Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Belut Sawah (*Monopterus albus)* yang dipelihara pada Budidaya Sistem Boflok

Isolation of Lactic Acid Bacteria from Intestines of Eel *(Monopterus albus)* Raised in Biofloc System Cultivation

Feri Julianto[1], Iesje Lukistyowati[2], Henni Syawal[2]

1) Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau
2) Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

INFORMASI ARTIKEL

Diterima: 29 Juli 2023
Distujui: 16 Oktober 2023

Keywords:
Monopterus albus, Biofloc, Lactic Acid Bacteria, Intestine, Aeromonas hydrophila

A B S T R A C T

Biofloc technology is one of the most profitable alternative solutions to the problem of aquaculture waste. The research was carried out from July to August 2020 at the Laboratory of Fish Parasites and Diseases, Faculty of Fisheries and Marine Affairs, Riau University. The purpose of this study was to isolate and identify candidate lactic acid bacteria (LAB) that have the potential as probiotics from the intestines *Monopterus albus* and to determine the growth rate of candidate probiotic bacteria and can suppress the growth of the pathogenic bacteria *Aeromonas hydrophila*. The method used is the experimental method with treatment of pH 2, pH 4 and pH 6, isolation was carried out from the best *Monopterus albus* rearing with a stocking density of 30 fish/25 liters of water. Candidate probiotic bacteria was found from the intestines of *Monopterus albus* as many as 6 LAB candidate isolates based on the results of physical, biochemical and pH treatments, the morphology of the probiotic candidate isolates consisted of one type of bacteria, namely *Lactobacillus*, from the 6 isolates which showed the widest zone of inhibition against the pathogenic bacteria *Aeromonas hydropila* was isolate derived from *Monopterus albus* intestine result shown that which grows at pH 2 is BL 2.1.1 with an inhibition zone diameter of 9,05 mm.

1. PENDAHULUAN

Belut sawah merupakan salah satu jenis komoditas ekspor andalan Indonesia. Hal ini dikarenakan permintaan belut sawah baik di pasar domestik maupun mancanegara cenderung meningkat. Seperti pada negara-negara di kawasan Asia, permintaan akan belut sawah di negara ini dapat mencapai 60 ton per hari dan hanya terpenuhi 10 persen dari angka tersebut (Fujiani, 2015).

Belut sawah yang dibudidayakan dengan menggunakan substrat lumpur saat ini masih kurang efisien dalam hal pengontrolan jumlah konsumsi pakan dan derajat kelangsungan hidupnya, dan sering terinfeksi oleh penyakit berbeda dengan budidaya belut sawah dalam media air

tanpa lumpur. Budidaya belut sawah dalam media air tanpa lumpur lebih efisien dalam pengelolaan dan pemantauan biota (Husen, 2015). Teknologi budidaya dengan system bioflok merupakan salah satu alternative yang tepat untuk pemeliharaan ikan belut dalam media tanpa lumpur dan dapat menghasilkan belut yang sehat.

Bakteri yang sering menginfeksi belut sawah adalah bakteri *Aeromonas hydrophila* (Fimela, 2014). Bakteri *Aeromonas* sp atau *Pseudomonas* sp adalah bakteri yang biasanya menyerang ikan belut sehingga mengakibatkan penyakit secara sistemik dan apabila tidak segera ditangani maka akan menimbulkan kematian pada belut sawah tersebut.

Bakteri *Aeromonas hydrophila* dapat hidup di air dan lumpur terutama yang kotor dan banyak bahan organic (Sarono *dkk*, 1993). namun bakteri ini dapat menyerang ikan termasuk belut sawah sepanjang waktu. Salah satu pemecah masalah untuk menangani penyakit bacterial akibat banyaknya bahan organic di perairan budidaya yaitu dengan cara menggunakan teknik budidaya dengan sistem budidaya bioflok, teknik budidaya dengan sistem bioflok merupakan teknologi yang memanfaatkan bakteri probiotik. Budidaya dengan teknologi bioflok merupakan kegiatan budidaya pada lahan dan air terbatas namun produksi dapat ditingkatkan dan kualitas air dapat mendukung kehidupan ikan, yaitu amonia dan nitrit dapat dikurangi. Selain dapat menurunkan limbah nitrogen anorganik, teknologi ini juga dapat menyediakan pakan tambahan berprotein untuk ikan budidaya sehingga dapat menaikan pertumbuhan dan efisiensi pakan.

