

Isolasi dan karakterisasi bakteri berpotensi probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.)

Isolation and characterization of potential probiotics bacteria in mackerel fish (Rastrelliger sp.)

Yuni Dewi Safrida, Cut Yulvizar*, Cut Nanda Devira

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111; Email Korespondensi : yunda_mnz@yahoo.com

Abstract. Probiotics bacteria are beneficial microbes to improve microbial balance in the digestive tract. The objective of the research was to isolate and characterize of potential probiotic bacteria in mackerel fish (*Rastrelliger* sp.). The research was done from April to August 2012 at Laboratory of Microbiology Syiah Kuala University, Banda Aceh. Isolation and characterization used dilution and scratches quadrant methods. The result showed that there were five potential isolates of probiotic bacteria varied morphological colony and cell. The isolate have circular form (100%), entire margin (80%), flat (60%), cream color (40%), gram positive bacteria (80%), coccus shape (100%) and non motile (60%).

Keywords: Probiotics, *Rastrelliger* sp., isolation, digestive and characterization

Abstrak. Bakteri probiotik merupakan mikroba menguntungkan yang bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri yang berpotensi sebagai probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.). Penelitian karakterisasi bakteri probiotik pada ikan kembung dilakukan dari bulan April sampai Agustus 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Isolasi dan karakterisasi menggunakan seri pengenceran dan metode cawan kuadran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat lima isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik dengan morfologi koloni dan sel yang berbeda. Isolat yang memiliki bentuk bundar (100%), licin (80%), timbul (60%), warna krem (40%), gram positif (80%), sel bulat (100%) dan non motil (60%).

Kata kunci: Probiotik, *Rastrelliger* sp., isolasi, saluran pencernaan dan karakterisasi

Pendahuluan

Ikan kembung merupakan salah satu jenis ikan laut yang mudah didapatkan dan banyak dikonsumsi masyarakat karena memiliki harga yang relatif murah (Santoso *et al.*, 1997). Kandungan protein pada daging ikan kembung tinggi (18,5%), sedangkan kandungan lemaknya jauh lebih rendah (2,1%) (Zamroni *et al.*, 2008). Bakteri pada ikan dapat dijumpai pada permukaan tubuh eksternal dan saluran pencernaan. Sebagian bakteri bersifat patogen, sedangkan sejumlah lainnya menguntungkan bagi ikan karena membantu pencernaan, sintesa vitamin-vitamin serta mendekomposisi materi organik di perairan (Irianto, 2005). Probiotik adalah mikroba hidup yang menguntungkan pada makhluk hidup, bermanfaat untuk memperbaiki keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan (Afrianto dan Liviawaty, 2005) dan memberikan pengaruh positif terhadap fisiologi dan kesehatan inangnya. Senyawa-senyawa racun yang dihasilkan pada metabolisme bakteri probiotik seperti asam laktat, hidrogen peroksida, bakteriosin yang bersifat antimikroba dan antibiotik mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Yulinery *et al.*, 2006). Prinsip dasar kerja probiotik adalah dengan memanfaatkan kemampuan mikroba untuk mempermudah penyerapan oleh saluran pencernaan ikan (Feliatra *et al.*, 2004). Salah satu karakteristik bakteri probiotik lainnya yaitu memiliki kemampuan tahan terhadap asam (Kanmani *et al.*, 2010). Menurut Feliatra *et al.*, 2004 bahwa pada ikan kerapu macan ditemukan bakteri potensial probiotik memiliki morfologi sel dan koloni yang berbeda-beda.

Namun hingga saat ini perkembangan bakteri probiotik dalam dunia perikanan masih sebatas mengisolasi, mengkarakterisasi, mempurifikasi dan memperbanyak isolat. Berdasarkan pertimbangan tersebut, maka perlu dikembangkan bakteri probiotik untuk perikanan sebagai pengembangan pakan ikan. Bakteri probiotik ini diharapkan akan dapat membantu proses pencernaan pakan sehingga akan meningkatkan efisiensi pakan. Mengingat informasi mengenai karakterisasi morfologi dari bakteri yang berpotensi sebagai probiotik pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) masih belum ada, maka perlu dilakukan isolasi bakteri probiotik yang terdapat pada lambung dan usus dengan tujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri yang berpotensi sebagai probiotik.

Bahan dan Metode

Bahan dan alat

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kembung segar, media TSA (*Tryptone Soya Agar*), media SIM (*Sulfid Indol Motility*), bahan untuk uji pewarnaan Gram (kristal violet, lugol iodine, safranin, alkohol 95% dan akuades), NaCl, kapas, inkubator, autoklaf, erlenmeyer, *hotplate*, aluminium foil, lampu bunsen, cawan petri, timbangan digital, mortar porselen, gelas ukur, tabung reaksi, pipet tetes, mikroskop, kaca objek, jarum ose, kamera digital dan alat tulis.

