

**SENSITIVITAS BAKTERI PROBIOTIK YANG DIISOLASI
DARI USUS UDANG GALAH (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) TERHADAP BAKTERI
*Aeromonas hydrophila***

Wiwik Yuliana*, Iesje Lukistyowati, Nur Asiah

Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau, Pekanbaru, Indonesia

*Penulis korespondensi: yulianawiwik@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan pada bulan September-November 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh strain probiotik Riau pada udang raksasa terhadap *A. hydrophila*. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian Hasyimi pada tahun 2014. Perlakuan pada metode disk yang digunakan adalah probiotik *Bacillus* sp. dengan enam Tingkat perlakuan: P0 (disk kosong+50 µL TSB), P1 (antibiotik novobiocin), P2 (50 µL isolat *Bacillus* F), P3 (50 µL isolat *Bacillus* G), P4 (50 µL isolat J) and P5 (50 µL isolat K), dan metode pengenceran menggunakan empat metode (F, G, J dan K) dengan empat jenis pengenceran (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} dan 10^{-8}). Hasil penelitian menunjukkan bahwa genetika strain bakteri probiotik Riau yang diisolasi dari udang raksasa dapat mengandung *A. hydrophila*, dengan daya blok terbesar pada isolator K (13,8 mm) dan daya blok terkecil pada isolator G (7,6 mm), serta nilai MIC pada pengenceran 10^{-8} dan nilai MBC pada pengenceran 10^{-4} .

Kata kunci: *Bacillus* sp., giant prawn, *Aeromonas hydrophila*

1 PENDAHULUAN

Budi daya ikan mempunyai peran penting dalam usaha meningkatkan produksi perikanan dan kesejahteraan masyarakat. Selain bertujuan untuk memenuhi kebutuhan pangan dan gizi juga dapat memenuhi kebutuhan pasar dalam dan luar negeri. Oleh sebab itu, diperlukan pengendalian terhadap berbagai aspek, salah satunya penyakit ikan.

Salah satu penyakit infeksi yang sering menyerang ikan budi daya, adalah penyakit MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) atau penyakit bercak merah yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila*. Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Bogor melaporkan pada tahun 2002 terdapat kasus kematian ikan mas yang diakibatkan oleh serangan bakteri yang diduga kuat *A. hydrophila* yang hingga mencapai 200 ton dan di daerah lain Pemerintah Daerah Kuningan juga melaporkan adanya kematian 800 ton ikan mas (Dinas Perikanan Jawa Barat, 2005). Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang bersifat patogen oportunistik, yang dapat menimbulkan penyakit bila ikan dalam kondisi stres dan dapat mengakibatkan kematian ikan yang tinggi hingga mencapai 80-100% dalam kurun waktu 1-2 minggu (Lukistyowati & Kurniasih, 2012).

Usaha yang dilakukan untuk mengatasi kematian yang disebabkan oleh penyakit MAS ini, pada awalnya para petani banyak menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik atau bahan kimia lain yang berlebihan dalam produksi perikanan saat ini mulai dikurangi, mengingat bahan-bahan tersebut dapat mengakibatkan residu pada ikan dan dapat menyebabkan bakteri *A. hydrophila* dan bakteri-bakteri lain yang ada di lingkungan menjadi resisten terhadap antibiotik serta dapat memusnahkan bakteri yang menguntungkan, untuk itu perlu dilakukan alternatif penanggulangan penyakit MAS yang efektif dan tidak menimbulkan efek negatif pada produk budi daya dan konsumen yaitu dengan pemberian probiotik.

Probiotik strain Riau yang diperoleh dari usus udang galah, yaitu jenis *Bacillus* sp. sebanyak 11 isolat (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K). Anggreni et al. (2015) melaporkan, bahwa probiotik jenis *Bacillus* sp. isolat A, B, C dan D memiliki hasil daya hambat terhadap bakteri patogen *A. hydrophila*, yaitu berkisar antara 11.8-13.33 mm sedangkan untuk bakteri patogen *Pseudomonas stutzeri* 12.0-13.2 mm, selanjutnya terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus* 11.73-13.33 mm. Sedangkan isolat F, G, J dan K belum dilakukan uji daya hambat. Perbedaan jenis bakteri probiotik akan menyebabkan perbedaan komponen metabolit dan daya hambat yang dihasilkan pada setiap bakteri probiotik tersebut (Yulinery et al., 2012).

