



**AKTIVITAS ANTAGONISTIK BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP
Vibrio parahaemolyticus PENYEBAB PENYAKIT ACUTE
HEPATOPANCREATIC NECROSIS SYNDROME (AHPNS)**

**ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTIC ACID BACTERIA AGAINST
Vibrio parahaemolyticus CAUSE DISEASE ACUTE HEPATOPANCREATIC
NECROSIS SYNDROME (AHPNS)**

Rahmiati¹ Mugi Mumpuni²

Dosen Fakultas Biologi, Universitas Medan Area Sumatera Utara
Email: amirahmiati0405@gmail.com

ABSTRACT

Lactic acid bacteria are widely known as probiotic bacteria that function as antimicrobials either directly through use in food or through the metabolites they produce. Metabolites produced by lactic acid bacteria have the ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The aim of this research is getting selected isolates that have the greatest antagonistic activity against pathogenic bacteria. There are 6 isolates of lactic acid bacteria from the shrimp digestive tract were tested against *Vibrio parahaemolyticus* bacteria which is known to cause Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS) in shrimp. The six lactic acid bacteria isolates were SPU01, SPU02, SPU03, SPU04, SPU05 and SPU06. The antagonistic ability of each isolate was different in inhibiting *Vibrio parahaemolyticus*. SPU01 and SPU04 were able to inhibit *V. parahaemolyticus* with the largest inhibition zone each 12.5 mm and 13.6 mm.

Keywords: Lactic acid bacteria, *Vibrio parahaemolyticus*, inhibition zone, antagonistic activity

ABSTRAK

Bakteri asam laktat dikenal luas sebagai bakteri probiotik yang berperan sebagai antimikroba baik secara langsung melalui penggunaan di dalam makanan maupun melalui metabolit – metabolit yang dihasilkannya. Metabolit yang dihasilkan bakteri asam laktat memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan isolat terpilih yang memiliki aktifitas antagonistik paling besar terhadap bakteri patogen. Sebanyak 6 isolat bakteri asam laktat asal saluran pencernaan udang diujikan terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang diketahui merupakan bakteri penyebab penyakit *Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome* (AHPNS) pada udang. Keenam isolat bakteri asam laktat tersebut adalah SPU01, SPU02, SPU03, SPU04, SPU05 dan SPU06. Kemampuan antagonis masing – masing isolat berbeda dalam menghambat bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Isolat bakteri SPU01 dan SPU04 mampu menghambat *V. parahaemolyticus* dengan zona hambat terbesar masing – masing yaitu 12.5 mm dan 13.6 mm.

Kata Kunci: Bakteri asam laktat, *Vibrio parahaemolyticus*, zona hambat, aktivitas antagonistik

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat memproduksi berbagai komponen bermassa molekul rendah termasuk asam, alkohol, hidrogen peroksida (H₂O₂), diasetil, CO₂, asetaldehid, D-isomer asam-asam amino dan bakteriosin. Bakteriosin merupakan senyawa antimikroba yang potensial menjadi biopreservatif dengan efek penghambatan pertumbuhan mikroorganisme patogen yang berbahaya (Savadogo



et al., 2006). Senyawa ini yang potensial menjadikan bakteri asam laktat sebagai agen pengendali hayati yang memiliki kemampuan antagonistik terhadap mikroorganisme patogen.

Dewasa ini, pemanfaatan bakteri asam laktat tidak hanya pada produk fermentasi. Keamanan pangan pada produk akuakultur seperti ikan dan udang memerlukan pengelolaan yang ramah lingkungan. Dalam hal ini, salah satu alternatif solusi untuk permasalahan keamanan pangan tersebut adalah dengan memanfaatkan bakteri asam laktat sebagai probiotik di dalam lingkungan perairan (Gunarto & Hendrajat, 2008). Probiotik merupakan pakan tambahan berupa mikroorganisme yang dapat hidup di saluran pencernaan, bersimbiosis dengan mikroorganisme yang ada, bersifat menguntungkan, dapat meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pakan tanpa mengalami proses penyerapan serta mengendalikan mikroorganisme patogen pada tubuh inang dan lingkungan, dan menstimulasi imunitas inang (Khuzaemah, 2005).

Pemanfaatan bakteri asam laktat sebagai probiotik pada budidaya perikanan telah banyak dilakukan antara lain digunakan dalam pemeliharaan udang windu, pencegahan penyakit vibriosis akibat *Vibrio harvei* (Hatmanti *et al.*, 2009), kandidat isolat potensial dalam menghambat bakteri patogen pada ikan kerapu bebek (Feliatra *et al.*, 2012).

