

ORIGINAL ARTICLE

Karakteristik Probiotik Bakteri Fakultatif Mixotrofik yang Diisolasi dari Tambak Udang

Probiotic Characteristic of Facultative Mixotrophic Bacteria Isolated from Shrimp Pond

Ardiansyah^{*a}, Andi Asdar Jaya^a, Amrullah^a, Dahlia^a, Indrayani^b^aProgram Studi Budidaya Perikanan, Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene dan Kepulauan, Mandalle^bUniversitas Halu oleo, Kendari***Informasi Artikel**

Received: 7 Maret 2021

Accepted: 9 April 2021

***Corresponding Author**Ardiansyah, Politeknik Pertanian
Negeri Pangkajene dan Kepulauan.
Email: ardi_kimsan@yahoo.com**How to cite:**Ardiansyah, Jaya, A., Amrullah,
Dahlia, & Indrayani. (2021).
Karakteristik Probiotik Bakteri
Fakultatif Mixotrofik yang Diisolasi
dari Tambak Udang. *SIGANUS:
Journal of Fisheries and Marine
Science*, 2(2), 112-117.**ABSTRAK**

Industri budidaya udang senantiasa membutuhkan teknologi baru dalam upaya peningkatan hasil produksi. Probiotik adalah mikroorganisme nonpatogenik, tidak beracun dan tanpa efek samping yang merugikan bila diberikan pada organisme akuatik. Bakteri fakultatif mixotrofik yang diisolasi dari tambak udang intensif mampu menguraikan amonia dan hidrogen sulfida dalam air tambak. Namun potensi bakteri fakultatif mixotrofik un menjadi probiotik masih perlu dievaluasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi bakteri fakultatif mixotrofik dalam menghasilkan proteolitik, amilolitik dan lipolitik ekstraseluler. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif berupa aktivitas enzimatis empat isolat terpilih bakteri fakultatif mixotrofik. Hasil uji menunjukkan bahwa isolat AOB1 tidak memiliki aktivitas proteolitik ekstraseluler, isolat AOB13, AOB28 mempunyai aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik. Isolat SOB31 memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik terbesar berdasarkan zona bening yang dihasilkan.

Kata Kunci: Bakteri fakultatif mixotrofik; probiotik; proteolitik; amilolitik; lipolitik

ABSTRACT

Shrimp farming industry continuously require new technology in an effort to increase production output. Probiotics are non-pathogenic microorganisms, non-toxic and without any adverse side effects when administered to aquatic organisms. Mixotrophic facultative bacteria isolated from intensive shrimp ponds are able to decompose ammonia and hydrogen sulfide in pond water. However, the potential of mixotrophic facultative bacteria to become probiotics still need to be evaluated. The aim of this study was to evaluate the potential of mixotrophic facultative bacteria in producing extracellular proteolytic, amylolytic and lipolytic. Data obtained in the form of the enzyme activity from four selected isolates of facultative mixotrophic bacteria were statistically analyzed using SPSS. The test results showed that isolates AOB1 isolates did not have extracellular proteolytic activity, AOB1, AOB13, AOB28 isolates had proteolytic and lipolytic activities, while isolates SOB31 had proteolytic, amylolytic and lipolytic activities. SOB31 isolate showed the largest proteolytic, amylolytic and lipolytic activity based on the resulting clear zone.

Keywords: Facultative Mixotrophic bacteria; probiotics; proteolytic, amylolytic, lipolytic

Pendahuluan

Seiring pertambahan populasi manusia, kebutuhan protein hewani juga terus meningkat. Mengonsumsi udang merupakan salah satu cara untuk memenuhi kebutuhan manusia akan protein hewani dan udang vaname merupakan salah satu produk budidaya yang memiliki kandungan protein relatif tinggi. Permintaan udang vaname yang tinggi mendorong peningkatan produksi budidaya udang vaname yang semakin intensif. Namun, berbagai permasalahan muncul terkait dengan kegiatan budidaya udang intensif, seperti rendahnya daya cerna pakan, meningkatnya penyakit, dan penurunan kualitas air.

