



**LAPORAN PENELITIAN
DIPA PENERIMAAN NEGARA BUKAN PAJAK
TAHUN ANGGARAN 2006**

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL TANAH TAMBAK,
SEBAGAI BAHAN PENGEMBANGAN PROBIOTIK
PENDEGRADASI DINDING SEL *Microcystis* sp,
PENYEBAB CITARASA LUMPUR
PADA IKAN BANDENG**

Oleh:

**Endang Dewi Masitha, MP., Ir.
Laksmi Sulmartiwi, MP., SPi.
Juni Triastuti, MSi., SPi.**

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh Dana Penerimaan Negara Bukan Pajak Tahun 2005,
Surat Keputusan Rektor Universitas Airlangga
Nomor 4683/J03/PP/2005
Tanggal 4 Juli 2005
Nomor Urut : 39

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

November, 2005



IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http: //ppm.unair.ac.id

IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN

1.	Judul Penelitian	: Isolasi Bakteri Selulolitik Asal Tanah Tambak, Sebagai Bahan Pengembangan Probiotik Pendegradasi Dinding Sel <i>Microcystis</i> sp., Penyebab Cita Rasa Lumpur Pada Ikan Bandeng
	a. Macam Penelitian	: Fundamental <input type="checkbox"/> Terapan <input type="checkbox"/> Pengembangan
	b. Kategori Penelitian	: I <input type="checkbox"/> II <input type="checkbox"/> III
2.	KEPALA PROYEK PENELITIAN	
	a. Nama lengkap	: Endang Dewi Masithah, MP., Ir.
	b. Jenis Kelamin	: Perempuan
	c. Pangkat/Golongan/NIP	: Penata TK I / III C / 132 158 476
	d. Jabatan Sekarang	: Lektor
	e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Kedokteran Hewan/Budidaya Perairan
	f. Univ./Ins/Akademi	: Universitas Airlangga
	g. Bidang ilmu yang diteliti	: Pertanian
3.	Jumlah Tim Peneliti	: 3 orang
4.	Lokasi Penelitian	: - Tambak Bandeng Daerah Lamongan dan Gresik - Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fak. MIPA, Unair
5.	Kerjasama dengan Instansi Lain	: Tidak Ada
	a. Nama Instansi	: -
	b. Alamat	: -
6.	Jangka Waktu Penelitian	: 6 bulan sejak penelitian diterima
7.	Biaya yang diperlukan	: 6.000.000,- (enam juta rupiah)
8.	Seminar Hasil Penelitian	
	a. Dilaksanakan Tanggal	: -
	b. Hasil Penelitian	: () Baik Sekali (<input checked="" type="checkbox"/>) Baik () Sedang () Kurang

Surabaya, 20 Oktober 2005

Mengetahui/Mengesahkan
a.n. Rektor

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Airlangga,



Prof. Dr. H. Sarmanu, M.S., Drh

NIP 130 701 125

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL TAMBAK,
SEBAGAI BAHAN PROBIOTIK PENDEGRADASI DINDING SEL
Microcystis sp, PENYEBAB CITA RASA LUMPUR PADA IKAN BANDENG**

Endang Dewi Masithah*, Laksmi Sulmartiwi* dan Juni Triastuti*

2005, 31 hal.

Permasalahan

Ikan bandeng (*Chanos chanos*), dibudidayakan mulai abad XIV dan telah menjadi ciri komoditi khas daerah tertentu. Pada beberapa daerah, seperti Lamongan dan Gresik, seringkali didapatkan hasil panen bandeng mempunyai citarasa lumpur, sedangkan di daerah lain, seperti Sidoarjo, kejadian ini tidak didapatkan. Adanya citarasa lumpur ini menurunkan kualitas dan harga jual karena kurang disukai konsumen. Citarasa lumpur pada ikan tidak saja ditemui di Lamongan dan Gresik, namun juga di berbagai daerah yang memiliki kondisi ekologis dan geografis sama di Indonesia.

Menurut Lowell dan Sackey (1973) serta Lelana (1993), penyebab citarasa lumpur adalah senyawa geosmin yang merupakan senyawa metabolit dihasilkan oleh alga golongan *Blue Green Alga* (Cyanophyceae). Hasil penelitian Trisyani (1997) melaporkan, adanya citarasa lumpur berhubungan dengan dominansi alga *Microcystis sp*, salah satu spesies golongan *Blue Green Alga*.

Keberadaan *Microcystis sp* di tambak Lamongan dan Gresik sulit diberantas karena topografi tambak yang landai dan jauh dari laut sehingga pergantian air sulit dilakukan. Selain menghasilkan senyawa metabolit berupa geosmin, *Microcystis sp* tidak disukai ikan karena sulit dicerna. Lapisan dinding sel yang tebal dan keras, terdiri dari selulose, hemiselulose, lignin dan pektin, membuat *Microcystis sp* sulit dicerna, bahkan seringkali dijumpai masih hidup setelah keluar dari pencernaan ikan. Kemampuannya membentuk spora pada lingkungan yang kering, membuat *Microcystis sp* tetap survive hidup pasca pengelolaan pengeringan tambak.

