

Seleksi probiotik *Lactobacillus* sp. dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*)  
potensial untuk akuakultur

(Selection of *Lactobacillus* sp from intestine of carp (*Cyprinus carpio*)  
potential for aquaculture)

**Sintia S. Bella<sup>1</sup>, Henky Manoppo<sup>2</sup>, Suzanne L. Undap<sup>2</sup>, Reiny A. Tumbol<sup>2</sup>, Edwin L.A.  
Ngangi<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup> Mahasiswa Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

<sup>2)</sup> Staff Pengajar Program Studi Budidaya Perairan FPIK Unsrat Manado

Penulis Korespondensi: H. Manoppo, [henkympo@unsrat.ac.id](mailto:henkympo@unsrat.ac.id)

### **Abstract**

The aimed of the study was to isolate and select the probiotic *Lactobacillus* from carp intestine potential for use in aquaculture. Carp as a source of probiotics with a size of about 200 g was taken from the Center for Fish Hatchery and Disease Control (BP3I), Tateli. After aseptic surgery, the intestine was separated and cleaned, weighed as much as 1 g, put in a mortar and crushed until smooth. The scoured results were put into a tube and added 9 ml NaCl to get a ratio of 1:10. The tube that already contains intestinal scouring was then centrifuged at a speed of 1000 RPM for 10 minutes. The centrifugation process was carried out 2 times to get the supernatant that has been cleared of debris. The supernatant was removed and diluted to obtain a concentration of  $10^{-2}$  to  $10^{-3}$ . The solution was then spread on MRS (De Man Rogosa and Sharpe Agar) media and incubated at 28oC in the Incubator for 24-48 hours. The bacteria that grew in culture fmedia was reisolated several times to get a single pure colony.. The pure colonies were propagated in the same media to be further identified through gram staining, biochemical, proteolytic, amylytic, cellulolytic, antibiotic resistance, antagonistic, pathogenicity tests. The results of the isolation obtained the characteristics of a colony of milky white color, round and convex with long cells, gram-positive and confirmed based on biochemical tests as *Lactobaccilus* sp. The bacterium also had proteolytic, amylytic, cellulolytic, antagonistic, antibiotic-sensitive activity that were characterized by the formation of clear zones in the area around probiotic discs, and did not cause death either as a disease or as a result of poisoning. Thus it can be concluded that *Lactobaccilus* sp. isolated from carp intestines can be used as probiotics for cultivation.

**Keywords:** Probiotics, proteolytic, cellulolytic, antagonistic, aquaculture.

### **PENDAHULUAN**

Budidaya merupakan usaha pemeliharaan organisme air dengan campur

tangan manusia dalam proses pemeliharaannya untuk meningkatkan produksi dan keuntungan. Aktivitas budidaya

menjadi sangat penting karena adanya penangkapan lebih (*overfishing*) di dunia (Cruz *et al.*, 2012). Dalam hal ini budidaya berkontribusi dalam produksi makanan, bahan baku untuk industri budidaya dan farmasitika, ikan dan ikan restocking.

Budidaya yang intensif ikan dipelihara dengan kepadatan yang tinggi dan sebagai akibatnya, ikan di perhadapkan dengan kondisi ikan yang semakin stres. Selanjutnya kondisi ini akan merusak kualitas air, meningkatkan kejadian penyakit serta kerugian ekonomi bagi industri.

Pencegahan dan kontrol penyakit banyak dilakukan dengan menggunakan bahan-bahan kimia dan obat-obatan. Penggunaan bahan-bahan kimia anti mikroba untuk pencegahan penyakit telah ditemukan dapat menimbulkan resistensi patogen terhadap antimikroba serta masalah lingkungan yang berkaitan dengan bahan-bahan kimia (Nomoto, 2005; Wang and Xu, 2014). Biswas *et al.* (2012) melaporkan bahwa penggunaan antibiotik atau bahan-bahan kimia secara intensif dan berulang-ulang dapat menyebabkan berbagai pengaruh negatif seperti bioakumulasi, polusi, kekebalan patogen, merusak mikroba lingkungan serta menekan sistem kekebalan tubuh ikan.

Penggunaan antibiotik dalam hatchery ikan dan udang, telah menyebabkan berkembangnya strain patogen yang kebal terhadap antibiotik tersebut (*antibiotic resistance pathogen*). Oleh karena, itu diperlukan suatu bahan pengganti yang aman bagi lingkungan terhadap penggunaan antibiotik dan bahan-bahan kimia sehingga tercipta budidaya ramah lingkungan (*enviromental friendly aquaculture*). Salah

satu bahan yang berpotensi dan banyak diterapkan adalah probiotik.

