



PASIR LAUT

ISSN 1858-1684
**Journal Of
Coastal and Marine
Resources Management**
<https://ejournal.undip.ac.id/index.php/pasirlaut>

Journal of Coastal and Marine Resources Management



Scientific Journal published by
Magister Program in Aquatic Resources Management
Faculty of Fisheries and Marine Science
Universitas Diponegoro Semarang

DAFTAR ISI

Paper:	Halaman
1. ANALISIS TOTAL BAKTERI <i>Vibrio</i> sp. DI SEDIMEN PADA KERAPATAN MANGROVE YANG BERBEDA DI PANTAI UJUNG PIRING, JEPARA <i>Oleh: Ayu Lailatussyifa, Niniek Widyorini dan Oktavianto Eko Jati</i>	1 - 8
2. IDENTIFIKASI MOLEKULER SPESIES BAKTERI KANDIDAT PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI USUS UDANG VANAME (<i>Litopenaeus vannamei</i>) KOLEKSI DARI KABUPATEN SUBANG, JAWA BARAT <i>Oleh: Siwi Sarastiti, Suminto, Sarjito</i>	9 - 15
3. HUBUNGAN KELIMPAHAN MAKROZOOBENTOS DENGAN TEKSTUR SEDIMEN BAR, DAN BAHAN ORGANIK DI PERAIRAN PANTAI MANGKANG WETAN, SEMARANG <i>Oleh: Adhi Nugroho, Max Rudolf Muskananfolo, Bambang Sulardiono</i>	16 - 21
4. ANALISIS KELIMPAHAN BAKTERI <i>Pseudomonas</i> sp. DI PERAIRAN DESA BEJALEN RAWA PENING, JAWA TENGAH <i>Oleh: Estri Nur'aini, Niniek Widyorini, Oktavianto Eko Jati</i>	22 - 27
5. KELIMPAHAN MIKROPLASTIK PADA SEDIMEN DI DESA MANGUNHARJO, KECAMATAN TUGU, KOTA SEMARANG <i>Oleh: Qadarina Nur Laila, Pujiono Wahyu Purnomo, Oktavianto Eko Jati</i>	28 -35
6. PENGARUH BERBAGAI TEMPERATUR TERHADAP PELEPASAN DENSITAS ZOOXANTHEL-LAE PADA KARANG <i>ACROPORA</i> SP. DALAM SKALA LABORATORIUM <i>Oleh: Maya Sri Mulyani, Pujiono Wahyu Purnomo dan Supriharyono</i>	36 - 41
7. ASPEK BIOLOGI <i>Emerita emeritus</i> (Linnaeus 1767) DI PANTAI GLAGAH, PANTAI PARANGTRITIS, DAN PARANGKUSUMO <i>Oleh: Irzani Hamzah Setya Rahmatuloh, Agus Hartoko, Bambang Sulardiono</i>	42 - 51
8. HUBUNGAN TUTUPAN KARANG DENGAN KEANEKARAGAMAN ECHINODERMATA DI PULAU KARIMUNJAWA, JEPARA <i>Oleh: Ainun Fitriyah, Suryanti, Siti Rudiyantri</i>	52 - 59

IDENTIFIKASI MOLEKULER SPESIES BAKTERI KANDIDAT PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI USUS UDANG VANAME (*Litopenaeus vannamei*) KOLEKSI DARI KABUPATEN SUBANG, JAWA BARAT

Molecular Identification Bacteria as Probiotic Candidates Isolated from Intestinal Tract of Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Collected from Subang, West Java

Siwi Sarastiti, Suminto, Sarjito

Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto SH, Tembalang, Semarang, Indonesia 50275: Telephone Fax: 024-76480685
Email: sarastiti17@gmail.com, suminto57@gmail.com, sarjito_msdp@yahoo.com

