

IDENTIFIKASI, KARAKTERISASI DAN POTENSI PROBIOTIK BAKTERI DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN BANDENG (*Chanos chanos* Forsskal.)

Identification, characterization and bacterial probiotic potency from digestive tract of milkfish (Chanos chanos Forsskal.)

Ummul Firmani^{1*}, Andi Rahmad Rahim¹, Nur Maulida Safitri¹, Arning Wilujeng Ekawati², Rahmi Nurdiani², Happy Nursyam²

¹Program Studi Akuakultur, Fakultas Pertanian, Universitas Muhammadiyah Gresik Jl. Sumatra No.101, GKB, Randuagung, Gresik, Jawa Timur

²Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur

Email: ummul.firmani@umg.ac.id

Diserahkan tanggal 10 Oktober 2022, Diterima tanggal 16 Juli 2023

ABSTRAK

Saluran pencernaan ikan bandeng dihuni oleh beraneka ragam komunitas bakteri dengan karakteristik berbeda-beda. Bakteri tersebut memiliki kemampuan adaptasi dengan kondisi saluran pencernaan ikan bandeng serta menghasilkan enzim pencernaan yang bisa membantu proses pencernaan makanan dalam tubuh ikan. Identifikasi dan karakterisasi bakteri dari saluran pencernaan ikan bandeng penting untuk dilakukan dengan tujuan diantaranya untuk mendapatkan bakteri dengan kemampuan unggul dalam mengurai makanan ikan. Metode penelitian adalah eksperimental, sedangkan tahapan penelitian yaitu (1) isolasi dan pemurnian bakteri, (2) identifikasi secara molekuler dan karakterisasi koloni, sel serta biokimia, (3) uji potensi probiotik bakteri. Hasil penelitian menunjukkan ditemukan beberapa isolat bakteri, satu diantaranya telah diidentifikasi secara molekuler dengan 16s rRNA yaitu *Pseudomonas guezenei*. Karakteristik isolat B2.6 antara lain koloni berbentuk oval dengan pinggiran tidak rata/bergerigi dan diameter sekitar 2,06 cm, warna koloni krem dengan permukaan cembung dan konsistensi kering, bentuk sel batang, gram negatif, memiliki spora dan non-motil. Hasil uji biokimia isolat B2.6 bersifat positif pada produksi indol, katalase, xylosa, ONPG, gelatin, rhamnosa, arabinosa, hidrolisis pati dan kasein. Isolat B2.6 bersifat negatif pada uji oksidase, penggunaan karbon dari sitrat, manitol, urease, sitrat, TDA, malonat, inositol, sorbitol, sukrosa, laktosa, adonitol rafinosa, salisin, arginin, dan koagulase. Potensi probiotik *P. guezenei* antara lain bersifat amilolitik, mampu bekerja sinergis, bersifat non hemolitik, sensitif terhadap antibiotik jenis Ampicillin, Tetracycline dan Erythromycin, bersifat antagonistik terhadap patogen *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus*, serta mampu bertahan hidup pada pH asam 2, 3, dan 4.

Kata kunci: Amilolitik; Antagonistik; Bandeng; Probiotik; *Pseudomonas guezenei*

ABSTRACT

The digestive tract of milkfish is inhabited by various bacterial communities with different characteristics. These bacteria have the ability to adapt to the conditions of the milkfish digestive tract and produce digestive enzymes that can help the process of digesting food in the fish's body. Identification and characterization of bacteria from the digestive tract of milkfish is important to do with the aim of obtaining bacteria with superior ability to decompose fish food. The research method was experimental, while the research stages were (1) isolation and purification of bacteria, (2) molecular identification and colonization, cell and biochemical characterization, (3) testing the potential of probiotic bacteria. The results showed that several bacterial isolates were found, one of which was identified molecularly with 16s rRNA, namely *Pseudomonas guezenei*. Characteristics of B2.6 isolates were oval-shaped colonies with uneven/jagged edges and a diameter of about 2.06 cm, the color of the colonies was cream with a convex surface and dry consistency, rod cell shape, gram negative, had spores and was non-motile. The results of the biochemical test of isolate B2.6 were positive for the production of indole, catalase, xylose, ONPG, gelatin, rhamnose, arabinose, hydrolysis of starch and casein. Isolate B2.6 was negative in the oxidase test, using carbon from citrate, mannitol, urease, citrate, TDA, malonate, inositol, sorbitol, sucrose, lactose, adonitol raffinose, salicin, arginine, and coagulase. The potential probiotics of *P. guezenei* include being amylolytic, able to work synergistically, being non-hemolytic, sensitive to antibiotics of the Ampicillin, Tetracycline and Erythromycin types, being antagonistic to the pathogens *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio parahaemolyticus*, and being able to survive at acidic pH 2, 3, and 4.