Kontrol pertumbuhan *Microcystis sp*, dapat dilakukan antara lain melalui pergantian air, perlakuan fisik maupun kimia. Namun beberapa cara ini memiliki hambatan dan kelemahan. Oleh karena itu perlu dikembangkan cara biologis, yaitu probiotik sebagai penekan pertumbuhan *Microcystis sp*. Pada awalnya, pengembangan probiotik didasarkan pada sifat bakteri yang mampu mendegradasi selulose sebagai komponen dinding sel *Microcystis sp*. Namun, pada studi pustaka

lebih lanjut, diketahui bahwa komponen utama dinding sel *Microcystis* sp adalah pektin. Sehingga pada penelitian ini, bakteri yang diisolasi adalah jenis pektinolitik.

Bakteri pektinolitik merupakan bakteri penghasil enzim pektinase yang dapat mendegradasi pektin menjadi karbohidrat asam yang larut. Kemampuan ini diharapkan dapat memecah dinding sel *Microcystis* sp apabila bakteri tersebut diberikan dalam bentuk probiotik pada saat pengolahan tanah pasca panen dan pada kolam tandon air. Dengan demikian, populasi *Microcystis* sp dapat ditekan dan tidak mempunyai kesempatan untuk membentuk spora.

Rumusan permasalahan yang diajukan adalah : Apakah bakteri pektinolitik dapat diisolasi dan diperoleh dari tanah tambak, sebagai bahan pengembangan probiotik pendegradasi pektin penyusun dinding sel *Microcystis* sp?

Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri pektinolitik asal tanah tambak sebagai kandidat pengembangan probiotik pendegradasi pektin penyusun dinding sel *Microcystis* sp. Peranan probiotik ini adalah untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp dan mencegah pembentukan spora yang dilakukan pada saat pengolahan tanah pasca panen dan di tandon air. Dengan rendahnya dominansi *Microcystis* sp di perairan, senyawa metabolit geosmin yang dihasilkan tidak akan mengganggu kualitas ikan dan citarasa lumpur pada ikan bandeng dapat diatasi.

Metode Penelitian

Pengambilan sample tanah dan air tambak sebagai sumber bakteri dilakukan di 5 lokasi tambak Lamongan dan 5 lokasi tambak Gresik yang positif mengalami kejadian citarasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan. Isolasi dan identifikasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Airlangga . Penelitian ini dilaksanakan pada awal bulan September sampai dengan bulan Nopember 2005.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung yaitu mengadakan pengamatan langsung terhadap gejala – gejala subjek yang diselidiki dalam situasi yang sebenarnya (Silalahi, 2003).

Tahapan penelitian terdiri dari : survei kualitas air, pengambilan sampel tanah dan air tambak, isolasi bakteri dan identifikasi bakteri. Parameter kualitas air

yang diukur adalah pH, suhu, salinitas, DO dan warna air. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan medium spesifik pektin. Identifikasi bakteri dilakukan dengan uji morfologis dan fisiologis. Uji morfologis meliputi makroskopis (bentuk dan warna koloni) dan mikroskopis (pewarnaan gram dan motilitas). Uji fisiologis meliputi uji gula-gula, uji urea, uji sitrat, uji manitol, uji indol dan TSIA.

Hasil dan Kesimpulan

Data parameter kualitas air menunjukkan nilai pH antara 7 - 10; salinitas antara 0 - 15 ppm; suhu antara 26 - 36,1^oC; DO antara 1,6 - 7,4 mg/l serta warna air coklat kekuningan, hijau muda sampai hijau. Nilai parameter kualitas air ini sangat sesuai untuk pertumbuhan *Microcystis* sp.

Hasil isolasi diperoleh 8 isolat bakteri pektinolitik, yang tergolong dalam 4 genus yaitu *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Keempat genus tersebut menunjukkan sifat pektinolitik karena menghasilkan bidang hambat di sekitar koloni pada medium pektin. Sehingga diduga bakteri tersebut mampu mengekspresikan enzim pektinase yang memecah pektin menjadi galacturonic acid.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kemampuan isolat bakteri pektinolitik dalam menekan pertumbuhan *Microcystis* sp serta sifat patogenitasnya terhadap komunitas perairan antara lain terhadap jenis-jenis plankton lain serta ikan.

* : Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Dibiayai Oleh DIPA PNB Universitas Airlangga dengan SK Rektor nomor : 4683 / J03 / PG / 2005, Tanggal 4 Juli 2005

ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK ASAL TAMBAK SEBAGAI BAHAN
PROBIOTIK PENDEGRADASI DINDING SEL *Microcystis* sp, PENYEBAB
CITARASA LUMPUR PADA IKAN BANDENG

ISOLATION THE SELLULOLYTIC BACTERIA FROM FISH POND AS
PROBIOTIC MATERIAL TO DEGRADE *Myrocystis* sp CELL WALL,
CAUSE THE MUDDY SMELL IN MILK FISH

Endang Dewi Masithah, Laksmi Sulmartiwi dan Juni Triastuti
Aquaculture Department, Veterinary Faculty of Airlangga University, Surabaya

ABSTRACT

The purpose of this research are isolation the sellulolytic bacteria from fish pond as probiotic material to degrade *Myrocystis* sp cell wall, cause the muddy smell in milk fish. Method of this research is description with observation to research object.

