

**ISOLASI BAKTERI KANDIDAT PROBIOTIK DARI USUS IKAN
GURAMI (*Osphronemus gouramy* Lac.) UNTUK PENGENDALIAN
*Aeromonas hydrophila***

**ISOLATION OF PROBIOTIC CANDIDATE BACTERIA FROM GIANT
GOURAMY (*Osphronemus gouramy* Lac.) INTESTINE TO CONTROL
*Aeromonas hydrophila***

By

Lola Pitaloka br Barus¹⁾, Iesje Lukistyowati²⁾, and Nursyirwani²⁾

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau
Kampus Bina Widya KM. 12,5 Simpang Baru Pekanbaru 282943
Telp. (0761) 63274, 63275 Fax : (0761) 63275
Website : www.unri.ac.id, email : faperika@unri.ac.id

ABSTRACT

This study aimed to isolate and to find the bacteria that potential as probiotic candidate from Giant Gouramy (*Osphronemus gouramy* Lac.) intestine cultivated in Riau provincial to be used to control MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) disease. Survey method and experiment method were conducted in this study. Bacteria was isolated from the fish intestine, and was inoculated on TSA and MRS agar at different pH level (2,4, and 6). The isolates were identified by morphological observation, physiological and biochemical test, and by using API 50 CHL test kit. Antibacterial activity of the isolated against *Aeromonas hydrophila* was tested by the paper disk diffusion method. Eighteen isolates of probiotic candidates were found, and indicated optimal growth in all pH treatment. Based on morphological, physiological test, and biochemical test, three genus of bacteria were identified as *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., and *Bifidobacterium* sp. The highest antibacterial activity against *A. hydrophila* was indicated by Isolate G6₃ with inhibition zone of 13,2 mm. Based API 50 CHL test kit the isolate was categorized in to *Lactobacillus planatarum* at similarity level of 84%.

Keywords: Giant Gouramy, intestine, isolate, probiotic candidate

1) Student of Faculty of Fisheries and Marine Science, Riau University

2) Lecturer of Faculty of Fisheries and Marine Science, Riau University

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mendapatkan bakteri yang berpotensi sebagai kandidat probiotik dari usus ikan Gurami yang dibudidayakan di daerah Provinsi Riau sehingga nantinya dapat digunakan untuk pengendalian penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei dan eksperimen dengan menumbuhkan

bakteri kand idat probiotik pada perlakuan pH berbeda, yaitu pH 2, pH 4, dan pH 6. Identifikasi dilakukan dengan uji fisika, biokimia, morfologi isolat dan uji API 50 CHL medium. Aktivitas antibakteri dari masing masing isolat diuji dengan menggunakan metode *paperdisc diffusion agar* pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk melihat sensitivitas bakteri kandidat probiotik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. Berdasarkan hasil penelitian ditemukan 18 isolat bakteri kandidat probiotik yang berasal dari usus ikan Gurami. Bakteri kandidat probiotik yang diperoleh dapat tumbuh optimal pada semua perlakuan pH 2, pH 4, dan pH 6. Berdasarkan hasil identifikasi uji fisika, biokimia dan morfologi isolat kandidat probiotik yang ditemukan ada 3 jenis yaitu dari genus *Bacillus* sp, *Lactobacillus* sp, dan *Bifidobacterium* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Dari ke-18 isolat tersebut, sensitivitas tertinggi berasal dari isolat G6₃ yaitu dari jenis *Lactobacillus* sp. dengan zona hambat yang terbentuk sebesar 13,2 mm dan hasil Identifikasi dengan API 50 CHL *test kit* diketahui jenis isolat tersebut merupakan *Lactobacillus plantarum* dengan tingkat signifikansi 84% .

Kata Kunci: Ikan Gurami, usus, isolat, kandidat probiotik

- 1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau
- 2) Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Salah satu komoditas unggulan sektor perikanan Indonesia adalah ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac). Ikan Gurami banyak diminati dan dikonsumsi sehingga harganya relatif mahal (Saparinto, 2011). Namun dalam budidaya ikan Gurami penyakit merupakan kendala yang harus ditangani dengan serius karena menyebabkan kematian yang tinggi.

