

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA BAKTERIOSIN DARI BAKTERI
PROBIOTIK YANG DIISOLASI DARI UDANG WINDU
(*Penaeus monodon Fabricus*)**

**TEST OF BACTERIOCIN ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROBIOTIC
BACTERIA ISOLATED FROM TIGER SHRIMP
(*Penaeus monodon Fabricus*)**

Anita R Sidabutar¹ Feliatra² Andi Dahliaty³

Marine Science Department, Faculty of Fisheries and Marine Science,
University of Riau Pekanbaru, Riau Prvince
anitasidabutar702@gmail.com

ABSTRACT

Probiotic bacteria is a type of lactic acid bacteria (BAL) that produces compound of bacteriocin antimicrobial. Research to analyzed the bacteriocin of 5 probiotic bacterial from isolates tiger shrimp (*Penaeus monodon Fabricus*). The bacteriocin product contained in 2 forms, that i.e. without precipitation (extract bacteriocin) and with precipitation (fragment bacteriocin) used ammonium sulfate $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Bacteriocin will be tested activity against pathogen bacterial that cause fish disease was is *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas stutzeri*. Inhibitory activity test conducted using paper disc diffusion method. Inhibitory activity bacteriocin with precipitation showed inhibition was higher the biggest than without precipitation. Fragment bacteriocin (BC) with precipitation had inhibitory activity or AU (Activity Unit) i.e. 881,71 mm^2/ml at UWH9 isolate toward bacteria test *A. hydrophila* and *P. stutzeri*. The biggest Inhibitory activity of extract bacteriocin (CR) without precipitation was 365,65 mm^2/ml at UWH10 isolate toward bacteria test *P. stutzeri*.

Keywords: Bacteriocin, Pathogen bacterial, Precipitation, Inhibitory activity

-
1. Student at Faculty of Fishery and Marine Science University of Riau
 2. Lectures at Faculty at Fishery and Marine Science University of Riau
 3. Lectures at Faculty of Science and Mathematics University of Riau

PENDAHULUAN

Problema efisiensi budidaya pada dunia perikanan sudah ada sejak lama dan masih ada sampai sekarang. Menurut Feliatra *et al.*, (2012) kehadiran jenis bakteri patogen seperti *Vibrio* sp, *Aeromonas* sp, dan *Pseudomonas* sp akan menyebabkan penyakit pada ikan budidaya sehingga perlu diantisipasi untuk pencegahannya. Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk mencegah bakteri patogen yang menginfeksi ikan yaitu dengan menggunakan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba dapat diperoleh dari tanaman, hewan atau dihasilkan oleh mikroba yang umumnya dikenal dengan istilah biopreservatif.

Bahan alami yang telah digunakan dan diuji aman diantaranya adalah bakteriosin yang dapat dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). Bakteriosin adalah komponen ekstraseluler berupa peptida atau senyawa berupa protein antimikroba yang memperlihatkan suatu respon berlawanan terhadap bakteri tertentu (Jagadesswari, 2010). Menurut Sukarya (2009) bakteriosin sangat potensial untuk dikembangkan sebagai zat pengawet makanan karena sifatnya yang tidak berbahaya bagi kesehatan manusia, dan dapat membunuh bakteri pembusuk serta patogen terhadap bahan pangan. Awalnya bakteriosin diketahui hanya memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroba penghasil bakteriosin tersebut. Namun, penelitian lebih lanjut menunjukkan adanya beberapa jenis bakteriosin yang dihasilkan dari spesies mikroba tertentu yang memiliki aktivitas antimikroba yang lebih luas. Di luar negeri telah dikenal bakteriosin komersial seperti Nisin yang dihasilkan oleh *Lactococcus lactis* yang telah digunakan pada produk perikanan.

Bakteri probiotik mampu berperan sebagai imunostimulan, meningkatkan rasio konversi pakan, mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri patogen, menghasilkan antibiotik, serta peningkatan kualitas air (Watson *et al.*, 2008). Salah satu jenis probiotik yang dihasilkan bakteri adalah bakteriosin. Produksi bakteriosin dihasilkan dari bakteri probiotik yang diisolasi dari saluran pencernaan udang windu (*P. monodon Fabricius*). Udang windu (*P. monodon Fabricius*) termasuk komoditas ekspor yang diminati dalam sektor perikanan di Indonesia karena udang merupakan sumber protein hewani yang bermutu tinggi. Udang windu (*P. monodon Fabricius*) yang dimanfaatkan sebagai sumber makanan dapat juga digunakan sebagai penghasil bakteri probiotik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-April 2015 di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan serta di Laboratorium Riset Enzim, Fermentasi dan Biomolekuler Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.

