

Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Saluran Pencernaan Belut Sawah (*Monopterus albus*) dan Uji Antagonis Bakteri untuk Menghambat Bakteri Patogen *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp.

*Isolation of Lactic Acid Bacteria from Digestive Tract of Asian Swamp Eel (*Monopterus albus*) and Bacterial Antagonist Test to Inhibit Pathogenic Bacteria *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp*

Rudi Alfinda¹, Iesje Lukistyowati¹, Henni Syawal¹, Iskandar Putra^{1*}

¹Prodi Ilmu Kelautan, Pascasarjana, Universitas Riau

Kampus Bina Widya KM. 12,5 Simpang Baru, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru 28293

*email: iskandar.putra@lecturer.unri.ac.id

Abstrak

Diterima
20 September 2022

Disetujui
11 Oktober 2022

Bakteri Asam Laktat (BAL) Merupakan salah satu bakteri pembentuk probiotik yang memiliki karakteristik, yaitu mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari hasil fermentasi. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan belut sawah (*Monopterus albus*) dan mengetahui daya hambat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tersebut dalam menghambat bakteri patogen seperti *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan mengambil saluran pencernaan belut sawah kemudian mengidentifikasi bakteri asam laktat tersebut dan karakteristik secara morfologi dan biokimia. Selanjutnya melakukan pengujian Antagonis terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. menggunakan metode cakram kirby bauer (metode cakram). Dari hasil penelitian diperoleh 5 jenis kandidat bakteri asam laktat dengan masing-masing kode BL121, BL263, BL142, BL242 dan BL342. Kelima isolat Bakteri asam laktat mampu menghambat *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. dengan rentang daya hambat 8-16 mm. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat ketiga isolat memiliki daya hambat terhadap bakteri *A. hydrophila* (12-16 mm) dan *Pseudomonas* sp (11-13 mm) dengan kode BL121, BL263 dan BL142 dan tergolong kuat. Hasil identifikasi yang diperoleh adalah bakteri dari genus *Bacillus* sp.

Kata Kunci: Belut Sawah, Bakteri Patogen, Uji Antagonis, Bakteri Asam Laktat

Abstract

Lactic Acid Bacteria (LAB) are probiotic-forming bacteria that have characteristics, like be able to ferment sugar or carbohydrates and produce lactic acid as the final product of fermentation. The purpose of this study was to obtain isolates of lactic acid bacteria from the digestive tract of Asian Swamp Eel (*Monopterus albus*) and to determine the inhibition produced by these lactic acid bacteria in inhibiting pathogenic bacteria such as *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. The method was used in this study is experimental method, by taking the digestive tract of Asian Swamp Eel and then identifying the lactic acid bacteria and characterized by morphological and biochemical characteristics and tested of the antagonist against the pathogenic bacteria *A. hydrophila* and *Pseudomonas* sp. using the Kirby Bauer disc method (disc method). From the

research results obtained 5 types of candidate lactic acid bacteria with each code BL121, BL263, BL142, BL242 and BL342. The five isolates of lactic acid bacteria were able to inhibit *A. hydrophila* and *Pseudomonas* sp. with a Inhibition range of 8-16 mm. Based on the results of the study, there were three isolates that had inhibitory power against bacteria *A. hydrophila* (12-16 mm) and *Pseudomonas* sp (11-13 mm) with codes BL121, BL263 and BL142 and were classified as strong. The identification results obtained are bacteria from the genus *Bacillus* sp.

Keyword: Asian Swamp Eel, Pathogenic Bacteria, Antagonist Test, Lactic Acid Bacteria

1. Pendahuluan

Belut Sawah (*Monopterus albus*) adalah komoditas perikanan air tawar yang bernilai ekonomi cukup tinggi dan merupakan salah satu jenis komoditas ekspor andalan. Permintaan belut dari Indonesia banyak diminati oleh negara seperti Amerika Serikat, Australia, Selandia Baru, Prancis, Italia, Spanyol, Belanda, Inggris, Hongkong, Jepang dan Korea. Harga belut tergolong sangat bagus untuk pasar lokal maupun pasar ekspor (Junariati, 2009). Harga belut segar di pasar internasional mencapai US\$ 8 – US\$ 9/kg atau Rp. 114.856 – Rp. 129.213/kg (Kordi, 2014). Kemampuan Belut dalam Menghasilkan Bakteri Asam Laktat Perlu dilakukan untuk memperkaya jenis bakteri asam laktat yang sudah ada.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik. Bakteri asam laktat memiliki karakteristik yaitu mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari hasil fermentasi. Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok dari bakteri gram positif yang tidak menghasilkan spora, berbentuk *coccus* atau basil dan memproduksi asam laktat sebagai produk akhir selama proses memfermentasikan karbohidrat atau gula (Hasanah, 2014). Bakteri asam laktat termasuk dalam kelompok bakteri baik yang umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) yang artinya aman bila dikonsumsi oleh manusia, sehingga dapat diaplikasikan sebagai agen probiotik.

