

Skринing Dan Seleksi Bakteri Simbion Spons Penghasil Enzim Ekstraseluler Sebagai Agen Bioremediasi Bahan Organik Dan Biokontrol Vibriosis Pada Budidaya Udang

Wilis Ari Setyati*, Ahmad Saddam Habibi, Subagiyo, Ali Ridlo, Nirwani S., Rini Pramesti

Departement Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedarto, SH. Kampus UNDIP Tembalang, Semarang 50275
E-mail: wilisarsetyati@yahoo.co.id

Abstrak

Pesatnya kegiatan budidaya perikanan dengan penerapan sistem intensif dalam beberapa tahun terakhir, telah memunculkan permasalahan berupa penurunan daya dukung tambak bagi kehidupan organisme budidaya. Dampak lanjut yang ditimbulkan adalah terjadinya serangkaian penyakit dan kerusakan kondisi lingkungan. Langkah antisipatif melalui penerapan bioremediasi merupakan solusi untuk mencegah kerusakan yang lebih serius. Dalam proses bioremediasi, enzim memainkan peran katalis yang mempercepat reaksi biokimia di kolam tanah dan air. Bakteri yang berasosiasi dengan spons memiliki beragam senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tujuan dari penelitian ini adalah isolasi dan skринing bakteri yang berasosiasi dengan spons yang memiliki aktivitas enzim ekstraseluler (proteolitik, amilolitik, selulolitik, dan lipolitik) dan aktivitas antibakteri, serta mengetahui interaksi sifat antagonisme antar isolat terbaik, dan identifikasi spesies bakteri secara fenotipik. Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap: koleksi sampel, isolasi, seleksi, dan identifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total bakteri simbion spons yang diperoleh 15 isolat dengan potensi 15 isolat proteolitik, 12 isolat amilolitik, 12 isolat lipolitik, dan 4 isolat selulolitik. Terdapat 10 isolat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio harveyi* dan 2 isolat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio alginolyticus*. Isolat bakteri terbaik SP.1.3, SP.5.1, dan SP.5.3 tidak memiliki aktivitas saling antagonis antar ketiganya. Identifikasi fenotipik dari 3 isolat diduga bahwa isolat SP.1.3, SP.5.1, dan SP.5.2 diidentifikasi sebagai *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp., dan *Pseudomonas* sp.

Kata kunci: Bakteri simbion spons, enzim ekstraseluler, bioremediasi, vibriosis

Abstract

*The rapid growing up aquaculture activities with implementation of an intensive system in recent years has given rise to a decrease in the carrying capacity of the pond for cultivation of living organisms. Further impacts are caused by a series of disease and damage to the environment. Anticipatory measures through application of bioremediation is a solution to prevent more serious damage. In the process of bioremediation, enzymes play a role of catalysts that raise up biochemical reactions in soil and water pools. Bacteria associated with sponge has a variety of bioactive compounds that can inhibit the growth of pathogenic bacteria. The aim of this study was the isolation and screening of bacteria associated with sponge having extracellular enzymes activity and antibacterial activity, and to know antagonism interaction, and identification of bacterial phenotypically. This research was carried out in 4 stages: sample collection, isolation, selection, and identification. The results showed that sucessfully obtained 15 isolates sponge-associated bacteria potentially 15 isolates proteolytic, 12 isolates amyolytic, 12 isolates lipolytic, and 4 isolates cellulolytic. There were succesfully obtained 10 isolates have antibacterial activity against *Vibrio harveyi* and 2 isolates have antibacterial activity against *Vibrio alginolyticus*. The best isolates SP.1.3, SP.5.1, and SP.5.2 not have mutually antagonistic activity between them. Based on phenotypic*

identification, three isolates showed that isolates SP.1.3, SP.5.1, and SP.5.2 identified as *Bacillus sp.*, *Acinetobacter sp.*, and *Pseudomonas sp.*

Keywords: sponge associated bacteria, extracellular enzymes, bioremediation, vibriosis.

PENDAHULUAN

Akuakultur saat ini dianggap sebagai salah satu industri yang paling cepat berkembang dan memberikan kontribusi signifikan terhadap perekonomian dunia. Salah satu komoditas sektor perikanan yang bernilai ekonomi tinggi ialah udang, dengan pangsa pasar di manca negara yang luas dan terus meningkat. Kecenderungan yang terjadi dalam budidaya tambak udang, khususnya yang menerapkan teknologi semi intensif dan intensif adalah memburuknya keadaan lingkungan tambak sejalan dengan berlangsungnya masa pemeliharaan (Garno, 2004; Maulina *et al.*, 2012).

