

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Kelimpahan Bakteri

Sampel yang digunakan berasal dari saluran pencernaan ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) sebanyak 4 ekor dengan berat masing-masing ikan berkisar 200-250 g lalu diambil bagian usus dengan berat 1 g, kemudian di kultur pada media NA dengan pengenceran 10^{-3} . Jumlah bakteri yang diperoleh dari pengenceran 10^{-3} dengan koloni bakteri sejumlah 2.232. Kelimpahan bakteri dihitung dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Sehingga kelimpahan bakteri yang diperoleh sejumlah $2,2 \times 10^7$ CFU/g. (**Lampiran 1**). Kelimpahan koloni bakteri yang diperoleh dalam penelitian ini lebih banyak dibandingkan BSNI jenis ikan, total jumlah Total Plate Count mikroba atau Angka Lempeng maksimalnya ialah 5×10^5 CFU/mL (SNI, 2015).

Jumlah bakteri dipengaruhi oleh proses dari penangkapan sendiri seperti terdapatnya luka atau cacat, pengaruh lama waktu penjualan, sanitasi buruk pada tempat atau lokasi penjualan, terpapar pada suhu ruang dalam jangka waktu yang lama, dan berbagai faktor lainnya. Hal tersebut juga dapat dipengaruhi oleh waktu penjualan. Apabila penanganan yang diterapkan tidak sesuai standar operasional yang baik dan benar, maka semakin lama waktu penjualan ikan semakin menyebabkan pertumbuhan bakteri berlangsung sangat cepat (Sukmawati S., et al. 2020).

4.2. Karakteristik Morfologi Bakteri

Karakteristik morfologi koloni dan sifat Gram bakteri saluran pencernaan ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh dari TPI Ujung Batu Jepara dapat dilihat pada **Tabel 1.** berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh sejumlah 3 isolat dengan morfologi koloni bakteri yang berbeda. Secara umum, morfologi koloni bakteri yang diperoleh memiliki bentuk circular dan irregular; elevasi convex; tepian berbentuk entire dan endulate; serta memiliki warna putih susu dan transparan. Morfologi koloni bakteri dapat dijadikan dasar dalam identifikasi genus hingga spesies. Setiap spesies memiliki bentuk koloni yang berbeda-beda dan menjadi ciri khas spesies tertentu. Perbedaan bentuk koloni tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa hal seperti umur bakteri, lingkungan, nutrisi dan suhu (Agustina *et al.*, 2022).

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sifat Gram.

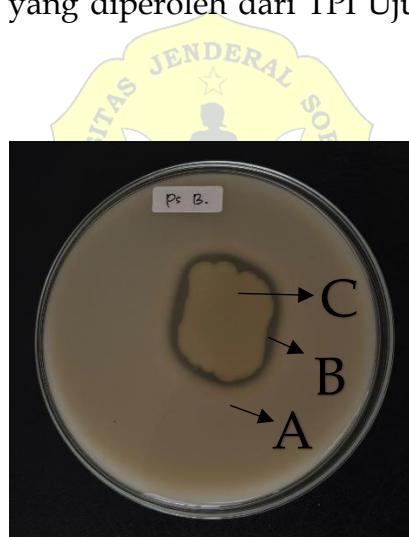
Jenis	Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna	Gram
Putih Besar	Susu	Circular	Convex	Entire	Putih susu +
Putih Kecil	Susu	Irreguler	Convex	Endulate	Putih susu -
Transparan Pusat	Circular	Convex	Entire	Transparan	-

Karakteristik morfologi koloni dapat juga dibedakan berdasarkan Gramnya. Pada penelitian ini peroleh sejumlah 1 isolate bakteri Gram positif dan 2 isolat bakteri Gram negatif. Menurut SC, U. K., dan Mutmainnah, N. (2024), Bakteri Gram positif merupakan bakteri yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal dan dinding selnya mampu menyerap warna violet, bakteri ini dianggap mampu menjadi bakteri yang menguntungkan bagi inangnya. Bakteri yang bersifat Gram positif ini menunjukkan bahwa bakteri yang ada di usus ikan

kakap mampu menekan bakteri pathogen yang ada di saluran pencernaan ikan kakap sehingga menjadi indikator bahwa imun ikan kakap itu baik.

4.3. Aktivitas Bakteri Proteolitik

Indeks aktivitas bakteri proteolitik saluran pencernaan ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) dapat dilihat pada **Gambar 3**. Isolate tersebut menghasilkan aktivitas proteolitik pada pengamatan 24 jam, dihasilkan isolate dengan nilai (perhitungan zona bening). Isolat yang menghasilkan aktivitas proteolitik memiliki kode Ps B. Aktivitas proteolitik isolat tersebut memiliki nilai 1,16 (**Lampiran 2**). Indeks aktivitas proteolitik pada saluran pencernaan ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) yang diperoleh dari TPI Ujung Batu Jepara termasuk dalam kategori rendah.