Teknik bioflok dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan pakan dengan pembentukan biomass mikroba (bakteri) dari bahan organik dan senyawa terlarut (Serfling, 2006). Bakteri pembentuk bioflok dapat mengubah limbah budidaya menjadi biomasa bakteri yang potensial sebagai bahan pakan ikan dengan bantuan bakteri menguntungkan (probiotik). Probiotik dalam budidaya ikan adalah bakteri yang dapat memberikan pengaruh positif terhadap ekosistem dan rantai makanan kelompok bakteri tersebut antara lain *Bacillus*, *Photobacterium* sp dan *Lactobacillus* sp dimana ketiga bakteri tersebut termasuk ke dalam golongan bakteri asam laktat (BAL) (Firdaus *et al*.,2013). Veschuere *et al*., (2000) menyatakan probiotik memiliki kemampuan merangsang sistem pertahanan tubuh melawan penyakit dan meningkatkan kemampuan usus untuk menyerap sari-sari makanan sekaligus menekan populasi patogen di usus yaitu BAL adalah bakteri yang paling banyak digunakan sebagai probiotik. Keberadaan BAL pada ikan dan peranannya sebagai probiotik sangat banyak salah satunya meningkatkan sistem imun dan meningkatkan kelulushidupan ikan (Windarni, 2018).

Berdasarkan uraian di atas maka penulis tertarik untuk melakukan isolasi bakteri asam laktat dari usus belut sawah yang dipelihara pada budidaya sistem bioflok dan mengharapkan bakteri asam laktat yang teridentifikasi berpotensi sebagai kandidat Bakteri asam laktat dan dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2020, yang bertempat di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Bahan dan Alat

Ikan uji yang digunakan yaitu belut sawah yang dipelihara dibudadayakan pada sistem bioflok.

Metode Penelitian
Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey dan eksperimen dengan melakukan perlakuan menumbuhkan bakteri kandidat BAL pada pH 2, pH 4 dan pH 6 masing-masing pH terdiri dari 2 ulangan. dimana belut yang digunakan berasal dari penelitian lanjutan dari perlakuan terbaik Lukistyowati *et al* 2020. Kemudian dilanjutkan dengan uji fisika dan biokimia untuk identifikasi konvensional dan juga dilakukan uji antagonis dengan bakteri *Aeromonas hydophila.*

Pemeliharaan Belut Sawah
Belut dipelihara pada media bioflok wadah bulat dengan diameter 60 cm. Padat tebar belut, yaitu 30 ekor perwadah yang memiliki perlakuan terbaik dengan padat tebar 30 ekor/25 liter air. Pembuatan media bioflok menggunakan probiotik multisel yang ditambahkan molase (probiotik 10ml/m^3 + molase 48 g/100 L air). Probiotik ditambahkan ke dalam media bioflok 7 hari sekali.

Pembuatan Media MRS (de Mann, Rogosa, Sharpe)
Media kultur untuk menumbuhkan bakteri asam laktat yang digunakan adalah MRS . MRS di buat dengan mengencerkan 52,2 gram/liter aquades. Media MRS dan akuades dihomogenkan dalam erlenmeyer menggunakan alat bantu *magnetic stirrer* dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga larutan mendidih. Selanjutnya labu erlenmeyer ditutup dengan menggunsakan *aluminium foil* untuk disterilisasi dengan *autoclave* bertekanan 1 Atm pada suhu 121 ^{0}C selama 15 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu 60 ^{0}C, lalu dituangkan secara aseptik ke dalam cawan petri steril dan ditutup rapat. Setelah media membeku, cawan dibungkus dengan kertas dengan posisi terbalik agar menhindari uap air yang jatuh pada media agar. Apabila tidak langsung digunakan media dapat disimpan dalam kulkas.

Pembuatan Media Trypticase Soya Agar / Trypticase Soya Broth (TSA/TSB)
Media kultur untuk penumbuhan dan purifikasi bakteri yang digunakan adalah TSA sedangkan untuk kultur bakteri murni pada TSB. Media TSA digunakan Sebanyak 40 gram/500 ml akuades dalam labu erlenmeyer sedangkan media TSB sebanyak 30 g/500 mL akuades, lalu dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer* dan dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih. Sebelum dihomogenkan di atas *magnetic stirrer* labu erlenmeyer sudah ditutup dengan menggunakan kertas *alumunium foil* kemudian media TSA disterilisasi dengan *autoclave* bertekanan 1 Atm pada suhu 121^{0}C selama 15 menit lalu didinginkan hingga suhu 60^{0}C dan dituangkan secara aseptik kedalam cawan petri steril kemudian ditutup rapat. Setelah media membeku, cawan dibungkus dengan kertas padi dengan posisi terbalik. Apabila tidak langsung digunakan media dapat disimpan dalam kulkas. Untuk media TSB setelah dihomogenkan dan dipanaskan ditunggu sampai agak dingin kemudian langsung dituang ke tabung reaksi masing masing sebanyak 10 mL dalam setiap tabung, tabung langsung ditutup dengan kapas dan kain kasa, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* tekanan 1 Atm pada suhu 121^{0}C selama 15 menit. Media TSB dikeluarkan kemudian tunggu sampai dingin dan media siap digunakan jika tidak langsung digunakan media disimpan di dalam kulkas.