Keberadaan bahan organik yang tinggi berpengaruh besar terhadap karakteristik kimia tanah dan air lingkungan tambak. Kandungan bahan organik yang tinggi akan menyebabkan peningkatan konsumsi oksigen untuk proses biodekomposisi. Hal ini menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut yang berdampak secara langsung pada udang dan terbentuknya produk perombakan bahan organik secara anaerob yang bersifat toksik bagi udang (Avnimelech dan Ritvo, 2003).

Kualitas lingkungan yang buruk menyebabkan penurunan ketahanan tubuh organisme terhadap serangan penyakit (Kilawati dan Maimunah, 2014). Pada saat kondisi udang lemah dan faktor lingkungan udang yang buruk bakteri *Vibrio* akan menginfeksi dan menyebabkan penyakit. Penyakit Vibriosis merupakan penyakit utama pada benih yang dapat menimbulkan kematian sampai 100% dalam waktu 2 minggu (Felix *et al.*, 2011).

Pada prinsipnya penyakit yang menyerang udang budidaya melalui proses hubungan antara tiga faktor yaitu kondisi lingkungan (kualitas air), kondisi

inang (udang), dan adanya jasad patogen (penyakit) (Kilawati dan Maimunah, 2014). Salah satu upaya alternatif yang terus dikembangkan ialah teknik bioremediasi, merupakan pendekatan biologis dalam pengelolaan kualitas air tambak (Badjoeri dan Widiyanto, 2008) dengan memanfaatkan aktivitas enzimatik bakteri dalam merombak bahan organik.

Santos (2014) menyatakan, enzim ekstraseluler seperti protease, amilase, selulase dan lipase memainkan peran penting dalam bioremediasi untuk budidaya, terutama dalam produksi intensif. Menurut Feby and Nair (2014), bakteri yang berasosiasi dengan spons merupakan sumber enzim hidrolitik ekstraseluler yang sangat baik karena permukaan dan ruang internal spons lebih kaya nutrisi. Selain itu, diketahui bahwa bakteri yang berasosiasi dengan spons mampu menghasilkan metabolit sekunder bagi inangnya yang berfungsi sebagai pertahanan kimia terhadap predator (Juneius and Selvin, 2012), untuk komunikasi dan perlindungan terhadap infeksi (Radjasa *et al.*, 2007).

Permasalahan yang terjadi pada kegiatan akuakultur cukup kompleks. Sehingga diperlukan agen konsorsium bioremediator bahan organik yang mampu menjaga stabilitas lingkungan dan juga memiliki kemampuan dalam menekan munculnya bakteri patogen. Pendekatan secara mikrobiologi digunakan dalam studi ini untuk memberikan gambaran yang menyeluruh akan tingkat potensi, keanekaragaman dan karakteristik fenotip bakteri yang berasosiasi dengan spons.

MATERI DAN METODE

Pengambilan sampel ini dilakukan secara purposif, yaitu dengan menyusuri dasar laut. Pengambilan sampel spons

dilakukan dengan skin diving di Pantai Ujung Piring, Jepara pada kedalaman sekitar 1–2 m. Spons diambil dengan dipotong menggunakan pisau kemudian dimasukkan dalam botol sampel. Spons kemudian dicuci dengan air laut steril dan dimasukkan ke dalam botol sampel plastik yang telah diisi dengan air laut, kemudian disimpan dalam *cool box* berisi es batu untuk dianalisis selanjutnya di laboratorium.

Penanaman Bakteri Symbion Spons

Sampel spons digerus dengan menggunakan mortar secara aseptis. Setelah hancur diambil 1 gram spons, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air laut steril (10^0), kemudian digojog hingga homogen. Selanjutnya dari pengenceran 10^0 diambil 1 ml dengan mikropipet kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml air laut steril dan diperoleh pengenceran 10^{-1} . Pengenceran dilanjutkan hingga diperoleh pengenceran 10^{-5} . Pada masing-masing pengenceran diambil sebanyak 100 μ l suspensi bakteri menggunakan mikropipet dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang telah diisi media Zobell laut agar. Selanjutnya diratakan menggunakan *spreader* dan diinkubasikan selama 2 x 24 jam pada suhu 37 °C (Anand *et al.*, 2006).