Pada tahun 2005 terjadi kasus kematian ikan Gurami yang sangat tinggi akibat infeksi *Aeromonas hydrophila* di Sumatera Barat dimana kematian ikan Gurami ukuran konsumsi mencapai kurang lebih 47 ton Gurami dan 2,1 juta ekor benih Gurami yang siap untuk dipasarkan. Dari kejadian tersebut ditafsir nilai kerugian sekitar Rp. 1,5 milyar (Diraja, 2007).

Tingginya mortalitas dan kejadian penyakit bakteri dalam budidaya ikan, antibiotik sering digunakan dalam jumlah besar untuk

pengecahan dan kontrol penyakit. Tetapi, penggunaan antibiotik dapat mengganggu mikrobiota usus dan memicu populasi bakteri menjadi resisten, dengan efek jangka panjang pada kesehatan masyarakat oleh sebab itu, penggunaan probiotik telah disarankan sebagai metode alternatif untuk mencegah dan mengontrol berbagai penyakit dalam akuakultur (Wang *et al.*, 2008 dalam Nayak, 2010).

Salah satu syarat atau karakteristik yang harus dipertimbangkan untuk menentukan apakah suatu mikroba berpotensi untuk menjadi kultur probiotik yaitu ketahanan terhadap asam, sebab untuk dapat bertahan dan tumbuh dalam saluran pencernaan kultur bakteri harus melewati beberapa rintangan seperti keasaman lambung yang tinggi yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri probiotik, disamping itu bakteri

probiotik harus mampu bersaing dengan bakteri enterik patogen seperti *Aeromonas hydrophila* dalam saluran pencernaan (Susanti, 2007)

METODE PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai bulan Juni 2015 di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

2. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan Gurami (*Osphronemus gouramy* Lac.) yang berasal dari kolam budidaya di daerah Kampar provinsi Riau dengan berat rata-rata 300-600 gram. Isolat Bakteri *Aeromonas hydrophila*, Kertas pH indikator, Alkohol 70%, Aquades, MRS (*de Mann, Rogosa, Sharpe*) agar, TSA (*Trypticase Soy Agar, Oxoid*), TSB (*Trypticase Soy Broth, Oxoid*), MHA (*Mueller Hinton Agar*), Medium O/F basal, Media SIM, Aluminium foil, Kapas dan kain kasa, pereaksi pewarnaan

4. Prosedur Penelitian

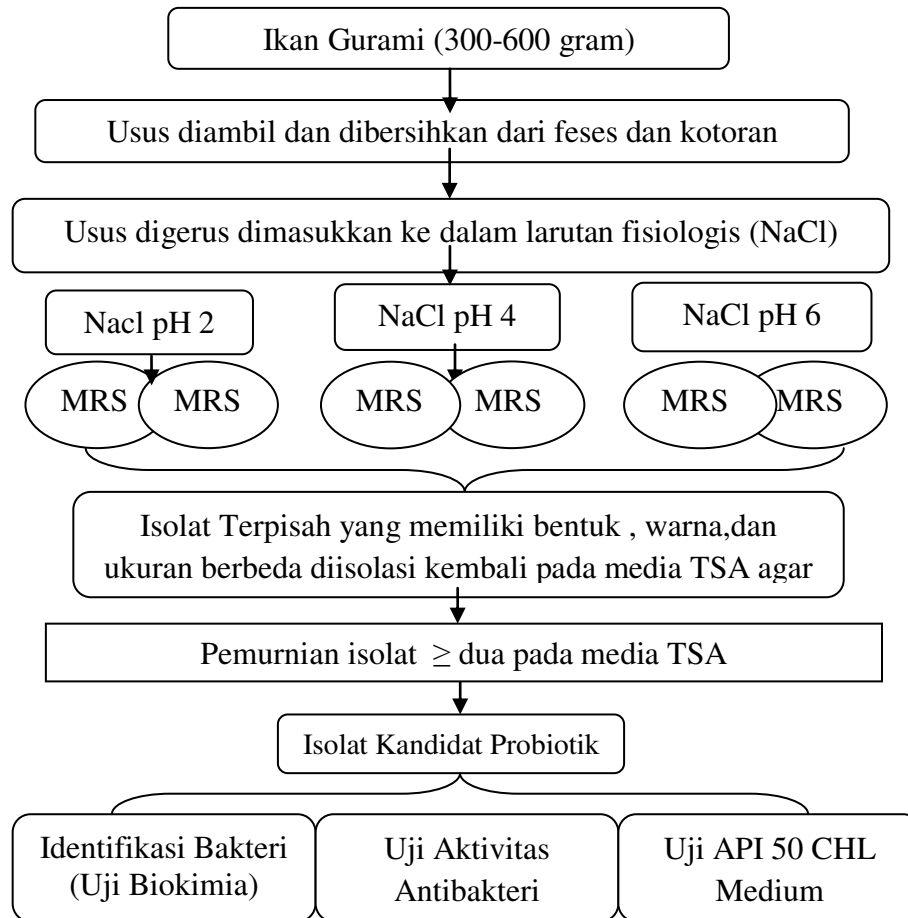
Prosedur selama penelitian dapat dilihat pada Gambar 1. Setelah dilakukan identifikasi bakteri penelitian selanjutnya dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri isolat bakteri patogen *A. hydrophila* digunakan dengan menggunakan metode *paperdisc diffusion agar* pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) (Davidson & Parish, 1989).