Gambar 3. Indeks Aktivitas Bakteri Proteolitik
Keterangan : (A) Koloni Bakteri; (B) Zona Bening; (C) Media Tidak Terhidrolisis



Gambar 4. Isolat putih susu kecil tanpa aktivitas proteolitik



Gambar 5. Isolat transparan pusat tanpa aktivitas proteolitik

Aktivitas proteolitik dinyatakan tinggi jika $\geq 2,00$, sedangkan aktivitas proteolitik yang rendah memiliki indeks $\leq 2,00$ (Wahjuningrum *et al.*, 2009; Hastuti *et al.*, 2017; Aguilera-Toro *et al.*, 2023). Menurut Setiawan *et al.* 2016 bakteri dinyatakan memiliki aktivitas proteolitik apabila nilai indeksnya $\geq 1,00$. Setiap spesies bakteri memiliki kemampuan menghidrolisis protein yang berbeda-beda. Aktivitas proteolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Enzim protease di dalam bakteri akan menghidrolisis kasein pada media *Skim Milk Agar* menjadi asam amino (Hastuti *et al.*, 2017)

4.4. Identifikasi Spesies Bakteri

Identifikasi spesies bakteri dilakukan dengan uji biokimia. uji biokimia merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat

fisiologinya (Azura, V. S., 2022). Hasil dari Uji Biokimia pada usus ikan bawal putih (*Pampus argenteus*) disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia

Uji Biokimia	Kode Isolat Putih Susu Besar	Tabel Cowan (2003)
Reaksi Gram	+	+
Bentuk Batang Panjang Berantai	+	+
Motilitas	+	+
Panjang sel > 3µm	+	d
Bentuk dan posisi spora	VX	VX
<i>Swelling of cell body by spore</i>	-	-
<i>Growth at 50° C</i>	-	-
<i>Growth in 10% NaCl</i>	+	-
<i>Growth Anaerob</i>	-	-
<i>Glukose</i>	+	+
<i>Cellobiose</i>	+	+
<i>Galactose</i>	+	+
<i>Mannose</i>	-	d
<i>Melibiose</i>	+	+
<i>Raffinose</i>		d
<i>Salicin</i>	+	+
<i>Xylose</i>	+	+
ONPG	+	+
Pemanfaatan Citrat	+	+
Urease	+	d
Indol	-	-
VP	-	-
Reduksi nitrat	-	d
Hidrolisi kasein	+	+
Hidrolisis hipurat	-	-
Hidrolisis pati	+	+
Oksidase	-	-
Katalase	+	+
<i>Glukosa acid</i>	+	+
<i>Glukosa carb</i>	-	-
Hasil Identifikasi	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus megaterium</i>

Keterangan : + : Reaksi positif d : Reaksi doubtful V : Spora sentral

- : Reaksi negatif X : Spora oval

Pada pengujian biokimia meliputi uji katalase, uji motilitas dan uji katalase memberikan respon positif dan teridentifikasi sebagai postif bakteri dari genus *Bacillus*. Ini ditandai dengan adanya gelembung-gelembung gas O₂ pada

tabung. Enzim katalase atau peroksidase sangat berperan dalam kelangsungan hidup mikroba (Karimela *et al.*, 2017). Uji motilitas memiliki tujuan untuk melihat kemampuan bakteri dalam melakukan pergerakan. Dari hasil uji motility menunjukkan bahwa genus *Bacillus* memiliki beberapa flagel sebagai alat geraknya (SC, U. K., dan Mutmainnah, N. 2024).

Bakteri *Bacillus* sp merupakan bakteri fakultatif dan termasuk dalam Gram positif. Berdasarkan uji presumsif bakteri *Bacillus* sp menunjukkan hasil oksidase positif, Gram positif dan katalase positif. Berdasarkan pengamatan morfologi dari hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa bakteri *bacillus* memiliki ciri-ciri sel berwarna ungu, berbentuk batang, tidak teratur posisinya dan memiliki sel spora. *Bacillus* sp merupakan bakteri laut paling umum yang mampu mengkonsumsi dan membantu mendegradasi bahan organik (SC, U. K., dan Mutmainnah, N. 2024).

Pada penelitian ini didapatkan hasil uji biokimia yang telah disesuaikan dengan tabel *cowan* (2003), dan teridentifikasi spesies *Bacillus megaterium*. Hasil ini memiliki kesamaan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Nascimentoa F. X., *et al.*, (2020), yang menyatakan *Bacillus megaterium* adalah bakteri Gram-positif, berwarna kuning pucat, dan berspora, mampu tumbuh pada suhu 7-45°C dan pada suhu hingga 5% NaCl. Bakteri ini bersifat katalase positif dan motil, mampu menggunakan glukosa dan laktosa sebagai sumber karbon, tetapi non-fermentatif. Bakteri ini tidak menghasilkan aseton maupun H₂S, dan uji reduksi nitrat/ nitrit menunjukkan hasil negative. Bakteri ini salah satu yang menghasilkan enzim ekstraseluler yaitu protease.