Keberadaan BAL pada ikan dan peranannya sebagai probiotik sangat banyak yaitu mampu mengatur keseimbangan mikroba dalam saluran pencernaan, meningkatkan efisiensi dan pemanfaatan pakan, meningkatkan respon imun serta memperbaiki kualitas lingkungan. Mansur dan Tangko (2008) menyatakan probiotik juga mempengaruhi status kesehatan ikan karena penggunaan probiotik dalam bidang budidaya dapat menjaga keseimbangan mikroba dan mengendalikan patogen dalam saluran pencernaan.

Verschuere *et al.* (2000) menyebutkan probiotik memiliki kemampuan merangsang sistem pertahanan tubuh melawan penyakit dan meningkatkan kemampuan usus untuk menyerap sari-sari makanan sekaligus menekan populasi patogen di dalam usus. Jenis-jenis bakteri probiotik yang sering dipakai dalam budidaya antara lain seperti *Bacillus* sp., *Lactobacillus lactis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus mundtii* yang memproduksi bakteriosin untuk menghambat *Staphylococcus aureus*, dan *Listeria monocytogenes* (Campos *et al.*, 2006). Beberapa strain *Lactobacillus* mampu menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme serta mampu membunuh bakteri patogen (Abun, 2008).

Hasil penelitian Pitaloka (2015), hasil isolasi bakteri dari usus ikan gurami mampu menghasilkan zona hambat sebesar 13,2 mm terhadap bakteri *A. hydrophila*. Hasil penelitian Desniar *et al.* (2012), bakteri *L. plantarum* hasil isolasi dari bekasam ikan nila mampu menghasilkan senyawa antimikroba terhadap bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus typhimurium*, *S. aureus*, *B. cereus*, dan *L. monocytogenes*. Selain itu, beberapa strain *Lactobacillus* yang diisolasi dari Yoghurt produksi rumahan di Turki seperti strain *L. bulgaricus* memiliki aktivitas antibakteri untuk menekan pertumbuhan *E. coli*, *L. monocytogenes*, dan *S. aureus* (Akpınar *et al.*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri asam laktat apa saja yang terdapat pada belut sawah yang di pelihara dengan teknologi bioflok, untuk mengetahui jumlah kepadatan bakteri dan mengetahui aktivitas antagonis bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen.

2. Bahan dan Metode

2.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli-Oktober 2021 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

2.2. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan melakukan Isolasi BAL dari hasil penelitian terbaik saat pemeliharaan belut sawah dengan padat tebar Belut 30 ekor/25 L air pada sistem

bioflok. Isolasi dari bagian saluran pencernaan, kemudian hasil isolasi diidentifikasi secara fisika (Morfologi) dan biokimia. Isolat bakteri hasil identifikasi kemudian dilakukan uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp

2.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian terbagi menjadi beberapa tahap, yaitu persiapan alat dan bahan, pengambilan sampel dan perhitungan koloni, isolasi bakteri asam laktat, identifikasi bakteri asam laktat dan uji antagonis antara bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen.

2.3.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil untuk identifikasi BAL berasal dari usus Belut sawah hasil pemeliharaan dengan teknologi bioflok sebanyak 300 g yang membutuhkan 20 ekor belut sawah. Usus belut sawah diambil dan dibersihkan dari feces serta kotoran, kemudian digerus dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis dengan pH masing-masing pH 2, 4, dan 6. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH indikator. Setelah itu, dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*, lalu diambil 100 μ L untuk ditumbuhkan pada media MRS agar dengan teknik Tebar. lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh selanjutnya diambil dengan menggunakan jarum ose dan diisolasi kembali pada medium NA untuk pemurnian 1 dan 2. Pemurnian dilakukan sampai terbentuk koloni yang tumbuh terpisah dan selanjutnya dilakukan identifikasi.

2.3.2. Perhitungan Koloni Bakteri Asam Laktat Usus Belut Sawah

Jumlah koloni BAL dihitung dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) (Harmita *et al.*, 2004). Metode *Total Plate Count* (TPC) dilakukan dengan mengambil Sebanyak 1 mL isolat hasil sentrifuge dimasukkan ke tabung reaksi dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis, lalu dilakukan pengenceran sampai 8 kali. Sebanyak 0,1 mL pengenceran ke 8 ditanam pada cawan petri yang berisi media MRS agar, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung secara manual dengan menggunakan colony counter.

