

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan Potensinya Sebagai Antivibrio

Nursyirwani¹, W. Asmara², A.E.T.H. Wahyuni² dan Triyanto³

¹Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau Kampus Bina Widya Sp.Panam

²Program Studi Sain Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada

³Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada

Telp.0761-862620 E-mail: nursyirwani_adnan@yahoo.com

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan menguji potensi antibakterial bakteri asam laktat dari ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) terhadap bakteri patogen *Vibrio alginolyticus*. Bakteri tersebut diisolasi dari usus ikan dengan metode sebarulas pada media agar MRS dan GYP+CaCO₃. Koloni yang tumbuh diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi, biokimia dan fisiologi. Aktivitas antibakterial terhadap *V. alginolyticus* diuji dengan metode difusi kertas cakram pada media Zobell 2216E lapis ganda, diameter zona jernih disekitar kertas cakram diukur dengan kaliper. Pada medium agar GYP+CaCO₃ didapatkan 21 isolat yang menampakkan zona jernih disekitar koloninya. Dari karakteristik morfologi, biokimia dan fisiologi dari isolat-isolat tersebut semua isolat dapat dikategorikan kedalam genus *Lactobacillus*. Tetapi, dari uji aktivitas antivibrio hanya 20 isolat menunjukkan zona hambat yang berkisar dari 14,0-21,5 mm, dimana tiga isolat menunjukkan aktivitas tertinggi, yaitu berturut-turut isolat KSBU 12C, KSBU 13D dan KSBU 5Da.

Kata kunci: Isolasi, bakteri asam laktat, antivibrio, Kerapu Macan

Abstract

The objectives of this research were to isolate and examine antibacterial potency of lactic acid bacteria from Tiger Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) against pathogen, *Vibrio alginolyticus*. The bacteria were isolated from the fish intestine by spread plate method on MRS and GYP+CaCO₃ agar media. The grown colonies were identified based on morphological, biochemical and physiological characters. Antibacterial activity against *V. alginolyticus* was examined by the paper disc diffusion method on Zobell 2216E double layer agar, and clear zone diameter around the paper disc was measured by using caliper. Twenty one isolates with clear zone around the colonies were obtained from the GYP+CaCO₃ agar. Morphological, biochemical and physiological characteristics of the colonies and cells indicated that all isolates might be categorized into *Lactobacillus*. However, there were only twenty isolates showed inhibition zones from 14.0-21.5 mm in antivibrio activity test, of which the highest activity was indicated by three isolates namely KSBU12C, KSBU 13D and KSBU 5Da, respectively.

Key words: Isolation, lactic acid bacteria, antivibrio, Tiger grouper.

Pendahuluan

Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) adalah salah satu jenis ikan laut yang telah dibudidayakan dalam sistem keramba jaring apung (KJA) di Indonesia. Salah satu masalah dalam budidaya ikan kerapu adalah tingginya tingkat kematian. Faktor penyebabnya antara lain karena serangan penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio*. Penyakit ini merupakan penyakit utama pada benih yang dapat menimbulkan kematian sampai 100% dalam waktu 2 minggu. Beberapa spesies *Vibrio* yang sering diisolasi dari ikan Kerapu yang sakit adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*

dan *V. vulnificus* (Nitimulyo et al., 2005). Pada uji keganasan bakteri *Vibrio* pada ikan Kerapu Macan, Desrina et al. (2006) mendapatkan empat isolat yang ganas, yaitu *V. anguillarum*, *V. ordalii*, *V. fluvialis* dan *V. alginolyticus*.

Vibrio alginolyticus merupakan bakteri patogen utama pada budidaya ikan Kerapu. Pada uji patogenisitas *V. alginolyticus* terhadap ikan Kerapu Tikus dengan kepadatan 10⁸ sel/ikan mengakibatkan mortalitas ikan 50% (Taslihan et al., 2000). Sedangkan pada uji patogenisitas terhadap ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan kepadatan 10⁹ sel/ml, mortalitas ikan mencapai 100% (Desrina et al.,

2005). *V. alginolyticus* menginfeksi ikan melalui berbagai rute yaitu *intramuscular* (IM), *intravena* (IV) dan *intrapitoneal* (IP) (Murdjani, 2002).

