



Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat pada Saluran Pencernaan Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*)

Irwansyah¹, Tengku Said Raza'i², Rika Wulandari²

¹ Alumni Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji

² Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji

INFO NASKAH

Kata Kunci:

Bakteri Asam Laktat,
Trachinotus blochii,

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada ikan bawal bintang (*Trachinotus blochi*). Penelitian ini dilakukan secara In-vitro. Prosedur penelitian meliputi isolasi bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan bawal bintang, uji morfologi koloni, uji morfologi sel bakteri, uji pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji fermentasi gula dan uji fisiologi. Hasil penelitian mendapatkan 4 isolat unggul bakteri asam laktat, yang terdiri dari B7-P4-K2, B8-P4-K1, B8-P4-K3 dan B10-P4-K2. Morfologi koloni berbentuk bulat, berwarna putih, sel bakteri berbentuk basil dan kokus, dengan gram positif serta katalase negatif. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat B7-P4-K2 dan B8-P4-K1 termasuk dalam genus *Lactobacillus*, dan isolat B8-P4-K3 dan 10-P4-K1 merupakan genus *Enterococcus*.

Gedung FIKP Lt. II Jl. Politeknik Senggarang, 29115, Tanjungpinang, Telp : (0771-8041766, Fax. 0771-7004642. Email: irwansyah147@yahoo.com, tengku.saidrazai@gmail.com, rika.wulandaridwan@umrah.ac.id

Isolation and Identification of Lactid Acid Bacteria from Intestine of Silver Pompano (*Trachinotus blochii*)

Irwansyah¹, Tengku Said Raza'i², Rika Wulandari²

¹ Alumnus of Aquaculture Department, Faculty of Marine Science and Fisheries, Raja Ali Haji Maritime University

² Department of Aquaculture, Faculty of Marine Science and Fisheries, Raja Ali Haji Maritime University

ARTICLE INFO

Keywords

Lactid acid Bacteria,
Trachinotus blochii

ABSTRACT

The purposes of this study were to isolation and identification the Lactid acid bacteria from intestine of silver pompano (*Trachinotus blochii*). This study were did by In-vitro. The procedur of this study were isolated the lactid acid bacteria from intestine of Silver pompano, colony morphology test, bacteria cell morphology test, the Gram stain, catalase test, motility test, fermentation type test, fermentation of carbohidrate test and physiology test. The study results got four lactid acid bacteria isolates consist of B7-P4-K2, B8-P4-K1, B8-P4-K3 and B10-P4-K2. The morphology colony shown spherical and white, morphology cell shown basil and cocci with positive Gram stain, non-motil and negative catalase test. Based on the identification B7-P4-K2 and B8-P4-K1 isolates were *Lactobacillus* genus, and B8-P4-K3 and 10-P4-K1 isolates were *Enterococcus* genus.

Gedung FIKP Lt. II Jl. Politeknik Senggarang, 29115, Tanjungpinang, Telp : (0771-8041766, Fax. 0771-7004642. Email: irwansyah147@yahoo.com, tengku.saidrazai@gmail.com, rika.wulandaridwan@umrah.ac.id



PENDAHULUAN

Ikan bawal bintang adalah salah satu spesies ikan air laut tropis yang telah berhasil dibudidayakan oleh beberapa negara bagian barat, tetapi di Indonesia ikan ini masih baru dibudidayakan. Ikan bawal bintang memiliki tingkat toleransi tinggi terhadap perubahan lingkungan dan tahan penyakit, (Arrohman *et al.* 2012). Menurut Wulandari *et al.*, (2015), kemampuan ikan dalam mentolerir lingkungan dan resistensi terhadap patogen penyebab penyakit, salah satunya dipengaruhi oleh adanya peran positif mikroflora alami dalam saluran pencernaan ikan. Beberapa jenis mikroflora yang terdapat pada tubuh ikan dapat memberikan keuntungan bagi tubuh ikan itu sendiri, seperti dapat menjadi penghambat populasi mikroba patogen penyebab penyakit pada tubuh, dan membantu meningkatkan nilai kecernaan makanan, (Yulvizar 2013).

