Uji Kompatibilitas Produk Probiotik Lifegrow Lactoplus Dan Pengujian Terhadap Bakteri Patogen *Vibrio* sp., Di PT Biotek Cipta Kreasi

Shelyna Dewi Anggraini[1*], Arif Bimantara[2], Luthfi Galih Alifianto[3], Diva Pungky Wicaksono[4]

[12]Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta
[34]PT Biotek Cipta Kreasi, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta
Email: Shelynadewi15@gmail.com

Abstrak
Penelitian ini bertujuan untuk menguji kompatibilitas produk probiotik Lifegrow Lactoplus serta mengkaji aktivitas antagonisnya terhadap bakteri patogen *Vibrio* sp. Probiotik berperan penting dalam meningkatkan kesehatan ikan budidaya, khususnya ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), yang rentan terhadap infeksi bakteri patogen. *Vibrio* sp. merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit vibriosis yang dapat menimbulkan kematian massal pada ikan. Pengujian dilakukan dengan metode isolasi, uji kompatibilitas menggunakan metode paper disk, serta uji antagonis menggunakan metode dual culture. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri *Lactobacillus* sp. dalam produk Lifegrow Lactoplus memiliki kompatibilitas yang baik dan tidak membentuk zona hambatan satu sama lain. Selain itu, bakteri ini juga menunjukkan aktivitas antagonis terhadap *Vibrio* sp., yang ditandai dengan penghambatan pertumbuhan patogen. Dengan demikian, *Lactobacillus* sp. dalam probiotik ini berpotensi sebagai agen biologis yang dapat meningkatkan ketahanan ikan terhadap infeksi bakteri patogen.

Kata Kunci : Probiotik; *Lactobacillu*s sp; *Vibrio* sp.; uji kompatibilitas; aktivitas antagonis; ikan Nila.

Compatibility Test of Lifegrow Lactoplus Probiotic Product and Testing Against Pathogenic Bacteria *Vibrio sp*. at PT Biotek Cipta Kreasi

Abstract
This study aims to evaluate the compatibility of the probiotic product Lifegrow Lactoplus and assess its antagonistic activity against the pathogenic bacteria *Vibrio* sp. Probiotics play a crucial role in enhancing the health of cultured fish, particularly Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), which are susceptible to bacterial infections. *Vibrio* sp. is one of the bacteria responsible for vibriosis, a disease that can cause mass mortality in fish. The tests were conducted using isolation methods, compatibility testing with the paper disk method, and antagonistic testing with the dual culture method. The results showed that *Lactobacillus* sp. isolates in Lifegrow Lactoplus exhibited good compatibility and did not form inhibition zones against each other. Furthermore, these bacteria demonstrated antagonistic activity against *Vibrio* sp., as indicated by the inhibition of pathogen growth. Therefore, *Lactobacillus* sp. in this probiotic has the potential to serve as a biological agent that enhances fish resistance to pathogenic bacterial infections.

Keywords: Probiotics, *Lactobacillus* sp.; *Vibrio* sp.; compatibility test; antagonistic activity; Nile tilapia.

1. Pendahuluan
Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) adalah komoditas unggulan dalam budidaya di Indonesia. Berdasarkan Data Statistik FAO 2010, Indonesia menempati posisi ketiga sebagai penghasil ikan Nila terbesar di dunia, setelah Cina dan Mesir. Budidaya ikan Nila sangat populer karena mudah untuk dirawat, memiliki tingkat pertumbuhan dan perkembangbiakannya cepat, serta tahan terhadap serangan hama dan penyakit. Nila merupakan ikan yang banyak dibudidayakan di perairan tawar seperti danau, sungai dan kolam tetapi, ikan nila bersifat eurihaline yaitu mampu dipelihara dalam kisaran salinitas yang lebar, dapat hidup di lingkungan air tawar, payau dan salin. Untuk meningkatkan produksi ikan Nila, langkah awal yang harus dilakukan adalah pemeliharaan benih yang berkualitas serta tahan terhadap penyakit (Hasan *et al.*, 2019).

Bakteri patogen adalah jenis bakteri yang dapat menimbulkan penyakit pada inangnya melalui adanya perubahan jaringan akibat perubahan. Salah satu karakteristik dari bakteri patogen adalah mempunyai sifat sprofitnya. Selain menimbulkan penyakit, bakteri patogen juga berpotensi menurunkan serta mepengaruhi kualitas, yang berdampak pada penurunan mutu produk perikanan. Bakteri patogen yang biasa menginfeksi hasil perikanan yaitu bakteri *Vibrio* sp. (Riskawati, 2016). Bakteri *Vibrio* sp. sering ditemukan di lingkungan air payau, air tawar, dan air asin, sehingga bakteri ini sering dikaitkan dengan pakan yang menjadi kontaminan alaminya. Gejala ikan yang terserang bakteri *Vibrio* sp. yaitu warna tubuh menjadi gelap, penurunan nafsu makan, nekrosis, perut yang membesar, serta mata yang menonjol. Adapun gejala lain yang muncul yaitu termasuk perubahan perilaku, seperti gerakan yang lambat, gangguan keseimbangan, berputar-putar, serta berkurangnya nafsu makan (Idami & Nasution, 2020).

