

## Screening of Probiotic Bacteria Candidates in The Mangrove Tourism Area in Klawalu Sorong City West Papua

Sukmawati Sukmawati<sup>1\*</sup>, M Iksan Badaruddin<sup>2</sup>

Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan Universitas Muhammadiyah Sorong, Sorong, Papua Barat, Indonesia<sup>1,2</sup>

[\\*sukmawati.sw91@gmail.com](mailto:sukmawati.sw91@gmail.com)

**Abstract.** Probiotic bacteria is one of the biological control. It had a role inhibiting or killing pathogenic microorganisms. In addition, it also played a role in improving water quality as in fish maintenance media. The basic principle of probiotics was the utilization of the ability of microorganisms to increase absorption in the digestive tract of fish. Probiotic bacteria were able to produce antimicrobial compounds such as lactic acid, hydrogen peroxide, and bacteriocin. These compounds were antimicrobial and antibiotic that can suppress the growth of pathogenic bacteria. The purpose of this study is to isolation candidate probiotic bacteria from the mangrove tourism area in Klawalu, Sorong City, West Papua. The method that has been used is the method of isolation and purification, bacterial selection through screening of probiotic candidate bacteria using MRS selective media and using NA media. Isolation technique by pouring method while purification by streak method. The results of screening for probiotic bacteria candidates by using selective media, from 16 samples consisting of water samples and mud samples' obtained 11 positive samples, there were probiotic bacteria candidates with the bacterial morphological characteristics of each colony was almost similar.

Keywords: Mangrove Land, Probiotic Bacteria, Sorong City



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author.

### 1. PENDAHULUAN

Bakteri probiotik merupakan salah-satu agen pengendalian biologis (*biological control*) karena dalam menekan atau membunuh mikroorganisme patogen, dan meningkatkan kualitas air seperti pada media pemeliharaan ikan. Prinsip dasar probiotik ialah pemanfaatan kemampuan mikroorganisme dalam meningkatkan penyerapan pada saluran pencernaan ikan (Verschuere *et. al.*, 2000). Bakteri probiotik mampu menghasilkan senyawa-senyawa antimikroba seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Senyawa tersebut bersifat antimikrob dan antibiotik yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen (Kanmani *et. al.*, 2010).

Bakteri probiotik memiliki mekanisme pertahanan terhadap serangan penyakit. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk memperoleh kandidat yang paling efektif sebagai agen biokontrol yang diaplikasikan dalam bentuk probiotik (Irianto, 2003). Beberapa jenis bakteri sebagai kandidat probiotik yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti antara lain *Lactococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Bacillus* sp, *Eubacterium* sp, *Pseudomonas* sp, *Micrococcus* sp, dan *Bifidobacterium* sp. (Feliatra *et. al.*, 2004; Sukmawati, 2017).

Penelitian yang telah dilakukan Vine *et. al.*, (2004) menyatakan bahwa bakteri *Micrococcus* mampu hidup pada saluran pencernaan ikan, bersifat non patogen dan memberikan efek yang menguntungkan bagi ikan. Bakteri *Micrococcus* memiliki sifat yang menguntungkan maka dapat digunakan sebagai probiotik dalam mencegah penyakit pada ikan (Chiu *et. al.*, 2007). Menurut (Suwarsih, 2011). Bakteri *Lactobacillus* dan *Micrococcus* telah berhasil diisolasi dan berpotensi sebagai kandidat probiotik pada ikan, dan telah dilaporkan pula bahwa ikan lele terserang oleh bakteri patogen jenis *Aeromonas* (Gopalakannan, 2011). Berdasarkan uraian latar belakang maka perlu dilakukan skrining bakteri sebagai kandidat probiotik yang nantinya dapat di aplikasikan terhadap budidaya ikan. Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengisolasi dan menskrining kandidat bakteri probiotik pada kawasan wisata mangrove di Klawalu kota Sorong Papua Barat.

## **2. BAHAN DAN METODE**

### **2.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan memberikan penggambaran tentang objek yang diteliti yaitu bakteri probiotik yang berasal dari kawasan wisata mangrove di Klawalu kota Sorong Papua Barat.