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Symbion Spons

Koloni-koloni bakteri yang tumbuh diamati morfologi dan warna koloninya yang mengacu pada Cappucino and Sherman (1999). Setiap kenampakan morfologi dan warna yang berbeda pada tiap cawan petri diambil. Kemudian dilakukan metode *streak* untuk pemisahan dan purnian tiap-tiap bakteri pada permukaan media Zobell. cawan petri tersebut diinkubasikan selama 2 x 24 jam dan diamati pertumbuhannya. Apabila belum diperoleh kultur murni, maka dilakukan pemisahan kembali dengan metode *streak* hingga diperoleh kultur murni (Setyati dan Subagiyo, 2012). Setelah didapatkan kultur murni kemudian kultur bakteri disimpan pada tabung reaksi yang berisi media agar miring Zobell dengan metode *streak*. Hasil isolasi pada media Zobell agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator.

Seleksi Bakteri Enzimatik

Tiap isolat murni pada media miring diambil menggunakan ose kemudian diinokulasikan ke dalam 5 ml media Zobell laut cair pada tabung reaksi yang berbeda. Isolat diinkubasi diatas shaker pada suhu ruang selama 24 jam.

Uji aktivitas produksi enzim protease dilakukan dengan prosedur menurut Setyati dan Subagiyo (2012). Media uji yang digunakan adalah media Zobell agar yang telah diperkaya skim milk (1%). *Paper disc* steril diletakkan diatas skim milk agar. Tiap kultur cair diinokulasikan ke *paper disc*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi aktivitas proteolitik dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*.

Uji aktivitas produksi amilase dilakukan dengan prosedur menurut Setyati dan Subagiyo (2012). Media uji yang digunakan adalah media Zobell laut agar yang telah diperkaya *soluble starch* (1%). *Paper disc* steril diletakkan diatas skim milk agar. Tiap kultur cair diinokulasikan ke *paper disc*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Identifikasi aktivitas amilolitik dilakukan dengan menuang larutan Gram iodine ke atas media kultur. Zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc* diukur.

Uji aktivitas produksi selulase dilakukan dengan prosedur menurut Kasana *et al* (2008). Media uji yang digunakan adalah media Zobell laut agar yang telah diperkaya CMC (1%). *Paper disc* steril diletakkan diatas media uji. Tiap kultur cair diinokulasikan ke *paper disc*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Identifikasi aktivitas selulolitik dilakukan dengan menuang larutan Gram iodine ke atas media kultur. Zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc* diukur.

Uji aktivitas produksi lipase dilakukan dengan prosedur menurut Setyati dan Subagiyo (2012). Media uji yang digunakan adalah media Zobell laut agar yang telah diperkaya Tween (1%). *Paper disc* steril diletakkan diatas media uji. Tiap

kultur cair diinokulasikan ke *paper disc*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah inkubasi, aktivitas lipolitik ditunjukkan oleh zona putih keruh yang terbentuk disekitar *paper disc*.

Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode disk difusi antara bakteri simbiosis dengan bakteri patogen (Radjasa *et al*, 2007). Masing-masing bakteri *V. harveyi*, *V. alginolyticus*, dan bakteri simbiosis spons hasil isolasi dikultur dalam media Zobell laut cair selama 24 jam. Sebanyak 100 µl bakteri *V. harveyi* dan *V. alginolyticus* yang sudah dikultur diinokulasikan ke media Zobell laut agar. Kemudian dihomogenkan dan dituang ke dalam cawan petri secara aseptis. *Paper disc* steril ukuran 8 mm diletakkan di atas media Zobell laut agar yang telah terdapat bakteri patogen *Vibrio*. Hasil kultur dari tiap isolat diambil sebanyak 40 µl dan dipipetkan ke dalam *paper disc*. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator. Terbentuknya zona bening disekitar *paper disc* mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri. Besarnya aktivitas antibakteri diukur menggunakan jangka sorong.