Diserahkan tanggal: 4 Agustus 2019, Revisi diterima tanggal: 8 September 2019

ABSTRAK

Vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis kulturan budidaya udang putih yang bernilai ekonomis penting dan telah dibudidayakan secara intensif. Salah satu permasalahan budidaya secara intensif yaitu adanya penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen. Upaya mencegah serangan penyakit oleh bakteri patogen pada udang adalah dengan pemberian probiotik yang diisolasi dari usus udang vaname. Penelitian ini bersifat eksploratif bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri kandidat probiotik yang terdapat pada usus udang vaname (*L. vannamei*) dan mengidentifikasi secara molekuler bakteri kandidat probiotik yang terdapat pada usus udang vaname (*L. vannamei*). Prosedur dalam penelitian ini meliputi pengambilan sampel udang, isolasi bakteri usus udang, uji biokimia, uji aktivitas enzimatis, uji aktivitas antibakteri, identifikasi dan analisis molekuler isolat bakteri dari usus udang vaname. Hasil penelitian yang telah dilakukan, didapatkan 11 isolat bakteri dari usus udang vaname dari daerah Subang, Jawa Barat, memiliki morfologi yang beragam. 6 isolat bakteri positif terhadap ke empat uji proteolitik, 8 selulolitik, 7 lipolitik dan 7 amilolitik. Terdapat 2 isolat (SS5 dan SP3) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *V. harveyi* dan *V. Parahaemolyticus*. Berdasarkan identifikasi dan analisis molekuler diketahui isolat bakteri dengan kode SS5 memiliki kemiripan 99,93% dengan *Bacillus flexus* pada nomor akses NR_113800.1 .

Kata kunci: Identifikasi, Bakteri, Probiotik, Vaname, Molekuler

ABSTRACT

Vaname (Litopenaeus vannamei) is kind of white shrimp species. It has been farmed intensively because it has high economic value. The most problem of intensive culture is diseases caused by pathogenic bacteria. The efforts to prevent disease attacks by pathogenic bacteria in shrimp are by administering probiotic isolated from the intestine of vaname shrimp. This exploratory study aims to obtain probiotic candidate bacterial and molecular identification of probiotic candidate bacteria found from vaname shrimp (L. vannamei) intestines. The procedure in this study included shrimp sampling, isolation of shrimp intestinal bacteria, biochemical tests enzymatic activity tests, antibacterial activity tests, identification and molecular analysis of bacterial isolates from the intestine of vaname shrimp. The results of research that was made carried out, obtained 11 bacterial isolates from the intestine of vaname shrimp from Subang, West Java, have diverse morphology. 6 bacterial isolates were positive for the four proteolytic tests, 8 cellulolytic, 7 lipolytic and 7 amylolytic. There are 2 isolates (SS5 and SP3) having antibacterial activity against V.harveyi and V. parahaemolyticus bacteria. Based on the identification and molecular analysis, it was found that bacterial isolates with SS5 code had 99.93% similarity with Bacillus flexus with number access NR_113800.1

Key words: Identification, Bacteria, Probiotics, Vaname, Molecular

PENDAHULUAN

Vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu jenis kultivan budidaya udang putih yang bernilai ekonomis penting dan telah dibudidayakan secara intensif pada perairan tambak di Indonesia. Beberapa wilayah di Indonesia telah banyak menerapkan teknologi budidaya Intensif, salah satunya yaitu Kecamatan Blanakan, Kabupaten Subang, Jawa Barat. Teknologi ini mampu meningkatkan jumlah produksi budidaya udang vaname skala nasional selama kurun waktu lima tahun terakhir, mengalami kenaikan rata-rata sebesar 13,48% (KKP,2017).

Perkembangan teknologi sistem budidaya secara intensif pada tambak udang vanamei memiliki potensi terhadap peningkatan pencemaran perairan. Selain itu berdampak pada kesehatan udang dengan munculnya penyakit oleh mikroorganisme patogen yang dikarenakan tidak seimbang kondisi lingkungan. Dalam kasus beberapa beberapa tahun ini ditemukan beberapa bakteri patogen pada udang, berpengaruh pada penurunan produksi udang hingga 60% dan menyebabkan kerugian hingga lebih dari \$1 miliar per tahun (Huang *et al.*, 2016).