2.3.3. Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolasi bakteri merupakan pengambilan atau memindahkan mikroba dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan (Dewi, 2008). Isolasi bakteri dilakukan secara aseptik di laminar flow dengan metode tebar, yaitu dengan mengambil sampel saluran pencernaan yang sudah bersih dari kotoran sebanyak 1 mL di masukkan ke dalam tabung eppendorf yang berisi 1 mL larutan fisiologis pH 2, pH 4, dan pH 6 kemudian di *vortex* selama 1 menit lalu didiamkan selama 15 menit agar bakteri bisa beradaptasi terhadap pH lingkungan hidupnya.

Isolasi bakteri ini dilakukan pada media agar MRS dan Peremajaan bakteri menggunakan media NA. Pemurnian pertama dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 100 μ l dari tabung eppendorf dengan menggunakan mikro pipet lalu diratakan dengan menggunakan spreader pada media MRS, dan diinkubasi ke dalam inkubator selama 2 x 24 jam. Pada pemurnian kedua dan ketiga setelah bakteri tumbuh koloni yang seragam dan terpisah diinokulasikan kembali ke dalam media MRS dimurnikan dengan cara penggoresan. Pemurnian keempat bakteri yang tumbuh diinokulasikan kembali ke dalam media NA dengan cara mengambil satu koloni bakteri menggunakan jarum ose lalu dilakukan penggoresan. Bakteri yang benar-benar sudah murni kemudian dilakukan identifikasi bakteri untuk melihat jenis bakteri asam laktat yang didapatkan.

Setelah inkubasi selama 24-48 jam, dan didapatkan isolat murni maka dilakukan Identifikasi bakteri berdasarkan karakteristik fenotip, yaitu morfologi dan biokimia. Pengamatan morfologi mengacu pada Cappucino dan Sherman (2001), meliputi bentuk, tepi, elevasi, warna, ukuran koloni, sifat gram di bawah mikroskop binokuler dengan perbesaran 1.000 kali dan motilitas dan uji biokimia (uji katalase, uji oksidase, uji O/F, uji SIM, dan uji H₂S).

2.3.4. Uji Antagonis

Pengujian Antagonis Menggunakan Metode Cakram Kirby Bauer, yang mengacu pada Penelitian Wolf dan Gibbons *et al.* dalam Rendy (2017). Langkah awal yang dilakukan adalah biakan bakteri asam laktat di subkultur dalam media MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk bakteri patogen, yaitu bakteri *A. hydrophila* dan *Pseudomonas* sp. Hasil subkultur biakan dari masing-masing bakteri diambil dengan jarum ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi Media Natrium Broth steril, setelah itu dihomogenkan dengan cara divorteks dan selanjutnya bakteri diinkubasi selama 2 x 24 jam. Selanjutnya ketika bakteri sudah tumbuh maka dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan antara supernatan dan pelet. Supernatan (100%) yang sudah murni siap di pakai.

Bakteri patogen yang telah murni diambil sebanyak 50 µL dengan kerapatan sel sekitar 10^8 CFU/mL, kemudian diinokulasi pada media uji yakni NA, selanjutnya diratakan menggunakan *spreader glass*. Kertas cakram yang sudah ditetesi supernatan (100%) dari bakteri BAL sebanyak 20 µL ditanam dalam media NA tersebut. Sebagai kontrol digunakan antibiotik *Oxytetracycline*. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37° C secara anaerob. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan mikrometer. Penghambatan BAL terhadap bakteri patogen ditunjukkan oleh zona jernih yang terbentuk pada media uji. Diameter zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk, kemudian dibandingkan dengan diameter antibiotik control.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik Morfologi Bakteri Asam Laktat

Hasil inokulasi pada media agar MRS ditemukan sebanyak 5 isolat bakteri asam laktat dengan ukuran koloni berbeda dari masing-masing pH. pH 2 terdapat 2 jenis isolat dengan kode BL121 dan BL142, pH 4 terdapat 2 Isolat dengan kode BL242 dan BL263 dan pH 6 terdapat 1 isolat dengan kode BL342. Kelima isolat selanjutnya dilakukan identifikasi baik secara morfologi dan uji biokimia. Kemudian dilakukan uji antagonis untuk melihat zona hambatan dari bakteri asam laktat tersebut.

Morfologi koloni semua isolat bakteri mempunyai karakter yang hampir sama (Tabel 1), yaitu berbentuk bulat. Sebagian besar koloni berwarna putih susu dan putih krem, dengan tepian rounded serta elevasi cembung. Ukuran koloni berkisar antara 0,25 mm sampai 2,0 mm. Bentuk sel bakteri adalah batang, Gram positif, motil dan non-motil. Adapun hasil pengamatan morfologi koloni dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Morfologi Bakteri Asam Laktat

Kode Isolat	Warna Koloni	Morfologi Koloni (Bentuk, Tepian, Elevasi)	Gram	Bentuk Bakteri
BL121	Putih susu/ krem	Bulat, Rounded, Cembung	(+)	Basil
BL263	Putih susu/ krem	Bulat, Rounded, Cembung	(+)	Basil
BL142	Krem	Bulat, Rounded, Cembung	(+)	Basil
BL242	Krem	Bulat, Rounded, Cembung	(+)	Basil
BL342	Krem	Bulat, Rounded, Cembung	(+)	Basil