Uji Antagonis Antar Isolat

Uji antagonis yang dilakukan menggunakan metode *Cross streak* pada media Zobell laut agar (Saha and Santra, 2014). Lima isolat terbaik dipilih berdasarkan aktivitas enzim dan aktivitas antibakterinya. Isolat yang terpilih distreak berupa garis lurus vertikal pada media Zobell laut agar dan isolat terpilih lainnya distreak melintang dikedua sisinya. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Pengujian dilakukan untuk masing-masing isolat. Variabel yang diamati adalah ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk pada isolat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan seleksi bakteri simbiosis spons yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim proteolitik (protease), amilolitik (amilase), selulolitik (selulase), dan

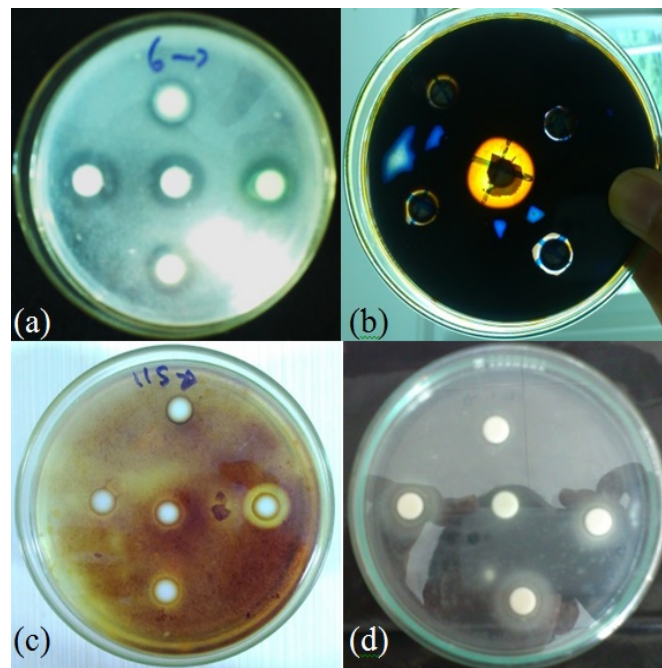
lipolitik (lipase) yang berasal dari Pantai Ujung Piring Jepara ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1.

Lima belas isolat bakteri yang diuji didapatkan 15 isolat memiliki aktivitas proteolitik, 12 isolat memiliki aktivitas amilolitik, 4 isolat memiliki aktivitas selulolitik, dan 12 isolat memiliki aktivitas lipolitik. Isolat yang memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, selulolitik, dan lipolitik sebanyak 3 isolat. Enzim ini dapat menghidrolisis senyawa kompleks seperti protein, lemak dan karbohidrat dari alga atau mikroorganisme yang tertelan atau tersaring oleh spons menjadi senyawa mikromolekul yang bernutrisi (Anand *et al.*, 2006).

Lima belas isolat bakteri simbiosis spons yang diperoleh menunjukkan aktivitas proteolitik. Shanmughapriya *et al.*, (2008) pada penelitiannya melaporkan bahwa aktivitas protease adalah yang paling tinggi dari bakteri simbiosis spons *Fasciospongia cavernosa* yang diambil dari semenanjung pantai timur India. Bakteri yang mampu mensekresikan enzim protease memiliki kemampuan menghidrolisis senyawa-senyawa bersifat protein menjadi oligopeptida, peptida rantai pendek, dan asam amino (Setyati dan Subagyo, 2012).

Isolat yang menunjukkan aktivitas amilolitik sebanyak 12 isolat. Amilase bisa menghidrolisis gula kompleks seperti pati menjadi gula sederhana seperti glukosa, maltosa dan dekstrin. Tiga isolat bakteri simbiosis spons yang diperoleh menunjukkan aktivitas selulolitik. Bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim selulase yang disekresikan ke lingkungannya. Enzim selulolitik ekstraseluler ini bekerja menghidrolisis selulosa menjadi polisakarida yang lebih sederhana yang disebut cellodextrin (Zhang dan Kim, 2010).

Terdapat 12 isolat bakteri yang memiliki aktivitas hidrolitik terhadap lipid yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan asam lemak. Isolat bakteri ini memiliki kemampuan enzim lipase ekstraseluler. Enzim ini bekerja mengkatalisis pemecahan lemak dan minyak yang selanjutnya dilepas menjadi asam lemak



Gambar 1. Hasil pengujian aktivitas enzimatis (a) proteolitik, (b) amilolitik, (c) selulolitik, (d) lipolitik.

Tabel 1. Hasil Seleksi Bakteri Symbion Spons berdasarkan kemampuan proteolitik, amilolitik, selulolitik, dan lipolitik.

