



Eksplorasi Bakteri Kandidat Probiotik Pada Sedimen Hutan Mangrove Pandan, Tapanuli Tengah

Sylvia Yarashima^{1*}, Rasyidah² dan Ulfayani Mayasari³

^{1,2,3} Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sumatera Utara Medan

Abstrak: Ekosistem mangrove merupakan ekosistem yang kaya akan keanekaragaman flora, fauna, dan mikroorganisme, termasuk bakteri. Bakteri probiotik merupakan bakteri baik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan dengan menghasilkan zat antimikrobal. Tidak hanya baik untuk pencernaan, bakteri probiotik juga memberikan keuntungan dalam bidang akuakultur. Tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan serta mengidentifikasi genus dari bakteri kandidat probiotik dari sedimen hutan mangrove di Kecamatan Pandan, Tapanuli Tengah. Bakteri diisolasi dari sampel sedimen menggunakan medium Zobell Marine Agar 2216 dengan metode pour plate dan dilakukan pemurnian dengan metode streak plate untuk mendapatkan kultur murni. Karakterisasi meliputi uji hidrolisis pati dan kasein, pengamatan morfologi koloni, pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji MR, serta uji TSIA. Hasil penelitian diperoleh total 18 isolat bakteri yang kemudian dilakukan uji seleksi kandidat probiotik sehingga didapatkan delapan isolat yang mampu menghidrolisis pati dan kasein dengan genus *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Vibrio* and *Micrococcus*. Pada lokasi pertama, ditemukan dua isolat *Bacillus* dan satu isolat *Vibrio*. Sedangkan di lokasi kedua ditemukan dua isolat *Lactobacillus* dan satu isolat *Micrococcus*. Hanya dua isolat *Lactobacillus* saja yang ditemukan pada lokasi ketiga.

Keywords: Kandidat Probiotik; Sedimen; Mangrove; Pandan

DOI: <https://doi.org/10.47134/biology.v1i4.3119>

*Correspondensi: Sylvia Yarashima

Email: yaraaaashima@gmail.com

Received: 11-06-2024

Accepted: 14-07-2024

Published: 01-08-2024



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: *The mangrove ecosystem is rich in diversity of flora, fauna, and microorganisms, including bacteria. Probiotic bacteria are good bacteria that are able to restrict the growth of harmful bacteria in the digestive system by producing antimicrobial substances. Not only good for digestion, but probiotic bacteria also provide advantages in the field of aquaculture. This study aimed to find and identify the genera of probiotic candidate bacteria from mangrove forest sediments in Pandan, Central Tapanuli. Bacteria were isolated from sediment samples using Zobell Marine Agar 2216 medium by pour plate method and purified by streak plate method to obtain pure cultures. The characterization included starch and casein hydrolysis test, colony morphology observation, gram staining, catalase test, motility test, indole test, MR test, and TSIA test. The results showed a total of 18 isolates which were then tested for selection of probiotic candidates and eight isolates were able to hydrolyze starch and casein. The genera of probiotic candidate bacteria were *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Vibrio* and *Micrococcus*. At the first location, two isolates of *Bacillus* and one isolate of *Vibrio* were found. While at the second location, two isolates of *Lactobacillus* and one isolate of *Micrococcus* were found. Only two isolates of *Lactobacillus* were found at the third location*

Keywords: Probiotic Candidate; Sediment; Mangrove; Pandan

Pendahuluan

Kabupaten Tapanuli Tengah merupakan sebuah kabupaten yang terletak di pesisir Pantai Barat Sumatera, Provinsi Sumatera Utara dengan garis pantai sepanjang 200 km. Sebagian besar kecamatan yang ada di kabupaten Tapanuli Tengah berbatasan langsung dengan laut lepas. Letaknya yang berada di daerah pesisir ini menjadi lokasi yang tepat untuk tumbuhnya mangrove (Badan Pusat Statistik, 2020).

Mangrove merupakan suatu kelompok tumbuhan berpembuluh yang memiliki kemampuan adaptasi morfologi dan fisiologis khusus agar dapat bertahan hidup di lingkungan intertidal dengan air salin yang didominasi oksigen terlarut yang rendah atau terkadang dengan sedimen halus anoksik (Ong & Gong, 2013). Ekosistem mangrove memiliki keanekaragaman fauna yang tinggi, dimulai dari moluska, krustasea, pisces, reptil, aves dan mamalia. Tak hanya itu, ekosistem mangrove juga kaya akan mikroorganisme yang telah beradaptasi sehingga dapat hidup dengan ketersediaan oksigen yang rendah dan keadaan salinitas yang bervariasi (Ambeng et al., 2019). Adanya mikroorganisme pada ekosistem mangrove memiliki kaitan yang erat terhadap kestabilan ekosistem di daerah tersebut. Hal ini dikarenakan mikroorganisme memainkan peran penting dalam berlangsungnya siklus biogeokimia dan terjalinnya simbiosis mutualisme dengan tumbuhan yang tumbuh di kawasan ekosistem mangrove (Dewi et al., 2017). Keanekaragaman mikroorganisme khususnya bakteri yang terdapat pada ekosistem mangrove sangat tinggi, contohnya bakteri heterotrofik yang dapat menghasilkan enzim seperti bakteri proteolitik, bakteri amilolitik, bakteri selulolitik, bakteri gelatinolitik, dan juga bakteri probiotik (Subagiyo et al. 2017, Prihanto et al. 2018, Sukmawati & Badaruddin 2019).