### **2.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan yaitu: Tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, inkubator, gelas ukur, gelas kimia, botol pengencer, *vortex*, ose (jarum penanam), otoklaf, bunsen, pipet tetes, batang pengaduk, spoit, lemari pendingin. tempat sampel steril, dan bahan-bahan pengecatan gram.

Bahan yang digunakan yaitu: sampel air dan lumpur dari lahan mangrove (Sampel air dan sampel lumpur masing-masing sebanyak 8 sampel dan diambil dari titik yang berbeda), aquades, aluminium foil, kapas, alkohol 70%, media *Nutrient Agar* (NA), dan media *de Mann, Rogosa, Sharpe* (MRS).

### **2.3 Prosedur kerja**

Tahap Isolasi dan Pemurnian, seleksi bakteri melalui skrining bakteri kandidat probiotik dengan menggunakan media selektif MRS (*de Mann, Rogosa, Sharpe*) dan menggunakan media umum Nutrient agar (NA) untuk tahap persiapan pengecatan gram. Teknik isolasi bakteri dengan cara tuang (*pour methode*). Sedangkan, pemurnian isolat

dengan cara teknik isolasi goresan (*streak methode*), dan selanjutnya dilakukan uji pengecatan gram dengan menggunakan larutan cristal violet, aseton, iodin, dan alkohol 90% .

## 2.4 Analisa Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif. Analisa ini dilakukan untuk mengetahui adanya kandidat bakteri probiotik yang diisolasi dari kawasan wisata mangrove di Klawalu kota Sorong Papua Barat.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari skrining kandidat bakteri probiotik dengan menggunakan media selektif, dari 16 sampel yang terdiri dari sampel air dan sampel lumpur diperoleh 11 sampel yang positif terdapat kandidat bakteri probiotik dengan ciri-ciri dari tiap koloni tersebut hampir seragam yang mana isolate tersebut masing-masing mampu tumbuh pada media selektif MRS (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil skrining kandidat bakteri probiotik yang diisolasi dari kawasan wisata mangrove di Klawalu kota Sorong Papua Barat

No	Jenis Sampel	Jumlah koloni (Cfu/mL)	Bentuk koloni	Warna koloni	Tepian koloni	Elevasi koloni	Bentuk sel	Pewarnaan gram
1	SA 1	0	-	-	-	-	-	-
2	SA 2	0	-	-	-	-	-	-
3	SA 3	$0.3 \times 10^2$	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	batang	Positif (ungu)
4	SA 4	$0.1 \times 10^2$	Tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Datar	batang	Positif (ungu)
5	SA 5	0	-	-	-	-	-	-
6	SA 6	0	-	-	-	-	-	-
7	SA 7	0	-	-	-	-	-	-
8	SA 8	$0.5 \times 10^2$	Bundar	Putih susu	Tak beraturan	Timbul	coccus	Positif (ungu)
9	SL 1	$1.8 \times 10^2$	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	coccus	Positif (ungu)
10	SL 2	$1.4 \times 10^2$	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	batang	Positif (ungu)

11	SL 3	1.1 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	batang	Positif (ungu)
12	SL 4	1.2 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu, kuning	Tak beraturan	Timbul, datar	Batang, coccus	Positif (ungu)
13	SL 5	0.8 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	coccus	Positif (ungu)
14	SL 6	0.7 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	coccus	Positif (ungu)
15	SL 7	1.6 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	batang	Positif (ungu)
16	SL 8	2.3 x 10 <sup>2</sup>	Bundar, dan tak beraturan	Putih susu	Tak beraturan	Timbul, datar	batang	Positif (ungu)

Catatan: \*SA (Sampel air); \*SL (Sampel lumpur)

Hasil skrining bakteri probiotik dari sampel air di kawasan wisata mangrove di Klawalu kota Sorong Papua Barat diperoleh sebanyak berdasarkan 8 sampel air yang diujikan, hanya diperoleh 2 sampel yang positif mengandung bakteri probiotik. Sedangkan pada 8 sampel lumpur yang diisolasi keseluruhan dari sampel tersebut mengandung bakteri probiotik.

