

I. TINJAUAN PUSTAKA

1. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif, non-motil, tidak mempunyai spora yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama atau satu-satunya dari metabolisme fermentatifnya (Ghanbari *et al.*, 2009). Sifat-sifat khusus BAL adalah mampu tumbuh pada kondisi lingkungan yang mengandung gula, alkohol, garam tinggi, pH 3,8-8,0 dan memfermentasi berbagai monosakarida dan disakarida (Stamer, 1979).

Beberapa genus bakteri asam laktat (seperti *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Enterococcus*, *Vagococcus*, *Lactobacillus*, *Carnobacterium*) mampu beradaptasi dan tumbuh pada kondisi lingkungan yang berbeda. Bakteri tersebut dijumpai pada saluran pencernaan berbagai hewan endemik, dalam susu dan produk peternakan, produk makanan laut, dan pada permukaan beberapa tumbuhan (Ringo dan Gatesoupe, 1989).

Meskipun bakteri asam laktat tidak dominan dalam mikrobiota usus normal dari larva atau ikan, beberapa penelitian telah mendapatkan BAL pada saluran pencernaan ikan. *Carnobacterium* sp. dijumpai pada *Atlantic salmon* (Joborn *et al.*, 1997). *Lactobacillus*, pertama kali dilaporkan oleh Trust dan Sparrow (1974) yang diisolasi dari saluran pencernaan (usus kecil dan usus besar) ikan salmonids. Genus *Leuconostoc* belum banyak diisolasi dari ikan. Ringo dan Strom (1994) mengisolasi bakteri ini dari feses yang dijumpai 4,5% dari total mikrobiota pada ikan *Charr* yang diberi pakan *Capelin roe*. Sementara Ringo *et al.* (1997) melaporkan bahwa

Leuconostoc sp., seperti *L. mesenteroides* dijumpai berasosiasi dengan mukosa epitel lambung usus kecil dan usus besar ikan *Charr* yang diberi pakan dengan kandungan asam lemak *polyunsaturated* berbeda.

2. Vibriosis

Vibriosis pada ikan Kerapu telah banyak dilaporkan. Pada ikan kerapu tikus (*Cromileptes altivelis*) telah teridentifikasi *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, *V. fluvialis*, *V. fumisii* dan *V. metchnikovii* (Nitimulyo, *et al.*, 2005). *Vibrio alginolyticus* merupakan bakteri patogen utama pada budidaya ikan Kerapu. Pada uji patogenesis *V. alginolyticus* terhadap ikan Kerapu Tikus dengan kepadatan 10^8 sel/ikan mengakibatkan mortalitas ikan 50% (Taslihan *et al.*, 2000). Sedangkan pada uji patogenesis terhadap ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttus*) dengan kepadatan 10^9 sel/ml, mortalitas ikan mencapai 100% (Desrina *et al.*, 2006). *V. alginolyticus* menginfeksi ikan melalui berbagai rute yaitu *intramuscular* (IM), *intravena* (IV) dan *intraperitoneal* (IP) (Murdjani, 2002).

Pada umumnya ikan yang terserang vibriosis menunjukkan gejala yang sama seperti ikan yang terserang penyakit bakterial lainnya. Gejala awal ikan yang terserang vibriosis antara lain ikan terlihat lemah dan kehilangan nafsu makan. Seiring dengan meningkatnya penyebaran bakteri ini di dalam tubuh ikan, ikan akan menjadi pucat, tubuh berbercak kemerahan, nekrosis, dan terjadi eritema pada bagian sirip dan mulut (Reed dan Floyd, 2002).

Vibriosis kadang dikenal sebagai “*red pest*” pada *Anguilla*, “*salt water furunculosis*”, “*red boil*”, dan “*pike pest*”. Infeksi *Vibrio* dengan cepat menyebar pada kondisi budidaya, terutama apabila tebarannya tinggi, sering kali kematian dapat

mencapai 100%. Vibriosis kemungkinan besar ditularkan lewat mulut (*oral transmission*). Hal ini didukung oleh bukti bahwa *Vibrio* spp. dapat diisolasi dari saluran pencernaan ikan yang secara klinis dinyatakan sehat. Pada keadaan tertentu, *Vibrio* dapat menembus dinding intestinum dan menyebabkan infeksi sistemik. Ketika terjadi wabah, populasi *Vibrio* di lingkungan akan meningkat pesat sehingga memperbesar kemungkinan menginfeksi hewan-hewan yang sehat (Irianto, 2005).

Vibrio umumnya dijumpai di lingkungan laut dan estuaria dengan kisaran salinitas luas dan mudah diisolasi dari invertebrata laut. Beberapa spesies juga dijumpai pada habitat air tawar. Bakteri ini termasuk Gram negatif, motil, berbentuk kurva atau batang (0,5 x 1,5-2,5 μm), anaerobik fakultatif, kemoorganotrop, mempunyai kemampuan metabolisme respirasi dan fermentatif dan oksidase positif (Frerichs dan Roberts, 1989).