Bakteri probiotik adalah bakteri yang bersifat tidak toksik, nonpatogen, dapat bertahan hidup dalam lingkungan asam lambung dan dapat membentuk koloni di dalam usus besar yang dapat memecah komponen karbohidrat yang tidak tercerna di saluran pencernaan. Bakteri probiotik memberikan keuntungan bagi makhluk hidup yang menjadi inangnya karena dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan inangnya sehingga dianggap sebagai bakteri antagonis (Feliatra, 2018).

Penelitian mengenai eksplorasi bakteri probiotik dengan pengambilan sampel dari saluran pencernaan ikan dan udang, air, serta tambak sudah banyak dilakukan. Namun, penelitian dengan menggunakan sampel dari sedimen hutan mangrove masih terbilang sedikit. Keberadaan bakteri probiotik di alam tersebar luas di udara, air, di dalam tanah atau lumpur (Suriani & Muis, 2016). Tanah yang menyediakan unsur hara yang cukup, memiliki nilai keasaman yang sesuai, terjaganya kelembaban dan temperatur tanah, serta cukupnya tersedia air dan bahan organik (N, P, C, S, Mg, Ca, dll.) merupakan faktor-faktor yang harus dipenuhi untuk mendukung kebutuhan nutrisi bakteri untuk dapat tumbuh. Selain itu keadaan iklim dan vegetasi yang baik juga memainkan peran penting dalam pertumbuhan bakteri pada tanah (Mukrin et al., 2019).

Sukmawati dan Badaruddin (2019) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ditemukan sebanyak 8 isolat bakteri kandidat probiotik pada sampel lumpur yang diambil di kawasan wisata mangrove Klawalu yang terdapat di Kota Sorong Papua Barat. Sedangkan Sumardi et al. (2021) menemukan 2 kandidat bakteri probiotik pada beberapa sampel, yaitu sampel lumpur laut, lumpur mangrove, akar, serasah daun, keong dan

kepiting yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. serta resisten terhadap antibiotik.

Pengambilan sampel dari sedimen hutan mangrove memiliki potensi yang cukup besar untuk ditemukannya berbagai jenis bakteri terutama bakteri probiotik, dikarenakan sedimen hutan mangrove yang terbentuk dari dekomposisi serasah daun dari dekomposisi serasah daun mangrove menyediakan unsur hara yang tinggi. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keberadaan dan mengidentifikasi bakteri kandidat probiotik yang ditemukan pada sedimen mangrove kecamatan Pandan, Tapanuli Tengah.

Metode

Pengambilan sampel dilakukan di kawasan hutan mangrove di Kecamatan Pandan, Kabupaten Tapanuli Tengah, Sumatera Utara pada 3 lokasi berbeda (lihat Tabel 1). Sampel diambil sebanyak 10 g menggunakan alat pengeruk dengan kedalaman 10 cm dari atas permukaan lumpur. Sampel yang diambil kemudian dimasukkan ke dalam plastik *ziplock* lalu diberi label berdasarkan lokasi pengambilan sampel dan disimpan di dalam *cooler box* (Subagiyo et al., 2017). Parameter lingkungan yang diukur yaitu derajat keasaman (pH) dan tingkat salinitas.

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel sedimen

| Lokasi | Keterangan |
|--------|------------------------------|
| 1 | Berbatasan dengan lautan |
| 2 | Di tengah ekosistem mangrove |
| 3 | Berbatasan dengan daratan |