Gram (kristal violet, lugol, safranin, alkohol absolut), pereaksi katalase H_2O_2 3%, Parafin cair, *Disk blank*, HCl 1%, Larutan NaCl, API 50 CHL medium Selain itu alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Timbangan analitik, cawan petri, tabung reaksi, erlemeyer, gelas ukur, magnetik strirer, mortar, jarum ose, Mikropipet, Vortex, Mikro tube, Laminar flow, Autoclave, Inkubator, Lemari pendingin, Dissection kit, Mikroskop, Objek glass dan cover glass, Akuarium dan Kamera

3. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey dan eksperimen dengan melakukan perlakuan pH berbeda yaitu pH 2, pH 4, dan pH 6 Identifikasi dilakukan dengan uji fisika, biokimia, morfologi isolat dan uji API 50 CHL Medium. Aktivitas antibakteri dari masing masing isolat diuji dengan menggunakan metode *paperdisc diffusion agar* pada *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk melihat sensitivitas bakteri kandidat probiotik terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Sebagai kontrol positif digunakan *chloramphenicol* dan kontrol negatif digunakan TSB (*Trypticase Soya Broth*) tanpa isolat bakteri. Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih dalam mm disekitar *paper disc* dengan menggunakan jangka sorong



Gambar 1 Bagan Alir Pengisolasian Bakteri Kandidat Probiotik dari Ikan Gurami

. Uji akhir dari identifikasi kandidat probiotik dilakukan uji API 50 CHL Medium dilakukan dengan mengkultur isolat bakteri calon probiotik yang sudah murni ke dalam MRS agar dan diinkubasi minimal 48 jam pada suhu 30°C dan sebelumnya sudah dicek gram (+), katalase (-), non motil dan O/F (+) pada uji biokimianya. Setelah bakteri calon probiotik sudah tumbuh merata

kemudian dipanen dan dicampurkan dengan PBS 2 mL.

3.5. Analisis Data

Data hasil uji fisika, biokimia, uji api 50 CHL Medium dan pengukuran diameter zona jernih di sekitar *paper disk* disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Data kemudian dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi Kandidat Bakteri Probiotik

Hasil inokulasi bakteri dari usus ikan Gurami pada media MRS (*de Mann, Rogosa, Sharpe*) setelah dilakukan purifikasi pada media TSA

(*Trypticase Soya Agar*) salah satu gambar koloni bakteri yang murni dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Isolat Kandidat Bakteri Probiotik Murni dalam Media TSA Agar

Tabel 1 menunjukkan ketahanan kandidat bakteri probiotik terhadap pH rendah merupakan salah satu sifat yang penting dalam menentukan karakteristik dari probiotik. hal ini karena bakteri asam laktat memiliki enzim protease yaitu aminopeptidase yang mampu mempengaruhi adaptasi dan pertumbuhan bakteri asam laktat (De angelis et al, 2001).