Keywords: Amylolytic; Antagonistic; Milkfish; Probiotic; *Pseudomonas guezenei*

PENDAHULUAN

Mikroba yang mendiami saluran pencernaan ikan, komposisinya dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu faktor

internal dan eksternal. Athirah, *et al.* (2013) menyatakan bahwa produktivitas tambak bandeng dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain faktor internal yaitu kualitas benih dan kesehatan ikan serta faktor eksternal yaitu kualitas air dan

makanan. Kualitas perairan dan makanan ikan berpengaruh secara langsung terhadap pertumbuhan dan kesehatan ikan. Perairan dan pakan yang sesuai bagi ikan akan mampu mendukung pertumbuhan dan kesehatan yang optimal.

Mikroba memiliki peran esensial didalam ekosistem perairan maupun saluran pencernaan ikan. Mikroba memiliki peran utama dalam perombakan pakan/nutrien. Bakteri dalam saluran pencernaan ikan mampu memproduksi enzim ekstraseluler seperti proteolitik, amilolitik, selulolitik, lipolitik dan kitinolitik (Bairagi, *et al.* 2002; Ray, *et al.* 2012). Diperairan, mikroba berperan dalam perombakan bahan organik, siklus unsur hara dan gas beracun. Selain mikroba menguntungkan tersebut, terdapat juga mikroba patogen yang mengganggu kesehatan ikan. Peran mikroba berkaitan baik secara langsung maupun tidak langsung terhadap pertumbuhan dan kesehatan ikan.

Probiotik merupakan kultur bakteri hidup yang saat ini banyak dimanfaatkan dalam kegiatan budidaya ikan untuk membantu berbagai proses biologis yang menguntungkan. Peran probiotik dalam budidaya ikan antara lain membantu proses pencernaan makanan ikan, menguraikan bahan organik sisa feses maupun zat terlarut dalam air, serta menurunkan kadar gas beracun dalam air melalui siklus unsur hara. Selain peran tersebut, beberapa jenis mikroba juga memiliki peran menyerap dan mengakumulasi logam berat sehingga dapat mengatasi pencemaran lingkungan dan meningkatkan status kesehatan organisme akuatik. Merrifield, *et al.* (2010) menyatakan bahwa bakteri yang akan dijadikan sebagai probiotik harus memiliki beberapa kemampuan yaitu bersifat sinergis dengan bakteri menguntungkan lainnya, non hemolitik, tahan terhadap pH rendah, antagonistik terhadap patogen, memiliki spora serta menghasilkan enzim pengurai.

Eksplorasi bakteri kandidat probiotik dapat dilakukan dari saluran pencernaan ikan maupun habitat perairan dan tanah. Bakteri kandidat probiotik terbaik yang bisa dimanfaatkan untuk kegiatan budidaya ikan adalah bakteri indigenous saluran pencernaan ikan maupun air dan tanah tempat ikan dibudidayakan. Dalam penelitian ini, ingin dilakukan eksplorasi, identifikasi, dan uji potensi probiotik bakteri dari saluran pencernaan ikan bandeng yang dibudidayakan di tambak Kecamatan Ujungpangkah, Gresik.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli – Desember 2019. Pengambilan sampel ikan bandeng di tambak Kecamatan Ujung Pangkah Kabupaten Gresik. Isolasi bakteri, pemurnian, karakterisasi, identifikasi dan uji probiotik di Laboratorium Dinas Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi, LSIH Universitas Brawijaya Malang.