Peralatan yang digunakan autoklaf, spektrofotometer, *vortex mixer*, *shaking incubator*, *waterbath*, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, *eppendorf*, sentrifus, pipet mikro, jangka sorong dan peralatan standar lainnya yang sesuai dengan prosedur kerja di laboratorium.

Bahan yang digunakan 5 isolat bakteri probiotik UWH1, UWH2, UWH8, UWH9, dan UWH10 dari udang windu (*P. monodon Fabricus*), isolat bakteri patogen *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, dan *P. stutzeri* yang merupakan koleksi di Laboratorium Mikrobiologi Laut Fakultas Perikanan Universitas Riau, media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), Amonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, larutan buffer, kertas cakram 6 mm, dan bahan-bahan kimia lainnya yang digunakan sesuai dengan prosedur kerja di laboratorium.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen, yaitu dengan menganalisis bakteriosin dari isolat bakteri probiotik udang windu (*P. monodon Fabricus*) dan menguji aktivitas antimikroba bakteriosin terhadap bakteri patogen *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *P. stutzeri*. Uji aktivitas bakteriosin dilakukan dengan metode difusi kertas cakram dengan melihat dan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram pada semua mikroba uji.

Media cair untuk produksi bakteriosin

Sebanyak satu ose isolat bakteri probiotik diinokulasikan secara aseptis pada 50 mL media *nutrient broth* (NB) dalam erlenmeyer 100 mL kemudian diberi label starter dan diinkubasi pada suhu ruang 37°C kecepatan 150 rpm selama 24 jam di dalam *shaking incubator*.

Media cair yang digunakan untuk produksi bakteriosin adalah media *Nutrient Broth* dengan volume 300 mL. Media disterilisasi di dalam autoklaf pada tekanan 15 lb, 121°C selama 15 menit. Ke dalam media diinokulasikan sebanyak 10% inokulum starter 50 mL bakteri probiotik yang sebelumnya telah diinkubasi selama 24 jam dengan OD (*Optical Density*) 0,08-0,1 setara 10^7 CFU/mL (Martins *et al.*, 2011). Media tersebut lalu di fermentasi dengan *shaking incubator* pada kecepatan 150 rpm, selama ± 24 jam pada suhu 37°C .

Isolasi ekstrak bakteriosin

Ekstrak bakteriosin diisolasi dari media cair yang sudah difermentasi selama 24 jam dengan *shaking inkubator* pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm. Media produksi didinginkan di dalam lemari pendingin selama ± 1 jam pada suhu $5-10^\circ\text{C}$. Setelah itu, media disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C . Ekstrak bakteriosin disaring dengan menggunakan *glasswool*. Ekstrak bakteriosin hasil penyaringan sebanyak 20 mL disimpan untuk diuji aktivitas bakteriosinnya.

Fragmentasi bakteriosin

Bakteriosin ± 280 mL diendapkan dari media dengan penambahan amonium sulfat $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sedikit demi sedikit yang dilakukan dalam keadaan dingin ($5-10^\circ\text{C}$) sambil diaduk hingga mencapai tingkat kejenuhan 80%. Bakteriosin yang diendapkan disimpan dalam suhu dingin selama 24 jam. Endapan yang terbentuk lalu dipisahkan dari filtrat dengan sentrifugasi dalam keadaan dingin suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh, ditambahkan larutan buffer *phosphate* 0,05 M pH 7,0. Setelah itu, bakteriosin yang diperoleh dimasukkan ke

dalam *effendorf* dan disimpan di lemari pendingin dan digunakan pada saat uji aktivitas bakteriosin.

Uji Aktivitas Bakteriosin

Uji aktivitas bakteriosin dengan metode difusi kertas cakram didapatkan zona bening yang terbentuk disekitar cakram. Sebanyak 1 mL inokulum patogen OD 0,08-0,1 setara 10^7 CFU/mL (Martins *et al.*, 2011) diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang mengandung media NA cair sebanyak 15 mL lalu divortex. Campuran media berisi bakteri patogen dituang kedalam cawan petri dan dibiarkan memadat.

Ekstrak bakteriosin (CR) dan fragmen bakteriosin (BC) sebanyak 50 μ L ditetaskan pada kertas cakram steril berdiameter 6 mm. Kontrol positif yang digunakan adalah amoxan 50 μ L dan kontrol negatifnya adalah NB steril 50 μ L. Kertas cakram diletakkan diatas media NA yang mengandung bakteri uji (*V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *P. stutzeri*). Diameter zona bening aktivitas bakteriosin yang dihasilkan di sekitar kertas cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37 °C. Aktivitas hambat cairan terhadap bakteri indikator diindikasikan sebagai AU (*Activity Unit*). Satu AU/mL merupakan luas daerah hambat per satuan volume sampel bakteriosin yang diuji (mm^2/mL). Aktivitas bakteriosin dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas bakteriosin (mm}^2/\text{mL)} = \frac{Lz-Ls}{V} \text{ (Usmiati dan Marwanti, 2007)}$$