Melihat banyaknya keuntungan dari probiotik tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap bakteri probiotik strain Riau isolat F, G, J dan K yang diisolasi dari udang galah yang telah ditemukan sebelumnya pada tahun 2014, untuk mengetahui kemampuan daya hambat atau membunuh bakteri *A. hydrophila* yang biasa diketahui mampu merusak dinding sel pada ikan budi daya dan untuk mengetahui nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) (Hasyimi et al., 2014).

2 METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-November 2014 di Laboratorium Mikrobiologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Metode uji sensitivitas bakteri probiotik strain Riau dari usus udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan dua metode, yaitu metode cakram dan metode pengenceran. Metode uji cakram menggunakan metode eksperimen rancangan acak lengkap (RAL), satu faktor dengan enam taraf perlakuan, untuk memperkecil kekeliruan dilakukan tiga kali pengulangan sehingga menghasilkan 18-unit percobaan.

Faktor perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pemberian bakteri probiotik jenis *Bacillus* sp. strain Riau yang diisolasi dari udang galah yaitu isolat F, G, J, K dan (enam taraf perlakuan) dengan dosis masing-masing perlakuan adalah:

P₀ = disk kosong+50 µL TSB (kontrol -)

P₁ = antibiotik novobiosin (kontrol +)

P₂ = isolat *Bacillus* F (dengan dosis 50 µL)

P₃ = isolat *Bacillus* G (dengan dosis 50 µL)

P₄ = isolat *Bacillus* J (dengan dosis 50 µL)

P₅ = isolat *Bacillus* K (dengan dosis 50 µL)

Penghitungan jumlah koloni bakteri dengan metode pengenceran menggunakan metode rancangan acak kelompok (RAK), yaitu empat perlakuan dengan empat kelompok. Empat perlakuan yang digunakan pada penelitian ini masing-masing adalah probiotik isolat *Bacillus* sp. isolat F, J, G dan K dengan empat kelompok (K), yaitu kelompok pengenceran 10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶ dan 10⁻⁸ sebagaimana yang terdapat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Rancangan Acak Kelompok (RAK) pada Metode Pengenceran

Isolat	Pengenceran			
	K1	K2	K3	K4
P1	P1.K1	P1.K2	P1. K3	P1.K4
P2	P2.K1	P2.K2	P3. K3	P4.K4
P3	P3.K1	P3.K2	P4. K3	P4.K4
P4	P4.K1	P4.K2	P4. K3	P4.K4

Keterangan:

K ₁ = Pengenceran 10 ⁻²	P1 = Isolat <i>Bacillus</i> F
K ₂ = Pengenceran 10 ⁻⁴	P2 = Isolat <i>Bacillus</i> G
K ₃ = Pengenceran 10 ⁻⁶	P3 = Isolat <i>Bacillus</i> J
K ₄ = Pengenceran 10 ⁻⁸	P4 = Isolat <i>Bacillus</i> K

Bakteri *A. hydrophila* dengan kepadatan 10⁸ CFU/ml diuji tantangkan dengan bakteri probiotik udang galah isolat F, J, G dan K pada pengenceran 10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶, 10⁻⁸. Selanjutnya dilakukan penghitungan terhadap koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media uji bakteri (Maturin & Peeler, 1998).

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian, yaitu *Nutrient Agar* (NA), *Tryptice Soy Agar* (TSA), *Tryptice Soy Broth* (TSB), *Nutrient Broth* (NB), akuades, *Phosphat Buffer Saline* pH 4, empat sampel kultur bakteri probiotik strain Riau yang berasal usus udang galah, bakteri *A. hydrophila* berasal dari isolat koleksi Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Pekanbaru, antibiotik Novobiosin.

Alat-alat yang digunakan selama penelitian, yaitu Autoclave, Inkubator, Refrigerator, Mikropipet, Laminar flow, Petridish, Lampu bunsen, Water checker, Jarum ose, Mikrotips, Tabung reaksi, Alumunium foil, Hot plate, Timbangan digital, Vortex, Wrap, Glass baker, Erlemeyer, Spreader glass, Rak tabung reaksi, Pinset, Kertas cakram ukuran 6 mm, Jangka sorong.

Prosedur penelitian yang dilakukan selama penelitian, yaitu sebagai berikut:

2.1 Peremajaan Bakteri Probiotik

Bakteri probiotik yang diremajakan adalah isolat dengan kode F, G, J dan K berasal dari usus udang galah hasil penelitian sebelumnya Hasyimi *et al.* (2014) di Laboratorium Mikrobiologi Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Cara peremajaan bakteri tersebut, yaitu dengan menyiapkan tabung reaksi steril yang berisi larutan *phosphat buffer saline* pH 4 sebanyak 500 µL, kemudian diambil masing-masing isolat probiotik tersebut satu koloni dari biakan bakteri dengan menggunakan ose, lalu dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi larutan *phosphat buffer saline* pH 4 dan dibiarkan selama 1 jam. Selanjutnya bakteri pada pH 4 tersebut diisolasikan ke media (NA) steril dengan menggunakan ose steril, lalu inkubasi selama 24 jam pada suhu 27°C. Peremajaan bakteri probiotik dilakukan sebanyak 5 kali hingga bakteri benar-benar murni.