Pengambilan dan Penanganan Sampel Ikan

Sampel Ikan Bandeng diambil dari tambak air tawar Kecamatan Ujung Pangkah Gresik sebanyak 6 ekor dengan metode *random sampling*. Ikan dibawa ke Laboratorium menggunakan kantong plastik yang berisi air dan oksigen dengan perbandingan air:oksigen sebanyak 1:3 dalam kondisi hidup.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode pengenceran berseri menggunakan larutan Natrium Fisiologis 0,9% dan dilanjutkan penanaman di media Nutrien agar metode sebar (*Spread plate*). Setelah koloni tumbuh, setiap koloni ditumbuhkan lagi di media Nutrien agar miring dalam tabung reaksi.

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dilakukan untuk mengamati karakteristik koloni, sel dan biokimia bakteri. Karakteristik koloni meliputi bentuk, ukuran, warna, tepian, permukaan, dan konsistensi. Karakteristik sel meliputi bentuk, sifat gram, motilitas, dan keberadaan spora. Karakteristik biokimia meliputi katalase, oksidase, dan gula-gula. Pengujian karakteristik koloni bakteri dilakukan dengan pengamatan terhadap koloni yang tumbuh di media agar. Pengujian karakteristik sel bakteri dilakukan dengan membuat preparat sediaan bakteri, pewarnaan gram dan spora. Karakteristik biokimia bakteri dengan menggunakan *Microbact identification kit 12A/B*.

Uji Potensi Probiotik Bakteri

Uji potensi probiotik dilakukan untuk menguji kemampuan menghasilkan enzim, aktivitas hemolitik, antagonistik, ketahanan terhadap pH asam, pembentukan biofilm, dan sensitifitas antibiotik. Uji aktivitas enzimatis bakteri dilakukan dengan menggunakan media pertumbuhan spesifik yaitu *Carboxymethyl cellulose* agar (CMC agar), *Starch* agar, *Skim milk* agar, Tween-80 dan Pepton bacto agar. CMC agar digunakan untuk menguji kemampuan bakteri selulolitik, *Starch* agar untuk menguji kemampuan amilolitik, *Skim milk* agar (SMA) untuk menguji kemampuan proteolitik dan Tween-80 untuk menguji kemampuan lipolitik. Metode uji aktivitas enzimatis yang digunakan berdasarkan Theater dan Wood (1982). Uji hemolitik menggunakan metode Argyri *et al.* (2015) dengan menggunakan media *Blood* agar.

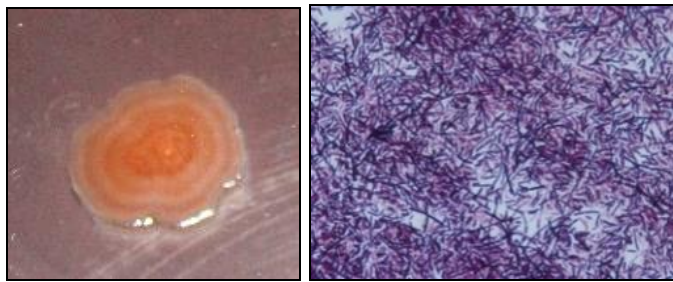
Uji aktivitas antagonistik dilakukan dengan tujuan mengetahui kemampuan bakteri kandidat probiotik melawan bakteri patogen. Bakteri patogen yang digunakan pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophyla* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Metode yang digunakan mengacu pada dengan menggunakan paper disk. Uji ketahanan bakteri terhadap pH rendah dilakukan dengan tujuan mengetahui viabilitas bakteri ketika ditumbuhkan pada media cair dengan pH asam dengan metode mengacu pada Thankappan *et al.* (2015). Uji pembentukan biofilm oleh bakteri probiotik dilakukan dengan mengacu pada metode Ramesh *et al.* (2015) menggunakan *Congo red* agar. Uji sensitifitas bakteri terhadap antibiotik berdasarkan metode Thankappan *et al.* (2015) dengan menggunakan paper disk. Antibiotik yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ampicillin*, *Tetracycline*, dan *Erythromycin* dengan dosis 10mg.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Koloni, Sel dan Biokimia Bakteri

