

JURNAL

**KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI CINCALUK
SECARA MOLEKULER DENGAN ANALISIS SEKUENS 16S rRNA**

OLEH

**PUTRI AYU
1404119093**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2018**

KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT DARI CINCALUK SECARA MOLEKULER DENGAN ANALISIS SEKUENS 16S rRNA

Oleh:

Putri Ayu ¹⁾, Nursyirwani ²⁾, Feliatra ²⁾

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau
putri.ayuu02@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang sering digunakan sebagai probiotik dalam budidaya perikanan karena dapat memberikan efek positif terhadap kesehatan, menekan bakteri patogen serta meningkatkan pertumbuhan ikan. BAL dapat ditemui pada produk fermentasi ikan seperti Cincaluk yang banyak diproduksi di Tembilahan dan Bengkalis, Provinsi Riau. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi BAL yang terdapat pada Cincaluk Tembilahan dan Bengkalis secara genetik. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2018. Identifikasi bakteri yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi, karakteristik biokimia dan sekuens 16S rRNA. Sebanyak 24 isolat BAL mempunyai bentuk bundar, berwarna putih susu, bersifat Gram positif, tidak menghasilkan indol, memiliki katalase, bersifat *non* motil, menggunakan citrat, menghasilkan *Methyl Red*, menghasilkan H₂S dan gas dan mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, sukrosa dan laktosa). Berdasarkan identifikasi bakteri dengan sekuens 16S rRNA, diketahui bahwa lima dari enam isolat BAL teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* (homologi 97-100%) dan satu isolat adalah *Bacillus cereus* (homologi 94%)

Kata Kunci: Karakteristik, Bakteri Asam Laktat, Cincaluk, Genetik, Sekuens 16S rRNA

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM CINCALUK BASED ON 16S rRNA SEQUENCE

By:

Putri Ayu ¹⁾, Nursyirwani ²⁾, Feliatra ²⁾

Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau
putri.ayuu02@gmail.com

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) is a group of bacteria frequently used as probiotic in aquaculture because of its beneficial effects on health, pathogenic bacteria prevention and increase of fish growth. LAB could be found in fermented fish products such as Cincaluk that is produced by people in Tembilahan and Bengkalis of Riau Province. The purpose of this research was to characterize LAB isolated from Cincaluk Tembilahan and Bengkalis genetically. This research was conducted from February until May 2018. Bacterial isolates were identified based on morphology, biochemical characters and 16S rRNA sequence. 24 isolates found were round, creamy white, Gram positive, did not produce indole, produced catalase, non motil, used citrate, did Methyl Red, produced H₂S and gas, glucose, sucrose and lactose were fermented. Based on 16S rRNA sequence. Five of six isolates selected were identified as *Lactobacillus plantarum* (97-100% similarites) and one isolate was *Bacillus cereus* (94%)

Keyword: Characteristic, Lactid Acid Bacteria, Cincaluk, Genetic, 16S rRNA sequence

¹⁾ Student of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

²⁾ Lecturer of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

PENDAHULUAN

Peningkatan produksi budidaya perikanan, baik kualitas maupun kuantitasnya, sangat diperlukan dalam rangka menjamin ketahanan dan keamanan pangan dari gizi ikan dan non ikan. Pangan tidak hanya sekedar untuk memenuhi rasa kepuasan, meningkatkan status, tapi pangan juga harus memberikan efek kesehatan bagi tubuh. Penggunaan probiotik telah banyak diaplikasikan pada budidaya perikanan dan memberikan efek positif terhadap kesehatan, menekan bakteri patogen serta meningkatkan pertumbuhan ikan. Probiotik yang banyak digunakan pada budidaya perikanan berasal dari kelompok bakteri asam laktat (BAL).

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk mikroorganisme dengan substrat dan lingkungan hidup yang sangat luas, baik di perairan, tanah, lumpur, maupun batuan. BAL dapat menempel pada jasad hidup lain seperti tanaman, hewan serta manusia. Pada manusia, sejumlah BAL ditemukan di usus, aliran darah, paru-paru serta mulut (Setyorini, 2010).