Usus dan lambung ikan serta hewan laut memiliki potensi sebagai sumber bakteri asam laktat yang dapat dikembangkan sebagai probiotik. Kemampuan antogonis bakteri asam laktat sebagai probiotik dalam menghambat bakteri patogen berbeda tiap spesiesnya tergantung jenis metabolit sekunder seperti bakteriosin yang dihasilkan. Metode pencegahan penyakit di akuakultur dengan menggunakan antibiotik sudah tidak efektif, karena meninggalkan residu dan menimbulkan resistensi. Peningkatan jumlah kasus resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik, memicu peningkatan pencarian sumber senyawa antimikroba yang baru (Noviani *et al.*, 2009). Dewasa ini, masyarakat beralih ke metode pengendalian hayati yaitu dengan memanfaatkan bakteri asam laktat yang hidup sebagai mikroflora di saluran pencernaan hewan akuakultur.



METODE PENELITIAN

Preparasi Isolat

Isolat bakteri asam laktat diperoleh dari saluran pencernaan udang. Keenam isolat bakteri asam laktat dikulturkan pada media *de Mangan Sharp Rogosa Agar* (MRSa) steril.

Bakteri patogen *Vibrio parahaemolyticus* dikulturkan pada media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose* (TCBS) steril, yang merupakan media spesifik untuk pertumbuhan genus bakteri *Vibrio*. Keseluruhan isolat disimpan pada inkubator suhu $\pm 25-30^{\circ}\text{C}$ untuk digunakan selanjutnya.

Konfirmasi isolat *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang tumbuh pada media TCBS diamati bentuk sel dan karakteristik fisiologisnya dengan pewarnaan gram. Preparat diamati di bawah mikroskop. Ciri – ciri isolat bakteri dicocokkan dengan buku identifikasi *Bergeys Manual of Determinative of Bacteriology*.

Aktivitas Antagonistik Bakteri Asam Laktat terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

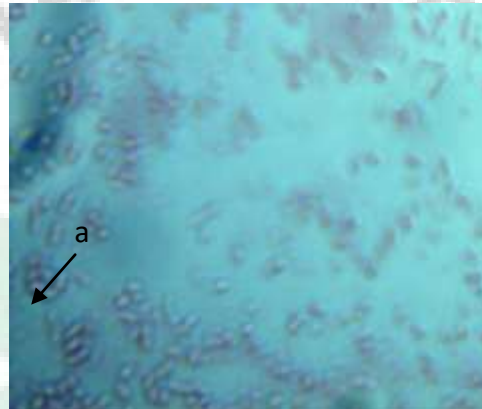
Seleksi bakteri asam laktat potensial dilakukan dengan uji antagonis antara isolat dengan bakteri patogen. Masing – masing isolat bakteri asam laktat dan bakteri patogen *V. Parahaemolyticus* diremajakan dalam media pertumbuhan. Isolat bakteri berumur 24 jam dibuat dalam bentuk suspensi dengan kerapatan 0,5 OD atau setara dengan 10^8 sel. Suspensi bakteri patogen dengan kerapatan sel 10^8 dioleskan pada permukaan media uji dengan menggunakan *cotton bud* steril. Sebanyak 10 μl suspensi bakteri asam laktat diteteskan pada kertas cakram kosong (*blank disc*). Pengujian antagonis isolat dilakukan dengan metode difusi cakram metode Kirby-Bauer (Lay, 1994). Kertas cakram uji diletakkan pada kedua sisi media yang telah diolesi bakteri patogen dengan jarak tanam 3 cm. Cawan uji diinkubasi pada suhu $25^{\circ} - 30^{\circ} \text{C}$ selama 24 jam. Isolat bakteri asam laktat potensial ditandai dengan adanya aktivitas antagonis bakteri dalam bentuk zona bening di sekitar koloni bakteri patogen.



HASIL DAN PEMBAHASAN

Konfirmasi Isolat Patogen

Hasil pewarnaan diferensial menunjukkan isolat bakteri *V. Parahaemolyticus* berbentuk *vibrio* (koma) dan merupakan gram negatif. Hal ini ditandai dengan terbentuknya warna merah pada sel bakteri setelah diamati di bawah mikroskop (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil pewarnaan bakteri *V. Parahaemolyticus* a. sel berbentuk koma

Karakteristik mikroskopis bakteri dapat diamati dengan melakukan pewarnaan differensial. Pewarnaan Gram merupakan pewarnaan yang biasa dipakai untuk melihat bentuk sel bakteri secara mikroskopis. Pewarnaan Gram melibatkan dua jenis zat warna yang berbeda. Bakteri gram positif akan menyerap zat warna utama sehingga sel akan terwarnai dengan warna ungu. Sedangkan bakteri gram negatif akan menyerap zat warna kedua, sehingga sel akan berwarna merah (Lay, 1994).