Tabel 1. Tabel Pertumbuhan dan Jumlah Isolat Kandidat Bakteri Probiotik dari Usus Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy Lac.*)

Pengisolasian	Jumlah Isolat			Pertumbuhan		
	pH 2	pH 4	pH 6	pH 2	pH 4	pH 6
Isolasi I	3 isolat	2 isolat	1 isolat	√	√	√
Isolasi II	2 isolat	2 isolat	2 isolat	√	√	√
Isolasi III	1 isolat	2 isolat	3 isolat	√	√	√

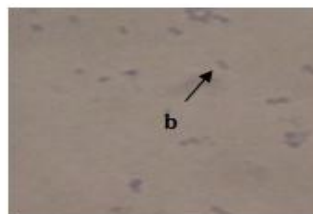
Pengujian pada pH 6 atau mendekati netral dilakukan karena bakteri asam laktat juga tumbuh baik pada usus (Dewi dan Herlisa, 2012). Bakteri probiotik harus mampu bertahan dalam menghadapi rintangan-rintangan dalam saluran pencernaan agar dapat mencapai usus halus dalam keadaan tetap hidup serta dalam jumlah yang cukup memadai untuk berkembang biak dan menyeimbangkan mikrobiota dalam usus (Surono, 2004).

2. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Morfologi

Isolat bakteri kandidat probiotik yang sudah ditemukan tersebut dan dilakukan pemeriksaan mikroskopis dan pewarnaan gram . Hasil pemeriksaan diketahui bahwa bakteri kandidat probiotik merupakan bakteri Gram positif berbentuk basil . Gambar bentuk dan warna dari beberapa calon probiotik dapat dilihat pada Gambar 3.



**a. Isolat G22
(Bacillus Berantai)**



**b. Isolat G42
(Bacillus Tunggal)**



**c. Isolat G62
(Bacillus Mengelompok)**

Gambar 3. Pewarnaan Gram dan Bentuk- Bentuk Bakteri Kandidat Probiotik

Gambar 3 menunjukkan bahwa kandidat probiotik yang ditemukan termasuk ke dalam gram positif dan persamaan bentuk yaitu bentuk batang walaupun jenis jenis bentuk batang yang berbeda seperti dari kandidat probiotik dimana isolat G2₁ dan G4₂ berbentuk *bacillus* berantai sedangkan isolat G2₂, G4₁, G6₁ berbentuk basil tunggal berbeda juga dengan isolat G6₂ berbentuk basil yang mengumpul. Gram positif pada bakteri kandidat probiotik terjadi karena kemampuan dari bakteri tersebut mampu mengikat sangat kuat kristal violet dan pori-pori tidak mudah membesar dikarenakan lapisan bakteri tidak mengandung banyak lipid sehingga pada saat pencucian dengan alkohol kristal violet tidak larut.

Gram positif pada bakteri kandidat probiotik terjadi karena kemampuan dari bakteri tersebut mampu mengikat sangat kuat kristal violet dan pori-pori tidak mudah membesar dikarenakan lapisan bakteri tidak mengandung banyak lipid sehingga pada saat pencucian dengan alkohol kristal violet tidak larut. Berdasarkan pewarnaan Gram, dapat pula diketahui sifat dinding sel bakteri terhadap cat pewarna kristal violet dan safranin. Bakteri yang menyerap Gram A (Kristal violet) akan tetap berwarna ungu setelah pelunturan dengan Gram C (Alkohol aseton) disebut Bakteri Gram positif, sedangkan bakteri yang warna ungunya luntur pada pencucian dengan alkohol, akan menyerap zat warna Gram D (Safranin) sehingga akan berwarna merah muda disebut Bakteri Gram negatif (James, et al., 2008).

3. Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik Berdasarkan Uji Biokimia

Uji biokimia hasil penelitian menunjukkan perbedaan hasil uji seperti uji katalase, isolat yang menunjukkan katalase negatif yaitu isolat G2₂, G2₃, G2₅, G4₁, G4₆, G6₂, G6₃, dan G6₆ sedangkan isolat yang lainnya bersifat katalase positif, indole positif/negatif (meragukan), non motil, dan O/F (Oksidase/Fermentasi) negative. Hasil uji kimia isolat kandidat probiotik dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Identifikasi uji Biokimia Isolat Kandidat Probiotik

Kode Isolat	O/F	SIM	TSiA	Katalase	Gram	Acid Fast	Genus
G2 ₁	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G2 ₂	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>
G2 ₃	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>
G2 ₄	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G2 ₅	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>
G2 ₆	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₁	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₂	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₃	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₄	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₅	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G4 ₆	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>
G6 ₁	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G6 ₂	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Bifidobacterium</i>
G6 ₃	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>
G6 ₄	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G6 ₅	-/+	Non motil	-	+	+	+	<i>Bacillus</i>
G6 ₆	-/+	Non motil	-	-	+	+	<i>Lactobacillus</i>

Berdasarkan Tabel di atas bakteri yang diidentifikasi hampir memiliki ciri-ciri yang sama namun perbedaan isolat kandidat bakteri probiotik berdasarkan uji biokimia terletak pada uji katalase dan oksidase. Beberapa bakteri kandidat probiotik di atas merupakan bakteri katalase negatif (-) karena tidak ada gelembung gas dan tidak memiliki enzim katalase dan sebagian kandidat probiotik yang lain katalase positif (+) karena terbentuknya gelembung gas dan memiliki enzim katalase. Semua isolat bakteri tidak motil dikarenakan bakteri tidak memiliki alat gerak

flagella. Bakteri tersebut menjadi oksidatif karena bakteri mengubah protein dengan bantuan oksigen menjadi asam piruvat sehingga bakteri tersebut memerlukan oksigen untuk melakukan metabolisme dan bakteri ini termasuk bakteri aerob. Isolat bakteri tidak menunjukkan motilitas dikarenakan tidak adanya penyebaran pertumbuhan di media SIM dan Oksidase/Fermentasi menunjukkan positif untuk oksidase dan negatif untuk fermentasi karena tidak ada perubahan pada media O/F yang diberi ataupun yang tidak diberi parafin cair. Berdasarkan identifikasi biokimia tersebut diduga bakteri calon probiotik yang ditemukan merupakan jenis isolat yang mendekati genus *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., dan genus *Bifidobacterium* sp.

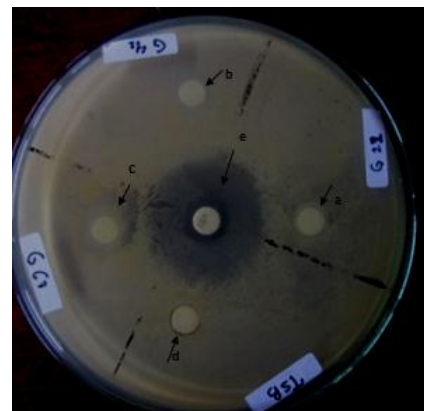
Genus *Lactobacillus* sp. bersifat hemofermentatif tumbuh dengan temperatur optimal 37°C atau lebih rendah. Jenis jenis dari *Lactobacillus* sp diantaranya *Lactobacillus bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. acidophilus* dan *L. thermophilus*. Sifat yang menguntungkan dari bakteri *Lactobacillus* 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.

Genus *Bacillus* merupakan bakteri berbentuk batang, tergolong bakteri gram positif, motil (reaksi non motil kadang terjadi) menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas bersifat aerob (beberapa species bersifat anaerob fakultatif), katalase positif, reaksi

oksidase bervariasi. Tiap spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak (Barrow dan Feltham, 1993 dalam Hasyimi, 2014).