Marlinda *et al.* (2016) BAL merupakan bakteri yang memiliki peran penting dalam proses fermentasi bahan organik. Peranannya dalam proses fermentasi menghasilkan produk pangan dengan karakteristik dan citarasa yang berbeda dibanding bahan pangan segar. Produk hasil fermentasi menggunakan kultur BAL umumnya tidak mudah mengalami kerusakan pangan dan memiliki umur simpan yang relatif lebih lama. Hendriani *et al.* (2009) produk fermentasi BAL adalah senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikroba antara

lain asam organik (asam laktat dan asam asetat), diasetil, hidrogen peroksida (H_2O_2), karbon dioksida (CO_2) serta senyawa peptida antimikroba yang disebut bakteriosin.

BAL dapat ditemui pada produk-produk fermentasi tradisional hasil perikanan seperti peda, bekasam, terasi dan cinaluk. Cinaluk merupakan makanan fermentasi tradisional yang berasal dari Malaka. Cinaluk juga berkembang di Provinsi Riau dan telah lama diproduksi oleh masyarakat di Kabupaten Bengkalis dan Indragiri Hilir (Tembilahan) yang diproduksi dari udang-udang kecil.

Penelitian Dian (2016) menemukan sebanyak 12 isolat BAL yang berhasil diisolasi dari cinaluk Bengkalis. Semua isolat yang diuji memiliki daya hambat terhadap bakteri patogen seperti *Vibrio alginolyticus* dan *Aeromonas hydrophila*. Namun dari hasil penelitian tersebut belum diketahui jenis-jenis BAL yang terdapat pada cinaluk Bengkalis. Disamping itu, BAL dari cinaluk yang diproduksi di Tembilahan juga belum diketahui jenisnya.

Untuk mengetahui jenis BAL yang dapat berpotensi sebagai probiotik dari cinaluk Bengkalis dan Tembilahan diperlukan isolasi dan karakterisasi secara molekuler dengan analisis sekuens 16S rRNA. Analisis ini dilakukan dengan menganalisis struktur atau susunan basa nukleotida DNA yang terdapat di daerah 16S rRNA. Penelitian bertujuan untuk mengkarakterisasi BAL yang terdapat pada cinaluk secara genetik serta dapat digunakan dalam bidang teknologi pangan dan

sebagai probiotik dalam budidaya perikanan.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Laut Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan. Kemudian dilanjutkan dengan identifikasi DNA bakteri dengan Teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dilakukan di Laboratorium Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode survei, cincaluk segar dijadikan objek pengamatan dalam isolasi dan identifikasi bakteri.

Isolasi dan Kultur Murni Bakteri

Sampel cincaluk sebanyak 1 g dihaluskan menggunakan mesin blender, kemudian dimasukkan kedalam larutan fisiologis (NaCl 0,9%) untuk memperoleh pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Setiap pengenceran diulang sebanyak tiga kali. Sebanyak 0,1 ml disebarluaskan pada cawan petri yang berisi media MRS Agar dengan metode agar sebar (*Spread plate*) dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° C. Koloni bakteri yang tumbuh direinokulasikan secara berulang dan dilakukan dengan metode goresan (*Streak method*) pada permukaan medium MRS Agar GYP + CaCO_3 , kemudian diinkubasi selama 24-48 jam untuk melihat zona

jernih (*Clear zone*) disekitar koloni bakteri.

Setelah diperoleh isolat BAL, selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri berdasarkan pengamatan morfologi koloni, sifat fisiologis dan uji biokimia. Sifat fisiologis dan biokimia yang dilakukan adalah uji pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji citrat, uji *Methyl Red*, uji TSIA dan uji sulfida.

Karakterisasi Bakteri dengan Metode PCR 16S rRNA

Koloni bakteri asam laktat (BAL) yang telah dimurnikan ditumbuhkan pada media cair *de Mann Rogosa Sharpe* (MRS) Broth. Proses karakterisasi bakteri dengan metode PCR 16S rRNA diawali dengan Isolasi DNA BAL, selanjutnya elektroforesis DNA untuk melihat keberadaan DNA total bakteri. Setelah pita DNA diperoleh kemudian dilakukan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk mereplikasi pita DNA hingga mencapai 1500 bp.