Keterangan : + = Terjadi reaksi menghasilkan hasil positif; - = Tidak terjadi reaksi menghasilkan hasil negative

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni sebagian besar isolat mempunyai karakteristik yang hampir sama. Dengan merujuk kepada buku identifikasi bakteri menurut Holt *et al.* (2000), maka semua isolat bakteri yang diuji dapat dikategorikan kedalam kelompok bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat tergolong bakteri Gram positif dan Katalase negatif yang menghasilkan asam laktat dalam fermentasi karbohidrat, dan merupakan flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan hewan, baik itu hewan darat maupun hewan air (Sulistijowati dan Mile, 2016). Namun ada beberapa bakteri asam laktat yang bersifat Katalase positif dan Motil positif dari genus *Bacillus* sp. Bakteri yang mendekati genus ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut : warna koloni putih susu / krem, bentuk koloni bulat dengan tepian keriput. Sel berbentuk batang dan lurus, berukuran 0,5-2,5 x 1,2-10 µm, dan sering tersusun dalam bentuk sepasang atau rantai, dengan ujung bundar atau empat persegi. Pewarnaan sel Gram Positif (+), motil, katalase dan oksidase positif, metil red negatif, optimum pada suhu 30-37°C dan tumbuh baik pada NaCl 1-3% (Feliatra *et al.*, 2004).

3.2. Karakteristik Biokimia Bakteri Asam Laktat

Hasil penelitian berdasarkan sifat biokimia menunjukkan lima isolat bakteri memiliki karakteristik yang beragam. Seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Biokimia Bakteri Hasil Identifikasi Saluran Pencernaan Belut Sawah

No	Hasil Uji	Kode Isolat				
		BL121	BL263	BL142	BL242	BL342
1	O/F	F	F	F	F	F
2	Oksidase	-	-	-	-	-
3	Katalase	+	+	-	-	-
4	Motility	Motil	Motil	Non Motil	Non Motil	Non Motil
5	Indol	-	-	-	-	-
6	TSIA	A/A	A/A	K/A	K/K	K/K
7	H ₂ S	-	-	-	-	-
8	Genus	<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>

Keterangan: (+) = Terjadi reaksi menghasilkan hasil positif; (-) = Tidak terjadi reaksi menghasilkan hasil negatif; F= Fermentatif; A/A = Asam/Asam; K/A = Alkali/Asam; K/K= Alkali/Alkali

Berdasarkan Tabel 2. Ketiga isolat (BL142, BL242 dan BL342) memiliki hasil uji Gram positif, katalase negatif, oksidase negatif, motilitas negatif, tidak memproduksi H₂S, Indol negatif dan TSIA bersifat asam/alkali

dan Alkali, dan hasil uji oksidatif fermentatif bersifat Fermentatif. Sedangkan untuk 2 isolat BL1212 dan BL263 memiliki uji biokimia hasil uji Gram positif, katalase positif, oksidase negatif, motilitas positif, tidak memproduksi H₂S, Indol negatif dan TSIA bersifat Asam dan asam, dan hasil uji oksidatif fermentatif bersifat Fermentatif. Hasil uji pewarnaan Gram diperoleh bahwa sel bakteri mampu menyerap warna ungu, hal ini menunjukkan BAL bersifat Gram positif (+) dengan bentuk basil.

Yusra *et al.* (2014) menyatakan bahwa pengamatan mikroskopis terhadap bakteri Gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Hal ini disebabkan karena golongan bakteri Gram positif memiliki kandungan lipid yang lebih rendah dari golongan bakteri Gram negatif sehingga dinding sel bakteri akan lebih mudah untuk larut akibat dari adanya perlakuan dengan alkohol. Larutnya dinding sel menyebabkan ukuran pori-pori sel menjadi lebih kecil dan daya permeabilitasnya berkurang, sehingga zat warna kristal violet yang merupakan zat warna utama tidak dapat keluar dari sel dan menyebabkan warna sel menjadi ungu. Hasil pengamatan morfologi yang didapatkan selama penelitian sesuai dengan hasil penelitian Sarbaini (2015), yang menyatakan bahwa morfologi bakteri asam laktat ada yang berbentuk bulat besar dan bulat kecil, berwarna krem dan krem tua, serta berbentuk batang (*Basil*) dan bulat (*Coccus*) setelah dilakukan pewarnaan Gram.

