

## ISOLASI, SELEKSI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN LELE SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK

Titin Kurniasih<sup>\*)</sup>, Widanarni<sup>\*)</sup>, Mulyasari<sup>\*)</sup>, Irma Melati<sup>\*)</sup>, Zafril Imran Azwar<sup>\*\*)</sup>,  
dan Angela Mariana Lusiasuti<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar  
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154  
E-mail: titink2008@yahoo.com

<sup>\*\*)</sup> Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya  
Jl. Ragunan 20, Pasar Minggu, Jakarta Selatan 12450

(Naskah diterima: 5 April 2012; Disetujui publikasi: 2 April 2013)

### ABSTRAK

Penambahan probiotik pada pakan telah banyak diaplikasikan pada kegiatan akuakultur dan terbukti bermanfaat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan. Probiotik yang ditujukan untuk membantu meningkatkan aktivitas pencernaan dalam saluran pencernaan ikan, akan lebih baik apabila diisolasi dari saluran pencernaan ikan itu sendiri. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri probiotik dari saluran pencernaan ikan lele, mengisolasi, menyeleksi, serta mengidentifikasi bakteri yang didapatkan. Lambung dan usus lele, digerus dan diencerkan, kemudian dikultur dengan teknik cawan sebar. Koloni yang didapat dimurnikan dan diseleksi dengan uji zona hidrolisis protein dan uji patogenisitas, dan diidentifikasi secara biokimiawi dan molekuler. Tahap isolasi mendapatkan 10 isolat, tahap uji zona hidrolisis protein mendapatkan 4 isolat dengan zona hidrolisis tertinggi, sedangkan uji patogenisitas hanya meloloskan 2 isolat, yaitu A1 dan L1. Hasil uji identifikasi biokimiawi dan molekuler menunjukkan bahwa isolat A1 adalah *Staphylococcus epidermidis* dan L1 adalah *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* merupakan spesies yang sebagian besar anggotanya merupakan probiotik bagi hewan darat dan ikan, dengan demikian dari penelitian ini didapatkan bahwa *Bacillus cereus* merupakan kandidat bakteri yang berpeluang untuk dijadikan probiotik.

**KATA KUNCI:** isolasi, seleksi, probiotik, saluran pencernaan, ikan lele

**ABSTRACT:** *The isolation, selection, and identification of probiotic bacteria as candidate isolated from the gastrointestinal tract of African catfish Clarias gariepinus. By: Titin Kurniasih, Widanarni, Mulyasari, Irma Melati, Zafril Imran Azwar, and Angela Mariana Lusiasuti*

*The use of dietary probiotics in fish and shrimp diets is well documented and appeared to be effective to improve fish and shrimp production. In order to obtain candidate bacteria that can be use as probiotics, which play an important role on the digestive tract of fish, a selective isolation from gastrointestinal tract of the fish is suggested. This research aimed to obtain candidate bacteria as probiotic that were collected from the gastrointestinal track of African catfish followed by isolation, selection, and identification of the selected candidate bacteria. The stomach and intestine were crushed, diluted, and inoculated onto agar medium. The growing colonies were purified, and then selected based on their maximum clear zone diameter on casein agar*

medium and the absence of pathogenic activity against the test fish. The selected isolates were identified using biochemical and molecular determination. From the 10 of pure isolates obtained, 4 isolates revealed the longest clear zone diameter. The two isolates designated as A1 and L1 did not performed pathogenic activity against the test fish. Result of biochemical and molecular identification showed that A1 was *Staphylococcus epidermidis* and L1 was *Bacillus cereus*. Most of the strains of *Bacillus cereus* have been shown to be an effective probiotics for terrestrial and aquatic animal, therefore this study has concluded that *Bacillus cereus* is a strong candidate to be used as probiotics.

**KEYWORDS:** isolation, selection, probiotics, feed efficiency, African catfish

## PENDAHULUAN

Problema efisiensi pakan pada dunia perikanan merupakan masalah yang belum terselesaikan. Harga bahan pakan yang semakin tinggi dan sukar diperoleh, karena sebagian besar diimpor, merupakan penyebab utama bagi timbulnya masalah ini. Makanan terbuang dan tidak sempat dikonsumsi ikan memang tidak akan pernah terelakkan, disebabkan oleh kondisi alam berupa air dan tingkah laku ikan itu sendiri. Akan tetapi makanan atau nilai nutrisi yang terbuang setelah dikonsumsi ikan akibat rendahnya tingkat pencernaan pakan tentu teramat disayangkan.

Probiotik merupakan suplemen tambahan berupa sel-sel mikroba hidup, yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi hewan inang yang mengonsumsinya melalui penyeimbangan flora mikroba intestinalnya (Fuller, 1987). Verschuere *et al.* (2000) menyatakan bahwa probiotik merupakan suplemen mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi komunitas mikroba lingkungan hidupnya. Dalam peningkatan nilai nutrisi pakan, probiotik mampu menghasilkan beberapa enzim eksogenus yang berguna untuk membantu mencerna pakan seperti enzim amilase, protease, lipase, dan selulase (Sahu *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2008) yang biasanya dimiliki oleh ikan dan makhluk air lainnya dalam jumlah terbatas. Meningkatkan daya cerna ikan akan membantu meningkatkan efisiensi pakan dan menurunkan besarnya nutrisi yang terbuang melalui feses.