Isolat DNA yang telah di PCR kemudian dikirim ke *First base* Malaysia untuk dilakukan proses Purifikasi dan Sequencing. Hasil dari sequencing dianalisis BLAST untuk melihat spesies bakteri yang didapat melalui penelusuran website pada situs *Genbank* NCBI, kemudian dilihat tingkat homolog terhadap sequence bakteri yang terdaftar pada *Genbank*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi bakteri disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif, didukung dengan studi literatur dan hasil-hasil penelitian terdahulu. Sedangkan data

yang diperoleh dari hasil sekuensing 16S rRNA dianalisis dengan sistem BLAST dengan mencocokkan bakteri uji dengan sekuens DNA bakteri melalui penelusuran website <http://www.ncbi.nih.nlm.gov/> dengan aplikasi Mega.06 dan Bioedit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Asam Laktat

Hasil isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari cinaluk Tembilihan dan Bengkalis pada media MRS Agar setelah dilakukan pemurnian ditemukan sebanyak 24 isolat dengan ukuran, warna, bentuk yang hampir sama dari setiap bakteri. Penambahan 0,5 % CaCO_3 kedalam media tumbuh bakteri bertujuan untuk menetralsir asam organik yang dihasilkan oleh BAL dalam proses fermentasi agar pH medium dapat dipertahankan sehingga terbentuk zona jernih disekitar koloni BAL (Gambar 1)



Gambar 1. Pertumbuhan bakteri asam laktat pada media GYP + CaCO_3

Pada Gambar 1 dapat dilihat adanya zona jernih disekitar koloni sehingga diduga isolat tersebut termasuk kedalam kelompok BAL. Bakteri tersebut tumbuh pada pH 5-7. Bakteri yang tumbuh pada pH 3-8 adalah salah satu ciri bakteri dari kelompok BAL yang sering digunakan sebagai probiotik.

Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri menunjukkan hampir tidak ada perbedaan diantara semua isolat BAL tersebut. Hasil pengamatan morfologi isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Morfologi Isolat BAL dari Cinaluk Tembilihan

No	Kode Isolat	Diameter (mm)	Warna	Bentuk	Tepian	Elevasi
1	ISO 1T	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
2	ISO 2T	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
3	ISO 3T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
4	ISO 4T	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
5	ISO 5T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
6	ISO 6T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
7	ISO 8T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
8	ISO 9T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
9	ISO 10T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
10	ISO 11T	3,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
11	ISO 12T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
12	ISO 13 T	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul

Tabel 2. Morfologi Isolat BAL dari Cinaluk Bengkalis

No	Kode Isolat	Diameter (mm)	Warna	Bentuk	Tepian	Elevasi
1	ISO 1B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
2	ISO 2B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
3	ISO 3B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
4	ISO 4B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
5	ISO 5B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
6	ISO 6B	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
7	ISO 7B	3,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
8	ISO 8B	3,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
9	ISO 9B	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
10	ISO 10B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
11	ISO 11B	1,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul
12	ISO 12B	2,0	Putih susu	Bundar	Licin	Timbul

Berdasarkan Tabel 1 dan 2 morfologi isolat BAL cinaluk Tembilihan dan Bengkalis didapatkan diameter terbesar 3,0 mm dan terkecil 1,0 mm , berwarna putih susu dan pada umumnya berbentuk bundar. Semua isolat BAL memiliki tepian licin dan elevasi yang timbul.

Sesuai dengan penelitian Dian (2016) pada umumnya semua koloni BAL berbentuk bundar

dengan diameter 1,0 – 3,0 mm, dan berwarna putih susu. Semua isolat memiliki pinggiran licin dan permukaan yang timbul.

Karakteristik Biokimia Bakteri Asam Laktat

Setelah dilakukan pengamatan morfologi, kemudian dilakukan pengamatan biokimia terhadap isolat BAL. Hasil karakteristik biokimia BAL dari cincaluk Tembilaan dan Bengkalis dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Karakteristik Biokimia Isolat BAL dari Cincaluk Tembilaan

No	Nama Isolat	Gram	Katalase	Motilitas	Indol	Citrat	Uji TSIA			MR	H ₂ S
							G	L	S		
1	ISO 1T	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
2	ISO 2T	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
3	ISO 3T	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-
4	ISO 4T	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
5	ISO 5T	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
6	ISO 6T	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
7	ISO 8T	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
8	ISO 9T	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
9	ISO 10T	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
10	ISO 11T	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-
11	ISO 12T	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
12	ISO 13T	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-