Penyakit vibriosis biasanya diatasi dengan antibiotik dan disinfektan. Penggunaan antibiotik berdampak negatif, yaitu timbul bakteri yang resisten, penumpukan residu pada daging ikan dan udang, dan pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif untuk mengatasi penyakit bakterial pada organisme akuakultur adalah penggunaan probiotik. Keuntungan dari penggunaan probiotik antara lain adalah menstimulasi imunitas inang, produksi senyawa-senyawa penghambat, kompetisi terhadap nutrisi, ruang dan Fe, dan merangsang pertumbuhan dan memperbaiki nutrisi pada inang (Farzanfar, 2006).

Probiotik yang telah banyak diteliti dari organisme perairan untuk digunakan dalam akuakultur adalah dari kelompok bakteri asam laktat. *Lactobacillus* sp., misalnya, dijumpai pada saluran pencernaan berbagai vertebrata, termasuk ikan laut. Peranan *Lactobacillus* dalam akuakultur terutama adalah dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen. Ekstrak bebas sel dari empat strain bakteri asam laktat (*L. acidophilus*, *Streptococcus cremoris*, *L. bulgaricus*-56 dan *L. bulgaricus*-57) menekan pertumbuhan *V. alginolyticus* secara *in vitro* dan secara *in vivo* pada udang *Penaeus indicus* (Ajitha et al., 2004). *L. plantarum* 44a yang mempunyai mekanisme penghambatan berdasarkan produksi asam, dan *L. brevis* 18f sebagai produser H₂O₂, diisolasi dari intestin ikan air tawar (*Bream*, *Abramis barma* dan *African catfish*, *Clarias gariepinis*), menghambat *Aeromonas hydrophila* secara kuat pada pH 6 (Bucio et al., 2004).

Lactobacillus sp. tidak dominan dalam mikrobiota usus normal dari larva, namun beberapa penelitian telah menunjukkan keberadaannya saluran pencernaan ikan. *Lactococcus lactis* CLFP 101, *Lactobacillus plantarum* CLPF 238, dan *L. fermentum* CLFP ditemukan dari Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Balcazar et al., 2008). *Lactobacillus casei* ditemukan pada saluran pencernaan ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus coioides*) yang dipelihara dalam hatchery di Provinsi Zhangpu, Cina (Sun et al., 2009). Sampai saat ini belum ada penelitian tentang bakteri asam laktat isolat lokal dari ikan Kerapu Macan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri asam laktat dari saluran usus ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan menguji potensi antibakterial isolat bakteri asam laktat tersebut terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*.

Materi dan Metode

Materi percobaan

Penelitian ini menggunakan ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) sebanyak 14 ekor berukuran 500- 800 gram, diperoleh dari perairan laut Situbondo, Jawa Timur. Bakteri patogen *Vibrio alginolyticus* diperoleh dari Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara. Penelitian ini dilakukan dari bulan Agustus sampai dengan bulan Nopember 2010 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Media kultur

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri asam laktat adalah media agar MRS (de Mann, Rogosa, Sharpe) dan MRS cair (Merck, Darmstadt, Germany) dengan pH 5,7 (Bucio et al., 2006). Untuk menentukan koloni yang tumbuh adalah dari kelompok bakteri asam laktat, maka koloni direisolasi pada medium agar GYP (*Glucose-Yeast Extract-Pepton*) + CaCO₃ dengan komposisi per liter akuades: glukosa 1%, yeast extract 0,5%, trpton 0,5%, agar bakteriologi 1,5% dan CaCO₃ 0,5%. Untuk uji antagonisme medium yang digunakan medium Zobell 2216E dengan komposisi polypepton 5g/l dan yeast extract 1g/l yang dilarutkan dalam 75% air laut (Isnansetyo & Triyanto, 2007).