Penggunaan probiotik dalam budidaya dapat meningkatkan resistensi ikan terhadap penyakit serta meningkatkan pertumbuhan dengan cara meningkatkan efisiensi pakan tanpa merusak lingkungan (Sahu *et al.*, 2008; Sornplang and Phyadeatsoontorn, 2016). Menurut FAO 2002 probiotik merupakan organisme hidup yang apabila diberikan dengan jumlah yang sesuai dapat meningkatkan kesehatan ikan. Penelitian ini bakteri yang diisolasi di ambil dari usus ikan mas untuk mendapatkan bakteri yang berpotensi sebagai bakteri probiotik.

Probiotik pada awalnya merupakan kata yang digunakan untuk menunjukan pada mikro organisme yang memberikan pengaruh pada mikro organisme lain. Secara etimologi kata probiotik berasal dari bahasa latin “diatas pro” yang berarti “untuk” dan kata Yunani bios yang berarti “hidup” (Cordero *et al.*, 2001). Definisi probiotik yang banyak digunakan diberikan oleh FAO (*Food and Agriculture Organization*) yang mendefinisikan probiotik sebagai mikroorganisme hidup yang apabila diberikan dalam jumlah yang sesuai dapat memberikan keuntungan bagi kesehatan inang.

Probiotik juga dapat memodulasi dan menurunkan perkembangan kanker pada hewan. Oleh karena itu, maka apabila probiotik diberikan dalam konsentrasi tertentu akan sangat bermanfaat untuk kesehatan inang. Selama bertahun-tahun, penelitian difokuskan pada mikroorganisme yang berasal dari usus terutama terbatas pada bakteri gram positif seperti *Bifidobacterium*,

*Lactobacillus*, dan *Streptococcus*. Menurut Socol *et al.* (2010) penjualan probiotik di Amerika diperkirakan sekitar US dollar 19.600jt USD pada tahun 2013 dan mewakili laju pertumbuhan rata-rata 4,3% probiotik dapat digunakan sebagai suplemen pakan atau digunakan langsung dalam kolam, bak, atau di campur dalam makanan Cruz *et al.* (2012).

Pada masa yang akan datang aplikasi probiotik untuk budidaya nampaknya sangat baik. Strain probiotik yang sudah digunakan melalui proses alami pada sistem produksi aqua kultur mungkin akan dapat memperkecil manipulasi lingkungan yang dibutuhkan untuk mencapai yang diinginkan dari probiotik penggunaan probiotik dalam usaha budidaya sangat dibutuhkan untuk mengembangkan budidaya berkelanjutan. Saat ini sudah ditemukan bahwa probiotik juga berpengaruh pada reproduksi atau toleransi stres meskipun hal ini masih membutuhkan penelitian lebih lanjut (Cruz *et al.* 2012). Hasil penelitian Moriarty (1998) mendapatkan bahwa penggunaan probiotik komersial dari *Bacillus* sp. dapat meningkatkan kualitas udang yang dipelihara di kolam.

Chang and Liu (2002) melaporkan bahwa penggunaan *B. toyoi* menurunkan mortalitas sidat eropa dari serangan penyakit *edwardsiellosis* dimana bakteri *B. toyoi* sudah banyak digunakan dalam banyak peternakan. Nikoskelainen *et al.* (2001) mendapatkan bahwa penggunaan *Lactobacillus* sp. sebanyak  $10^9$  sel/gram dan diberikan pada rainbow trout selama 51 hari dapat menurunkan mortalitas ikan dari serangan penyakit furunculosis yang disebabkan oleh *Aeromonas salmonicida* dapat menurunkan

mortalitas dari 52,6% menjadi 18%. Namun jika kepadatan bakteri ditingkatkan menjadi  $10^{12}$  per gram, mortalitas mencapai 46,3%.

Pada umumnya kebutuhan untuk mengembangkan budidaya yang berkelanjutan telah merangsang berbagai penelitian tentang penggunaan probiotik untuk organisme akuatik. Probiotik telah banyak digunakan dalam budidaya pertumbuhan spesies yang dibudidaya. Penelitian dilaksanakan Desember 2019 sampai Maret 2020

## METODE PENELITIAN

### Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan ialah bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ikan mas berukuran 200 gram diambil dari Balai Pembenihan dan Pengendalian Penyakit Ikan (BP3I), Tateli. Ikan ditangkap langsung dari kolam dan dimasukkan dalam kantong plastik berisi air dan oksigen selanjutnya, di bawah ke Laboratorium Teknologi Aquakultur (FPIK) UNSRAT.