Data Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Kementerian Kelautan dan Perikanan menunjukkan bahwa produksi ikan pada bulan Januari-Oktober 2017 mencapai 46.504 ton dengan kenaikan mencapai 300% dibandingkan tahun 2016 sebesar 11.504 ton. Badan Pusat Statistik Provinsi Bali mencatat nilai ekspor ikan dalam kelompok ikan dan udang mencapai 26,84% segmen pasar dan volume 19.521.420 kg dalam tahun 2020 (BPS, 2021). Akan tetapi, kesuksesan budidaya perikanan diikuti dengan penyakit yang dapat menggagalkan hasil pembenihan atau pembesaran. Patogen penyebab penyakit infeksi ikan antara lain virus, jamur, protozoa dan bakteri. Salah satu penyakit yang menyerang budidaya perikanan yaitu penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri air laut dari genus *Vibrio* dan menimbulkan kematian massal (Akbar, 2022).

Penanganan penyakit bakteri pada budidaya ikan umumnya menggunakan terapi antibiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang cukup, dapat memberi manfaat perbaikan keseimbangan mikroflora dan meningkatkan kesehatan. Probiotik telah terbukti mampu serapan nutrisi maupun memperbaiki kualitas air budidaya ikan, sistem imun, sintasan dan pertumbuhan ikan. Beberapa probiotik yang telah banyak digunakan pada budidaya ikan dan organisme air lainnya, yaitu *Lactobacillus* sp. *Lactobacillus* sp., umumnya flora normal, yang berperan sebagai agen probiotik yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan juga berfungsi untuk imunitas (kekebalan tubuh) (Aini *et al*., 2021).

2. Metode

2.1 Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan digital (Sony, Jepang), laminar air flow (LAF), hot plate (Ika, Jerman), vortex (Gemmy, Taiwan), petridish, autoklaf, erlenmeyer, shaker (MRC), tabung reaksi, bunsen, pipet, drigalski, mikroskop, penggaris, jarum ose, dan alat tulis serta alat lain yang mendukung penelitian ini.

Bahan yang digunakan adalah media NA (Nutrient Agar) (Merck, Amerika), media NB (Nutrient Broth) (Merck, Amerika), air Reverse Osmosis (RO) steril, isolat bakteri Lactobacillus sp. berasal dari isolasi produk Lactoplus dan isolat bakteri Vibrio sp., hasil isolat yang diproduksi PT. BCK serta $NaNO_3$, K_2HPO4, $MgSO_4$, KCI, pepton, CMC, skim, koloidal kitin, Felspar, FeCl, twen dan media pikovskaya.

2.2 Pembuatan Media

2.2.1 Media NA

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media NA sebanyak 2,4 gram. Kemudian ditambahkan dengan RO steril, letakkan larutan di atas hotplate. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Autoklaf media dengan tekanan 2 atm pada suhu 121^0C selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Lakukan semua kegiatan di LAF (Wahyuni et al., 2021).

2.2.2 Media NB

Pembuatan media NB dilakukan dengan menimbang bahan 0,12 gr. Kemudian ditambahkan RO 15 ml. Autoklaf media dengan tekanan 2 atm pada suhu 121^0C selama 15 menit.

2.2.3 Media Amilolitik

Pembuatan media amilolitik dilakukan dengan menimbang media amilolitik, $NaNO_3$, K_2HPO4, $MgSO_4$, KCI, pepton, dan agar sesuai dengan kebutuhan. Kemudian ditambahkan dengan RO steril,

letakkan larutan di atas hotplate. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Autoklaf media dengan tekanan 2 atm pada suhu 121^0C selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi pada petridish (Azzahra *et al*., 2021).

2.2.4 Media Selulolitik

Pembuatan media selulolitik dilakukan dengan menimbang media CMC, K_2HPO4, $NaNO_3$, $MgSO_4$, KCI, pepton, dan agar sesuai dengan kebutuhan. Kemudian ditambahkan dengan RO steril, letakkan larutan di atas hotplate. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Autoklaf media dengan tekanan 2 atm pada suhu 121^0C selama 15 menit. Lalu tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat diinokulasikan pada petridish.

2.2.5 Media Proteolitik

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media skim dan agar sesuai dengan kebutuhan. Kemudian RO steril dibagi menjadi 2 erlenmeyer yang terdiri dari 1 erlenmeyer berisi agar dan 1 erlenmeyer berisi RO steril, letakkan larutan di atas hotplate. Panaskan hingga mendidih sambil diaduk untuk memastikan agar dan bahan lain larut sempurna. Autoklaf media dengan tekanan 2 atm pada suhu 121^0C selama 15 menit. Skim yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam LAF. Tunggu media hingga suhunya turun mencapai 10-20°C, masukkan skim kedalam RO steril, lalu campurkan ke dalam media yang berisi agar. Tunggu media hingga hangat dan tuang ke cawan petri steril. Setelah media padat lakukan inokulasi pada petridish (Suryani *et al*., 2017).