Isolasi bakteri asam laktat

Isolasi bakteri asam laktat dilakukan menurut prosedur Bucio et al. (2006). Saluran pencernaan ikan Kerapu Macan diambil, dibuka, dibuang isinya, kemudian dinding usus bagian dalam dikerik dengan menggunakan spatula steril. Cairan mukosa usus ini diambil sebanyak 1 ml dan dihomogenkan di dalam 9 ml larutan PBS (*phosphate buffer saline*) pH 7,4, kemudian dilakukan pengenceran 10⁻¹ hingga 10⁻⁴ secara berurutan. Dari setiap pengenceran diambil 0,1 ml dan disebarkan pada medium agar MRS, dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh terpisah, berwarna putih dan berukuran 0,1-3 mm pada MRS agar diinokulasi kembali pada medium GYP+CaCO₃. Selanjutnya koloni yang tumbuh terpisah, berwarna putih dan terdapat zona jernih disekitarnya diisolasi dan disimpan pada medium MRS agar miring, MRS broth (untuk penyimpanan jangka pendek) dan di dalam MRS broth + *glycerol* (untuk penyimpanan jangka panjang pada suhu -20°C).

Karakterisasi bakteri

Identifikasi isolat bakteri berdasarkan

karakteristik fenotip, yaitu morfologi, biokimia dan fisiologi. Pengamatan morfologi (merujuk pada Cappucino & Sherman, 2001) meliputi bentuk, tepi, elevasi, warna dan ukuran koloni yang tumbuh terpisah pada medium GYP+CaCO₃. Pengamatan morfologi sel mencakup bentuk, sifat Gram dan motilitas di bawah mikroskop binokuler pada perbesaran 10 dan 40x. Uji biokimia meliputi uji katalase, oksidase, OF, MR-VP, Simmon citrate, TSIA dan gelatinase, produksi amoniak (NH₃) dan uji fermentasi gula-gula menurut prosedur Mac Faddin (1983). Pengamatan fisiologi uji pertumbuhan pada suhu 15 dan 45 °C, pada pH 4 dan 9, konsentrasi NaCl 6,5, 10 dan 18% (w/v) dalam medium MRS broth (Ghanbari et al., 2009). Pertumbuhan bakteri diamati setelah waktu inkubasi 3-5 hari.

Uji aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri dari isolat bakteri yang diduga bakteri asam laktat terhadap *Vibrio alginolyticus* diuji dengan metode *paperdisc diffusion agar* pada *double layer agar* (Davidson & Parish, 1989). Medium lapis ganda (*double layers*) terdiri dari 1,5% agar dan 0,7% agar (Isnansetyo & Kemei, 2003). Sebanyak satu ose dari masing-masing isolat diinokulasi pada 5 ml medium Zobell 2216E cair dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Kepadatan bakteri dari tiap kultur cair ditentukan pada absorbansi 0,1. Sebanyak 50 µl dari kultur cair tersebut diteteskan pada *paperdisc*, kemudian

didiamkan selama 15 menit (aseptis) supaya meresap sempurna. *Paperdisc* selanjutnya diletakkan di atas taburan patogen *V. alginolyticus* pada medium agar Zobell *double layer* dengan kepadatan 10⁶ sel/ml merujuk kepada prosedur Buntin et al., (2008), dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kepadatan 10⁶ sel/ml ditentukan dari *total plate count* (TPC) pada medium TSA air laut. Kemampuan penghambatan pertumbuhan patogen ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar *paper disc*. Sebagai kontrol positif digunakan *chloramphenicol*, dan kontrol negatif digunakan MRS *broth*. Zona hambat dihitung dengan mengukur diameter zona jernih dalam mm disekitar *paper disc* dengan menggunakan *caliper*. Pengujian dilakukan dua kali untuk setiap isolat dan kontrol.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat

Hasil inokulasi pada media agar MRS dan GYP+CaCO₃ ditemukan sebanyak 21 isolat bakteri asam laktat dengan ukuran koloni berbeda dan menunjukkan zona jernih disekitar koloninya (Gambar 1). Morfologi koloni dan morfologi sel semua isolat bakteri mempunyai karakter yang hampir sama (Tabel 1). Semua koloni isolat berbentuk bulat. Sebagian besar koloni berwarna putih susu dan putih krem. Ukuran koloni berkisar antara 0,25 mm sampai 2,0 mm. Bentuk sel bakteri adalah batang, Gram positif dan nonmotil.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri asam laktat pada medium GYP+CaCO₃ menunjukkan zona jernih disekitar koloni bakteri.

