

**ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ENZIMATIK KANDIDAT PROBIOTIK  
DARI SALURAN PENCERNAAN IKAN-IKAN EKONOMIS  
RAWA DANAU PANGGANG**

**ISOLATION AND ENZYMATIC ACTIVITY TEST OF PROBIOTIC  
CANDIDATE FROM DANAU PANGGANG SWAMP ECONOMICAL  
FISHES DIGESTIVE TRACT**

**<sup>1)</sup>Rini Marlida dan <sup>2)</sup>Elrifadah**

<sup>1,2)</sup>Fakultas Pertanian Universitas Achmad Yani Banjarmasin  
Email: rinimarlida@uay.ac.id

**ABSTRAK**

Tujuan dari penelitian ini adalah mengisolasi kandidat probiotik diperoleh dari saluran cerna ikan ikan rawa ekonomis yang berasal dari perairan Danau Panggang dan menguji aktivitas enzim amilase, protease dan lipase. Ikan yang dijadikan sampel adalah gabus haruan, papuyu, dan sepat siam masing-masing mewakili golongan karnivora, omnivora dan herbivora. Media yang digunakan adalah media selektif mengandung pati, minyak zaitun dan susu skim. Kandidat probiotik yang berhasil diisolasi, tumbuh dengan baik dan memiliki aktivitas enzimatik dari gabus haruan adalah 11 isolat, papuyu 12 isolat, dan sepat siam 12 isolat. Sampel C3GHDP memiliki aktivitas amilolitik tertinggi, I3PDP4 memiliki aktivitas lipolitik tertinggi, dan D4SSDP1 serta H3PDP memiliki aktivitas proteolitik tertinggi. Di antara semua isolat G1PDP<sub>sp</sub> memiliki ketiga aktivitas enzimatik tertinggi.

Kata kunci : *probiotik, enzim, ikan rawa, Danau Panggang*

**ABSTRACT**

Aim of this research were isolation of probiotics candidate from digestive tract of Danau Panggang swamp fishes and amylolytic, proteolytic, and lipolytic enzyme activity test. Sample fishes were snake head (*Channa striata*), climbing perch (*Anabas testudineus*), and Siamese gouramy (*Trichogaster pectoralis*) as a representative sample from carnivorous, omnivorous, and herbivorous fish. Medium containing starch, skim milk and olive oil used as selective media. Result of this research was successfully isolated probiotic candidate whom grow well and had enzyme activity from *C. Striata* obtained 11 isolate, 12 isolate from *A. testudineus* and *T. pectoralis* respectively. Higher amilolytic activity was C3GHDP, I3PDP4 had a higher lipolytic activity, D4SSDP1 and H3PDP had a higher proteolytic activity. Among those isolate G1PDP<sub>sp</sub> had a amilolytic, proteolytic and lipolytic activity.

Key words : *probiotic, enzyme, swamp fishes, Danau Panggang*

## PENDAHULUAN

Kecamatan Danau Panggang merupakan agroekosistem rawa terbesar di Kalimantan Selatan, mempunyai luas area 380,62 km<sup>2</sup> atau sekitar 13,74 % dari luas Kabupaten Hulu Sungai Utara (Natalia *et al.*, 2006). Plasma nutfah ikan-ikan rawa bernilai ekonomis merupakan sumber utama hasil perairan rawa Danau Panggang. Ikan-ikan tersebut meliputi ikan gabus haruan (*Channa striata*), papuyu (*Anabas testudineus*) dan sepat siam (*Trichogaster pectoralis*).

Penelitian ini berkontribusi pada upaya percepatan budidaya ikan-ikan rawa di Propinsi Kalimantan Selatan. Mengingat ikan rawa sebagian besar masih masuk dalam kategori ikan liar (*wildfish*). Ikan liar sangat membutuhkan domestikasi sebelum memasuki ranah budidaya dan keberhasilan domestikasi sangat ditentukan oleh penanganan pada setiap fase kehidupan ikan. Seluruh siklus kehidupan ikan merupakan mata rantai yang tidak boleh terputus. Fase terpenting dalam kehidupan ikan adalah fase larva, terutama berkaitan dengan peralihan dari penggunaan pakan

endogen ke pakan eksogen, juga masih lemahnya kondisi larva di awal perkembangan daur hidup (Marlida 2015).