Pembuatan Larutan Garam Fisiologis
Pembuatan larutan fisiologis dilakukan dengan cara menambahkan larutan HCl pekat ke dalam larutan NaCl . Masing masing tabung reaksi berisi NaCl 0,9% disesuaikan pHnya dengan menambahkan HCl pekat menggunakan mikropipet dan dilihat kesesuaiannya dengan menggunakan pH meter. Setelah pH sesuai yaitu pH 2, pH 4,dan pH 6 kemudian disterilkan di autoklaf dengan suhu 121ºC tekanan 2 atm selama 30 menit.

Isolasi Bakteri
Isolasi kandidat BAL mengacu Sarbaini *et al* (2015) dilakukan dengan cara membedah belut sawah sebanyak 3 ekor dan diambil ususnya. Usus belut sawah di gunakan sebanyak 3 usus kemudian dibersihkan dari kotoran dan digerus menggunakan mortal sampai halus setelah digerus hasil gerusan diambil menggunakan ose, kemudian dimasukkan ke dalam 3 tabung ependorf yang sudah berisi masing masing NaCl pH 2, NaCl pH 4 dan NaCl pH, kemudian divortex selama 1 menit. Setelah divortex didiamkan selama 15 menit agar bakteri bisa beradaptasi pada pH 2, pH4 dan pH 6. Kemudian isolasi dilakukan dengan cara mengambil sampel sebanyak 100 µl lalu ditebar pada media MRS yaitu belut 1 pada pH 2, belut 2 pada

pH 4, dan belut 3 pada pH 6, selanjutnya diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37^{o}C. Isolasi pada media MRS dilakukan sebanyak tiga kali sampai didapatkan isolat yang murni. Setelah murni secara aseptik diinokulasikan kembali ke dalam media TSA dengan cara mengambil satu koloni bakteri menggunakan jarum ose lalu dilakukan penggoresan, kemudian diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 30^{o}C, setelah didapatkan koloni-koloni bakteri yang murni bakteri siap untuk diidentifikasi.
Pengisolasian dalam media MRS dilakukan dengan cara ditebar dengan mikropipet dan diratakan secara perlahan-lahan ke permukaan agar selanjutnya diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam. Kemudian untuk permurnian ke 2 dan ke 3 dilakukan dengan cara di gores dengan jarum ose. Untuk mendapatkan biakan murni maka dilakukan pemurnian pada media TSA. Bakteri yang sudah murni kemudian disimpan dalam media TSA miring dan diberi parafin cair untuk mencegah kontaminasi.

Identifikasi Bakteri
Identifikasi bakteri berdasarkan karakteristik morfologi, biokimia dan fisiologi. Pengamatan morfologi pada Buchana (1974) dalam kunci indentifikasi Bergey's manual of determinative bacteriology meliputi bentuk, tepi, elevasi, warna dan ukuran koloni. Uji biokimia yang digunakan antara lain : uji pewarnaan gram, uji O/F (Oksidatif/ Fermentatif), uji oksidase, uji katalase, uji motilitas.

Uji Aktivitas Bakteri
Setelah kandidat Bakteri Asam Laktat ditemukan dan diidentifikasi maka dilakukan Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen *Aeromonas hydrophila*, yang dilakukan dengan metode cakram *disk blank* sebagai berikut :

1. Isolat bakteri yang telah ditumbuhkan di media Natrium Broth, diambil sebanyak 100 µl dan disebarkan menggunakan *spyder glass* pada media TSA.
2. Kemudian *disk blank* yang telah ditetesi isolat bakteri asam laktat dari usus belut sawah. dan kontrol positif Oxytertrasilin diletakkan pada inokulasi bakteri uji selama 24 jam.

Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona bening di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil inokulasi dari usus 3 ekor belut sawah pada media MRS setelah dilakukan pemurnian pada media TSA ditemukan enam isolate kandidat BAL. semua kandidat BAL yang ditemukan dari usus belut sawah merupakan BAL dimana kandidat BAL tersebut dapat tumbuh pada pH 2, pH 4 dan pH 6. Hasil pertumbuhan BAL disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pertumbuhan Isolat Kandidat Bakteri Asam Laktat dari Usus Belut Sawah

No	Sampel	Jumlah isolat			Petumbuhan		
		pH 2	pH 4	pH 6	pH 2	pH 4	pH 6
1	Belut 1 (usus)	2	-	-	√	-	-
2	Belut 2 (usus)	-	2	-	-	√	-
3	Belut 3 (usus)	-	-	2	-	-	√
	Total			6			

Kode Keterangan : BL 1.2.1 : Belut 1 pH 2 isolat 1, BL 1.2.2 : Belut 1 pH 2 isolat 2,
BL 2.4.1 : Belut 2 pH 4 isolat 1, BL 2.4.2 : Belut 2 pH 4 isolat 2,
BL 3.6.1 : Belut 3 pH 6 isolat 1, BL 3.6.2 : Belut 3 pH 6 isolat 2.