3. *Vibrio alginolyticus*

Secara resmi bakteri *V. alginolyticus* diketahui sebagai *V. parahaemolyticus* biotype II, tetapi dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* edisi ke delapan pada tahun 1984 dikenal sebagai *V. alginolyticus*. Pada tahun 1968, Sakazaki mengusulkan bahwa dua biotipe bakteri *V. parahaemolyticus* menjadi dua spesies dengan beberapa perbedaan seperti *V. parahaemolyticus* bersifat negatif dalam hubungannya dengan reduksi acetoin, fermentasi sukrosa, tumbuh dalam 10% NaCl dan *swarming* pada media padat yang mengandung 2,7% NaCl. Sedangkan *V. alginolyticus* bersifat positif pada semua karakter tersebut. Usulan tersebut telah dikonfirmasi dalam *International Committee on Systematic Bacteriology, Subcommittee on Taxonomy of Vibrio* (Hugh dan Sakazaki, 1975).

Bakteri *V. alginolyticus* dapat dengan mudah dibedakan dari spesies *Vibrio* lain karena bersifat mengeriyap (*swarming*) (Desrina *et al.*, 2006). Menurut Barrow dan Feltham (1993) dan Bauman *et al.* (1984) sifat mengeriyap adalah khas untuk bakteri *V. alginolyticus*, karena pada media padat bakteri ini mensintesa flagella lateral yang banyak.

Vibrio alginolyticus adalah jenis vibrio yang paling ganas jika dibandingkan dengan *V. anguillarum* pada ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) (Taslihan *et al.*, 2000). Keganasan menunjukkan tingkat kepatogenan dan bersifat relatif terhadap waktu dan dosis (Todar, 2002). Keganasan bakteri *Vibrio* berkaitan dengan berbagai jenis protease (Deane dan Woo, 2000), toksin (enterotoksin, cytotoksin, endotoksin), protein yang terikat dengan permukaan (*surface-binding protein*) seperti fimbriae dan kapsul, LPS, hemaglutinin, motilitas dengan menggunakan flagella, plasmid dan produksi siderofor (agen penyapit zat besi) yang berfungsi mengikat zat besi dari darah inang (Amaro *et al.*, 1997). Murdjani (2002) mendapatkan *extracellular protein* (ECP) dengan berat molekul 46,03 kDa yang diproduksi oleh *V. alginolyticus* bersifat toksik, dan ketika diinjeksi secara *intramuscular* dengan dosis 810 µg/ikan dapat menyebabkan peradangan pada ikan Kerapu Tikus.

4. Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Ikan kerapu diklassifikasikan kedalam *Phylum Chordata, Subphylum Vertebrata, Class Osteichthyes, Subclass Actinopterygi, Ordo Percomorphi, SubOrdo Percoidea, Family Serranidae*, dan terdapat 15 genus. Ikan Kerapu Macan termasuk kedalam Genus *Epinephelus*, dan Species *fuscoguttatus* (Heemstra dan Randall, 1993).

Daerah penyebaran ikan kerapu meliputi perairan Pasifik, Pantai Timur Afrika hingga Mozambik, perairan Madagaskar, Australia, Jepang, India, Thailand, Indonesia, Philipina dan Selandia Baru. Habitat ikan kerapu adalah di perairan karang yang dangkal dan berbatu (Heemstra dan Randall, 1993). Di Indonesia, ikan kerapu banyak ditemukan di perairan Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi dan Ambon (Antoro *et al.*, 2004).

Kerapu Macan merupakan jenis ikan demersal yang menyukai hidup di daerah perairan berkarang, diantara celah-celah karang atau di dalam gua di dasar perairan. Ikan kerapu dalam dunia internasional dikenal dengan nama "*grouper*". Bentuk ikan Kerapu Macan seperti Kerapu Lumpur, tetapi badannya agak lebih tinggi. Bintik-bintik pada tubuhnya gelap dan rapat. Sirip dada berwarna kemerahan dan sirip-sirip yang lain mempunyai tepi cokelat kemerahan. Ikan ini telah berhasil dikawinkan di bak terkontrol, tetapi angka kematian larva masih sangat tinggi (Sunyoto, 1994).

Ikan kerapu macan mempunyai bentuk badan yang memanjang gepeng (*compressed*) atau agak membulat, mulut lebar serong ke atas dengan bibir bawah menonjol ke atas. Rahang bawah dan atas dilengkapi dengan gigi geratan berderet dua baris, lancip dan kuat serta ujung luas bagian depan adalah gigi yang terbesar. Sirip ekor umumnya membulat (*rounded*), sirip punggung memanjang dengan bagian jalin-jalinya yang keras berjumlah kurang lebih sama dengan jari-jari lunaknya, jari-jari sirip yang keras berjumlah 68 buah, sedangkan sirip dubur berjumlah 3 buah, jari-jari sirip ekor berjumlah 12-17 dan bercabang dengan jumlah 13-15. Warna dasar ikan kerapu macan sawo matang, perut bagian bawah agak keputihan dan pada badannya terdapat titik berwarna merah kecoklatan serta tampak pula 4-6 baris warna

gelap yang melintang hingga ke ekornya. Badan ditutupi oleh sisik kecil, mengkilat dan memiliki ciri-ciri loreng (Antoro *et al.*, 2004).