### Isolasi Bakteri

Pertama-tama ikan ditimbang kemudian tubuh ikan diusap dengan alkohol 70% menggunakan tisu. Tangan dan semua alat-alat yang digunakan untuk pengambilan usus ikan seperti pisau bedah, gunting, pingset, baki, dan papan bedah, di sterilkan dengan alkohol 70%. Organ dalam yang dikeluarkan dengan cara menggunting bagian perut dari arah anus memanjang kearah dada kemudian dibuat potongan vertikal kearah punggung sampai sedikit di sampai garis urat sisi menggunakan pingset. Usus yang sudah dipisahkan dibersihkan ditimbang sebanyak 1gram, dimasukkan dalam mortal dan digeru

sampai halus. Hasil gerusan dimasukkan tabung dan ditambahkan NaCl 9ml untuk mendapatkan perbandingan 1 : 10. Tabung yang sudah berisi gerusan usus kemudian disentrifuse pada kecepatan 1000 RPM selama 10 menit. Proses sentrifugasi dilakukan sebanyak 2 kali untuk mendapatkan supernatan yang sudah bersih dari debris.

### **Kultur Bakteri Probiotik**

Supernatan yang diperoleh setelah 2 kali disentrifuse selanjutnya di encerkan pada  $10^2$  sampai  $10^3$  dengan cara ambil 1 mL supernatan dimasukkan dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan konsentrasi  $10^2$ . Selanjutnya diambil 1 mL konsentrasi  $10^2$  dan ditambahkan 9 ml NaCl untuk mendapatkan  $10^3$ .

Hasil pengenceran selanjutnya dikultur dengan metode sebar diatas media MRS yang sudah disiapkan terlebih dahulu di cawan petri. Larutan bakteri diambil sebanyak 0.1 mL dan sebar pada permukaan agar secara merata dengan menggunakan batang L. Cawan petri yang berisi bakteri diinkubasi pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam dalam Incubator.

### **Pemurnian dan Perbanyakan Bakteri Probiotik**

Sebelum digunakan dalam penelitian bakteri yang tumbuh pada kultur pertama perlu diisolasi kembali untuk mendapatkan koloni tunggal. Caranya koloni bakteri diambil dengan menggunakan kawat ose kemudian digores pada permukaan media MRS yang sudah disiapkan terlebih dahulu. Proses reisolasi dilakukan beberapa kali sampai didapatkan koloni yang betul-betul

murni. Koloni yang sudah murni tersebut diperbanyak pada media yang sama untuk selanjutnya digunakan dalam penelitian.

### **Uji Biokimia**

Uji oksidase berfungsi untuk menentukan ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri, Prosedur kerja dari uji oksidase, Uji katalase adalah enzim yang mengkatalisasi penguraian hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), Uji Triple sugar iron agar (TSIA) bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat seperti glukosa, laktosa dan sukrosa. Selain itu juga dapat digunakan untuk mengetahui adanya pembentukan gas  $\text{H}_2\text{S}$ , Uji produksi  $\text{H}_2\text{S}$  bertujuan untuk mengetahui adanya produksi sulphida. Seleksi probiotik untuk mendapatkan bakteri yang benar-benar dapat digunakan sebagai probiotik maka dilakukan seleksi melalui uji naktivitas proteolitik, amilolitik, selulolitik, resistensi antibiotik, antagonistik dan patogenesitas.

### **Analisis Data**

Data yang di peroleh dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan menggunakan rangkaian kata-kata sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan statistik dengan menggunakan statistik sederhana seperti nilai rata-rata, grafik, tabel.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi Probiotik**

Hasil isolasi bakteri dari usus ikan mas dengan menggunakan media agar MRS mendapatkan koloni yang berwarna putih susu, berbentuk bulat dan cembung dan sel berbentuk panjang.

*Lactobacillus* yang diamati ini memiliki karakteristik yang sama seperti yang di laporkan oleh Gobinath dan Ramahnibay (2012) dimana bakteri tersebut diisolasi dari ginjal, daging dan usus ikan nila dengan menggunakan media MRS. *Lactobacillus* tersebut secara morfologi memiliki karakteristik Gram Positif, berbentuk batang, non motil, dan pada media agar memperlihatkan warna putih susu dengan koloni yang tidak teratur. Feliatra *dkk.* (2004) juga melaporkan bakteri *Lactobacillus* yang diisolasi dari usus dan lambung ikan kerapu macan memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih susu, berbentuk bulat dengan tepian yang halus, dan biasanya berbentuk batang panjang hampir bulat, bentuk rantai yang pendek, gram positif, non motil, oksidase positif, katalase negatif, metil ret positif dan tumbuh optimum pada suhu 30-37°C. Novitarizky *dkk.* (2018) juga melaporkan bahwa *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari usus ikan lele memiliki karakteristik yang sama yaitu berbentuk batang, tidak bergerak serta warna koloni putih susu.