Salah satu potensi mikroorganismen perairan rawa yang dapat menunjang keberhasilan budidaya species baru adalah sebagai probiotik. Isolasi dan seleksi kandidat probiotik merupakan faktor penting yang menentukan keberhasilan aplikasi probiotik di bidang akuakultur (Nayak *et al.* 2010). Sun *et al.* (2010) menjelaskan bahwa bakteriprotiotik akan memberikan pengaruh yang tidak baik bagi inang apabila tidak cocok dengan lingkungan saluran cerna. Menurut Ghosh *et al.* (2007), meskipun beberapa probiotik komersial sudah bias diterapkan pada lingkungan akuakultur, namun kemampuannya bertahan dengan nilai optimum pada milieu usus masih kurang efektif (Ghosh *et al.* 2007).

Tahap awal penelitian adalah mengisolasi dan menguji aktivitas enzimatik bakteri kandidat probiotik dari saluran pencernaan ikan-ikan rawa ekonomis seperti ikan gabus haruan yang mewakili ikan karnivora, ikan papuyu yang mewakili ikan omnivora, dan ikan sepat siam mewakili ikan herbivora.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini terdiri dari sampel ikan yaitu gabus haruan, papuyu, dan sepat siam diambil dari lokasi rawa lebak Danau Panggang. Sampel kemudian ditempatkan ke dalam *cool box* untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dianalisis secara mikrobiologi.

### Analisis Data

#### *Pengambilan Sampel*

Sampel ikan yaitu gabus haruan, papuyu, dan sepat siam diambil dari lokasi rawa lebak Danau Panggang. Sampel kemudian ditempatkan ke dalam *cool box* untuk selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dianalisis secara mikrobiologi.

#### *Isolasi Bakteri*

Sampel sebanyak 10 g diencerkan dengan 90 mL cairan fisiologis (NaCl 0,85%). Proses isolasi dilakukan dengan media selektif, yakni media TSA (*Trypticase Soy Agar*), yang mengandung pati untuk bakteri

amilolitik, susu untuk bakteri proteolitik, dan minyak zaitun untuk bakteri lipolitik. Pengenceran berseri dilakukan dari  $10^{-2}$  sampai  $10^{-4}$  dengan cara mengambil 0,1 ml bahan yang telah digerus dan dimasukkan ke dalam eppendorf sebagai pengenceran pertama, selanjutnya dari eppendorf pertama diambil sebanyak 0,1 ml untuk pengenceran kedua, demikian seterusnya hingga pengenceran ke empat. Inokulum dikultur dengan metode cawan sebar pada media TSA (*Trypticase Soy Agar*). Inokulum yang dikultur berasal dari pengenceran kedua, ketiga dan keempat. Kultur dibuat secara duplo. Kultur diinkubasi pada suhu  $29^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, kemudian diamati koloni bakteri yang tumbuh.

Koloni tunggal yang tumbuh pada media kultur dan memiliki profil yang berbeda diambil dengan jarum ose dan digoreskan di media TSA steril pada cawan petri dengan metode gores kuadran, kemudian diinkubasi kembali pada suhu  $29^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam untuk mendapatkan isolat tunggal yang murni. Metode pemurnian ini dilakukan berulang-ulang dengan metode yang sama hingga diperoleh koloni bakteri

yang tunggal dan seragam. Isolat murni dipindahkan ke tabung reaksi berisi media TSA steril, untuk disimpan sebagai stok isolat bakteri kandidat probiotik dan digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Prosedur isolasi mikrob yang mempunyai aktivitas amilolitik, proteolitik, dan lipolitik dilakukan dengan metode selektif, yang mengacu pada metode yang dilakukan pada hewan terestrial seperti petunjuk Hungate (1966), serta mengkombinasikannya dengan prosedur isolasi mikrob dari saluran pencernaan ikan seperti metode yang dilakukan oleh Nakayama *et al.* (1994) dan Hoshino *et al.* (1997).

#### *Uji Aktivitas Enzimatik*

Pengujian ini bertujuan untuk mengukur besarnya aktivitas proteolitik, lipolitik, dan amilolitik dari masing-masing isolat melalui uji hidrolisis karbohidrat, protein, dan lemak. Bakteri kandidat probiotik ditumbuhkan pada media SWC yang masing-masing telah ditambahkan pati sebanyak 2 % (v/w) untuk uji amilolitik, susu skim sebanyak 2 % (v/w) untuk uji proteolitik, dan minyak zaitun sebanyak 2 % (v/v) untuk uji lipolitik. Kemampuan menghidrolisis

protein ditandai dengan adanya zona bening di sekeliling isolat yang ditumbuhkan pada media agar dengan penambahan susu skim. Hidrolisis lemak ditandai dengan adanya warna kehijauan pada media agar dengan penambahan minyak zaitun, setelah permukaan media digenangi kopper sulfat (CuSO<sub>4</sub>) jenuh. Kemampuan menghidrolisis karbohidrat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni yang tumbuh, setelah media digenangi dengan reagen Kalium iodida (KI) 1 %.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Kandidat probiotik yang diisolasi dipilih berdasarkan pertumbuhan dominan, perbedaan karakter morfologi koloni yang meliputi warna, dan bentuk koloni, serta kemampuan tumbuh pada media. Hasil isolasi diperoleh 11 isolat dari saluran pencernaan ikan gabus haruan, 12 isolat dari ikan papuyu, dan 12 isolat dari ikan sepat siam.

