

Potensi Beberapa Isolat Probiotik Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Vibrio* spp.

ZARASWATI DWYANA¹, DAN NUR HAEDAR¹, HASBIAH¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10, Makassar, 90245

ABSTRAK

The research about potential of some probiotic isolates as an antibacterial on the growth of *Vibrio* spp had been done. This research aimed to know the antibacterial potency from some isolates probiotic on the growth of *Vibrio* spp. This research to tested the inhibition on the three species of *Vibrio* that are *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Vibrio cholerae* using agar diffusion method. Probiotic isolates come from lactic acid bacteria group that provide beneficial effects on health and its host. Used also commercial probiotic (S.NB) as a positive control. From the results of the inhibitory effect on the growth of pathogenic bacteria test showed all isolates probiotics have the ability to inhibit *Vibrio* spp. At 1 x 24-hour observation shown isolates B most excellent in inhibiting the growth of *Vibrio harveyi*, against *Vibrio parahaemolyticus* obtained isolates C most excellent inhibited bacteria, whereas against *Vibrio cholerae* isolates H was most excellent in inhibiting the pathogenic bacteria. After 2 x 24 hours observation was to known that all isolates probiotics used have the ability as antibacterial that was bactericidal on the growth of *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholera*.

Keywords: Antibacterial, Probiotic Isolates, *Vibrio* spp

PENDAHULUAN

Berbagai kegagalan panen yang terjadi pada tambak udang di Indonesia menjadi fenomena yang sangat merugikan petani tambak. Kegagalan panen biasanya disebabkan serangan bakteri *Vibrio* yang mengakibatkan kematian udang dalam waktu yang cepat dan dalam jumlah yang besar. Bakteri ini merupakan jenis patogen yang menginfeksi dan menyebabkan penyakit pada saat kondisi udang lemah dan faktor lingkungan yang ekstrim (Lopillo, 2000).

Terjadinya kematian udang akibat serangan bakteri *Vibrio* ini membuat para petani tambak udang mengalami kerugian yang besar. Potensi penyebaran *Vibrio* yang demikian besar hendaknya segera diatasi dengan melakukan berbagai upaya penanggulangan (Felix *et al.* 2011).

Penanggulangan penyakit dapat dilakukan dengan cara pencegahan dan pengobatan. Pengobatan yang biasa dilakukan adalah memberikan bahan kimia atau sejenisnya, tetapi penggunaan bahan kimia ini mempunyai dampak lingkungan yang kurang baik. Penggunaan antibiotik dalam

perkembangannya sebagai antibakteri ternyata menimbulkan resistensi terhadap organisme target seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Aeromonas salmonicida* serta *Vibrio harveyi*. Dengan demikian penggunaan antibiotik untuk mengontrol mikroba patogen tidak dianjurkan. Apalagi dikhawatirkan terdapat residu antibiotik dalam tubuh udang yang akan membahayakan manusia apabila mengkonsumsinya. Oleh sebab itu perlu dilakukan beberapa alternatif lain dan salah satunya adalah melalui penggunaan probiotik.

Aplikasi probiotik pada tambak udang bertujuan untuk mengeliminasi atau mengurangi kehadiran bakteri patogen pada air dan sedimen, serta memperbaiki kualitas air tambak melalui degradasi bahan organik (Garriques dan Arevalo (1995), Moriarty, 1999). Salah satu bakteri patogen yang paling berpotensi sebagai agen penyebab penyakit yaitu *Vibrio* sp. Pada akhirnya harapan penggunaan bakteri probiotik ini akan mampu menaikkan tingkat kelangsungan hidup dan mempercepat pertumbuhan udang.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Erlemeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), cawan petri, botol vial, batang pengaduk, sendok tanduk, rak tabung, ose bulat, jangka sorong, bunsen, spoit, hand sprayer, bunsen, jangka sorong, sentrifugasi (Hettich Universal), shaker (Health Shaker Rotator), oven (Heraues), otoklaf (All American), neraca analitik (Precisa 180 A), inkubator (Memmmert), enkas, hot plate (Cole Parmer Instrumen Company), dan kulkas.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah beberapa isolat probiotik (koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin) yang berasal dari usus itik pedaging *Anas domesticus*, isolat bakteri *Vibrio harveyi*; *Vibrio cholerae*; dan *Vibrio parahaemolyticus*, probiotik komersial (Super NB), medium TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrosar*), medium MRSB (*deMan Rogosa Sharpe Broth*) (MERCK), medium NA (Nutrient Agar), bacto agar, glukosa, CaCO₃, NaCl, blank disk, kapas, alkohol, kain kasa, tissue, label, karet, pinset, korek, aluminium foil, cling wrap, larutan spritus, dan aquades steril.