Probiotik merupakan segala bentuk preparasi sel mikroba atau komponen sel mikroba yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi kesehatan dan kehidupan inang (Salminen, 1999). Salah satu Kriteria seleksi probiotik yaitu kemampuan menghambat pertumbuhan patogen dan memiliki aktivitas antimikrobia (Kosin dan Rakshit, 2006). Kandidat bakteri probiotik salah satunya didapatkan dari kultivan budidaya. Beberapa penelitian sebelumnya tentang bakteri probiotik dari usus kultivan, diantaranya bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas putida* dimana bakteri tersebut diisolasi dari usus lele dumbo (Rahmawan *et al.*, 2014). *Bacillus bataviensis* dan *Caulobacter* sp dari usus udang Windu (Seprianto *et al.*, 2017). Bakteri *Alkaligenes* sp. dan *Flavobacterium* sp. diisolasi dari usus udang diaplikasikan pada media kultur (Suminto, 2008). Pemilihan kandidat bakteri probiotik, harus mempertimbangkan aspek teknologi, aplikasi, kelangsungan hidup dan kolonisasi pada inang dan manfaat kesehatannya. Untuk menentukan kandidat probiotik dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* (Shewale *et al.*, 2014).

Teknologi molekuler digunakan untuk mengidentifikasi bakteri menggunakan teknik sekuens 16S rDNA, merupakan suatu teknik modern dalam mengidentifikasi suatu spesies organisme (Rungrassamee, 2014). Sehingga penelitian ini diharapkan dapat mengeksplor jenis bakteri kandidat probiotik dalam usus udang vaname dari Subang, secara molekuler. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi jenis bakteri kandidat probiotik yang terdapat pada usus udang vaname (*L.vannamei*) secara molekuler.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri dari sampel udang vaname yang berasal dari tambak intensif di Kecamatan Blanakan, Kabupaten Subang, Jawa Barat. Sampel udang yang digunakan yaitu dengan kriteria terbebas dari serangan penyakit dan berhasil dipanen dengan ukuran terbaik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah media agar (NA) sebagai media tumbuh bakteri, Air laut steril sebagai pelarut dan pengencer, Alkohohol 70% sebagai sterilisasi aseptis, *Soluble Strach* sebagai media uji aktivitas Amilolitik, Skim Milk sebagai media uji aktivitas proteolitik, CMC (*Carboxymethyl Cellulose*) sebagai media uji aktivitas selulolitik, *Iodine* untuk pengujian aktivitas amilolitik dan selulolitik, Primer sebagai primer DNA, *Kappa kit master* sebagai reagen (*Polymerase Chain Reaction*) (PCR), *DNA Ladder* sebagai *marker* pembanding *band* DNA, Agarose sebagai gel elektroforesis, Buffer TAE 1x sebagai buffer elektroforesis, *Aquabides* sebagai pengencer buffer, Saponin untuk ekstraksi DNA, *Chelex* untuk ekstraksi DNA, ***Phosphate-buffered saline*** (PBS) untuk ekstraksi DNA.

Alat yang digunakan pada penelitian berdasarkan isolasi sampel, uji aktivitas enzimatik, dan skrining bakteri diantaranya adalah *sectio kit* untuk membedah sampel, mortar untuk melumatkan sampel, mikro pipet untuk mengukur volum skala mikro, *autoclave* sebagai penyeteril alat dan bahan, *Laminar Air Flow* (LAF) sebagai ruang kultur aseptis, tabung reaksi dan cawan petri sebagai wadah kultur bakteri, jarum ose untuk memindahkan koloni bakteri kedalam media, *spreader* untuk meratakan biakan bakteri diatas media agar, *vortex* untuk homogenisasi, *centrifuge* sebagai alat peluruh ekstrak, mesin *DNA Thermal Cycler* sebagai mesin PCR, elektroforesis sebagai alat pembaca elektro, *UV Doc* untuk visualisasi pita DNA.