### Pewarnaan gram

Hasil Penelitian pewarnaan gram terhadap bakteri yang diisolasi dari usus ikan mas merupakan gram positif yang ditandai dengan warna ungu (lihat pada Gambar 3). Pewarnaan gram merupakan metode yang paling umum untuk mendeteksi keberadaan suatu bakteri (Lio-Po *et al.*, 2001). Pewarnaan gram akan membagi bakteri kedalam dua kelompok yaitu gram positif dan gram negatif. Gram positif adalah bakteri yang memiliki dinding sel peptidoglycan yang tebal yang akan mempertahankan warna kristal violet pada saat pencucian dengan alkohol 95% dalam proses pewarnaan gram.

### Uji biokimia

Setelah uji pewarnaan gram, dilanjutkan dengan uji biokimia di Laboratorium Balai Karantina Ikan Kelas 2 Kota Manado. Hasil uji biokimia mengkonfirmasi bahwa bakteri tersebut adalah *Lactobacillus* sp. dengan karakteristik dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Karakteristik bakteri probiotik yang diisolasi dari usus ikan mas

Karakter dan Media Inkubasi	Hasil Uji
Gram	+
Motil	-
Katalase	-
Oxidase	-
Glukosa	+ (gas-)
O/F	Fermentatif
Arabinosa	-
Maltosa	+
Manitol	+
Sorbitol	+
TSIA	+(negatif H <sub>2</sub> S)
SCA	+
Gelatin	-
Urea	+
MR	+
VP	-

### Seleksi probiotik

Untuk memastikan bahwa bakteri yang diperoleh betul-betul dapat digunakan sebagai probiotik maka dilakukan serangkaian uji yaitu uji aktifitas proteolitik, amilolitik, selulolitik, resistensi terhadap antibiotik, antagonistik dan patogenisitas.

#### a. Uji proteolitik

Hasil uji mendapatkan *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dapat mengurai protein

yang di tandai dengan terbentuknya zona bening di area sekitar cakram probiotik.

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dibutuhkan secara fisiologi secara fisiologi untuk kehidupan organisme pada tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme. Protease tidak hanya berperan dalam proses metabolisme seluler, namun juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri. Enzim ini juga merupakan salah satu enzim skala industri dengan tingkat penjualan hingga 60% dari total penjualan enzim didunia.

Uji proteolitik dimaksudkan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut mampu memproduksi enzim protease yang dapat mengurai protein. Hasil uji mendapatkan bakteri ini positif menghidrolisis protein yang diindikasikan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang mengandung probiotik dengan diameter, rata-rata 11.63 mm sedangkan kontrol tidak membentuk zona bening (diameter zona bening = 0). Kurniasih *et al.* (2013) melaporkan bahwa bakteri proteolitik yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan lele dan dari media air pemeliharaan ikan menghasilkan enzim protease yang dapat mengurai protein. Nopitawati (2010) melaporkan bakteri probiotik yang di isolasi dari udang vaname dapat meningkatkan pertumbuhan dan pencernaan udang vaname dimana hal ini terjadi bakteri probiotik yang diberikan memiliki aktifitas proteolitik.

b.

c. Amilolitik

Uji amilolitik dimaksudkan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut mampu memproduksi enzim protease yang dapat mengurai protein. Hasil uji mendapatkan bakteri ini positif menghidrolisis karbohidrat yang diindikasikan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang mengandung probiotik dengan diameter, rata-rata 16.81 mm sedangkan kontrol tidak membentuk zona bening (diameter zona bening = 0).

Hasil penelitian Aslamsyah (2006) memperlihatkan bahwa bakteri probiotik yang diisolasi dari ikan bandeng mampu meningkatkan ketersediaan karbohidrat pakan sehingga menekan penggunaan sumber energi dari protein. Hal ini terjadi karena bakteri tersebut mampu memproduksi enzim amilase yang dapat mengurai karbohidrat. Nopitawati 2010 melaporkan bakteri probiotik yang di isolasi dari udang vaname dapat meningkatkan pertumbuhan dan pencernaan udang vaname dimana hal ini terjadi karena bakteri probiotik yang diberikan memiliki aktifitas amilolitik.

d. Selulolitik

Hasil uji mendapatkan bakteri ini positif menghidrolisis selulosa yang diindikasikan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram yang mengandung probiotik dengan diameter, rata-rata 9,75 ml sedangkan kontrol tidak membentuk zona bening (diameter zona bening = 0).

e. Resistensi antibiotik

Hasil uji resistensi probiotik terhadap antibiotik memperlihatkan bahwa *Lactobacillus* sp. yang ditemukan sangat

sensitif terhadap antibiotik amoxicilin pada konsentrasi 50 mg dan 25 mg yang diindikasikan dengan terbentuknya zona hambat disekitar cakram antibiotik pada masing-masing konsentrasi tersebut. Resistensi probiotik terhadap antibiotik diukur berdasarkan diameter zona bening yang terbentuk disekitar cakram antibiotik.