4. Sensitifitas Isolat Kandidat Probiotik dengan *Aeromonas hydrophila*

Setelah dilakukan uji sensitifitas dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* menunjukkan bahwa calon probiotik sensitif terhadap *Aeromonas hydrophila* dengan ditunjukkan terbentuknya zona hambat. Untuk lebih jelasnya hasil uji antibakteri pada medium MHA untuk uji sensitivitas bakteri calon probiotik terhadap *Aeromonas hydrophila* adapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Zona Hambatan Bakteri Kandidat Probiotik yang Terbentuk setelah Diuji *In Vitro* dengan *Aeromonas hydrophila* (a) Isolat G2₂, (b) Isolat G4₂, (c) Isolat G6₃, (d) Kontrol negatif TSB cair, (e) Kontrol positif Antibiotik (*Choramphenicol*)

Besar rata-rata zona hambat yang terbentuk untuk

masing-masing isolat kandidat probiotik dapat dilihat pada Tabel 3 .

Tabel 3. Rata-rata Diameter Zona Hambat Isolat Bakteri Kandidat Probiotik

Probiotik					
No	Isolat	Diameter clear zone (mm)	No	Isolat	Diameter clear zone (mm)
1	G21	6,4	16	G22	7,3
2	G41	7,8	17	G42	8,2
3	G61	7,6	18	G62	7,2
4	Kontrol (-)	-	19	Kontrol (-)	-
5	Antibiotik	18	20	Antibiotik	19
6	G23	7,2	21	G24	7
7	G43	7,7	22	G44	7,3
8	G63	13,2	23	G64	7,1
9	Kontrol (-)	-	24	Kontrol (-)	-
10	Antibiotik	17,9	25	Antibiotik	19
11	G25	6,2	26	G26	7,4
12	G45	8,7	27	G46	7,3
13	G65	8,8	28	G66	9,2
14	Kontrol (-)	-	29	Kontrol (-)	-
15	Antibiotik	25,1	30	Antibiotik	27,4

Keterangan: Diameter Disk Blank 0.6 mm

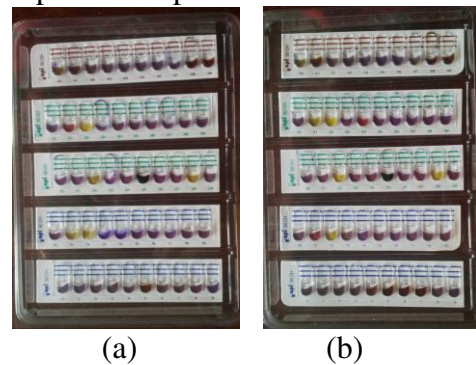
Berdasarkan gambar dan tabel di atas diketahui bahwa semua jenis calon probiotik yang ditemukan dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila* walaupun zona hambat pada media MHA tidak sebesar zona hambat antibiotik *chloramphenicol*. Zona hambat antibiotika tidak bisa disamakan dengan probiotik karena antibiotika merupakan zat bio-aktif murni sehingga dipastikan kemampuan penghambatannya lebih baik dibandingkan probiotik. Walaupun zona hambat probiotik tidak luas tetapi itu sudah memberikan indikasi bahwa bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan patogen yang nantinya dapat diteliti lebih mendalam tentang produksi zat hambat pada saat yang tepat dan konsentrasi tertinggi yang dapat diproduksi dan jenis zat hambat tersebut (Lusiastuti dan Taukhid, 2011).

Zona hambat tertinggi kandidat probiotik yaitu pada G6₃ sebesar 13,2 mm. Isolat tersebut merupakan kandidat probiotik jenis *Lactobacillus* sp. *Lactobacillus* sp merupakan BAL yang paling sering

ditemukan pada ikan. *Lactobacillus* sp memiliki daya hambat yang cukup besar yaitu 6,2-9,15 mm terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Dan berdasarkan uji *in vitro* *Lactobacillus* sp. mampu melewati simulasi kondisi lambung dengan pH 2 dan 4. *Lactobacillus* sp. tidak mengubah asam kolat primer (kolat) menjadi asam kolat sekunder (deoksikolat), serta dapat menghidrolisis garam empedu (Sujaya *et al.*, 2008a).

5. Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik Menggunakan Uji API 50 CHL Medium

Hasil identifikasi dengan menggunakan API 50 CHL *test kit* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Perubahan Warna Tabung Berisi Berbagai Jenis Karbohidrat dan Isolat Bakteri Waktu 24 Jam (a) isolat G23 dan (b) isolat G63

API 50 CHL adalah *test kit* yang digunakan untuk identifikasi genus *Lactobacillus* hingga ke tingkat spesies.. Isolat yang diuji mampu memfermentasi sumber gula dan menghasilkan asam, maka indikator bromkresol ungu akan mengubah warna larutan gula dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna masing masing setiap nama dan jenis larutan gula dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji API 50 CHL Medium isolat G6₃ dan G2₃

No	Isolat G6 ₃		Isolat G2 ₃		Jenis Gula
	24 jam	48 jam	24 jam	48 jam	
0	-	-	-	-	0
1	-	-	-	-	GLY
2	-	-	-	-	ERY
3	-	-	-	-	DARA
4	-	+	-	-	LARA
5	-	+	-	+	RIB
6	-	+	-	-	DXYL
7	-	+	-	-	LXYL
8	-	-	-	-	ADO
9	-	-	-	-	MDX
10	-	+	-	-	GAL
11	-	-	+	+	GLU
12	+	+	+	+	FRU
13	-	+	-	-	MNE
14	-	+	-	-	SBE
15	-	+	-	-	RHA
16	-	-	-	-	DUL
17	-	+	-	-	INO
18	-	+	-	-	MAN
19	-	-	-	-	SOR
20	-	-	-	-	MDM
21	-	+	-	-	MDG
22	+	+	+	+	NAG
23	-	-	-	-	AMY
24	-	-	-	-	ARB
25	+	+	+	+	ESC
26	-	-	-	-	SAL
27	-	-	-	-	CEL
28	+	+	+	+	MAL
29	-	+	-	-	LAC
30	-	+	-	-	MEL
31	-	+	+	-	SAC
32	+	+	+	+	TRE
33	-	-	-	-	INU
34	-	+	-	-	MLZ
35	-	+	-	-	RAF
36	-	-	-	-	AMD
37	-	-	-	-	GLYG
38	-	-	-	-	XLT
39	-	-	-	-	GEN
40	+	+	+	+	TUR
41	+	+	+	+	LYX
42	-	-	-	-	TAG
43	-	-	-	-	DFUC
44	-	-	-	-	LFUC
45	-	-	-	-	DARL
46	-	-	-	-	LARL
47	-	+	-	-	GNT
48	V	+	+	+	2KG
49	V	+	+	+	5KG

Setelah dilakukan identifikasi dengan menggunakan API WEB *software* (API bioMerieux), diketahui adanya perbedaan jenis sumber karbon yang dapat difermentasi oleh isolat G6₃ dan isolat G2₃ yaitu pada kemampuan memfermentasi jenis gula yang tersusun pada tube.

Isolat G2₃ tidak dapat memfermentasi sumber karbon seperti LARA, RIB, DXYL, LXYL MNE, SBE, RHA, INO, MAN, LAC, MEL, MLZ dan RAF namun dapat memfermentasi GLU sedangkan isolat G6₃ dapat memfermentasi sumber karbon LARA, RIB, DXYL, LXYL MNE, SBE, RHA, INO, MAN, LAC, MEL, MLZ dan RAF namun tidak dapat memfermentasi GLU.

Isolat G2₃ dapat memfermentasi 11 jenis gula (warna menjadi kuning pada Gambar 5) dan merupakan *Lactobacillus casei spp casei* dengan presentase kemiripan ciri-ciri pada *database* API-LAB *software* sebesar 74%.

Isolat G6₃ memiliki kemampuan dalam memfermentasi 25 jenis gula (perubahan warna menjadi kuning pada (Gambar 13) dan merupakan *Lactobacillus plantarum* dengan presentase kemiripan dengan ciri-ciri pada *database* API-LAB *software* sebesar 84%.