Keterangan:

Lz = Luas zona bening (mm^2/mL)

Ls = Luas kertas cakram (mm^2/mL)

V = Volume sampel (mL)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rata-rata diameter zona bening yang merupakan hasil dari uji aktivitas bakteriosin terhadap bakteri uji dilakukan perhitungan untuk mengetahui aktivitas hambat bakteriosin. Rata-rata diameter zona bening pada setiap isolat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata Ukuran Diameter Zona Bening

Isolat	Bakteri uji	Rata-rata Ukuran Diameter Zona Bening (mm)			
		+	-	CR	BC
UWH1	<i>V. alginolyticus</i>	9,4	0	6,9	7,6
	<i>A. hydrophila</i>	9,7	0	7,5	9,3
	<i>P. stutzeri</i>	8,3	0	6,6	7,2
UWH2	<i>V. alginolyticus</i>	8,7	0	7,1	8,8
	<i>A. hydrophila</i>	8,1	0	7,4	7,5
	<i>P. stutzeri</i>	8,6	0	7,4	8,3
UWH8	<i>V. alginolyticus</i>	14,5	0	7,2	8,4
	<i>A. hydrophila</i>	9,2	0	7,0	8,7
	<i>P. stutzeri</i>	11,5	0	6,7	8,8
UWH9	<i>V. alginolyticus</i>	13,4	0	6,6	8,6
	<i>A. hydrophila</i>	10,8	0	7,3	9,6
	<i>P. stutzeri</i>	8,8	0	6,9	9,6
UWH10	<i>V. alginolyticus</i>	19,7	0	7,5	8,9
	<i>A. hydrophila</i>	14	0	7,2	8,9
	<i>P. stutzeri</i>	8,2	0	7,7	8,5

Sumber: Data Primer

Keterangan:

+ : Kontrol positif (Amoxan)

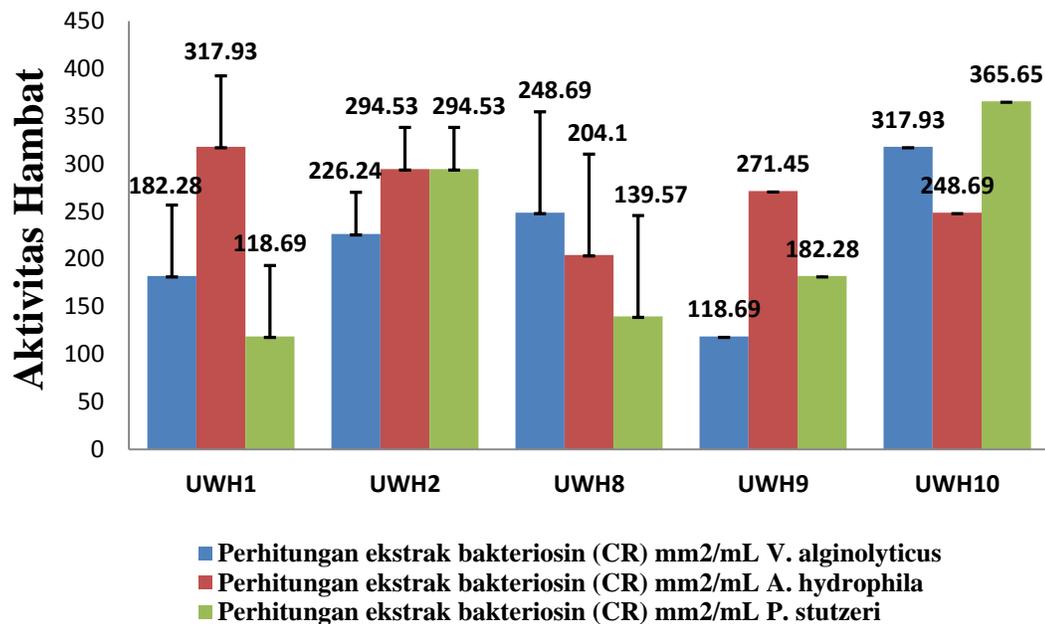
- : Kontrol negatif (NB steril)