Mikroba menguntungkan yang terdapat pada tubuh ikan diantaranya adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat adalah bakteri gram positif dan katalase negatif yang menghasilkan asam laktat dalam fermentasi karbohidrat, dan merupakan flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan hewan, baik itu hewan darat maupun hewan air, (Sulistijowati dan Mile 2016). Bakteri asam laktat memiliki peran penting dalam kehidupan ikan, karena secara alami bakteri ini mampu meningkatkan sistem imun dan membantu organ pencernaan dalam melakukan pencernaan. Bakteri asam laktat cenderung mampu meningkatkan sistem imun spesifik dan nonspesifik, seperti aktivitas lisozim dalam tubuh, makrofagi, dan letupan respirasi, (Wulandari 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Feliatra *et al.* (2004), menyebutkan bahwa diantara bakteri probiotik yang berhasil diisolasi dari pencernaan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) terdapat jenis bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Lactococcus*. Kumar *et al.*, (2013), juga melakukan isolasi bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* sp pada 5 ekor ikan air tawar, dan hasilnya terdapat bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* sp disemua ikan sampel yang ia teliti. Begitu juga dengan Wulandari *et al.*, (2015) dan Wulandari (2012), yang mendapatkan jenis bakteri asam laktat yaitu *Bacillus*, *Lactobacillus* dan *Eubacterium* pada saluran pencernaan ikan lele.

Berdasarkan kemampuan dan tingkat toleransi ikan bawal bintang yang baik, yang diduga karena adanya peran bakteri asam laktat pada saluran pencernaannya, maka dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada saluran pencernaan ikan bawal bintang, untuk mengetahui jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada saluran pencernaan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan juni 2018. Pengambilan ikan sampel penelitian berasal dari Keramba Jaring Apung Kampung Madong, Kecamatan Tanjungpinang Kota, Kota Tanjungpinang. Isolasi dan identifikasi bakteri asam



laktat dilakukan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Tanjungpinang.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berupa ikan Bawal bintang sebagai sampel dan sumber Bakteri asam laktat. NaCl, Aquades, media MRSA (*de-Mann Rogosha Shape Agar*), CaCO₃, SIM (*Silfide, Indole Motilty*) TSB (*Tryptice Soy Broth*), *Critical violet*, *Lugol iodine*, Alkohol 96 %, Safranin, H₂O₂ 3 % (*Hidogen peroksida*), glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa, arabinosa, mannitol dan sorbitol.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode uji laboratorium, seperti metode dilusi, metode *pour plate*, metode tanam dan sebar menggunakan tabung L, dan metode *agar streak*.

Prosedur Kerja

Penelitian ini diawali dengan pengadaan ikan bawal bintang sebanyak 10 ekor sebagai sumber bakteri asam laktat. Ikan diambil dari keramba jaring apung yang berada di kampung Madong, kemudian dibawa ke laboratorium Balai Karantina Ikan, Pengendalian mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Tanjungpinang. Selanjutnya dilakukan isolasi bakteri asam laktat dengan cara menggerus cairan mukosa usus dan lambung menggunakan spatula steril dan dilakukan seri pengenceran. Setelah itu 0,1 ml pengenceran 4 dan 5 dilakukan penanaman pada media MRSA+ CaCO₃ 1 % dengan metode *pour plate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C, (Rinto *et al.* 2010).

Bakteri yang sudah berumur 24 jam selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap morfologi koloni bakteri yang tumbuh disetiap plate berisi media MRSA+CaCO₃ 1 %. Koloni bakteri yang memiliki zona bening dilakukan uji pendukung bakteri asam laktat, yaitu berupa uji pewarnaan Gram yang dilakukan dengan cara pemberian pewarna *Cristal violet* selama 90 detik, *L Iodine* selama 180 detik, alkohol 96 % selama 10 detik dan Safranin selama 60 detik. Bakteri yang mampu mengikat warna ungu (Gram positif) selanjutnya dilakukan uji katalase dan uji motilitas. Selanjutnya bakteri yang sudah dipastikan dari golongan bakteri asam laktat, dilakukan uji biokimia, uji tipe fermentasi dan uji fisiologi untuk mengetahui jenis jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada saluran pencernaan ikan bawal bintang.