Hasil identifikasi yang ditemukan selama penelitian berdasarkan hasil uji fisika dan uji biokimia terdapat 5 isolat yang tergolong ke dalam kriteria genus *Bacillus* dan *Lactobacillus*. Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan, kriteria bakteri yang didapat sesuai dengan pendapat Hatmanti (2000), yang menyatakan bahwa warna koloni pada *Bacillus* umumnya berwarna krem terkadang krem tua, koloni berbentuk bulat dengan tepian licin, dan tidak mengkilat. Bentuk koloni dan ukurannya sangat bervariasi tergantung dari jenisnya dan pada umumnya memiliki ukuran 0,3 – 2,2 µm x 1,2 – 7,0 µm. Selain itu *Bacillus* sp. merupakan bakteri berbentuk batang, setiap jenis juga menunjukkan kemampuan dan ketahanan yang berbeda-beda dalam menghadapi kondisi lingkungannya, misalnya ketahanan terhadap panas, asam, kadar garam, dan sebagainya.

Peran *Bacillus* dalam budidaya dengan sistem teknologi bioflok, memiliki berbagai keuntungan. Menurut Iribaren *et al.* (2012), bakteri ini mampu menjadi solusi untuk meningkatkan pertumbuhan pada ikan, efisiensi pakan, pencernaan pakan, meningkatkan efektivitas enzim-enzim dalam pencernaan, menghambat bakteri patogen berbahaya dan meningkatkan sistem imun tubuh. *Bacillus* sp. diyakini mampu meningkatkan daya cerna ikan karena bakteri ini mampu berkompetisi dengan bakteri patogen dalam mendapatkan nutrisi dan ruang permukaan dinding usus ikan sehingga pertumbuhan bakteri patogen pun akan terhambat.

3.3. Jumlah Kepadatan Bakteri Asam Laktat Usus Belut Sawah

Perhitungan Sel bakteri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jumlah koloni dalam satu media tumbuh bakteri berdasarkan jumlah sel yang tumbuh pada media agar MRS (Sharah *et al.*, 2015). Total Sel bakteri selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kepadatan Koloni Bakteri Asam Laktat

No	Kode Isolat	Kepadatan Bakteri(TPC) (x 10 ⁸ CFU/ ml)
1	BL121	40
2	BL263	63
3	BL142	35
4	BL242	30
5	BL342	27

Tabel 3, dapat dilihat jumlah koloni bakteri pada tingkat pengenceran 10⁻⁸ menunjukkan bahwa jumlah koloni tertinggi pada media tumbuh bakteri yaitu pada perlakuan BL263 dengan nilai rata-rata sebesar 63 koloni, sedangkan jumlah koloni terendah yaitu pada perlakuan BL342 dengan rata-rata 27 koloni. Hasil tertinggi dikarenakan pada proses pemeliharaan dipengaruhi oleh karbon dari sistem pemeliharaan di teknologi bioflok.

Sistem teknologi bioflok memerlukan bantuan sumber karbon sebagai sumber makanan dari bakteri tersebut. Penambahan sumber karbon molase mempengaruhi kepadatan bakteri yang terdapat dalam wadah. Hal ini diduga karena molase merupakan gula dalam bentuk sederhana sehingga dapat dengan mudah dimanfaatkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya. Hal ini juga berkaitan dengan fase hidup bakteri uji, yaitu berada di fase eksponensial yang merupakan fase pertumbuhan cepat sehingga menjadikan pertumbuhan bakteri semakin tinggi. Hal ini sesuai dengan acuan menurut Willey *et al.* (2009), yang menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri mengalami beberapa fase, yaitu fase lag (fase lambat atau lag phase), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat atau log phase), fase stationer (fase statis atau stationary phase) dan fase penurunan populasi (decline). Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu tertentu. Sedangkan pertumbuhan bakteri tertinggi diduga terdapat pada fase eksponensial.

Pertumbuhan pada dasarnya adalah hasil metabolisme, suatu reaksi kimia terarah yang berlangsung di dalam sel yang dikatalisis oleh enzim. Menurut Subagiyo *et al.* (2015) Pertumbuhan erat kaitannya dengan suhu. meningkatnya suhu maka reaksi kimia akan meningkat, Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energi kinetik reaktan, maka peningkatan suhu akan menyebabkan peningkatan pertumbuhan hingga suatu saat

peningkatan suhu tidak diikuti dengan meningkatnya pertumbuhan. Penentuan pengaruh pH awal penting untuk dilakukan karena pH awal kultur bakteri yang berpengaruh pada laju pertumbuhan spesifik.