Daya Antagonistik Bakteri Asam Laktat terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

Sebanyak 6 isolat bakteri asam laktat diperoleh dari saluran pencernaan udang. Keenam isolat bakteri tersebut yaitu SPU01, SPU02, SPU03, SPU04, SPU05 dan SPU06. Keseluruhan isolat tersebut merupakan kelompok bakteri gram positif.

Keenam isolat bakteri asam laktat diketahui mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. Kemampuan antagonistik isolat bakteri asam laktat ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni bakteri patogen (gambar 2).



Gambar 2. Aktifitas antagonistik isolat bakteri asam laktat SPU02 dalam menghambat *Vibrio parahaemolyticus*.

Hasil uji antagonis isolat bakteri asam laktat terhadap *Vibrio parahaemolyticus*, menunjukkan keenam isolat memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus* (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai zona hambat (mm) isolat bakteri asam laktat terhadap *Vibrio parahaemolyticus*

Isolat	Zona Hambat (mm)			Rata – rata
	U1	U2	U3	
SPU01	20.50	20.83	21.20	21.17
SPU02	17.75	18.33	17.60	17.89
SPU03	18.76	17.95	18.80	18.50
SPU04	22.65	21.88	22.55	22.36
SPU05	18.20	18.05	17.98	18.07
SPU06	17.89	18.15	18.22	18.08

Isolat bakteri SPU04 merupakan isolat yang menunjukkan nilai zona hambat tertinggi terhadap *Vibrio parahaemolyticus* yaitu sebesar 22.36 mm. Isolat bakteri SPU01 menunjukkan nilai zona hambat tertinggi kedua yaitu sebesar 21.17 mm. Sedangkan nilai zona hambat terendah ditunjukkan oleh isolat SPU02 dengan nilai 17.89 mm. Beberapa hal yang mempengaruhi besar kecilnya zona hambat yang dibentuk bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen diantaranya adalah interaksi antara kemampuan isolat bakteri dalam menghasilkan enzim hidrolitik, umur biakan bakteri, jumlah enzim yang dihasilkan, komposisi medium dan waktu inkubasi.

Kemampuan bakteri asam laktat menghambat bakteri patogen disebabkan



kemampuan bakteri tersebut memproduksi senyawa antimikroba yaitu bakteriosin (Usmiati & Marwati, 2007). Suatu bahan antimikroba diketahui efektif menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui 3 mekanisme merusak permeabilitas membran sel, merusak protein dan merusak bahan genetik DNA atau RNA (Cappucino & Sherman 1996).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa seluruh isolat bakteri asam laktat yang diujikan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus*. SPU01 dan SPU04 merupakan isolat yang memiliki zona hambat terbesar terhadap *Vibrio parahaemolyticus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergey's Manual Trust. 1982. Systematic Bacteriology. Second Edition. Department of Microbiology and Molecular Genetics. Michigan State University East Lansing. USA.
- Cappucino, J.G & N Sherman. 1996. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 4th Ed. Addison-Wesley Publishing Company. hlm 254-255.
- Feliatra, Yuni F & Nursyirwan. Antagonis Bakteri Probiotik yang Diisolasi dari Usus dan Lambung Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 17 (1): 11 – 25.
- Gunarto & Hendrajat E A. 2008. Budidaya Udang Vanamei, *Litopenaeus vannamei* Pola Semi Insentif dengan Aplikasi Beberapa Jenis Probiotik Komersial. *J Ris Akuakultur*. 1(3): 303 – 313.
- Hatmanti A, Ruyitno N & Julinasari D. 2009. Screening Bakteri Penghambat untuk Bakteri Penyebab Penyakit pada Budidaya Ikan Kerapu dari Perairan Banten dan Lampung. *Makara Sains*. 13 (1): 81 – 86.
- Khuzaemah S. 2005. Pengaruh Aras Serat Kasar Ransum terhadap Kecernaan Serat kasar, Protein kasar dan Energi Metabolis pada Itik Tegal Jantan. Semarang: *Skripsi* Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro.
- Lay, B W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Savadogo A, Cheik A T Q, Imael H N B & Traore S A. 2006. Bacteriocins and Lactic Acid Bacteria, a minireview. *Biotechnol*. 5 (9): 678-683.
- Usmiati, S & Marwati, T. 2007. Seleksi dan Optimasi Proses Produksi Bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. *Jurnal Pascapanen*: 4. 27-37.