Hasil uji karakterisasi koloni, sel serta biokimia isolat B2.6 disajikan dalam Gambar 1 dan Tabel 1. Karakteristik isolat B2.6 antara lain koloni berbentuk oval dengan pinggiran

tidak rata/bergerigi dan diameter sekitar 2,06 cm, warna koloni krem dengan permukaan cembung dan konsistensi kering, bentuk sel batang, gram negatif, memiliki spora dan non-motil. Hasil uji biokimia isolat B2.6 bersifat positif pada produksi indol, katalase, xylosa, ONPG, gelatin, rhamnosa, arabinosa, hidrolisis pati dan kasein. Isolat B2.6 bersifat negatif pada uji oksidase, penggunaan karbon dari sitrat, manitol, urease, sitrat, TDA, malonat, inositol, sorbitol, sukrosa, laktosa, adonitol rafinosa, salisin, arginin, dan koagulase. Uji Indol dikatakan positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada medium yang menunjukkan bakteri memiliki enzim triptonase yang dapat menghidrolisis asam amino jenis triptofan yang memiliki gugus samping indol sehingga indol akan bereaksi dengan reagen uji dan membentuk indol yang berwarna merah (Ferdiaz, 1992).



Gambar 1. Bentuk Koloni dan Sel Isolat B2.6

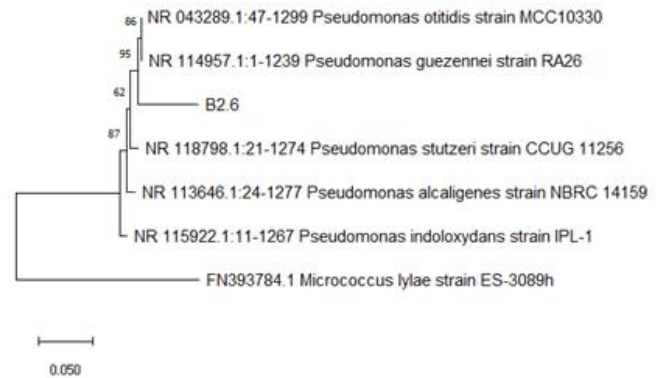
Tabel 1. Karakteristik Koloni, Sel dan Biokimia Isolat B2.6

Koloni dan sel	B2.6	Uji Biokimia	B2.6
Warna	Orange	Oksidase	-
Bentuk	Bundar	Katalase	+
Diameter (mm)	± 40	Produksi indol	+
Tepian	Bergerigi	Penggunaan karbon dari sitrat	-
Elevasi	Datar	Uji TSIA	As/As, G-H ₂ S-
Konsistensi	Kering dan mengkilap	VP	+
Bentuk sel	Basil	Manitol	-
Spora	+	Xylosa	+
Motilitas	Non motil	ONPG	+
Pewarnaan Gram	Gram positif	Urease	-
		TDA	-
		Gelatin	+
		Malonat	-
		Inositol	-
		Sorbitol	-
		Rhamnosa	+
		Sukrosa	-
		Laktosa	-
		Arabinosa	+
		Adonitol	-
		Raffinosa	-
		Salicin	-
		Arginin	-
		Koagulase	-
		Uji sensitive	No.
		Novobiosin	-
		Hidrolisis	+

pati	+
Hidrolisis kasein	-

Identifikasi Molekuler

Hasil uji identifikasi isolat bakteri B2.6 secara molekuler dengan teknik PCR dan gen 16S rRNA disejajarkan dengan basa nukleotida spesies lain di NCBI dengan metode blast nukleotida. Hasil penjejarian menunjukkan isolat B2.6 memiliki kemiripan dengan *Pseudomonas guezzennei* strain RA26 sebesar 93,22%. Beberapa spesies yang memiliki kemiripan dengan isolat B2.6 dianalisis lagi menggunakan software MEGA X dan dihasilkan pohon filogenetik yang ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Pohon Filogenetik Isolat B2.6