Bacterium were grown in Pectin medium contains (in 1000 ml): bactopecton : 3 gr (0,3%), yeast extract : 0,5 gr (0,05%), K_2HPO_4 : 1 gr (0,1%), $CaCl_2$: 0,01 gr (0,001%), Na_2CO_3 : 5 gr (0,5%), $MgSO_4 \cdot 6H_2O$: 0,5 gr (0,05%), Agar : 15 gr (1,5%) and pectin : 10 gr (1%). This research divided in some periods i.e. survey of the water quality, isolation and identification of the pectinolytic bacteria.

The result showed that there are 4 genus of pectinolytic bacteria i.e. *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* and *Bacillus* that found in fish pond that have the muddy smell in milk fish.

Key words : pectinolytic bacteria, muddy smell

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulisan laporan hasil penelitian dengan judul **Isolasi Bakteri Pectinolitik Asal Tanah Tambak, Sebagai Bahan Pengembangan Probiotik Pendegradasi Dinding Sel *Microcystis* sp., Penyebab Cita Rasa Lumpur Pada Ikan Bandeng** dapat diselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini disampaikan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan pendanaan penelitian ini melalui SK Rektor No. 4683/JO3/PG/2005.
2. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang telah membantu kelancaran administrasi mulai proses pengajuan proposal sampai dengan Pelaporan Hasil Penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan dan Fasilitas yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini.
4. Kepala Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA beserta staf, yang telah memberikan sarana dan membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhirnya, kritik dan saran sangat diharapkan untuk perbaikan Laporan Hasil Penelitian ini.

Surabaya, Oktober 2005

Peneliti

DAFTAR ISI

	halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN	iii
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Cita Rasa Lumpur pada Ikan.....	4
2.2 <i>Microcystis</i> sp dan Dominansinya pada Perairan....	6
2.3 Degradasi Pectin Oleh Mikroba.....	8
2.4 Kontrol Populasi <i>Microcystis</i> sp.....	9
2.5 Probiotik Sebagai Pengendali Kualitas Lingkungan.	10
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	13
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....	14
4.1 Tempat dan Waktu.....	14
4.2 Metode Penelitian.....	14
4.3 Materi Penelitian.....	14
4.4 Pelaksanaan Penelitian.....	16
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
5.1 Data Kualitas Air.....	24
5.2 Isolasi Bakteri.....	26
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
5.1.	Data Kualitas Air Tambak Tempat Pengambilan Sampel Tanah dan Air.....	24
5.2.	Jenis-Jenis Koloni Bakteri yang Tumbuh dari Penanaman Sampel Air dan Tanah.....	26
5.3.	Karakteristik Morfologis Isolat Bakteri yang Diduga Pectinolitik dari Tambak Lamongan dan Gresik.....	28
5.4.	Hasil Uji Fisiologis Bakteri Pectinolitik dari Tambak Lamongan dan Gresik.....	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
5.1. Beberapa Koloni Tumbuh Pada Media Agar.....	31
5.2. Beberapa Uji Fisologis	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Karakteristik Koloni Bakteri yang Berhasil Diisolasi dari Tambak Lamongan dan Gresik.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan bandeng (*Chanos chanos*), dibudidayakan mulai abad XIV dan telah menjadi ciri komoditi khas daerah tertentu, terutama setelah diolah, seperti bandeng presto dan bandeng asap. Kegiatan usaha budidaya bandeng semakin meningkat sebagai akibat meningkatnya kegagalan budidaya udang.

Pada beberapa daerah, seperti Lamongan dan Gresik, seringkali didapatkan hasil panen bandeng mempunyai citarasa lumpur, sedangkan di daerah lain, seperti Sidoarjo, kejadian ini tidak didapatkan. Adanya citarasa lumpur pada ikan, menurunkan kualitas dan harga jual karena kurang disukai konsumen. Citarasa lumpur pada ikan tidak saja ditemui di Lamongan dan Gresik, namun juga di berbagai daerah yang memiliki kondisi ekologis dan geografis sama di Indonesia.

Menurut Lowell dan Sackey (1973) serta Lelana (1993), penyebab citarasa lumpur adalah senyawa geosmin yang merupakan senyawa metabolit dihasilkan oleh alga golongan *Blue Green Algae* (Cyanophyceae). Senyawa ini diserap ikan dari lingkungan melalui insang, kulit dan saluran pencernaan. Hasil penelitian Trisyani (1997) melaporkan adanya citarasa lumpur bandeng yang dibudidayakan di Gresik dan Lamongan, berhubungan dengan dominansi alga *Microcystis* sp., salah satu spesies golongan *Blue Green Algae*. Ikan bandeng merupakan pemakan alga / klekap yang terdiri dari *Green Algae* (alga hijau), *Blue Green Algae* (alga hijau biru) dan diatom. *Blooming Microcystis* sp. di tambak diakibatkan oleh tingginya bahan organik perairan baik karena sisa pakan, kotoran ikan maupun kesalahan metode

budidaya (penggunaan pupuk berlebih). Kondisi ini diperparah dengan kesulitan ganti air di tambak karena faktor topografi yang landai dan jauh dari pantai (tambak layah : istilah Jawa) serta keterbatasan sumber air, sehingga pasokan air tambak mengandalkan sungai dan tadah hujan (Trisyani, 1997).

Microcystis sp. dikelompokkan dalam kelas *Cyanobacter* yang tumbuh di perairan subur. Dinding sel *Microcystis* sp. sebagian besar tersusun atas *exopolysaccharida* yang komposisinya sama seperti pectin (Hoiczky and Hansel, 2000) membuat sukar dicerna oleh ikan, bahkan seringkali masih hidup setelah keluar dari saluran pencernaan ikan (Saain, 1990).

