari makanan oleh sekresi enzim. Pada bagian anterior usus berfungsi sebagai transportasi bahan makanan dari perut menuju usus posterior, proses pencernaan lengkap oleh sekresi enzim dari dinding dan aksesori kelenjar, serta menyerap produk akhir pencernaan ke dalam pembuluh darah dan getah bening di dindingnya (Mumford *et al*, 2007).

Tabel 4. Indeks Hidrolisis Bakteri Selulolitik Bagian Anterior, middle dan posterior Pada Saluran Pencernaan Ikan kerapu Cantang

Sampel	Indek Hidrolisis Bakteri selulolitik		
	Anterior	Middle	Posterior
Ikan Kerapu Cantang 1	0,2 – 1	0,1 – 1	0,28 – 1,16
Ikan Kerapu Cantang 2	0,14 - 1	0,125 – 3,3	0,2 – 0,66
Ikan Kerapu Cantang 3	0,25 – 1,4	0,4 – 1,16	0,3 – 1,6

Indeks hidrolisis bakteri selulolitik dapat dihitung dengan cara mengukur diameter zona bening yang terbentuk disekitar koloni dikurangi diameter koloni bakteri yang tumbuh, kemudian

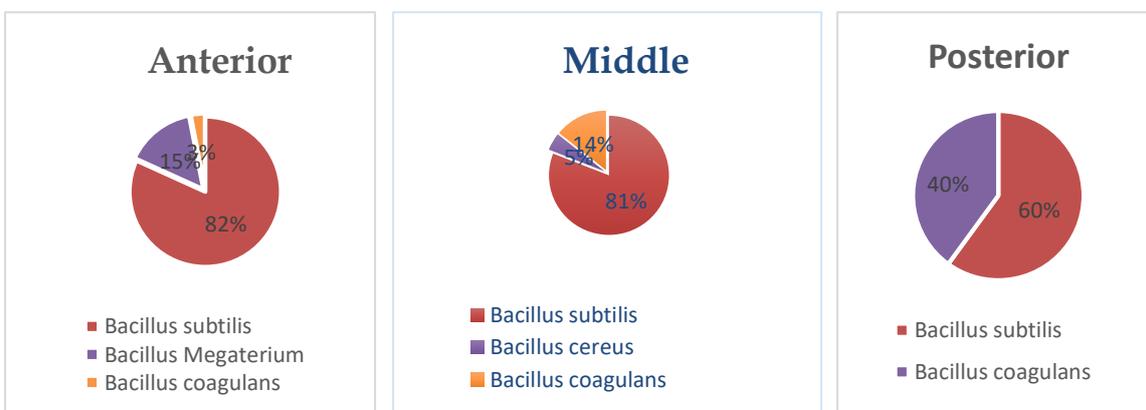
dibagi dengan diameter koloni bakteri yang tumbuh. **Tabel. 4** menunjukkan indeks hidrolisis bakteri selulolitik pada bagian anterior sebesar 0,14 – 1,4, middle 0,1 – 3,3 dan posterior 0,2 –

1,6. Menurut penelitian yang dilakukan Istiqomah *et al.*, (2019) bahwa pada ikan kerapu memiliki indeks hidrolisis selulolitik sebesar 1,4 – 1,7. Besarnya indeks hidrolisis selulolitik yang dihasilkan dari ketiga bagian, yaitu anterior, middle dan posterior menunjukkan perbedaan. Adanya perbedaan yang terjadi dikarenakan berhubungan dengan kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam menghasilkan enzim selulase. isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzim selulase yang tinggi dapat menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dan menunjukkan zona bening yang besar disekitar koloni dikarenakan perubahan struktur selulosa yang berserat

menjadi glukosa dengan struktur menjadi non serat (Rahayu, 2014).

4. Proporsi Bakteri *Bacillus* Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Cantang

Bakteri *Bacillus* adalah bakteri Gram positif yang menguntungkan serta banyak di temukan di saluran pencernaan ikan. Bakteri *Bacillus* berbentuk batang serta memiliki endospora sebagai struktur bertahan saat kondisi lingkungan yang kurang mendukung (Backman *et al.*, 1994). Hasil dari proporsi bakteri *bacillus* bagian anterior, middle, dan posterior saluran pencernaan ikan kerapu cantang pada penelitian ini dapat di lihat pada **gambar 6**.