2.2 Peremajaan Bakteri *Aeromonas hydrophila*

Bakteri *A. hydrophila* diperoleh dari isolat Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Pekanbaru diremajakan dengan metode gores, yaitu dengan cara mengambil satu koloni dari biakan bakteri dengan menggunakan ose dari kultur isolat bakteri, kemudian

diisolasi pada media TSA yang telah disiapkan kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 27°C selama 24 jam. Peremajaan bakteri *A. hydrophila* dilakukan sebanyak 5 kali hingga bakteri benar-benar murni (Lukistyowati & Kurniasih, 2012).

2.3 Kultur Bakteri Probiotik pada Media Cair NB

Sebelum dilakukan uji sensitivitas, bakteri probiotik juga dikultur terlebih dahulu pada media cair NB dengan cara mengambil 1 ose koloni bakteri probiotik yang telah diremajakan kemudian diisolasi terlebih dahulu pada larutan pH 4 sebanyak 500 µL kemudian diamkan hingga 1 jam, selanjutnya dari pH 4 bakteri diisolasi ke dalam 5 mL media NB yang telah dibuat sebelumnya, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 27°C (Dwidjoseputro, 2010).

2.4 Kultur Bakteri *A. hydrophila* pada Media Cair TSB

Sebelum dilakukan uji sensitivitas bakteri *A. hydrophila* diisolasikan terlebih dahulu ke media cair TSB dengan cara menyediakan 1 tabung reaksi yang berisi media 5 mL TSB, kemudian diberi 1 ose koloni *A. hydrophila* yang berasal dari biakan bakteri yang telah diremajakan selama 24 jam sebelumnya, selanjutnya divortex hingga homogen (Dwidjoseputro, 2010).

2.5 Uji Sensitivitas Bakteri Probiotik terhadap *A. hydrophila*

Uji sensitivitas bakteri yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode cakram/*Disk Diffusion Test* dan metode pengenceran/*Tube Dillution Test*.

2.5.1 Metode Cakram/*Disk Diffusion Test*

Uji sensitivitas bakteri dengan metode cakram dilakukan dengan menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Cawan petri yang telah berisi media TSA, diberi *A. hydrophila* yang telah dikultur pada media TSB sebanyak 100 μ L, kemudian diratakan dengan menggunakan *spreader glass*, selanjutnya diletakkan 4 kertas cakram yang masing-masing berisi 50 μ L larutan probiotik isolat F, G, J, K dan satu kertas cakram sebagai kontrol negatif diberi 50 μ L TSB tanpa probiotik serta sebagai kontrol positif menggunakan disk yang mengandung antibiotik novobiosin, selanjutnya diinkubasi pada suhu 27°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran daya hambat dengan menggunakan jangka sorong (Boyd, 1995).

2.5.2 Metode Pengenceran/*Tube Dillution Test*

Menghitung jumlah koloni bakteri dengan cara menggunakan metode pengenceran/*Tube Dillution Test* yang bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kemampuan koloni bakteri *A. hydrophila* tetap tumbuh pada media yang diberi bakteri probiotik. Pengenceran bakteri probiotik dilakukan dengan cara menyediakan tabung reaksi sebanyak 8 tabung yang berisi akuades steril 9 mL/tabung, selanjutnya ditambahkan 1 mL bakteri probiotik yang telah dikultur di media NB selama 24 jam ke tabung pengenceran 1 lalu divortex (pengenceran 10^{-1}). Kemudian dipindahkan 1 mL larutan pengenceran 10^{-1} ke tabung pengenceran 2 lalu divortex (pengenceran 10^{-2}), selanjutnya dipindahkan 1 mL larutan pengenceran 10^{-2} ke tabung pengenceran 3 lalu divortex (pengenceran 10^{-3}), hingga diperoleh pengenceran 10^{-8} .

Bakteri *A. hydrophila* yang digunakan yaitu 10^8 CFU/mL dengan cara menyediakan 1 tabung reaksi yang berisi 10 mL TSB kemudian ditambahkan dengan dua ose koloni bakteri *A. hydrophila* selanjutnya divortex, kemudian diinkubasi selama 24 jam (Hadioetomo, 1990).