CR: Ekstrak bakteriosin

BC: Fragmen bakteriosin

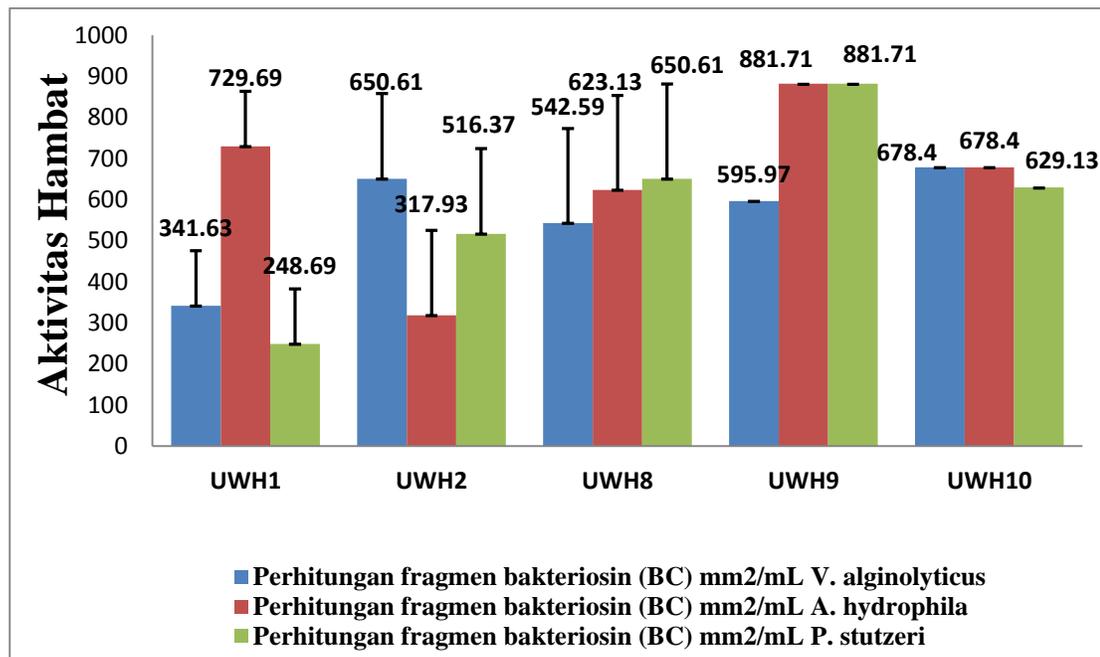
Aktivitas Hambat Ekstrak Bakteriosin (CR) dan Fragmen Bakteriosin (BC)

Hasil perhitungan aktivitas hambat ekstrak bakteriosin (CR) dan fragmen bakteriosin (BC) dapat dilihat dari besarnya diameter zona bening bakteriosin terhadap mikroba patogen *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, *P. stutzeri*. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Diagram Aktivitas Hambat Ekstrak Bakteriosin (CR)

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui aktivitas hambat ekstrak bakteriosin terbesar yaitu 365,65 mm²/mL terdapat pada isolat UWH10 terhadap bakteri uji *P. stutzeri* dan aktivitas hambat terkecil yaitu 118,69 mm²/mL terdapat pada isolat UWH1 dengan bakteri uji *P. stutzeri* dan terdapat juga pada isolat UWH9 terhadap bakteri uji *V. alginolyticus*.



Gambar 2. Diagram Aktivitas Hambat Fragmen Bakteriosin (BC)

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat aktivitas hambat fragmen bakteriosin terbesar yaitu 881,71 mm²/mL terdapat pada isolat UWH9 terhadap bakteri uji *A. hydrophila* dan *P. stutzeri*. Aktivitas hambat terkecil yaitu 248, 69 mm²/mL terdapat pada isolat UWH1 terhadap bakteri uji *P. stutzeri*.

Pembahasan

Bakteriosin dapat diproduksi dari isolat bakteri probiotik dari udang windu antara lain UWH1, UWH2, UWH8, UWH9, dan UWH10. Bakteri probiotik merupakan salah satu jenis bakteri asam laktat (BAL), dimana BAL menghasilkan senyawa antimikroba yaitu bakteriosin. BAL adalah bakteri yang mampu memfermentasikan karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar. Menurut Khoiriyah *et al.*, (2014) pemanfaatan bakteri asam laktat (BAL) dalam industri pangan telah dikenal secara luas sebagai kultur starter (fermentasi) dan pengawet pangan. Bakteri asam laktat menghasilkan senyawa antimikroba antara lain senyawa asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin.

Pada penelitian ini bakteriosin diproduksi dari bakteri probiotik hasil isolasi dari usus udang windu. Romadhon (2012) mengatakan dalam penelitiannya bahwa kelebihan bakteriosin dari usus udang karena udang mencari makan di dasar perairan (*benthic*) dan udang merupakan hewan pemakan segala macam bangkai (*omnivorous scavenger*) atau pemakan detritus dan karnivora yang memakan krustacea kecil, *amphipoda*, dan *polychaeta* sehingga dalam ususnya banyak mengandung BAL. Menurut Buntin *et al.*, (2008) mengatakan bahwa air tawar dan air laut merupakan sumber dari BAL sehingga usus udang dan binatang lain dalam air merupakan tempat penyimpanan alami bagi BAL.