Tabel 1. Karakteristik isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari usus ikan Kerapu Macan.

Karakteristik	KSBU 5Aa	KSBU 5Ab	KSBU 5Ca	KSBU 5Cb	KSBU 5Db	KSBU 9	KSBU 13B	KSBU 14B	KSBU 5Ba	KSBU 5Bb	KSBU 5Da
Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Warna koloni	PS	PS	PS	PS	PS	PK	PS	PS	PS	PS	PS
Ukuran koloni (mm)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	1,0	1,0	0,5	0,5	0,25
Morfologi sel	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan	Batan
Sifat Gram	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
Oksidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSIA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Produksi H ₂ S	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A	A/A
O/F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spora	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	F	O/F	O/F	O/F	O/F
Acid Fast	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumbuhan pada 15°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumbuhan pada 45°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrolisis gelatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sifat Aerobiosis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas dari glucose	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Produksi Asam dari:											
- Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Raffinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Hidrolisis Arginin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Karakteristik	KSBU 4B	KSBU 12A	KSBU 12B	KSBU 12C	KSBU 13C	KSBU 13D	KSBU 14A	KSBU 11A	KSBU 11B	KSBU 11C
Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Warna koloni	PK	PS	PS	PS	PS	PS	PS	PK	PS	PS
Ukuran koloni (mm)	2,0	0,5	0,5	1,0	1,0	1,5	1,0	1,0	1,0	1,5
Morfologi sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Sifat Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oksidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Motilitas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TSIA	K/A	A/A	A/A	A/A	K/K	K/A	A/A	A/A	A/A	K/K
Produksi H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O/F	O/F	O/F	O/F	O/F	F	O/F	O/F	O/F	O/F	F
Spora	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acid Fast	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pertumbuhan pada 15 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Pertumbuhan pada 45 °C	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
Hidrolisis gelatin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sifat Aerobiosis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gas dari Glukose	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+
Produksi Asam dari:										
- Glukosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Galaktosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Lactosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Maltosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- D-mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Raffinosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hidrolisis Arginin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: + : positif, - : negatif, PK: putih krem, PS: putih susu, K/A: alkali/asam, A/A: asam/asam, K/K: alkali/alkali, O/F: oksidatif/fermentatif.

Pada uji biokimia didapatkan hampir tidak ada perbedaan antara isolat-isolat yang diduga bakteri asam laktat. Semua isolat bersifat katalase negatif, tidak mempunyai sitokrom oksidase dan enzim gelatinase. Uji *methyl red* (MR) dan Voges-Proskauer (VP) negatif. Sebagian besar isolat menggunakan karbohidrat dengan metabolisme oksidatif dan fermentatif (fakultatif anaerob), dan memproduksi asam dari gula-gula yang diuji (glukosa, galaktosa, laktosa, maltosa, D-manitol, rafinosa, sorbitol. Namun pada uji hidrolisis arginin semua isolat menunjukkan hasil negatif.