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa Isolat kandidat BAL yang diisolasi dari usus sampel belut sawah yang tumbuh di pH 2 adalah isolat BL1.2.1 dan BL1.2.2 sedangkan di pH 2 dan pH 6 tidak tumbuh sedangkan pada usus belut sampel kedua hanya tumbuh di pH 4 sebanyak 2 isolat yaitu BL2.4.1 dan BL2.4.2. Isolat dari sampel belut ketiga yang tumbuh hanya pada pH 6 yaitu BL3.6.1 dan BL3.6.2. hal ini disebabkan karena bakteri asam laktat dapat tumbuh pada kisaran pH yang sangat luas, hal ini sesuai dengan pendapat Nursyirwani

(2011) bakteri asam laktat dapat tumbuh pada kondisi pH dan suhu yang berbeda, dan dapat tumbuh pada pH 3,4,5,6 dan 9.

Enzim juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dari bakteri asam laktat pada pH rendah. Bakteri asam laktat dapat tumbuh pada pH yang rendah juga dikarenakan bakteri ini memiliki enzim protease, yaitu aminopeptidase yang mampu mempengaruhi adaptasi dan pertumbuhan bakteri asam laktat pada kondisi asam. Enzim protease dibutuhkan oleh bakteri asam laktat untuk pertumbuhan dan menghasilkan asam seperti dalam proses fermentasi (Sitorus *et al.,* 2019). Kondisi saluran pencernaan erat kaitannya dengan pH yang berbeda beda. Salah satu faktor yang menonjol dalam menentukan kadar pH dalam saluran pencernaan adalah keasaman asam lambung. Kondisi keasaman lambung berfungsi sebagai pintu gerbang pertama untuk melakukan seleksi mikroba sebelum masuk ke usus (Khan dan Wiyana, 2011).

Morfologi dan Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan morfologi koloni didapatkan 6 isolat bakteri yang mempunyai morfologi berbeda, baik dari segi warna, bentuk koloni, elevasi, dan tepian yang berbeda, untuk lebih jelasnya ditampilkan pada Tabel 2.

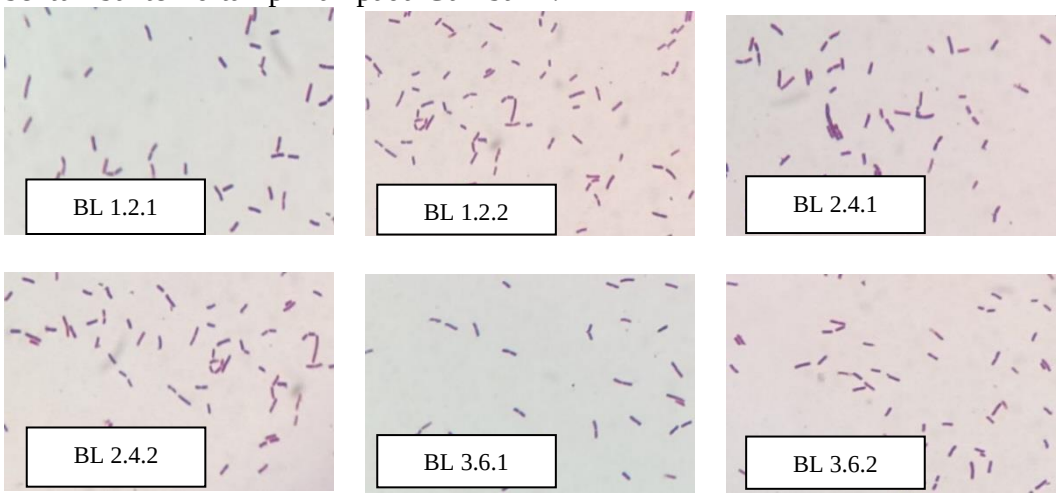
Tabel 2. Hasil pengamatan morfologi koloni dan pewarnaan Gram

Kode Isolat	Warna Koloni	Morfologi Koloni (Bentuk,Tepian,Elevasi)	Gram	Bentuk Bakteri
BL 1.2.1	Krem	Bulat, Berserabut, Cembung	(+)	Basil
BL 1.2.2	Krem	Bulat, Berserabut, Cembung	(+)	Basil
BL 2.4.1	Krem	Bulat, Licin, Cembung	(+)	Basil
BL 2.4.2	Krem	Bulat, Licin, Cembung	(+)	Basil
BL 3.6.1	Krem	Bulat, Berserabut, Cembung	(+)	Basil
BL 3.6.2	Krem	Bulat, Berserabut, Cembung	(+)	Basil

Kode Keterangan : BL 1.2.1 : Belut 1 pH 2 isolat 1, BL 1.2.2 : Belut 1 pH 2 isolat 2,
BL 2.4.1 : Belut 2 pH 4 isolat 1, BL 2.4.2 : Belut 2 pH 4 isolat 2,
BL 3.6.1 : Belut 3 pH 6 isolat 1, BL 3.6.2 : Belut 3 pH 6 isolat 2.