Beberapa penelitian tentang BAL dari usus udang telah banyak dilaporkan. BAL jenis *Lactobacillus plantarum* dari usus udang windu (*P. monodon Fabricus*) berhasil diisolasi oleh (Karthikeyan dan Santosh, 2009). Sebanyak 202 isolat bakteri asam laktat diisolasi dari usus udang antara lain jenis *Litopenaeus vannamei*, *Metapenaeus brevicornis* dan *Penaeus merguensis* (Kongnum dan Hongpattarakere, 2012). Romadhon (2012) menemukan isolat unggulan yaitu *Pediococcus acidilactici* yang menghasilkan BAL yang diisolasi dari udang.

Kammani *et al.*, (2010) mengatakan bahwa salah satu karakteristik bakteri probiotik yaitu memiliki ketahanan yang tinggi terhadap asam. Sari (2015) mengatakan dalam penelitiannya bakteri probiotik yang diisolasi dari udang windu (*P. monodon Fabricus*) terdapat 2 isolat bakteri probiotik pada pH 2 dan 4. Masing-masing dari isolat bakteri probiotik memiliki ciri morfologi yang berbeda-beda. Menurut Erlangga (2014) ketahanan pH 2 oleh bakteri probiotik yang diisolasi dari udang windu (*P. monodon Fabricus*) merupakan indikator BAL (bakteri probiotik). Sifat asam digunakan sebagai penghambat pertumbuhan mikroba asing.

Produksi bakteriosin dari bakteri probiotik dilakukan dengan metode fermentasi *shaking incubator*. Fermentasi adalah proses secara aerob maupun anaerob yang menghasilkan berbagai produk dengan melibatkan aktivitas mikroba terkontrol. Menurut Romadhon (2012), tipe fermentasi bakteri asam laktat (BAL) meliputi homofermentatif yaitu yang hasil fermentasinya hanya asam laktat dan

heterofermentatif yang hasil fermentasinya di samping asam laktat ada asam organik lainnya seperti asetat, gas CO₂, dan etanol.

Menurut Afriani (2010) proses fermentasi mengakibatkan aktivitas mikroba meningkat, penurunan pH, dan peningkatan kadar asam dalam produk fermentasi. Media produksi bakteriosin yang digunakan adalah media cair *Nutrient Broth* (NB) dengan volume 300 mL untuk satu kode isolat bakteri. Usmiati dan Marwati (2007) mengatakan dalam penelitiannya secara teoritis kultur SCG 1223 menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang relatif tinggi karena ditumbuhkan dalam media *Nutrient Broth* (NB) yang mengandung sumber karbon yang cukup untuk dimanfaatkan secara optimal dalam aktivitas metabolismenya.

Aktivitas Bakteriosin

Pengamatan aktivitas hambat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteriosin dalam menghambat bakteri target. Menurut Pelczar dan Chan (1986) tanda-tanda suatu media ditumbuhi mikroba diantaranya adalah jika tampak ada kekeruhan, semakin besar zona bening maka semakin kuat daya hambat bakteriosin. Besarnya aktivitas hambat bakteriosin dari bakteri probiotik isolat UWH1, UWH2, UWH8 UWH9, UWH10 diuji dengan metode difusi kertas cakram atau metode cakram Kirby Bauer (Harmita, 2011). Setelah dilakukan uji aktivitas bakteriosin, semua isolat bakteri penghasil bakteriosin menghasilkan zona bening di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan respon adanya zona hambat hambat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Rata-rata ukuran zona bening fragmen bakteriosin dan ekstrak bakteriosin kode UWH1, UWH2, UWH8, UWH9, dan UWH10 masih dikategorikan sedang dengan daerah hambatan 5-10 mm (Hidayati, 2009).

Pada hasil uji aktivitas fragmen bakteriosin dan ekstrak bakteriosin ditemukan adanya zona bening dan zona keruh pada beberapa media uji, seperti pada isolat UWH8 yang terhadap pada bakteri *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, dan *P. stutzeri*. Zona bening yang terbentuk diartikan adanya hambatan oleh aktivitas bakteriosin. Sedangkan zona keruh diindikasikan bahwa bakteri patogen resisten terhadap bakteriosin sehingga bakteriosin tidak mampu lagi menghambat aktivitas bakteri patogen yang disebabkan oleh konsentrasi pemberian bakteriosin tidak seimbang dalam arti lebih sedikit dari jumlah sel bakteri patogen, jenis bakteri patogen, dan lamanya waktu inkubasi bakteriosin terhadap media uji.