Kontrol pertumbuhan *Microcystis* sp. pada tambak layah dengan pengaturan kondisi lingkungan, cukup sulit dilakukan karena faktor topografi yang menyebabkan sulitnya ganti air dan pembuangan bahan organik. Beberapa penelitian yang bertujuan untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp. dilakukan secara kimiawi dan biologis. Di Indonesia, telah dilakukan penggunaan ekstrak umbi tike (Andriyani, 1995). Di China digunakan ekstrak dekomposisi jerami (Chen *et al*, 2004) dan di Canada digunakan ekstrak kulit jeruk (Jianzhong *et al*, 2004). Penggunaan ekstrak umbi tike dan dekomposisi jerami mempunyai keterbatasan karena jumlah ketersediaan bahan dikaitkan dengan luasnya tambak. Selain itu penggunaan bakteri tunggal seperti *Cytophaga* (Yamamoto and Suzuki, 1993), *Myxococcus fulvus* (Yamamoto, 1993) dan *Alcaligenes denitrificans* (Manage *et al.*, 2000) juga telah dilakukan diluar negeri, namun untuk tujuan penggunaan di Indonesia perlu penelitian lebih lanjut, karena perbedaan kondisi lingkungan perairan. Hal ini didukung oleh beberapa penelitian yang membuktikan bahwa, penggunaan bakteri isolat lokal untuk suatu tujuan, memberikan hasil lebih baik

dibanding produk komersial yang umumnya berasal dari luar negeri (Susanto, dkk., 2005; Muliani, dkk., 2005 dan Isnansetyo, 2005).

Berdasarkan permasalahan tersebut, perlu dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri asal tambak lokal, sebagai kandidat probiotik untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp. yang mempunyai efektivitas tinggi. Pengembangan probiotik ini pada awalnya berdasarkan sifat bakteri yang mampu mendegradasi selulose sebagai penyusun dinding sel. Namun, pada studi pustaka lebih lanjut (setelah proposal ini diterima pendanaannya), diketahui bahwa dinding sel *Microcystis* sp. sebagian besar tersusun atas pectin dengan komponen lebih dari 83% galacturonic acid. Dengan demikian, probiotik yang akan dikembangkan adalah berdasarkan sifat bakteri yang memproduksi poly 1,4- α -d galacturonidase yang mampu mendegradasi pectin, suatu polisakarida komponen utama penyusun dinding sel *Microcystis* sp. (sehingga terdapat perbedaan antara judul dengan isi / materi penelitian). Diharapkan *Microcystis* sp. tidak dapat berkembang biak lebih lanjut dan tidak mempunyai kesempatan untuk membentuk spora. Dengan penggunaan probiotik yang berasal dari tambak lokal, diharapkan permasalahan keterbatasan jumlah bahan dan ketidaksesuaian lingkungan tidak lagi menjadi kendala dalam upaya mengatasi blooming *Microcystis* sp.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah bakteri pectinolitik terdapat di tambak yang mengalami cita rasa lumpur pada ikan bandeng yang dibudidayakan dan dapat diisolasi ?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cita Rasa Lumpur Pada Ikan

Cita rasa lumpur pada ikan merupakan masalah serius pada beberapa negara yang membudidayakan ikan. Menurut Lovell dan Sackey (1993) *catfish* yang dibudidayakan secara intensif di USA juga mempunyai citarasa lumpur. Diduga penyebabnya adalah jamur *Actinomyces* dan alga hijau biru. Di Indonesia, citarasa lumpur sering didapatkan pada budidaya ikan bandeng di lokasi tambak Gresik dan Lamongan (Trisyani, 1997).

Avault (1996) menyatakan bahwa penyebab cita rasa lumpur pada ikan adalah senyawa yang dihasilkan sejumlah alga hijau biru, yang diabsorpsi oleh membran insang. Selanjutnya, menurut Lelana (1993), penyebab cita rasa lumpur pada ikan adalah senyawa metabolit yang dikeluarkan oleh alga hijau biru yang disebut geosmin. Menurut Gerber (1979), geosmin digambarkan sebagai minyak yang tidak berwarna, terlihat jika disimpan dalam waktu yang lama dan tidak stabil pada lingkungan asam. Beberapa peneliti terdahulu seperti Lowell (1999), Tabachek dan Yorkowski (1996) menyatakan bahwa geosmin diproduksi oleh alga hijau biru pada kolam budidaya ikan dan pada lingkungan payau (Person, 1999). Spesies alga dari famili alga hijau biru yang umum terdapat pada kolam tambak di daerah tropis dan subtropik adalah spesies *Anabaena*, *Aphanizomenon* dan *Microcystis* sp. yang dicirikan dengan warna perairan hijau pekat (James dan Ottey, 1996).