Isolat dengan aktivitas enzimatik terbaik, yakni C3GHDP, I3PDP4, D4SSDP1, H3PDP, dan G1PDP<sub>sp</sub> selanjutnya diambil untuk uji lanjutan

yakni uji pembentukan biofilm, kemampuan tumbuh dalam milieu asam dan basa, patogenitas, dan pertumbuhan.

Tabel 1. Aktivitas enzimatik bakteri kandidat probiotik dari saluran cerna ikan-ikan rawa Danau Panggang

No.	Ikan Sampel	Kode	Aktivitas Enzimatik				
			Amilolitik (mm)	Proteolitik (mm)	Lipolitik (mm)		
1.	Gabus Haruan	A1 GHDP	2	-	-		
		A2GHDP2	13	2	2		
		A3GHDP2	2	-	-		
		A4GHDP <sub>sp</sub>	2	2	-		
		B1GHDP <sub>sp</sub>	20	8	3		
		B2GHDP	10	10	-		
		B3GHDP2	2	2	2		
		B4GHDP	1	-	-		
		C1GHDP	11	2	2		
		C2GHDP	10	2	2		
		C3GHDP	40	5	2		
		C4GHDP	2	-	-		
		2.	Ikan Sepat Siam	D1SSDP1	2	-	--
				D2SSDP4	18	8	5
D3SSDP <sub>sp</sub>	5			-	2		
D4SSDP <sub>sp</sub>	25			13	-		
E1SSDP <sub>sp</sub>	-			2	-		
E2SSDP	-			1	1		
E3SSDP	2			2	-		
E4SSDP2	-			2	1		
F1SSDP <sub>sp</sub>	5			2	2		
F2SSDP	10			12	5		
F3SSDP1	8			3	-		
F4SSDP2	2			-	-		
3.	Ikan papuyu			G1PDP <sub>sp</sub>	25	12	5
				G2PDP	11	8	2
		G3PDP2	5	5	1		
		G4PDP4	2	-	-		
		H1PDP1	-	5	-		
		H2PDP2	2	5	-		
		H3PDP	5	13	2		
		H4PDP <sub>sp</sub>	5	10	-		
		I1PDP <sub>sp</sub>	2	2	3		
		I2PDP	8	2	10		
I3PDP4	8	-	12				
I4PDP4	1	2	5				

Sumber : Pengolahan Data Primer

## Pembahasan

Saluran pencernaan ikan merupakan tempat utama masuknya makanan, dan proses penyerapannya. Kolonisasi sejumlah bakteri pada saluran cerna memiliki peran yang sangat penting dalam hidrolisis pakan dan memodulasi kesehatan ikan. Seleksi kandidat probiotik dilakukan dengan tujuan untuk mendapat bakteri probiotik yang dapat digunakan untuk budidaya ikan-ikan rawa melalui perbaikan nilai nutrisi dan daya cerna pakan serta kualitas air.

Bakteri probiotik yang diisolasi pada penelitian ini adalah bakteri yang mempunyai aktivitas amilolitik, proteolitik, dan lipolitik. Menurut hasil penelitian Kar & Gosh (2008), bahwa pada *gastrointestinal tract* ikan *Labeo rohita* dan *Channa punctatus* juga ditemukan sejumlah besar bakteri penghasil enzim seperti amilolitik, proteolitik, dan celolitik. Bakteri-bakteri tersebut meningkatkan daya cerna dan penyerapan nutrient pada usus.

Bakteri memiliki kemampuan menyesuaikan diri pada milieu yang kaya akan molekul kompleks dengan cara mensekresikan enzim yang disebut

enzim *exogenous*. Enzim *exogenous* tersebut akan membantu enzim *endogenous* inang untuk menghidrolisis nutrien pakan seperti memecah atau menguraikan rantai panjang karbohidrat, protein dan lemak penyusun pakan. Pemecahan molekul-molekul kompleks ini menjadi molekul sederhana akan mempermudah pencernaan pakan dan penyerapan nutrien pakan dalam saluran pencernaan ikan. Probiotik tidak hanya melakukan mekanisme aksi dalam sistem imun tetapi juga memiliki peran protektif yaitu secara langsung membloking mikroba-mikroba patogen dan meningkatkan integritas mukosa melalui stimulasi sel epitelial (Gourbeyre *et al.* 2011).