Pengambilan Sampel. Sampel probiotik yang digunakan merupakan beberapa isolat probiotik (Probiotik B, C, G, dan H) yang berasal dari koleksi Laboratorium

Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin, Makassar dan probiotik komersial (Super NB) sebagai kontrol positif yang berasal dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros.

Sampel *Vibrio* yang digunakan pada penelitian ini ada tiga spesies *Vibrio cholera* dan *Vibrio harveyi* yang merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi, Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau, Barru, Sulawesi Selatan serta *Vibrio parahaemolyticus* yang diperoleh dari Fakultas Kelautan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Uji Potensi Antibakteri. Untuk mengetahui bahwa beberapa isolat probiotik (isolat B, C, G dan H) serta probiotik komersial (super NB) sebagai pembanding, mempunyai potensi sebagai antibakteri maka perlu dilakukan uji daya hambat terhadap tiga isolat bakteri uji *Vibrio harveyi*, *Vibrio cholerae* dan *Vibrio parahaemolyticus*.

Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi menggunakan blank disk. Setelah diinkubasi, diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan sentimeter.

Prosedur Analisis. Hasil yang diperoleh dari pengujian daya hambat dianalisa secara deskriptif dan dipilih isolat yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio spp.*

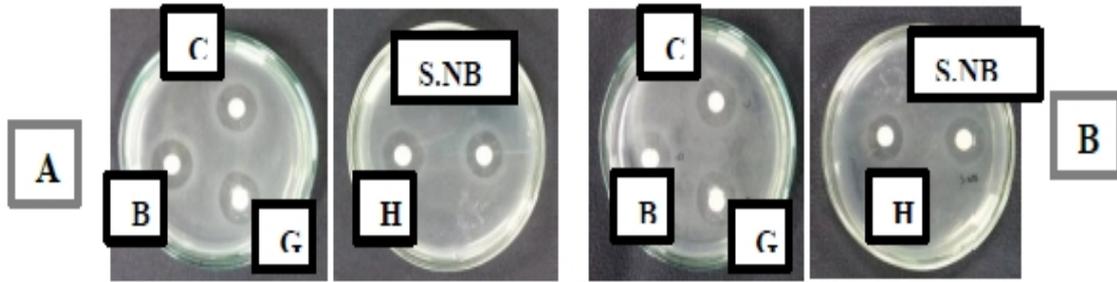
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Pengukuran Rata-rata Zona Bening Uji Daya Hambat Terhadap *Vibrio spp.*

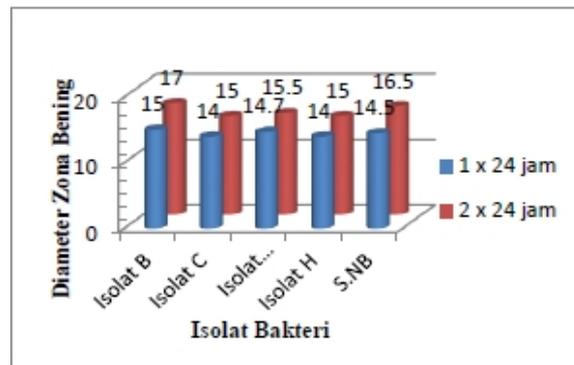
Kultur Isolat	Diameter Zona Bening (mm)					
	<i>Vibrio harveyi</i>		<i>V. parahaemolyticus</i>		<i>Vibrio cholera</i>	
	1x24 jam	2x24 jam	1x24 jam	2x24 jam	1x24 jam	2x24 jam
B	15,0	17,0	13,0	14,0	12,0	13,0
C	14,0	15,0	15,0	17,0	12,0	13,0
G	14,7	15,5	14,0	15,0	11,0	12,0
H	14,0	15,0	14,0	15,0	15,0	16,0
S. NB	14,5	16,5	14,0	15,0	15,5	16,5