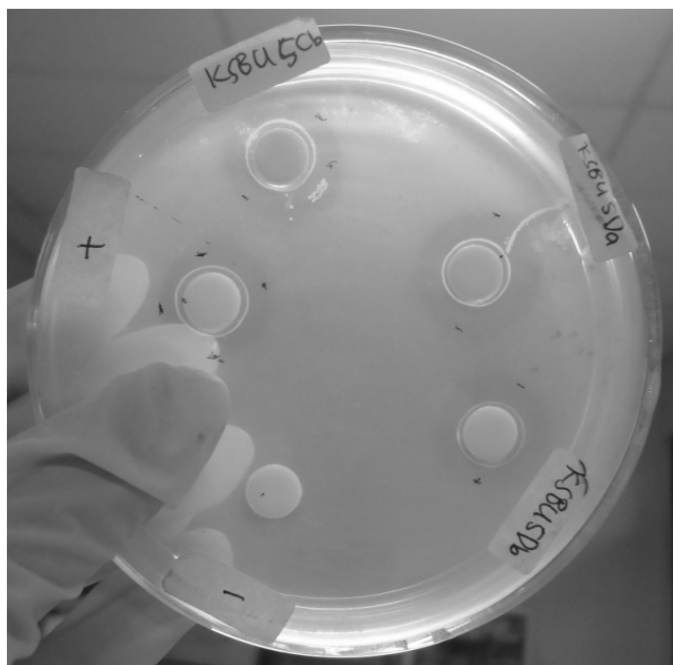
Pertumbuhan isolat bakteri asam laktat pada kondisi pH dan suhu berbeda lebih bervariasi. Semua mampu tumbuh pada pH 3, 4, 5 dan 6. Sebanyak 7 isolat dapat tumbuh baik pada suhu 15°C dan 45°C, namun 11 isolat tidak tumbuh pada suhu 15°C, dan 3 isolat tidak tumbuh pada suhu 15°C maupun 45°C.

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, uji biokimia, dan sifat fisiologi, sebagian besar isolat mempunyai karakteristik yang hampir sama. Dengan merujuk kepada buku identifikasi bakteri menurut Holt *et al.*, (2000), maka semua isolat bakteri yang diuji dapat dikategorikan kedalam kelompok bakteri asam laktat, yaitu dari genus *Lactobacillus*. *Lactobacillus* sp. termasuk bakteri Gram positif, sel tidak menghasilkan spora, non-motil, fakultatif anaerob, kadang-kadang mikroaerofilik, tumbuh lebih baik dengan adanya oksigen tereduksi,

sebagian anaerob, dan tumbuh optimum pada suhu 30-40°C. Koloni pada media agar biasanya 2-5 mm, konveks, penuh dan opak dan tidak berpigmen, sel berbentuk batang regular dengan ukuran 0,5-1,2 x 1,0-10,0 um; kemoorganotrofik, dan tumbuh hanya pada media kompleks; metabolisme fermentatif dan sakaroklastik, sebagian dari produk akhirnya adalah laktat; tidak mereduksi nitrit, gelatin tidak mencair, katalase dan sitokrom negatif. *Lactobacillus* sp. tersebar luas di lingkungan terutama pada hewan dan produk makanan sayur-sayuran, biasanya mendiami saluran usus burung dan mamalia, vagina mamalia, dan tidak bersifat patogen (Holt *et al.*, 2000).

Aktivitas antivibrio

Isolat-isolat bakteri asam laktat yang didapat mempunyai daya hambat dan aktivitas berbeda terhadap *V. alginolyticus* (Gambar 2). Diameter zona hambat berkisar antara 8 mm sampai 21,5 mm dengan aktivitas antivibrio antara 0 sampai 14 unit (Tabel 2). Aktivitas antivibrio 1 unit adalah diameter zona hambat dikurangi dengan diameter *paper disc* (8 mm). Dari 21 isolat tersebut, hanya 20 isolat yang mampu menghambat *V. alginolyticus*. Sebanyak 2 isolat mempunyai zona hambat antara 10-15 mm, 17 isolat mempunyai zona hambat antara 15-20 mm, 1 isolat (KSBU 12C) menunjukkan aktivitas antivibrio tertinggi, yaitu di atas 20 mm, sedangkan 1 isolat (KSBU 5Bb) tidak menunjukkan aktivitas antivibrio (0,0 mm). Hasil penelitian ini lebih baik daripada



Gambar 2. Zona jernih disekitar *paper disc* ditandai dengan garis hitam di tengah

Tabel 2. Diameter zona hambat dan aktivitas antivibrio dari isolat bakteri asam Laktat.