Tambak udang menghasilkan sampah organik dari sisa pakan dan kotoran udang. Hasil penelitian Jackson et al. (2003) menunjukkan bahwa efisiensi nitrogen dari penggunaan pakan hanya sekitar 22%, sedangkan 78% nitrogen terbuang ke lingkungan dan terakumulasi di dasar sedimen tambak. Kandungan bahan organik yang tinggi dapat memacu pertumbuhan mikroorganisme, biodekomposisi proses dan konsumsi oksigen yang tinggi (Avnimelech dan Ritvo, 2003). Saat kandungan oksigen tidak mencukupi dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme anaerobik yang secara aktif mengurangi SO₄²⁻ menjadi H₂S itu menghambat pertumbuhan hewan peliharaan (Mugnier et al., 2008). Perlu diupayakan tindakan untuk mengatasi penumpukan bahan organik di sedimen tambak. Pendekatan paling efektif adalah melalui bioremediasi (mikroorganisme agen). Limbah organik pakan bersifat kompleks, sehingga, bioremediasi membutuhkan konsorsium yang berbeda mikroorganisme dengan peran yang berbeda dalam pembersihan bahan organik. Selain faktor stres lingkungan, masalah yang dihadapi dalam pengembangan budidaya udang adalah faktor penyakit (Smith dan Briggs, 1998). Sehingga di dalam kolom air berkembang konsorsium probiotik yang memiliki fungsi untuk membersihkan bahan organik (biodekomposisi) sambil mengontrol populasi patogen (biocontrol). Untuk itu untuk menghasilkan probiotik bakteri perlu untuk menyaring, pengoptimalan media tumbuh dan uji aplikasi probiotik.

Manfaat bakteri probiotik bagi hewan peliharaan antara lain sebagai sumber nutrisi dan kontribusi dalam proses pencernaan enzimatik (Balcazar et al., 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri probiotik mampu meningkatkan enzim pencernaan dan pertumbuhan *Fenneropenaeus indicus* (Ziaei-Nejad et al., 2006),

Litopenaeus vannamei (Wang, 2007; Zokaeifar et al., 2012), *Cromileptes altivelis* (Marlida et al., 2014), dan abalone *Haliotis asinina* (Faturrahman et al., 2015), meningkatkan laju pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan kerapu (Sun et al., 2010), meningkatkan kecernaan nutrisi (Putra dan Widanarni, 2015), pertumbuhan (Utami et al., 2015), dan meningkatkan respon imun pada ikan nila *Oreochromis sp* (Aly et al., 2008). Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan pengujian aktivitas proteolitik dan amilolitik pada beberapa isolat bakteri, dimana beberapa isolat bakteri mampu mendegradasi pakan (Hamtni et al., 2015).

Penggunaan pakan buatan dalam budidaya intensif menyebabkan daya cerna pakan rendah. Pasalnya, kandungan bahan pakan pada pakan buatan sulit dicerna dibandingkan dengan pakan hidup. Kecernaan pakan dalam budidaya sangat mempengaruhi pertumbuhan udang dan biaya produksi. Hal tersebut dapat ditingkatkan dengan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan yang mampu memecah nutrisi pakan, salah satunya menggunakan bakteri probiotik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis potensi probiotik dari bakteri fakultatif mixotrofik isolat AOB1, AOB13, AOB28 dan SOB31 dalam melakukan aktivitas proteolitik, amilolitik dan lipolitik.

Metodologi Penelitian

Uji aktivitas proteolitik pada media agar dengan menggunakan 1% skim milk (Nespolo et al., 2010). Uji aktivitas proteolitik berdasarkan prosedur Benson (2001), yaitu kultur cair isolat yang diperoleh dari hasil isolasi diinokulasikan ke kertas cakram yang kemudian ditempatkan pada media skim milk agar (1%), diinkubasi pada suhu 30°C selama 1-3 hari. Inokulasi bakteri fakultatif mixotrofik dilakukan dengan cara memasukkan kertas cakram ke dalam kultur cair isolat bakteri fakultatif mixotrofik menggunakan pinset. Aktivitas proteolitik tampak dari terbentuk zona bening di sekitar kertas cakram. Uji aktivitas proteolitik dilakukan selama tujuh hari.

Uji aktivitas amilolitik dilakukan pada media agar dengan 1% amilum atau pati (Fossi et al., 2005). Uji aktivitas amilolitik berdasarkan prosedur Benson (2001), yaitu kultur cair isolat bakteri fakultatif mixotrofik diinokulasikan ke kertas cakram yang kemudian ditempatkan pada media agar dengan 1% amilum, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam. Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara

memasukkan kertas cakram ke dalam kultur cair isolat bakteri menggunakan pinset. Hasil aktivitas enzim amilase ekstraseluler ditunjukkan oleh terbentuk zona bening di sekitar koloni. Pengamatan zona bening di sekitar koloni dilakukan dengan penambahan lugol pada media (Fossi et al., 2005). Uji aktivitas amilolitik dilakukan selama 3 hari.