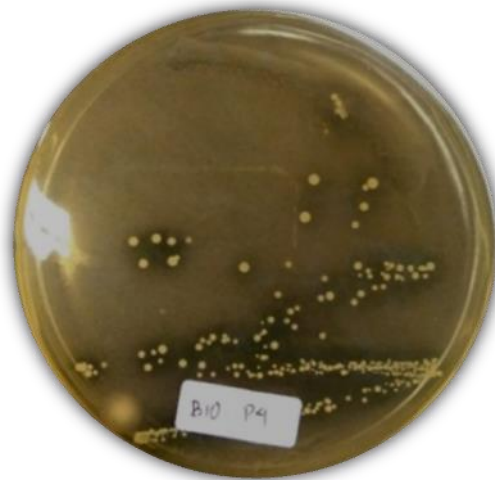
Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara deskriptif, menggunakan bantuan tabel dan gambar. Identifikasi bakteri menggunakan teknik konvensional, yaitu membandingkan bakteri hasil isolasi yang baru dilakukan, dengan karakteristik bakteri yang diperoleh sebelum sebelumnya, dengan mengacu pada buku *manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.* 1994).



HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi bakteri yang telah dilakukan pada saluran pencernaan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*). Diperoleh 8 isolat bakteri sebagai kandidat bakteri asam laktat yang memiliki zona bening disekitar koloni (Gambar 1). Koloni bakteri yang tumbuh memiliki bentuk bundar, berwarna putih, elevasi cembung dan tepian koloni yang rata. Disekitar koloni terbentuk luasan atau zona bening, hal ini terlihat dari media yang awalnya keruh oleh kandungan CaCO_3 , menjadi jernih pada setiap pertumbuhan koloni bakteri. Menurut Melliawati *et al.* (2015), pembentukan zona bening pada sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada media agar dengan penambahan CaCO_3 1 %, menandakan bakteri mampu mensekresikan asam pada media yang mengandung CaCO_3 . Suciati *et al.*, (2016) juga menyebutkan bahwa zona bening pada koloni bakteri, merupakan hasil dari aktifitas hidrolisis protein oleh enzim protease pada media tumbuh bakteri.



Gambar 1. Koloni bakteri asam laktat yang ditumbuhkan pada media MRSA+ CaCO_3 1 % memiliki zona bening disekitar koloni.

Berdasarkan karakteristik bakteri asam laktat, ciri ciri utama koloni bakteri asam laktat ialah memiliki luasan zona bening pada sekitar koloni, dan biasanya koloni berwarna putih, krem dan kuning. Meskipun demikian, zona bening yang terdapat pada bakteri, belum bisa memperkuat hasil, bahwasanya koloni tersebut adalah kelompok bakteri asam laktat, karena jenis bakteri probiotik lain yang bukan kelompok asam laktat, juga memiliki kemampuan untuk membuat luasan bening pada media. Oleh karena itu dilakukan uji pendukung bakteri asam laktat yang berupa uji gram dan uji katalase, karena sifat ini adalah sifat umum yang dimiliki bakteri asam laktat, (Rinto *et al.* 2010).

Dari hasil uji pendukung bakteri asam laktat yang telah dilakukan, diketahui bahwa 4 dari 8 isolat termasuk dalam golongan bakteri asam laktat, yang memiliki bentuk sel batang dan bulat, gram positif, katalase negatif dan non-motil. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmi *et al.*, (2016) dan



Wulandari (2017), yang menggolongkan bakteri asam laktat berdasarkan karakteristik bentuk sel batang dan bulat, gram positif dan berkatalase negatif.

Setelah isolat hasil isolasi diketahui golongan bakteri asam laktat, selanjutnya dilakukan uji biokimia, fermentasi gula dan uji fisiologi, untuk mengetahui kemampuan bakteri asam laktat yang diperoleh dari saluran pencernaan ikan bawal bintang. Berdasarkan hasil uji biokimia dan fermentasi gula yang diperoleh, selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan teknik konvensional, atau membandingkan karakteristik bakteri hasil uji yang dilakukan dengan karakteristik bakteri hasil uji sebelumnya, dengan merujuk pada buku *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.* 1994). Adapun karakteristik bakteri hasil isolasi yang telah dilakukan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik bakteri asam laktat hasil isolasi dari saluran pencernaan ikan bawal bintang