Prosedur penelitian

Prosedur penelitian meliputi koleksi sampel udang, isolasi bakteri usus udang, uji biokimia, uji aktivitas enzimatik, uji aktivitas antibakteri, identifikasi dan analisis molekuler isolat bakteri dari usus udang vaname. Pengambilan sampel udang dipilih udang hasil panen dengan ukuran seragam. Udang dimasukkan ke dalam plastik dan disimpan pada *coolbox* yang telah berisi *dry ice* agar kondisi udang tetap baik. Bedah punggung udang untuk mengambil usus udang dari ujung kepala sampai anus dengan pisau steril, lalu untuk mengambil usus dilakukan dengan pinset steril. Isi usus dikeluarkan menggunakan pinset kemudian usus diletakkan dalam cawan petri. Usus seberat 1 gram dihaluskan dengan mortar dilanjutkan pengenceran menggunakan air laut steril. Berdasarkan Cappuccino dan Sherman,

(1987), Isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam diamati berdasarkan bentuk, warna, diameter, *margin* (tepi), dan elevasi (permukaan). Dilakukan pengamatan morfologi koloni, maka setiap koloni bakteri yang berbeda diisolasi dan dimurnikan di media NA.

Uji biokimia dilakukan dengan pengujian isolat murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya dilihat dari perubahan penampakan hasil uji. Berdasarkan (Cowan and Steel, (1993), rangkaian uji biokimia yang digunakan terdiri dari uji katalase oksidase, (KOH), uji O/F, uji (MIO), uji (SIM), uji (MR-VP), uji urea, uji citrat, uji (LIA), uji (TSIA), uji gula-gula, uji pada media selektif gelatin. Uji aktivitas antibakteri dari isolat terhadap patogen, dilakukan pada pengenceran 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} mengurangi jumlah bakteri yang tersuspensi dalam media NB Wasteson dan Hornes (2009). Bakteri patogen yang diujikan yaitu *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyii* dari sampel balai besar perikanan Jepara. Bakteri patogen yang diujikan ditumbuhkan pada media NB dan diinkubasi selama 24jam, selanjutnya dilakukan pengenceran 10^{-5} . Berdasarkan Kim *et al.*, (1995) selanjutnya spread patogen pada media agar, pengujian dilakukan dengan meneteskan 10 μ l isolat bakteri pada *paper disc* aktivitas antibakteri ditunjukkan adanya zona hambat

Prosedur uji aktivitas enzimatik antara lain sebagai berikut; (i) uji kualitatif aktivitas enzim protease dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat bakteri pada media Skim Milk Agar (SMA) (ii) uji aktivitas protease dilakukan dengan menginokulasikan isolat pada media NA dengan amilum (1%) (iii) uji kualitatif aktivitas selulolitik pada media agar *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) 1%, (iv) uji aktivitas produksi enzim lipase dilakukan dengan inokulasi hasil isolasi pada media NA dengan Tween 80. Bairagi, (2002) diinkubasi selama 24 jam, dilautkan pengamatan aktivitas lipolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar isolat.

Identifikasi molekuler 16S rDNA diawali dengan ekstraksi DNA pada bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *Chelex* 100 Walsh *et al.*, (2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi bakteri dari usus udang vaname didapatkan 11 isolat dengan hasil aktivitas antibakteri dan uji enzimatik ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekeliling isolat bakteri, disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Kode Iso-lat	Aktifitas Antibakteri			
	Patogen <i>V.harveyii</i>	Diameter (mm)	Patogen <i>V.Parahemoliticus</i>	Diameter (mm)
SS.5	+++	13	+++	17
SP3	++	7.7	++	8,1

Keterangan: (-) Tidak terdapat aktifitas enzimatik (++) Aktifitas antibakteri sedang (+) Aktifitas antibakteri rendah (+++) Aktifitas antibakteri kuat

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *V.Harveyii* dan *V.parahemoliticus*. Hasil uji aktivitas antibakter dari 11 isolat didapatkan 2 isolat aktif terhadap bakteri patogen. *V.harveyii* dan isolat aktif terhadap kedua patogen.