Hasil penelitian Lovell dan Sackey (1973) membuktikan bahwa geosmin merupakan metabolit ekstraseluler yang dihasilkan alga ke perairan, kemudian

diserap oleh ikan. Smith (1983) menambahkan bahwa penyerapan geosmin dapat terjadi melalui insang, saluran pencernaan, dan kulit. Pada ikan air tawar, air diserap ke tubuh ikan melalui insang dan dikeluarkan dari tubuh ikan ke air lewat ginjal. Front dan Horiyk (1984) mendapatkan bahwa bagian tubuh yang paling cepat menyerap geosmin adalah insang (6 menit), selanjutnya kulit (1,5 jam), usus kecil (4 jam), dan perut (7 jam). Hal ini menunjukkan bahwa insang adalah bagian tubuh utama untuk menyerap senyawa geosmin.

Trisyani (1997), mendapatkan korelasi antara kelimpahan alga spesies *Microcystis aeruginosa* dengan citarasa lumpur pada daging ikan bandeng mengikuti persamaan sebagai berikut :

$$\text{Citarasa} = 33.585 + 43.616 (1 - e^{-0.015 \text{ kelimpahan}})$$

Dari persamaan tersebut diduga dengan semakin melimpahnya alga *Microcystis aeruginosa*, makin meningkat pula cita rasa lumpur daging ikan bandeng di tambak Gresik.

Selain itu, didapatkan pula hubungan citarasa lumpur dengan kelimpahan, keragaman alga dan dominansi *Microcystis aeruginosa* di tambak Gresik sebagai berikut :

$$\text{Citarasa} = 50.31 + 0.30 (\text{kelimpahan}) - 34.31 (\text{keragaman}) - 12.56 (\text{dominansi}).$$

Dari persamaan tersebut, peluang citarasa lumpur di tambak Gresik dapat diperkecil apabila nilai kelimpahan alga Cyanophyceae (*Blue Green Alga*) mempunyai nilai keragaman dan dominansi yang kecil. Upaya ini bisa dilaksanakan dengan menghilangkan dominansi alga spesies *Microcystis aeruginosa* dan mengatur variable kualitas air agar jumlah sepsies serta

kelimpahannya lebih bervariasi.

2.2 *Microcystis* sp dan Dominansinya pada Perairan

Microcystis sp. merupakan salah satu spesies alga hijau biru dengan klasifikasi sebagai berikut :

Sub Kingdom : Procaryota

Phylum : Cyanophyta

Klass : Chyanophyceae

Ordo : Chlorococcales

Genus : Chroococcus

Species : *Microcystis* sp. (Kumar dan Singh (1982); Sze (1993))

Morfologi *Microcystis* sp. terdiri dari agregate sel bulat yang membentuk koloni kecil sampai besar. Ukuran sel setiap individu lebih besar dari kelompok picoplankton yaitu berdiameter antara 2 – 3 sampai 10 μm . Sel *Microcystis* sp. mempunyai *gas vacuoles* yang berperan penting untuk membuat koloni terapung di perairan (Paerl, 1988). Dinding sel tersusun atas *exopolysaccharida* yang komposisinya sama seperti pektin (Hoiczky dan Hansel, 2000).

Microcystis sp. hidup pada lapisan *mesotrophic* sampai *eutrophic* pada danau, sungai dan kolam, merupakan alga thermofilik yang tumbuh baik pada suhu 35 – 40°C pada permukaan perairan (Paerl, 1988). Mempunyai klorofil A, dan pigmen fikobiliprotein yang tersimpan dalam kantung pipih bermembran (tilakoid) yang berfungsi dalam fotosintesis (Abercrombie dkk., 1993). Plankton ini dapat mendominasi perairan yang mempunyai aliran tenang serta banyak hidup

pada air yang kaya Nitrogen dan Fosfor. Beberapa jenis plankton ini diketahui bersifat racun untuk hewan invertebrata dan vertebrata (Paerl, 1988).

Microcystis sp. dapat membahayakan kehidupan ikan apabila terjadi *blooming* yang bersamaan dengan adanya proses pembusukan (Paerl, 1988). *Blooming* alga ini juga menyebabkan tidak terdapatnya alga lain dan bila ada jumlahnya tidak banyak. Selain menyebabkan citarasa lumpur pada ikan, *Microcystis* sp. kurang disukai oleh ikan karena sulit dicerna. Kandungan selulose, hemiselulose lignin dan pectin yang menyusun dinding sel, membentuk lapisan yang sulit dicerna, sehingga seringkali ditemukan masih hidup walaupun telah keluar dari saluran pencernaan ikan (Isnansetyo dan Kurniastuti, 1995).

Perairan yang mengalami *blooming Microcystis* sp. menandakan bahwa dalam air terdapat banyak Fosfat dan Nitrat (Sachlan, 1981) karena nutrisi ini mampu merangsang pertumbuhan alga dalam waktu yang relatif cepat (Boyd, 1979).

Menurut Trisyani (1997) daerah Lamongan dan Gresik sangat cocok untuk pertumbuhan *Microcystis* sp.. Salinitas di tambak Lamongan dan Gresik tergolong rendah karena lokasi tambak jauh dari laut, sehingga sumber air tambak mengandalkan air tawar dan hujan. Pasang laut yang mampu mengairi tambak hanya pasang tertinggi yang terjadi sebulan dua kali. Kondisi salinitas yang rendah akan mendukung perkembangan alga Cyanophyceae (*Blue Green* alga), sehingga *Microcystis* sp. akan mendominasi. Dominansi *Microcystis* sp. di perairan juga dipacu oleh kadar Nitrogen yang tinggi sebagai akibat sulitnya pergantian air. Akibatnya bahan organik tidak terbuang dari tambak dan merupakan sumber Nitrogen.