Kandidat probiotik yang berhasil diisolasi dari saluran cerna ikan-ikan rawa memiliki aktivitas enzimatik seperti C3GHDP dari gabus haruan yang memiliki kemampuan mendegradasi pati dapat digunakan untuk mensubstitusi tepung ikan dengan tepung lainnya yang mengandung karbohidrat dalam komposisi bahan pakan. Demikian juga kandidat probiotik D4SSDP1 dan H3PDP yang masing-masing berasal dari ikan sepat siam dan papuyu sebagai penghasil enzim protease, dapat

digunakan untuk memaksimalkan pemanfaatan protein, serta I3PDP4 dari ikan papuyu yang mampu menghidrolisis lemak dengan baik dapat digunakan untuk pemanfaatan lemak dalam komposisi pakan dan penghasil energy selain protein. Sedangkan G1PDP<sub>sp</sub> memiliki kemampuan yang bagus dalam mendegradasi ketiga enzim dapat digunakan untuk menghidrolisis pakan dan meningkatkan nilai nutrisi.

Pada hasil penelitian terdapat penemuan penting kandidat probiotik yang berasal dari ikan-ikan rawa yang akan digunakan untuk ranah budidaya dan percepatan budidaya ikan-ikan rawa.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### ***Kesimpulan***

Berdasarkan hasil isolasi kandidat probiotik dari ikan-ikan rawa ekonomis di Danau Panggang berhasil diisolasi, tumbuh dengan baik dan memiliki aktivitas enzimatik dari gabus haruan adalah adalah 11 isolat, papuyu 12 isolat, dan sepat siam 12 isolat. Sampel C3GHDP memiliki aktivitas amilolitik tertinggi, I3PDP4 memiliki aktivitas lipolitik tertinggi, dan D4SSDP1 serta

H3PDP memiliki aktivitas proteolitik tertinggi. Di antara semua isolat G1PDP<sub>sp</sub> memiliki tiga aktivitas enzimatik tertinggi.

### **Saran**

-

### **Ucapan Terima Kasih**

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kemenristekdikti melalui DIPA Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi No.042,06-0/2017 untuk Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ghosh S, Sinha A, Sahu C, 2007. Dietary probiotic supplementation in growth and health of live-bearing ornamental fishes. *Aquacult Nutr* 13 : 1 – 11.
- Gourbeyre P, Denery S, Bodinier M. 2011. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *J. Leukocyte Biol.* 89 : 685 – 695.
- Hoshino T, Ishizaki K, Sakamoto T, Kumeta H, Yumoto I, Matsuyama H, Ohgiya S. 1997. Isolated of *Pseudomonas* sp. of fish intestine excretion an active protease at low temperature. *Lett Appl Microbiol* 25 : 70 – 72.
- Hungate R. 1966. The Rumen and Its Microbes. London and New York: Academic Press.
- Kar N, Ghosh K. 2008. Enzyme producing bacteria in the gastrointestinal tracts of *Labeo rohita* (Hamilton) and *Channa punctatus* (Bloch). *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 8 : 115 – 120.
- Marlida, R., 2015. Fisiologi pencernaan ikan papuyu (*Anabas testudineus* Bloch) pada awal perkembangan daur hidup. dalam Prosiding Seminar Nasional, Strategi Pemanfaatan lahan rawa dalam mendukung kedaulatan pangan 17-18 Maret 2015. Hal 314-322.
- Nakayama A, Yano Y, Yoshida K. 1994. New method for isolating Barophiles from intestinal contents of deep sea fishes retrieved from the abyssal zone. *Appl Env Microbiol* 60 (11): 4210 – 4212.
- Natalia, L, Suhardono, A. Priadi, 2006. Kerbau rawa di Kalimantan Selatan: Permasalahan, penyakit dan usaha pengendalian.
- Nayak SK. 2010. Probiotic and immunity. *Fish and Shellfish Immunology.* 29: 2-14.
- Sun YZ, Yang HL, Ma RL, Lin WY, 2010. Probiotic applications of two dominant gut *Bacillus* strains with antagonistic activity improved the growth performance and immune responses of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunol.* 29: 803 – 809.
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in Aquaculture. *Microbiological and Molecular Biology Review,* 64: 655-671.