Bakteri proteolitik adalah jenis bakteri penghasil enzim protease, yang berfungsi meningkatkan kemampuan ikan mencerna protein, sehingga buangan protein atau nitrogen melalui feses akan berkurang. Bakteri proteolitik terbukti bermanfaat untuk ikan (Nopitawati, 2010). Bakteri proteolitik umum

ditemui pada usus lele. Lele adalah hewan omnivora dengan usus yang pendek, menyebabkan lele harus beradaptasi dengan meningkatkan laju kecernaannya. Adanya bakteri proteolitik pada saluran pencernaan lele, adalah salah satu adaptasi lele dalam mencerna substansi kompleks berupa protein dalam waktu yang sangat singkat.

Menurut Watson *et al.* (2008), persyaratan yang harus dimiliki oleh mikroba probiotik pada saat diseleksi antara lain adalah tidak bersifat patogen atau mengganggu inang dan konsumen (manusia dan hewan lainnya), tidak mengganggu keseimbangan ekosistem setempat, mudah dipelihara dan diperbanyak, serta dapat bertahan hidup dan berkembang biak di dalam usus ikan. Agar bakteri probiotik dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan ikan dan menjalankan fungsinya ketika diberikan melalui pakan, maka akan lebih baik apabila probiotik diisolasi dari saluran pencernaan ikan itu sendiri, sehingga kemampuan daya hidupnya dalam saluran pencernaan ikan sudah teruji. Penelitian yang bertujuan mendapatkan probiotik dari saluran pencernaan ikan telah banyak dilakukan antara lain ikan bandeng (Aslamyah, 2006), udang vaname (Nopitawati, 2010), ikan jelawat (Sabariah, 2010), dan ikan nila (Putra, 2010), dan aplikasinya pada pakan menunjukkan hasil yang signifikan untuk pertumbuhan dan efisiensi pakan ikan. Berpijak dari hasil-hasil ini, maka dibangun satu kerangka pemikiran untuk mengisolasi, menyeleksi, dan mengidentifikasi bakteri proteolitik pendegradasi protein dari saluran pencernaan ikan lele, sebagai langkah awal studi probiotik untuk meningkatkan efisiensi pakan ikan.

## BAHAN DAN METODE

Kegiatan isolasi, seleksi, dan identifikasi biokimia bakteri proteolitik dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Nutrisi, Balai Riset

Perikanan Budidaya Air Tawar (BRPBAT) Bogor. Kegiatan identifikasi bakteri secara molekular dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Puspipetek BPPT Serpong.

### Isolasi Bakteri Proteolitik

Prosedur isolasi bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik dilakukan dengan metode selektif, yang mengacu pada metode yang dilakukan pada hewan darat seperti petunjuk Hungate (1966), serta mengombinasikannya dengan prosedur isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan seperti yang dilakukan oleh Nakayama *et al.* (1994); Hoshino *et al.* (1997); Cai *et al.* (1998); dan Jankauskiene (2000).

Sumber inokulum berasal dari saluran pencernaan ikan lele dan air kolam pemeliharaan ikan lele sebagai pembanding. Isolasi bakteri proteolitik dimulai dengan pemilihan individu lele yang telah berumur 2-3 bulan dengan bobot sekitar 100-150 g dengan kondisi badan yang sehat dan tanpa cacat fisik. Pemilihan kondisi fisik lele dilakukan untuk mendapatkan lele dengan kondisi pencernaan yang baik.

Pengambilan isi saluran pencernaan ikan lele sebagai sumber inokulum dilakukan dengan cara mengeluarkan saluran pencernaan (lambung dan usus) dari ikan lele dewasa yang telah dimatikan. Lambung dan usus digerus, kemudian sebanyak 1 g ditambah dengan 1 mL cairan fisiologis (NaCl 0,85%) steril (Aslamyah, 2006) dan dihomogenkan dengan *vortex*. Sumber inokulum diambil sebanyak 1 mL dan diencerkan dalam tabung pengenceran serial yang berisi 9 mL larutan fisiologis, sebanyak 10 tabung pengencer (hingga pengenceran  $10^{10}$  kali). Setelah dihomogenkan, maka dari setiap tabung pengencer diambil larutan sebanyak 0,1 mL; dan disebar dalam cawan petri berisi TSA yang dibuat secara duplo. Kultur ini kemudian diinkubasi pada suhu 29°C selama 24-48 jam sampai koloni bakteri dapat tumbuh, dalam suasana aerob.

Koloni bakteri yang tumbuh diidentifikasi berdasarkan perbedaan warna, bentuk, dan ukurannya. Setiap jenis koloni yang didapat dimurnikan dengan metode penggoresan kuadran, sampai didapatkan koloni bakteri yang tunggal dan seragam.