Pengenceran	Kode Isolat	Diameter Zona Hidrolitik (mm)			
		Protease	Amilase	Selulase	Lipase
10 ⁻¹	SP.1.1	14,20±0,28	8,30±0,28	11,25±0,07	0
	SP.1.2	14,05±0,21	10,40±0,18	0	15,90±0,14
	SP.1.3	16,10±0,14	13,60±0,18	0	13,55±0,35
	SP.1.4	13,25±0,35	12,15±0,21	12,20±0,28	13,05±0,07
10 ⁻²	SP.2.1	15,20±0,14	20,10±0,14	0	17,05±0,21
	SP.2.2	15,05±0,07	15,60±0,28	0	16,00±0,28
	SP.2.3	16,15±0,21	0	0	17,35±0,21
	SP.2.4	15,90±0,14	0	0	11,60±0,28
	SP.2.5	18,20±0,14	0	0	0
10 ⁻³	SP.3.1	17,30±0,28	13,00±0,28	16,50±0,42	14,20±0,28
10 ⁻⁴	SP.4.1	12,15±0,21	15,00±0,14	0	0
	SP.4.2	14,00±0,28	11,20±0,14	13,90±0,28	11,80±0,28
10 ⁻⁵	SP.5.1	18,95±0,35	20,50±0,42	0	16,25±0,21
	SP.5.2	15,20±0,28	14,20±0,14	0	16,00±0,28
	SP.5.3	16,80±0,42	20,10±0,14	0	13,15±0,21

bebas, diacygliserol, monogliserol dan gliserol (Zhang and Kim, 2010).

Hasil penelitian Feby and Nair, (2010), menjelaskan bahwa bakteri yang

berasosiasi dengan spons merupakan sumber yang sangat baik untuk enzim ekstraseluler seperti amilase, protease, gelatinase, lipase, deoksiribonuklease, dan fosfatase. Tingginya keanekaragaman

bakteri heterotrofik yang berasosiasi dengan spons memproduksi enzim ekstraseluler yang bertanggung jawab dalam degradasi biopolimer.

Budidaya perikanan merupakan kegiatan yang menghasilkan sejumlah besar limbah, terdiri dari metabolisme oleh produk, sisa pakan, materi feses, dan limbah produk selama moulting yang mengarah pada penurunan kualitas air dan wabah penyakit (Antony and Philip, 2006). Dalam proses bioremediasi, enzim memainkan peran katalis yang mempercepat reaksi biokimia di kolam tanah dan air. Ketika ditambahkan ke dalam air kolam atau disebar di atas kolam tanah, enzim mampu mendegradasi konstituen organik. Enzim juga secara alami diproduksi dan dikeluarkan oleh beberapa mikroba. Enzim ekstraseluler, seperti selulase, protease dan amilase, diproduksi selama fermentasi aerobik bahan organik oleh mikroorganisme (Santos, 2014).

Tabel 2. menunjukkan isolat SP.2.3 dapat menghambat kedua bakteri patogen dengan besar zona hambat sebesar $17,80 \pm 0,56$ mm terhadap *Vibrio harveyi* dan $14,03 \pm 0,38$ mm terhadap *V. alginolyticus*. Isolat yang mampu menghambat *V. alginolyticus* sebanyak 2 isolat. Isolat yang mampu menghambat *V. harveyi* sebanyak 10 isolat. Tiga isolat aktivitas antibakteri tertinggi pada isolat SP.1.2, SP.1.3, dan SP.2.3. Pengukuran diameter zona hambat pada isolat-isolat yang memiliki aktivitas antibakteri diperoleh kisaran diameter 13,23 – 19,90 mm.

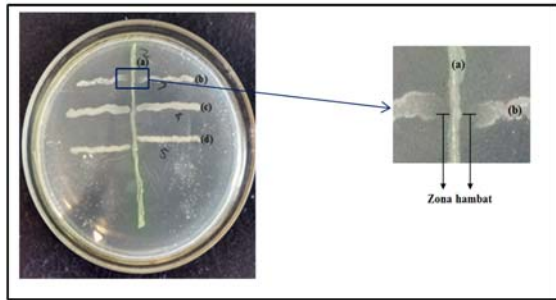
Perbedaan kemampuan daya hambat pada setiap isolat disebabkan oleh perbedaan kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh masing masing isolat yang telah berdifusi terlebih dahulu ke dalam agar, sehingga pertumbuhan bakteri patogen menjadi terhambat. Menurut Cappuccino and Sherman (1999), beberapa faktor yang mempengaruhi terbentuknya zona hambat tergantung kepada difusi bahan antimikroba ke dalam media dan interaksinya dengan mikroorganisme uji, jumlah mikroorganisme yang digunakan, kecepatan tumbuh mikroorganisme yang diuji dan sensitifitas

mikroorganisme terhadap bahan antimikroba yang diuji.

