

**SELEKSI BAKTERI BERPOTENSI PROBIOTIK
DARI IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) INDEGENOUS JANTHO BERDASARKAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI SECARA IN VITRO**

**SELECTION INDIGENOUS PROBIOTIC BACTERIA FROM
(*Cyprinus carpio*) JANTHO BASED ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY IN VITRO STUDY**

Cut Yulvizar^{1*}, Irma Dewiyanti², Cut Nanda Defira¹

INFO ARTIKEL

Submit: 7 April 2014
Perbaikan: 1 Mei 2014
Diterima: 8 Mei 2014

Keywords:

Probiotic, *Aeromonas hydrophila*, *Erdwersiella tarda*

ABSTRACT

One of the alternatives to antimicrobials in disease control is probiotic bacteria as microbial control agents. This research was carried out to obtain indigenous isolates of probiotic bacteria from digestive tract *Cyprinus carpio*. Selection criteria were appointed based on the capacity to produce the antibacterial compound against the pathogen and grow at pH 2. The research was conducted from May to July 2014 at Microbiology Laboratory, Biology Department, UNSYIAH. The research was carried out by experiment laboratories. The planting of the bacteria was carried out with the pour-plate method in nutrient agar medium. The result show that there are six bacterial isolates varied morphological colony and cell and able to produce antibacterial compounds for active against *A. hydrophila* and *E. tarda*.

1. PENDAHULUAN

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah salah satu jenis ikan budidaya air tawar yang paling banyak dibudidayakan dan bernilai ekonomis tinggi. Saat ini ikan mas memiliki banyak *strain* atau ras. Perbedaan sifat dan ciri dari ras disebabkan adanya interaksi antara genotipe dan lingkungan kolam, musim dan cara pemeliharaan yang terlihat dari penampilan bentuk fisik, bentuk tubuh dan warnanya. Ikan mas indegenous Jantho yang berasal dari Kabupaten Aceh Besar memiliki keunggulan kompetitif yaitu rasa yang lebih gurih, tidak tercemar bau tanah, respon terhadap pakan, dan ukuran yang lebih panjang. Berdasarkan

assessment [9] bahwa banyak petani budidaya ikan mas di Kabupaten Aceh Besar mengeluh serangan penyakit sehingga kualitas benih yang rendah dan kekurangan induk yang berkualitas. Penyakit yang menyerang ikan mas antara lain disebabkan oleh virus, bakteri, jamur dan protozoa. Beberapa bakteri patogen yang menimbulkan permasalahan bagi pembudidaya ikan adalah *Vibrio sp.*, *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Streptococcus.*, *Pasteurella sp.*, dan *Mycobacterium sp* [6]. *Aeromonas liquefaciens*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas fluorescens* dapat menyebabkan infeksi klinis pada ikan mas [3].

Permasalahan penyakit yang disebabkan bakteri patogen dapat diatasi dengan pemberian antibiotik sebagai upaya kemoterapi untuk menghilangkan penyakit. Peningkatan penggunaan antibiotik dapat diikuti oleh bertambahnya penyakit patogenik, karena meningkatnya resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia (antibiotik). Antibiotik menyebabkan

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh – 23111, Indonesia

²Jurusan Budidaya Perikanan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh – 23111, Indonesia

*email: yunda_mnz@yahoo.com

mutasi kromosom patogen atau akuisisi plasmid. Penggunaan bakteri probiotik sebagai agen biokontrol pada perikanan menawarkan alternatif pemecahan untuk menanggulangi permasalahan tersebut. Dasar pendekatan ini adalah dengan menggunakan aktivitas mikroorganisme yang dapat menekan atau menghambat pertumbuhan bakteri patogen tanpa menimbulkan dampak buruk pada sistem keseimbangan ekologis bakteri. Cara ini telah terbukti berhasil dan banyak digunakan pada usaha hewan ternak.

Penggunaan probiotik sebagai bentuk pengendalian biologis (*biological control*) karena perannya dalam membatasi atau membunuh hama dan penyakit, juga berperan dalam peningkatan kualitas air media pemeliharaan ikan. Prinsip dasar kerja probiotik adalah pemanfaatan kemampuan mikroba dalam meningkatkan penyerapan pada saluran pencernaan ikan [4]. Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan pada metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan antibiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen [12]. Akan lebih efektif apabila probiotik menggunakan jenis mikroorganisme indigenus (asli) yaitu yang diperoleh berasal dari saluran pencernaan dan lingkungan yang sama/mirip dengan hewan inang.

Secara umum hasil penelitian ini bertujuan mengkarakterisasi bakteri berpotensi probiotik yang memiliki *immunostimulant* sehingga mampu memproteksi inangnya terhadap serangan penyakit.

2. MATERIAL DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala Banda Aceh, dari bulan Mei sampai bulan Juli 2014.

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah induk ikan mas indigenus Jantho, *Tryptone Soya Agar* (TSA) merck, *Sulfid Indol Motility* (SIM) Merck, akuades, NaCl 0,9%, *paper disk*, *skim milk* (4%) dan isolat uji bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Erdwersiella tarda*, garam empedu, deterjen, kristal violet, lugol iodine, safranin, alkohol 95%, kapas, *paper disk*, buffer phospat, kuning telur.