Zona hambat yang terbentuk pada isolat SS5 dan SP3, menandakan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *V.harveyi* dengan diameter terbesar pada SS5 sebesar 13mm. Sedangkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri pathogen *V.parahemolyticus* terdapat pada isolat SS5 dengan diameter zona bening 17mm dan SP3 sebesar 7,1mm, diketahui SS5 merupakan jenis bakteri Bacillus sedangkan SP3 berjenis Vibrio. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dapat diketahui bahwa isolat yang menghasilkan zona hambat dilihat dari terbentuknya zona bening di sekeliling *paperdisk*, hasil uji dengan zona bening terbesar mampu melawan pertumbuhan bakteri patogen dari genus vibrio. Sebagaimana penelitian Sarida dan Esti (2010), berhasil mengidentifikasi bakteri gram negatif yaitu *Vibrio fur-*

nissi yang mampu menghambat bakteri *V.harveyii* berasal dari pencernaan udang vaname. Didukung oleh Oktavia (2018) dalam penelitiannya bakteri Bacillus dapat berkompetisi memperoleh nutrisi dan ruang dengan bakteri *V. harveyii* dengan mekanisme antagonis bakteri probiotik Bacillus, dengan menghasilkan senyawa antibakteri dan bakteriosin, Kompetisi terhadap perebutan nutrisi, dan bersaing untuk zona adhesi.

Aktivitas enzimatik isolat bakteri antara lain: uji enzim selulolitik, proteolitik, lipolitik, dan amilolitik. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba yang diisolasi dari saluran pencernaan kultivan dapat digunakan sebagai probiotik (Suciati *et al.*, 2016). Adanya aktivitas enzimatik ditandai dengan adanya zona hambat disekitar isolat. Hasil profil uji enzimatik secara kualitatif diketahui bahwa pada uji Proteolitik, diperoleh 6 isolat mempunyai aktivitas proteolitik, dengan 5 isolat dengan zona hambat terbesar (SS4, SS5, SS6, SS7, dan SS8) dibanding isolat lain. Zona bening sekitar isolat tersebut menandakan adanya aktivitas

pemecahan senyawa protein menjadi asam amino pada enzim proteolitik zona bening dengan ukuran besar menunjukkan adanya aktivitas enzimatis yang cukup kuat oleh bakteri dengan mengubah protein menjadi asam amino. Didukung oleh Suciati *et al* (2016) bahwa Enzim proteolitik secara alami diproduksi oleh bakteri untuk menghidrolisis polipeptida menjadi peptida dan asam amino.

Profil 8 isolat diketahui memiliki aktivitas lipolitik, 2 isolat menghasilkan zona hambat terbesar

(SP1 dan SP2). Zona bening yang dihasilkan menandakan adanya aktivitas enzim yang memecah lipid menjadi asam lemak. Didukung oleh Setyati dan Subagiyo (2012) menyatakan bahwa perubahan lemak menjadi asam lemak dapat dimanfaatkan oleh bakteri, enzim ini merombak lipid menjadi lipid rantai pendek dan asam lemak, yang selanjutnya akan digunakan untuk pertumbuhan.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Enzimatis

Kode Isolat	Uji Enzimatis			
	Proteolitik	Selulolitik	Lipolitik	Amilolitik
SS.1	+	-	-	-
SS.2	-	-	++	-
SS.3	-	-	-	-
SS.4	+++	-	++	-
SS.5	+++	++	+	++
SS.6	+++	++	+	++
SS.7	+++	++	+	++
SS.8	+++	++	-	++
SP.1	-	+	+++	+
SP.2	-	++	+++	++
SP.3	-	+++	++	+

Keterangan: (-) Tidak terdapat aktifitas enzimatis (+) Aktifitas enzimatis rendah
 (++) Aktifitas enzimatis sedang (+++) Aktifitas enzimatis kuat

Aktivitas selulolitik didapatkan hasil 7 isolat dengan hasil positif, dengan isolat menghasilkan zona hambat terbesar SP3 dibanding isolat lain. Zona bening yang dihasilkan menandakan bahwa terdapat aktivitas enzim yang mengubah selulosa menjadi senyawa sederhana. Enzim selulolitik dapat dimanfaatkan dalam pencernaan udang dan media budidaya. Hal ini diperkuat oleh Styati dan Subagiyo (2012) menyatakan bahwa selulosa tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan udang, sehingga dikeluarkan menjadi fases, serta perombakan selulose pada lingkungan diperlukan enzim selulose.