Langkah selanjutnya, yaitu menyiapkan 4 tabung reaksi steril yang berisi 15 mL media TSA yang masih hangat bersuhu 30°C lalu dicampurkan dengan 100 μ L bakteri probiotik pengenceran 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} kemudian divortex dan dituangkan ke dalam *petridish* dan biarkan hingga media memadat, selanjutnya diisolasikan dengan metode gores bakteri *A. hydrophila* 10^8 CFU/mL sebanyak satu ose ke masing-masing media tersebut, lalu diinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam selanjutnya dihitung jumlah koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh pada media TSA tersebut (Maturin & Peeler, 1998).

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Uji Metode Cakram (*Disk Diffusion Test*)

Hasil pengamatan daya hambat masing-masing probiotik terhadap *A. hydrophila* menunjukkan hasil yang berbeda-beda sebagaimana yang terdapat pada Tabel 2.

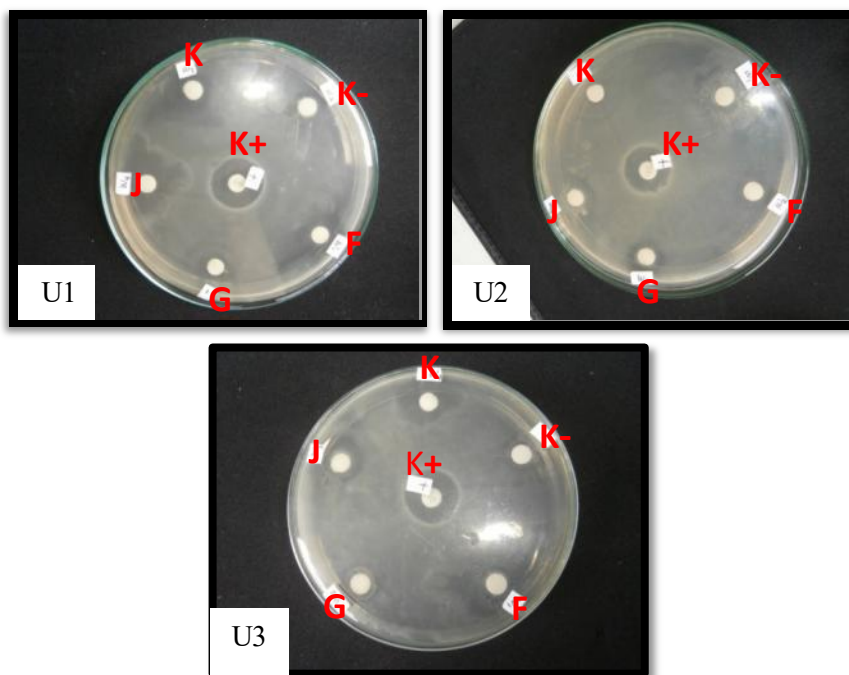
Tabel 2. Hasil Pengukuran Daya Hambat Bakteri Probiotik Terhadap *A. hydrophila* dengan Metode Cakram

No	Kode Uji	Ukuran daya hambat (mm) pada setiap ulangan			Rata-rata diameter (mm)
		1	2	3	
1	Kontrol -	0	0	0	0 ^a
2	F	8,8	8,5	12	9,7 ± 1,9 ^b
3	G	8	7,5	7,5	7,6 ± 0,3 ^b
4	J	17	11	11,5	13,1 ± 3,3 ^b
5	K	16	11,5	13	13,8 ± 2,3 ^b
6	Kontrol +	16,5	14,5	17,5	16,1 ^c

Sumber: Data Primer

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama dan didampingi oleh huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

Berdasarkan analisis variansi (ANOVA) menunjukan bahwa kemampuan bakteri probiotik udang galah isolat F, G, J dan K tidak berbeda nyata untuk menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila*. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri probiotik untuk menghambat bakteri patogen *A. hydrophila* hampir sama. Kemampuan menghambat bakteri probiotik terhadap bakteri *A. hydrophila* ditandai dengan adanya daya hambat di sekeliling kertas cakram pada media uji efektivitas seperti yang terdapat pada Gambar 1.