2.3 Isolasi Bakteri

Sampel produk LactoPlus dari PT BCK di isolasi dengan melakukan pengenceran hingga 10^{-5}. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi yang diisi RO 9 ml dan 1 ml produk LactoPlus. Pengenceran dilakukan hingga 10^{-5}. Kemudian pada pengenceran 10^{-3},10^{-4}, dan 10^{-5} diambil 50 µL dan dimasukkan ke media NA. Inkubasi selama 48 jam pada suhu 30-37°C. Kemudian dilakukan pemurnian hingga menjadi koloni murni (Suryanisari *et al*., 2017).

2.4 Pengamatan Makroskopis

Pengamatan makroskopis koloni bakteri yang telah murni dilakukan dengan melihat bentuk koloni, bentuk tepian koloni, dan warna koloni (Nasution *et al*., 2020).

2.5 Pengamatan Mikroskopis

2.5.1 Pewarnaan Gram

Meja kerja disterilkan dengan menggunakan alkohol kemudian fiksasi kaca preparat. Ambil mikroba pada cawan petri yang telah diisolasi menggunakan ose bundar. Setelah itu goreskan koloni bakteri diatas kaca preparat, kemudian fiksasi dan tambahkan larutan kristal violet sebanyak 2 tetes dan diamkan selama 1 menit. Setelah itu fiksasi dan bilas dengan RO steril, tambahkan larutan iodin sebanyak 2 tetes dan diamkan selama 30 detik. Setelah itu bilas dengan RO steril, lalu fiksasi dan tambahkan alkohol kemudian bilas kembali dengan RO steril. Tambahkan larutan safranin sebanyak 2 tetes dan bilas dengan aquades. Setelah itu tempelkan kaca objektif diatas kaca preparat, kemudian diamati menggunakan mikroskop Cahaya dengan perbesaran lensa objektif 100X.

2.6 Uji Enzimatis

2.6.1 Uji Amilolitik

Inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 72 jam. Lakukkan semua kegiatan di LAF. Setelah inkubasi selesai tetesi dengan cairan lugol sebanyak 2-3 tetes. Amati zona bening yang terbentuk.

2.6.2 Uji Selulolitik

Inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 72 jam. Lakukkan semua kegiatan di LAF. Setelah inkubasi selesai tetesi dengan cairan lugol sebanyak 2-3 tetes. Amati zona bening yang terbentuk.

2.6.3 Uji Proteolitik

Inokulasi bakteri ke media dengan 3 titik ulangan setiap cawan. Lakukan semua kegiatan di LAF. Inkubasi dengan suhu 30-37°C selama 24 jam. Amati zona bening yang terbentuk.

2.7 Uji Kompatibilitas

Uji kompatibilitas isolat bakteri *Lactobacillus* sp. yang diisolasi dari produk Lactoplus. dilakukan dengan menggunakan metode paper disk. Bakteri *Lactobacillus* sp. diinokulasi ke dalam masing-masing 10 ml media Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu suhu 30-37°C dengan kondisi pengocokan menggunakan shaker untuk memastikan aerasi optimal. Ambil isolat bakteri *Lactobacillus* sp. sebanyak 1 ml untuk merendam 2 lembar kertas cakram steril pada masing-masing isolatnya, kertas cakram tersebut direndam selama 30 menit di dalam LAF. Uji kompatibilitas dilakukan dengan berpasangan. Tambahkan sebanyak 50µL ke dalam cawan petri yang berisi media NA, kemudian ratakan menggunakan drigalski. Selanjutnya tempelkan kertas cakram yang sudah direndam ke dalam cawan yang sudah diratakan menggunakan drigalski dan inkubasi selama 72 jam pada suhu ruang. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk kombinasi isolat lainnya. isolat yang kompatibel ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambatan yang terbentuk, sedangkan isolat yang tidak kompatibel ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk (Indrawati *et al.,* 2023).

2.8 Uji Antagonis

Aktivitas antagonis isolat bakteri terhadap bakteri patogen *Vibrio* sp., diuji secara in vitro menggunakan metode dual culture. Isolat bakteri dan *Vibrio* sp., diinokulasikan secara berdampingan pada media Nutrient Agar (NA) untuk mengetahui isolat bakteri tersebut dapat menghambat *Vibrio* sp., atau tidak.

3. Hasil Dan Pembahasan

3.1 Isolasi Produk Lactoplus

Isolasi bakteri dilakukan untuk memisahkan suatu jenis bakteri dari mikroorganisme lain dan ditumbuhkan di luar lingkungan asalnya agar mendapatkan suatu koloni sel atau kultur bakteri yang murni. Isolasi bakteri diawali dengan menggunakan metode pengenceran bertingkat untuk mengurangi jumlah mikroorganisme di dalam sampel tanah. Bakteri kemudian ditumbuhkan pada media agar hingga terbentuk koloni yang bersel tunggal untuk diamati dan diuji lebih lanjut Isolasi bakteri dilakukan melalui metode pengenceran bertingkat sebanyak 5 kali ulangan. Proses ini bertujuan untuk memisahkan bakteri target dari campuran yang mengandung berbagai jenis bakteri lainnya, sehingga memungkinkan isolasi bakteri secara spesifik dari produk tersebut. Adanya perbedaan genetik antara isolat asli PT.BCK dan isolat murni dari produk Lactoplus menjadi pertimbangan utama dalam pemilihan isolat yang akan digunakan dalam penelitian. Sehingga isolat yang digunakan untuk penelitian menggunakan isolat asli dari PT. BCK.