Data di atas memperlihatkan bahwa *Lactobaccilus* sp. yang diisolasi sangat sensitif terhadap antibiotik. Menurut Sujadmiko dan Wikandari (2017), semakin besar zona hambat yang terbentuk maka resistensi bakteri tersebut semakin kecil.

#### f. Antagonistik

Hasil uji antagonistik menunjukan bahwa bakteri *Lactobaccilus* yang teridentifikasi memiliki aktifitas antagonistik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di area sekitar kertas cakram yang mengandung *Lactobaccilus* sp.

Hasil penelitian yang dilakukan Mulyasari *et al.* (2016) menunjukan bahwa kandidat probiotik yang isolasi dari saluran pencernaan ikan gurami memiliki aktifitas antagonistik yang mampu membunuh bakteri patogen *A. hydrophila*. Aktifitas antogonistik tersebut teramati dengan adanya zona bening disekitar koloni probiotik dengan diameter 8-9 mm. Penelitian lain yang dilakukan oleh Sabariah (2010) juga membuktikan bahwa isolat bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan ikan jelawat mampu menghambat patogen *A. hydrophila* yang ditandai dengan adanya zona bening disekeliling isolat yang ditanam.

Pada umumnya *Lactobaccilus* tidak menyebabkan penyakit dan biasanya

merupakan anggota organisme yang nonpatogenik yang terdapat dalam usus ikan. Bakteri probiotik ini melalui aktifitas antagonistik berinteraksi dengan bakteri patogen serta mempertahankan kondisi lingkungan saluran pencernaan yang sehat. Aktifitas ini terjadi karena bakteri *Lactobaccilus* memproduksi bahan-bahan antibakteri seperti asam laktat, hidrogen peroksida dan bakteriosin. Bakeriosin merupakan bahan bioaktif yang menghambat pertumbuhan berbagai bakteri patogen (Prabhurajeshwar and chandrakanth, 2019). Bakteri probiotik memproduksi bahan-bahan yang bersifat sebagai bakterisida dan bakteri statik terhadap populasi mikroba seperti bakteriosin, hidrogen peroksida, lisosim, sidorephores. Beberapa bakteri memproduksi asam organik seperti asam laktat, asam butirat dan asam volatile fatty acid yang menyebabkan turunnya Ph pada saluran pencernaan sehingga mencegah pertumbuhan miroorganisme patogen. Probiotik *L. lactis* yang telah digunakan pada ikan nila memperlihatkan aktifitas penghambatan terhadap *Aeromonas hydrophila*. Dalam penelitian ini, *Lactobaccilus* yang dieperoleh juga memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Aeromonas* yang ditunjukkan pada zona bening diarea sekitar cakram yang sudah diberi probiotik. Ghosh *et al.* (2008) melaporkan bahwa probiotik *Baccilus* secara nyata mampu menghambat dan menurunkan jumlah bakteri *Aeromonas* dan *Pseudomonas* pada ikan-ikan hias.

Bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan *cropileptes altivelis* mampu menghambat bakteri patogen *Fibrio albinoliticus* pada ikan gruperhal ini menunjukan bahwa probiotik yang diisolasi

memiliki aktifitas antagonistik (Marlida *et al.*, 2014). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al.* (2019), probiotik yang diberikan pada ikan Lined seahorse *Hippocampus erectus* mampu mencegah penyakit enteritis probiotik *Lactobacillus* yang diberikan mampu menghambat patogen penyebab enteritis.

#### g. Uji patogenesitas

Hasil uji patogenesitas mendapatkan bahwa ikan yang disuntik dengan bakteri hasil isolasi dari usus ikan mas tidak menyebabkan kematian baik sebagai akibat penyakit maupun keracunan. Ikan uji disuntik dengan suspensi *Lactobacillus* sp. dengan kepadatan  $1 \times 10^8$  dan  $1 \times 10^7$  cfu/mL sebanyak 0,2 ml per ekor dan diamati selama 10 hari.

Beberapa mikro organisme probiotik memiliki efek positif terhadap proses pencernaan hewan akuatik. Telah dilaporkan bahwa bakteri probiotik berkontribusi dalam proses pencernaan dengan cara memproduksi enzim ekstra seluler seperti protease, lipase, dan faktor perangsang pertumbuhan (Wang *et al.*, 2019). Marlida *et al.* (2014) melaporkan bahwa bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan *Cromileptes altivelis* mampu meningkatkan pertumbuhan ikan dengan cara memproduksi enzim pencernaan protease, amilase dan selulose setelah diberikan selama 40 hari.

Mulyasari *et al.* (2016) melaporkan bakteri probiotik *Lactobacillus* yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan gurami memiliki aktifitas proteolitik, amilolitik dan selulolitik yang diperlihatkan dengan terbentuknya zona bening diarea sekitar kertas cakram probiotik. Bakteri tersebut

juga sensitif terhadap ampicilin, petrasiclin dan cloramfenikol.