Isolat B2.6 pada pohon filogenetik memiliki kekerabatan yang dekat dengan *Pseudomonas guezzennei* strain RA26 dengan nilai bootstrap 95 dan panjang pita DNA total 1.379 bp. Outgrup bakteri pada pohon filogenetik isolat B2.6 adalah *Micrococcus lylae* strain ES-3089h. *Pseudomonas guezzennei* pertama kali ditemukan sebagai spesies baru pada tahun 2008 oleh Jean Guezennec yang diambil dari “Kopara” di Atol Rangiroa, Polinesia Perancis (Colin, et al. 2008). Karakteristik *P. guezzennei* adalah bentuk sel batang pendek dengan ukuran sekitar 0,6-2,2 µm, bersifat Gram negatif, motil, koloni pada media agar laut adalah bundar, permukaan cembung dan halus, aerobik, katalase dan oksidase positif (Colin, et al. 2008).

Aktivitas Enzimatik

Aktivitas enzimatik bakteri dilakukan dengan pengamatan terhadap aktivitas amilolitik, selulolitik, proteolitik dan lipolitik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri hanya mampu menghasilkan zona bening/zona hambat pada media starch agar dan CMC agar. Kemampuan bakteri menghasilkan zona hambat pada media tersebut menunjukkan bakteri mampu menghasilkan enzim amilase dan selulase. Indeks amilolitik dan selulolitik ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Indeks Amilolitik dan Selulolitik Isolat B2.6

Isolat	B2.6
Diameter zona bening (mm)	5,24
	3,33
	13,49
	14,28
Diameter koloni (mm)	31,90
	28,89

Isolat		B2.6
		14,00
		15,42
Amilolitik	Indeks	5,09
	Rata-rata±SD	7,68
Selulolitik	Indeks	6,38 ± 1,83
	Rata-rata±SD	0,04
	Indeks	0,08
	Rata-rata±SD	0,06 ± 0,03

Menurut Choi *et al.* (2005) indeks amilolitik isolat B2.6 termasuk kategori tinggi (≥ 2) yaitu rata-rata $6,38 \pm 1,83$. Indeks selulolitik isolat B2.6 pada kategori rendah (≤ 1) yaitu sebesar $0,06 \pm 0,03$.

Aktivitas Hemolitik

Hasil penelitian pada Gambar 3 menunjukkan terjadi perubahan warna *Blood* agar disekitar koloni isolat B2.6 menjadi sedikit kehijauan. Perubahan warna menjadi sedikit kehijauan menunjukkan isolat bersifat alfa hemolisis yaitu terjadi hemolisis pada sebagian sel darah. Hemolisin merupakan faktor virulen yang seringkali menjadi penyebab anemia dan edema bagi inang, sehingga strain bakteri yang bersifat hemolitik tidak dianjurkan untuk digunakan dalam pakan (Ouwehand, *et al.* 2005). Bakteri yang tidak memiliki sifat hemolisis dapat digunakan sebagai kandidat probiotik karena tidak membahayakan kehidupan ikan yang dibudidaya.



Gambar 3. Aktivitas Hemolitik Isolat B2.6

Aktivitas antagonistik

Hasil uji antagonistik hasil penelitian antara isolat B2.6 dengan *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus* ditunjukkan dalam Gambar 4 dan Tabel 3 dibawah. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat pada uji antagonistik isolat B2.6 dengan *A. hydrophila* sebesar $1,8 \text{ cm} \pm 0,2$. Hasil uji antagonistik isolat B2.6 dengan *V. parahaemolyticus* menghasilkan diameter zona hambat sebesar $2,1 \text{ cm} \pm 0,1$.