Hasil uji aktivitas amilolitik diperoleh 7 isolat mempunyai aktivitas amilolitik, 5 isolat dengan zona hambat yang besar (SS5, SS6, SS7, SS8 dan SP2). Amilolitik memecah amilum menjadi glukosa, dan selulolitik memecah selulosa menjadi senyawa sederhana. Aktivitas enzimatis amilolitik dan selulolitik ditandai dengan adanya zona bening disekitar isolat bakteri ditandai dengan tidak berubah warna biru di sekitar isolat oleh reaksi amilum setelah ditetesi iodine. Sependapat dengan penelitian Adnan *et al* (2017) bahwa isolat dengan kemampuan amilolitik akan menghidrolisis pati pada media di sekeliling tempat tumbuhnya dan tidak terbentuk warna biru gelap pada zona degradasi, yang merupakan dasar deteksi dan seleksi isolat amilolitik pada bakteri asam laktat. Serta didukung oleh Tzuc *et al* (2014), yang menemukan bakteri dari organ pencernaan udang vaname dengan aktivitas enzim amilase dan lipase yang tinggi.

Terdapat 8 isolat bakteri dengan hasil positif terhadap ke empat uji enzimatis, kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protease, selulose, lipase dan amilase menjadi kriteria dalam seleksi bakteri kandidat probiotik. Aktivitas enzimatis dimanfaatkan untuk menghidrolisis senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana, sehingga dapat dimanfaatkan pada proses metabolisme kulturan baik dari dalam maupun luar tubuh. Didukung oleh Sunarti dan Wawan (2006), Hidrolisis merupakan proses pemecahan kimiawi suatu molekul terdegradasi menjadi lebih kecil dengan rantai lebih pendek. Berdasarkan Styati dan Subagiyo (2012) pada penelitiannya telah dapat diseleksi 10 isolat kandidat bakteri probiotik yang dapat dikembangkan sebagai kandidat probiotik untuk membersihkan tambak udang dari bahan organik. Sedangkan pada Aslamyeh (2011) menyatakan bahwa aplikasi bakteri Bacillus pada usus udang vaname dapat meningkatkan keseimbangan mikroba dalam usus dan juga berperan dalam memproduksi enzim pencernaan protease, amilase dan lipase. Bakteri yang terdapat pada usus udang dapat meningkatkan aktivitas enzim pencernaan, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan udang vanamei. Hasil uji biokimia 6 isolat bakteri diidentifikasi berdasarkan buku Cowan and Steel (1993) dan Bergey's (1957), dapat dilihat pada Tabel 3. Bakteri yang teridentifikasi pada uji biokimia antara lain dari genus Bacillus, Acinetobacter, Bordetella, Neisseria dan Vibrio.

Hasil isolasi bakteri usus udang didapatkan 11 isolat dari daerah Subang. Dari ke 11 isolat diseleksi berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dan uji ak-

tivitas enzimatik. Berdasarkan ke6 isolat yang dipilih dari hasil pengamatan morfologi, uji enzimatik dan uji antibakteri, dilanjutkan uji biokimia. Hasil identifikasi konvensional dengan pendekatan Bergey's (1957) dan Cowan and Steel (1993) , didapatkan isolat SS5 (*Bacillus* sp.), SS6 (*Bacillus* sp.), SS7 (*Acinetobacter* sp.), SS8 (*Bordetella* sp.), SP2 (*Neisseria* sp.), SP3(*Vibrio* sp.). Berdasarkan hasil uji biokimia diketahui bahwa isolat bakteri *Bacillus* sp banyak ditemukan dalam usus udang. Sebagaimana pada Rusdani *et al.*, (2016) dalam penelitiannya ditemukan bakteri *Bacillus* sp. dari udang Galah dan Udang Windu. Di dukung oleh Sepriyanto *et al.*, (2017), bahwa

didapatkan bakteri *Bacillus bataviensis* dari usus udang windu. Hasil elektroforesis skuensing pada amplifikasi 16S rDNA dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 1.

Hasil elektroforesis pada amplifikasi 16S rDNA isolat SS5 menghasilkan *single band* dengan panjang berkisar 1500bp sesuai dengan perbandingan maker DNA yang digunakan. Hasil Skuensing 16S rDNA iso- lat bakteri SS5 dilihat pada urutan rantai basa sepanjang 1420bp dan 1418bp. Hasil skuensing DNA dengan Homologi Isolat SS5 dapat dilihat pada Tabel 4.