Tabel 2. Aktivitas Antibakteri 15 Isolat Bakteri Symbion Spons.

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>V. harveyi</i>	<i>V. alginolyticus</i>
SP.1.1	15,30 ± 0,44	0
SP.1.2	19,90 ± 0,26	0
SP.1.3	17,80 ± 0,50	0
SP.1.4	0	0
SP.2.1	0	0
SP.2.2	0	10,20 ± 0,17
SP.2.3	17,77 ± 0,56	14,03 ± 0,38
SP.2.4	13,27 ± 0,25	0
SP.2.5	0	0
SP.3.1	0	0
SP.4.1	13,23 ± 0,21	0
SP.4.2	14,00 ± 0,46	0
SP.5.2	16,43 ± 0,15	0
SP.5.3	13,27 ± 0,55	0

Metode *cross streak* dilakukan untuk menentukan antagonisme diantara isolat bakteri yang bertujuan untuk mengembangkan aplikasi konsorsium dalam berbagai aspek. Hasil uji antagonis dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3. isolat SP.2.3 terhadap isolat SP.3.1 menunjukkan interaksi antagonis, sehingga tidak mungkin kembangkan konsorsium menggunakan gabungan kedua isolat tersebut. Adanya interaksi antagonis menunjukkan bahwa mereka bersifat saling mengalahkan. Hal ini bermakna bahwa antar isolat terjadi kompetisi nutrisi ataupun terbentuk zat antibakteri dan tidak dapat hidup bekerja sama. Isolat bakteri dapat bersifat antagonis satu sama lain disebabkan oleh beberapa faktor seperti kompetisi nutrisi, pembentukan zat antibakteri dan lain - lain. Zulaikhah (2005) menyatakan bahwa faktor – faktor tersebut adalah penggunaan nutrisi, perubahan nilai pH, perubahan potensial redoks, pembentukan zat antimikroba dan bakteriofag.



Gambar 2. Hasil uji antagonis (a) isolat SP.2.3 (b) isolat SP.3.1 (c) isolat SP.5.1 (d) isolat SP.5.2.

Isolat bakteri SP.1.3, SP.5.1, dan SP.5.3 tidak memiliki aktivitas saling antagonis antar ketiganya. Isolat-isolat tersebut dapat dikembangkan sebagai konsorsium bakteri. Hubungan antar bakteri konsorsium dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi selama proses pengolahan. Interaksi sinergisme antara konsorsium bakteri yang digunakan atau interaksinya dengan lingkungan menyebabkan terjadinya proses degradasi bahan cemaran organik di dalam limbah (Prakash *et al.*, 2003).

Karakterisasi isolat bakteri terbaik (SP.1.3, SP.5.1, dan SP.5.3) dilakukan berdasarkan hasil pengamatan makroskopik dan uji aktivitas biokimia, pada Tabel 4, kemudian dicocokkan dengan *Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* untuk mengetahui genus dan spesiesnya. Isolat SP.1.3 menunjukkan karakteristik bakteri

Gram positif, katalase positif, oksidase negatif, glukosa positif, fermentatif dan motil. Isolat SP.1.3 diduga sebagai bakteri *Bacillus* sp. Menurut Barrow and Feltham (1993), *Bacillus* sp sebagian besar Gram positif (kecuali *B. anthracis* dan *B. mycoides*) berbentuk batang, motil, Aerob (beberapa spesies fakultatif anaerob), tahan asam, katalase positif, oksidase tidak tetap, (terdapat beberapa bentuk non-motil), fermentatif, dan berbeda spesies berbeda-beda dalam fermentasi gula-gula.