3.4. Uji Antagonis terhadap Bakteri Patogen *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.*

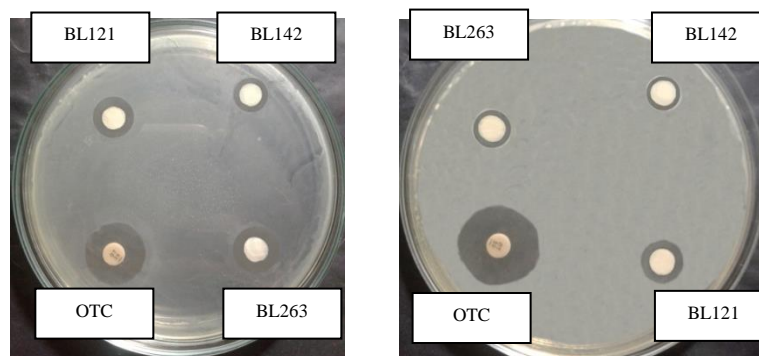
Aktivitas antimikroba dengan menggunakan beberapa bakteri patogen, seperti *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* menunjukkan bahwa dari seluruh isolat yang diuji menghasilkan 3 isolat memiliki kemampuan melawan bakteri patogen yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk. BAL yang telah diisolasi dari usus Belut Sawah yang dipelihara dengan sistem bioflok mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba yang dihasilkan dari bakteri asam laktat pencernaan belut sawah yang dipelihara dengan sistem bioflok tergolong kuat dan hal ini sesuai dengan pendapat Indriani (2007), menyatakan bahwa aktivitas antibakteri tergolong lemah jika zona hambat yang terbentuk kurang dari 5 mm, sedang jika zona hambat berkisar antara 5 – 10 mm, kuat jika zona hambat berkisar antara 10 – 20 mm, dan tergolong sangat kuat jika lebih dari 20 mm. Aktivitas antimikroba dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Zona Hambat Bakteri Asam Laktat terhadap *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.*

No	Kode Isolat	Diameter Clear Zone (mm)	
		<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Pseudomonas sp</i>
1	BL121	14	13
2	BL263	16	12
3	BL142	12	11
4	BL242	8	8
5	BL342	8	8
6	Kontrol (OTC)	19	22,21

Keterangan : OTC : Antibiotik Oxytetracycline

Kelima isolat memiliki kemampuan penghambatan yang berbeda – beda pada bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* Terdapat 3 Isolat terbaik yang mampu menghambat kedua jenis bakteri patogen tersebut. BL121 memiliki zona hambat pada bakteri *A. hydrophila* 14 mm dan *Pseudomonas sp.* 13 mm. BL263 memiliki zona hambat pada bakteri *A. hydrophila* 16 mm dan *Pseudomonas sp.* 12 mm dan isolat BL142 memiliki zona hambat pada bakteri *A. hydrophila* 12 mm, dan *Pseudomonas sp.* 11 mm. Adapun gambar hasil uji antagonis bakteri isolat dapat dilihat pada Gambar 1.



A. hydrophila

Pseudomonas sp

Gambar 1. Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat Terhadap Bakteri Patogen

Ket : OTC : Antibiotik Oxytetracycline

Zona hambat terbentuk karena adanya interaksi antara isolat bakteri asam laktat yang mendesak pertumbuhan bakteri patogen. Bakteri asam laktat diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif berupa enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dan merusak komponen struktur dinding sel dari bakteri patogen (Situmeang, 2017). Uji Antagonis terhadap bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dan *A. salmonicida* memberikan zona hambatan terhadap dengan zona hambat di atas 15 mm (Balcazar *et al.*, 2008).

Bakteri Asam Laktat Memiliki Efek penghambatan yang ditunjukkan oleh masing-masing isolat bakteri asam laktat dapat disebabkan oleh asam atau substansi seperti bakteriosin (Aslim *et al.*, 2005). Selain produksi bakteriosin sebagai cara kerja antagonistik dari probiotik, produksi asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat juga penting, seperti aktivitas bakteri asam laktat terhadap patogen pada ikan Turbot (Vazquez *et al.*, 2005) dan asam- asam organik pada salmon asap (Tome *et al.*, 2006).

Perbedaan dari zona hambat yang dihasilkan antara isolat bakteri asam laktat dari masing-masing isolat dalam menghambat bakteri patogen diduga disebabkan oleh perbedaan senyawa aktif yang dihasilkan. Senyawa yang dihasilkan berupa senyawa aktif atau enzim hidrolitik yang saling berinteraksi. Umur biakan bakteri juga

mempengaruhi jumlah besar kecilnya zona hambatan. Beberapa lain yang mempengaruhi diantaranya seperti senyawa aktif yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi. Penurunan zona hambat juga dapat terjadi karena isolat bakteri sudah masuk fase kematian disebabkan sumber nutrisi pada media terbatas (Situmeang, 2017).

Aktivitas antagonisme yang kuat terjadi karena Bakteri Asam Laktat mendegradasi dinding sel bakteri patogen sehingga efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen jamur dengan tersebut. Kemampuan antagonis ditandai dengan adanya penghambatan berupa zona jernih disekitar kertas cakram yang digunakan pada uji antagonis.