**Gambar 1.** Hasil Uji Sensitivitas Metode Cakram

U1 (ulangan 1), U2 (ulangan 2), U3 (ulangan 3), K- (kontrol -), K+ (kontrol +), F (isolat F), G (isolat G), J (isolat J), K (isolat K)

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Daya hambat yang dihasilkan oleh probiotik terhadap bakteri *A. hydrophila* diduga karena kandungan bakteri probiotik menghasilkan asam-asam organik seperti laktat, asetat, formiat menyebabkan penurunan pH sehingga media tumbuh bakteri menjadi asam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila* tersebut, hal ini sesuai dengan

pendapat (Rahayu et al., 1999). Selain itu, adanya kandungan bakteriosin yang ada pada bakteri probiotik juga berperan dalam menghambat bakteri *A. hydrophila* karena bakteriosin bersifat stabil, sehingga aktivitas probiotik tidak terganggu walaupun pada suhu tinggi maupun suhu rendah (Sudirman I., 1996).

Sebagaimana menurut pendapat Eckner (1992) bahwa mekanisme kerja bakteriosin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* diawali dengan menempelnya molekul protein probiotik pada reseptor yang terdapat pada permukaan sel bakteri *A. hydrophila* kemudian masuk melalui dinding sel dan kontak dengan membran. Hal ini akan menyebabkan membran sitoplasma *A. hydrophila* menjadi tidak stabil, akibatnya viabilitas sel rendah dan menyebabkan keluarnya material yang terdapat dalam inti sel bakteri *A. hydrophila* sehingga sel menjadi mati.

Selain itu, target utama dari bakteriosin yang diproduksi bakteri probiotik sebagian besar adalah membran sitoplasma, karena bakteriosin memulai reaksi- reaksi yang mengubah permeabilitas membran sehingga mengganggu transpor membran atau menghilangkan tenaga gerak proton yang mengakibatkan terhambatnya produksi energi dan biosintesis protein atau asam nukleat (Nissen-Meyer et al., 1992).

Hasil uji sensitivitas yang diperoleh dari penelitian ini, yaitu sampel probiotik *Bacillus* sp. kode F menghasilkan daya hambat sebesar 9,7 mm, isolat G sebesar 7,6 mm, kode J dan K sebesar 13,1 mm dan 13,8 mm. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan probiotik jenis *Bacillus* sp. dalam menghambat bakteri *A. hydrophila* yang paling besar adalah *Bacillus* sp. isolat K sebesar 13,8 mm namun kemampuan bakteri *Bacillus* sp. ini belum bisa mengimbangi kemampuan novobiosin dalam menghambat bakteri *A. hydrophila* hal ini disebabkan karena novobiosin merupakan antibiotik yang memiliki sifat antibakterial. Sebagaimana menurut Brooks et al. (2005) antibiotik dapat menghambat bakteri patogen dengan cara memblokir ikatan asam amino pada rantai peptide yang mulai timbul pada uni 50S ribosom dengan mengganggu kerja peptidyl transferase. Akibatnya proses pertumbuhan dari mikroorganisme terganggu. Sedangkan kemampuan menghambat bakteri probiotik yang paling kecil adalah isolat G sebesar 7,6 mm.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Achmad et al. (2012) yang melaporkan bahwa, hasil uji sensitivitas isolat *Lactobacillus* sp. terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* dengan daya hambat sebesar 8,1 mm, *Citrobacter freundii* daya hambat sebesar 10,4 mm, *Enterobacter* sp. Sebesar 14,4 mm, *Eschericia coli* daya hambat sebesar 0 mm, *Klebsiella pneumoniae* sebesar 14,6 mm, *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0 mm, *Salmonella* sp. sebesar 0 mm, *Vibrio cholerae* sebesar 13,9 m, *Candida albicans* sebesar 0 mm. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa, bakteri probiotik jenis *Bacillus* sp. lebih efisien menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dari pada bakteri probiotik jenis *Lactobacillus* sp. perbedaan besarnya daya hambat tersebut diduga karena perbedaan jenis bakteri probiotik dan juga perbedaan komponen metabolit yang dihasilkan pada setiap bakteri probiotik tersebut (Yulinery et al., 2012).

Perbedaan kemampuan daya hambat tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan toleransi suhu, pH serta kandungan protein bakteri probiotik tersebut. sebagai mana Pelczar & Chan (1988) berpendapat bahwa faktor yang dapat mempengaruhi penghambatan dan pembasmian mikroba oleh bahan atau proses antimikrobia yaitu konsentrasi zat antimikroba, jumlah mikroba, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik, dan pH.

3.2 Hasil Pengenceran (*Tube Dillution Test*)

Berdasarkan hasil uji sensitivitas dengan menggunakan metode cakram diperoleh hasil bahwa bakteri probiotik isolat F, G, J dan K yang memiliki daya hambat, sehingga perlu dilanjutkan dengan metode dilusi atau pengenceran. Metode pengenceran bertujuan untuk

mengetahui konsentrasi minimum probiotik yang dapat menghambat dan membunuh bakteri patogen.