Isolat probiotik B, C, G, H, dan S.NB sebagai kontrol positif diujikan terhadap 3 spesies *Vibrio*, yaitu *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholera*. Hasil

pengamatan uji daya hambat terhadap *Vibrio harveyi* setelah inkubasi 1-2 x 24 jam seperti dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengamatan uji daya hambat terhadap *Vibrio harveyi* setelah inkubasi 1 x 24 jam (A) dan 2 x 24 jam (B)

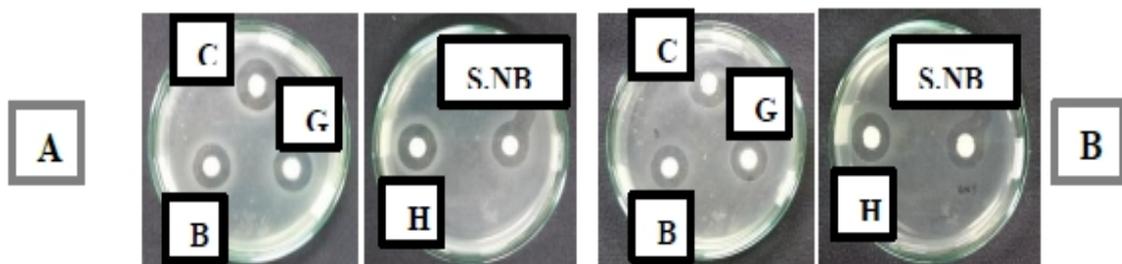


Gambar 3. Diagram Hasil Pengukuran Zona Bening Isolat Probiotik Terhadap *Vibrio harveyi* Setelah Inkubasi 1-2 X 24 Jam pada Suhu 37°C

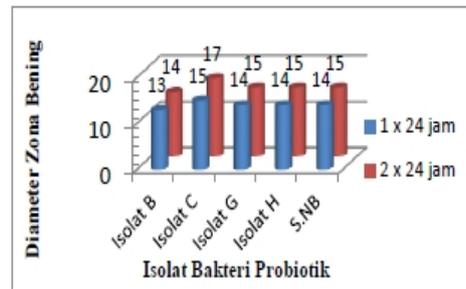
Pada Gambar diatas tampak bahwa isolat yang paling besar daya hambatnya adalah isolat B, diikuti isolat G dan yang paling kecil isolat C dan H. Kemampuan isolat probiotik B sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* lebih tinggi dibandingkan kontrol positif (S.NB).

Pada Gambar 3 setelah inkubasi 1 x 24 jam terlihat bahwa isolat B memiliki ukuran daya hambat tertinggi yaitu 15,00 mm selanjutnya isolat G 14,70 mm kemudian isolat C dan H dengan ukuran daya hambat terkecil yaitu 14,00 mm, dan untuk kontrol positif mempunyai ukuran daya hambat sebesar 14,50 mm. Hasil pengukuran setelah inkubasi 2 x 24

jam semua isolat probiotik memperlihatkan kemampuan yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi*, dimana isolat B ukuran daya hambatnya menjadi 17,00 mm selanjutnya isolat G 15,50 mm diikuti oleh isolat C dan H sebesar 15,00 mm dan untuk kontrol positif ukuran daya hambatnya menjadi 16,50 mm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat probiotik yang digunakan memiliki kemampuan mengeluarkan senyawa yang bersifat bakterisida yang membunuh bakteri lain yang dilihat dari bertambahnya zona bening di sekitar blank disk.