Kultur murni selanjutnya diperbanyak atau diperkaya untuk mendapatkan isolat. Sebagian

isolat bakteri digunakan sebagai kultur stok dan sebagian lagi dipakai sebagai inokulum pada percobaan berikutnya. Pengayaan dilakukan dengan cara menumbuhkan masing-masing isolat ke dalam media TSB kemudian diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 jam. Kultur yang didapat siap untuk diawetkan. Pengawetan dilakukan dengan menyimpan isolat-isolat yang telah diperoleh ke dalam media gliserol 15%-20% yang selanjutnya disebut kultur stok.

### Seleksi Bakteri Proteolitik

Untuk mendapatkan bakteri yang berpotensi tinggi sebagai penghasil enzim protease, maka seleksi bakteri dilakukan melalui tahapan pengujian aktivitas proteolitik dan pengujian patogenisitas. Pengujian aktivitas proteolitik bertujuan untuk mengukur besarnya aktivitas proteolitik masing-masing isolat dengan uji hidrolisis kasein. Aktivitas proteolitik ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling isolat yang ditumbuhkan pada media agar yang mengandung kasein 2%.

Uji hidrolisis kasein dilakukan dengan menyiapkan media kultur agar yang mengandung kasein 2% dalam cawan petri, membagi wilayah agar menjadi empat bagian (kuadran) yang sama, dan menempatkan empat buah kertas cakram di bagian tengah setiap kuadran. Sebanyak 0,1 mL kultur cair isolat yang akan diuji dipipet dan diteteskan di satu kertas cakram, sehingga satu cawan petri dapat digunakan untuk empat isolat yang berbeda. Biakan diinkubasi pada suhu 29°C selama 24 sampai 48 jam. Proses hidrolisis protein akan teramati dengan terbentuknya daerah bening di sekeliling koloni mikrob, sebaliknya bila tidak terjadi hidrolisis daerah sekitar koloni tetap berwarna keruh. Panjang diameter zona bening ini diukur.

Pengujian patogenisitas bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang diperoleh merupakan bakteri patogen terhadap ikan uji atau tidak. Masing-masing isolat disuntikkan pada kelompok ikan lele sehat (terdiri atas lima ekor pada setiap akuarium) secara *intramuscular* sebanyak 0,2 mL dengan kandungan bakteri sebanyak  $10^7$  CFU/mL. Sebagai kontrol digunakan larutan fisiologis yang juga disuntikkan pada satu kelompok ikan lele. Pemantauan dilakukan setiap hari selama dua minggu setelahnya, apakah didapatkan perbedaan mortalitas apabila dibandingkan

dengan kontrol, atau adanya tanda klinis penyakit pada ikan uji.

### Identifikasi Bakteri Terpilih

Identifikasi bakteri proteolitik dilakukan dengan metode uji biokimia standar yang diawali dengan pewarnaan gram dan spora untuk mendeteksi morfologi awal dari bakteri. Kunci determinasi yang digunakan merujuk pada kunci determinasi *Bergey's Determinative Bacteriology* dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia yaitu bentuk bakteri, uji pewarnaan gram, uji *acid fast*, uji katalase, uji pewarnaan spora, fermentasi glukosa dan laktosa, uji oksidase, oksidatif/fermentatif (OF), *motility*, serta pertumbuhan aerobik dan anerobik.

## HASIL DAN BAHASAN

### Isolasi Bakteri Proteolitik

Kegiatan isolasi bakteri dari saluran pencernaan ikan lele dan kolam pemeliharaan ikan berturut-turut mendapatkan tujuh dan tiga isolat yang dipilih berdasarkan perbedaan morfologi koloninya. Koloni-koloni bakteri yang didapatkan memiliki karakter morfologis antara lain bulat kecil, bulat sedang, bulat besar, dan warna yang didapatkan adalah putih kusam, putih susu, krem, kuning, dan bening.

Koloni bakteri proteolitik memiliki beberapa ciri khas morfologis yang khas, berbentuk bulat dengan pinggirannya yang halus, ditemukan ada penggumpalan pada koloni sehingga akan tampak menggunung apabila dilihat dari samping agar.

### Seleksi Bakteri Proteolitik

#### Aktivitas Proteolitik

Hasil uji aktivitas proteolitik bakteri hasil isolasi disajikan pada Gambar 1. Aktivitas proteolitik positif ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling koloni isolat, yang merupakan luas areal hidrolisis substrat kasein oleh isolat bakteri.

Hasil pengukuran luas diameter aktivitas proteolitik disajikan pada Tabel 1. Empat bakteri dengan diameter hidrolisis kasein tertinggi adalah A1, L1, L3, dan L4 yang menghasilkan zona bening dengan diameter berturut-turut sebesar 30, 28, 25, dan 28 mm. Enam isolat lainnya tidak terpilih untuk mengikuti pengujian patogenisitas karena zona hidrolisis kaseinnya terlalu sempit (11, 10, 8, 8, 6, dan 5 mm). Keempat bakteri tersebut selanjutnya mengikuti pengujian patogenisitas.

