

KARAKTERISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT PADA USUS IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) YANG DIBERIKAN PAKAN FERMENTASI

Rini Mastuti¹, Henni Syawal², Iesje Lukistyowati², Amraini Fitri³

¹Program Studi Budidaya Ikan, Politeknik Kepulauan Simeulue

²Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Riau

³Program Studi Penangkapan Ikan, Politeknik Kepulauan Simeulue

email: mastutirini978@gmail.com

Abstrak. Bakteri Asam Laktat (BAL) dikenal memiliki senyawa asam laktat dan asam asetat yang dapat digunakan dalam pelet, untuk meningkatkan kualitas pakan dan efisiensi pakan. BAL diketahui mampu meningkatkan daya cerna dan sering ditemui pada saluran pencernaan ikan. Pengujian dilakukan pada ikan patin yang diberi pakan pelet komersial yang dicampurkan jamu fermentasi. Dosis yang digunakan antarlain; 100 mL/Kg pakan, 200 mL/Kg pakan, 300 mL/Kg pakan. Padat tebar yang digunakan adalah 50 ekor/m³ dan 75 ekor/m³, selanjutnya dilakukan pengamatan selama 60 hari. Isolasi dan pemurnian BAL dari usus masing-masing ikan uji dilakukan dengan menggunakan metode penggoresan (*streak kuadan*), kemudian dilakukan uji karakterisasi bakteri antarlain; uji morfologi, uji biokimia, dan uji Gram. Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri menunjukkan bakteri teruji termasuk dalam Gram positif, morfologi koloni berbentuk bulat (*circular*), tepi rata licin (*entire*), permukaan cembung (*conveks*), dan berwarna putih susu. Karakteristik ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat yang ada pada usus ikan patin adalah jenis *Lactobacillus* sp.

Kata Kunci: Isolasi, Bakteri Asam Laktat, *Lactobacillus* sp., Saluran Pencernaan

LACTIC ACID BACTERIA CHARACTERISTIC ON DIGESTIVE OF CATFISH (*Pangasius hypophthalmus*) FED FERMENTED

Rini Mastuti¹, Henni Syawal², Iesje Lukistyowati², Amraini Fitri³

¹Department of Fish Culture, Simeulue Islands Politechnic

²Department of Aquaculture, University of Riau

³Department of Fish Catch, Simeulue Islands Politechnic

email: mastutirini978@gmail.com

Abstract. Lactic Acid Bacteria (LAB) are known to have lactic acid and acetic acid compounds that can be used in pellets, to improve feed quality and feed efficiency. LAB are known to be able to increase digestibility and are often found in the digestive tract of fish. Testing was carried out on catfish fed commercial pellets mixed with fermented herbs. The doses used include; 100 mL/Kg, 200 mL/Kg, 300 mL/Kg. The stocking density used was 50 fish/m³ and 75 fish/m³, then observations were carried out for 60 days. Isolation and purification of LAB from the intestines of each test fish were carried out using the streak method (*streak quadrant*), then a battery characterization test was carried out including; morphological test, biochemical test, and Gram test. The results of bacterial isolation and characterization showed that the tested bacteria were Gram positive, the colony morphology was round (*circular*), smooth flat edges (*entire*), *convex* surface, and milky white in color. These characteristics indicate that the lactic acid bacteria in the intestines of catfish are of the *Lactobacillus* sp.

Keywords: Isolation, Lactic Acid Bacteria, *Lactobacillus* sp., digestive.

PENDAHULUAN

Pemberian pakan yang tepat dapat menunjang kelangsungan hidup ikan dan pertumbuhan yang baik.

Menurut Fadri *et al.* (2016), agar pakan yang diberikan bisa bekerja secara maksimal dan mampu meningkatkan bobot ikan, diperlukan suatu suplemen

yang dicampurkan dalam pakan. Salah satu upaya untuk meningkatkan kesehatan ikan, para pembudidaya sering melakukan penambahan suplemen. Salah satu suplemen yang dapat diberikan adalah jamu fermentasi yang dapat ditambahkan ke pelet.

Penelitian yang telah dilakukan Puspitasari (2017), bahwa pemberian suplemen herbal dengan BAL jenis *Lactobacillus* sp. efektif untuk pertumbuhan dan kelulushidupan benih ikan lele (*Clarias* sp.), dosis terbaik untuk pertumbuhan (pertambahan berat dan panjang tubuh benih ikan lele) yaitu pada dosis 200 mL/Kg pelet komersil.

Jamu fermentasi diolah dengan fermentasi dari starter BAL jenis *Lactobacillus* sp. yang berasal dari minuman fermentasi. Bakteri ini digunakan untuk proses fermentasi karena senyawa antibakteri (*bakterisidal*) yang dihasilkan oleh BAL dapat menghambat mikroorganisme lainnya. Beberapa kelompok BAL termasuk mikroorganisme yang aman dan disebut *food grade microorganism* (Sumaryati *et al.*, 2011).