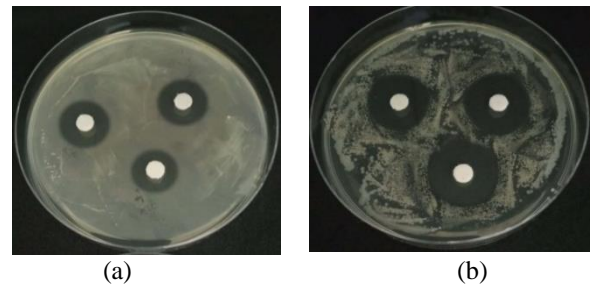
Beberapa faktor yang mempengaruhi besar kecilnya aktivitas penghambatan zat antibakteri antara lain: 1) jenis, umur dari bakteri penghasil bakteriosin dan bakteri uji; 2) konsentrasi zat antimikroba dan jumlah inokulum atau kepadatan bakteri uji; 3) resistensi dari bakteri terhadap substansi zat antimikroba terkait dengan perbedaan dinding sel dari bakteri uji; dan 4) kadar substansi aktif atau gugus fungsi dari substansi senyawa antimikroba (Noaman, *et al.*, 2014). Ayivi *et al.*, (2020) menambahkan bahwa aktivitas

metabolisme atau fermentasi mikroba yang menghasilkan produk akhir berupa alkohol dan asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan asam propionate juga mempengaruhi besarnya zona hambat yang dihasilkan bakteri (Ayivi *et al.*, 2020).

Tabel 3. Diameter Zona Hambat (cm) Uji Antagonistik Isolat B2.6 dengan *A. hydrophila* dan *V. parahaemolyticus*

Patogen	Ulangan	Diameter zona hambat (cm)
<i>A. hydrophila</i>	1	1,7
	2	2
	3	1,7
	Rata-rata±SD	$1,8 \pm 0,2$
<i>V. parahaemolyticus</i>	1	2
	2	2,2
	3	2,1
	Rata-rata±SD	$2,1 \pm 0,1$

Kekuatan aktivitas antimikroba isolat B2.6 terhadap *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus* termasuk dalam kategori tinggi. Ini berdasarkan pengkategorian yang dilakukan oleh Conner dan Beuchat (1984) yang menyatakan bahwa diameter zona hambat uji antagonistik > 1 menunjukkan daya hambat yang tinggi.



Ketahanan pada pH Asam

Hasil penelitian uji ketahanan (*Survival rate*) isolat bakteri B2.6 terhadap media dengan pH asam yaitu 2, 3 dan 4 ditunjukkan dalam Tabel 4. Isolat bakteri B2.6 yang ditumbuhkan pada pH 2, 3, dan 4 menghasilkan *survival rate* berturut-turut sebesar $58,17 \pm 2,55$; $85,99 \pm 0,71$; dan $92,67 \pm 0,80$. Hasil uji ketahanan solat B2.6 pada pH asam 2, 3, dan 4 menunjukkan bakteri masih memiliki daya hidup $> 50\%$.

Tabel 4. *Survival rate* Rata-rata (%) Isolat B2.6 pada pH 2, 3, dan 4.

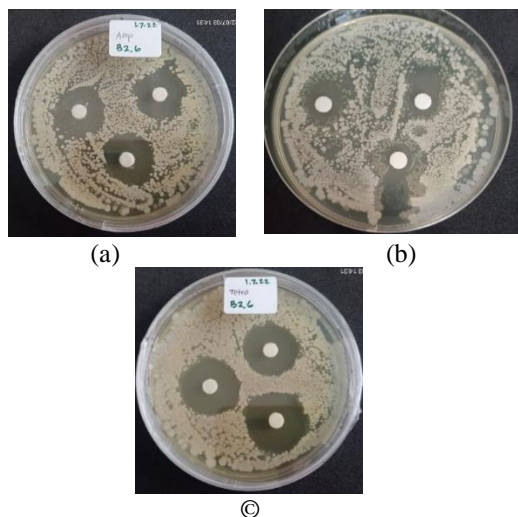
pH	Rata-rata SR (%)±SD
2	$58,17 \pm 2,55^c$
3	$85,99 \pm 0,71^b$
4	$92,67 \pm 0,80^a$