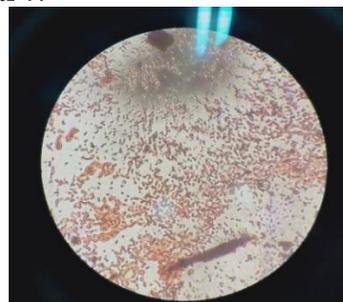
Gambar 6. Proporsi Bakteri *Bacillus* Bagian Anterior, Middle, dan Posterior pada Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Cantang

Berdasarkan **Gambar 6** menunjukkan bahwa proporsi bakteri *Bacillus* yang diperoleh dari ketiga sampel saluran pencernaan pada ikan kerapu cantang, yaitu *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus coagulans*, dan *Bacillus cereus*. *Bacillus* merupakan bakteri berbentuk batang, tergolong bakteri Gram positif, motil, menghasilkan spora yang biasanya resisten terhadap panas, bersifat aerob, katalase positif, dan oksidasi bervariasi (Barrow *et al.*, 1993). Bakteri *Bacillus* termasuk golongan mikroba redusen atau sebagai dekomposer dan jenis bakteri yang terdapat di hampir semua tempat termasuk di dalam saluran pencernaan ikan (Susanti, 2002 dalam Linggarjati *et al.*, 2013). Secara umum bakteri *Bacillus* mampu tumbuh pada suhu lebih dari 50 °C dan suhu kurang dari 5 °C serta pada konsentrasi garam tinggi. Beberapa jenis bakteri *Bacillus* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler, salah satunya adalah enzim protease, lipase, amilase, dan selulase yang akan membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa dan Werukhamkul, 2007). Selain menghasilkan enzim ekstraseluler, *Bacillus* juga menghasilkan

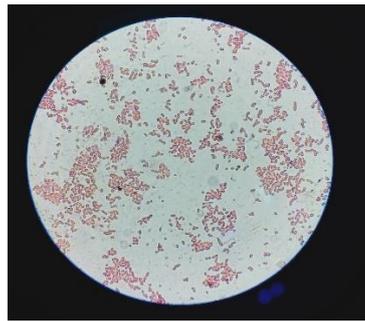
zat antibiotik yang berperan untuk melawan bakteri patogen *Vibrio sp* (Agustono *et al.*, 2012).

5. Pewarnaan Gram

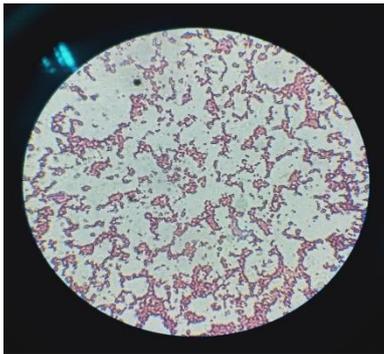
Prinsip yang digunakan dalam uji pewarnaan Gram didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel yang menyebabkan perbedaan reaksi dengan permeabilitas zat warna dan penambahan larutan pencuci (Dwidjoseputro, 1998). Hasil uji pewarnaan Gram dalam penelitian ini dapat di lihat pada **Gambar 7**.



[A]



[B]



[C]

Gambar 7. Hasil Pewarnaan Gram yang diambil dari Hasil Terbaik Keterangan [A] Anterior [B] Middle [C] Posterior

Isolat yang digunakan pada uji pewarnaan Gram, yaitu isolat yang memiliki aktivitas bakteri Selulolitik terbaik dari ketiga sampel ikan Kerapu Cantang. Hasil yang diperoleh dari ketiga perwarnaan Gram tersebut, yaitu pada gambar [A], gambar [B], dan gambar [C] bersifat Gram negative hal ini ditandai dengan penampakan sel berwarna merah muda. Warna merah muda pada uji pewarnaan Gram diduga oleh terjadinya penyerapan zat warna safranin. Menurut Firnanda *et al.*, (2013) bahwa Bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga pori-pori pada dinding sel cukup besar kemudian Bakteri Gram negatif juga memiliki dinding sel yang mengandung lipid dan lemak dengan persentase yang tinggi. Pada saat proses pewarnaan Gram, pencucian dengan menggunakan alkohol (Gram C) akan menyebabkan lemak tersebut terekstraksi sehingga bakteri berwarna merah. Adanya warna merah pada pewarnaan Gram ini karena terjadinya penyerapan zat warna safranin. Bakteri Gram negatif pada umumnya bersifat patogen karena membrane luar pada dinding sel Gram negatif dapat melindungi bakteri serta senyawa lipopolisakarida pada membran luar bakteri Gram negatif dapat bersifat toksik bagi inang (Pelczar & Chan, 2005). Beberapa jenis

bakteri Gram negatif yang bersifat patogen diantaranya *Aeromonas hydrophilla* (Munro, 1982 dalam Irmawati, 2014), *Vibrio harvei*, *Aeromonas salmonicida* serta bakteri *edwarsiella ictaluri*. (Ajitama, 2014).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa pada saluran pencernaan ikan Kerapu Cantang terdapat bakteri selulolitik yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar koloni. Rata – rata proporsi bakteri Selulolitik dari ketiga ikan pada bagian anterior 49,33% middle 38,66% dan posterior 28%. Aktivitas bakteri selulolitik dapat diketahui dengan mengukur indeks hidrolisis. Indeks hidrolisis bakteri Selulolitik dari ketiga ikan pada bagian anterior sebesar 0,14 – 1,4, middle 0,1 – 3,3 dan posterior 0,2 – 1,6.