Proses isolasi dan inokulasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UPT. Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Utara. Sampel sedimen yang diambil dari masing-masing lokasi ditimbang sebanyak 1 g kemudian diencerkan dengan 9 ml air laut steril dan dihomogenkan dengan *vortex stirrer* sehingga didapatkan larutan hasil pengenceran 10^{-1} . Proses pengenceran dilakukan sampai tingkat 10^{-6} . Dari pengenceran tingkat 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} , masing-masing diambil 1 ml untuk diinokulasikan pada media Zobell Marine Agar 2216 dengan metode *pour plate* kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C . Setelah itu dilakukan purifikasi dengan menggunakan metode *streak plate* untuk bakteri yang tumbuh dan memperlihatkan ciri morfologi yang berbeda, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Isolat yang telah dipurifikasi selanjutnya dilakukan uji hidrolisis pati dan kasein sebagai uji seleksi kandidat probiotik. Uji hidrolisis pati dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) yang mengandung 1% pati, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, bakteri yang tumbuh pada permukaan media ditetesi dengan iodine. Hasil positif jika terdapat zona berwarna kuning bening di sekitar isolat (Hastuti et al., 2017). Uji hidrolisis kasein dilakukan dengan menginokulasi isolat bakteri pada media NA (*Nutrient Agar*) yang mengandung susu skim, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C . Hasil positif jika terdapat zona berwarna kuning bening di sekitar isolat (Ginting et al., 2018).

Isolat dengan hasil positif pada kedua uji seleksi selanjutnya dilakukan identifikasi morfologi, uji pewarnaan gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji MR, dan uji TSIA.

Hasil yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition* (1974).

Hasil dan Pembahasan

Pengukuran parameter lingkungan dimaksudkan untuk mengetahui kondisi fisik lingkungan yang dilakukan langsung di ketiga lokasi pengambilan sampel. Parameter fisik yang diukur meliputi derajat keasaman sedimen dengan menggunakan pH meter dan tingkat salinitas dengan menggunakan refraktometer salinitas. Pengukuran parameter lingkungan dan pengambilan sampel sedimen mangrove dilakukan pada saat cuaca cerah dan air laut dalam kondisi pasang-surut agar dapat memudahkan proses pengukuran dan pengambilan sampel.

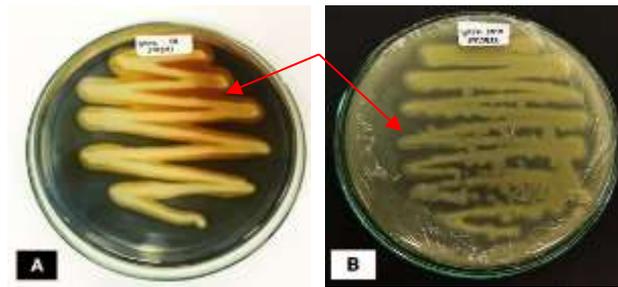
Tabel 2. Hasil pengukuran parameter lingkungan

| Lokasi Sampling | Parameter Lingkungan | |
|--------------------|----------------------|-----------|
| | pH | Salinitas |
| 1 | 4 | 36 ‰ |
| 2 | 6,5 | 36 ‰ |
| 3 | 7 | 30 ‰ |

Perbedaan tingkat salinitas yang dimiliki setiap lokasi pengambilan sampel, tentu akan mempengaruhi keanekaragaman bakteri pada setiap lokasi. Semakin tinggi tingkat salinitas maka keanekaragaman bakteri akan semakin menurun. Hal ini dikarenakan tingkat salinitas yang tinggi merupakan kondisi yang toksik bagi bakteri sehingga dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri (Yulma et al., 2019).

Nilai pH optimum pertumbuhan bakteri pada umumnya berkisar diantara 6,5-7,5 (Boleng, 2015). Sedangkan bakteri probiotik yang memiliki kemampuan bertahan dalam suasana asam yang tinggi dapat tumbuh secara optimum pada kisaran pH sekitar 2-7. Nilai pH optimum pertumbuhan yang dimiliki oleh bakteri probiotik memiliki rentang yang cukup luas dikarenakan adanya perbedaan pH optimum yang dimiliki beberapa jenis bakteri (Feliatra, 2018).

Dari hasil isolasi sampel sedimen mangrove pada media Zobell Marine Agar 2216 diperoleh 18 isolat bakteri, yang mana 6 isolat merupakan hasil isolasi dari Lokasi 1, tujuh isolat dari Lokasi 2, dan lima isolat dari Lokasi 3. Semua hasil isolasi kemudian dilakukan uji seleksi meliputi uji hidrolisis pati dan uji hidrolisis kasein untuk mendapatkan isolat kandidat probiotik. Isolat yang menghasilkan zona bening pada kedua uji akan dilanjutkan pada tahapan identifikasi. Berdasarkan pengujian yang dilakukan terhadap isolat bakteri untuk mendapatkan bakteri kandidat probiotik, diperoleh delapan isolat yang dapat menghidrolisis pati dan kasein, yaitu isolat dengan kode SM141, SM151, SM164, SM2441, SM2521, SM2522, SM2341, dan SM352.