Ketahanan bakteri terhadap pH asam dibutuhkan pada saat bakteri melewati lambung dimana kondisi pH nya cenderung asam. Kemampuan bakteri untuk bertahan hidup

pada pH asam diantaranya disebabkan adanya spora yang merupakan komponen regeneratif sel. Pada kondisi lingkungan ekstrim bakteri mungkin saja mengalami lisis sel dan kematian, tetapi spora masih bertahan (tidak rusak). Ketika kondisi lingkungan sudah memungkinkan spora untuk berkembang biak, maka bisa menghasilkan individu baru yang hidup dan tumbuh. Bakteri yang memiliki spora bisa bertahan hidup didalam saluran pencernaan ikan dengan pH rendah (Bader *et al.*, 2012).

Aktivitas Antibiotik

Hasil uji aktivitas antibiotik isolat B2.6 terhadap antibiotik *Ampicillin*, *Erythromycin*, dan *Tetracyclin* menggunakan metode difusi agar dan paper disk terdapat dalam Gambar 5. Hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat *P. guezenei* B2.6 sensitif terhadap ketiga antibiotik tersebut. Sensitifitas bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening/zona hambat disekitar paper disk yang mengandung antibiotik. Bakteri *P. guezenei* B2.6 tidak mampu tumbuh pada area yang mengandung antibiotik karena antibiotik berdifusi kedalam media agar.



Gambar 5. Uji Sensitifitas Isolat B2.6 terhadap Antibiotik (a) *Ampicillin*; (b) *Erythromycin*; (c) *Tetracyclin*

Hasil pengukuran diameter rata-rata zona hambat antibiotik *Ampicillin*, *Erythromycin* dan *Tetracycline* terhadap isolat B2.6 berturut-turut sebesar $2,30\text{cm} \pm 0,00$; $1,43\text{cm} \pm 0,08$ dan $2,48\text{cm} \pm 0,08$. Besarnya diameter zona hambat antibiotik terhadap bakteri dikategorikan menjadi 3 yaitu *susceptible* ($S \geq 21$ mm), *intermediate* (I antara 16-20 mm) dan *resistance* ($R \leq 15$ mm) (Vlkov'a *et al.*, 2006). Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa isolat B2.6 bersifat sensitif terhadap *Ampicillin* dan *Tetracycline*.

Pembentukan Biofilm

Biofilm merupakan komunitas sel-sel mikroorganisme yang melekat pada permukaan dan tertanam dalam matriks ekopolisakarida (Garret *et al.*, 2008). Bakteri yang mampu membentuk biofilm memiliki beberapa keuntungan yaitu terlindungi dari organisme pengganggu, tekanan dari luar serta lebih tahan terhadap dehidrasi antara fase gas dan cair (Banerjee *et al.*, 2015). Hasil uji pembentukan biofilm isolat B2.6 ditunjukkan pada Gambar 6. Koloni berwarna merah yang tumbuh pada media agar yang mengandung $0,8$ g/L *Congo red* menunjukkan bakteri tidak memiliki kemampuan membentuk

biofilm. Bakteri yang mampu membentuk biofilm akan tumbuh menjadi koloni berwarna hitam dengan konsistensi kristal kering (Fabres-Klein *et al.*, 2015).



Gambar 6. Uji Kemampuan Membentuk Biofilm Isolat B2.6 Menggunakan $0,8$ g/L *Congo Red* Agar

KESIMPULAN

Keunggulan kandidat probiotik *P. guezenei* antara lain bersifat amilolitik, mampu bekerja sinergis, bersifat non hemolitik, sensitif terhadap antibiotik jenis *Ampicillin*, *Tetracycline* dan *Erythromycin*, bersifat antagonistik terhadap patogen *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio parahaemolyticus*, serta mampu bertahan hidup pada pH asam 2, 3, dan 4.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas beasiswa dari Kemdikbud RI yang membiayai penuh penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu dalam penyelesaian penelitian termasuk Laboran Laboratorium Mikrobiologi LSIH UB.