Keterangan:
 + : Uji bersifat Positif - : Uji bersifat Negatif
 G : Glukosa L : Laktosa
 S : Sukrosa

Karakteristik biokimia BAL yang diisolasi dari cincaluk Tembilaan menunjukkan bahwa semua isolat bakteri Gram positif dan umumnya bersifat katalase positif (+). Sebanyak 5 isolat bersifat motil, semua isolat BAL tidak memiliki indol (-), sebanyak 4 isolat BAL memiliki citrat, 4 isolat menghasilkan sulfida (+) dan semua isolat memiliki *Methyl Red* (+). Berdasarkan hasil uji TSIA, sebanyak 10 isolat mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa).

Tabel 4. Karakteristik Biokimia Isolat BAL dari Cincaluk Bengkalis

No	Nama Isolat	Gram	Katalase	Motilitas	Indol	Citrat	Uji TSIA			MR	H ₂ S
							G	L	S		
1	ISO 1B	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
2	ISO 2B	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
3	ISO 3B	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-
4	ISO 4B	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
5	ISO 5B	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
6	ISO 6B	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
7	ISO 7B	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
8	ISO 8B	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-
9	ISO 9B	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
10	ISO 10B	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
11	ISO 12B	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
12	ISO 13B	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+

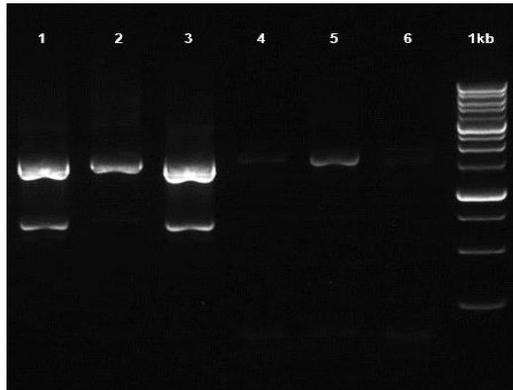
Keterangan:
 + : Uji bersifat Positif - : Uji bersifat Negatif
 G : Glukosa L : Laktosa
 S : Sukrosa

Berdasarkan Tabel 4 karakteristik biokimia BAL yang diisolasi dari cincaluk Bengkalis, semua isolat BAL bersifat Gram positif. Sebanyak 6 isolat BAL memiliki katalase positif (+), 2 isolat BAL bersifat motil (+), semua isolat BAL tidak memiliki indol (-), 10 isolat BAL tidak memiliki citrat (-), 3 isolat BAL menghasilkan sulfida (+), 1 isolat tidak memiliki *Methyl Red* (-). Hasil uji TSIA, sebanyak 9 isolat mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa) dan 3 isolat hanya mampu memfermentasi laktosa dan sukrosa.

Elektroforesis DNA Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil elektroforesis DNA total dan hasil produk PCR menggunakan Gel Agarose 1% dan larutan TBE 1x. Hasil elektroforesis produk PCR dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah

ini



Gambar 2. Hasil Elektroforesis Produk PCR 16S rRNA

Keterangan :

- Lajur 1 : Sampel 1B
- Lajur 2 : Sampel 4B
- Lajur 3 : Sampel 7B
- Lajur 4 : Sampel 1T
- Lajur 5 : Sampel 8T
- Lajur 6 : Sampel 9T
- Lajur 7 : Marker DNA 1 kb ladder

Hasil elektroforesis produk PCR menunjukkan bahwa sebagian besar pita yang dihasilkan adalah pita tunggal dan terlihat tebal. Selain itu masih terlihat adanya *smear* tipis pada beberapa pita DNA. Hal ini menandakan bahwa masih adanya materi-materi yang tidak terdegradasi pada dinding sel isolat.

Menurut Mulyani (2011) *smear* tersebut bisa merupakan sisa dari larutan-larutan yang masih terbawa selama proses isolasi atau juga dapat berupa DNA yang terdegradasi pada proses isolasi. Elektroforesis memisahkan DNA berdasarkan bobot molekul dan muatannya dengan menggunakan media pemisah.