3.2 Pengamatan Makroskopis

Berdasarkan dari tabel 1 dapat diketahui bahwa isolat bakteri *Lactobacillus* LABCK1, *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3 mempunyai persamaan yaitu tepi utuh, permukaannya cembung, dan berwarna putih susu. Hal ini sesuai dengan penelitian Kurnia (2020).

Tabel 1. Pengamatan Makroskopis Koloni Bakteri

Nama Bakteri	Makroskopis Koloni			
	Bentuk	**Permukaan**	**Tepi**	**Warna**
Lactobacillus LABCK1	Bulat kecil	Cembung	Utuh	Putih susu
Lactobacillus LBBCK2	Bulat besar	Cembung	Bergelombang	Putih susu
Lactobacillus LFBCK3	Bulat besar	Datar	Bergelombang	Putih susu

Hasil dari identifikasi makroskopis ini menandakan bahwa bakteri bakteri *Lactobacillus* LABCK1, *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3 merupakan bakteri *Lactobacillus* sp., kemudian dilanjutkan dengan identifikasi mikroskopis yaitu pewarnaan gram. Hal ini dapat dibuktikan dengan gambar 1 :

a b c

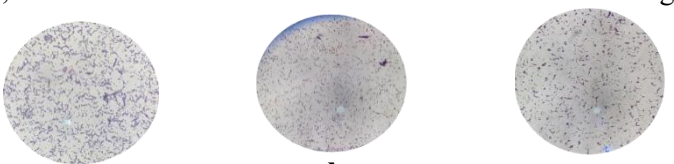
Gambar 1. Uji makroskopis; (a) bakteri *Lactobacillus* LABCK1; (b) bakteri *Lactobacillus* LBBCK2; (c) bakteri *Lactobacillus* LFBCK3

Pengamatan uji makroskopis koloni yang telah dimurnikan dilakukan dengan tujuan untuk melihat bentuk koloni, bentuk tepian koloni, permukaan koloni, dan warna koloni. Koloni bakteri *Lactobacillus* sp., mempunyai tepian warna yang bening, berwarna putih hingga putih kekuningan, dan berbentuk bulat (Kurnia *et al*., 2020).

3.3 Pengamatan Mikroskopis

3.3.1 Pewarnaan Gram

Berdasarkan dari gambar 2 dapat diketahui bahwa isolat bakteri *Lactobacillus* LABCK1, *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3 termasuk kedalam bakteri gram positif.



a b c

Gambar 2. Pewarnaan gram dengan perbesaran 100x lensa objektif; (a) bakteri A; (b) bakteri B; (c) bakteri C.

Pewarnaan Gram merupakan salah satu teknik pewarnaan yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri (mikroorganisme). Tujuan dari pewarnaan Gram ini yaitu untuk mengidentifikasi mikroba. Bakteri yang diwarnai dengan metode Gram ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Aini *et al.*, 2021). Bakteri gram positif yaitu bakteri yang mempunyai peptidoglikan yang tebal dan dinding sel nya sederhana yang sehingga dapat menyerap warna violet. Hal ini yang mengakibatkan bakteri *Lactobacillus* sp. termasuk ke dalam gram positif.

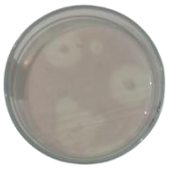
3.4 Uji Enzimatis

3.4.1 Uji Selulolitik

Aktivitas enzim selulolitik isolat bakteri dapat dilihat secara detail pada Tabel 2. Tabel ini menyajikan data kuantitatif mengenai kemampuan isolat dalam menghidrolisis substrat selulosa.

Tabel 2. Hasil Indeks Uji Selulolitik

Bakteri	Gambar	Diameter Koloni	Diameter zona Bening	Indeks
Lactobacillus LABCK1		1,7	1,6	0,6

Lactobacillus LBBCK2		0,23	2	7,6
Lactobacillus LFBCK3		-	-	-

Berdasarkan tabel diatas menunjukan bahwa bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 menunjukan adanya zona bening disekitar koloni. Sedangkan bakteri *Lactobacillus* LFBCK1 tidak menunjukkan adanya zona bening. Hal ini diasumsikan bahwa bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 memiliki enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa menjadi glukosa. Hasil negatif pada uji enzimatis dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Berkurangnya substrat yang dipecah, akumulasi produk yang menghambat pembentukan kompleks enzim-substrat, perubahan struktur enzim yang mempengaruhi sisi aktif, atau kondisi bakteri yang tidak optimal seperti bakteri sudah mengalami lisi atau mati sehingga tidak dapat berkontribusi pada penurunan aktivitas enzim.