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Xie *et al.* (2019), udang *Litopenaeus vannamei* (berat rata-rata 1,21 gram) yang diberi perlakuan probiotik selama 56 hari memiliki aktifitas enzim lipase dan amilase yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang kontrol, jadi penelitian ini membuktikan bahwa probiotik *Lactobacillus* dapat meningkatkan produksi enzim pencernaan yaitu amilase dan lipase. Selanjutnya dalam penelitian yang dilakukan oleh Mohammadiyah *et al.* (2019), ikan mas berukuran rata-rata 65 gram yang diberi probiotik *L. casei* memiliki pertumbuhan dan pengambilan pakan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan kontrol disebabkan meningkatnya produksi enzim pencernaan protease, amilase, dan selulose yang diberi perlakuan probiotik selama 60 hari.

Ullah *et al.* (2018) melaporkan bahwa probiotik yang diberikan pada ikan mori *Cirrhinus mrigala* memiliki pertumbuhan yang meningkat secara nyata dibandingkan dengan ikan kontrol hal ini terjadi karena produksi enzim pencernaan yaitu protease, amilase, dan selulose secara nyata lebih tinggi dari ikan yang diberi probiotik dibandingkan dengan ikan kontrol selama 90 hari. Marlida *et al.* (2014) mendapatkan bahwa probiotik yang diisolasi dari ikan kerapu memiliki aktifitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik. Kar and Ghosh (2008) juga melaporkan bahwa ikan *Labeo rohita* dan *Channa punctatus* yang diberi pakan

dengan tambahan probiotik. Produksi enzim proteolitik, amilolitik dan selulolitik yang tinggi terdapat saluran pencernaan ikan.

Probiotik yang diambil dari ikan kerapu memiliki kemampuan antagonistik yang ditunjukkan dengan kemampuan bakteri probiotik tersebut dalam menghambat bakteri *Fibrio alginolyticus*. Bakteri tersebut juga tidak menyebabkan kematian pada ikan setelah disuntikan dan diamati selama 10 hari dengan kelangsungan hidup 100% sedangkan ikan yang disuntikan dengan *Vibrio alginolyticus* memiliki kelangsungan hidup hanya 33,3%.

Chauhan *et al.* (2018) melaporkan bahwa probiotik harus memiliki efek menguntungkan terhadap pertumbuhan ikan serta mampu melindungi ikan dari berbagai bakteri patogen, tidak berbahaya bagi host, tidak resisten terhadap obat-obatan/antibiotik dan memiliki karakteristik antagonistik serta memproduksi enzim pencernaan dan vitamin. Dalam penelitian ini probiotik *Lacobacillus* yang disilasi dari usus ikan mas memenuhi beberapa karakteristik seperti yang dilaporkan Chauhan *et al.* (2018).

Banyak probiotik sudah digunakan dalam akuakultur telah diketahui memiliki kemampuan sebagai anti bakteri patogen. *L. lactis* memperlihatkan kemampuan menghambat bakteri *Aeromonas hydrophila* jika diberikan pada ikan nila (Chauhan *et al.* (2018). *L. lacyis* telah dilaporkan memiliki aktifitas antagonistik terhadap patogen yersinianukeri dan aeromonas

salmoidisida. *L. acidophilus*, *L. buchneri*, *L. fermentum*, *L. lactis* yang diisolasi dari usus ikan mackerel spanyol (*Scoberom aruscommerwson*) memiliki kemampuan antagonistik atau menghambat pertumbuhan bakteri *Listeria innocua*. Menurut Dhanasekaran *et al.* (2010) bakteri *Lactobacillus* yang diisolasi dari usus ikan sidat, *Clarias orientalis*, *Labeo rohita*, *Oerochromis* dan *Puntius carnaticus* memiliki kemampuan menghambat patogen *Aeromonas* dan *Vibrio*. Bakteri probiotik memproduksi bahan yang dapat menghambat mikroba patogenik dengan bekerja sebagai bakteristatik dan bakterisida. Bahan-bahan yang diproduksi berupa hidrogen peroksida, bakteriosin, lisosim, siderophores, protease (Tan *et al.*, 2019).

Jang *et al.* (2019) melaporkan bahwa probiotik *L. plantarum* yang diberikan pada ikan olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) selama 8 minggu berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan ikan yang dihasilkan oleh aktifitas amilase yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan kontrol. Setelah diberikan selama 8 minggu, enzim pencernaan meningkat sehingga meningkatkan pemanfaatan pakan. Dalam penelitian Jang *et al.* (2019) ditemukan bahwa aktifitas enzim pencernaan pada ikan olive flounder meningkat lebih tinggi dibandingkan kontrol. Lin *et al.* (2019) juga melaporkan *Lactobacillus comersil* (*L. Acidophilus*, *L. Plantarum*, *L. Rhamnosus*) dapat mencegah penyakit enteritis.