Kegiatan uji metode dilusi (*Dillution Test*) atau pengenceran digunakan untuk mengetahui MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) pada bakteri probiotik. MIC merupakan konsentrasi terendah bahan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan patogen sedangkan MBC adalah konsentrasi terendah bahan antibakteri yang dapat membunuh mikroorganisme patogen.

Adapun hasil dari uji sensitivitas bakteri probiotik jenis *Bacillus* sp. isolat F, G, J dan K terhadap bakteri patogen *A. hydrophila* terdapat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Jumlah Koloni *A. hydrophila* yang Tumbuh

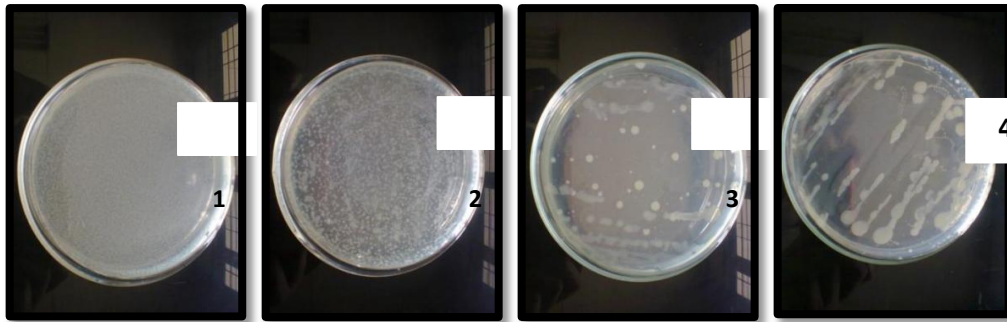
Kelompok Pengenceran	Σ Jumlah Koloni yang Tumbuh	Jumlah sel/mL
F 10^{-2}	0	0
F 10^{-4}	0	0
F 10^{-6}	38	38.000.000
F 10^{-8}	44	4.400.000.000
G 10^{-2}	0	0
G 10^{-4}	0	0
G 10^{-6}	31	31.000.000
G 10^{-8}	37	3.700.000.000
J 10^{-2}	0	0
J 10^{-4}	0	0
J 10^{-6}	53	53.000.000
J 10^{-8}	62	6200.000.000
K 10^{-2}	0	0
K 10^{-4}	0	0
K 10^{-6}	25	25.000.000
K 10^{-8}	31	3100.000.000

Sumber: Data Primer

Berdasarkan tabel 3 di atas hasil uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) terdapat pada pengenceran bakteri probiotik 10^{-8} , hal ini ditandai dengan tumbuhnya koloni bakteri *A. hydrophila* pada media uji tersebut, sehingga bakteri probiotik jenis *Bacillus* sp. dikategorikan bersifat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila* sebagaimana menurut pendapat Hadioetomo (1990) bahwa apabila koloni bakteri yang tumbuh sebanyak ≤ 300 koloni, sudah dikategorikan bersifat menghambat atau bersifat bakteriostatik (Rinawati, 2010).

Penentuan MBC dilakukan untuk menentukan konsentrasi terkecil bakteri probiotik yang memiliki daya bakterisidal dari bakteri probiotik terhadap bakteri patogen *A. hydrophila*. Nilai MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) dari bakteri probiotik ini adalah 10^{-4} yang ditandai dengan tidak ada koloni *A. hydrophila* yang tumbuh pada cawan petri yang mengandung bakteri probiotik tersebut.

Hasil uji MIC dan MBC ini menandakan bahwasannya bakteri probiotik udang galah ini pada pengenceran 10^{-8} bersifat bakteriostatik dan pada pengenceran 10^{-4} bersifat bakterisidal, hal ini sesuai dengan pendapat Yuhana *et al.* (2010) bahwa apabila pada medium agar teramati adanya pertumbuhan bakteri patogen berarti bakteri probiotik bersifat bakteriostatik, sedangkan apabila tidak ada pertumbuhan bakteri patogen berarti bersifat bakterisidal. Hasil MIC dan MBC dengan metode pengenceran dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil Koloni yang Tumbuh pada Isolat F

1) Pengenceran 10^{-2} ; 2) Pengenceran 10^{-4} ; 3) Pengenceran 10^{-6} , 4) Pengenceran 10^{-8}

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Hasil dari pengamatan koloni bakteri seperti pada gambar 10 di atas, terlihat bahwa pada media uji yang diisolasi dengan bakteri probiotik pengenceran 10^{-2} dan 10^{-4} tidak ada koloni bakteri *A. hydrophila* yang tumbuh. Hal ini menandakan bahwa pada pengenceran bakteri probiotik 10^{-2} dan 10^{-4} bakteri patogen *A. hydrophila* tidak mampu tumbuh atau pada pengenceran 10^{-2} dan 10^{-4} bakteri probiotik mempunyai sensitivitas menghambat pertumbuhan *A. hydrophila*.