Berdasarkan Tabel 2 dari 6 isolat menunjukkan perbedaan hasil pengamatan morfologi koloni, yaitu: warna koloni krem, elevasi cembung, serta bentuk bakteri basil, sedangkan ada beberapa persamaan pada pengamatan bentuk koloni bulat, tepian koloni licin dan berserabut serta memiliki Gram positif (+). Hal ini sesuai dengan pendapat Ibrahim *et al.,* (2015) bahwa isolat bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri morfologi koloni warna putih susu (krem), bentuk bulat, tepian licin, dan elevasi yang cembung.

Hasil pewarnaan Gram yang dilakukan menunjukkan sel bakteri berwarna ungu, hal ini menunjukkan BAL yang diisolasi merupakan bakteri Gram positif (+) dengan bentuk basil. Hasil uji pewarnaan Gram dan bentuk bakteri ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pewarnaan Gram dengan Perbesaran 10 x 100

Gambar 1 menunjukkan dari hasil pewarnaan Gram didapatkan hasil bakteri termasuk kedalam kelompok Gram positif, ini terlihat dari warna bakteri yang menyerap warna ungu (violet). Bakteri Gram positif mampu mengikat zat warna dengan sangat kuat dan memiliki pori-pori yang tidak mudah membesar, karena lapisan bakteri tidak banyak mengandung lipid sehingga pada saat dilakukan pencucian dengan larutan lugol dan alkohol larutan kristal violet tidak larut, sehingga pada saat dilakukan pewarnaan lanjutan dengan larutan safranin tidak akan terserap lagi karena bakteri telah mempertahankan warna dari kristal violet. Hal ini sesuai dengan pendapat Hadiatomo (1993 *dalam* Safrida *et al*., 2012), bahwa bakteri Gram positif terlihat berwarna ungu karena asam-asam ribonukleat pada sitoplasma sel-sel Gram positif membentuk ikatan yang lebih kuat dengan kompleks ungu kristal violet sehingga ikatan kimiawi tersebut tidak mudah dipecahkan oleh peluntur warna. Reaksi tersebut didasarkan atas perbedaan komposisi kimiawi dinding sel.

Hasil Uji Biokimia

Hasil dari pengujian biokimia dari 6 isolat menunjukkan bahwa semua isolat memiliki Oksidase negatif (-), uji H_2S negatif (-), non motil, oksidatif, katalase (-). Hasil uji biokimia dari 6 isolat ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan uji biokimia

Kode Isolat	Katalase	Oksidase	H_2S	Motility	O/F	Genus
BL 1.2.1	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*
BL 1.2.2	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*
BL 2.4.1	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*
BL 2.4.2	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*
BL 3.6.1	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*

BL 3.6.2	-	-	-	Non Motil	-	*Lactobacillus*

Kode Keterangan : BL 1.2.1 : Belut 1 pH 2 isolat 1, BL 1.2.2 : Belut 1 pH 2 isolat 2,
BL 2.4.1 : Belut 2 pH 4 isolat 1, BL 2.4.2 : Belut 2 pH 4 isolat 2,
BL 3.6.1 : Belut 3 pH 6 isolat 1, BL 3.6.2 : Belut 3 pH 6 isolat 2.

Hasil uji biokimia yang telah dilakukan isolat bakteri yang didapat memiliki sifat bakteri asam laktat secara umum, yaitu Oksidase negatif (-), uji H_2S negatif (-), Non motil, oksidatif, dan katalase (-). Hal ini sesuai dengan yang ditemukan oleh Putri *et al*., (2014) bahwa bakteri asam laktat memiliki ciri-ciri Gram positif, non motil, katalase negatif, dan Positif memproduksi asam. Bakteri asam laktat merupakan bakteri Gram-positif, batang atau kokus yang tunggal, berpasangan atau rantai tidak berspora, katalase negatif, toleran terhadap asam dan anaerob (Mozzi *et al.*,2010). Hasil dari pengamatan uji biokimia yang dilakukan selama penelitian didapatkan 1 genus bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat di usus belut sawah, yaitu genus *Lactobacillus*.

Genus Lactobacillus

Klasifikasi bakteri *Lactobacillus* menurut Robert *et al*., (1957) *dalam* Hardianti (2016), adalah sebagai berikut: Kingdom: Bacteria, Kelas: *Bacilli*, Ordo: *Lactobacillales*, Famili: *Lactobacillaceae*, Genus: *Lactobacillus.* Karakteristik uji biokimia dari bakteri genus *Lactobacillus* meliputi, uji pewarnaan Gram, bentuk sel, uji katalase, uji oksidase, uji motility, uji O/F, TSIA. Karakteristik bakteri genus *Lactobacillus* dari isolat ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik uji biokimia bakteri genus *Lactobacillus*

No	Parameter yang diuji	Hasil Uji
1	Uji Gram	Positif (+)
2	Bentuk sel	Basil
3	Katalase	Negatif (-)
4	Oksidase	Negatif (-)
5	Motility	Non motil
6	O/F	O
7	H_2S dan Gas	Negatif (-)

Genus *Lactobacillus* sp. bersifat hemofermentatif tumbuh dengan temperatur optimal 37^0C 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.