Luas zona hidrolisis kasein dijadikan sebagai dasar acuan pertama dalam seleksi bakteri proteolitik, yang mengindikasikan kemampuannya dalam memanfaatkan protein untuk kelangsungan hidupnya, dengan terlebih dahulu merombak protein menjadi asam-asam amino. Meskipun menurut Suhartono (1989), dalam beberapa kasus, luas zona hidrolisis kasein tidak secara otomatis langsung berkorelasi dengan produktivitasnya dalam menghasilkan enzim protease, namun metode ini masih cukup efektif untuk seleksi awal. Gupta & Khare (2006) dan Tang (2008) juga melakukan metode zona bening ini untuk menyeleksi bakteri proteolitik, dan pada tahap



Gambar 1. Zona bening hasil hidrolisis kasein dalam medium agar sebagai hasil aktivitas proteolitik oleh bakteri A1, L1, L3, L4, dan L7, bakteri non proteolitik (C) dan TSB

Figure 1. The clear zone of hydrolyzed casein on agar medium as the result of proteolytic activity by A1, L1, L3, L4, and L7 bacteria, non proteolytic bacteria (C) and TSB

Tabel 1. Diameter zona bening hasil hidrolisis kasein dari kesepuluh isolat bakteri pada medium agar

Table 1. Diameter of clear zone of hydrolized casein of the ten isolates on agar medium

Isolat Isolates	Diameter hidrolisis Clear zone diameter (mm)
A1	30
L1	28
L4	28
L3	25
L7	11
L2	10
L6	8
A2	8
A3	6
L5	5

terakhirnya memperoleh *Pseudomonas aeruginosa* yang mampu memproduksi protease dalam jumlah besar.

### Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas bertujuan untuk mengetahui apakah isolat yang didapatkan bersifat patogen terhadap ikan uji atau tidak. Pengujian dilakukan terhadap 4 bakteri yang memiliki zona hidrolisis kasein tertinggi (A1, L1, L3, dan L4) dan larutan fisiologis sebagai kontrol menggunakan ikan lele sebagai ikan uji.

Hasil uji patogenisitas yang dilakukan selama dua minggu di akuarium disajikan pada Tabel 2. Tingkat sintasan ikan lele yang diinjeksi isolat A1 dan L1 sebesar 100% hingga akhir masa pengamatan, sama dengan kontrol, yang mengindikasikan bahwa isolat A1 dan L1 tidak bersifat patogen terhadap ikan lele. Tingkat sintasan ikan lele pada perlakuan injeksi isolat L3 dan L4 hanya 40% dan 20% di akhir pengamatan.

Tabel 2. Hasil uji patogenisitas isolat bakteri proteolitik

Table 2. Test of the pathogenic activity against the test fish

Isolat uji Test isolates	JIA (ekor/ind.)	JIM (ekor/ind.)	SR (%)	Keterangan Description
A1	5	0	100	Ikan uji sehat dan aktif hingga akhir masa pemantauan ( <i>The test fish is healthy and active until the end of the periode of observation</i> )
L1	5	0	100	Ikan uji sehat dan aktif hingga akhir masa pemantauan ( <i>The test fish is healthy and active until the end of the periode of observation</i> )
L4	5	4	20	Ikan yang masih hidup kurang gesit di akhir masa pemantauan ( <i>The surviving fish are less active in the end of the periode of observation</i> )
L3	5	3	40	Ikan yang masih hidup kurang gesit di akhir masa pemantauan ( <i>The surviving fish are less active in the end of the periode of observation</i> )
Kontrol (Control)	5	0	100	Ikan uji sehat ( <i>The test fish are healthy</i> )

Keterangan (Note):

JIA = Jumlah ikan awal (*The initial number of the test fish*), JIM = Jumlah ikan mati (*The number of the dead fish*), SR = *Survival rate*

Berdasarkan analisis secara deskriptif, isolat A1 dan L1 terpilih sebagai bakteri penghasil enzim protease pada percobaan selanjutnya. Pertimbangannya adalah berdasarkan peringkatnya yang tertinggi pada uji zona hidrolisis kasein, dan terbukti tidak bersifat patogen pada ikan lele.

**Identifikasi Bakteri Terpilih**

Hasil dari uji biokimia determinatif isolat bakteri A1 dan L1 tersaji di Tabel 3. Karakter biokimiawi kedua isolat dirujukkan kepada buku pedoman determinatif Bergey’s untuk ditelusuri spesies dari bakteri target. Hasil penelusuran ternyata merujuk pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* untuk bakteri A1 dan *Bacillus cereus* untuk bakteri L1.

Hasil identifikasi kedua isolat secara molekuler dengan sekuensi DNA semakin menguatkan hasil identifikasi secara biokimia (Gambar 2). Berdasarkan sekuensi DNA-nya terbukti bahwa isolat A1 adalah *S. epidermidis*

dan isolat L1 adalah *B. cereus* dengan indeks kesamaan 100%.