Bakteri asam laktat banyak diisolasi dari produk-produk fermentasi, akan tetapi keberadaan BAL secara alami juga dapat ditemukan dalam saluran pencernaan ikan yang berguna untuk membunuh/menghambat pertumbuhan bakteri patogen. BAL didefinisikan sebagai bakteri pembentuk asam laktat dalam metabolisme karbohidrat. BAL memiliki kemampuan untuk mencegah dan menyembuhkan berbagai penyakit sehingga menjadikan bakteri ini digolongkan sebagai salah satu probiotik (Saranraj *et al.*, 2013).

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian, yakni: ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) ukuran 8-10 cm sebagai ikan uji, pellet komersil, jamu fermentasi (kunyit, temulawak, kencur, minuman fermentasi yang mengandung *Lactobacillus*, molase, ragi), aquades, NaCl 0,9 %, Alkohol 70 %, media bakteri (MRS agar, TSA, NB), media pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, safranin, alkohol absolut) media uji biokimia bakteri (TSIA, O/F, SIM).

Alat yang digunakan dalam penelitian, antaralain: Dissecting set, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, jarum ose, bunsen, autoclave, hotplate, timbangan digital, magnetic strirer, inkubator, microtube, pipet mikro, vortex, refrigerator, object glass, sentrifuge,

Metode yang digunakan dalam pemeliharaan ikan adalah metode eksperimen. Dosis yang digunakan antaralain; 100 mL/Kg pakan, 200 mL/Kg pakan, 300 mL/Kg pakan. Padat tebar yang digunakan adalah 50 ekor/m³ dan 75 ekor/m³, selanjutnya dilakukan pengamatan selama 60 hari. selanjutnya dilakukan isolasi dari usus masing-masing ikan uji. Kemudian identifikasi secara fisika dan biokimia dilakukan untuk mengetahui jenis BAL yang diperoleh dari isolasi.

Pengambilan sampel dan isolasi bakteri

Sampel yang diambil untuk identifikasi BAL berasal dari usus ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*), yang telah dipelihara selama dua bulan (60 hari) dan diberi pakan pelet komersil dengan tambahan jamu fermentasi. Usus ikan setiap perlakuan dimasukkan dalam cawan petri yang masing-masing berisi NaCl 0,9 % sebagai larutan fisiologis untuk selanjutnya dilakukan pengenceran dan isolasi bakteri. Sebanyak 0,1 gram isi usus disuspensikan ke 10 mL larutan NaCl pada tabung reaksi, selanjutnya dilakukan pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah ketika ditumbuhkan di medium. Hasil pengenceran ditanam dengan teknik pour plate ke media MRS agar, lalu diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

Koloni yang tumbuh selanjutnya diambil dengan menggunakan ose dimasukkan ke dalam tube eppendorf berisi 1 mL larutan NaCl yang telah dikondisikan masing-masing pada pH 2, 4 dan 6 dengan menggunakan HCl ataupun NaOH. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH indikator. Selanjutnya, dihomogenkan dengan menggunakan vortex, lalu diambil 100 µL untuk ditumbuhkan pada media MRS agar dengan teknik pour plate.

Bakteri yang tumbuh kemudian ditanam kembali ke media MRS agar untuk dimurnikan dengan metode streak, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C dalam inkubator. Pemurnian dilakukan sampai terbentuk koloni yang tumbuh terpisah atau tunggal dari bakteri tersebut, dan selanjutnya dilakukan identifikasi.

Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi koloni dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis meliputi bentuk, warna, tepi, dan elevasi koloni. Secara mikroskopis diamati bentuk sel, susunan sel dengan mikroskop pada perbesaran 1000 x.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan pada kultur bakteri umur 24 jam dalam media MRS agar. BAL merupakan bakteri Gram positif yang berwarna ungu. Biakan murni BAL diambil sebanyak 1 ose dan dioleskan pada object glass steril yang telah diberi setetes aquades steril lalu biakan diratakan dengan menggunakan object glass membentuk sudut 45°. Pewarnaan Gram pertama kali dilakukan dengan menggunakan larutan kristal violet (Gram A) sebagai cat primer untuk memberi warna mikroorganisme target sehingga berwarna ungu. Larutan lugol iodine (Gram B) berwarna coklat untuk memperkuat warna dari kristal violet. Alkohol 95% (Gram C) untuk melunturkan cat sebelumnya dan safranin (Gram D) untuk memberi warna merah pada mikroorganisme. Selanjutnya dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop pada perbesaran 1000x. Bakteri Gram positif akan berwarna

ungu sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah.

Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan dengan menggunakan biakan bakteri murni. Pengujian meliputi uji oksidase, uji katalase, uji SIM, uji O/F, dan uji H₂S.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat bakteri dari usus ikan patin yang telah diberikan pakan dengan tambahan jamu fermentasi, telah dilakukan pemurnian sebanyak 5 kali, sehingga diperoleh koloni yang seragam dan terpisah, dapat dilihat seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolat BAL dari usus kan patin

Pengamatan morfologi dilakukan meliputi warna koloni, bentuk koloni, elevasi, tepian dan ukuran isolat BAL. Hasil pengamatan morfologi diperoleh bahwa koloni isolat bakteri memiliki warna putih susu, bentuk koloni bulat dengan elevasi cembung dan tepian licin berukuran kecil yang terlihat dari tumbuhnya koloni setelah dilakukan pemurnian dalam media tumbuh bakteri MRS Agar.

Morfologi koloni bakteri yang tumbuh dalam media MRS Agar terlihat berbentuk bulat (*circular*), tepi rata licin (*entire*), permukaan cembung (*conveks*) dan berwarna putih susu. Sesuai dengan hasil penelitian Heni (2013), menyatakan bahwa morfologi koloni yang berbentuk bulat (*circular*), tepi rata (*entire*), permukaan cembung (*conveks*) dan berwarna putih kekuningan merupakan ciri morfologi dari bakteri asam laktat.

Hasil penelitian berdasarkan uji biokimia menunjukkan tujuh isolat bakteri memiliki karakteristik yang sama. Dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji biokimia

Kode Isolat	Uji Biokimia					
	Gram	Katalase	Oksidase	Motilitas	H ₂ S	Glukosa
K	+	-	-	-	-	+
P ₁ D ₁	+	-	-	-	-	+
P ₁ D ₂	+	-	-	-	-	+
P ₁ D ₃	+	-	-	-	-	+
P ₂ D ₁	+	-	-	-	-	+
P ₂ D ₂	+	-	-	-	-	+
P ₂ D ₃	+	-	-	-	-	+

Keterangan:

- K = Kontrol
- P₁D₁ = Padat tebar 50 ekor/m³, Dosis 100 mL/Kg pakan
- P₁D₂ = Padat tebar 50 ekor/m³, Dosis 200 mL/Kg pakan

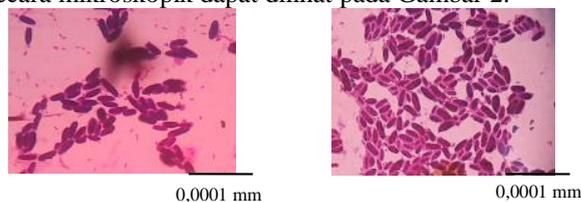
- P₁D₃ = Padat tebar 50 ekor/m³, Dosis 300 mL/Kg pakan
- P₂D₁ = Padat tebar 75 ekor/m³, Dosis 100 mL/Kg pakan
- P₂D₂ = Padat tebar 75 ekor/m³, Dosis 200 mL/Kg pakan
- P₂D₃ = Padat tebar 75 ekor/m³, Dosis 300 mL/Kg pakan
- + = Terjadi reaksi menghasilkan hasil positif
- = Tidak terjadi reaksi menghasilkan hasil negatif
- F = Fermentatif

Hasil uji katalase adalah negatif pada semua isolat yang ditandai dengan tidak adanya gelembung gas yang berisi oksigen ketika ditetesi larutan hidrogen peroksida (H₂O₂). Hal ini sesuai dengan pernyataan Khalil *et al.* (2016), bahwa BAL bersifat katalase negatif. BAL merupakan bakteri yang tidak mampu memproduksi enzim katalase (Kivanc *et al.* 2011).

Uji motilitas bertujuan untuk melihat pergerakan bakteri pada media tumbuh bakteri. Pengujian motilitas berdasarkan Tabel 1 diperoleh hasil motilitas negatif (*nonmotil*), yang ditunjukkan dengan tidak adanya pergerakan bakteri dalam media tumbuh bakteri. Hasil positif (*motil*), apabila terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum pada medium dan hasil negatif (*non motil*) bila tidak terdapat rambatan-rambatan disekitar bekas tusukan jarum ose pada medium (Anastiawan, 2016).

Pengujian isolat bakteri menggunakan media TSIA memiliki tujuan untuk mendeteksi bakteri yang dapat memfermentasi laktosa, sukrosa, dan glukosa, produksi H₂S atau gas. Warna merah pada agar menunjukkan reaksi basa, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi asam (Yulvizar, 2013). Hasil uji diperoleh semua isolat menunjukkan pembentukan warna kuning pada slant dan butt, berarti bahwa asam laktat yang dihasilkan berada dalam konsentrasi lebih tinggi dan menunjukkan terjadinya fermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa (Renji *et al.*, 2018).