No.	Isolat	Rata-rata Diameter zona hambat (mm)	Aktivitas antivibrio (unit)
1.	KSBU4B	16,0 ±0,283	8,0
2.	KSBU5Aa	18,0 ±0,141	10,0
3.	KSBU5Ab	16,0 ±0,283	8,0
4.	KSBU5Ba	17,5 ±0,000	9,5
5.	KSBU5Bb	8,0 ±0,000	0
6.	KSBU5Ca	18,0 ±0,141	10,0
7.	KSBU5Cb	16,5 ±0,000	8,5
8.	KSBU5Da	19,0 ±1,141	11,0
9.	KSBU5Db	17,0 ±0,707	9,0
10.	KSBU9	18,0 ±0,141	10,0
11.	KSBU11A	14,9 ±0,141	6,9
12.	KSBU11B	16,1 ±0,141	8,1
13.	KSBU11C	14,0 ±0,283	6,0
14.	KSBU12A	16,5 ±0,283	8,5
15.	KSBU12B	17,0 ±0,283	9,0
16.	KSBU12C	21,5 ±0,707	13,5
17.	KSBU13B	17,5 ±0,000	9,5
18.	KSBU13C	17,5 ±0,141	9,5
19.	KSBU13D	19,3 ±0,141	11,3
20.	KSBU14A	15,1 ±0,283	7,1
21.	KSBU14B	17,0 ±0,141	5,9
22.	Kontrol positif	19,0 ±0,000	11,0
23.	Kontrol negatif	0,0 ±0,000	0

hasil yang didapat oleh Balcazar et al. (2008), dimana dari 3 isolat bakteri asam laktat yang diisolasi dari *Rainbow trout*, hanya *Lactococcus lactis* yang menghambat pertumbuhan *V. anguillarum* dan *Yersinia ruckeri* dengan zona hambat di atas 10 mm, terhadap *Aeromonas hydrophila* dan *A. salmonicida* dengan zona hambat di atas 15 mm.

Dibandingkan dengan *chloramphenicol* sebagai kontrol positif, kemampuan isolat KSBU12C dan KSBU13D sebagai antivibrio lebih tinggi, dan isolat KSBU5Da sama dengan antibiotik tersebut. Ini menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri tersebut dapat digunakan sebagai antivibrio menggantikan *chloramphenicol* yang sering digunakan dalam penanggulangan penyakit bakterial pada budidaya perairan. *Chloramphenicol* bersifat bakteriosidal atau bakteriostatik dengan mekanisme kerja menghambat sintesis protein pada struktur sel yaitu ribosom, pada dosis tinggi dapat berdampak pada hewan dan manusia yang ribosomnya sama dengan ribosom pada bakteri. Antibiotik ini termasuk yang telah dilarang penggunaannya dalam produk makanan oleh FDA karena dapat menginduksi anemia aplastik pada manusia (Serrano, 2005).

Efek penghambatan yang ditunjukkan oleh isolat bakteri asam laktat dapat disebabkan oleh asam atau substansi seperti bakteriosin (Aslim et al., 2005). Selain produksi bakteriosin sebagai cara kerja antagonistik dari probiotik, produksi asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat juga penting, seperti aktivitas bakteri asam laktat terhadap patogen pada ikan *Turbot* (Vazquez et al., 2005) dan asam- asam organik pada salmon asap (Tome et al., 2006).

Kesimpulan

Sebanyak 20 isolat bakteri asam laktat dengan aktivitas antivibrio telah berhasil diisolasi dari ikan Kerapu Macan asal perairan laut Situbondo. Aktivitas antivibrio tertinggi ditunjukkan oleh tiga isolat, yaitu KSBU12C, KSBU 13D dan KSBU 5Da yang melebihi kemampuan antibiotik *chloramphenicol*. Untuk menentukan genus dan spesies bakteri asam laktat perlu dilakukan uji-uji identifikasi lebih lanjut.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Pemerintah Indonesia,