Berdasarkan uji biokimia yang telah dilakukan isolat bakteri yang ditemukan dapat di golongkan kedalam genus *Lactobacillus,* Hasil ini sejalan dengan pernyataan Suciati *et al.,* (2016), yang menyatakan bahwa *Lactobacillus sp* memilki bentuk koloni bulat berwarna putih/ putih susu, elevasi cembung, gram positif, dan sel berbentuk batang. Selain itu dari hasil uji fermentasi gula-gula, *Lactobacillus* sp yang ditemukan pada saluran pencernaan ikan bawal bintang, memiliki kemampuan untuk memfermentasikan berbagai macam jenis gula menjadi asam, seperti glukosa, maltosa, laktosa, arabinosa, sorbitol dan mannitol yang ditunjukan dengan berubahnya warna dasar (merah) media gula menjadi warna kuning. Perubahan ini mengindikasikan terjadinya perubahan pH media karbohidrat menjadi lebih asam (Dewi, 2013).

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Uji anti bakteri dengan *Aeromonas hydrophila* besar rata-rata zona hambatan yang terbentuk untuk masing-masing isolat kandidat bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 2.

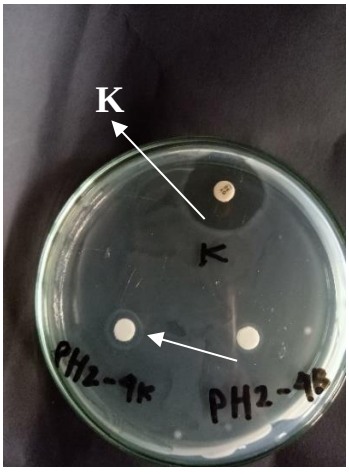
Tabel 5. Rata-rata Diameter Zona Hambat Uji Antibakteri Isolat Kandidat Bakteri Asam Laktat dengan *Aeromonas hydrophila*

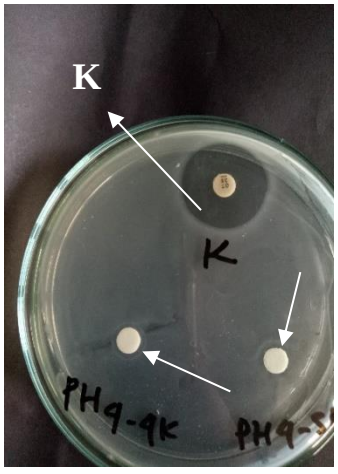
No	Kode Isolat	Diameter clear zone (mm)
1	BL 1.2.1	9,05
2	BL 1.2.2	-
3	BL 2.4.1	7,45
4	BL 2.4.2	7,10
5	BL 3.6.1	7,20
6	BL 3.6.2	7,25
7	Oxytetracyclin	14,85

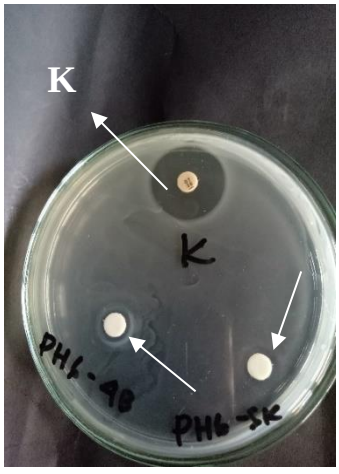
Kode Keterangan : BL 1.2.1 : Belut 1 pH 2 isolat 1, BL 1.2.2 : Belut 1 pH 2 isolat 2,
BL 2.4.1 : Belut 2 pH 4 isolat 1, BL 2.4.2 : Belut 2 pH 4 isolat 2,
BL 3.6.1 : Belut 3 pH 6 isolat 1, BL 3.6.2 : Belut 3 pH 6 isolat 2.

Berdasarkan Tabel 5 di atas diketahui bahwa hampir semua bakteri asam laktat yang ditemukan dapat menghambat pertumbuhan *Aeromonas hydrophila*. Menurut Davis dan Scout (1971), kriteria kekuatan daya antibakteri sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Walaupun zona hambat bakteri asam laktat tidak luas tetapi itu sudah memberikan indikasi bahwa bakteri tersebut mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Lusiastuti dan Taukhid, 2011).

Berdasarkan kriteria uji daya hambat (uji antagonis) semua isolat kandidat bakteri asam laktat yang teridentifikasi dalam hal ini keseluruhan isolat termasuk kedalam *Lactobacillus* mempunyai kriteria kategori sedang berkisar 7,10 - 9,05 mm bila dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk oleh antibiotik jenis oxytetracyclin yang daya hambatnya mencapai 14,85 mm. (Gambar2).