Berbeda dengan hasil pengenceran 10^{-6} dan 10^{-8} terlihat adanya koloni bakteri yang tumbuh, hal ini menandakan bahwa bakteri *A. hydrophila* sudah mampu tumbuh karena bakteri probiotik sudah dilakukan pengenceran sebanyak 6 dan 8 kali sehingga konsentrasi bakteri probiotik semakin kecil. Hal ini membuktikan bahwa bakteri probiotik *Bacillus* sp. memiliki efektivitas menghambat pertumbuhan bakteri patogen *A. hydrophila*. Sebagai mana yang dilaporkan oleh Lusastuti (2012) telah diperoleh beberapa isolat probiotik anti *A. hydrophila* salah satunya adalah bakteri berjenis *Bacillus firmus*.

Bakteri probiotik *Bacillus* sp. memiliki sensitivitas menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* diduga karena bakteri *Bacillus* sp. merupakan bakteri probiotik. Hal ini sesuai dengan pendapat Fauziah et al. (2012) bahwa bakteri probiotik dapat membuat daya hambat disebabkan karena bakteri probiotik dapat menghasilkan produk seperti antibiotik, bakteriosin ataupun asam organik tertentu. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan dikarenakan satu atau kombinasi beberapa faktor seperti produksi antibiotik, bakteriosin siderophores, lisosom, proteinase dan hidrogen peroksida yang mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu.

Agen antibakteri seperti asam laktat dan bakteriosin yang dimiliki bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Sebagaimana menurut pendapat Tambekar & Bhutada (2010) bahwa agen antibakteri tersebut mampu menurunkan pH menjadi rendah sehingga bakteri patogen sulit untuk bertahan hidup.

Bakteri probiotik merupakan bakteri yang memiliki senyawa antimikroba. Adapun senyawa yang dihasilkan oleh bakteri tersebut selain asam-asam organik dan bakteriosin yang bersifat antimikroba diantaranya adalah hidrogen peroksida dan reuterin. Sebagaimana menurut Lindgren & Dobrogosz (1990) menyatakan bahwa, kandungan hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh probiotik mempunyai efek bakterisidal yang menyebabkan oksidasi yang kuat pada sel dan merusak struktur molekul dasar dari protein sel bakteri patogen *A. hydrophila*.

Efek antimikroba dari hidrogen peroksida adalah terjadinya keracunan hiperbari akibat perolaidasi lemak membran sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran sel. Sebagaimana menurut Dahl et al. (1989) bahwa efek bakterisidal yang dihasilkan dari metabolit oksigen tidak hanya mengoksidasi yang kuat terhadap sel-sel bakteri tetapi juga destruksi struktur molekuler dasar dari asam nukleat dan protein sel.

Hidrogen peroksida selain menghambat mikroorganisme dengan mekanisme di atas juga mampu bereaksi dengan senyawa lain membentuk senyawa yang mempunyai efek antimikroba yang disebut sistem lakto peroksida. Selain itu Talarico & Dobrogosz (1989) mengatakan bahwa, bakteri probiotik juga menghasilkan senyawa reuterin yang merupakan senyawa antimikroba yang mempunyai spektrum yang luas dan efektif terhadap bakteri Gram negatif, khamir, kapang dan protozoa. Senyawa ini menghambat enzim-enzim sulfhidril seperti ribonukleotidase duktase, atau enzim yang terlibat dalam biosintesa DNA.

4 SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri probiotik strain Riau yang diisolasi dari udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) memiliki sensitivitas menghambat pertumbuhan bakteri *A. hydrophila* dengan ukuran daya hambat terbaik terdapat pada isolat K dengan ukuran daya hambat terbesar, yaitu sebesar 13,8 mm dan ukuran daya hambat terkecil terdapat pada isolat G dengan daya hambat sebesar 7,6 mm serta memiliki nilai MIC terdapat pada pengenceran 10^{-8} dan nilai MBC pada pengenceran 10^{-4} .

