

RINGKASAN

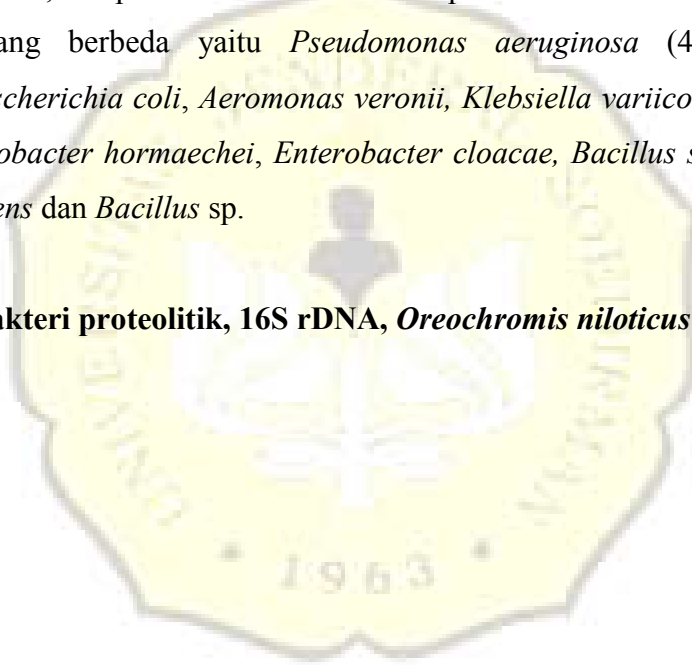
Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar yang memiliki ekonomis dan mudah dibudidayakan karena memiliki toleransi luas terhadap kondisi lingkungan. Bakteri proteolitik merupakan bakteri penghasil enzim protease yang dapat membantu proses pemecahan protein pakan. Pakan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberadaan dan aktivitas bakteri proteolitik saluran pencernaan. Bakteri proteolitik didapat dengan proses skrining menggunakan media pertumbuhan diperkaya dengan kasein yang akan menunjukkan zona bening disekitar koloni. *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP) merupakan teknik turunan PCR yang dapat digunakan untuk melihat keragaman bakteri saluran pencernaan. Keragaman bakteri dapat dilihat menggunakan analisis *Amplified ribosomal DNA restriction analysis* (ARDRA) dari pola pemotongan DNA oleh enzim restriksi. Marka 16S rDNA merupakan penanda daerah ribosomal yang diketahui memiliki urutan basa konservatif dan variatif yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri. Penelitian ini bertujuan mengkaji keberadaan, aktivitas dan analisis molekuler bakteri proteolitik yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan nila.

Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu survei dengan teknik observasi eksploratif dimana ikan diambil dari lokasi budidaya yang menggunakan jenis pakan berbeda. Prosedur penelitian yaitu isolasi bakteri saluran pencernaan, perhitungan jumlah bakteri, skrining bakteri proteolitik, uji aktivitas bakteri proteolitik, ekstraksi DNA bakteri, analisis restriksi 16S rDNA bakteri (amplifikasi PCR, pemotongan DNA menggunakan enzim restriksi, pengelompokan bakteri), analisis sekuen 16S rDNA bakteri (sekuensing, analisis BLAST dan konstruksi pohon filogenetik) dan analisis data.

Hasil menunjukkan jumlah total bakteri saluran pencernaan bervariasi. Jumlah bakteri tertinggi ditemukan pada bagian posterior yaitu $6,3 \times 10^5$ CFU/g diikuti bagian middle dan anterior yaitu $4,6 \times 10^5$ CFU/g dan $2,4 \times 10^5$ CFU/g. Jumlah bakteri di

saluran pencernaan ikan yang diberi pakan pelet dan kombinasi pelet dan tumbuhan lebih tinggi dibandingkan yang diberi pakan tumbuhan. Proporsi bakteri proteolitik menunjukkan perbedaan antar bagian pencernaan dan pemberian jenis pakan. Nilai rata-rata proporsi bakteri proteolitik bagian anterior menunjukkan keberadaan tertinggi yaitu 70%, diikuti bagian middle dan posterior yaitu 21% dan 9%. Aktivitas bakteri proteolitik dari ikan yang diberi pakan pelet lebih tinggi dibandingkan dari ikan yang diberi pakan tumbuhan dan kombinasi. Hasil analisis restriksi 16S rDNA bakteri menghasilkan 15 kelompok bakteri berbeda. Berdasarkan hasil analisis BLAST dan analisis filogenetik, sampel bakteri dari 15 kelompok tersebut teridentifikasi sebagai 11 spesies yang berbeda yaitu *Pseudomonas aeruginosa* (4), *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli*, *Aeromonas veronii*, *Klebsiella variicola*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* dan *Bacillus* sp.

Kata kunci: bakteri proteolitik, 16S rDNA, *Oreochromis niloticus*



SUMMARY

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) is a freshwater fish that has economic value and well cultivated due to its wide tolerance to environmental conditions. Proteolytic bacteria are protease enzyme-producing bacteria that can support the process of protein digestion. Feed is one of the factors that influence the presence and activity of proteolytic bacteria in the digestive tract. Proteolytic bacteria could be obtained by a screening process using a growth medium enriched with casein which will show a clear zone around the colony. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) is a PCR-derived technique that can be used to see the diversity of digestive tract bacteria. Bacterial diversity can be evaluated using Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) of DNA cutting patterns by restriction enzymes. The 16S rDNA marker is a ribosomal region marker that is known to have conservative and varied base sequences that can be used in identification of bacteria. This study aimed to assess the presence, activity and molecular analysis of proteolytic bacteria isolated from the digestive tract of tilapia.

The method used in this research was a survey with exploratory observation techniques where the fish were taken from cultivation locations using different types of feed. The research procedures were isolation of digestive tract bacteria, counting the number of bacteria, screening for proteolytic bacteria, testing the activity of proteolytic bacteria, extracting bacterial DNA, restriction analysis of 16S rDNA bacteria (PCR amplification, cutting DNA using restriction enzymes, grouping of bacteria), sequence analysis of 16S rDNA (sequencing, BLAST analysis and phylogenetic tree construction) and data analysis.

The results showed that total number of digestive tract bacteria varied among samples. The highest number of bacteria was found in the posterior part, namely 6.3×10^5 CFU / g followed by the middle and anterior parts, namely 4.6×10^5 CFU / g and 2.4×10^5 CFU / g, respectively. The number of bacteria in the digestive tract of

fish fed with pellets and a combination of pellets and plants was higher than those fed with plants. The proportion of proteolytic bacteria showed the difference among samples based on part of digestive tract and feed types. The average value of the proportion of proteolytic bacteria in the anterior part showed the highest proportion, namely 70%, followed by the middle and posterior parts, namely 21% and 9%. The proteolytic activity of fish fed pellets was higher than that of fish fed with plants and the combination feed. The results of the 16S rDNA restriction analysis of bacteria produced 15 different groups of bacteria. Based on the results of BLAST analysis and phylogenetic analysis, bacterial samples from 15 groups were identified as 11 different species, namely *Pseudomonas aeruginosa* (4), *Plesiomonas shigelloides*, *Escherichia coli*, *Aeromonas veronii*, *Klebsiella variicola*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus* sp.

Keywords: proteolytic bacteria, 16S rDNA, *Oreochromis niloticus*