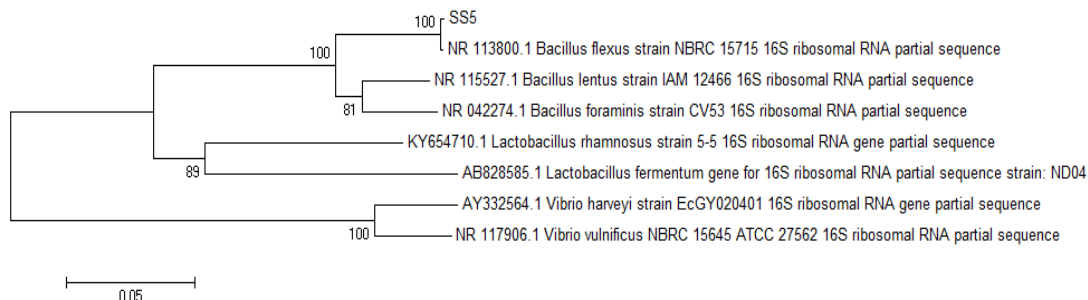
Tabel 3. Hasil Uji Biokimia

Pengujian	Kode Isolat Bakteri					
	SS.5	SS.6	SS.7	SS.8	SP.2	SP.3
Gram	+	+	-	-	-	-
Bentuk	basil	basil	cocus	basil	cocus	basil
Motilitas /SIM	-	-	-	-	-	+
Aerobik	-	-	-	-	-	-
An Aerobik	-	-	-	-	+	+
Uji KOH	+	+	+	+	-	-
Oksidase	-	+	-	-	+	+
Katalase	+	+	+	+	+	+
TSIA	K/A	K/A	K/A	K/A	K/K	A/K
Pepton	-	-	-	-	-	+
MR	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-
LIA	-	-	-	-	+	-
Hidrolisis Starch	+	+	+	+	+	+
Urease	-	-	-	-	-	+
Glukosa	-	-	-	-	+	+
Laktosa	-	-	-	-	-	-
Maltosa	-	-	-	-	+	+
Sukrosa	-	-	-	-	-	-
Citrat	-	-	-	-	-	+
Gelatin	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	+
MIO	-	-	-	+	-	-
	<i>Bacillus</i> sp	<i>Bacillus</i> sp	<i>Acinetobacter</i>	<i>Bordetella</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Vibrio</i> sp

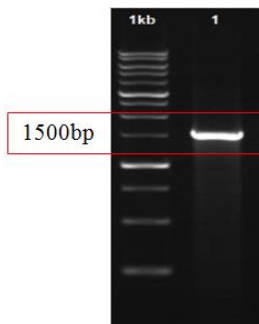
Keterangan: + (terjadi reaksi positif)
- (terjadi reaksi negatif)

Tabel 4. Homologi Isolat SS5 Penelusuran Sistem BLAST

Kode Iso- lat	Panjang Nukleotida	Kekerabatan Terdekat	Nomor Akses (BLAST) ncbi	Homologi %
SS5	1418bp	<i>Bacillus flexus</i>	NR_113800.1	99,93%



Gambar 2. Pohon Filogenetik



Gambar1. Hasil amplifikasi

Hasil pohon filogenetik dari isolat SS5 terdapat pada Gambar 2. Hasil homologi kekerabatan menunjukkan bahwa isolat SS5 memiliki kemiripan 99,93% dengan *Bacillus flexus*. Hasil skuensing DNA bakteri diketahui bahwa homologi SS5 sebesar 99,93%. Hal ini menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut memiliki kekerabatan dekat dengan spesies bakteri *B. flexus*. Sependapat dengan Da Silva *et al* (2013), tingkat kemiripan sekuens antara 93%-97% mewakili identitas pada tingkat genus, sedangkan kemiripan sekuens lebih dari 97% mewakili identitas untuk tingkat spesies.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka hasil yang dapat disimpulkan :