Gambar 1. Hasil uji hidrolisis pati (A) dan uji hidrolisis kasein (B)

Uji hidrolisis pati dilakukan untuk mengetahui apakah isolat bakteri menghasilkan enzim amilase yang mampu menghidrolisis amilum yang terkandung pada media uji menjadi glukosa, maltosa dan dekstrin (Hanzen et al., 2017). Sedangkan uji hidrolisis kasein dilakukan untuk mengetahui apakah isolat memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim protease yang dapat menghidrolisis protein menjadi asam amino (Yuniati et al., 2015). Kedua uji ini menjadi salah satu syarat yang digunakan dalam melakukan seleksi kandidat probiotik. Aktivitas dari enzim amilase dan protease dapat meningkatkan kinerja dari berbagai enzim yang dihasilkan di dalam tubuh makhluk hidup sehingga adanya keberadaan bakteri yang menghasilkan kedua enzim ini memberikan keuntungan secara tidak langsung kepada makhluk hidup (Ginting et al., 2018).

Tabel 3. Hasil uji seleksi kandidat probiotik

| Kode Isolat | Uji Seleksi | |
|-------------|-----------------|-------------------|
| | Hidrolisis Pati | Hidrolisis Kasein |
| SM141* | + | + |
| SM151* | + | + |
| SM161 | - | - |
| SM162 | - | - |
| SM163 | - | + |
| SM164* | + | + |
| SM2421 | - | - |
| SM2422 | - | - |
| SM2431 | - | + |
| SM2441* | + | + |
| SM2521* | + | + |
| SM2522* | + | + |
| SM261 | - | - |
| SM341* | + | + |
| SM342 | - | + |
| SM343 | + | - |
| SM351 | + | - |
| SM352* | + | + |

Ket: * dilanjutkan ke tahapan selanjutnya

Pada uji hidrolisis pati, isolat yang diinokulasikan pada media yang mengandung amilum ditetesi dengan iodine setelah 24 jam masa inkubasi. Isolat yang dapat

menghidrolisis pati dapat dilihat dengan adanya terbentuk zona bening di sekitar isolat setelah ditetaskan dengan larutan iodine. Media yang mengandung pati akan berubah warna menjadi biru kehitaman ketika ditetaskan larutan iodine (Mustakin & Tahir, 2019). Sedangkan zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas amilase yang memecah kandungan pati pada media. Pada uji hidrolisis kasein, isolat yang ditanam pada media NA yang ditambah dengan susu skim akan menghasilkan zona bening disekitar isolat jika dapat menghidrolisis kasein. Terbentuknya zona bening menunjukkan adanya aktivitas enzim protease yang memecah protein yang terkandung di dalam media menjadi asam amino yang akan digunakan sebagai sumber energi oleh bakteri (Ginting et al., 2018).

Menurut Remijawa et al. (2020), suatu bakteri dapat memiliki kemampuan dalam menghasilkan berbagai enzim disebabkan oleh lingkungan yang menjadi habitatnya memiliki kondisi yang ekstrim seperti memiliki kadar garam tinggi atau nilai pH lingkungan yang diluar nilai pH optimum bakteri untuk tumbuh. Kondisi lingkungan yang ekstrim menyebabkan bakteri untuk beradaptasi dengan cara menghasilkan enzim-enzim yang dapat digunakan untuk bertahan hidup. Pada Lokasi 1, nilai pH lingkungan terbilang asam dan memiliki tingkat salinitas yang tinggi, begitu juga dengan Lokasi 2 yang memiliki tingkat salinitas yang tinggi. Hal ini menyebabkan jumlah bakteri kandidat probiotik yang diperoleh pada kedua lokasi tersebut lebih banyak dibandingkan dengan yang ditemukan pada Lokasi 3. Jika dilihat, nilai pH yang dimiliki pada Lokasi 3 merupakan pH optimum bagi pertumbuhan bakteri, selain itu tingkat salinitas yang dimiliki juga lebih rendah dibandingkan dengan Lokasi 1 dan Lokasi 2. Oleh karena itu jumlah bakteri kandidat probiotik yang ditemukan pada Lokasi 3 lebih sedikit dikarenakan kondisi lingkungannya tidak seekstrim pada kedua lokasi sampling lainnya, terutama pada Lokasi 1.