BL 1.2.1 dan BL 1.2.2 (1) BL 2.4.1 dan BL 2.4.2 (2) BL 3.6.1 dan BL 3.6.2 (3)

Keterangan :

(1) Isolat BL1.2.1 dengan zona hambat sebesar 9,05 mm
(2) Isolat BL2.4.1 dengan zona hambat sebesar 7,45 mm dan BL2.4.2 sebesar 7,10 mm
(3) Isolat BL3.6.1 dengan zona hambat sebesar 7,20 mm dan BL3.6.2 sebesar 7,25 mm
(4) K = Kontrol Oxytertracyclin dengan zona hambat sebesar 14,85 mm

Gambar 2. Uji Aktivitas Antibakeri Isolat Bakteri Kandidat Bakteri Asam Laktat dengan *Aeromonas hydrophila*

Berdasarkan Tabel 5 dan Gambar 2 di atas zona hambat tertinggi kandidat bakteri asam laktat pada penelitian ini yaitu pada BL 2.1.1 sebesar 9,05 mm. Bakteri asam laktat memiliki efek bakterisidal pada pH di bawah 5, terutama pada bakteri Gram negatif. Semakin rendah pH semakin kuat dan cepat efek antibakterinya. nilai zona hambat pada penelitian ini lebih rendah dibandingan dengan penelitian (Pitaloka *et al.*, 2015) Zona hambat tertinggi kandidat probiotik yaitu pada G63 sebesar 13,2 mm.
Hal ini dikarenkan Nilai pH isolat yang rendah disebabkan karena adanya produksi asam-asam organik oleh bakteri asam laktat, sehingga dapat menurunkan pH media (Januarsyah, 2007). 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 skunder (deoksikolat), serta dapat menghidrolisis garam empedu (Sujaya *et al*., 2008).

Probiotik *Lactobacillus* sangat menguntungkan dalam kontrol penyakit sebagai probiotik dalam sistem imun dan pertumbuhan. Gobinath and Ramanibai (2012), pemberian *Lactobacillus* sp secara nyata meningkatkan pertumbuhan ikan nila dibandingkan dengan ikan kontrol yang tidak diberi *Lactobacillus*, sehingga bakteri ini dapat digunakan secara efektif sebagai probiotik di akuakultur.
Lactobacillus juga menghasilkan zat penghambat lainnya seperti H_2O_2 (Ito *et al.*, 2003) serta bakteriosin yakni senyawa protein yang dihasilkan oleh bakteri yang memiliki aktivitas bakterisidal dan bakteriostatik (Ogunbanwo *et al*., 2003) selanjutnya Ammor *et al*. (2006) *dalam* Yulinery (2015) menyatakan bahwa bakteriosin merupakan senyawa termostabil dengan berat molekul rendah dan mempunyai kemampuan dalam menghambat bakteri Gram positif atau Gram negatif serta mempunyai efek terapeutik.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari usus belut sawah ditemukan 6 isolat kandidat BAL, semua isolat termasuk dalam Genus *Lactobacillus* dengan jumlah isolat tumbuh pada media ditemukan pada pH 2 isolat (BL1.2.1 dan BL1.2.2), pada pH 4 isolat (BL2.4.1 dan BL2.4.2), dan pH 6 isolat (BL3.6.1 dan BL3.6.2). Rata-rata diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* isolat bakteri kandidat BAL yang terluas pada pH 2 isolat BL1.2.1 sebesar 9,05 mm.

Pada penelitian selanjutnya disarankan Penulis menyarankan sebaiknya dilakukan uji lanjutan pada penelitian ini untuk mengetahui spesies dari Bakteri *Lactobacillus* sp. dengan menggunakan metode genetika atau PCR.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen pembimbing yaitu Ibu Dr. Dra. Iesje Lukistyowati, MS dan Ibu Dr. Ir. Henni Syawal, M.Si dan kepada dosen penguji yaitu Ibu Dr. Ir. Morina Riauwaty, S. Dipl. Biol. MP dan Ibu Dr. Nur Asiah, S.Pi, M.Si yang telah memberikan bimbingan, pengarahan saran serta nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. serta kepada jurusan budidaya perairan fakultas perikanan dan kelautan universitas riau yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan sarjana perikanan.

6. DAFTAR PUSTAKA

Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. 1974. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition". The William & Wilkin Company/Baltimore. USA.

Davis, W.W. and T.R. Scout. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. J. Microbiology. (4):659-665.

Dewi, A.K,. 2013, Isolasi, identifikasi dan uji sensitifitas bakteri stapylococcus aureus terhadap amoxillin dari sampel susu kambing peranakan ettawa (PE) penderita mastitis diwilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta, Jurnal Sain feteriner, 31(2), 138-150.

Fimela. 2014. Bakteri Jahat Pada Ikan Belut [Internet]. [diacu 2021 Oktober 23]. Tersedia dari https://www.fimela.com/beauty/read/3850510/bakteri-jahat-pada-ikan-belut.

Firdaus, K. L., Ali D., dan Subagiyo. 2013. Uji penggunaan *Bacillus*sp. sebagai kandidat probiotik untuk pemeliharaan rajungan (*Portunus* sp.) *Journal of marine Research*. 2 (1) : hlm 1-6.