Alat-alat penelitian yang disiapkan adalah cawan petri, gelas ukur, lampu bunsen, serta alat-alat gelas yang secara rutin digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

Prosedur Kerja

Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian harus disterilisasi terlebih dahulu. Alat-alat gelas seperti: gelas piala, labu erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur disterilisasi secara sterilisasi uap menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Semua alat harus dibungkus menggunakan plastik dan dimasukkan ke dalam autoklaf. Alat-alat seperti pipet tetes dan cawan porselen disterilisasi menggunakan alkohol.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Berpotensi Probiotik

Isolat bakteri diisolasi dari pencernaan berupa lambung dan usus ikan mas indigenus Jantho segar. Usus dan lambung ditimbang dan diukur panjangnya, kemudian digerus dan setiap 1 g diencerkan dengan 9 ml larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril pada pH 2. Kondisi ini bertujuan hanya bakteri probiotik yang dapat tumbuh dan berkembang pada pH tersebut. Pengenceran berseri dilakukan dari 10⁻² sampai 10⁻⁵ dengan cara mengambil 0,1 ml dari tempat penggerusan dan dimasukkan ke dalam *ependorf* yang berisi 0,9 ml fisiologis sebagai pengenceran pertama, selanjutnya dari *ependorf* pertama diambil sebanyak 0,1 ml untuk pengenceran kedua dan seterusnya hingga pengenceran terakhir yaitu pengenceran ke lima. Inokulum yang dikultur dengan metode cawan sebar pada media TSA adalah pengenceran ke empat dan ke lima. Kultur ini kemudian diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 jam agar bakteri tumbuh. Isolat yang digunakan adalah isolat yang tumbuh secara terpisah. Isolat diambil dengan jarum ose yang digoreskan di media TSA pada cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 jam. Metode purifikasi dilakukan berulang-ulang dengan teknik dan media yang sama sampai didapatkan koloni bakteri tunggal dan seragam sebagai isolat murni.

Seleksi Bakteri Berpotensi Probiotik

Uji Aktivitas Antagonistik Terhadap Bakteri Patogen

Seleksi bakteri berpotensi probiotik berdasarkan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen dilakukan dengan teknik difusi agar dengan menggunakan *paper disk*. Bakteri patogen yang digunakan untuk uji aktivitas antagonistik ini adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Erdwersiella tarda* yang merupakan koleksi Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu Aceh. *Tryptone Soya Agar* (TSA) yang telah dicampur dengan bakteri patogen pada pengenceran 10⁻⁵ dituangkan ke

dalam cawan petri steril, kemudian *paper disk* steril yang telah dicelupkan ke dalam kultur cair isolat bakteri berpotensi probiotik diletakkan dengan cara ditekan ke atas media TSA. Masing-masing isolat bakteri berpotensi probiotik diuji daya hambatnya dengan bakteri patogen dengan tiga kali ulangan. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Aktivitas antagonistik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media. Isolat yang menghasilkan zona bening berarti menunjukkan kemampuan menghambat bakteri patogen.

Karakterisasi Bakteri Probiotik

Karakterisasi dilakukan dengan mengamati morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni, pengamatan morfologi sel yang meliputi uji pewarnaan Gram, bentuk sel dan uji motilitas.

1. Morfologi koloni

Pengamatan morfologi koloni dilakukan setelah mendapatkan biakan murni. Pengamatan ini meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni bakteri [5].

2. Morfologi sel

a. Pewarnaan Gram

Kaca objek dibersihkan dengan alkohol dan dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen, kemudian diambil isolat bakteri dengan jarum ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek. Isolat bakteri kemudian ditetesi ungu violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi lagi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 95% selama 30 detik, kemudian dialiri air dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi safranin selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan kertas penghisap dan dikeringkan, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet, sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin (pewarna tandingan) [5].

b. Bentuk sel

Bakteri yang tumbuh kemudian diamati bentuk selnya secara mikroskopik pada kaca preparat sehingga dapat diketahui bentuknya (kokus, batang atau spiral).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Bakteri Berpotensi Probiotik

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak enam isolat yang berpotensi sebagai bakteri probiotik telah diisolasi dari lambung dan usus ikan mas Jantho (*Cyprinus carpio*). Proses isolasi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan media TSA. Data penelitian menunjukkan setiap isolat yang berpotensi sebagai probiotik memiliki karakteristik morfologi yang berbeda-beda. Sifat morfologi yang diamati dalam penelitian ini meliputi morfologi koloni dan morfologi sel (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik morfologi sel dari enam isolat bakteri

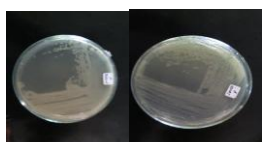
No	Isolat	Morfologi sel		
		Pewarnaan Gram	Bentuk Sel	Motility
1	Isolat 1	Positif	Kokus	Positif
2	Isolat 2	Negatif	Basil	Positif
3	Isolat 3	Negatif	Basil	Positif
4	Isolat 4	Negatif	Basil	Negatif
5	Isolat 5	Negatif	Basil	Positif
6	Isolat 6	Negatif	Basil	Negatif

Morfologi koloni yang diamati pada isolat bakteri meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni. Karakteristik dari morfologi koloni dan isolat yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan penampilan koloni isolat-isolat tersebut pada media TSA-agar bervariasi. Tepian koloni licin, elevasi koloninya datar. Warna koloni terdiri dari krem dan putih susu. Hasil penelitian [1] menunjukkan hasil yang hampir sama bahwa bakteri yang diisolasi dari usus dan air pemeliharaan ikan lele menampilkan koloni yang berwarna putih transparan, putih krem, kuning krem dan kuning.