Setelah dilakukan uji seleksi kandidat probiotik, isolat bakteri yang menjadi kandidat probiotik kemudian diamati karakteristik morfologi koloninya. Karakteristik morfologi yang diamati yakni bentuk, warna, ukuran, tepian koloni, dan elevasi. Adapun karakteristik dari masing-masing isolat dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik morfologi koloni isolat bakteri kandidat probiotik

| Kode Isolat | Uji Seleksi | | | | |
|-------------|------------------|--------------|-------------------|---------------|---------------|
| | Bentuk | Warna | Ukuran | Tepian | Elevasi |
| SM141 | <i>Circular</i> | <i>Cream</i> | <i>Moderate</i> | <i>Entire</i> | <i>Flat</i> |
| SM151 | <i>Irregular</i> | <i>Cream</i> | <i>Moderate</i> | <i>Curled</i> | <i>Flat</i> |
| SM164 | <i>Irregular</i> | <i>Cream</i> | <i>Moderate</i> | <i>Curled</i> | <i>Flat</i> |
| SM2441 | <i>Circular</i> | <i>Cream</i> | <i>Moderate</i> | <i>Curled</i> | <i>Flat</i> |
| SM2521 | <i>Irregular</i> | <i>Cream</i> | <i>Moderate</i> | <i>Curled</i> | <i>Flat</i> |
| SM2522 | <i>Circular</i> | <i>Cream</i> | <i>Small</i> | <i>Entire</i> | <i>Raised</i> |
| SM341 | <i>Circular</i> | <i>Cream</i> | <i>Punctiform</i> | <i>Entire</i> | <i>Convex</i> |
| SM352 | <i>Circular</i> | <i>Cream</i> | <i>Small</i> | <i>Entire</i> | <i>Flat</i> |

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa bentuk koloni dari semua isolat didominasi oleh bentuk *circular* atau tidak beraturan, hanya tiga isolat yang memiliki bentuk *irregular* yaitu, isolat SM151, SM164, dan SM2521. Semua isolat bakteri memiliki warna koloni yang

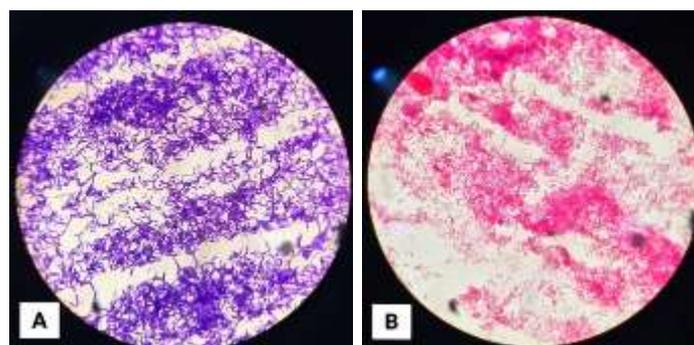
sama, yaitu putih susu. Ukuran isolat umumnya *moderate* dan hanya satu isolat saja yang memiliki ukuran *punctiform*. Sebagian isolat memiliki bentuk tepian *entire* dan sebagian lainnya memiliki bentuk tepian *curled*. Tipe elevasi yang dimiliki oleh kebanyakan isolat yaitu *flat*, sedangkan yang lainnya memiliki tipe *raised* dan *convex*.

Dari pewarnaan Gram yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa tujuh dari delapan isolat menghasilkan warna ungu, yang artinya termasuk kedalam bakteri gram positif (Tabel 5). Semua isolat yang termasuk dalam bakteri gram positif berbentuk basil, kecuali isolat dengan kode SM2522 yang berbentuk kokus.

Tabel 5. Hasil pewarnaan gram

| Kode Isolat | Uji Gram | Warna | Bentuk Sel |
|-------------|----------|-------|------------|
| SM141 | + | Ungu | Basil |
| SM151 | + | Ungu | Basil |
| SM164 | - | Merah | Basil |
| SM2441 | + | Ungu | Basil |
| SM2521 | + | Ungu | Basil |
| SM2522 | + | Ungu | Kokus |
| SM341 | + | Ungu | Basil |
| SM352 | + | Ungu | Basil |

Pewarnaan Gram adalah metode yang digunakan dalam pengelompokan bakteri gram positif dan negatif yang berdasarkan kemampuan yang dimiliki bakteri dalam mempertahankan atau kehilangan pewarna utama (kristal violet) dan menerima pewarna tandingan (safranin). Perbedaan warna yang dihasilkan oleh kedua kelompok bakteri ini disebabkan karena perbedaan permeabilitas, komposisi serta struktur dinding sel yang dimiliki oleh kedua kelompok bakteri (Jannah et al., 2017).