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, F., Nurwantoro, N., & Mulyani, M. (2012). Daya kembang, total padatan, waktu pelelehan, dan kesukaan es krim fermentasi menggunakan starter *Saccharomyces cereviceae*. *Animal Agriculture Journal*, 1(2), 65–76.
- Anggreni, D., Feliatra, F., & Nursyirwani, N. (2015). Efektivitas bakteri probiotik dari udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) terhadap bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Vibrio alginolyticus* [Skripsi]. Universitas Riau.
- Boyd, R. F. (1995). *Basic medical microbiology*. Little, Brown.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2005). *Mikrobiologi kedokteran*. Salemba Medika.
- Dahl, T. A., Midden, W. R., & Hartman, P. E. (1989). Comparison of killing of gram-negative and gram-positive bacteria by pure singlet oxygen. *Journal of Bacteriology*, 171(4), 2188–2194. <https://doi.org/10.1128/jb.171.4.2188-2194.1989>
- Dinas Perikanan Jawa Barat. (2005). Laporan produksi perikanan air tawar Jawa Barat tahun 2004.
- Dwidjoseputro, D. (2010). *Dasar-dasar mikrobiologi* (Cetakan 17). Djambatan Press.
- Eckner, K. F. (1992). Bacteriocins and food applications. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 12, 204–209.
- Fauziah, P. N., Nurhajati, J., & Hrysanti, H. (2012). Penghambatan adhesi berbagai strain *Klebsiella pneumoniae* oleh *Lactobacillus bulgaris* dalam soyghurt secara in vitro pada Hep-2 cell lines dengan berbagai proses perlakuan infeksi [Skripsi]. Universitas Padjadjaran.
- Hadioetomo, R. S. (1990). *Mikrobiologi dasar dalam praktek: teknik dan prosedur dasar laboratorium*. PT Gramedia.
- Hasyimi, W., Lukistyowati, I., & Yoswaty, D. (2014). Bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*, de Man) berbasis teknik sekuens 16S rDNA [Skripsi]. Universitas Riau.
- Lindgren, S. E., & Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiology Letters*, 87(1–2), 149–164. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04885.x>
- Lukistyowati, I., & Kurniasih, K. (2012). Pelacakan gen aerolysin dari *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas yang diberi pakan ekstrak bawang putih. *Jurnal Veteriner*, 13, 43–50.
- Lusiastuti, A. M. (2012). Seleksi kandidat probiotik anti *Aeromonas hydrophila* untuk pengendalian penyakit ikan air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*, 7(2), 269–277. <https://doi.org/10.15578/jra.7.2.2012.269-277>

- Maturin, L. J., & Peeler, J. T. (1998). Aerobic plate count. In *Bacteriological analytical manual (BAM) Chapter 3* (pp. 17–26). Food and Drug Administration.
- Nissen-Meyer, J., Holo, H., Håvarstein, L. S., Sletten, K., & Nes, I. F. (1992). A novel lactococcal bacteriocin whose activity depends on the complementary action of two peptides. *Journal of Bacteriology*, 174(17), 5686–5692. <https://doi.org/10.1128/jb.174.17.5686-5692.1992>
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1988). *Dasar-dasar mikrobiologi* 2. UI – Press.
- Rahayu, E. S., Titiek, F. D., Mahyu, D., & Edi, S. (1999). Bakteri asam laktat pada makanan fermentasi tradisional. *Panduan Seminar Nasional Makanan Tradisional*.
- Rinawati, N. D. (2010). *Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (Crescentia cujete L.) Terhadap Bakteri Vibrio alginolyticus*.
- Sudirman I. (1996). *Pemanfaatan bakteri asam laktat penghasil bakteriosin sebagai starter unggul dan biopreservatif pada makanan*.
- Talarico, T. L., & Dobrogosz, W. J. (1989). Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by *Lactobacillus reuteri*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(5), 674–679. <https://doi.org/10.1128/AAC.33.5.674>
- Tambekar, D. H., & Bhutada, S. A. (2010). An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus* sp. From milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research in Science and Technology*, 2(10), 82–88.
- Yuhana, S. A., Jayanti, W. D., Purwitasari, A. T., Putri, L. W., & Kharisma, A. (2010). *Antibakterial ekstrak daun kemangi (Ocimum sanctum Linn) terhadap bakteri Aeromonas hydrophila secara in vitro*.
- Yulinery, T., Petria, I. Y., & Nurhidayat, N. (2012). Penggunaan antimikroba dari isolat *Lactobacillus* terseleksi sebagai bahan pengawet alami untuk menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. dan *Staphylococcus aureus* pada fillet ikan kakap. *Berkala Penelitian Hayati*, 15(1), 85–92.