Gambar 1. Morfologi *Microcystis* sp.

2.3 Degradasi Pectin oleh Mikroba

Beberapa mikroba tertentu mempunyai kemampuan untuk mengeluarkan enzim yang dapat menghancurkan pektin menjadi galacturonic acid, suatu senyawa karbohidat yang larut dalam air. Mikroba tersebut dapat berupa bakteri dan jamur (Doran, 2002). Kemampuan untuk memecah pektin merupakan sifat banyak bakteri, dan digolongkan sebagai bakteri pektinolitik. Proses pemecahan pektin oleh mikroba melibatkan berbagai golongan enzim pektinase (Schlegel, 1994).

Istilah kimia enzim pektinase adalah poly (1,4- α -D galakturonide) glycanohydrolase, poly (1,4- α -D-galakturonide) lyase, dan *pectin pectylhydrolase* (NOSB Materials Database, 1999). Sedangkan beberapa nama lain enzim ini adalah *phosphorylase*, *pectat lyase*, *pectin lyase*, *pectinesterase*, dan *polygalakturonase* (www.genome.jp, 2005).

Beberapa macam bakteri yang dikelompokkan sebagai pektinolitik yaitu *Ralstonia solanacearum* (Tans – Kersten *et al.*, 1998; Gonzales and Allen, 2003), *Erwinia chrysanthemi* (Tardy *et al.*, 1997), *Pseudomonas cellulose*, *Rhizobium*, *Amicolata* sp. (Gonzales and Allen, 2003), *Bacillus subtilis* (Gonzales and Allen,

2003; www.textbookofbacteriology.net, 2005), *Azospirillum irokanse* (Bekri et al., 1999).

2.4 Kontrol Populasi *Microcystis* sp.

Beberapa upaya telah dicoba untuk mengatasi blooming *Microcystis* sp., antara lain memanipulasi level nutrisi sehingga pertumbuhan *Microcystis* sp. bisa digantikan oleh alga lain (Schoeder, 1998). Boyd (1997) menyarankan mengganti air untuk melarutkan buangan organik. Kedua cara ini sulit dilakukan di daerah Lamongan dan Gresik karena keterbatasan air. Lin (2002) memberikan kuprisulfat atau algacidae dalam bentuk kristal / terlarut untuk mengontrol pertumbuhan *Microcystis* sp., namun senyawa ini bersifat racun terhadap ikan dan mengurangi kandungan karbondioksida. Penggunaan klorin juga akan berbahaya bagi lingkungan, karena sisa klorin akan terbuang ke perairan.

Kontrol secara biologis terhadap blooming *Microcystis* sp. sudah banyak dilakukan di beberapa negara, karena sudah menyebabkan polusi bau pada ikan dan air minum, bahkan beberapa bersifat racun bagi hewan dan manusia. Beberapa penelitian yang berkaitan dengan kontrol *Microcystis* sp. antara lain Welch et al. (1990); Barret et al. (1996) serta Ridge and Pillinger (1996) menggunakan dekomposisi jerami padi untuk menekan pertumbuhan *Microcystis*. Sedangkan Gibson et al. (1990) dan Ridge et al. (1995) mengkombinasikan dekomposisi jerami padi dan sampah daun-daunan untuk menekan pertumbuhan *Microcystis*. Pillinger et al (1996) dan Ridge and Pillinger (1994) menambahkan bahwa kemampuan dekomposisi jerami dan daun-daunan dalam menekan pertumbuhan *Microcystis* sp. adalah karena adanya senyawa phenol yang dihasilkan dari proses dekomposisi. Ball et al. (2001) menyempurnakan

penggunaan dekomposisi jerami padi dengan menggunakan ekstraknya. Jianzhong *et. al.* (2004) menggunakan ekstrak kulit jeruk untuk mengatasi pertumbuhan *Microcystis* sp., namun mempunyai keterbatasan karena jumlah ketersediaan bahan dikaitkan dengan luasnya tambak.

Upaya lain untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp. adalah menggunakan mikroorganisme, seperti penggunaan bakteri *Cytophaga* (Yamamoto and Suzuki, 1993), *Myxococcus fulvus* (Yamamoto, 1993) dan *Alcaligenes denitrificans* (Manage *et al.*, 2000). Namun untuk tujuan penggunaan di Indonesia kurang efektif karena perbedaan kondisi lingkungan perairan. Selain itu, karena bakteri yang digunakan untuk kontrol adalah bakteri tunggal, menyebabkan keberhasilan selama ini kurang memuaskan.

2.5 Probiotik Sebagai Pengendali Kualitas Lingkungan

Definisi probiotik menurut Veerschuere *et al.* (2000) adalah penambahan mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi inang melalui modifikasi bentuk keterikatan (asosiasi) dengan inang atau komunitas mikroba dengan lingkungan hidupnya. Moriarty (1998) menambahkan bahwa probiotik merupakan penambahan bakteri ke dalam tangki atau kolam tempat hewan air berada, karena bakteri tersebut akan memodifikasi komposisi bakteri pada air dan sedimen. Pengertian probiotik yang dikemukakan oleh Irianto (2003) adalah suplementasi sel mikroba utuh (tidak harus hidup) atau komponen sel mikroba pada pakan atau lingkungan hidup yang menguntungkan inang atau hewan yang dipelihara.