Karakteristik morfologi koloni bakteri probiotik yang telah diisolasi menunjukkan ciri-ciri yang seragam, yang mana bentuk koloni rata-rata bundar dan tak beraturan. Selain itu warna koloni, tepian koloni, dan elevasi koloni berturut-turut menunjukkan karakteristik dengan warna putih susu, tepian tak beraturan, dan elevasi timbul serta datar. Sedangkan untuk bentuk sel dan hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa dari kesebelas sampel yang berhasil diisolasi memiliki bentuk sel berupa batang serta berbentuk bola (coccus), dan merupakan bakteri gram positif.

Berdasarkan pengamatan karakteristik morfologi bakteri probiotik yang telah diisolasi hal tersebut didukung dengan hasil-hasil penelitian sebelumnya yang terkait dengan penelitian ini. Menurut Feliatra *et al.*, (2004) ciri-ciri bakteri probiotik dari genus *Bacillus* mempunyai ciri-ciri warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat dengan tepian keriput, bentuk sel berbentuk batang dan lurus, pewarnaan sel gram positif, bersifat motil, katalase dan oksidase positif, metil red negatif, optimum pada suhu 30-37 °C. sedangkan Menurut Holt *et al.*, (1994) *Bacillus* sp. termasuk bakteri gram positif dan biasanya motil oleh flagel peritric.

Genus *Lactococcus* memiliki ciri-ciri morfologi diantaranya warna koloni putih susu bentuk koloni bundar, sel berbentuk coccus, termasuk gram positif, dan tidak motil. Kemampuan untuk menghasilkan katalase dan oksidase adalah negatif, sedangkan uji metil red positif. Suhu optimum pertumbuhan bakteri genus tersebut ialah 30-37 °C (Dali, 2013).

Genus *Carnobacterium*, bakteri yang mendekati genus tersebut memiliki ciri-ciri morfologi dengan warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat, tepian tak beraturan, sel batang, merupakan bakteri gram positif, motil, oksidase negatif, katalase negatif (Yulvizar, 2013). Genus *Staphylococcus*, bakteri jenis ini memiliki ciri-ciri warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat, tepian timbul, sel coccus dan termasuk bakteri gram positif (Effendi *et. al.*, 2014).

Genus *Lactobacillus* memiliki warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat dengan tepian seperti wol. Sel berbentuk batang dan merupakan bakteri gram positif (Sunaryanto *et. al.*, 2014). Genus *Eubacterium*, bakteri dengan jenis tersebut memiliki ciri-ciri warna koloni putih susu, bentuk koloni tidak beraturan, dan menyebar, termasuk bakteri gram positif, bentuk sel batang, katalase negatif, dan oksidase positif (Taufik, 2004)

Genus *Bifidobacterium*, memiliki ciri-ciri warna koloni putih susu, bentuk koloni bulat dengan tepian tak beraturan. Sel berbentuk batang termasuk bakteri gram positif, tidak bersifat motil, katalase negatif, oksidase positif, metil red positif, suhu optimum pertumbuhan pada suhu 30-37°C (Mulyani *et. al.*, 2008). Genus *Micrococcus* mempunyai ciri-ciri morfologi dengan warna koloni kuning, bentuk koloni bulat tepian timbul. Sel berbentuk coccus, bakteri gram positif, tidak motil, katalase positif, dan oksidase negatif (Feliatra *et. al.*, 2004).

Genus *Pseudomonas* bakteri genus ini memiliki ciri-ciri morfologi yakni warna koloni agak kekuningan, termasuk gram negatif, dan sel berbentuk batang, bersifat fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif, dari keseluruhan jenis bakteri probiotik dari berbagai genus memiliki suhu optimum pertumbuhan, pada suhu 30-37°C (Yulvizar, 2013)

Macam-macam bakteri probiotik diantaranya ialah *Pseudomonas bromoutilis* yang mampu memproduksi antibiotik 2, 3, 4 tribromo-5 (1, hidroksi-2, 4 , -dibromophenil) pyrole, yang dapat menghambat perkembangan bakteri patogen seperti *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Microbacterium tuberculosis* (Dalahi & Subekti, 2014). Selain daripada itu Menurut (Iribarren *et. al.*, 2012), penambahan bakteri *Pseudomonas fluorescens* AH2 dapat menekan kematian akibat vibriosis pada ikan rainbow trout dan secara in vitro memiliki sifat antagonistik terhadap *Aeromonas salmonicida* (Panigrahi *et. al.*, 2005; Gopalakannan *et al.*, 2011).