Karakteristi	Kode isolat			
	B7-P4-K2	B8-P4-K1	B8-P4-K3	B10-P4-K2
Bentuk koloni	Bundar	Bundar	Bundar	Bundar
Warna Koloni	Putih	Putih	Putih	Putih
Elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
Tepian	Rata	Rata	Rata	Rata
Morfologi sel	Batang	Batang	Bulat	Bulat
Tipe pergandengan sel	Diplobasil	Sreptobasil	Streptokokus	Streptokokus
Gram	+	+	+	+
Katalase	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-
Tipe fermentasi	HM	HT	HM	HM
O ₂	FA	FA	FA	FA
MR	-	+	-	-
VP	-	-	-	+
Glukosa	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+
Arabinosa	+	+	-	-
Laktosa	+	+	+	+
Sukrosa	+	+	+	+
Sorbitol	-	+	+	-
Mannitol	+	+	-	-
Suhu 30 °C	-	+	+	+
Suhu 36 °C	+	+	+	+
Suhu 40 °C	+	-	+	-
Genus	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Entereococcus</i>	<i>Entereococcus</i>

Keterangan : HM = Homofermentatif, HT = Heterofermentatif, FA = Fakultatif anaerob



Dari hasil perbandingan karakteristik bakteri asam laktat hasil isolasi yang telah dilakukan dengan karakteristik bakteri berdasarkan buku *Bergey's manual of determinative bacteriology* (Holt *et al.* 1994), maka dapat disimpulkan bahwa isolat B7-P4-K2 dan B8-P4-K1 termasuk kedalam genus *Lactobacillus* sp. Sedangkan isolat kode B8-P4-K3 dan B10-P4-K1 termasuk kedalam genus *Enterococcus* sp.

***Lactobacillus* sp (B7-P4-K2 dan B8-P4-K1)**

Karakteristik bakteri genus *Lactobacillus* sp hasil isolasi dari saluran pencernaan ikan bawal bintang yang telah dilakukan, yaitu bentuk koloni bulat, berwarna putih, elevasi cembung (*Convex*), gram positif, katalase negatif dan sel berbentuk batang (Tabel 1). Hasil ini sejalan dengan pernyataan Suciati *et al.*, (2016), yang menyebutkan bahwa *Lactobacillus* sp memiliki 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 ditunjukkan dengan berubahnya warna dasar (merah) media gula menjadi warna kuning. Perubahan ini mengindikasikan terjadinya perubahan pH media karbohidrat menjadi lebih asam, (Dewi 2013).

Karakteristik bakteri *Lactobacillus* menurut Holt *et al.*, (1994) yaitu bentuk koloni bulat berwarna putih dengan permukaan cembung (*Convex*) serta tepian rata (*Entire*), sel biasanya berbentuk batang panjang, terkadang juga berbentuk pendek, tipe pergandengan sel umumnya rantai pendek, gram positif, katalase negatif, oksidase positif, tidak motil oleh flagel peritrichous, fakultatif anaerob tapi tumbuh lebih baik pada tekanan oksigen rendah, tumbuh optimum pada suhu 30 – 40 °C, dapat dijumpai pada tumbuhan dan hewan. Penelitian yang dilakukan oleh Nursyirwani *et al.* (2011), berhasil mengisolasi bakteri asam laktat genus *Lactobacillus* yang berasal dari saluran pencernaan ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

***Enterococcus* sp (B8-P4-K3 dan B10-P4-K1)**

Pada penelitian ini, karakteristik morfologi koloni, morfologi sel, serta kemampuan bakteri isolat B8-P4-K3 dan B10-P4-K2 dalam memfermentasikan beberapa jenis karbohidrat adalah karakter yang dapat digunakan untuk konfirmasi dan kesesuaian terhadap bakteri genus *Enterococcus* sp. Karakteristik bakteri asam laktat genus *Enterococcus* sp yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan bawal bintang yaitu, morfologi sel berbentuk bulat berantai, gram positif terhadap pewarnaan, bereaksi negatif terhadap uji katalase, non-motil dan memproduksi asam dari fermentasi karbohidrat jenis laktosa.