Hasil uji pewarnaan Gram diperoleh bahwa sel bakteri mampu menyerap warna ungu, hal ini menunjukkan BAL bersifat Gram positif (+) dengan bentuk basil. Adapun sel bakteri yang diuji pewarnaan Gram, memiliki bentuk yang berbeda antara lain; basil tunggal, basil berpasangan dan basil berantai. Secara mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan BAL di bawah Mikroskop dengan perbesaran 1000x.

Dari Gambar 2 dapat dilihat bakteri berbentuk basil, dan berwarna ungu, karena bakteri tersebut termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif ditandai dengan bakteri berwarna ungu setelah diwarnai dengan pewarnaan Gram karena kemampuan dari bakteri dalam mengikat kristal violet sangat kuat. Hal ini dikarenakan bakteri memiliki lapisan yang tidak banyak mengandung lipid sehingga pada saat pencucian menggunakan larutan lugol dan alkohol,

pewarna kristal violet tidak larut dan bakteri tidak lagi menyerap warna merah dari pewarna safranin.

Hasil yang diperoleh dari pewarnaan Gram sesuai dengan karakteristik dari bakteri asam laktat yaitu bakteri Gram positif yang tidak menghasilkan spora dan biasanya berbentuk basil atau coccus (Hasanah, 2014).

Karakteristik yang diperoleh dari hasil uji biokimia dengan melihat bentuk sel serta susunan dari isolat bakteri yang diujikan. Isolat yang menunjukkan susunan batang berantai, Gram positif, katalase negatif, oksidase negatif, non motil, tidak memproduksi H₂S, glukosa positif, bersifat fermentatif, dan tidak menghasilkan endospora merupakan genus dari *Lactobacillus* sp. *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat yang mempunyai potensi sebagai probiotik.

KESIMPULAN

Bakteri asam laktat yang diperoleh dari usus ikan patin dengan pemberian pakan jamu fermentasi adalah jenis *Lactobacillus* sp. Karakterisasi bakteri menunjukkan Gram positif, morfologi koloni berbentuk bulat (*circular*), tepi rata licin (*entire*), permukaan cembung (*convex*), dan berwarna putih susu. Uji biokimia menunjukkan katalase negatif, oksidase negatif, non motil, tidak memproduksi H₂S, glukosa positif, bersifat fermentatif, dan tidak menghasilkan endospora.

DAFTAR PUSTAKA

Jurnal

- Fadri, S., Zainal, A., Muchlisin., Sugito, S. 2016. Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup dan Daya Cerna Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Mengandung Tepung Daun Jalan (*Salix tetrasperma* Roxb) dengan Penambahan Probiotik EM-4. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1(2): 210-221.
- Hasanah, AN., Nazaruddin, F., Febrina, E., Zuhrotun, A. 2011. Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.). *Jurnal Matematika dan Sains*. 16(3): 147-152
- Hasanah, U. 2014. Bakteri Asam Laktat dari Daging Ikan Peda Sebagai Agen Probiotik dan Enzim Kolesterol Reduktase. *Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera*. 12(23):1-8.
- Heni, M. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung (Gallus domesticus)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Hasanuddin.

- Khalil, M. I. Anwar. M.N. 2016. Isolation, Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Milk and Yogurts. *Research and Reviews: Journal of Food and Dairy Technology*. 4(3):17-26.
- Kivanc M, Yilmaz M, Cakir E. 2011. *Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Boza, and Their Microbial Activity Against Several Reporter Strains. Turkish Journal of Biology* 35: 313-324.
- Puspitasari, D. 2017. Efektivitas Suplemen Herbal Terhadap Pertumbuhan dan Kelulushidupan Benih Ikan Lele (*Clarias* sp.). *Jurnal Ilman: Jurnal Ilmu Manajemen*. 5(1).
- Renji, M.W., Arman S., Mahdi, A., Erina. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Enterik Patogen pada Badak Sumatera (*Dicerorhinus sumatrensis*) di Suaka Rhino Sumatra (Srs), Taman Nasional Way Kambas (Tnwk), Lampung. *JIMVET* 2(4):474-487.
- Saranraj, P., Naidu, MA., Sivasakthivelan, P. 2013. Lactic Acid Bacteria and its Antimicrobial Properties: a review. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*. 4(6): 1124 – 1133
- Sumaryati, S., Urnemi., Purwati, E., Ibrahim, S., Jamsari. 2011. Potensi Bakteri Asam Laktat dalam Menghasilkan Bakteriosin Sebagai Antimikroba dan Pengukuran Berat Molekulnya dengan SDS-PAGE dari Isolat Fermentasi Kakao. *Jurnal Riset Kimia*. 4(2).
- Yulvizar, Cut. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik Pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*. 6(2):1-7.