Besar ukuran pita DNA isolat bakteri asam laktat sekitar 1500 bp. Feliatra (2012) menyatakan Hasil uji molekuler dengan amplifikasi DNA PCR universal isolat bakteri probiotik menghasilkan pita tunggal dengan ukuran sekitar 1500 bp (*base pare*) sesuai dengan perbandingan

menggunakan marker DNA. Besarnya ukuran ini sesuai dengan ukuran yang diharapkan dari gen 16s rRNA bakteri yaitu 1500 -1600 bp. Amplifikasi 16S rRNA telah menjadi standar untuk mempelajari filogenetik dan keanekaragaman dari mikroorganisme laut.

Sekuensing DNA dan Analisis BLAST Isolat Bakteri Asam Laktat

Sekuensing isolat bakteri menggunakan primer 24F: 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CT-3' dan 1541R: 5'-AAG GAG GTC CAG CCG CA-3' dengan suhu *Annealing* 50° C. Hasil dari squensing kemudian dianalisis BLAST dengan memasukkan fasta kesitus <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) dilakukan untuk melihat nama spesies, tingkat homologi DNA hasil dari sekuens masing-masing isolat dengan basis data yang sudah ada di *GenBank*. Hasil identifikasi masing-masing isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dapat dilihat pada Tabel 5 dan pohon filogenetik isolat bakteri disajikan pada Gambar 3.

Tabel 5. Hasil Identifikasi BAL dari Cincaluk melalui BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*)

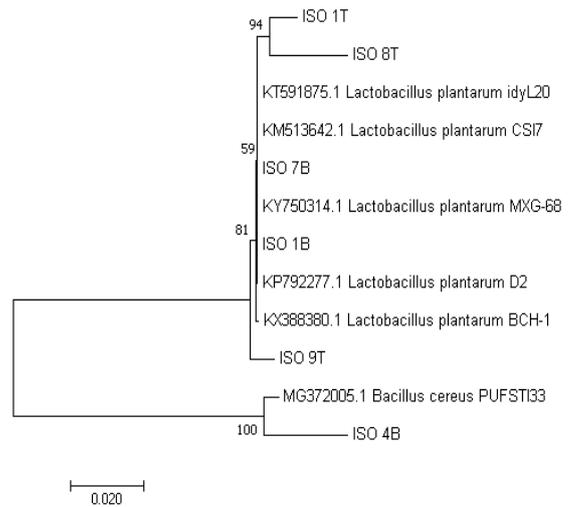
Isolat	Spesies	Strain	Kode Akses	Query Coverage	Homologi
1B	<i>Lactobacillus plantarum</i>	D2	KP792277.1	100%	100%
4B	<i>Bacillus cereus</i>	PUFSTI33	MG372005.1	99%	94%
7B	<i>Lactobacillus plantarum</i>	MXG-68	KY750314.1	100%	99%
1T	<i>Lactobacillus plantarum</i>	BCH-1	KX388380.1	100%	98%
8T	<i>Lactobacillus plantarum</i>	CSI7	KM513642.1	100%	97%
9T	<i>Lactobacillus plantarum</i>	idyL20	KT591875.1	100 %	98%

Sumber : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Berdasarkan hasil pensejajaran (*alignment*) sekuen isolat bakteri terhadap sekuen bakteri pembanding terdapat beberapa isolat yang memiliki variasi nukleotida yang berbeda. Isolat 1B menunjukkan tidak terdapat variasi nukleotida yang berbeda dengan *Lactobacillus plantarum* strain D2 dengan jumlah basa 1425 dari 1425 basa. Perbedaan antara sekuen isolat 4B dengan *Bacillus cereus* PUFSTI33 ditemukan sebanyak 80 variasi nukleotida yang berbeda, dengan jumlah 1330 sekuen yang sama dari 1410 basa. Isolat 7B memiliki jumlah basa yang sama dengan *L. plantarum* strain MXG-68 sebanyak 1415 dari 1422 basa, dapat disimpulkan terdapat 7 variasi nukleotida yang berbeda antara sekuen isolat dengan sekuen pembandingnya.