Hasil ini sejalan dengan pernyataan Holt *et al.* (1994), yang menyebutkan bahwa *Enterococcus* sp memiliki bentuk sel bulat berantai dan berpasangan pada sebagian spesies, gram positif, katalase negatif serta menghasilkan asam laktat pada media gula laktosa, dan habitat *Enterococcus* sp sendiri yaitu banyak terdapat pada saluran pencernaan hewan, (Suyasa *et al.* 2013).



KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat pada saluran pencernaan ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) yang telah dilakukan, diperoleh 4 isolat bakteri asam laktat, dengan karakteristik morfologi koloni putih, gram positif, katalase negatif, non-motil, serta memiliki kemampuan memfermentasikan karbohidrat dalam memproduksi asam laktat. Ke 4 isolat bakteri tersebut terdiri dari isolat B7-P4-K2 dan isolat B8-P4-K1 yang termasuk kedalam genus *Lactobacillus* sp. Isolat B8-P4-K3 dan B10-P4-K2 termasuk kedalam genus *Enterococcus* sp

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam proses penelitian hingga penerbitan jurnal, khususnya Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) Tanjungpinang, yang telah memfasilitasi penulis dalam melakukan penelitian

DAFTAR PUSTAKA

- Arrokhman, S., Abdulgani, N., Hidayati, D, 2012, Survival rate ikan bawal bintang (*Trachinotus blochi*) dalam media pemeliharaan menggunakan rekayasa salinitas, Jurnal sains dan seni, 1(1), 32-35.
- 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.
- Feliatra, I., Efendi,., Suryadi, E., 2004, Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan, Jurnal Natur Indonesia, 6(2), 75-80.
- Holt, J, G., Krieg, N, R., Sneath, P, H, A., Staley, J., Williams, S, T., 1994, Bergeys manual of determinative bakteriology, Nine edition, Lippincott williams and Wilkins, New York.
- Kumar, Y., Chisti, B., Sing, A, K., Masih, H., Mishra, S, K., 2013, Isolation and charactization of *Lactobacillus* species from fish intestine for probiotik propeties, International Jurnal Pharm Bio Sci, 4(1), 11-21.
- Melliawati., Ruth., 2015. Seleksi bakteri asam laktat penghasil enzim protease, Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia, 1(2), 184-188.
- Nursyirwani, Asmara, W., Wahyuni, A.E.T.H., Triyanto, 2011, Isolasi bakteri asam laktat dari usus ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan potensinya sebagai antivibrio, Jurnal Kelautan, 16(2), 70-77.
- Rahmi, N., Harmayani, E., Santosa, U, Darmadji, E., 2016, Identifikasi bakteri asam laktat dan aktivitas penghambatan radikal pada jeruk tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch Ham), Jurnal Agritech, 36(3), 317-326.



- Rinto, Sasanti, A.D., Fitria, K., 2010, Bakteri asam laktat dari pencernaan ikan nila dan tongkol yang berpotensi menghambat bakteri pembusuk pembentuk histamin, dan patogen pada produk perikanan, Prosiding seminar Nasional, 125-145
- 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.
- Sulistijowati S,R., Mile, L., 2016, Identification of lactic acid bacteria isolates from intestine of milkfish (chanos-chanos) potential activity against pathogen bacteria used per 18s rna method, International jurnal bio-Science and Bio-Technology, 8(3), 127-134.
- Wulandari, R., 2012, Skrining kandidat bakteri probiotik dari usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) melawan bakteri patogen pada ikan secara in-vitro,
- Wulandari, R., Rantetondok, A., Anshary, A., 2015, Isolasi bakteri asam laktat dari usus ikan lele untuk pengendalian bakteri *Streptococcus* pada ikan nila, Jurnal Ilmu Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, UNHAS
- Wulandari, R., 2017, Kajian mikrobiologi penyakit ikan, UMRAH Press, Tanjungpinang
- Suyasa, I.B.O., Mahardika, I.G.N.K., Ramona, Y., 2013, Identifikasi molekuler bakteri *streptococcus* yang berasosiasi dengan ikan kerapu yang diperjual belikan di pasar-pasar ikan di bali, Jurnal Biologi, 18(1), 10-13.
- Yulvizar, C., 2013, Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik pada *Rastrelliger* sp, Jurnal biologi, 6(2), 1-7.