Uji aktivitas lipolitik dilakukan pada media MRS agar dengan penambahan 2 ml minyak zaitun dalam 100 ml media MRS agar (Svetlitschny et al., 1996). Uji aktivitas lipolitik dilakukan dengan cara kultur cair isolat bakteri fakultatif mixotrofik diinokulasikan ke kertas cakram

lalu ditempatkan pada media MRS agar dengan penambahan 2 ml minyak zaitun. Inkubasi pada suhu 30°C selama 24-48 jam (Benson, 2001). Inokulasi bakteri fakultatif mixotrofik dilakukan dengan cara memasukkan kertas cakram ke dalam kultur cair isolat bakteri menggunakan pinset. Aktivitas enzim lipase bakteri fakultatif mixotrofik ditandai dengan terbentuk zona bening di sekitar koloni yang menunjukkan bahwa media larut atau terhidrolisis. Uji aktivitas lipolitik dilakukan selama 3 hari.

Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim proteolitik

Uji aktivitas proteolitik menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik isolat AOB13, AOB28 dan SOB31 terus meningkat sampai pada hari ke tujuh berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan, sedangkan isolat AOB1 tidak menunjukkan aktivitas proteolitik (Tabel 1). Aktivitas proteolitik dari ketiga isolat AOB13, AOB28 dan SOB31 yang terus mengalami peningkatan karena bakteri mampu tumbuh dan

berkembangbiak. Bakteri pada fase pertumbuhan menghasilkan metabolit primer berupa enzim protease ekstraseluler. Semakin besar zona bening yang dihasilkan menunjukkan semakin besar kemampuan isolat tersebut menghasilkan enzim protease. Enzim protease secara alami diproduksi oleh mikroba untuk menghidrolisis polipeptida alam media menjadi peptida dan asam amino (Wilson and Remigio, 2012).

Tabel 1. Diameter zona bening aktivitas enzim proteolitik bakteri fakultatif mixotrofik

No	Isolat	Diameter zona bening (mm)						
		D ₁	D ₂	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇
1	AOB1	-	-	-	-	-	-	-
2	AOB13	11.67±0.33 ^b	12.67±0.33 ^b	14.33±0.33 ^b	15.67±0.33 ^b	16.33±0.33 ^b	17.67±0.33 ^b	20.33±0.33 ^b
3	AOB28	10.67 ^a	11.67±0.33 ^a	12.00±0.00 ^a	14.33±0.33 ^a	14.33±0.33 ^a	14.33±0.33 ^a	15.33±0.33 ^a
4	SOB31	12.33 ^c	13.67±0.33 ^c	14.33±0.33 ^c	14.67±0.33 ^a	16.67±0.33 ^b	18.67±0.33 ^c	21.33±0.33 ^c

Aktivitas enzim amilolitik

Uji aktivitas amilolitik bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim amilase ekstraseluler pada media agar dengan 1% amilum. Kemampuan isolat dalam menghasilkan enzim amilase ekstraseluler ditunjukkan terbentuknya zona bening pada media agar dengan 1% amilum. Hasil uji menunjukkan bahwa semua isolat mempunyai aktivitas amilolitik dengan menghasilkan zona bening karena terjadi ikatan antara gugus amilum dengan senyawa iodine/lugol (Tabel 2). Walaupun pada dasarnya semua bakteri mampu mensintesis enzim intraseluler. Namun hanya bakteri tertentu saja yang mampu menghasilkan enzim

ekstraseluler. Kemampuan semua isolat yang diuji menghasilkan enzim amilase ekstraseluler yang berperan untuk menghidrolisis amilum menjadi molekul maltosa, glukosa dan dekstrin (Benson, 2001).

Hasil uji juga menunjukkan bahwa aktivitas amilolitik isolat AOB1, AOB13, AOB28 dan SOB31 terus meningkat selama tiga hari pengamatan berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan. Aktivitas amilolitik dari keempat isolat AOB13, AOB28 dan SOB31 yang terus mengalami peningkatan karena bakteri mampu tumbuh dan berkembangbiak.