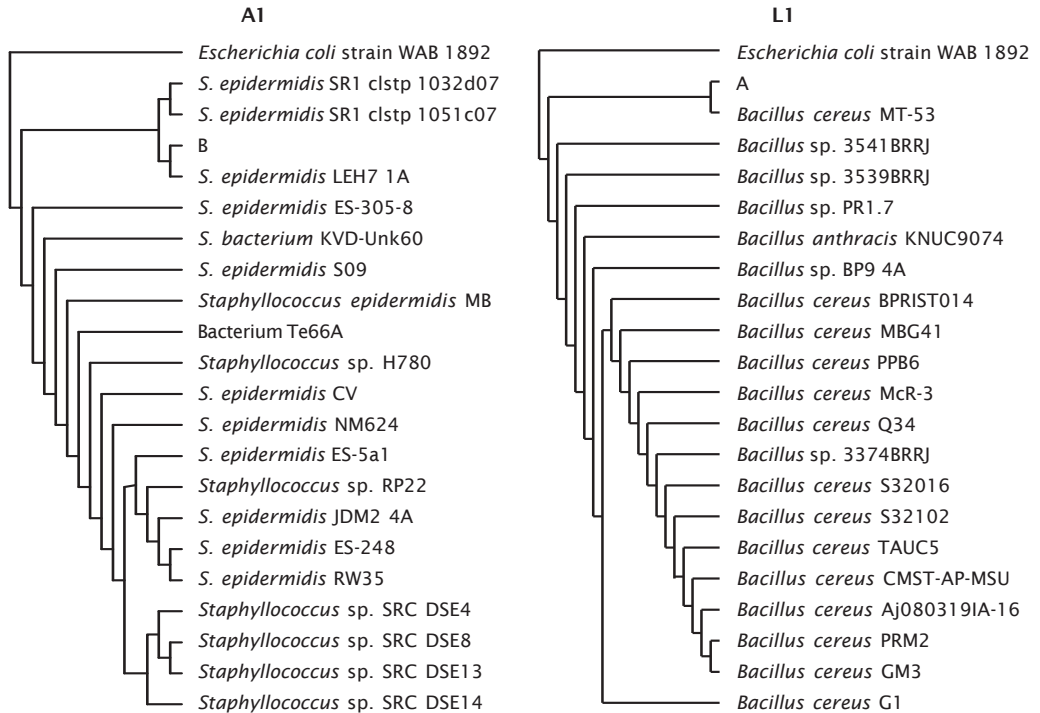
Dari Gambar 2 terlihat bahwa bakteri A1, yang di dalam pohon filogenetik (kiri) dilambangkan sebagai B, berkerabat sangat dekat dengan *S. epidermidis* strain LEH7 1A, sedangkan kerabatnya yang bersebelahan anak cabang, adalah *S. epidermidis* strain SR1. Ini mengindikasikan bahwa secara molekuler, bakteri A1 memang benar-benar *S. epidermidis*. Bakteri L1 yang di dalam pohon filogenetik (kanan) dilambangkan sebagai A, berkerabat sangat dekat dengan *B. cereus* strain MT 53, sedangkan kerabat dekatnya yang berbeda anak cabang, sebagian besar juga *B. cereus* strain lain. Ini mengindikasikan bahwa secara molekuler, bakteri L1 memang benar-benar *B. cereus*.

*Bacillus cereus* merupakan bakteri gram-positif, berukuran 1 x 3-4 µm dan selnya berbentuk batang besar, bersifat aerob fakultatif, mesophilik, yaitu tumbuh optimal pada suhu

Tabel 3. Hasil uji identifikasi biokimia isolat bakteri terseleksi  
 Table 3. The result of biochemical identification of the selected bacterial

Uji biokimiawi <i>Biochemical test</i>	L1 <i>(Bacillus cereus)</i>	A1 ( <i>Staphylococcus epidermidis</i> )
Pewarnaan gram <i>Gram staining</i>	Gram positif <i>Gram-positive</i>	Gram positif <i>Gram-positive</i>
Pewarnaan Ziehl Nielsen <i>Ziehl Nielsen Staining</i>	Negatif <i>Negative</i>	Negatif <i>Negative</i>
Katalase ( <i>Catalase test</i> )	Positif ( <i>Positive</i> )	Positif ( <i>Positive</i> )
Pewarnaan spora <i>Spore staining</i>	Berspora <i>Spore</i>	Tidak berspora <i>Non spore</i>
Bentuk ( <i>Shape</i> )	Basil ( <i>Bacillus</i> )	Kokus ( <i>Cocci</i> )
Fermentasi glukosa <i>Glucose fermentation</i>	Positif <i>Positive</i>	Positif <i>Positive</i>
Fermentasi laktosa <i>Lactose fermentation</i>	Negatif <i>Negative</i>	Positif <i>Positive</i>
Uji oksidase ( <i>Oxidase test</i> )	Negatif ( <i>Negative</i> )	Negatif ( <i>Negative</i> )
Uji oksidatif fermentatif <i>Oxidative-fermentative test</i>	Fermentatif <i>Fermentative</i>	Fermentatif <i>Fermentative</i>
Motilitas ( <i>Motility</i> )	Motil ( <i>Motile</i> )	Non motil ( <i>Non motile</i> )
Pertumbuhan aerobik <i>Aerobic growth</i>	Positif <i>Positive</i>	Positif <i>Positive</i>
Pertumbuhan anaerobik <i>Anaerobic growth</i>	Positif <i>Positive</i>	Positif <i>Positive</i>