Metode

Sterilisasi alat dan bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan disterilkan dengan autoklaf pada temperatur 121°C pada tekanan uap 15 lb/in² selama 15 menit (Marlina, 2008).

Pengambilan sampel dan isolasi bakteri

Bakteri probiotik diisolasi pada organ pencernaan yaitu lambung dan usus ikan kembung segar sebanyak 1 g sampel. Ikan dibedah untuk diambil bagian lambung dan usus, lalu dimasukkan ke dalam larutan fisiologis NaCl 0,9% pada pH 2 (Feliatra *et al.*, 2004). Selanjutnya, lambung dan usus dihancurkan atau dihaluskan dengan menggunakan mortar porselen.

Sampel yang telah dihaluskan, kemudian dilakukan seri pengenceran. Metode seri pengenceran yang dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 g sampel, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades sehingga didapat pengenceran 10⁻¹, untuk mendapatkan pengenceran 10⁻² dilakukan dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10⁻¹ dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml akuades, demikian seterusnya dilakukan seri pengenceran hingga 10⁻⁵. Pengenceran 10⁻⁴ dan 10⁻⁵ diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media TSA dan diratakan, kemudian diinkubasi dengan posisi cawan terbalik selama 24-48 jam pada temperatur 30°C (Darmayasa, 2008).

Karakterisasi bakteri

Setelah inkubasi selama 48 jam, dilakukan isolasi bakteri dengan metode goresan kuadran beberapa tahap hingga diperoleh 1 isolat yang murni. Isolat-isolat yang diperoleh kemudian diamati morfologi. Pengamatan pada morfologi koloni meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni, sedangkan pengamatan morfologi sel meliputi uji pewarnaan Gram, bentuk sel dan uji motilitas.

Morfologi koloni

Pengamatan morfologi koloni dilakukan setelah mendapatkan biakan murni. Pengamatan ini meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni bakteri (Hadioetomo, 1993).

Morfologi sel

Gram Staining

Kaca objek dibersihkan dengan alkohol dan dilewatkan beberapa kali pada nyala api bunsen, kemudian diambil isolat bakteri dengan jarum ose secara aseptik dan dioleskan pada kaca objek. Isolat bakteri kemudian ditetesi ungu violet dan dibiarkan selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi lagi dengan larutan iodine dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dianginkan hingga kering. Selanjutnya isolat bakteri ditetesi alkohol 95% selama 30 detik, kemudian dialiri air dan dianginkan hingga kering. Isolat bakteri kemudian ditetesi safranin selama 30 detik dan dicuci dengan air mengalir, dikeringkan dengan kertas penghisap dan dikering anginkan, kemudian dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Bakteri gram positif ditandai dengan warna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu mengikat warna kristal violet, sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah muda yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet dan hanya terwarnai oleh safranin (pewarna tandingan) (Hadioetomo, 1993).

Bentuk sel

Bakteri yang tumbuh kemudian diamati bentuk selnya secara mikroskopik pada kaca preparat sehingga dapat diketahui bentuknya (kokus, batang atau spiral).

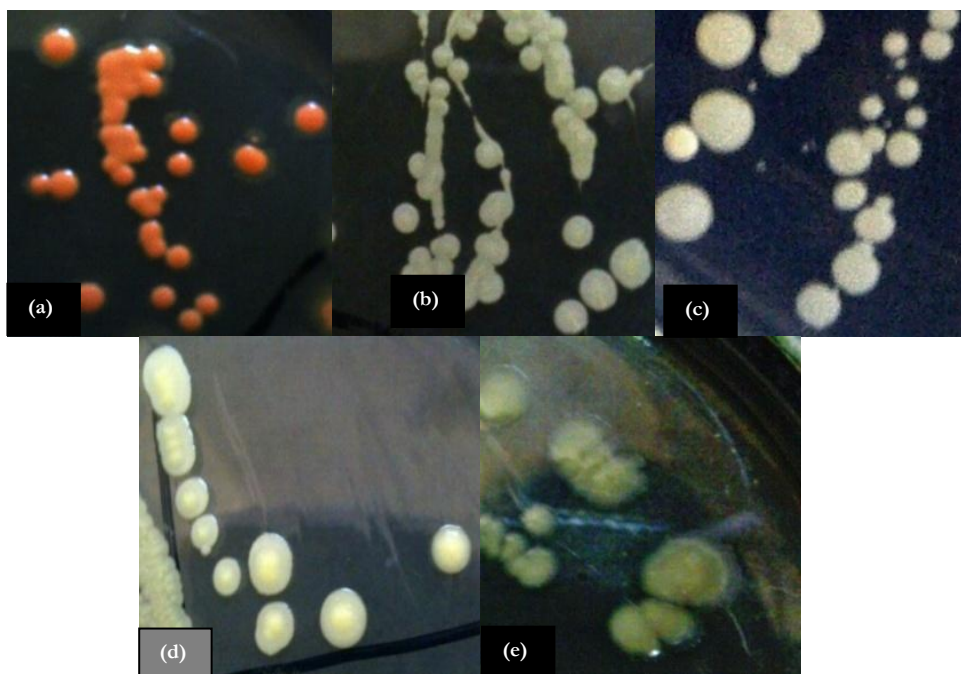
Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sebanyak lima isolat yang berpotensi sebagai bakteri probiotik telah diisolasi dari lambung dan usus ikan kembung (*Rastrelliger sp.*) pada media kultur TSA dengan pH 2, yang merupakan indikator utama bakteri probiotik. Isolat tersebut memiliki morfologi koloni dan sel yang berbeda.