Isolat Bakteri pada penelitian ini termasuk golongan bakteri asam laktat yang khusus menghasilkan asam laktat dan asam asetat. pada umumnya Bakteri Asam Laktat sering dijumpai pada makanan fermentasi, produk olahan ikan, daging, susu, dan buah-buahan. Sejauh ini, telah diketahui bahwa keberadaan bakteri tersebut tidak bersifat patogen dan aman bagi kesehatan dan berpotensi sebagai produk probiotik. Sifat yang menguntungkan dari bakteri Bakteri Asam Laktat dalam bentuk probiotik adalah dapat digunakan untuk mendukung peningkatan kesehatan. Bakteri tersebut berperan sebagai flora normal dalam sistem pencernaan. Fungsinya adalah untuk menjaga keseimbangan asam dan basa sehingga pH dalam kolon konstan (Imadibrata, 2010). Selanjutnya Guessa dan Kihal (2004) menyatakan wild type dari golongan bakteri asam laktat memiliki potensi dalam memproduksi bakteriosin dan bersifat probiotik.

Bakteri asam laktat dapat diterima sebagai probiotik harus memiliki karakteristik sebagai berikut: isolat BAL harus berasal atau diisolasi dari sumber yang jelas, tidak patogen, mempunyai ketahanan hidup (viabilitas) pada media dengan pH rendah, mampu tumbuh pada media yang mengandung garam empedu dengan konsentrasi tinggi, mampu menempel (adherent) dan berkolonisasi pada sel epitel usus, mempunyai aktivitas antibakteri serta mempunyai efek yang menguntungkan untuk kesehatan.

Beberapa keunggulan yang dimiliki oleh BAL yaitu: 1) BAL mampu meningkatkan nilai cerna pada makanan fermentasi karena dapat melakukan pemotongan pada bahan makanan yang sulit dicerna sehingga dapat langsung diserap oleh tubuh, misalnya protein diubah menjadi asam-asam amino (Guerra *et al.*, 2006), 2) BAL dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang bersifat patogen dan pembusuk pada bahan makanan sehingga dapat memperpanjang masa simpan produk tersebut. Senyawa senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL antara lain: asam laktat, hidrogen peroksida, CO₂, dan bakteriosin (Holzapfel *et al.*, 1995), 3) BAL mampu menghasilkan senyawa senyawa yang dapat memberikan rasa dan aroma spesifik pada makanan fermentasi (Rahayu, 2001).

4. Kesimpulan

Bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus belut sawah yang dipelihara dengan sistem bioflok bersifat antagonis terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* dan *Pseudomonas sp.* Berdasarkan hasil penelitian, ketiga isolat memiliki daya hambat terhadap bakteri *A. hydrophila* (12-16 mm) dan *Pseudomonas sp* (11-13 mm) dan tergolong kuat. Hasil identifikasi yang diperoleh adalah bakteri dari genus *Bacillus sp* dari hasil uji ketiga isolat tidak berbahaya dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen bagi ikan sehingga layak dijadikan probiotik.

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk penggunaan bakteri asam laktat hasil identifikasi terhadap pertumbuhan, daya cerna ikan terhadap pakan, serta penggunaannya terhadap kegiatan budidaya untuk dijadikan sebagai bakteri probiotik.

6. Referensi

- Abun. (2008). *Hubungan Mikroflora dengan Metabolisme dalam Saluran Pencernaan Unggas dan Monogastrik. Makalah Ilmiah.* Fakultas Peternakan. Universitas Padjadjaran.
- Akpinar, A., Yerlikaya, O., Kilic, S. (2011). Antimicrobial Activity and Antibiotic Resistance of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* Strain Isolated from Turkish Homemade Yogurts. *African Journal of Microbiology Research.* 5(6): 675-682.
- Aslim, B., Z.N. Yuksekdag, E. Sarikaya, Y. Beyatli. (2005). Determination of The Bacteriocin-Like Substances Produced by Some Lactic Acid Bacteria Isolated from Turkish Dairy Products. *LWT.* 38 : 691-694.
- Balcazar, J.L., de Blas, I., Ruiz., Zanzuela, I., Vendrell, D., Girones, O., Muzquiz, J.L. (2008). Enhancement of the Immune Response and Protection Induced by Probiotic Lactic Acid Bacteria Against Furunculosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal Article, Research Support, Non-4.S. Gov't.*
- Campos, A., O. Rodriguez, P. Calo-Mata, M. Prado and J. Barros-Velazquez. (2006). Preliminary characterization of bacteriocins from *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium*, and *Enterococcus mundtii* strains isolated from turbot (*Psetta maxima*). *Food Research International,* 39: 356-364