Saran

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas bakteri Selulolitik pada saluran pencernaan ikan agar dapat disesuaikan dengan pakan yang akan diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afsahi, B., Kazemi, A., Kheirolomoom, A., Nejati, S. 2007. Immobilization of Cellulase on Non-Porous Ultra Fine Silica Particels. *Scientia Iranica*. **14** (4): 379-383.
- Agustono, Syprapto H, Muhajir. 2012. Strategi bakteri probiotik untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen didalam pencernaan kerapu *Chromileptes altivelis* dengan memproduksi beberapa bakterial substansi. *Jurnal perikanan dan kelautan*. **4**(2) ; 199-205.
- Ajitama, P., Suryanto, D., Yunasfi. 2014. *Potential Pathogen of Gram Negative Bacteria to Greasi Grouper (Ephinepelus tauvina) in Floating Net Cages*, Belawan. Scription Agricultural. Faculty of North Sumatra University
- Backman PA, Brannnen PM &Mahaffe WF. 1994. Plant Respon and Disease Control Following Seed Inoculation with *Bacillus sp*. Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. *Improving Plant Production with Rhizosphere Bacteria*. Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia
- Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A. 1993. *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria*. 3rd edition,

- Cambridge University Press, Cambridge. 353 hal.
- Belitz H D, Grosth, W & Schieberle, P. 2008. *Food Chemistry*. 4th ed. Springer Verlag. Berlin.
- Damongilala, L. 2009. Kadar Air dan Total Bakteri pada Ikan Roa (*Hemirhamphus* sp.) Asap dengan Metode Pencucian Bahan Baku Berbeda. *Jurnal Ilmiah Sains*, **9**(2): 191-198.
- Debasis., Ghoshal, T. K., & Ananda Raja, R. 2014. Characterization of enzyme-producing bacteria isolated from the gut of Asian seabass, *Lates calcarifer* and milkfish, *Chanos chanos* and their application for nutrient enrichment of feed ingredients. *Aquaculture research*, **46** (7):1688-1698.
- Dwidjoseputro, D. 1998. *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Djambatan : Malang.
- Fardiaz, 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT. Gramedia Pustaka Utama: Jakarta. 320 hlm.
- Firnanda, R., Sugito, Fakhurrazi, dan D.V.S. AmbarwatiI. 2013. Isolasi *Aeromonas hydrophila* pada sisik ikan nila (*Oreochromis Niloticus*) yang diberi tepung daun jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterinaria*. **7** (1).
- Fitriliyani, I. 2011. Aktifitas Enzim Saluran Pencernaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Pakan Mengandung Tepung Daun Lamtoro (*Leucaena leucophala*) Terhidrolisis dan Tanpa Hidrolisis dengan Ekstrak Enzim Cairan Rumen Domba. *Bioscientiae*, **8**(2): 16-31.
- Irmawati, Y. dan Jane, L.D. 2014. Bakteri pada Saluran Pencernaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah dan Agribisnis dan Perikanan*, **7**(2): 36-38.
- Istiqomah, I., Isnansetyo, A., Atitus , I. N., & Rohman , A. F. 2019. Isolasi Bakteri Selulolitik *Staphylococcus* sp. JC20 dari Saluran Pencernaan Gurita (*Octopus* sp.) untuk Kandidat Probiotik Ikan. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada* , **21**(2): 93-98.
- Kar N., Roy R.N., Sen S.K. & Ghosh K. 2008. Isolation and characterization of extracellular enzyme producing bacilli in the digestive tract of Rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) and Murrel, *Channa punctatus* (Bloch). *Asian Fisheries Science* **21**, 421–434.
- Kovács, K., 2009, Production of Cellulolytic Enzymes with *Trichoderma Atroviride* Mutants for The Biomass-To-Bioethanol Process. *Thesis*. ELTE Institute of Chemistry.
- Kurnia, K., Sadi, N. H., & Jumianto, S. 2016. Isolasi Bakteri Heterotof di situ cibuntu, jawa barat dan karakteristik resistensi asam dan logam. *Journal of Biology*, **9**(2): 74-79.
- Lee, C., Gordon, M.S., Watanabe, W.O. 1986. *Aquaculture Of Milkfish (Chanos chanos)*: state of the Art. United Stated of America: The Oceanic Institute Makapuu Point Waimanalo.
- Linggarjati, K.F., Ali, D., Subagiyo. 2013. Uji Penggunaan *Bacillus* sp. sebagai Kandidat Probiotik Untuk Pemeliharaan Rajungan (*Portunus* sp.). *Journal Of Marine Research*, **2**(1): 1-6
- Lynd L.R., P.J. Weimer, W.H. van Zyl WH and I.S. Pretorius. 2002. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66** (3):506-577.
- Pandit. Jakarta: EGC Penerbit Buku kedokteran.
- Mulyasari, Widanarni, Suprayudi, M. A., Junior, M. M., & Sunarno, M. T. 2015. Seleksi dan identifikasi Bakteri Selulolitik pendegrasi daun singkong (*Manihot esculenta*) yang di isolasi dari saluran pencernaan ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*). *JPB Kelautan dan Perikanan* , **10** (2) :111–121.
- Mulyasari, Melati, I., & Sunarno, M. T. 2015. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri selulolitik dari rumput laut *Turbinaria* sp. dan *Sargassum* sp. sebagai kadidat pendegradasi serat kasar pada ikan. *Jurnal Riset Akuakultur*, **10** (1): 51-60
- Mumford, S., J. Heidel, C. Smith, J. Marrison, B. Macconnell, and V. Blazer. 2007. *Fish Histology and Histopathology*. U.S Fish and Wildlife National Conservation Training Center, Amerika Serikat.
- Nurhidayati, S., Faturrahman, & Ghazali, M. 2015. Deteksi Bakteri Patogen yang Berasosiasi dengan *Kappaphycus* Bergejala penyakit Ice-ice. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, **1**(2): 23-30.
- Pelczar, M.J., & Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI-Press
- Purkan, Purnama, H.D., dan Sumarsih, S. 2015. Produksi Enzim Selulase dari *aspergillus niger* Menggunakan Sekam Padi dan Ampas Tebu sebagai Induser. *Jurnal Ilmu Dasar*. **16**(2): 95 – 102.
- Purwohadisantoso K., Zubaidah E., dan Saparianti, 2009. Isolasi Bakteri Asam Laktat Laktat Dari Sayur Kubis yang