Pada udang, Karthik *et al.* (2014) melaporkan bahwa *Lactobacillus* sp.

yang diberikan pada udang *Penaeus monodon* dan *Litopenaeus vannamei* selama 30 hari dapat mencegah infeksi fibrosis dengan mortalitas sebesar 12 % sedangkan udang kontrol memiliki mortalitas 100 %.

Beberapa spesies probiotik memproduksi bahan-bahan antagonistik dan antibiotik yang dapat menghambat patogen. *Lactobacillus* sp. memproduksi berbagai bahan seperti diacetyl, hidrogen peroksida dan bakterisida protein yang selain menghambat patogen juga dapat mengaktifkan sistem imun ikan sehingga ikan menjadi lebih tahan terhadap penyakit baik oleh virus, bakteri, jamur dan parasit atau menghambat patogen dalam sistem akuakultur (Hai, 2015).

Aplikasi probiotik pada organisme akuatik dapat meningkatkan pertumbuhan dan pengambilan pakan dengan cara mempengaruhi proses enzim pencernaan seperti amilase, protease dan alginate lyases (Zokaeifar *et al.*, 2012). Probiotik secara efektif ikut dalam proses pencernaan dengan cara memproduksi enzim ekstraselular seperti protease, lipase dan carbohydrolases memproduksi faktor pertumbuhan (Hai, 2015).

Novitarizki dkk. (2018) melakukan penelitian dengan mengisolasi bakteri probiotik dari usus ikan lele yang memiliki potensi sebagai probiotik. Hal ini ditunjukkan dengan adanya karakteristik yang mampu menghidrolisis protein, karbohidrat dan selulosa. Bakteri tersebut juga mampu memiliki sifat antagonistik terhadap *Aeromonas hydrophila* tidak menyebabkan kematian

karena penyakit maupun efek baracun dan sensitif terhadap antibiotik.

## KESIMPULAN

- Bakteri probiotik dari usus ikan mas yang diidentifikasi dengan pewarnaan gram termasuk Gram Positif dan sesuai hasil uji biokimia teridentifikasi sebagai *Lactobacillus* sp.
- *Lactobacillus* sp. yang terisolasi dari usus ikan mas potensial untuk digunakan sebagai probiotik karena memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, selulolitik, antagonistik, sensitif terhadap antibiotik serta tidak menyebabkan kematian baik sebagai penyakit yang ditimbulkan maupun karena efek keracunan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aslamsyah S. 2006. Penggunaan mikroflora saluran pencernaan sebagai probiotik untuk meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan bandeng. Disertasi. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. 256 halaman.
- Biswas G, Korenaga H, Takayama H, Kono T, Shimokawa H, Sakai M. 2012. Cytokine Responses in the common carp, *Cyprinus Carpio* L. Treated with Baker's yeast extract. *Aquaculture* 356-357: 169-175.
- Chauhan AR. Singh. 2018. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative. Department of Zoology, School of Bioengineering & Biosciences, Lovely Profesional University, India. Springer Nature B.V.

- Cruz PM, Ibanez AL, Hermosillo OA, Saad M, HCR. 2012. Use of Probiotics in Aquaculture. International Scholarly Research Network Volume 2012. 13 p.
- Dhanasekaran DS, Saha N, Thajuddin M, Rajalakshmi A, Panneerselvam. 2010. Probiotic effect of *Lactobacillus* isolates against bacterial pathogens in fresh water fish. Journal of Coastal Development 13(2): 103-112
- FAO 2002. Guidelines for the evolution of probiotic in food. London, Ontario, Canada. Available at : [https://www.who.int/foodsafety/fs\\_management/en/probiotic\\_guidelines.pdf](https://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf). diakses: September, 2019
- Ghosh S, Sinha AC, Sahu C. 2007. "Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish," Aquaculture Research, Vol. 38. No. 5:518-526
- Gobinath, Ramanibai JR. 2012. Effect of Probiotic Bacteria Culture on Pathogenic Bacteria From Fresh Water Fish *Oreochromis mossambicus*. Journal of Modern Biotechnology Vol. 1, No.1, pp. 50-54
- Hai NV. 2015 The use of probiotics in aquaculture. Journal of applied Microbiology 119: 917-935
- Jang WJJ, Hasana MMT, Leed BJ, Lim SG, Konga SI. 2019. Effects of probiotic supplementation of a plant-based protein diet on intestinal microbial diversity, digestive enzyme activity, intestinal structure, and immunity in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Fish and Shellfish Immunology 92: 719-727
- Kar, N, K. Ghosh, 2008. Enzyme producing bacteria in the gastrointestinal tracts of *Labeo rohita* (Hamilton) and *Channa punctatus* (Bloch). Turk. J. Fish. Aquat. Sci. 8 : 115 – 120.
- Karthik R, Hussain AJ, Mutheszilan R. 2014. Effectiveness of *Lactobacillus sp* (AMET1506) as Probiotic against Vibriosis in *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* Shrimp Aquaculture. Bioscience Biotechnology Research Asia Vol. 11. AMET University, India. Pg. 297-305.
- Lin T, Liu X, Xiao D, Zhang D, Cai Y, Zhu X. 2019. *Lactobacillus* spp. as probiotics for prevention and treatment on enteritis in the lined seahorse (*Hippocampus erectus*) juveniles. Aquaculture 503: 16-25
- Lio-Po GD, Lavilla CR, Cruz-Lacierda ER. 2001. Health management in aquaculture. Southeast Asian Fisheries Development Center, Iloilo, Philippines. 187 p.
- Marlida R, Suprayudi M, Widanarni A, Harris E. 2014. Isolation, selection and application of probiotic bacteria for improvement the growth performance of humpback groupers (*Cromileptes altivelis*). International Journal of Science: Basic and Applied Research (IJSBAR) 16(1):364-379.
- Moriarty DJW. 1998. "Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds," Aquaculture, Vol. 164 (1-4): 351-358
- Nikoskelainen S, Ouwehand A, Salminen S, Bylund G. 2001. "Protection of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) from furunculosis by *Lactobacillus* by