DAFTAR PUSTAKA

- Argyri, A.A., A. Mallouchos, E. Z. Panagou, and G.-J. E. Nychas. 2015. The dynamics of the HS/SPME-GC/MS as a tool to assess the spoilage of minced beef stored under different packaging and temperature conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 193: 51–58
- Ayivi, R. D., R. Gyawali, A. Krastanov, S.O. Aljaloud, M. Worku, R. Tahergorabi and S.A. Ibrahim. 2020. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications. *Dairy.* 1(3): 202-232
- Bader, J., A. Albin, and U. Stahl. 2012. Spore-forming bacteria and their utilisation as probiotics. *Beneficial Microbes.* 3(1): 67–75
- Bairagi, A., Ghosh, K., Sen, S.K. and Ray, A.K. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10: 109-121
- Bairagi, A., K. Ghosh, S.K. Sen, and A.K. Ray. 2002. Enzyme producing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquacult. Int.* 10:109–121.
- Banerjee, G., S.K. Dan, A. Nandi, P. Ghosh, and A.K. Ray. 2015. Autochthonous gut bacteria in two Indian air-breathing fish, climbing perch (*Anabas testudineus*) and

- walking catfish (*Clarias batrachus*): mode of association, identification, and enzyme producing ability. *Polish Journal of Microbiology*, 64, 361–368
- Colin, E., D. Zala, G. Liot, H. Rangone, M. Borrell-Pagès, X.J. Li, F. Saudou, and S. Humbert. 2008. Huntingtin phosphorylation acts as a molecular switch for anterograde/retrograde transport in neurons. *The EMBO journal*. 27(15): 2124–2134.
- Conner, D.E., R. Beuchet., R.E. Worthington, and H.L. Hitchcock. 1984. Effects of essential oils and oleoresins of plants on ethanol production, respiration and sporulation of yeasts. *Internasional Journal of Food Microbiology*. 1(2): 63-74
- Fabres-Klein, M. H., M.J. Caizer Santos, R. Contelli Klein, G. Nunes de Souza, and A. de Oliveira Barros Ribon. 2015. An association between milk and slime increases biofilm production by bovine *Staphylococcus aureus*. *BMC veterinary research*. 11(1): 1-8
- Ferdiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Garrett T. R., M. Bhakoo, Z. Zhang Z. 2008. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Prog. Nat. Sci.* 18 1049–1056.
- Merrifield, D.L. and E. Ringø. 2014. *Aquaculture nutrition: Gut health, probiotics and prebiotics*. Willey Blackwell. 488p.
- Noaman, N. H., A. Fattah., M. Khaleata., and S. H. Zaky. (2004). Factor Affecting Antimicrob Activity of *Synechococcus leopoliensis*. *Journal Microbiol Res.*
- Ouwehand A.C., P.V. Kirjavainen, C. Shortt and S. Salminen. 1999. Probiotics: mechanisms and established effects. *Int Dairy J* 9:43–52
- Ramesh, D., A. Vinothkanna, A.K. Rai and D.V. Subramanian. 2015. Isolation of potential probiotic *Bacillus* spp. and assessment of their subcellular components to induce immune responses in *Labeorohita* against *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shellfish Immunol.* 45:268–276
- Ray, A.K., K. Ghosh and E. Ringø. 2012. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: a review. *Aquacult. Nutr.* 18:465–492
- Teather, R.M. and P.J. Wood. 1982. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology* 43:777–780.
- Thankappan, B., D. Ramesh, S. Ramkumar, K. Natarajaseenivasan and K. Anbarasu. 2015. Characterization of *Bacillus* spp. from the gastrointestinal tract of *Labeo rohita*—towards to identify novel probiotics against fish pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 175:340–353
- Vlkov'a, E., Rada, V., Popel'a'rov'a, P., Trojanov'a, I., and Killer, J. 2006. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria isolated from gastrointestinal tract of calves. *Livestock Science*, 105(1-3): 253–259