Pada penelitian (Akhdiya dan Susilowati, 2008) mengatakan bahwa proses produksi bakteriosin dengan persentase inokulum 10% telah dihasilkan aktivitas supernatan netral bebas sel yang menggambarkan adanya aktivitas hambat bakteriosin terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Listeria monocytogenes*. Sebagian besar isolat-isolat tersebut membentuk zona hambat yang jernih, walaupun ada beberapa isolat yang zona hambatnya keruh (tidak jernih). Zona hambat yang jernih dapat disebabkan oleh produksi antibakteri yang bersifat bakterisida (membunuh bakteri uji), sedangkan zona yang keruh karena antibakteri yang dihasilkan bersifat bakteriostatik (hanya menghambat perkembangan bakteri uji). Intensitas kejernihan zona hambat juga dapat dipengaruhi oleh kuantitas senyawa antibakteri yang diekskresikan.

Berdasarkan hasil uji aktivitas, semua perlakuan bakteriosin menghasilkan zona hambat untuk fragmen bakteriosin antara 248,69 mm²/mL sampai 881,71 mm²/mL. Untuk ekstrak bakteriosin antara 118,69 mm²/mL sampai dengan 365,65 mm²/mL. Aktivitas hambat terbaik bakteriosin terhadap bakteri patogen diperoleh setelah dilakukan fragmentasi bakteriosin (BC). Menurut Akhdiya dan Susilowati (2008) dalam penelitiannya pemanenan protein antibakteri bakteriosin yang dihasilkan isolat bakteri dilakukan dengan teknik presipitasi protein menggunakan amonium sulfat pada 80%. Endapan protein yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya, dan menunjukkan aktivitas hambat yang lebih baik dibandingkan dengan tanpa pengendapan.

Isolat bakteri UWH1 yang telah diindikasikan bakteri *B. subtilis*, isolat UWH9 merupakan bakteri *B. cereus* dan isolat UWH2 dan UWH8 termasuk dalam genus *Bacillus*. Menurut Lee *et al.*, (2010) banyak spesies dari genus *Bacillus* mampu menghasilkan zat antimikroba seperti bakteriosin, substansi yang mirip bakteriosin dan antibakterial lipopeptida. Beberapa bakteriosin dan substansi mirip bakteriosin yang diproduksi oleh genus *Bacillus* telah dilaporkan seperti *B. brevis* AF01 memproduksi brevecin AF01 (Faheem *et al.*, 2007), *B. cereus* memproduksi cerein (Naclerio *et al.*, 1993), *B. thuringiensis* BMG1.7 memproduksi thuricin 7 (Cherif *et al.*, 2001) dan *B. subtilis* memproduksi subtilin (Danapathi *et al.*, 2008) serta subtilisin A (Thennarasu *et al.*, 2005).

Bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri probiotik isolat UWH9 menghasilkan aktivitas hambat terbesar yang diindikasikan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri probiotik *B. cereus*. Menurut Feliatra *et al.*, (2012) mengatakan dalam penelitiannya bahwa bakteri *B. cereus* memberikan respon positif yaitu terbentuknya hambatan yang terjadi pada pertumbuhan bakteri *Aeromonas* sp dan *Vibrio* sp, respon ini terlihat dengan terbentuknya zona yang terputus oleh adanya pertumbuhan bakteri *B. cereus*, artinya bakteri *B. cereus* yang ditemukan dapat menghambat bakteri *Aeromonas* sp dan *Vibrio* sp.

Berbeda dengan hasil penelitian Romadhon (2012) menemukan aktivitas hambat terbesar yang dihasilkan BAL yang diisolasi dari udang windu yaitu 51,805 mm²/mL dengan bakteri indikator yang diujikan adalah bakteri *Pediococcus accidilactici*. Menurut Usmiati dan Marwati (2007) pada penelitiannya menemukan isolat BAL *Lactobacillus* sp SCG 1223 dengan daya hambat bakteriosin terhadap *Escherichia coli* 2767 mm²/mL, terhadap *Salmonella thypimurium* 2072 mm²/mL, dan terhadap *Listeria monocytogenes* 1648 mm²/mL.

Menurut Usmiati *et al.*, (2009) kemampuan bakteriosin menghambat bakteri tergantung dari spesies bakteri penghasil bakteriosin dan jenis bakteri uji. Perbedaan aktivitas hambat dikarenakan bakteriosin mempunyai aktivitas hambat terhadap bakteri yang spesifik, dan biasanya mempunyai hubungan kekerabatan (filogenik) dekat dengan bakteri penghasil bakteriosin tersebut. Selain itu, aktivitas hambat tergantung perbedaan jenis dinding sel bakteri yang dihambat, yang berpengaruh pada ketahanan suatu bakteri terhadap zat antimikroba, karena perbedaan struktur dinding selnya.