Gambar 2. Dendrogram filogenetik isolat A1 dan L1

Figure 2. The phylogenetic dendrogram of the A1 and L1 bacterias

antara 20°C dan 40°C, dan mampu beradaptasi terhadap kondisi lingkungan pada kisaran yang luas (Villain *et al.*, 2006). *B. cereus* bersifat motil karena memiliki flagella dan menunjukkan 2 jenis pergerakan yaitu berenang dan bergerombol, tergantung pada kondisi lingkungannya (Senesi *et al.*, 2002).

*Bacillus cereus* tersebar luas di alam dan pada berbagai sumber makanan baik hewani, nabati, telur, susu, dan air, dan ditemukan di tanah sebagai organisme saprofit (Villain *et al.*, 2006). Sebagian strainnya berbahaya bagi manusia karena menimbulkan infeksi lewat makanan, namun sebagian lainnya bermanfaat sebagai probiotik untuk hewan (Ryan *et al.*, 2004).

*Bacillus cereus* memiliki kromosom berbentuk sirkular sepanjang 5,411,809 nt dan telah disekuensi secara lengkap menggunakan metode sekuensing Shotgun. (Rasko *et al.*, 2005). Struktur genomnya terdiri atas 5.481 gen, 5.234 kode protein, 147 RNA struktural, dan 5.366 operon RNA. Sebuah *cluster* gene yang menarik ditemukan dalam genomnya, yang diduga berperan dalam daya hidup bakteri

ini, yang memungkinkannya untuk bertahan hidup dalam suasana asam (Rasko *et al.*, 2004). Selain itu, *B. cereus* memiliki *cluster* gene urease, yang dapat meningkatkan ketahanan hidup di dalam suasana asam dan diperlukan dalam proses kolonisasi dalam saluran cerna (Rasko *et al.*, 2004).

Sebagaimana anggota genus *Bacillus* lainnya, *B. cereus* dapat membentuk endospora yang berguna untuk mempertahankan daya hidupnya. *B. cereus* membentuk spora ketika nutrisi menipis di lingkungannya dan kembali menjadi sel vegetatif ketika nutrisi tersedia lagi (Wijnands *et al.*, 2006).

*B. cereus* berkompetisi dengan mikroba lain seperti *Salmonella* dan *Campylobacter* di saluran pencernaan, sehingga kehadiran *B. cereus* dapat menekan jumlah mikroba tersebut. Dalam industri makanan ternak seperti ayam (Vila *et al.*, 2009), kelinci (Bories *et al.*, 2008), dan babi (Bories *et al.*, 2007), beberapa strain *B. cereus* dimanfaatkan sebagai probiotik untuk menekan *Salmonella* di usus dan kaeka sehingga bermanfaat meningkatkan pertumbuhan.

*Bacillus cereus* bersifat fakultatif aerobik, karena dapat memanfaatkan oksigen sebagai penerima elektron, dan sekaligus memiliki cara respirasi anaerobik sebagai mekanisme pelepasan energi (Duport *et al.*, 2006). Dengan respirasi aerobik, produk glikolisis, dan siklus Krebs dioksidasi ulang melalui rantai transpor elektron menghasilkan ATP (Duport *et al.*, 2006). Dengan respirasi anaerobik, *B. cereus* melakukan fermentasi untuk menghasilkan energi. Fermentasi mendaur ulang NAD<sup>+</sup> dengan mereduksi pyruvate dan menghasilkan lactat dan ethanol (Duport *et al.*, 2006). ATP dihasilkan dengan fosforilasi substrat.

*Bacillus cereus* dapat memetabolisme berbagai senyawa organik seperti protein, peptida, dan asam amino untuk pertumbuhan dan sumber energinya. Beberapa produk utama yang dimetabolisme dari sumber karbon sukrosa dan glukosa melalui respirasi anaerobik adalah *L-lactat*, *acetat*, *format*, *succinat*, *ethanol*, dan *carbon dioxida* (Mols *et al.*, 2007). Pada respirasi nitrat, *nitrate reductase* merubah nitrat menjadi nitrit, lalu menjadi ammonium oleh *enzim nitrite reductase* (Mols *et al.*, 2007).

Sebagai probiotik, *Bacillus spp.* sudah banyak diteliti karena memiliki kemampuan melekat dan menghasilkan bacteriosin (peptida antimikroba) dan imunostimulan (Cladera-Olivera *et al.*, 2004; Duc *et al.*, 2004; Barbosa *et al.*, 2005). Strain ini terbukti efektif sebagai produk probiotik komersial yang mampu meningkatkan produksi udang yang sama besarnya dengan apabila menggunakan antimikroba (Decamp & Mortarty, 2006). *Bacillus spp.* juga memiliki nilai tambah sebagai probiotik karena dapat disimpan dalam bentuk spora (Hong *et al.*, 2005).