Tujuan pemberian probiotik pada lingkungan perairan adalah untuk memperbaiki dan mempertahankan mutu lingkungan tambak (menguraikan bahan organik, menurunkan atau menghilangkan senyawa – senyawa beracun) secara alami melalui kerja bakteri pengurai (Sutanto dan Suprpto, 2004). Fungsi pemberian probiotik pada akuakultur menurut Pribadi (2002) adalah untuk mengatur kondisi mikroorganisme di air maupun sedimen, membantu mengatur atau memperbaiki kualitas air, meningkatkan keragaman mikroorganisme dalam air dan sedimen serta menghambat atau meminimalkan efek bakteri pathogen seperti *Vibrio* sp.

Syarat – syarat probiotik yang digunakan di tambak adalah dapat hidup, mampu tumbuh dan berkembang biak dengan baik dalam tambak (misalnya dalam kondisi aerob, atau anaerob), mampu berfungsi atau bekerja aktif pada bidang yang diharapkan dan bersifat non patogenik (Poernomo, 2004). Fuller (1987) dalam Irianto (2003) menambahkan karakteristik yang harus dimiliki oleh probiotik yaitu dapat disiapkan sebagai produk sel hidup pada skala industri serta dapat terjaga stabilitas dan sintasan untuk waktu yang lama pada penyimpanan maupun di lapangan.

Mekanisme aktivitas probiotik menurut Haryanti *dkk.* (2002) dan Irianto (2003) adalah sebagai berikut :

1. Menekan pertumbuhan bakteri melalui produksi senyawa antimicrobial, kompetisi nutrien dan kompetisi sisi pengikatan.
2. Mengubah keseimbangan metabolisme microbial dengan meningkatkan dan menurunkan aktivitas enzim.

3. Stimulasi imunitas dengan meningkatkan antibodi dan aktivitas *macrophage*.

Beberapa kelompok probiotik yang digunakan pada akuakultur berasal dari bakteri, yeast, mikroalgae, serta bakteriofag (Irianto, 2003). Beberapa spesies yang termasuk dalam kelompok organisme probiotik adalah *Cyanophyta* seperti *Spirulina*; bakteri heterotrof non pathogen (*Bacillus*, *Lactobacillus*, *Alteromonas*, *Cellulomonas*); bakteri denitrifikasi (*Aerobacter*, dan *Bividobacterium*); bakteri autotrof (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*); bakteri Fotosintetik (*Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Rhodococcus*, *Chromaticeae*); Mikroalgae (*Tetraselmis* dan *Chlorella*), Actinomycetes (Sutanto dan Suprpto, 2004; Yukasano, 2002) dan Yeast (*Saccharomyces cereviceae* dan *Candida albicans*). Poernomo (2004) menambahkan, kelompok bakteri yang sudah diproduksi secara komersial dan sudah diaplikasikan sebagai probiotik adalah *Bacillus*, *Lactobacillus*, Fotosintetik *bacteria* seperti *Chromatium* (*Purple-S. Bacteria*), *Rhodopseudomonas* dan *Rhodobacter* spp (*Purple non S. Bacteria*) dan *Chlorobium* (*Green Bacteria*).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk isolasi dan identifikasi bakteri pectinolitik asal tanah tambak sebagai kandidat pengembangan probiotik pendegradasi selulose penyusun dinding sel *Microcystis* sp. Peranan probiotik ini adalah untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp. dan mencegah pembentukan spora yang dilakukan pada saat pengolahan tanah pasca panen dan di tandon air. Dengan rendahnya dominansi *Microcystis* sp. di perairan, senyawa metabolit geosmin yang dihasilkan tidak akan mengganggu kualitas ikan, dan citarasa lumpur pada ikan bandeng dapat teratasi.

3.2 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan :

1. Mendapatkan isolat bakteri pectinolitik asal tambak yang dapat dikembangkan sebagai kandidat probiotik untuk menekan pertumbuhan *Microcystis* sp., penyebab citarasa lumpur pada ikan.
2. Membantu petani ikan di daerah pertambakan yang mengalami masalah citarasa lumpur pada ikan hasil panen, sebagai akibat blooming *Microcystis* sp.
3. Menambah wahana keilmuan terutama dalam bidang bioteknologi perikanan, khususnya bioremediasi.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu

Pengambilan sample tanah dan air tambak sebagai sumber bakteri dilakukan di 5 lokasi tambak Lamongan dan 5 lokasi tambak Gresik yang positif mengalami kejadian citarasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan. Isolasi dan identifikasi bakteri dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Airlangga

Penelitian ini dilaksanakan pada awal bulan September sampai dengan bulan Nopember 2005.

4.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan teknik pengumpulan data yang dilakukan secara observasi langsung yaitu mengadakan pengamatan langsung terhadap gejala – gejala subjek yang diselidiki dalam situasi yang sebenarnya (Silalahi, 2003).

4.3 Materi Penelitian

4.3.1 Peralatan Penelitian

Alat – alat yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah dan air adalah: pipa paralon, botol sampel, bunsen, cutter, sterofom, ember, sendok.

Alat – alat yang digunakan untuk pengukuran parameter kualitas air tambak adalah : refraktometer untuk mengukur salinitas, DO meter untuk mengukur kandungan oksigen terlarut, pH pen untuk mengukur pH air dan thermometer untuk mengukur suhu.