khususnya DP2M Dikti Kementerian Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Penelitian Disertasi Doktor Tahun Anggaran 2010, dan Nusy Fitriaweilni Dewi dan Rozi yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Ajitha, S., M. Sridhar, N. Sridhar, I.S.B. Singh, & V. Varghese. 2004. Probiotic effects of lactic acid bacteria against *Vibrio alginolyticus* in *Penaeus* (Fenneropenaeus) *indicus* (H. Milne Edwards). *Asian Fish. Sci.*, 17: 71-80.
- Aslim, B., Z.N. Yuksekdog, E. Sarikaya, & Y. Beyatli. 2005. Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *LWT*, 38:691-694.
- Balcazar, J.L., I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuola, D. Vendrell, O. Girone´s, & J. Luis Muzquiz. 2007. Sequencing of variable regions of the 16S rRNA gene for identification of lactic acid bacteria isolated from the intestinal microbiota of healthy salmonids. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, 30:111-118.
- Balcazar, J.L., D. Vendrell, I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuola, J.L. Muzquiz, & O. Girones, 2008. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. Short communication. *Aquaculture*, 278:188-191.
- Bucio, A., R. Hartemink, J.W. Schrama, J. Verreth, & F.M. Rombouts. 2004. Screening of lactobacilli from fish intestines to select a probiotic for warm freshwater fish. *Bioscience Microflora*, 23(1): 21-30.
- Bucio, A., R. Hartemink, J.W. Schrama, J. Verreth, & F.M. Rombouts. 2006. Presence of lactobacilli in the intestinal content of freshwater fish from a river and from a farm with a recirculation system. *Food Microbiology*, 23:476-482.
- Cappucino, J.G. & N. Sherman. 2001. *Microbiology. A Laboratory Manual*. Sixth Edition. Rockland Community College, New York. 491p.
- Davidson, P.M. & M.E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, 1989: 148-155.
- Davidson, P.M. & M.E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, 1989:148-155.
- Desrina, A. Taslihan, Ambariyanto & S. Suryaningrum. 2006. Uji keganasan bakteri *Vibrio* pada ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Ilmu Kelautan*, 11(3):119-125.
- Farzanfar, A. 2006. The use of probiotics in shrimp aquaculture. Mini Review. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, 48: 149-158.
- Ghanbari, M., M. Rezaei, M. Jami, & R.M. Nazari. 2009. Isolation and characterization of *Lactobacillus* species from intestinal contents of Beluga (*Huso huso*) and Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Iranian J. of Veterinary Research*, 10 (2): 152-157.
- Holt, J.G., N.R. Kreig, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, & S.T. Williams. 2000. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia. 787 pages.
- Isnansetyo, A. & Triyanto. 2007. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Antibiotik, Strain S2V2 dan RLP. Laporan Penelitian Fundamental Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2007. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 35 hal.
- MacFaddin, J.F., 1983. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. Second Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, London. 527 p.
- Murdjani, M., 2002. Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*). *Disertasi*. Program Pascasarjana Univ. Brawijaya, Malang. 117 hal.
- Nitimulyo, K.H., A. Isnansetyo, Triyanto, I. Istiqomah, & M. Murdjani. 2005. Isolasi, identifikasi dan karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen penyebab Vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *J. Perikanan* VII(2): 80-94.
- Serrano, P.H., 2005. Responsible use of antibiotics in aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper* 469. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 110 p.
- Sun, Y., H. Yang, Z. Ling, J. Chang, & J. Ye. 2009. Gut microbiota of fast and slow growing grouper *Epinephelus coioides*. *African J. Microbiol. Res.*, 3(11):713-720.

- Taslihan, A., M. Murdjani, C. Pubomartono, & E. Kusnendar. 2000. Bakteri patogen penyebab penyakit mulut merah pada ikan kerapu tikus *J Perikanan UGM*, II(2):57-62.
- Tome, Y., P. Teixeira, & P.A. Gibbs. 2006. Anti-listerial inhibitory lactic acid bacteria isolated from commercial cold smoked salmon. *Food Microbiol.*, 23: 399-405.
- Vazquez, J.A., M.P. Gonzales, & M.A. Murado. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture*, 245: 149-161.