*Staphylococcus epidermidis* adalah bakteri gram positif yang berbentuk anggur jika dilihat di bawah mikroskop, bersifat fakultatif anaerob karena tumbuh baik dengan respirasi aerob ataupun fermentasi. *S. epidermidis* tidak dapat membentuk spora (Parisi, 1985). Meskipun sebagian besar *S. epidermidis* merupakan bakteri patogen oportunistik, tetapi hasil penelitian uji patogenisitas untuk strain ini tidak membuktikan bahwa ia patogen, sehingga strain *S. epidermidis* yang didapat ini memiliki potensi sebagai probiotik. Sebagaimana diketahui hal yang sama juga terjadi pada spesies *Vibrio alginolyticus*, bahwa sebagian strainnya merupakan patogen berbahaya bagi udang, namun sebagian lain justru merupakan probiotik yang sangat

bermanfaat bagi ketahanan tubuh udang (Gomez-Gil *et al.*, 2000).

## KESIMPULAN DAN SARAN

Tahap isolasi mendapatkan sepuluh isolat, tahap uji zona hidrolisis protein mendapatkan empat isolat dengan zona hidrolisis tertinggi, sedangkan uji patogenisitas hanya meloloskan dua isolat, yaitu A1 dan L1. Hasil uji identifikasi biokimiawi dan molekuler menunjukkan bahwa isolat A1 adalah *Staphylococcus epidermidis* dan L1 adalah *Bacillus cereus*. *B. cereus* merupakan spesies yang sebagian besar anggotanya merupakan probiotik bagi hewan darat dan ikan. Dengan demikian dari penelitian ini didapatkan bahwa *B. cereus* merupakan kandidat bakteri yang berpeluang untuk dijadikan probiotik. Penelitian lanjutan yang sangat diharapkan adalah aplikasi bakteri probiotik ini dalam pakan ikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya terhadap DIPA Balai Riset Perikanan Budi daya Air Tawar Tahun Anggaran 2010 dan 2011 yang telah membiayai kegiatan penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

- Aslamyiah, S. 2006. Penggunaan mikroflora saluran pencernaan sebagai probiotik untuk meningkatkan pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan bandeng (*Chanos-chanos* Forsskal). (Disertasi). Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 255 hlm.
- Barbosa, T.M., Serra, C.R., La Ragione, R.M., Woodward, M.J., & Henriques, A.O. 2005. Screening for *Bacillus isolates* in the broiler gastrointestinal tract. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2):968-978.
- Bories, G., Brantom, P., Barberà, J.B., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Debski, B., Dierick, N., Gropp, J., Halle, I., Hogstrand, C., Knecht, J., Leng, L., Lindgren, S., Haldorsen, L., Mantovani, A., Mezes, M., Nebbia, C., Rambeck, W., Rychen, G., Wright, A., & Wester, P. 2007. Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed on the safety and efficacy of the product Toyocerin (*Bacillus cereus* var. Toyoi) as a feed additive for sows from service to weaning, in accordance with Regulation (EC) No 1831/