Jumlah basa nukleotida isolat 1T yang sama dengan *L. plantarum* strain BCH-1 adalah 1411 dari 1444 basa, dapat disimpulkan terdapat 33 variasi nukleotida yang berbeda antara sekuen isolat dengan sekuen pembandingnya. Isolat 8T memiliki jumlah basa yang sama dengan *L. plantarum* strain CSI7 sebanyak 1069 dari 1101 basa, maka dapat disimpulkan terdapat 32 variasi nukleotida yang berbeda antara sekuen isolat dengan sekuen pembandingnya. Adapun untuk isolat 9T memiliki jumlah basa yang sama dengan *L. plantarum* strain idyL20 sebanyak 509 dari 519 basa, disimpulkan terdapat 10 variasi nukleotida yang berbeda antara sekuen isolat dengan sekuen

pembandingnya



Gambar 3. Pohon filogenetik isolat bakteri asam laktat dari Cincaluk

Berdasarkan hasil analisis BLAST dengan merujuk pada *GenBank* menunjukkan semua isolat bakteri memiliki nilai homologi 94-100%. Menurut Hagstrom *et al.* dalam Feliatra (2011) menyatakan bahwa isolat yang mempunyai persamaan homologi lebih dari 97% dapat mewakili pada tingkat spesies yang sama. Persamaan homologi antara 93%-97% dapat mewakili identitas pada tingkat genus tetapi berbeda pada tingkat spesies. Sedangkan jika bahwa 93% kemungkinan spesies baru yang urutan basa nitrogennya belum masuk dalam database *Gen Bank*.

ISO 1B memiliki tingkat homologi 100% dengan *L. plantarum* strain D2, 7B memiliki tingkat homologi 99% dengan *L. plantarum* strain MXG-68, 1T memiliki tingkat homologi 98% dengan *L. plantarum* strain BCH-1, 8T memiliki tingkat homologi 97% dengan *L. plantarum* strain CSI7, 9T memiliki tingkat homologi 98% dengan *L. plantarum* strain idyL20. Kelima isolat menunjukkan tingkat homologi $\geq 97\%$ yang berarti memiliki

kekerabatan sampai pada tingkat spesies dengan *L. plantarum*. Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dan uji biokimia semua isolat umumnya memiliki karakteristik Gram positif, katalase negatif dan non motil. Bentuk koloni bundar, tepian koloni licin, elevasi koloni timbul dan warna koloni putih susu. Bersifat indol negatif, uji MR positif dan umumnya semua isolat mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa).

Pernyataan ini sesuai dengan Setioningsih *et al. dalam* Zubaidah *et al.* (2010) *L. plantarum* adalah bakteri berbentuk batang dan bulat dengan ukuran 0,5-1,5 s/d 1,0-10 μ m dan tidak bergerak (*non motil*). Bakteri ini bersifat Gram positif, katalase negatif, aerob atau fakultatif anaerob, mampu mencairkan gelatin, cepat mencerna protein, tidak mereduksi nitrat, toleran terhadap asam, dan mampu memproduksi asam laktat. *L. plantarum* merupakan salah satu jenis BAL homofermentatif dengan temperatur optimal lebih rendah dari 37°C (Frazier dan Westhoff, 1988) dan memiliki pH optimum 5,3 hingga 5,6 (namun tetap dapat tumbuh pada pH 9,6).

Lactobacillus diketahui mempunyai kemampuan metabolisme dalam mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Kondisi asam ini menyebabkan bakteri patogen dan bakteri pembusuk terhambat. Selain itu, dapat meningkatkan sekresi enzim proteolitik (kecernaan pakan) dalam saluran pencernaan (Yuriana *et al.*, 2017).

ISO 4B memiliki tingkat homologi 94% dengan bakteri *Bacillus cereus* strain PUFSTI33. Hal tersebut menandakan bahwa

isolat 4B memiliki tingkat homologi hanya sampai tingkat genus. Berdasarkan hasil identifikasi morfologi dan uji biokimia isolat 4B merupakan suatu bakteri dari genus *Bacillus* dengan ciri biokimia yaitu bakteri Gram positif dan non motil. Bentuk koloni bundar, tepian koloni licin, elevasi koloni timbul dan warna koloni putih susu. Indol negatif, uji MR positif dan isolat ini mampu memfermentasi ketiga gula (glukosa, laktosa dan sukrosa).