Bakteri selulolitik mensintesis seperangkat enzim yang dapat menghidrolisis selulosa. Mikroba mensintesis enzim selulase selama tumbuh pada media selulase (Yogyaswari *et al*., 2016). Media yang digunakan untuk melakukkan uji selulolitik yaitu menggunakan Carboxymethyl Cellulose (CMC). Carboxymethyl Cellulose (CMC) merupakan substrat terbaik untuk melakukan uji selulolitik karena CMC dapat menginduksi bakteri yang memproduksi enzim selulase (Idiawati *et al*., 2015). Sehingga adanya aktivitas selulolitik dapat dicirikan apabila adanya zona bening disekitar koloni yang tumbuh pada media CMC. Penambahan cairan lugol bertujuan untuk memperjelas zona bening yang terbentuk.

3.4.2 Uji Amilolitik

Hasil uji enzimatis amilolitik pada tabel 3 memperlihatkan bahwa isolat *Lactobacillus* LFBCK3 tidak memiliki aktivitas amilolitik dibandingkan dengan isolat *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2

Tabel 3. Hasil Indeks Uji Amilolitik

Bakteri	Gambar	Diameter Koloni	Diameter zona Bening	Indeks
Lactobacillus LABCK1		0,23	0,56	1,43
Lactobacillus LBBCK2		0,4	1,13	1,82

Lactobacillus LFBCK3		-	-	-

Berdasarkan tabel diatas menunjukan bahwa bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 menunjukan adanya zona bening disekitar koloni. Dalam pengujian amilolitik, pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* pada media agar menghasilkan zona bening di sekeliling koloni. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Susilowati *et al* (2015) terbentuknya zona bening mengindikasikan bahwa pati di dalam media telah mengalami degradasi atau diserap oleh koloni bakteri, sehingga menghilangkan kekeruhan yang sebelumnya disebabkan oleh pati.

Sedangkan bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 tidak menunjukkan adanya zona bening. Hal ini diasumsikan bahwa waktu inkubasi yang terlalu singkat dapat menyebabkan enzim tidak memiliki waktu yang cukup untuk beraksi secara optimal, yang berakibat pada kegagalan pembentukan zona bening yang diharapkan. Proses inkubasi sangat penting bagi pertumbuhan bakteri; jika durasinya tidak mencukupi, populasi bakteri mungkin belum mencapai jumlah yang signifikan, dan produksi enzim pun belum memadai untuk memberikan dampak yang terukur pada lingkungan sekitarnya. Di sisi lain, waktu inkubasi yang terlalu lama justru dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim, yang pada akhirnya akan mempengaruhi validitas hasil pengujian enzimatis.

Amilase merupakan kelompok enzim dapat memecah pati menjadi gula sederhana (glukosa). Enzim amilase menghidrolisis ikatan glikosidik molekul pati di bagian tengah pada ikatan α-1-4 glikosidik sehingga lebih dikenal sebagai "endo- amilase". Penambahan cairan lugol bertujuan untuk memperjelas zona bening yang terbentuk. Sehingga adanya aktivitas amilolitik dapat dicirikan apabila adanya zona bening disekitar koloni yang. Perbandingan luas zona bening dengan luas koloni bakteri diukur untuk menentukan aktivitas enzim amilase yang dihasilkan oleh bakteri (Ningtyas *et al*., 2023).

3.4.3 Uji Proteolitik

Hasil uji enzimatis proteolitik mengindikasikan adanya perbedaan potensi dalam produksi enzim lipase antara isolat bakteri *Lactobacillus* LABCK1, *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3. Hal ini dapat dilihat pada tabel ke 4 :

Tabel 4. Hasil Indeks Uji Proteolitik

Bakteri	Gambar	Diameter Koloni	Diameter zona Bening	Indeks
Lactobacillus LABCK1		0,46	0,93	0,5
Lactobacillus LBBCK2		0,7	1,3	0,85
Lactobacillus LFBCK3		-	-	-

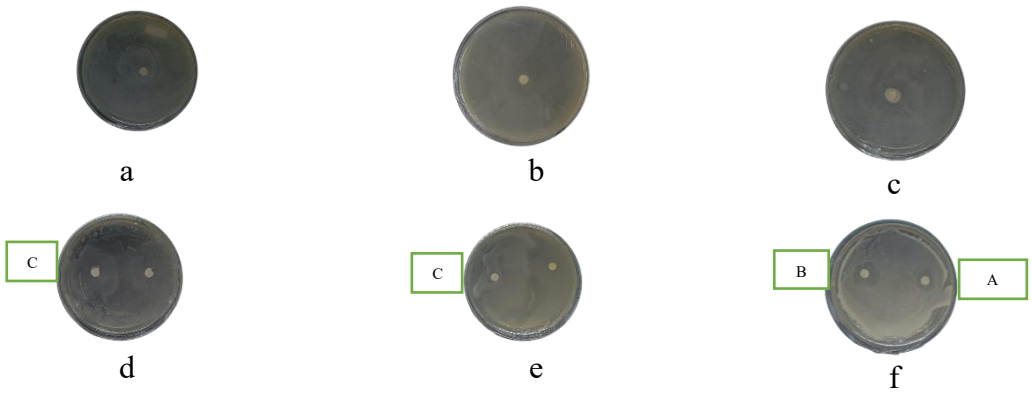
Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 yang ditumbuhkan pada media skim milk agar selama 24 jam inkubasi menunjukkan adanya enzim protease yang dapat memecah protein menjadi peptide atau asam amino. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukkan oleh Utama *et al* (2018) bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 memiliki kemampuan untuk mendegradasi protein ekstraseluler. Selama masa inkubasi, aktivitas enzim proteolitik ini menyebabkan terjadinya degradasi protein di area sekitar koloni bakteri. Akibatnya, terbentuklah zona bening atau transparan pada media agar. Zona bening ini muncul karena hilangnya protein yang sebelumnya memberikan tampilan keruh pada media.