2003. (Question No EFSA-Q-2006-037). European Food Safety Authority. *The EFSA Journal*, 458: 1-9.
- Bories, G., Brantom, P., Barberà, J.B., Chesson, A., Cocconcelli, P.S., Debski, B., Dierick, N., Gropp, J., Halle, I., Hogstrand, C., Knecht, J., Leng, L., Lindgren, S., Haldorsen, L., Mantovani, A., Mezes, M., Nebbia, C., Rambeck, W., Rychen, G., Wright, A., & Wester, P. 2008. Safety and efficacy of the product Toyocerin (*Bacillus cereus* var. Toyoi) as feed additive for rabbit breeding does. Scientific Opinion of the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed. (Question No EFSA-Q-2008-287). European Food Safety Authority. *The EFSA Journal*, 913: 1-13.
- Cai, Y., Benno, T., Naskase, Y., & Tae-Kwang, O. 1998. Specific probiotic characterization of *Weissella hellenica* DS-12 isolated from flounder intestine. *Genet. Microbiol.*, 44: 311-316.
- Cladera-Olivera, F., Caron, G.R., & Brandelli, A. 2004. Bacteriosin-like substance production by *Bacillus licheniformis* strain P40. *Letters in Applied Microbiology*, 38: 251-256.
- Decamp, O. & Moriarty, D.J.W. 2006. Probiotics as alternative to antimicrobials: limitation and potential. *World Aquaculture*, 37(4): 60-62.
- Duc, L.H., Hong, H.A., Barbosa, T.M., Henriques, A.O., & Cutting, S.M. 2004. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(4): 2,161-2,171.
- Duport, C., Zigha, A., Rosenfeld, E., & Schmitt, P. 2006. Control of Enterotoxin Gene Expression in *Bacillus cereus* F4430/73 Involves the Redox-Sensitive ResDE Signal Transduction System. *Journal of Bacteriology*, 188(18): 6,640-6,651.
- Fuller, R. 1987. A review, probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66: 365-378.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., & Turnbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191: 259-270.
- Gupta, A. & Khare, S.K. 2006. A protease stable in organic solvents from tolerant strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioresource Technology*, 97: 1,788-1,793.
- Hong, H.A., Duc, L.H., & Cutting, S.M. 2005. The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29: 813-835.
- Hoshino, T., Ishizaki, K., & Sakamoto, T. 1997. Isolation of a *Pseudomonas* species from fish intestine that produces an active protease at low temperature. *Lett. Appl. Microbiol.*, 25(1): 70-72.
- Hungate, R. 1966. *The Rumen and its Microbes*. London and New York, Academic Press., 533 pp.
- Jankauskiene, R. 2000. The dependence of the species composition of lactoflora in the intestinal tract of carps upon their age. *Acta Zoologica Lituanica*, 10(3): 78-83.
- Mols, M., de Been, M., Zwietering, M.H., Moezelaar, R., & Abee, T. 2007. Metabolic capacity of *Bacillus cereus* strains ATCC 14579 and ATCC 10987 interlinked with comparative genomics. *Environmental Microbiology*, 9(12): 2,933-2,944.
- Nakayama, A., Yano, Y., & Yoshida, K. 1994. New method for isolating *Barophiles* from intestinal contents of deep sea fishes retrieved from the abyssal zone. *Appl. and Environm. Microbiol.*, 60(11): 4,210-4,212.
- Nopitawati, T. 2010. *Seleksi bakteri probiotik dari saluran pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan udang vaname Litopenaeus vannamei*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor, 63 hlm.
- Parisi, J.T. 1985. Coagulase-Negative Staphylococci and the Epidemiological Typing of Staphylococcus epidermidis. *Microbiological Reviews*, 49(2): 126-139.
- Putra, A.N. 2010. *Kajian probiotik, prebiotik dan sinbiotik untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan nila*. Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 91 hlm.
- Rasko, D.A., Ravel, J., Okstad, O.A., Helgason, E., Cer, R.Z., Jiang, L., Shores, K.A., Fouts, D.E., Tourasse, N.J., Angiuoli, S.V., Kolonay, J., Nelson, W.C., Kolsto, A.B., Fraser, C.M., & Read, T.D. 2004. The genome sequence of *Bacillus cereus* ATCC 10987 reveals metabolic adaptations and a large plasmid related to *Bacillus anthracis* pXO1. *Nucleic Acids Research*, 32(3): 977-988.
- Rasko, D.A., Altherr, M.R., Han, C.S., & Ravel, J. 2005. Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 29: 303-329.
- Ryan, K.J., Ray, C.G., & Sherris, J.C. (Eds.). 2004. *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. 979 pp.
- Sabariah. 2010. *Seleksi bakteri probiotik dari*

- saluran pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan ikan jelawat (*Leptobarbus hoeveni* Blkr). Tesis. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor, 44 hlm.
- Sahu, M.K., Swarnakumar, N.S., Silvakumar, K., Thangaradjou, T., & Kannan, L. 2008. Probiotics in aquaculture: importance and future perspectives. *Indian J. Microbiol.*, 48: 299-308.
- Senesi, S., Celandroni, F., Salvetti, S., Beecher, D.C., Wong, A.C.L., & Ghelardi, A. 2002. Swarming motility in *Bacillus cereus* and characterization of a *fliY* mutant impaired in swarm cell differentiation. *Microbiology*, 148: 1,785-1,794.
- Suhartono, M.T. 1989. *Enzim dan Bioteknologi*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor, 322 hlm.
- Tang, X.Y, Pan, Y., Li, S., & He, B.F. 2008. Screening and isolation of an organic solvent-tolerant bacterium for high-yield production of organic solvent-sable protease. *Biore-source Technology*, 99: 7,388-7,392.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Huys, G., Dhont, J., Sorgeloos, P., & Verstracte, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture, review. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 64: 665-671.
- Vilà, B., Fontgibell, A., Badiola, I., Esteve-Garcia, E., Jiménez, G., Castillo, M., & Brufau, J. 2009. Reduction of *Salmonella enterica* var. *Enteritidis* colonization and invasion by *Bacillus cereus* var. *toyoi* inclusion in poultry feeds. *Poultry Science*, 88(55): 975-979.
- Villain, S., Luo, Y., Hildreth, M., & Brozel, V. 2006. Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied Environmental Microbiology*, 72(7): 4970-4977.
- Wang, B.Y., Li, R., & Junda, L. 2008. Probiotics in aquaculture: challenges and outlook. *Aquaculture*, 281: 1-4.
- Watson, A.K., Kaspar, H., Lategan, M.J., & Gibson, L. 2008. Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1-14.
- Wijnands, L, Dufrenne, J., Zwietering, M.H., & Leusden, F. 2006. Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strains germinate better and grow faster in simulated gastro-intestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. *International Journal of Food Microbiology*, 112(2): 120-128.