Gambar 4. Hasil pengamatan uji daya hambat terhadap *Vibrio parahaemolyticus* setelah inkubasi 1 x 24 jam (A) dan 2 x 24 jam (B)

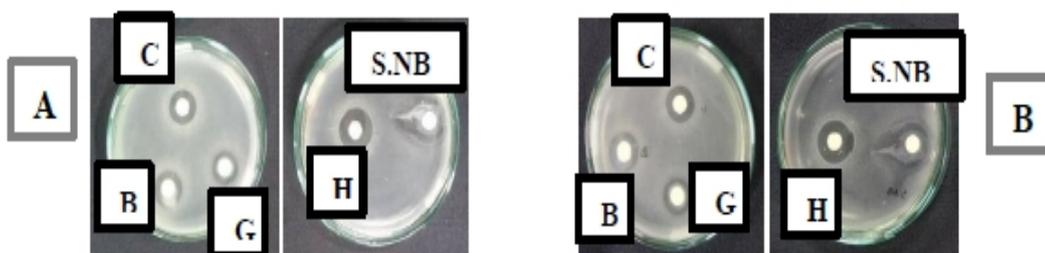


Gambar 5. Diagram Hasil Pengukuran Zona Bening Isolat Probiotik Terhadap *Vibrio parahaemolyticus* Setelah Inkubasi 1-2 X 24 Jam pada Suhu 37⁰C

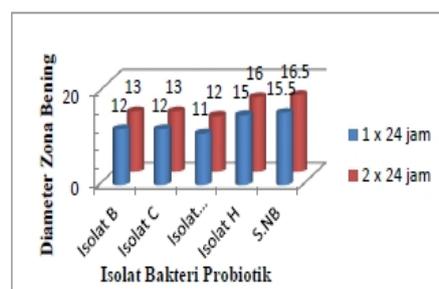
Hasil pengamatan pada Gambar 4 terlihat bahwa isolat probiotik C yang mempunyai zona hambat paling besar terhadap bakteri tersebut, diikuti oleh isolat G dan H, dan yang paling kecil zona hambatnya adalah isolat B. Hal ini berarti kemampuan isolat C dalam menghambat lebih efektif dibandingkan dengan kontrol positif sedangkan isolat G dan H mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat bakteri *V. parahaemolyticus*.

Pada Gambar 5 setelah inkubasi 1 x 24 jam terlihat bahwa isolat C memiliki ukuran zona hambat tertinggi yaitu 15,00 mm selanjutnya isolat G dan H mempunyai ukuran zona hambat yang sama yaitu 14,00 mm kemudian isolat B

dengan ukuran zona hambat terkecil yaitu 13,00 mm dan untuk kontrol positif mempunyai ukuran zona hambat sebesar 14 mm. Setelah inkubasi 2 x 24 jam, dari hasil pengukuran zona hambat menunjukkan peningkatan dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus*, ukuran zona hambat isolat C menjadi 17,00 mm kemudian isolat G dan H menjadi 15,00 mm kemudian isolat B menjadi 14,00 mm dan untuk S.N.B menjadi 14,00 mm. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat probiotik memiliki kemampuan menghasilkan zat antibakteri yang membunuh bakteri lain yang dilihat dari bertambahnya zona bening di sekitar blank disk.



Gambar 6. Hasil pengamatan uji daya hambat terhadap *Vibrio cholera* setelah inkubasi 1 x 24 jam (A) dan 2 x 24 jam (B)



Gambar 7. Diagram Hasil Pengukuran Zona Bening Isolat Probiotik Terhadap *Vibrio cholera* Setelah Inkubasi 1-2 X 24 Jam pada Suhu 37⁰C

Gambar 6 menunjukkan hasil pengamatan terhadap *Vibrio cholera* didapatkan isolat probiotik yang mempunyai daya hambat paling besar yaitu isolat probiotik H, diikuti isolat probiotik B, C dan yang paling kecil daya hambatnya adalah isolat G. Berdasarkan pengamatan daya hambat diketahui bahwa kontrol positif (S.NB) mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat probiotik yang digunakan. Meskipun demikian isolat probiotik yang digunakan tetap efektif dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio cholera*.

Pada Gambar 7 setelah inkubasi 1 x 24 jam terlihat bahwa isolat H mempunyai ukuran daya hambat sebesar 15,00 mm kemudian isolat B dan C dengan ukuran daya hambat sama yaitu 12,00 mm dan yang terkecil isolat G 11,00 mm dan untuk kontrol positif ukuran daya hambatnya adalah 15,50 mm. Setelah inkubasi 2 x 24 jam, dari hasil pengukuran daya hambat, semua isolat probiotik mengalami peningkatan dalam menghambat bakteri patogen, ukuran daya hambat isolat H menjadi 16,00 mm diikuti oleh isolat B dan C 13,00 mm kemudian isolat G menjadi 12,00 mm dan kontrol positif menjadi 16,50 mm. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat probiotik yang digunakan mempunyai kemampuan sebagai antibakteri yang bersifat bakterisida.