Sedangkan isolat bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 yang ditumbuhkan pada media skim milk agar selama 24 jam inkubasi tidak menunjukkan adanya zona bening. Tidak adanya zona bening pada isolat bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 bisa disebabkan karena suhu inkubasi yang kurang. Jika suhu inkubasi di bawah rentang optimal tersebut, bakteri cenderung tidak memproduksi enzim yang diinginkan. Sebaliknya, paparan suhu yang melebihi rentang optimal dapat mengakibatkan denaturasi protein, yang berujung pada penurunan aktivitas enzim secara signifikan. Akibatnya, bakteri kehilangan kemampuan untuk menghasilkan enzim protease karena struktur proteinnya telah rusak.

Bakteri proteolitik merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease, enzim ini berfungsi dalam menghidrolisis protein menjadi lebih sederhana berupa asam amino (Zainuddin *et al*., 2017). Uji proteolitik menggunakan media yang mengandung kasein yaitu skim milk agar. Komposisi media ini mencakup nutrisi penting, yaitu laktosa sebagai sumber karbon dan kasein sebagai sumber nitrogen. Kasein, yang merupakan protein susu, tersusun atas fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium, membentuk struktur misel kasein atau koloid yang berwarna putih.

3.5. Uji Kompatibilitas

Kompatibilitas bakteri adalah asosiasi antara dua genus atau spesies bakteri yang tidak saling mengganggu satu sama lainnya, akan tetapi kegiatan masing- masing genus atau spesies justru saling menguntungkan serta berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama (Asri & Zulaika 2016). Hal ini dapat dilihat pada gambar ke 3:



Gambar 3. Hasil uji kompatibel; (a) kontrol bakteri *Lactobacillus* LABCK1; (b) kontrol bakteri *Lactobacillus* LBBCK2; (c) kontrol bakteri *Lactobacillus* LFBCK3; (d) uji kompatibilitas *Lactobacillus* LFBCK3 dan *Lactobacillus* LBBCK2 terhadap *Lactobacillus* LABCK1; (e) uji kompatibilitas *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LFBCK3 terhadap *Lactobacillus* LBBCK2; (f) uji kompatibilitas *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 terhadap *Lactobacillus* LFBCK3.

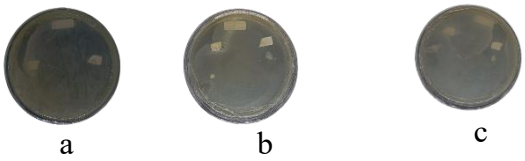
Hasil pengamatan dari gambar menunjukkan interaksi yang menarik antara tiga jenis bakteri, yaitu *Lactobacillus* LABCK1, *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3. Ketika bakteri *Lactobacillus* LBBCK2, dan *Lactobacillus* LFBCK3 diuji terhadap bakteri *Lactobacillus* LABCK1, terlihat bahwa bakteri *Lactobacillus* LBBCK2 menunjukkan kompatibilitas, sementara bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 menunjukkan inkompatibilitas. Pengujian selanjutnya, yaitu bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 dan *Lactobacillus* LABCK1 terhadap bakteri *Lactobacillus* LBBCK2, menghasilkan data serupa, di mana bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 kembali menunjukkan

inkompatibilitas, sedangkan bakteri *Lactobacillus* LABCK1 kompatibel. Sedangkan bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 diuji terhadap bakteri *Lactobacillus* LFBCK3. Pada pengujian ini, baik bakteri *Lactobacillus* LABCK1 maupun *Lactobacillus* LBBCK2 menunjukkan kompatibilitas dengan bakteri *Lactobacillus* LFBCK3. Singkatnya, meskipun bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 tidak kompatibel dengan bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 secara terpisah, kehadiran bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 secara bersamaan tidak menimbulkan efek negatif terhadap bakteri *Lactobacillus* LFBCK3, melainkan menunjukkan kompatibilitas.

Hal ini sesuai dengan penelitian Rifai *et al*., (2020) kombinasi bakteri dikatakan kompatibel karena satu bakteri dapat tumbuh bersama bakteri lainnya tanpa menghambat aktivitas bakteri. Kompatibilitas bakteri menunjukkan bahwa ketiga bakteri dapat digabungkan menjadi suatu konsorsium bakteri. Konsorsium bakteri yang saling kooperatif dan bersinergi akan menentukan kualitas dari produk tersebut, bakteri yang tergabung dalam suatu komunitas harus memiliki hubungan kooperatif, komensalisme dan mutualisme. Campuran bakteri ini memiliki kelebihan yaitu memiliki fungsi metabolisme yang saling melengkapi satu dengan yang lainnya dalam suatu komunitas.