Fujiani, T., Efrizal., Rahayu, R. 2015. Laju Pertumbuhan Belut Sawah (*Monopterus albus* Zaulew) dengan Pemberian Berbagai Pakan. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*.4 (1): 52-55.

Haditomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi dasar dalam praktek, teknik dan prosedur dasar laboratorium*. Jakarta : PT. Gramedia.

Hardianti, N. 2016. *Isolasi dan identifikasi bakteri pada sampah organik pasar kota pekanbaru dan potensinya sebagai rancangan lembar kerja siswa (LKS) biologi sma.* [Skipsi]. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan.Universitas Riau. Pekanbaru.

Husen Y. 2015. Kinerja Produksi Ikan Belut Sawah Monopterus albus Pada Ketinggian Air Pemeliharaan Berbeda. Skripsi. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Gobinath J, Ramanibai R. 2012. Effect of Probiotic Bacteria Culture on Pathogenic Bacteria From Fresh Water Fish *Oreochromis mossambicus*. Journal of Modern Biotechnology Vol. 1, No.1 :50-54.

Ibrahim, A., Fridayanti, A., Delvia, F. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica L.)*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1 (2) : 159-163.

Ito A, Sato Y, Kudo S, Sato S, Nakajima H, Toba T. 2003. The screening of hydrogen peroxide-producing lactic acid bacteria and their application to inactivating psychrotrophic food-borne pathogens. Curr Microbiol 47: 231-236.

Januarsyah, T. 2007. Kajian aktivitas hambat bakteriosin dari bakteri asam laktat galur scg 1223. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Khan, M. S., Wiyana, A., (2011), Karakteristik Ketahanan Bakteri Asam Laktak Indegenous Kefir Sebagai Kandidat Bakteri Probiotik Pada Kondisi Saluran Pencernaan In Vitro. Bandung : IPB

Lusiastuti, A.M. dan Taukhid, 2011. Seleksi Kandidat Probiotik Anti *Aeromonas hydrophila* UntukPengendalian Penyakit Ikan Air Tawar. Laporan Balai Riset Penelitian Budidaya Air Tawar Bogor.

Mozzi, F., Raya, R. R., Fignolo.G. M. 2010. Biotecnology of lactic acid bacteria: Novel Aplication. Wiley Blackwell Publishing. USA

Nursyirwani, W. Asmara, A.E.T.H. Wahyuni dan Triyanto. 2011. Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttalus*) dan Potensinya sebagai Antivibrio. *Jurnal Ilmu Kelautan* Vol 16 (2) 70-77.

Ogunbanwo S, Sanni A, Onilude A. 2003. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocins by Lactobacillusbrevis OG1. Afr J Biotechnol 2 (7): 179-184.

Pitaloka L., Lukistyowati I., Nusyirwani. 2015 Isolasi bakteri kandidat probiotik dari usus ikan gurami (*Osphronemus gourami* Lac.) untuk pengendalian *Aeromonas hydrophila.* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.

Putri, D. M. Budi harjo, A. Kusdiyantini, E. 2014. Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat dan analisis

proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Biologi*. Vol. 3 No. 2 : 11-19

Safrida. Y. D., Yulfizar. C., Devira. C. N. 2012. Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) *Jurnal Depertemen perikanan.* 1(3) : 200-203.

Sarbaini., Lukstyowati. I., Nusyirwani. 2015. Isolasi bakteri kandidat probiotik dari usus ikan nila (*Oreochromis niloticus)* untuk pengendalian *Streptococus agalactiae*. JOM Unri ac.id. 2-17

Sarono, A., K.H. Nitimulyo, I.W.Y.B. Lelono, Widodo, N. Thalib, E.B.S. Haryani, S. Hariyanto, Triyanto, Ustadi, A.N. Kusumahati, W. Noviyanti, Wardani, S., Setaningsih. 1993. *Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri,* buku 2. Kerjasama Pusat Karantina Pertanian dan Fakultas Pertanian Jurusan Perikanan UGM. Yogyakarta. 90 hal.

Serfling, S. A. 2006. Microbial Flocs: Natural Treatment Method Supports FreshWater, Marine Species in Recirculating Systems. Global Aquaculture Advocate, June 2006.

Sitorus. N.K., Lukistyowati. I., Syawal. H., Putra. 2019. Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Teknologi Bioflok yang diberi Mollase pada Budidaya Ikan Nila Merah (Oreochromis sp) Berkala terubuk 41(1) 83-92

Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Masithah, E.D., Pramono, H., 2016, Aktivitas enzimatis isolat bakteri asam laktat dari saluran pencernaan kepiting bakau (scylla spp.) sebagai kandidat probiotik, Jurnal ilmiah Perikanan dan Kelautan, 8(2), 94-108.

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.

Widanarni. 2018. Budidaya berbasis mikroba untuk Akuakultur Berkelanjutan. Orasi ilmiah Guru Besar Tetap Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.