Isolat SP.5.1 menunjukkan karakteristik bakteri Gram negatif, katalase positif, oksidase negatif, non motil, dan tidak fermentasi gula-gula. Isolat SP.5.1 diduga sebagai bakteri *Acinetobacter* sp. Menurut Barrow and Feltham (1993), *Acinetobacter* sp merupakan bakteri Gram negatif, non motil, *strictly* Aerob, katalase positif, oksidase negatif, dan degradasi gula-gula secara oksidatif atau tidak sama sekali.

Isolat SP.5.2 menunjukkan karakteristik bakteri Gram negatif berbentuk batang, katalase positif, oksidase positif, motil, dan tidak fermentasi gula-gula. Isolat SP.5.2 diduga sebagai bakteri *Pseudomonas* sp. Menurut Barrow and Feltham (1993), *Pseudomonas* sp merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang, motil, Aerob, katalase positif, oksidase positif, dan degradasi gula-gula secara oksidatif.

Hubungan antar bakteri konsorsium dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi

Tabel 3. Hasil Pengamatan Uji Antagonis

Kode Isolat	SP.1.3	SP.2.3	SP.3.1	SP.5.1	SP.5.2
SP.1.3	x	-	-	-	-
SP.2.3	-	x	-	-	-
SP.3.1	-	+	x	-	-
SP.5.1	-	-	-	x	-
SP.5.2	-	-	-	-	x

Keterangan : tanda "-" menunjukkan bahwa isolat tidak saling antagonis, tanda x menunjukkan bahwa tidak dilakukan uji, tanda "+" menunjukkan bahwa isolat saling antagonis.

Tabel 4. Identifikasi Bakteri Isolat Terbaik Secara Fenotipik (Uji Biokimia)

No.	Uji Biokimia	Kode Isolat Bakteri		
		SP.1.3	SP.5.1	SP.5.2
1	KOH 3%	+	-	-
2	Katalase	+	+	+
3	Oksidase	-	-	+
4	TSIA	K/A, H ₂ S-, G-	K/K, H ₂ S-, G-	K/K, H ₂ S -, G-
5	LIA	-	+	+
6	O/F	F	-	O
7	Indol	-	-	-
8	Ornithin	-	+	+
9	Esculin	-	+	-
10	Citrat	-	-	+
11	Urea	+	-	+
12	Gelatin	-	-	-
13	MR	-	-	-
14	VP	-	-	-
15	Motility (semi solid)	Motil	Non Motil	Motil
16	Glukosa	+	-	-
17	Sukrosa	-	-	-
18	Maltosa	-	-	-
19	Laktosa	-	-	-
20	Identifikasi	<i>Bacillus</i> sp	<i>Acinetobacter</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp

selama proses pengolahan. Interaksi sinergisme antara konsorsium bakteri yang digunakan atau interaksinya dengan lingkungan menyebabkan terjadinya proses degradasi bahan cemaran organik di dalam limbah (Saha and Santra, 2014). Persiapan konsorsium bakteri dalam akuakultur memiliki peran antagonis terhadap patogen (biokontrol dan probiotik) atau meningkatkan kualitas air (bioremediasi) yang tergantung pada perannya di lingkungan (Panigrahi and Azad, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengukuran zona hidrolitik, zona antibakteri, dan sifat antagonis yang dihasilkan dapat diseleksi

kandidat bakteri probiotik yang dapat dikembangkan sebagai konsorsium probiotik untuk membersihkan tambak udang dari bahan organik. Pada penelitian ini telah dapat diseleksi 3 isolat bakteri terbaik yang mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai agensia bioremediasi tambak udang, karena mempunyai kemampuan untuk menghasilkan enzim proteolitik, amilolitik, selulolitik, lipolitik, dan antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada dewan redaksi Jurnal Kelautan Tropis yang telah memberikan pengarahan dalam pembuatan jurnal ilmiah ini serta semua pihak yang telah memberikan