3.5 Uji Antagonis

Pada gambar 4 menunjukkan hasil antagonis bakteri Lactobacillus sp. dengan bakteri *Vibrio* sp.



Gambar 4. Hasil uji Antagonis; (a) Uji antagonis bakteri *Lactobacillus* LABCK1 ke bakteri *Vibrio* sp.; (b) Uji antagonis bakteri *Lactobacillus* LBBCK2 ke bakteri *Vibrio* sp.; (c) Uji antagonis bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 ke bakteri *Vibrio* sp.

Hasil pengamatan dari gambar menunjukkan bahwa semua isolat bakteri antagonis terhadap bakteri patogen *Vibrio* sp. yang ditandai dengan menyebarnya isolat bakteri yang digunakan sehingga menutup pertumbuhan bakteri patogen *Vibrio* sp. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Indriyani *et al* (2023) antagonisme ini terjadi karena adanya senyawa penghambat yang diproduksi oleh bakteri. Senyawa-senyawa ini berperan dalam mendegradasi dinding sel jamur, menghambat permeabilitas membran sel, menginhibisi aktivitas enzim, serta mengganggu proses sintesis protein.

Mikroba antagonis merupakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk berinteraksi dan menghambat pertumbuhan atau aktivitas mikroba lain, termasuk patogen tanaman. Bakteri antagonis, sebagai bagian dari mikroba antagonis, berperan penting dalam pengendalian hayati dengan cara menghasilkan senyawa antimikroba, berkompetisi nutrisi, atau menginduksi resistensi pada tanaman terhadap patogen (Irianti, 2015).

4. Kesimpulan

Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa uji kompatibilitas terhadap produk probiotik LifeGrow LactoPlus menunjukkan bahwa isolat bakteri *Lactobacillus* LABCK1 dan *Lactobacillus* LBBCK2 kompatibel satu sama lain, sementara isolat bakteri *Lactobacillus* LFBCK3 hanya kompatibel jika tidak menjadi dasar utama dalam kombinasi bakteri. Selain itu, pada uji antagonis, seluruh isolat bakteri *Lactobacillus* sp. menunjukkan aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen *Vibrio* sp., yang mengindikasikan potensi LifeGrow LactoPlus dalam mendukung kesehatan lingkungan perairan dan meningkatkan ketahanan organisme akuatik terhadap infeksi bakteri patogen.

5. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT Biotek Cipta Kreasi yang telah menyediakan fasilitas dan bimbingan selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada dosen Prodi Bioteknologi Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta yang telah membimbing dan memberi masukan serta arahan. Tidak lupa kami sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang berkontribusi baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian penelitian ini

Daftar Pustaka

Aini, M., Rahayuni, S., Mardina, V., Quranayati, & Asiah, N. (2021). Bakteri *Lactobacillus* spp Dan Perannya Bagi Kehidupan. *Jurnal Jeumpa*. 8(2): 614-624.

Akbar. (2022). Literature Review Pemanfaatan Sumber Daya Kelautan Untuk Sustainable Development Goals (SDGS). *Jurnal Sains Edukatika Indonesia (JSEI)*. 4(1): 17-22.

Ardila, Anggreini, & Rahmani. (2022). Peran Bakteri Asam Laktat Indigen Genus *Lactobacillus* Pada Fermentasi Buah Durian (Durio zibethinus) Sebagai Bahan Pembuatan Tempoyak. *Berkala Ilmiah Biologi*. 4(5): 42-52.

Asri, A. C., & Zulaika, E. (2016). Sinergisme antar isolat Azotobacter yang dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seri ITS*. 5(2): 2357-3520.

Astuti, M. E. (2017). Identifikasi Uji Kemampuan Hidrolisis Lemak dan Penentuan Indeks Zona Bening Asam Laktat pada Bakteri dalam Wadi Makanan Traditional Kalimantan Tengah. *Jurnal Bionature*. 18(2): 87-98.

Chairunnisa, Riyanto, & Karim. (2019). Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat, Pematang Siantar. *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*. 1(2): 44-52.

Efendi, Y., Yusra, & Vivi. (2017). Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* Sebagai Sumber Enzim Protease. *Jurnal Akuatika Indonesia.* 2(1): 87-94.

Ginting, Saraswati, & Husen. (2016). Mikroorganisme Pelarut Fosfat. *Selected reading*. 60(3): 141-158.

Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., & Jaya, J. (2020). Identifikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria pada Rhizosfer Bambu Duri dengan Gram KOH 3%. *Agrotechnology Research Journal*. 4(1): 41-46.

Hasan, Mukti, & Putranto. (2019) Range Expansion Of The Invasive Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Perciformes: Cichlidae) inJava Sea and first Record For Kangean Island, Madura, East Java, IndonesiaEco. Env. & Cons. 25 (July Suppl. Issue): S187-S189.