- Lactobacillus rhamnosus*,”  
Aquaculture, Vol. 198 (3-4): 229-236
- Nomoto K. 2005. Prevention of infection by probiotics. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 100; 583-592
- Nopitawati T. 2010. Seleksi bakteri probiotik dari saluran pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor. 63 halaman.
- Novitarizky I, Manoppo AH, Longdong SNJ. 2018. Isolasi bakteri probiotik *Lactobacillus* sp dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*). *Ejournal Budidaya Perairan* 6(2): 17-24
- Prabhurajeshwar C, Chandrakanth K. 2019. Evaluation of antimicrobial properties and their substances against pathogenic bacteria in-vitro by probiotic *Lactobacillus* strains isolated from commercial yogurt. *Clinical Nutrition Experimental* 23:97-115
- Sabariah. 2010. Seleksi bakteri probiotik dari saluran pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan Ikan Jelawat (*Leptobarbus hoeveni* Blkr). Tesis. Institut Pertanian Bogor. 54 halaman
- Sahu M, Swarnakumar K, Sivakumar NS, Thagaradjou K, Kannan T, L. 2008. Probiotics in Aquaculture: Importance and future perspective. *Indian Journal of Microbiology* 48: 299-308
- Sornplang P, Piyadeatsoontorn S. 2016. Probiotic isolates from Unconventional Sources : A review. *Journal of Animal Science and Technology* 58:26
- Soccol C, Porto L, Rigon M. 2010. “The potential of probiotics: a review,” *Food Technology and Biotechnology*, vol. 48 (4): 413-434
- Sujadmiko, Wijo KKY, Wikandari PR. 2017. Resistensi antibiotik amoksisilin pada strain *Lactobacillus plantarum* B1765 sebagai kandidat kultur probiotik. *UNESA Journal of Chemistry* Vol. 6, No. 1, Hal.54-58
- Tan HY, Chena SW, Hua SY. 2019. Improvements in the growth performance, immunity, disease resistance, and gut microbiota by the probiotic *Rummeliibacillus stabekisii* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology* 92: 265-275
- Ullah AA, Zuberi BM, Ahmad AB, Shaha N, Younus S, Ullah MN, Khattak K. 2018. Dietary administration of the commercially available probiotics enhanced the survival, growth, and innate immune responses in Mori (*Cirrhinus mrigala*) in a natural earthen polyculture system. *Fish and Shellfish Immunology* 72: 266-272
- Wang YC, Hu SY, Chiu CS, Liu CH. 2019. Multiple-strain probiotics appear to be more effective in improving the growth performance and health status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, than single probiotic strains. *Fish & Shellfish Immunology* 84:1050-1058
- Wang YB, Xu ZR. 2014. Probiotics Treatment as method of Biocontrol in Aquaculture. *Feed Research* 12: 42-45
- Xie JJ, Liu QQ, Liao S, Fang HH, Yin P, Xie SW, Tian LX, Liu YJ, Niu J. 2019. Effects of dietary mixed probiotics on

growth, non-specific immunity, intestinal morphology and microbiota of juvenile pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 90: 456-465

Zokaeifar H, Balcázar J. Saad LCR, Kamarudin MS, Sijam K, Arshad A, Nejat N. 2012 Effects of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish & Shellfish Immunology 33: 683-689