

## RINGKASAN

### **FAIZ MUIZZUDDIN HAQ. Isolasi Bakteri Proteolitik dan Amilolitik Kandidat Probiotik dari Tambak Udang Vaname dan Identifikasinya secara Molekular Berdasarkan Sekuen Gen 16s rDNA.**

Bioteknologi merupakan ilmu yang memiliki peran penting dalam meningkatkan produksi akuakultur salah satunya pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Udang vaname merupakan komoditas penting dalam budidaya perikanan di Indonesia. Salah satu penerapan aplikasi dari produk yang dihasilkan bioteknologi di bidang akuakultur adalah probiotik. Penggunaan probiotik pada udang vaname diharapkan dapat memberikan dampak positif salah satunya, meningkatkan kapasitas pencernaan dan penyerapan nutrisi sehingga pemanfaatan pakan dapat lebih efisien dibantu oleh bakteri proteolitik dan amilolitik. Bakteri proteolitik dan amilolitik yang memproduksi enzim pengurai makromolekul organik kompleks, yaitu protease dan amilase. Bakteri proteolitik dan amilolitik sebagai probiotik untuk udang vaname dapat diperoleh dari lingkungan tambak dan saluran pencernaan udang vaname. Primer 16S rDNA adalah penanda molekuler daerah ribosomal yang memiliki sifat ubikuitus dengan fungsi identik pada seluruh prokariot sehingga dapat digunakan untuk melihat keragaman dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri sampai tingkat spesies.

Tujuan dalam penelitian ini adalah (1) mendapatkan isolat bakteri serta mengkaji potensinya sebagai bakteri proteolitik dan amilolitik dari tambak udang vaname sebagai kandidat probiotik berdasarkan nilai aktivitasnya (2) mengidentifikasi bakteri proteolitik dan amilolitik tertinggi dari tambak udang vaname berdasarkan sekuen 16S rDNA. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai November 2021. Metode yang digunakan pada penelitian ini survei dengan teknik observasi eksploratif, dengan mengambil sampel di Desa Bunton, Kecamatan Adipala, Kabupaten Cilacap, Jawa Tengah. Setiap tambak sampel diambil meliputi tambak udang vaname 6, 7, 8, tambak inlet dan tambak outlet. Sampel diambil dari mulai udang kecil, besar, sedimen, air inlet, dan sedimen.

Pengujian aktivitas proteolitik dan amilolitik maka sampel hasil pengenceran dilakukan inokulasi titik dengan jarum ose pada uji aktivitas Kultur hasil isolasi ditumbuhkan pada medium TSA ditambahkan 2% susu skim untuk mengetahui aktivitas proteolitik dan amilolitik TSA ditambahkan pati 2% kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C.

Skruining bakteri proteolitik dan amilolitik yang menghasilkan indeks aktivitas sebagai kandidat probiotik dimulai dengan indeks sedang sampai tinggi dengan ukuran sedang 2,0-3,0 dan tinggi berkisar 4-6. Hasil tertinggi ditumbuhkan pada medium TCBS untuk memastikan bakteri tersebut tidak termasuk bakteri *Vibrio* sp. Hasil isolat yang tidak tumbuh kemudian dilanjutkan tahap analisis molekular dengan primer 16S rDNA.

Hasil dari penelitian didapatkan bakteri proteolitik sebanyak 151 dan bakteri amilolitik 169 dari total bakteri yang diujikan sebanyak 383 isolat. Dari 151 bakteri proteolitik dan 169 bakteri amilolitik, masing-masing didapatkan 11 isolat yang menghasilkan aktivitas tinggi dalam menghidrolisis kasein dan pati. Hasil identifikasi secara molekular dengan primer 16S rDNA menunjukkan 7 genus bakteri diantaranya, *Psychrobacter celer*, *Pseudoalteromonas* sp., *Pseudoalteromonas bleria*, *Cobetia marine*, *Exiguobacterium acetylicum*, *Marinobacter nauticus* dan *Shewanella baltica*.

## SUMMARY

### **FAIZ MUIZZUDDIN HAQ. Isolation of Probiotic Candidate Proteolytic and Amylolytic Bacteria from Vaname Shrimp Pond and Molecular Identification Based on the 16s rDNA Gene Sequence.**

Biotechnology is a science that has an important role in increasing aquaculture production, one of which is white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Vannamei shrimp is an important commodity in aquaculture in Indonesia. One of the applications of products produced by biotechnology in the field of aquaculture is probiotics. The use of probiotics in vaname shrimp is expected to have a positive impact, one of which is increasing the capacity of digestion and absorption of nutrients so that feed utilization can be more efficient assisted by proteolytic and amylolytic bacteria. Proteolytic and amylolytic bacteria that produce enzymes that break down complex organic macromolecules, namely proteases and amylase. Proteolytic and amylolytic bacteria as probiotics for vaname shrimp can be obtained from the pond environment and the digestive tract of white vaname shrimp. The 16S rDNA primer is a molecular marker of the ribosomal region that has ubiquitous properties with identical functions in all prokaryotes so that it can be used to see diversity and can be used to identify bacteria to the species level.

The objectives of this study were (1) to obtain bacterial isolates and to assess their potential as proteolytic and amylolytic bacteria from white vaname shrimp ponds as probiotic candidates based on their activity values (2) to identify the highest proteolytic and amylolytic bacteria from vaname shrimp ponds based on 16S rDNA sequences. This research was conducted from January to November 2021. The method used in this study was a survey with exploratory observation techniques, by taking samples in Bunton Village, Adipala District, Cilacap Regency, Central Java. Each sample pond was taken including 6, 7, 8 vaname shrimp ponds, inlet ponds and outlet ponds. Samples were taken from small, large shrimp, sediment, inlet water, and sediment.

Testing of proteolytic and amyolytic activity, the diluted sample was inoculated with a point inoculation with an ose needle on the activity test. The isolated culture was grown on TSA medium, added 2% skim milk to determine the proteolytic and amyolytic activity of TSA added 2% starch and then incubated for 24-48 hours at room temperature. 28°C.

Screening of proteolytic and amyolytic bacteria that resulted in activity index as probiotic candidate started with a medium to high index with a medium size of 2.0-3.0 and high ranging from 4-6. The highest yield was grown on TCBS medium to ensure that the bacteria did not include *Vibrio* sp. The isolates that did not grow were then followed by the molecular analysis stage with 16S rDNA primer.

The results of the study obtained 151 proteolytic bacteria and 169 amyolytic bacteria from the total tested bacteria as many as 383 isolates. From 151 proteolytic bacteria and 169 amyolytic bacteria, each obtained 11 isolates with high activity in hydrolyzing casein and starch. The results of molecular identification with 16S rDNA primers showed 7 general of bacteria including, *Psychrobacter celer*, *Pseudoalteromonas* sp., *Pseudoalteromonas bleria* *Cobetia marine*, *Exiguobacterium acetylicum*, *Marinobacter naaticus* and *Shewanella baltica*.