Gambar 2. Bakteri Gram Positif (A) dan Bakteri Gram Negatif (B)

Bakteri gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal pada dinding selnya. Tebalnya lapisan peptidoglikan menyebabkan bakteri gram positif mampu untuk mempertahankan kristal violet sebagai zat warna utama meskipun telah diberikan larutan peluntur yaitu alkohol 96%. Kemampuan dalam mempertahankan zat warna utama menyebabkan bakteri gram positif tampak berwarna ungu saat diamati dengan menggunakan mikroskop (Hamidah et al., 2019). Tidak seperti bakteri gram positif, pada

dinding selnya bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis (Campbell & Reece, 2008), dinding selnya memiliki kandungan lipid yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram positif, sehingga menyebabkan bakteri gram negatif tidak mampu mempertahankan zat warna utama ketika diberikan larutan peluntur. Akan tetapi bakteri gram negatif mampu mempertahankan safranin sebagai pewarna tandingan sehingga menjadikan bakteri gram negatif terlihat berwarna merah ketika diamati di bawah mikroskop (Ruma et al., 2020).

Setelah pewarnaan gram, selanjutnya dilakukan uji biokimia pada isolat meliputi uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji MR, dan uji TSIA untuk mengetahui karakteristik biokimia dari setiap bakteri.

Tabel 6. Hasil uji biokimia

| Uji Biokimia | Kode Isolat | | | | | | | |
|---------------------|-------------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|-------|
| | SM141 | SM151 | SM164 | SM2441 | SM2521 | SM2522 | SM341 | SM352 |
| Katalase | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Motilitas | - | + | + | - | + | - | - | - |
| Indol | - | - | - | - | - | - | - | + |
| MR | - | + | + | + | + | - | - | - |
| TSIA | | | | | | | | |
| - <i>Slant/Butt</i> | K/K | A/A | A/A | K/A | A/K | A/K | K/K | A/A |
| - Gas | - | - | - | - | - | - | - | - |
| - H ₂ S | - | - | - | - | - | - | - | - |

Keterangan: K = Basa (media berwarna merah)
A = Asam (media berwarna kuning)

Hasil uji katalase pada semua isolat bakteri kandidat probiotik menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya gelembung gas yang terbentuk ketika larutan H₂O₂ 3% diteteskan pada isolat bakteri. Uji katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri kandidat probiotik dalam memproduksi enzim katalase. Enzim katalase berperan dalam memecah hidrogen peroksida atau H₂O₂ menjadi air dan oksigen (Sumardi et al., 2021). Mekanisme dasar kinerja dari enzim katalase adalah dengan melibatkan pemecahan H₂O₂ sebagai salah satu jenis oksigen yang reaktif menjadi air dan oksigen dan menghilangkan stress oksidatif yang disebabkan oleh H₂O₂ sebagai substrat. Dalam lingkungan H₂O₂ merupakan salah satu substrat yang dapat digunakan sebagai pemasok oksigen yang dibutuhkan mikroorganisme yang terlibat dalam proses bioremediasi (Kaushal et al., 2018).

Dari uji motilitas yang telah dilakukan diperoleh tiga isolat yang menunjukkan hasil positif dan lima isolat yang menunjukkan hasil negatif. Hasil positif menunjukkan bakteri bersifat motil atau dapat melakukan pergerakan yang ditandai dengan adanya rambatan disekitar bekas tusukan ose pada media, sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya rambatan yang berarti isolat tidak memiliki flagel sebagai alat gerak. Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri melakukan pergerakan (Damayanti et al., 2020). Pergerakan pada bakteri terbagi atas gerak aktif dan gerak pasif. Gerak aktif

merupakan pergerakan yang dipengaruhi oleh adanya flagel, dan gerak pasif merupakan pergerakan yang disebabkan oleh faktor dari luar sel bakteri (Pattuju et al., 2014).

Berdasarkan uji indol yang telah dilakukan, hanya satu isolat yang menunjukkan hasil positif. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna yang terjadi pada permukaan media menjadi warna merah setelah media yang sudah diinkubasi selama 24 jam ditetesi dengan reagen Kovack's. Uji indol dimaksudkan untuk mengetahui adanya kemampuan yang dimiliki bakteri dalam menghasilkan enzim triptofanase yang dapat mendegradasi asam amino triptofan menjadi asam piruvat, amonia, dan produk indol (Csuros & Csuros, 1999). Asam amino triptofan merupakan asam amino yang menyusun protein, sehingga dapat digunakan oleh mikroorganisme dengan mudah akibat adanya degradasi protein. Pada media, indol merupakan produk buangan yang mengalami penumpukan. Penumpukan produk indol pada media dapat diketahui dengan penambahan reagen (Pattuju et al., 2014).