Bacillus sp. memiliki sel berbentuk batang, bersifat gram positif, menghasilkan spora, mampu memfermentasi karbohidrat, mampu mendegradasi amilum, protein dan selulosa dan tumbuh pada suhu 40°C dan pH 7-9 (Sumardi *et al.*, 2012)

Hasil penelitian Rajikkannu *et al.* (2015) pemberian *Bacillus* spp. dengan konsentrasi dan dosis yang tepat mampu meningkatkan jumlah sel darah merah dan kadar hemoglobin darah, hal ini diyakini sebagai salah satu indikator peningkatan kemampuan ikan dalam menyuplai nutrisi ke seluruh tubuh dan perbaikan jaringan, sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan ikan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Sebanyak 24 isolat bakteri asam laktat (BAL) diperoleh dari cincaluk Tembilahan dan Bengkalis. Enam isolat yang dipilih teridentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* dan *Bacillus cereus*. ISO 1B memiliki kemiripan DNA dengan *L. plantarum* strain D2, 4B dengan *Bacillus cereus* strain PUFSTI33, 7B dengan *L. plantarum* strain MXG-68, ISO 1T dengan *L. plantarum* strain BCH-1, 8T dengan *L. plantarum*

strain CSI7, dan ISO 9T dengan *L. plantarum* strain idyL20.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk meneliti metabolit primer maupun sekunder yang dihasilkan dari enam isolat BAL tersebut sehingga dapat diaplikasikan dan dimanfaatkan sebagai probiotik dalam bidang perikanan, bioteknologi dan teknologi pangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Dian, V.B.P. 2016. Isolation and identification of lactic acid bacteria from cicaluk and the activity against bacteria *Vibrio alginolyticus* and *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Riau. Pekanbaru.
- Feliatra, T.Nugroho., T. Silalahi., and S.Y.Octavia. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp. asli indonesia sebagai penyebab penyakit udang berbasis Teknik 16S Ribosomal DNA. Jurnal Ilmu dan teknologi Kelautan Tropis Vol 3(2) :85-99.
- Feliatra, Y. Fitria., dan Nursyirwani. 2012. Antagonis bakteri probiotik yang diisolasi dari lambung ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) terhadap bakteri patogen. Jurnal Perikanan dan Kelautan Vol 17(1) : 16-25
- Hendriani, R., T. Rostinawati., dan S.A.F. Kusuma. 2009. Penelusuran antibakteri bakteriosin dari bakteri asam laktat dalam yoghurt asal Kabupaten Bandung Barat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Laporan Akhir Penelitian Peneliti Muda (LITMUD) UNPAD. Universitas Padjadjaran: Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Kepada Masyarakat
- Marlinda, Y., Harnentis., and Nurmiati. 2016. Dadih for glutamic acid production as precursor of γ -amino butyric Acid (GABA) induced heat stress in broiler. International Journal of Pharm Tech Research Vol 9(12): 536-542.
- Mulyani, Y., A. Purwanto dan I. Nurruhwati. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolat DNA untuk Deteksi Dini Koi Herpes Virus (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Jurnal Universitas Padjadjaran Vol. 2(1).
- Rajikkannu M., N. Natarajan., P. Santhanam., B. Deivasigamani., J. Ilamathi and S. Janani. 2015. Effect of probiotics on the haematological parameters of Indian major carp (Labeo rohita). International Journal of Fisheries and Aquatic Studies Vol 2(5): 105-109.
- Setyorini, A. I. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat (bal) dari susu formula balita yang berpotensi menghasilkan senyawa antimikroba. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.

Yuriana, L. 2017. Pengaruh Starin *Lactobacillus* terhadap laju pertumbuhan dan efisiensi pakan lele masamo (*Clarias* sp.) tahap pendederan dengan I dengan sistem bioflok sebagai sumber biologi. Tesis. Jurusan pendidikan Biologi UM Metro.

Zubaidah, E., N. Aldina, dan F.C. Nisa. 2010. Studi Aktivitas Antioksidan Bekatul dan Susu Skim Terfermentasi Bakteri Asam Laktat Probiotik (*Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*). Universitas Brawijaya. Malang.