dukungan dan bantuan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan penulisan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anand, P. T., Bhat A. W., Shoushe Y. S., Roy U., Siddharth J., and Sarma S. P. 2006. Antimicrobial activity of marine bacteria associated with sponges from the waters off the coast of South East India. *Microbiol. Res.*, 161: 252-262
- Anthony, S. P. and Philip R. 2006. Bioremediation in Shrimp Culture Systems Bioremediation in Shrimp Culture Systems. *NAGA, World Fish Cen. Quart.* 29: 3-4.
- Avnimelech, Y and G. Ritvo. 2003. Shrimp And Fish Pond Soils: Processes And Management. *J. Aqua.*, 220: 549-567.
- Badjoeri, M. dan T. Widiyanto. 2008. Penggunaan Bakteri Nitrifikasi untuk Bioremediasi dan Pengaruhnya Terhadap Konsentrasi Amonia dan Nitrit di Tambak Udang. *Jurnal Oseanologi dan Limnologi.*, 34(2): 261–278.
- Barrow, G. I. and Feltham R. K. A. 1993. *Cowan and Steel's Manual for Identification of Medical Bacteria 3rd Edition.* Cambridge University Press, 331p.
- Cappuccino, J. G. and Sherman Natalie. 1999. *Microbiology: A Laboratory Manual - 5th Ed.* Benjamin/Cummings Science Publishing, California, 477p.
- Feby, A. and Nair S. 2010. Sponge-associated bacteria of Lakshadweep coral reefs, India: resource for extracellular hydrolytic enzymes. *Adv. Biosci. Biotechnol.* 1: 330-337.
- Felix, F., Nugroho T. T., Silalahi S., dan Yuslina O. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio* sp Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Udang Berbasis Teknik 16S Ribosomal DNA. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 3(2): 85-99.
- Garno, Y. S. 2004. Pengembangan Budidaya Udang dan Potensi Pencemarannya Pada Perairan Pesisir. *Jurnal Teknik Lingkungan P3TL-BPPT*, 5(3): 187-192.
- Juneius, C. E. R. and Selvin J. 2012. Identification, phylogenetic characterization and preliminary screening of primary and secondary metabolites producing bacteria associated with marine sponge *Axinella donani*. *Indian J. Drugs Dis.*, 1(1): 20-26.
- Kasana, R. C., Salwan R., Dhar H., Dutt S., and Gulati A. 2008. A Rapid and Easy Method for the Detection of Microbial Cellulases on Agar Plates Using Gram's Iodine. *Curr. Microbiol.* 57: 503–507.
- Kilawati, Y. dan Maimunah Y. 2014. Kualitas Lingkungan Tambak Intensif *Litopenaeus vannamei* Dalam Kaitannya Dengan Prevalensi Penyakit *White Spot Syndrome Virus*. *Res. Jour. Lif. Sci.*, 1(2): 34-41.
- Maulina, I., Handaka A. A., dan Riyantini I. 2012. Analisis Prospek Budidaya Tambak Udang di Kabupaten Garut. *Jurnal Akuatika*, 3(1): 49-62.
- Panigrahi, A. and Azad I. S. 2007. Microbial intervention for better fish health in aquaculture: the Indian scenario. *Fish Physiol. Biochem.*, 33:429-440.
- Radjasa, O. K., T. Martens, H. P. Grossart, T. Brinkoff., A. Sabdono and M. Simon. 2007. Antagonistic Activity of a Marine Bacterium *Pseudoalteromonas luteoviolacea* TAB4.2 Associated with Coral *Acropora* sp. *J. Biol. Sci.*, 7(2): 239–246.
- Saha, A. and Santra S. C. 2014. Isolation and Characterization of Bacteria Isolated from Municipal Solid Waste for Production of Industrial Enzymes and Waste Degradation. *J. Microbiol. Exp.*, 1(1): 003.
- Setyati, W. A. dan Subagiyo. 2012. Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler (Proteolitik, Amilolitik, Lipolitik, dan Selulolitik) yang berasal dari Sedimen Kawasan Mangrove. *Jurnal Ilmu Kelautan.*, 17(3): 164-168.
- Santos, G. 2014. *Probiotics An Essentials Tool in Intensive Shrimp Aquaculture.* 5m Publishing, Benchmark House, England.
- Shanmughapriya, S., J. Krishnaveni, Joseph S., R. Gandhimathi, M. Arunkumar, T. Thangavelu, G. S. Kiran, K. Natarajaseenivasan. Optimization of extracellular thermotolerant alkaline protease produced by marine

- Roseobacter* sp. (MMD040). *Biopro. Biosyst. Eng.*, 31:427–433.
- Zhang, C., and Kim S. 2008. Research and Application of Marine Microbial Enzymes: Status and Prospects. *Mar. Drugs.*, 8(6): 1920-1934.
- Zulaikhah, S.T. 2005. Analisis Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Pencemaran Mikroba pada Jamu Gendong di Kota Semarang. Program Pascasarjana Undip, Semarang.