Morfologi koloni yang diamati pada isolat bakteri meliputi bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni (Gambar 1). Keseluruhan morfologi koloni dari bakteri yang berpotensi sebagai probiotik memiliki bentuk koloni yang sama yaitu bundar (100%), bentuk tepian yang licin (80%) dan berombak (20%), bentuk elevasinya timbul (60%) dan cembung (40%) dan memiliki warna koloni bakteri yaitu kemerahan, krem, putih susu dan kuning. Morfologi koloni dapat dilihat pada Tabel 1. Menurut Hidayat *et al.*, 2006 bahwa bentuk koloni dari suatu bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Variasi bentuk bakteri yang terjadi juga dipengaruhi oleh lingkungan (faktor biotik dan abiotik), faktor makanan (medium tumbuh) dan suhu (minimum, optimum dan maksimum) (Ilyas, 2001). Warna koloni yang tampak berbeda-beda menunjukkan adanya perbedaan pigmen. Menurut Savitri, 2006 bahwa pigmen yang terdapat pada bakteri diantaranya adalah pigmen karotenoid, antosianin, melanin, *Tripirilmethene* dan *Phenazjin*. Masing-masing dari pigmen tersebut akan memberikan warna yang berbeda-beda. Warna merah dan kuning pada isolat disebabkan adanya karotenoid. Melanin memberikan warna coklat, hitam dan jingga. *Tripirilmethenes* adalah pigmen yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* dan *phenazjin* memberikan warna jingga kuning, jingga tua dan merah jingga (Savitri, 2006).

Isolat LUI-01, LUI-02, LUI-03 dan LUI-04 bersifat gram positif (80%) dan LUI-05 bersifat gram negatif (20%). Bakteri gram positif terlihat berwarna ungu karena asam-asam ribonukleat pada sitoplasma sel-sel gram positif membentuk ikatan yang lebih kuat dengan kompleks ungu kristal violet sehingga ikatan kimiawi tersebut tidak mudah dipecahkan oleh pemucat warna (Hadioetomo, 1993). Reaksi tersebut didasarkan atas perbedaan komposisi kimiawi dinding sel. Sel gram

positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal (Sunatmo, 2007). Bakteri gram negatif terlihat berwarna merah muda. Bakteri gram negatif mengandung lipid dan lemak dalam persentase yang lebih tinggi daripada bakteri gram positif (Sudarsono, 2008), selain itu bakteri gram negatif juga memiliki peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007). Keseluruhan bentuk sel bakteri yang didapatkan dari lima isolat pada penelitian ini adalah berbentuk bulat (100%). Bentuk-bentuk sel merupakan cara untuk melihat karakteristik dari suatu bakteri yaitu berbentuk bulat, batang dan koma (James *et al.*, 2008). Morfologi sel yang diamati pada isolat bakteri meliputi pewarnaan Gram, bentuk sel dan motilitas. Karakteristik dari morfologi sel bakteri dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Isolat yang berhasil diisolasi dan berpotensi sebagai probiotik. (a) Isolat LUI-01; (b) Isolat LUI-02; (c) Isolat LUI-03; (d) Isolat LUI-04; (e) Isolat LUI-05

Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni

Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Warna	Pewarnaan		Uji motilitas
					Gram	Bentuk sel	
LUI-01	Bundar	Licin	Cembung	Kemerahan	Positif	Bulat	Non motil
LUI-02	Bundar	Licin	Timbul	Krem	Positif	Bulat	Non motil
LUI-03	Bundar	Licin	Timbul	Putih Susu	Positif	Bulat	Motil
LUI-04	Bundar	Berombak	Cembung	Kuning	Positif	Bulat, Batang	Motil
LUI-05	Bundar	Licin	Timbul	Krem	Negatif	Bulat	Non motil