Tabel. 2 Diameter zona bening aktivitas enzim amilolitik bakteri fakultatif mixotrofik

No	Isolat	Diameter zona bening (mm)		
		D ₁	D ₂	D ₃
1	AOB1	10.33±0.33 ^b	11.33±0.33 ^a	12.67±0.33 ^a
2	AOB13	9.33±0.33 ^a	11.33±0.33 ^a	13.67±0.33 ^b
3	AOB28	9.33±0.33 ^a	11.33±0.33 ^a	12.67±0.33 ^a
4	SOB31	10.33±0.33 ^b	12.00±0.58 ^b	14.33±0.33 ^c

Aktivitas enzim lipolitik

Hasil uji aktivitas lipolitik menunjukkan terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media MRS agar dengan penambahan 2 ml minyak zaitun (Tabel 3). Isolat AOB1, AOB13, AOB28, dan SOB31 mampu menghasilkan enzim lipase ekstraseluler. Isolasi bakteri adalah memisahkan bakteri dari lingkungan dan menumbuhkan sebagai biakan pada media buatan (Suryani et al., 2010). Menurut Khunajarkr et al. (2008), isolasi bakteri bakteri fakultatif mixotrofik dilakukan dengan menggunakan media MRS agar dengan penambahan 0,5% CaCO₃. Koloni bakteri fakultatif mixotrofik yang tumbuh membentuk zona bening di sekitar pertumbuhan koloni pada media MRS agar dengan penambahan 0,5% CaCO₃. Zona bening

terbentuk karena bakteri menghasilkan metabolit sekunder yang ditunjukkan dengan terbentuk zona bening. Menurut Meliawati et al. (2015), zona bening dapat terbentuk karena bakteri mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dapat berupa asam laktat yang berlebih, dimana kelebihan produksi asam laktat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening. Menurut Benson (2001) bahwa kemampuan bakteri menghidrolisis lemak dengan menghasilkan enzim lipase. Molekul lemak dihidrolisis menjadi molekul gliserol dan asam lemak. Gliserol dan asam lemak digunakan bakteri untuk mensintesis lemak pada bakteri dan komponen sel lainnya. Gliserol dan asam lemak teroksidasi menghasilkan energi dalam kondisi aerobik.

Tabel 3. Diameter zona bening aktivitas enzim lipolitik bakteri fakultatif mixotrofik

No	Isolat	Diameter zona bening (mm)		
		D ₁	D ₂	D ₃
1	AOB1	9.67±0.33 ^a	11.33±0.33 ^a	12.67±0.33 ^a
2	AOB13	9.67±0.24 ^a	11.67±0.24 ^a	13.67±0.24 ^b
3	AOB28	9.67±0.33 ^a	11.00±0.58 ^a	12.67±0.33 ^a
4	SOB31	10.67±0.33 ^b	11.67±0.33 ^a	13.67±0.33 ^b

Kesimpulan

Hasil uji aktivitas enzimatis terhadap empat isolat terpilih bakteri fakultatif mixotrofik, AOB1, AOB13, AOB28, dan SOB31 menunjukkan isolat AOB13, AOB28 dan isolat SOB31 mempunyai aktivitas enzimatis yaitu proteolitik, amilolitik dan lipolitik.

Berdasarkan diameter zona bening yang dihasilkan, isolat SOB31 menunjukkan aktivitas enzimatis terbesar dibanding isolat lainnya.