Menurut Chotiah (2013) mekanisme utama bakteriosin bervariasi, yaitu pembentukan pori dalam membran sitoplasma atau penghambatan biosintesis dinding sel dan aktivitas enzim (RNase atau DNase) dalam sel target. Umumnya, target dari aksi antimikroba bakteriosin adalah membran sel (Faheem *et al.*, 2007). Contoh subtilisin A yang dihasilkan oleh *B. subtilis* mampu berinteraksi dengan membran sel bakteri target. Tiga mekanisme antimikroba yang mungkin terjadi antara lain: (1) interaksi antara subtilisin A dengan membran yang berfungsi sebagai reseptor sehingga menyebabkan kematian sel (2) ikatan dengan membran luar sel target sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel target (3) ion yang memediasi translokasi subtilisin A masuk ke dalam membran sel target kemungkinan dapat mengganggu proses kehidupan sel (Shelburne *et al.*, 2007).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa bakteriosin yang diproduksi dari isolat bakteri probiotik UWH1, UWH2, UWH8, UWH9, dan UWH10 mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *V. alginolyticus*, *A. hydrophila*, dan *P. stutzeri* yaitu dengan adanya zona bening yang terbentuk pada media uji. Ukuran diameter zona bening pada uji aktivitas masih menunjukkan daya hambat yang sedang.

Berdasarkan perhitungan aktivitas hambat bakteriosin dapat diketahui bahwa fragmen bakteriosin (BC) setelah pengendapan ammonium sulfat memiliki aktivitas hambat atau AU (*Activity Unit*) lebih besar dibandingkan dengan aktivitas hambat ekstrak bakteriosin (CR) tanpa pengendapan. Aktivitas (BC) terbesar terdapat pada isolat UWH9 terhadap bakteri uji *A. hydrophila* dan *P. stutzeri*. Aktivitas hambat (CR) terbesar terdapat pada isolat UWH10 terhadap bakteri uji *P. stutzeri*.

Saran

Diharapkan penelitian ini memberikan manfaat bagi dunia perikanan dan diharapkan adanya penelitian lanjutan untuk melakukan pemurnian bakteriosin yang bertujuan melihat aktivitas hambatnya apakah lebih besar setelah dilakukan pemurnian. Hasil pemurnian dianalisis kembali untuk mengetahui tingkat kemurnian bakteriosin menggunakan teknik HPLC. Melakukan identifikasi dan karakterisasi struktur kimia untuk mengetahui jenis bakteriosin tersebut agar dapat diperkenalkan lebih komersial.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Feliatra, DEA sebagai pembimbing pertama saya yang telah mengeluarkan dana materil untuk penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan kepada Ibu Andi Dahliaty, M.S pembimbing kedua saya untuk seluruh bimbingan yang telah diberikan. Terima kasih untuk Widya dan Popy yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini serta dukungan dan semangat dari calon sarjana Ayu, Gustini, Zizah, Eva, Joe, Gito, Jery, Ivan, Pesta, Bornok, IK 2011.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani. 2010. Pengaruh Penggunaan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Kadar Asam dan Nilai pH Dadih Susu Sapi. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan* 8(6).
- Akhdiya, A., Susilowati, D. N. 2008. Aktivitas Penghambatan Bakteriosin dari Aktinomiset terhadap Bakteri Patogen Tanaman Pangan dan Patogen Tular Makanan. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 27(1): 55-60.
- Buntin, N., Cahanthachum, S. and Hongpattarakere, T. 2008. Screening Of Lactic Acid Bacteria From Gastrointestinal Tracts Of Marine Fish For Their Potential Use Probiotics. *Sonklanakarinn Journal Science Technology* 30: 141-148.
- Cherif, A., Ouzari, H., Daffonchio, D., Cherif, H., Slama, K. B., Hassen, A., Jaoua, S. and Baudabous, A. 2001. Thuricin: A Novel Bacteriocin Produced By *Bacillus thuringiensis* BMG1.7, A New Strain Isolated From Soil. *Letter in Applied Microbiology* 32: 243-247.
- Chotiah, S. 2013. Potensi Bakteriosin Untuk Kesehatan Hewan Dan Keamanan Bahan Pangan. Balai Besar Penelitian Veteriner. Bogor.
- Danapathi., Prabhakar, T.G. and Prabhakar. P., 2008. Antibacterial Activity of *Bacillus subtilis* Extract on Pathogenic Organism. *Journal Veterinary and Animal Sciences* 4(4): 150-153.
- Erlangga, H. R. 2010. Analisis Genetik (Teknik Sekuens 16S rRNA) Bakteri Probiotik Yang Diisolasi Dari Udang Windu (*Penaeus monodon Fabricus*). *Skripsi* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Faheem, F., Saeed, S. and Rasool, S. A. 2007. Study on Brevecin AF01: A Bacteriocin Like Inhibitory Substance Active Against Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pak. J.Bot* 39(4): 1293-1302.
- Feliatra., Yuni. F., Nursyirwani. 2012. Antagonis Bakteri Probiotik Yang Diisolasi Dari Usus Dan Lambung Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 17(1): 16-25.
- Harmita. 2011. Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