Perbedaan kedua isolat terletak pada kemampuannya memfermentasi gula α -Methyl-D-Mannoside dan α -Methyl-D-Glucoside. *L. plantarum* memiliki protein permukaan yang memungkinkan untuk berinteraksi dengan lingkungan *L. plantarum* adalah spesies yang sangat serbaguna yang dapat menyesuaikan diri

dengan lingkungannya (Jocker, 2010).

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini isolat kandidat probiotik yang diisolasi dari usuk ikan Gurami ditemukan 18 isolat. Bakteri kandidat probiotik yang diperoleh dapat tumbuh optimal pada semua perlakuan pH 2, pH 4, dan pH 6. Berdasarkan hasil identifikasi uji fisika, biokimia dan morfologi isolat kandidat probiotik yang ditemukan ada 3 jenis yaitu dari genus *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Bifidobacterium* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Dari kedelapan belas isolat tersebut sensitivitas tertinggi berasal dari isolat G63 jenis *Lactobacillus* sp. dengan zona hambat sebesar 13,2 mm dan hasil Identifikasi dengan API 50 CHL test kit diketahui jenis isolat merupakan *Lactobacillus flantarium* dengan tingkat signifikansi 84 %

2. Saran

Saran untuk penelitian ini yaitu sebaiknya dilakukan uji lanjutan masing masing calon probiotik diberikan pada ikan dalam ujiantang terhadap ikan untuk melihat patogenitas dari bakteri kandidat probiotik yang diperoleh agar kandidat ini bisa selanjutnya digunakan dalam probiotik untuk meningkatkan produksi ikan Gurami.

DAFTAR PUSTAKA

Davidson, P.M. and M.E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials.

FoodTechnology. 1989:148-155.

De Angelis, M., A. Corsetti, N.Tosti, J. Rossi, M.R. Corbo, and M. Gobbetti. 2001. Characterization of Non-starter Lactis Acid Bacteria from Italian Ewe Cheeses Based on Phenotypic, Genotypic, and Cell Wall Protein Analyses. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2011-2020

Diraja, A. 2007. Penyakit Bakterial (*Aeromonas hydrophila*) di Kanagarian Lubuk Pandan Kab. Padang Pariaman .<http://www.diknassusumbar.org>.diunduh pada 19 Juni 2015

Dewi, Sri Sinto dan Herlisa Angraini. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat ASI terhadap pH Asam Lambung dan Garam Empedu. Seminar Hasil- Hasil Penelitian – LPPM UNIMUS 2012. ISBN: 978-602-18809-0-6

Hasyimi, W. 2014. Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Saluran Pencernaan Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) Berbasis Teknik Sekuens 16s rDNA. Skripsi

Jockers, D. 2010. "Pelajari tentang Pentingnya Bakteri Baik, Bagian II: *Lactobacillus Plantarum*" Natural News. NaturalNews.. Web. 19 April 2015.

Lusiastuti, A.M. dan Taukhid, 2011. Seleksi Kandidat Probiotik Anti *Aeromonas hydrophila* Untuk Pengendalian Penyakit

Ikan Air Tawar. Laporan
Balai Riset Penelitian
Budidaya Air Tawar Bogor

- Nayak, P. A., Nayak, U. A., Mythili, R., 2010. Effect of Manuka honey, chlorhexidine gluconate and xylitol on the clinical levels of dental plaque. *Contemp Clin Dent* 1(4) : 214-217.
- Saparinto, C. 2011. *Budidaya Ikan Gurami di Lahan Terbatas*. Andi Offset. Yogyakarta. 172 hlm.
- Sujaya, I N., N.M.U. Dwipayanti, N.L.P. Suariani, N.P. Widarini, K.A. Nocianitri dan N.W. Nursini. 2008a. Potensi *Lactobacillus* spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa sebagai Probiotik. *J. Vet.* 9 (1) : 33 – 40.
- Surono, IS. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya: Jakarta
- Susanti Ida, Retno W. Kusumaningtyas, dan Fatim Illaningtyas. 2007. Uji Sifat Probiotik Bakteri Asam Laktat sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol XVIII No. 2 Th. 2007
- Wang Y.B., J.R. Li and J. Lin. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281:1-4.