Daftar Pustaka

- Aly, S.M., Yousef, A.G.A., Ahlam, A.A.G., Mohamed, F.M. 2008. Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotic, on the immune response and resistance of tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) to challenge infection. *J. Fish Shellfish Immunol* 25, 128-136.
- Avnimelech, Y., Ritvo, G. 2003. Shrimp and Fish Pond Soils: Processes and Management. *Aquaculture*, 220, 549-567. [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00641-](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00641-)
- Benson. 2001. Microbiological applications. Laboratory manual in general microbiology. Eighth Edition. McGraw-Hill Science Company, New York, pp. 72-175.
- Briggs, M.R., Funge-Smith, S.J. 1994. A nutrient budget of some intensive marine shrimp ponds in Thailand. *Aquaculture Research* 25, 789-811.
- Balcazar, J.I., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Cunningham, D., Vandrell, D., Muzqiz, J.I. 2006. The role of probiotic in aquaculture. A review. *Veterinary Microbiol* 114(3-4), 173-186. The role of probiotic in aquaculture.
- Faturrahman, Rohyati, I.S., Sukiman. 2015. Improved of growth rate of abalone *Haliotis asinina* fed pudding probiotic-enriched protein. *Proced Environ. Sci.* 23 315-322.
- Fossi, B.T., Tavea, F., Ddjouenkeu, R. 2005. Production and partial characterization thermostable amylase from ascomycetes yeast strain isolated from starchy soils. *African Journal of Biotechnology* 4(1), 14-18.
- Funge-Smith, S. J., and Briggs, M. R. P. 1998. Nutrient budgets in intensiveshrimp ponds: implications for sustainability. *Aquaculture* 164, 117-133. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00181- 1.
- Hamtini, Wida narni, Meryandini, A. 2015. Isolation and selection of *Bacillus* sp, from catfish (*Claria* sp) as a potential probiotic. *J. Biol. Indones* 11(1), 11-9.
- Jackson, C., Preston, N., Thompson, P.J., Burford, M. 2003. Nitrogen budget and effluent nitrogen components at an intensive shrimp farm. *Aquaculture*, Volume 218, Issues 1-4
- Khunajakr, N., Wongwicham, A., Moonmangme, D., Tantipaiboonvut, S. 2008. Screening and identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial compounds from pig gastrointestinal tracts. *KMITL Sci. Tech. J.* 8(1), 8-17.
- Marlida, R., Suprayudi, M.A., Widanarni, Haris, E. 2014. Growth, digestive activity and health status of humpback grouper (*Cromileptis altivelis*) fed with synbiotic. *Pak. J. Nutr.* 13(6), 319-326.
- Meliawati, R., Djohan, A.C. Yopi. 2015. Seleksi bakteri asam laktat sebagai penghasil enzim protease. *Pros Seminar Nasional Masyarakat Bodiversitas Indonesia* 1(2), 184-188.
- Mugnier, C., Goarant, C., Etienne, Z., Lemonnier, H. 2008. Combine effect of exposure to ammonia and hypoxia on the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* survival and physiological response in relation to molt stage. *Aquaculture* 274 (2-4), 398-407.
- Nespolo, C.R., Brandelli, A. 2010. Production of bacteriocin-like substances by lactic acid bacteria isolated from regional ovine cheese. *Brazilian Journal of Microbiology* 41, 1009-1018.
- Putra, .N., Widanarni. 2015. Screening of amylolytic bacteria as candidates of probiotics in tilapia (*Oreochromis* sp). *Res J. Microbiol* 10(1)1-13.
- Sun, Y.Z. Yang, H.L., Ma, R.I., Lin, W.Y. 2010. Probiotic application of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune response of grouper *Ephinephelus coiodes*. *J. Fish Shelfish Immunol* 29, 803-809.
- Suryani, Y., Astuti, B., Oktavia, Umniyati, S. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat sebagai sgenasi probiotik dan enzim kolesterol reduktase. *Prosiding Seminar nasional biologi. Universitas Negeri Yogyakarta*, 138-147.
- Svetlitsshnyl, V., Rainey, F., Wiegel, J. 1996. *Thermosyntropha lipolytica* Grn. Nov., sp. Nov., a lypolitic, anaerobic, alkalitolerant, thermophilic bacterium utilizing short and long chain fatty acidin synthropic coculture with a methanogenic archaeum. *International Journal of a Systematic Bacteriology* 46, 1131-1137.
- Utami, D.A.S., Widanarni, Suprayudi, M.A. 2015. Quality of dried *Bacillus* NPS and its effect on growth perfrmance of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Pak. J. Biol. Sci* 18(2), 88-93.
- Wang, Y.B. 2007. Effect of probiotic on growth performance and digestive enzyme activity of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 269, 259-264.

Wilson, P., Remigio, Z. 2012. Production and characterization of protease enzyme produced by a novel moderate thermophilic bacterium (EP1001) isolated from an alkaline hot spring, Zimbabwe. *Africal Journal of Microbiology Research* 6(27), 5542-5551.

Ziaei-Nejad , S., Mehran, H.R., Ghobad, A.T., Donald, L.L. A Li, R.M., Mehdi, S. 2006. The effect of *Bacillus* spp. Bacteria used as probiotic on digestive enzyme activity, survival and growth in

the Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus*. *Aquaculture* 252, 516-524.

Zokaeifar, H., Jose, L.B., Chee, R.S., Mohd, S.K., Kamaruzaman, S., Aziz, A., Nagmeh, N. 2012. Effect of *Bacillus subtilis* on the growth performance, digestive enzymes, immune gene expression and disease and resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *J. Fish Shellfish Immunol.* 33, 683-689.