Ikan kerapu bersifat karnivora. Dari pengamatan isi perut kerapu kecil diketahui kandungan di dalamnya didominasi oleh golongan krustacea (udang-udangan dan kepiting sebanyak 83% dan ikan-ikanan sebesar 17%. Namun, semakin besar ukuran ikan Kerapu, komposisi isi perutnya cenderung didominasi oleh ikan-ikanan. Kerapu mempunyai kebiasaan makan pada pagi hari sebelum matahari terbit dan menjelang matahari terbenam (Akbar, 2000).

Pada umumnya kerapu muda berada di perairan karang pantai dengan kedalaman 0,5 – 3 m, selanjutnya menginjak dewasa beruaya ke perairan yang lebih dalam antara 7 –40 m, biasanya perpindahan ini berlangsung pada siang dan senja hari. Telur dan larva bersifat pelagis, sedangkan kerapu muda hingga dewasa bersifat demersal. Pada umumnya larva dan kerapu dewasa berada di perairan pantai dekat muara sungai dengan dasar pantai berkarang yang banyak ditumbuhi padang lamun (Antoro *et al.*, 1999).

Ikan kerapu adalah ikan laut yang hidup pada kisaran salinitas 32-38 ppt, dan suhu optimum antara 24-30°C. Kebutuhan oksigen terlarut lebih besar dari 3,5 ppm dan pH antar 7,8-8,0. Arus air sangat penting dalam pertukaran air, membersihkan timbunan sisa-sisa metabolisme ikan dan membawa oksigen terlarut. Kecepatan arus ideal adalah 0,2-0,5 m/detik, apabila berlebihan akan menyebabkan ikan stres, energi banyak terbuang dan selera makan turun (Antoro *et al.*, 2004).

5. Seleksi Bakteri Asam Laktat

Seleksi probiotik sangat penting karena mikroorganisme yang tidak tepat dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan pada inang (Sun *et al.*, 2010). Untuk menyeleksi probiotik secara umum adalah melakukan uji antagonisme secara *in vitro*. Selain itu, probiotik harus mampu hidup pada saluran pencernaan inang (resisten terhadap *bile salts*, pH rendah dan protease) dan mampu berkolonisasi pada sel epitel intestin untuk mengurangi dan mencegah kolonisasi patogen. Probiotik yang digunakan sebaiknya adalah strain yang berasal dari inangnya, bersifat nonpatogen dan memberikan efek yang menguntungkan bagi inang (memperbaiki nutrisi dan meningkatkan respon imun), dan probiotik mesti hidup dan tahan pada kondisi penyimpanan dan dapat diproses pada skala industri seperti dengan cara liofilisasi (Vine *et al.*, 2004 dan Balcazar *et al.*, 2006).

6. Karakterisi Bakteri Asam Laktat

Karakterisasi bakteri berdasarkan pengamatan morfologi, fisiologi dan uji biokimia telah digunakan pada beberapa penelitian bakteri asam laktat dari saluran pencernaan ikan. Nair dan Surendran (2005) mengklasifikasikan bakteri asam laktat kedalam genera *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus* yang diisolasi dari ikan dan udang berdasarkan kepada karakter morfologi dan biokimianya. Genus yang dominan adalah *Lactobacillus* yang ditemui pada ikan segar (60%), udang segar (65%), ikan dan udang beku (masing-masing 80%). Setiap strain dari genus ini menunjukkan variasi dalam memfermentasi gula.

Mikroorganisme dapat dikelompokkan menurut kesamaan gennya. Sekuensing DNA misalnya digunakan dalam klasifikasi bakteri penghasil asam laktat (Coenye

dan Vandamme, 2003). Cai *et al.* (1999) mempelajari isolat bakteri asam laktat dari intestin ikan mas dan udang air tawar dengan analisis sekuen 16S rRNA dan hibridisasi DNA-DNA. Isolat tersebut dapat diidentifikasi sebagai *Lactococcus garvieae*, *Pediococcus acidilactici* dan *Enterococcus faecium*. *Lactococcus garvieae* adalah populasi yang paling dominan. Balcazar *et al.* (2007) mengidentifikasi bakteri asam laktat yang diisolasi dari mikrobiota intestin ikan salmonid yang sehat dengan sekuen *variable regions of the 16S rRNA gene*. Strain bakteri asam laktat tersebut diidentifikasi sebagai *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides*.