- Cappuccino, J.G., Sherman, N. (2001), "*Microbiology: A Laboratory Manual*". New York: Addison-Wesley Publishing Company.
- Desniar., Rusmana, I., Suwanto, A., Mubarik, N.R. (2012). Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Asal Bekasam. *Jurnal Akuatika*. 3(2): 135-145.
- Dewi, I.M. (2008). Isolasi Bakteri dan Uji Aktifitas Kitinase Termofilik Kasar dari Sumber Air Panas Tinggi Raja, Simalungun, Sumatera Utara. Tersedia dari Tesis. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara, Medan
- Feliatra., Effendi, I., Suryadi, E. (2004). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. 6(2): 75-80.
- Guerra, N.P., Bernardez, P.F., Mendez, J., Cachaldora, P., Castro, L.P. (2006). Production of Four Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria and Their Evaluation as Feed Additives for Weaned Piglets. *Animal Feed Science and Technology*. 134: 89-107.
- Gussa, B., & Kihal, M. (2004). Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Arid Zone Raw Goats' Milk. *African Journal of Biotechnology*. 3(6):339-342.
- Harmita, & Radji, M. (2004). *Analisis Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. pp. 62-3.
- Hasanah, U. (2014). Bakteri Asam Laktat dari Daging Ikan Peda sebagai Agen Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*. 12(23):1-8
- Hatmanti, A. (2000). Penganalan *Bacillus* spp. *Oseana*, Vol. XXV(1): 31-41
- Holt, J.G., N.R. Kreig, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, & S.T. Williams. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Holzappel, W.H.P., Haberer, R., Geisen, J., Bjorkroth., Schillinger. (2001). Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganism in Food and Nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*.
- Imadibrata, M. (2010). *Probiotik-Peranannya dalam Dunia Medis*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Indriani, N. (2007). *Aktivitas Antibakteri Daun Senggugu (Cleodendron serratum L)*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Iribarren, D., P. Dagá. M. T. Moreira., G. Feijoo. (2012). Potential environmental effects of probiotics used in aquaculture. *Aquacult Int*, 20, 779-789
- Junariati, M.F. (2009). *Panen Belut 3 Bulan di Media Air Bening Tanpa Lumpur*. Penebar. Jakarta.
- Kordi, M.G.H. (2014). *Budidaya Belut di Media Air Secara Organik*. Penerbit Lily Publisher. Yogyakarta.
- Madigan, M.T. & Martinko, J.M. (2006). *Biology of Microorganism*. 9th Edition. Prentice Hall International, Inc. New Jersey.
- Mansur, A., Tangko, A.M. (2008). Probiotik : Pemanfaatannya untuk Pakan Ikan Berkualitas Rendah. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau. *Jurnal Akuakultur*. 3(2): 145-149.
- Pitaloka, L., Lukistyowati, I., Nursyirwani. (2015). Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik dari Usus Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) untuk Pengendalian *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM)*.
- Sarbaini. (2015). Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik dari Usus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) untuk Pengendalian *Streptococcus agalactiae*. Tersedia dari Pekanbaru: Universitas Riau.
- Subagiyo., Margino, S., Triyanto., Setyati, W.A. (2015). Pengaruh pH, Suhu dan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Asam Organik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Intestinum Udang Penaeid. *Ilmu Kelautan*, 20(4): 187-194.
- Sharah, A., Karnila, R., Desmelati. (2015). Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger* sp.). *JOM*. 1-19.
- Susana, M., Feliatra., Lukistyowati, I. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Heterotrofik pada Perairan Laut Kawasan Pemukiman dan Perairan Bersalinitas Rendah di Kelurahan Purnama Dumai Provinsi Riau. *JOM* 1-16
- Sulistijowati, S.R., Mile, L. (2016), Identification of Lactic Acid Bacteria Isolates from Intestine of Milkfish (*Chanos chanos*) Potential Activity Against Pathogen Bacteria Used PCR 18s Rrna Methode. *International Journal Bio-Science and Bio-Technology*, 8(3), 127-134.
- Situmeang, S.M.F., Musthari, & Riadi, S. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Biosains*. 3(3):144-152.
- Tome, Y., P. Teixeira, & P.A. Gibbs. (2006). Anti-Listerial Inhibitory Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Cold Smoked Salmon. *Food Microbiol*. 23: 399-405.
- Vazquez, J.A., M.P. Gonzales, & M.A. Murado. (2005). Effects of Lactic Acid Bacteria Cultures on Pathogenic Microbiota from Fish. *Aquaculture*. 245: 149-161.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. (2000). A Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology And Molecular Biology Review* 64: 2527-2533.

- Willey, J.M., Sherwood, L.M., & Woolverton, C.J. (2009). *Prescott's Principles of Microbiology*. Boston: McGraw-Hill Higher Education
- Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik Pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*. 6(2):1-7.
- Yusra, Azima, F., Novelina & Periadnadi. (2010). Isolasi dan Identifikasi Mikroflora Indigenous dalam Budu. *Jurnal Agritech*. 34(3): 316-321.