Keterangan: LUI= Lambung dan Usus Ikan

Tabel 1. menunjukkan bahwa isolat bakteri LUI-03 dan LUI-04 bersifat motil (40%) dan isolat LUI-01, LUI-02 dan LUI-05 bersifat non-motil (60%). Isolat LUI-03 dan LUI-04 mempunyai flagela sehingga adanya pergerakan.. Secara keseluruhan bentuk sel yang tampak pada adalah bulat. Pelczar dan Chan, 1986 menyatakan kebanyakan spesies dengan bentuk basil dan spiral yang memiliki flagela, tetapi jarang dijumpai pada kokus(bulat). Flagela merupakan salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas) pada sel bakteri (Fardiaz, 1992).

Kelima isolat menunjukkan adanya beberapa karakterisasi morfologi sel dan koloni yang berbeda. Isolasi dan karakterisasi suatu bakteri yaitu morfologi sel (bentuk sel dan susunan sel) merupakan tahap penting untuk identifikasi. Isolat yang memiliki kesamaan -kesamaan morfologi sel menunjukkan bakteri tersebut termasuk genera yang sama. Namun demikian, penelitian ini perlu dilanjutkan dengan melakukan uji biokimia dan tipe fermentasi dari masing-masing isolat sehingga diketahui spesiesnya .

Kesimpulan

Terdapat lima isolat bakteri yang berpotensi sebagai probiotik dari lambung dan usus ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) dengan morfologi koloni dan morfologi sel yang berbeda-beda sebagai tahapan awal identifikasi.

Daftar Pustaka

- Afrianto, E., E. Liviaty. 2005. Pakan ikan. Kanisius, Yogyakarta.
- Bahar, B. 2006. Panduan praktik memilih dan menangani produk perikanan. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Darmayasa, I.B G. 2008. Isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi lipid (lemak) pada beberapa tempat pembuangan limbah dan estuari DAM Denpasar. Bumi Lestari, 8: 122-127.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi pangan 1. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Feliatra., I. Efendi, E. Suryadi. 2004. Isolasi dan identifikasi bakteri probiotik dari ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam upaya efisiensi pakan ikan. Natur Indonesia, 6(2): 75-80.
- Hadioetomo, R. S. 1993. Mikrobiologi dasar dalam praktek teknik dan prosedur dasar laboratorium. Penerbit Gramedia, Jakarta.
- Hidayat, N., M.C. Padaga, S. Suhartini. 2006. Mikrobiologi industri. Penerbit ANDI, Yogyakarta.
- Ilyas, S. 2001. Mikrobiologi dasar diklat kompilasi 28. Universitas Sumatera Utara Press, Medan.
- Irianto, A. 2005. Patologi ikan teleostei. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- James, J., C. Baker, H. Swain. 2008. Prinsip-prinsip sains untuk keperawatan. Erlangga, Jakarta.
- Kanmani, P., R.S. Kumar, N. Yuvaraj, K.A. Paari, V. Pattukumar, V. Arul. 2010. Comparison of antimicrobial activity of probiotic bacterium *Streptococcus phocae* P180, *Enterococcus faecium* MC13 and *Carnobacterium divergens* against fish pathogen. World Journal of Dairy and Food Sciences, 5(2): 145-151.
- Marlina. 2008. Identifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode BIOLOG dan deteksi Gen *ToxR* nya Secara PCR. *Sains dan teknologi farmasi*, 13.
- Pelczar, M. J., E.S.C. Chan. 1986. Dasar-dasar mikrobiologi 1. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Santoso, J., I. Setyaningsih, C. Herlijoso. 1997. Perubahan kandungan asam lemak omega-3 pada pindang ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) selama penyimpanan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 3.
- Savitri, S. D. N. 2006. Isolasi dan karakterisasi bakteri halotoleran pada peda ikan kembung (*Rastrelliger* sp.). Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sudarsono, A. 2008. Isolasi dan karakterisasi bakteri pada ikan laut dalam spesies ikan gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sunatmo, T. I. 2007. Eksperimen mikrobiologi dalam laboratorium. Penerbit Ardy Agency, Bogor.
- Yulinery, T., E. Yulianto, N. Nurhidayat, N. 2006. Uji fisiologis probiotik *Lactobacillus* sp. Mar 8 yang telah dienkapsulasi dengan menggunakan *Spray Dryer* untuk menurunkan kolesterol. *Biodiversitas*, 7(2): 118-122.
- Zamroni, A., Suwarso, N.A. Mukhlis. 2008. Biologi reproduksi dan genetik populasi ikan kembung (*Rastrelliger brachysoma*, famili Scombridae) di pantai utara jawa. *Perikanan Indonesia*, 14: 215-226.