- Hidayati, N. 2009. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Daun Teh (*Camellia sinensis* L., v. *assamica*) Tua Hasil Ekstraksi Menggunakan Pelarut Akuades dan Etanol. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Malang, Malang.
- Jagadesswari, S., Vidya, P. 2010. Isolation and Characterization of Bacteriocin Producing *Lactobacillus* sp. From Traditional Fermented Food. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry* 9(3):575-581.
- Kanmani, P., Kumar, R. S., Yuvaraj, N., Paari, K. A., Pattukumar, V. and Arul, V. 2010. Comparison of Antimicrobial Activity of Probiotic Bacterium *Streptococcus phocae* P180, *Enterococcus faecium* MC13 and *Carnobacterium divergens* Against Fish Pathogen. *World Journal of Dairy and Food Sciences*. 5(2): 145-151.
- Karthikeyan, V. and Santosh, S. W. 2009. Isolation and Partial Characterization of Bacteriocin Produced from *Lactobacillus plantarum*. *African Journal of Microbiology Research* 3: 233-239.
- Khoiriyah, H., Ardiningsih, P., Jayuska, A. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* sp Red4. *Jurnal JKK* 3(1):7-12. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Kongnum, K. and Hongpattarakere, T. 2012. Effect of *Lactobacillus plantarum* Isolated From Digestive Tract Of Wild Shrimp On Growth And Survival Of White shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Cenged with *Vibrio harveyi*. *Fish and Shellfish Immunology Journal* 170-177.
- Lee, N.K., Yeu, I. C., Park, J. W., Kang, B.S. and Hamh, Y. T. 2010. Isolation and Characterization of a Novel Analyte From *Bacillus subtilis* SC-8 Antagonistic to *Bacillus cereus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 110(3): 298-303.
- Martins, I. M., Cortes, J. C. G., Munoz, J., Moreno, B., Ramos, M., Clemente, J. A., Duran, A., dan Ribas, J.C. 2011. Differential Activities Of Three Families Of Specific β (1,3) Glucan Synthase Inhibitors in Wild-type and Resistant Strains of Fission Yeast. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(5): 3484-3496.
- Naclerio, G., Ricca, E., Sacco, M. and Felice, M. D. 1993. Antimicrobial Activity Of A Newly Identified Bacteriocin Of *Bacillus cereus*. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 59(12): 4313-4316.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi 1. Universitas Indonesia Press, Jakarta.

- Romadhon., Subagiyo. dan Margino, S. 2012. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Usus Udang Penghasil Bakteriosin Sebagai Agen Antibakteria Pada Produk- produk Hasil Perikanan. *Jurnal Saitek Perikanan* 8(1):60-64.
- Sari, R. J. 2015. Antagonisme Bakteri Probiotik (Rh2, Rh8, Rh9, Rh10) Yang Diisolasi Dari Udang Windu (*Penaeus Monodon Fabricus*) Terhadap Bakteri Patogen (*Pseudomonas Sp*, *Aeromonas Hydrophyla*, *Vibrio alginolyticus*). *Skripsi* Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Shelburne, C.E., An, F.Y., Dolphe, V., Ramamoorthy , A., Lopatin, D. E. and Lantz, M. S. 2007. The Spectrum of Antimicrobial Activity of The Bacteriocin Subtilisin A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 59: 297-300.
- Sukarya, R. 2009. Aplikasi Bakteriosin Dari *Lactobacillus* sp Galur SCG 1223 Sebagai Pengawet Daging Ayam Segar. *Skripsi* Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Pertanian Bogor. Bogor.
- Thennarasu,S., Lee, D.K., Poon, A., Kawulka, K.E., Vederas, J.C. and Ramamoorthy, A. 2005. Mebran Permeabilization, Orientation, and Antimicrobial Mechanism of Subtilisin A. *Journal Chemistry and Physic of Lipid* 137: 38-51.
- Usmiati, S. dan Marwati, T. 2007. Seleksi Dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin Dari *Lactobacillus* Sp. *Jurnal Pascapanen* 4(1) 2007: 27- 37.
- Usmiati, S., Miskiyah. dan Rarah, R. A. M. 2009. Pengaruh Penggunaan Bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. Galur SCG 1223 Terhadap Kualitas Mikrobiologi Daging Sapi Segar. Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Watson, A. K., Kaspar, H., Lategan, M.J. and Gibson, L. 2008. Probiotics In Aquaculture The Need Principles And Mechanisms Of Action And Screening Processes. *Journal Aquaculture* 274:1-14.