Hasil penelitian dengan menggunakan isolat bakteri probiotik B, C, G, H dan S.NB sebagai kontrol positif terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholera* menghasilkan diameter hambatan yang berbeda-beda. Perbedaan diameter zona hambatan pada setiap bakteri uji tergantung dari daya serap masing-masing probiotik ke dalam agar dan kepekaan bakteri uji terhadap probiotik yang digunakan. Menurut Jawetz (1984) dalam Kusumaningtyas (1997) menyatakan bahwa diameter hambatan yang dibentuk merupakan ukuran kekuatan suatu zat antibakteri terhadap bakteri uji yang digunakan. Ditambahkan oleh Baumann *et al.* (1984) bahwa aktivitas pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor lingkungan antara lain faktor abiotik yang terdiri dari faktor fisika dan kimia. Faktor fisik meliputi: temperatur, kebasahan, nilai osmotik radiasi sedangkan faktor kimia meliputi zat-zat kimia dan medium yang cocok untuk

pertumbuhan bakteri adalah medium yang bersifat isotonis terhadap isi sel bakteri.

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat terhadap ke-tiga bakteri uji *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholera*, semua isolat probiotik B, C, G, dan H serta kontrol positif mengalami peningkatan dalam menghambat setelah inkubasi 2 x 24 jam. Hasil pengukuran ini menjelaskan bahwa isolat probiotik yang digunakan mengeluarkan zat antimikroba yang bersifat bakterisida.

Suriawiria (1983) menjelaskan bahwa, terhambatnya pertumbuhan mikroba uji disebabkan adanya metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). Beberapa jenis BAL menghasilkan bakteriosin, suatu peptida yang bersifat antibakteri, toksin yang berupa protein, bersifat bakteriosida atau bakteriostatik, mencegah pertumbuhan bakteri, dan mempunyai tempat perlekatan yang spesifik bagi patogen, Jeevaratnam, *et al.* (2003) menambahkan bahwa bakteriosin mampu meningkatkan kemampuan dari BAL terhadap pencegahan dari pertumbuhan bakteri yang berbahaya karena menghasilkan lingkungan yang asam bagi bakteri lain. Selain produksi bakteriosin sebagai cara kerja antagonistik dari probiotik, produksi asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat juga penting dalam menghambat bakteri patogen (Vazquez *et al.*, 2005). Asam laktat yang tinggi menyebabkan lapisan lipopolisakarida pada bakteri Gram negatif lisis dan memacu terjadinya lubang pada dinding sel. Antimikroba bisa masuk ke dalam sel dan kontak dengan membran sitoplasma sehingga memengaruhi sintesis energi dan permeabilitas dinding sel yang berakibat pada kematian bakteri tersebut (Lungani, 2007).

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa keempat isolat probiotik (B, C, G, dan H) mempunyai potensi dalam menghambat bakteri patogen *Vibrio spp.* Namun kemampuan menghambat yang lebih tinggi ditunjukkan terhadap *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus* dibandingkan *Vibrio cholera* yang terlihat pada pengukuran uji daya hambat (Gambar 3 dan Gambar 5). Meskipun ke-tiga bakteri uji yang digunakan diisolasi dari udang yang terserang penyakit namun berdasarkan beberapa penelitian menyatakan bahwa serangan

penyakit bakteri pada tingkat pembenihan yang paling serius dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada larva udang adalah serangan bakteri berpendar yang diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi* (Lavilla-Pitogo *et al.* (1990); Ruangpan *et al.* (1998). Serangan ini menyebabkan penyakit vibriosis. Bakteri ini pada umumnya menyerang larva udang pada stadia *zoa*, *mysis* dan awal *pascalarva* sehingga menjadi kendala dalam penyediaan benih udang yang sehat dalam jumlah besar yang diperlukan untuk produksi udang (Lavilla-Pitogo *et al.* 1990). Sehingga ke-empat isolat bakteri probiotik tersebut dapat digunakan sebagai antivibrio dalam penanggulangan penyakit bakterial pada budidaya perairan khususnya pada budidaya udang.