Berdasarkan uji MR (*methyl red*) yang telah dilakukan, diperoleh empat isolat yang menunjukkan hasil positif. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna pada permukaan media setelah ditetesi reagen *methyl red* yang artinya bakteri dapat memfermentasi asam campuran. Uji MR dimaksudkan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki kemampuan dalam memfermentasi glukosa melalui jalur asam campuran atau metilen glikon. Produk asam campuran yang dihasilkan biasanya berupa asam asetat, asam format, asam laktat, dan asam suksinat. Apabila setelah diinkubasi 24 jam kemudian ditetesi reagen *methyl red* permukaan media berubah menjadi warna merah, hal ini menunjukkan terjadinya penurunan nilai pH pada media oleh produk asam yang terbentuk dari hasil fermentasi glukosa (Mustaqim et al., 2014).

Pada uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), terdapat tiga isolat (SM151, SM164, SM352) yang menunjukkan terjadinya reaksi asam pada permukaan (*slant*) dan bagian tengah (*butt*), sehingga warna media keseluruhan berubah menjadi warna kuning yang menunjukkan terjadinya fermentasi laktosa dan fermentasi sukrosa. Sedangkan isolat yang menunjukkan adanya terjadi reaksi basa pada *slant* dan *butt* sehingga warna media tetap berwarna merah terdapat 2 isolat, yaitu SM141, dan SM341. Reaksi basa yang terjadi pada bagian *slant* dan *butt* menunjukkan tidak terjadinya fermentasi ketiga jenis gula. Isolat SM2521 dan SM2522 menunjukkan adanya reaksi asam pada bagian *slant* dan reaksi basa pada bagian *butt*, namun sebaliknya isolat SM2441 menunjukkan reaksi basa pada *slant* dan reaksi asam pada *butt*, yang artinya ketiga isolat ini hanya memfermentasi glukosa. Seluruh isolat bakteri kandidat probiotik tidak menghasilkan gas pada uji TSIA, dikarenakan tidak adanya media yang terangkat ke atas yang menyebabkan terbentuknya ruang pada dasar tabung. Selain itu, seluruh isolat juga tidak menghasilkan H₂S karna tidak didapati adanya perubahan warna di bagian dasar media menjadi warna hitam. Uji TSIA bertujuan untuk mengetahui adanya kemampuan yang dimiliki bakteri dalam memfermentasikan glukosa, sukrosa, dan laktosa untuk menghasilkan gas atau asam. Warna dari media uji yang digunakan yaitu berwarna merah. Jika warna pada permukaan media (*slant*) tidak mengalami perubahan menunjukkan terjadinya reaksi basa, tetapi jika warna pada permukaan media mengalami

perubahan menjadi warna kuning menunjukkan terjadinya reaksi asam. Hal yang sama juga berlaku pada perubahan warna di bagian tengah media (*butt*) (Kosasi et al., 2019).

Simpulan

Berdasarkan hasil dari semua uji biokimia pada isolat bakteri dan setelah dibandingkan dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition*, ditemukan sebanyak 8 isolat bakteri kandidat probiotik yang berasal dari genus *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Vibrio*, dan *Micrococcus*. Pada lokasi 1 ditemukan 2 isolat dengan genus *Bacillus* dan 1 isolat *Vibrio*. Sedangkan pada lokasi 2 ditemukan 2 isolat *Lactobacillus* dan 1 isolat *Micrococcus*. Hanya 2 isolat yang ditemukan di lokasi 3 yaitu dari genus *Lactobacillus*.

Daftar Pustaka

- Ambeng, Zubair, H., Oka, N. P., & Tonggiroh, A. (2019). Isolation and Characterization of Bacteria from Mangrove Sediment at Coastal Area in Pangkep South Sulawesi. *Journal of Physics: Conference Series*, 1341 (2), 1–6.
- Badan Pusat Statistik. (2020). *Kabupaten Tapanuli Tengah Dalam Angka*. <https://tapanulitengahkab.bps.go.id/publication/2020/05/20/d674959692e7275304138f2a/kabupaten-tapanuli-tengah-dalam-angka-2020.html>
- Boleng, D. T. (2015). *Bakteriologi: Konsep-Konsep Dasar*. Malang: UMM Press.
- Campbell, N. A., & Reece, J. B. (2008). *Biologi: Jilid 2* (D. T. Wulandari, Ed.; 8th ed.). Jakarta: Erlangga.
- Csuros, M., & Csuros, C. (1999). *Microbiological Examination of Water and Wastewater*. USA: Lewis Publisher.
- Damayanti, S. S., Komala, O., & Effendi, E. M. (2020). Identifikasi Bakteri dari Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *EKOLOGIA*, 18 (2), 63–71.
- Dewi, A. K., Meylina, L., & Rusli, R. (2017). Isolasi Bakteri dari Tanah Mangrove *Rhizopora* sp. di Kota Bontang. *Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 59–68.
- Feliatra. (2018). *Probiotik: Suatu Tinjauan Keilmuan Baru bagi Pakan Budi Daya Perikanan* (D. Melina, Ed.; Pertama). Jakarta: Kencana.
- Ginting, S. S. B., Suryanto, D., & Desrita, D. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5 (1), 23–29.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda dengan Jenis Ikan Berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1 (2), 11–21.
- Hanzen, W. F. E., Hastuti, U. S., Makkadafi, S. P., Al Asna, P. M., & Nugraheni, F. S. A. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Amilolitik dari Tanah yang Tercampur Limbah Kulit Ubi Kayu di Bondowoso, Jawa Timur. *Prosiding Seminar Nasional III*, 76–85.
- Hastuti, U. S., Nugraheni, F. S. A., & Al Asna, P. M. (2017). Identifikasi dan Penentuan Indeks Hidrolisis Protein pada Bakteri Proteolitik dari Tanah Mangrove di Margomulyo, Balikpapan. *Proceeding Biology Education Conference*, 14, 265–270.