1. Didapatkan 11 isolat bakteri asal koleksi Subang dengan 2 kandidat bakteri aktif terhadap bakteri patogen yaitu SS5 dan SP3 terhadap *V.harveyi* dan *V. Parahaemolyticus*.
2. Identifikasi molekuler isolat bakteri kandidat probiotik koleksi Kabupaten Subang Jawa Barat, yaitu isolat bakteri dengan kode SS5 memiliki kemiripan 99,93% dengan *Bacillus flexus* pada nomor akses NR_113800.1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada seluruh pihak yang telah mendukung dan membantu sehingga penelitian ini dapat selesai dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Da Silva, M.A.,C.A.Cavalett,A.Spinner,D.C.Rosa, R.B. Jasper, M.C. Quecine, M.L.Bonatelli,A.G.Corção. and A.O.de Souza, Lima. 2013. *Phylogenetic identification of marine bacteria isolated from deep-sea sediments of the eastern South Atlantic Ocean*. Springer Plus 2(127):1-10.
- Huang, Z. X.Li, L.Wang, Z.Shao. 2014. *Changes in the intestinal bacterial community during the*

growth of white shrimp, Litopenaeus vannamei. J. Aquaculture Research.1–10.

- KKP. 2018. Udang vaname. <https://kkp.go.id/wp-content/uploads/2018/01/KKP-Dirjen-PDSPKP-FMB-Kominfo-19-Januari-2018.pdf>.
- Kosin, B. and Rakshit, S. K., 2006, Microbial and Processing Criteria for Production of Probiotics: A Review, Food Technology and Biotechnology, 44 (3) : 371–379.
- Oktavia, R. 2018. Uji Tantang Bakteri *Bacillus* Kandidat Probiotik Secara Invitro Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi*. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung Bandar Lampung.
- Rahmawan, Mohamad E., Suminto. Vivi Endar Herawati..2014. Penggunaan Bakteri Kandidat Probiotik pada Pakan Buatan Terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). Journal of Aquaculture Management and Technology .3(4);:257-264
- Rungrassamee,W.,Amornpan.K, Sawarot.M, Sage.C, Pikul.J, Nitsara.K.2014. Characterization of Intestinal Bacteria in Wild and Domesticated Adult Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*).J.Plos One.9(3):1-11
- Rusdani M,M., Sadikin A, Saptono W, Zaenal A. 2016. Pengaruh Pemberian Probiotik Bacillus Spp. Melalui Pakan Terhadap Kelangsungan Hidup dan Laju Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). Jurnal Biologi Tropis. 16 (1):34-40.
- Salminen, S., A. Ouwehand, Y. Benno, and Y.K. Lee. 1999. Probiotics: how should be defined?. Trends in food Science and Technology. 10: 107–110.
- Sarida, Munti dan Esti.H.2010. Screening of Potential Probiotic *Vibrio* sp. Against Vibriosis in the *Litopenaeus vannamei*. Biosfera 27 (2) :88-94.
- Seprianto.,Feliatra, T.T. Nugroho. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Usus Udang Windu (*Penaeus monodon*) Berdasarkan Sekuens Gen 16S rDNA. Biogenesis 5(2):83-92.
- Shewale, R.N., Pravin D.S, C.Dkhedkar, and Ajay.S. 2014. *Selection Criteria for Probiotics*. International Journal of Probiotics and Prebiotics 9 (1):1-6.
- Suciati, Pipin, Wahju.T, Endang D.M, dan Heru P. 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. (ISSN: 2085-5842)
- Suminto. 2008. Pertumbuhan Bakteri Probiotik *Alkaligenus* sp.dan *Flavobacterium* sp. Yang Diisolasi dari Usus Udang pada Media Kultur Molase dan Kaolin. Jurnal Saintek Perikanan 4(1) : 21 – 27.

- Tzuc, J.T., D.R. Escalante, R.R. Herrera, G.G. Cortés, and M.L.A. Ortiz. 2014. *Microbiota from Litopenaeus vannamei: digestive tract microbial community of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei)*. J. Springer Plus 3:2.
- Walsh, P.S., David, A.M., and Rusell. H. 2013. Chelex 100 as a Medium for Simple Extraction of DNA for PCR Based Typing from Forensic Material. Biotech, 54:3.