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa semua isolat probiotik (B, C, G dan H) yang berasal dari usus itik pedaging *Anas domesticus* mempunyai potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio cholera*.

Saran

Isolat bakteri probiotik yang telah diketahui mempunyai potensi dalam menghambat bakteri patogen *Vibrio spp.* pada penelitian selanjutnya dapat diaplikasikan pada budidaya udang sebagai pakan probiotik

DAFTAR PUSTAKA

- Anastiawan, 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri probiotik yang berasal dari usus itik pedaging *Anas domesticus*. Skripsi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Baumann, P., A.L. Furniss and J.V. Lee. 1984. Fakultatively Anaerobic Gram Negatif Rods : Genus *Vibrio*. In : N . R Krieg and J. G. Holt (Ed). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriologi*. William and Wilkins Baltimora. USA. Breed, R. S., E.G.D. Murray and N.R. Smith. 1957 *Bergey's Manual of Determination Bacteriology*. 7 tahun Edition. The Williams and Wilkins Company. Baltimora.
- Cullimore, R.D. 2000. *Principal Atlas For Bacterial Identification*. Lewis Publisher. United States of America.
- Felix, F., Titania, T.N., Sila, S and Yuslina, O. 2011. Skrining Bakteri *Vibrio sp.* Asli Indonesia Sebagai Penyebab Penyakit Uang Berbasis Teknik 16SR DNA. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 3(2) : Hal 86.
- Garriques, D. dan Arevalo, G. 1995. An Evaluation of The Production and Use of A Live Bacterial Isolate to Manipulate The Microbial Flora in the Commercial Production of *Penaeus vannamei* Postlarvae in Ecuador. In : Browdy, C.L. and Hopkins, J.S. (eds)., *Swimming through Troubled Water Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. Aquaculture. World Aquaculture Society. Baton Rouge. Louisiana, USA.
- Ilmiah, Sukenda, Widanarni, Enang, H. 2012. Isolasi dan karakterisasi *Vibrio* patogen pada ikan kerapu macan *Epinephelus fuscoguttatus*. *Akuakultur*. 11 (1), 32 (2012).
- Jeevaratnam, K., Jamuna, M. dan Bawa, A. S., 2003, *Biological Preservation of Foods – Bacteriocins of Lactid Acid Bacteria*. Defence Food Research Laboratoty, India.
- Kusumaningtyas. A. N., C. 1997. Daya Hambat Eksrak Daun Sirih Terhadap *Vibrio spp.*
- Lavilla-Pitogo, C.R, M.C.L Baticados, E.R Cruz-Lacierda and L.D De La Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philipines. *Aquaculture*, 91: 1-13.
- Lopillo, R. 2000. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Heterotropik pada Tambak yang Antagonis Terhadap *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Skripsi. Faperikan Unri. Pekanbaru. 27 hal.
- Lungani, A.T. 2007. Kemampuan Bakteri Asam Laktat dalam Menghadapi Pertumbuhan dan Produksi Aflatoksin B2 *Aspergillus flavus*. *Bioma. J.* 9 (2) : 45—51.
- Moriarty, D.J.W. 1999. Disease Control In Shrimp Aquaculture With Probiotic Bacteria. In : Bell, C.R. ; Brylinsky, M. dan John – Green, P. (Eds). *Microbial Biosystem : New Frontiers, Proceeding of The 8th International Symposium on Microbial*

- Ecology. Atlantic Canada Society for Microbial Ecology. Halifax.
- Ruangpan L. 1998. Luminous Bacteria Associated with Shrimp Mortality. Di dalam: Flegel TW, editor. *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum; Chiangmai, Thailand.* Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. 205-211.
- Suriawiria, U. 1983. Mikrobiologi Masa Depan Penuh Kecerahan Di Dalam Pembangunan, Kumpulan Beberapa Tulisan dari Unus Suriawiria. *Jurusan Biologi ITB.* Bandung. Hlm. 67-68.
- Surono, IS. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Tri Cipta Karya: Jakarta.
- Vazquez, J.A., M.P. Gonzales, & M.A. Murado. 2005. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. *Aquaculture*, 245: 14.