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni dari enam isolat bakteri

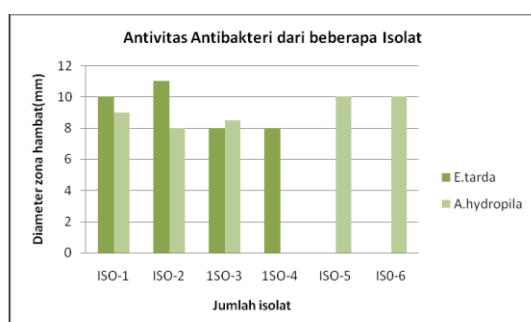
No	Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
1	Isolat 1	Bulat	Putih susu	Licin	Datar
2	Isolat 2	Bulat	Putih susu	Licin	Datar
3	Isolat 3	Bulat	krem	Licin	Datar
4	Isolat 4	Bulat	krem	Licin	Datar
5	Isolat 5	Bulat	Putih susu	Licin	Datar
6	Isolat 6	Bulat	Putih susu	Licin	Datar



Gambar 1. Beberapa isolat yang tahan kondisi asam

Seleksi Deteksi Produksi Senyawa Antibakteri

Hasil isolasi pada saluran pencernaan ikan mas indigenus Jantho adalah enam isolat. Berdasarkan hasil deteksi produksi senyawa antibakteri menunjukkan bahwa sebanyak enam isolat menghasilkan senyawa antibakteri dan berpotensi sebagai bakteri probiotik.



Gambar 2 Isolat produksi senyawa antibakteri

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan:

1. Terdapat enam isolat yang berpotensi bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan ikan mas indigenus Jantho dengan karakteristik morfologi sel dan koloni yang berbeda.

2. Enam isolat tersebut memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *A. hydrophila* dan *E. tarda*.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan untuk dilakukan uji in vitro lainnya untuk mendapatkan bakteri berpotensi probiotik dan diikuti uji in vivo. Uji identifikasi juga harus dilakukan agar diketahui tingkat spesies bakteri probiotik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan Dana Desentralisasi Penelitian dari Hibah Bersaing Tahun 2014 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina. 2006. *Penapisan Bakteri Kandidat Probiotik untuk Pengendalian Penyakit Infeksi Aeromonas hydrophila pada Ikan Lele Dumbo (Clarias sp.)*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Allameh, S. K., Daud, H., Yusoff, F. M., Saad, C. R., and Ideris, A. 2012. Isolation, Identification and Characterization of *Leuconostoc mesenteroides* As A New Probiotic From Intestine of Snakehead Fish (*Channa striatus*). *African Journal of Biotechnology*. 11(6): 3810-3816.
- Effendi, I. 2002. *Probiotics for Marine Organism Disease Protection*. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Riau.
- Feliatra, Efendi, I., dan Suryadi, E. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*. 6(2): 75-80.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia, Jakarta.
- Irianto, A., dan Austin, B. 2002. Probiotics In Aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. 25: 1-10.
- Kanmani, P., Kumar, R. S., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V., and Arul, V. 2010. Comparison of Antimicrobial Activity of Probiotic Bacterium *Streptococcus phocae* P180, *Enterococcus faecium* MC13 and *Carnobacterium divergens* Against Fish Pathogen. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 5(2): 145-151.
- Subagiyo dan Djunaedi, A. 2011. Skrining Kandidat Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Berdasarkan Aktivitas Antibakteri dan Produksi Enzim Proteolitik Ekstraseluler. *Jurnal Ilmu Kelautan*. 16(1): 41-48.
- Tim Program Pendampingan Pemberdayaan Ekonomi Daerah (P3ED) Kabupaten Aceh Besar. 2010. *Laporan Kegiatan Bidang Perikanan*. Unsyiah.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., and Verstraete, W. 2000. Probiotic Bacteri as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64(4): 655-671.
- Vine, N. G., Leukes, W. D., Kaiser, H., Daya, S., Baxter, J., and Hecht, T. 2004. Competition For Attachment of Aquaculture Candidate Probiotic and Pathogenic Bacteria on Fish Intestinal Mucus. *Journal of Fish Diseases*. 27: 319-326.

Yulinery, T., Yulianto, E., dan Nurhidayat, N. 2006. Uji Fisiologis Probiotik *Lactobacillus sp.* Mar 8 Yang Telah Dinkapsulasi dengan Menggunakan Spray Dryer Untuk Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Biodiversitas*. 7(2): 118-122.