Bakteri *Bifidobacterium* sp. antagonistik terhadap bakteri patogen dan bakteri yang merugikan dalam saluran pencernaan seperti *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhosa*, sebab bakteri tersebut memproduksi zat-zat yang bersifat asam

lemak rantai pendek terutama asam asetat dan laktat, dan dapat menghasilkan zat yang bersifat antibiotik (Nursyirwani *et. al.*, 2011). Sedangkan bakteri *Bacillus toyoi* memiliki kemampuan dalam menekan bakteri patogen pada ternak komersial (Zurmiati *et. al.*, 2014). Selain daripada itu beberapa contoh jenis bakteri-bakteri probiotik yang telah banyak diaplikasikan pada budidaya air tawar, air payau dan air laut antara lain *Basillus subtilis* (Keysami *et al.*, 2007; Keysami *et al.*, 2012; Mohapatra *et al.*, 2012), *Basillus* sp. (Boonthai *et al.*, 2011; Sukmawati, 2017), *Enterococcus faecium* (Olafsen, 2001), *Basillus licheniformis*, *B. coagulans*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Lactobasillus acidophilus* (Wang, 2011), *Lactococcus lactis* dan *Saccharomyces cerevisiae* (Beauty *et al.*, 2012; Wardani *et. al.*, 2013).

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa dari 16 sampel yang diisolasi terdapat 11 sampel terdeteksi sebagai kandidat bakteri probiotik, yang mana sebanyak 3 sampel dari air dan 8 sampel dari lumpur. Karakteristik morfologi bakteri probiotik yang telah terdeteksi memiliki ciri-ciri yang hampir seragam mulai dari warna koloni bentuk sel hingga hasil pewarnaan gram sel bakteri tersebut.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan penelitian yang didanai oleh Kementerian Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi melalui program hibah penelitian dosen pemula (PDP) pendanaan tahun 2019.

#### Daftar Pustaka

- Beauty G, Yustiani A & Grandiosa R. (2012). Pengaruh Dosis Mikroorganisme Probiotik pada Media Pemeliharaan Terhadap Kelangsungan Hidup dan Pertumbuhan Benih Mas Koki (*Carrassius auratus*). *J. perikanan dan kelautan*, 3(3):1-6.
- Boonthai T, Vuthiphandchai V & Nimrat S. (2011). Probiotic Bacteria Effects on Growth and Bacterial Composition of Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*). *J. Aqua Nutrition*, 17:634-644.
- Chiu C H, Guu Y K, Liu CH, Pan T M & Cheng W. (2007). Immune Responses and Gene Expression in White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, Induced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Fish and Shellfish Immun*, 23(1):364-377.