- Memiliki Kemampuan Penghambatan Bakteri Patogen. *Jurnal Teknologi Pertanian*, **10**(1), 19 - 27
- Putra, A.N. dan D. Hermawan. 2014. Seleksi Bakteri Probiotik Amilolitik pada Saluran Pencernaan Ikan Gurame (*Osphronemus gauramy*). *J. Ilmu Pertanian dan Perikanan*, **3** (1):37- 45.
- Rahmaningsih, S., & Ari, A. I. 2013. Pakan dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Cantang (*Epinephellus fuscoguttatus-lanceolatus*). *Ekologia*, **13**(2), 25-30.
- Rahayu, A. G., Haryani, Y, dan Puspita, F. 2014. Uji Aktivitas Selulolitik dari Tiga Isolat Bakteri *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *JOM FMIPA*. **1**(2) 319 326
- Rohy, G.S., Rahardja, B.S., & Agustono. 2014. Jumlah Total Bakteri dalam Saluran Pencernaan Ikan Gurami (*Osphronemus gauramy*) dengan Pemberian Beberapa Pakan Komersial Yang Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. **6**(1): 21-24.
- Sukmawati, 2018. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang, *The Journal of Tropical biology* **2**(1): 46–52.
- Sumardi, C.N., Dwi, H. 2010. Isolasi *Bacillus* Penghasil Selulase dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung. *Jurnal Sains MIPA*, **16**(1): 62-68.
- Waluyo, L..2010. Teknik Metode Dasar Mikrobiologi. UMM Press. Malang.
- Wibowo H. 2010. *Pendederan Kerapu Cantang dalam Waring di Tambak (Uji Pendahuluan)*. BPBAP Situbondo Jawa Timur.
- Wongsa, P. and P. Werukhamkul. 2007. *Product Development and Technical Service, Biosolution International*. Thailand: Bangkok Industrial Park 134–(4)
- Zhang, X.Z. & Zhang, Y.H.P. (2013). Cellulases: Characteristics, Sources, Production and Applications. Bioprocessing Technologies. In Yang, S.T., El-Enshasy, H.A. and Thongchul, N. (eds.) *Biorefinery for Sustainable Production of Fuels, Chemicals, and Polymers* First Edition (pp. 131–146). John Wiley & Sons, Inc., New York.