Idami & Nasution. (2020). Kelimpahan Koloni Bakteri *Vibrio* sp. Berdasarkan Lokasi Budidaya Tambak Udang Di Kabupaten Pidie. *BIOMA: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi.* 5 (2): 121-134.

Idiawati, N., Harfinda, E. M., & Arianie, L. (2015). Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus Niger pada Ampas Tahu. *Jurnal Natur Indonesia*. 16(1): 1-9.

Indriyani, Ekowati, Handayani , & Irawan. (2023). Potensi Antagonis *Bacillus* sp. Asal Kebun Raya Liwa (KRL) sebagai Agen Pengendali Jamur *Fusarium* sp. *In Seminar Nasional Biologi (SEMABIO) 7 tahun 2022 (pp. 201-207)*. 5(6): 1-5.

Kurnia, M., Amir, H., & Handayani, D. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Makanan Tradisional Suku Rejang Di Provinsi Bengkulu: "LEMEA". *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 4(1): 25-32.

Mazhar, Abas, Zamir, Hussain, & Ali. (2018). Optimization Study of Lipolytic Enzyme from Bacillus Cereus, PCSIR NL-37. *Punjab University Journal of Zoology*. 33(2): 217–224.

Laily, Endang, Wijanarka. (2021). Pengaruh Variasi Suhu Dan Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim Selulase Dari Bakteri *Serratia marcescens*. *Jurnal BIOMA*. 21(1): 33-42.

Mutmainnah, L., Anas, I., Nugroho, B., & Basuki. (2023). Studi Karakteristik Bakteri Pelarut Kalium (BPK) pada Lahan Tebu (*Saccharum officinarum* Linn). *Journal of Agricultural Sciences*. 21(1): 1-11.

Nafiah, Pujiyanto, & Raharjo. (2017). Isolasi Dan Uji Aktivitas Kitinase Isolat Bakteri Dari Kawasan Geothermal Dieng. *Bioma*. 19(1): 22-29.

Ningtyas, N., Mubarik, N. R., & Rahayuningsih, M. (2023). Penapisan dan Karakterisasi Amilase dari Bakteri Asal Ekoenzim. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 28(3): 441-448.

Nurrochman, F. (2015). Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Tanah Hutan Mangrove Baros Yogyakarta. *Doctoral dissertation*, 40-55.

Purkan, Baktir, & Arju. (2016). Produksi Enzim Kitinase dari Aspergillus niger menggunakan Limbah Cangkang Rajungan Sebagai Induser. Universitas Airlangga. Jawa Timur. *Jurnal Kimia Riset.* (1): 34-41.

Riskawati. (2016).Isolasi dan Karakterisasi Bakteri patogen Pada Tanah di Lingkungan Pembuangan Sampah Akhir Sampah (TPAS) Kota Makassar. *Journal of Agricultural Sciences*. 9(10): 15-25.

Rosdi, Dahalan, & Zhan. (2022). Collection of Samples. *Environmental and Toxicology Management*. 6(2): 1-5.

Saida, Samsul, & Edy. (2024). Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Pada Fase Vegetatif dan Generatif. *Jurnal Agrotek*. 8(2): 147-155.

Setia, & Suharjono. (2015). Chitinolytic Assay And Identification Of Bacteria Isolated From Shrimp Waste Based on 16S rDNA Sequences. *Advances in Microbiology*. 5(1), 541-548.

Suprapto, Sudarno, & Istikhara. (2016). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik Yang Terdapat Pada Cangkang Lobster Air Tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 8(1): 16-25.

Suryani, Musthari, Riadi. (2017). Solasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Yoghurt dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* typhi. *Jurnal Biosains*. Vol. 3 No. 3.

Susilowati, Mardhiah, & Riyani. (2015). Analisis Aktivitas Enzim Amilase Yang Berasal Dari Bakteri Tanah Di Kawasan Universitas Jambi. *Prosiding Semirata bidang MIPA BKS-PTN Barat*. 5(8): 359 - 367.

Utama, Zupriyal, Hanim, & Wihandoyo. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Selulolitik yang Berasal dari Jus Kubis Terfermentasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 7(1): 1-6.

Wahyuni, Kaswi, & Permata. (2024). Edukasi Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) Untuk Pengamatan Morfologi *Esherichia coli* Di Smas Pesantren IMMI. Jurnal *Pengabdian kepada Masyarakat*. 5(1): 31-36.

Yogyaswari, S. A., Rukmin, M. I., & Raharjo, B. (2016). Ekplorasi Bakteri Selulolitik dari Cairan Rumen Sapi Peranakan Fries Holland (Pfh) dan Limousine Peranakan Ongole (Limpo). *Jurnal Biologi*. 5(4): 70-80.

Zainuddin, M., Setyati, W. A., Person, D., & Renta, P. (2017). Zona Hidrolisis dan Pertumbuhan Bakteri Proteolitik dari Sedimen Ekosistem Mangrove Rhizophora mucronata Telukawur-Jepara. *Jurnal Sumberdaya Perairan*. 11(2): 31-35.