- Jannah, R., Jalaluddin, M., & Aliza, D. (2017). Jumlah Koloni Bakteri Selulolitik pada Sekum Ayam Kampung (*Gallus domesticus*). *JIMVET*, 1 (3), 558–565.
- Kaushal, J., Mehandia, S., Singh, G., Raina, A., & Arya, S. K. (2018). Catalase enzyme: Application in bioremediation and food industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16, 192–199.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi secara Biokimia. *PHARMACON*, 8 (2), 351–359.
- Mukrin, M., Yusran, Y., & Toknok, B. (2019). Populasi Fungi dan Bakteri Tanah pada Lahan Agroforestri dan Kebun Campuran di Ngata Katuvua Dongi-Dongi Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi Sulawesi Tengah. In *J. ForestSains*, 16 (2).
- Mustakin, F., & Tahir, M. M. (2019). Analisis Kandungan Glikogen pada Hati, Otot, dan Otak Hewan. *Canrea Journal*, 2 (2), 75–80.
- Mustaqim, M., Roza, R. M., & F, B. L. (2014). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Lais (*Kryptopterus Spp.*). *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau*, 1 (2), 248–257.
- Ong, J. E., & Gong, W. K. (2013). *Structure, Function and Management of Mangrove Ecosystems*. Okinawa: The International Society for Mangrove Ecosystems.
- Pattuju, S. M., Fatimawali, & Manampiring, A. (2014). Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri pada Urine, Feses dan Kalkulus Gigi pada Individu di Kecamatan Malalayang, Manado, Sulawesi Utara. *Jurnal E-Biomedik (EBM)*, 2 (2), 532–540.
- Prihanto, A. A., Timur, H. D. L., Jaziri, A. A., Nurdiani, R., & Pradarameswari, K. A. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit Mangrove *Sonneratia alba* Penghasil Enzim Gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*, 1 (1), 31–42.
- Remijawa, E. S., Rupidara, A. D. N., Ngginak, J., & Radjasa, O. K. (2020). Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler pada tanah Mangrove di Pantai Noelbaki. *JURNAL ENGGANO*, 5 (2), 164–180.
- Ruma, M. T. L., Refli, R., & Suwardi, E. (2020). Isolasi dan Karakterisasi Golongan Bakteri Kitinolitik pada Limbah Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biotropikal Sains*, 17 (2), 14–23.
- Subagiyo, Djarod, M. S. R., & Setyati, W. A. (2017). Potensi Ekosistem Mangrove sebagai Sumber Bakteri untuk Produksi Protease, Amilase dan Selulase. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20 (2), 106–111.
- Sukmawati, S., & Badaruddin, M. I. (2019). Screening of Probiotic Bacteria Candidates in The Mangrove Tourism Area in Klawalu Sorong City West Papua. *Bioscience*, 3 (2), 161–168.
- Sumardi, Agustrina, R., Irawan, B., Tugiyono, Putri, D. A., & Arifiyanto, A. (2021). Isolation and Characterization of Anoxygenic Photosynthetic Bacteria for Reducing Ammonia and Probiotics Candidate. *Asian Journal of Scientific Research*, 14 (1), 6–12.

-
- Suriani, & Muis, A. (2016). Prospek *Bacillus subtilis* sebagai Agen Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah pada Tanaman Jagung. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 35 (1), 37–45.
- Yulma, Y., Satriani, G. I., Awaludin, A., Ihsan, B., & Pratiwi, B. (2019). Diversity of Bacteria in Sediment from Mangrove and Bekantan Conservation Area (KKMB) in Tarakan City. *AQUASAINS*, 7 (2), 697–706.
- Yuniati, R., Nugroho, T. T., & Puspita, F. (2015). Uji Aktivitas Enzim Protease dari Isolat *Bacillus* sp. Galur Lokal Riau. *JOM FMIPA*, 1 (2), 116–122.