- Dalahi F & Subekti S A. (2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang terdapat pada Saluran Pencernaan Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) dengan Pemberian Pakan Komersil yang Berbeda [Isolation and Identification Of Bacterial In The Digestive Organ Of Gurami Fish (*Osphronemus gouramy*) With Different Commercial Feed]. *J. ilmiah perikanan dan kelautan*, 6(1), 87-92.
- Dali F A. (2013). Karakterisasi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi Selama Fermentasi Bakasang. *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(2).
- Effendi F, Roswiem A P & Stefani E. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *FITOFARMAKA J. Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1-9.
- Feliatra, Efendi I & Suryadi E. (2004). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. *Jurnal Natur Indonesia*, 6(2), 75-80.
- Gopalakannan A & Arul V. (2011). Inhibitory Activity of pPobiotic *Enterococcus Faecium* MC13 Against *Aeromonas hydrophila* Confers Protection Against Hemorrhagic Septicemia in Common Carp *Cyprinus carpio*. *J. Aqua Intern*, 19:973-985.
- Holtj G, Kreig N R, Sneath P H A, Stanley J T & Williams S T. (1994). *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. Baltimore: Williamn and Wilkins Baltimore.
- Irianto A. (2003). *Probiotik Akuakultur*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Iribarren D, Daga P, Moreira M T & Feijoo G. (2012). Potential Environmental Effects of Probiotics Used in aquaculture. *J. Aqua Intern*, 20:779-789.
- Kanmani P, Kumar R S, Yuvaraj N, Paari K A, Pattukumar V & Arul V. (2010). Comparison of Antimicrobial Activity of Probiotic Bacterium *Streptococcus phocae* P180, *Enterococcus faecium* MC13 and *Carnobacterium divergens* Against Fish Pathogen. *World J. of Dairy and Food Scie*, 5(2): 145-151.
- Keysami M A, Mohammad P M & Saad C H. (2012). Probiotics Activity of *Bacillus subtilis* in Juveniles Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) at Different Methods of Administration to The Feed. *J. Aqua Intern*, 20:499-511.
- Keysami M A, Saad C R, Sijam K, Daud H M & Alimon A. R. (2007). Effects of *Bacillus subtilis* on Growth Development and Survival of Larvae *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *J. Aqua Nutrition*, 13:131-136.
- Mohapatra S, Chakraborty T, Prusty A K, Das P, Paniprasad K & Mohanta K N. (2012). Use of Different Microbial Probiotics in The Diet of Rohu, *Labeo rohita* Fingerlings; Effects on Growth, Nutrient Digestibility and Retention, Digestive Enzyme Activities and Intestinal Microflora. *J. Aqua Nutrition*, 18:1-11.
- Mulyani S, Legowo A M & Mahanani A A. (2008). Viabilitas Bakteri Asam Laktat, Keasaman dan Waktu Pelelehan Es Krim Probiotik Menggunakan Starter *Lactobacillus Casei* dan *Bifidobacterium bifidum*. *J. Indon. Trop. Anim. Agric*, 33(2), 120-125.
- Nursyirwani W, Asmara, A E T H & Wahyuni Triyanto. (2011). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dan Potensinya Sebagai Antivibrio. *J. Ilmu Kelautan*, 16 (2):70-77.

- Olafsen J A. (2001). Interaction Between Fish Larvae and Bacteria in Marine Aquaculture. *Aquaculture*, 200: 223-243.
- Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, Kobayashi T & Satoh S. (2005). The Viability of Probiotic Bacteria as Factor Influencing The Immune Response in Rain Brow Trout *Onchorynchus mykiss*. *J. Aquaculture*, 243: 241-254.
- Sukmawati, S. (2017). Identify Of Floc-Forming Bacteria In Shrimp Pond In Pangkep District. *Bioscience*, 1(2), 13-20.
- Sunaryanto R, Martius E & Marwoto B. (2014). Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* Sebagai Agensia Probiotik. *J. Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 1(1), 9-14.
- Suwarsih. (2011). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan. *J. Prospektus*, 9(1): 48-55.
- Taufik E. (2004). Dadih susu sapi hasil fermentasi berbagai starter bakteri probiotik yang disimpan pada suhu rendah: Karakteristik kimiawi. *Media Peternakan*, 27(3).
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P & Verstraete W. (2000). Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiol Mol Biol Rev*, 64: 655–671.
- Vine N G, Leukes W D, Kaiser H, Daya S, Baxter J & Hecht T. (2004). Competition for Attachment of Aquaculture Candidate Probiotic and Pathogenic Bacteria on Fish Intestinal Mucus. *J. Fish Dis*, 27(1)319-326.
- Wang Y. (2011). Use of Probiotics *Bacillus coagulans*, *Rhodopseudomonas palustris* and *Lactobacillus acidophilus* as Growth Promoters in Gass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Fingerlings. *J. Aqua Nutrition*, 17:372-378.
- Wardani B A, Sari A & Sarjito. (2013). Inventarisasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Probiotik dari Usus Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *J. of Aqua Management and Technology*, 2 (1): 75-86.
- Yulvizar C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*, 6(02).
- Zurmiati Z, Mahata M E, Abbas M H & Wizna W. (2014). Aplikasi Probiotik untuk Ternak Itik. *J. Peternakan Indonesia*, 16(2), 134-144.