Alat – alat yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah : botol sampel steril, petridish, erlenmeyer, tabung reaksi, ose, beaker glass, spatula, timbangan analitik, kompor, *laminar flow*, *magnetic stirrer*, bunsen, *water bath*, rak tabung reaksi, gelas ukur, *autoclave*, mikroskop, *freezer*, *incubator*.

Alat yang digunakan untuk identifikasi bakteri adalah : objek glass, cover glass, tabung reaksi, jarum ose, bunsen, cawan petri, pipet steril, mikroskop.

4.3.2 Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan untuk isolasi bakteri adalah : tanah dasar tambak bagian permukaan (sedimen) dan air tambak, berasal dari lima tambak di Kabupaten Gresik dan lima tambak di Lamongan yang mengalami kejadian cita rasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan. Pengambilan sampel tanah ini berdasarkan atas penelitian yang dilakukan oleh Pacific Shellfish Institute (2002).

Bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel tanah dan air diantaranya : tissue, kapas, benang bol, aluminium foil, kain kassa, tali rafia, es batu, aquadest, spirtus.

Bahan yang digunakan untuk isolasi bakteri pectinolitik adalah :

- media pectin dengan komposisi sebagai berikut (dalam 500ml):

1. Bactopepton	:15 gr	(3%)
2. Yeast extract	: 2,5 gr	(0,5%)
3. K ₂ HPO ₄	: 0,5gr	(0,1%)
4. CaCl ₂	: 0,005 gr	(0,001%)
5. Na ₂ CO ₃	: 2,5 gr	(0,5%)
6. Agar	: 7,5 gr	(1,5%)
7. Pectin	: 2,5 gr	(0,5%)

(Applied Microbiotechnol, 1996 ; Keen et al., 1984 *dalam* Soriano, 2000)

- aquadest

- Media spesifik pectin dengan komposisi sebagai berikut (dalam 1000 ml):

1. Bactopecton	: 3 gr	(0,3%)
2. Yeast Extract	: 0,5 gr	(0,05%)
3. K_2HPO_4	: 1 gr	(0,1%)
4. $CaCl_2$: 0,01 gr	(0,001%)
5. Na_2CO_3	: 5 gr	(0,5%)
6. $MgSO_4 \cdot 6H_2O$: 0,5 gr	(0,05%)
7. Agar	: 15 gr	(1,5%)
8. Pectin	: 10 gr	(1%)

Bahan yang digunakan untuk identifikasi bakteri pektinolitik adalah :

- Bahan pewarna gram yang terdiri dari :
 - Gentian violet (Gram A)
 - larutan Iodium Lugol (Gram B)
 - Alkohol Aceton (Gram C)
 - Safranin (Gram D)
- Media SIM
- Media uji Gula – gula
- Media uji Urea
- Sitrat Agar
- Manitol Agar
- Reagen Covacs
- Media TSIA.

4.4. Pelaksanaan Penelitian

4.4.1 Survei Kualitas Air

Survei kualitas air dimaksudkan untuk mengetahui kisaran pH dan salinitas air pada tambak-tambak yang mengalami kejadian cita rasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan. Hasil survei digunakan sebagai patokan untuk pembuatan medium kultur bakteri sebelum dilakukan pemurnian.

4.4.2 Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari tanah dan air di lima lokasi tambak yang berbeda di Kabupaten Gresik dan lima lokasi tambak di Kabupaten Lamongan yang mengalami kejadian cita rasa lumpur pada ikan yang dibudidayakan.

Sampel tanah diambil dengan menggunakan pipa paralon, ditancapkan sedalam ± 5 cm (Saidi, 2002). Sampel tanah diletakkan pada tissue dan diambil bagian sedimen atas menggunakan *cutter*. Sampel tanah dimasukkan ke dalam botol sampel dan ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil. Pengerjaan dilakukan secara aseptis, menggunakan bunsen.

Pengambilan sampel air dilakukan menggunakan water sampler dengan mengisi sejumlah $\frac{3}{4}$ volume botol. Botol sampel ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Pengerjaan dilakukan secara aseptis menggunakan bunsen.

Preservasi sampel dilakukan selama perjalanan menuju laboratorium menggunakan sterofom dengan es batu untuk mempertahankan suhu dingin. Pengerjaan isolasi segera dilakukan segera setelah sampel sampai di laboratorium.

4.4.2 Isolasi Bakteri

A. Isolasi bakteri tanah dilakukan dengan cara :

- Sampel tanah pada tiap botol dihomogenasi
- Sebanyak 10 gram sampel tanah diambil dari tiap botol sampel dan dicampur dalam satu botol sampel baru.
- campuran sampel tanah dihomogenasi
- diambil 10 gram sampel homogen dan disuspensikan ke dalam 90 ml aquades.

- sampel dikocok sampai homogen dan diendapkan sampai terbentuk lapisan air dan endapan tanah.
- diambil 1 ml fase air, dan dilakukan pengenceran bertingkat sebagai pengulangan.
- dilakukan kultur pada medium agar dengan metode pour plate. Medium yang digunakan divariasikan berdasarkan pH dan salinitas hasil survei, sehingga terdapat variasi sebagai berikut :
 - medium A : pH 7 salinitas 4
 - medium B : pH 7 salinitas 10
 - medium C : pH 9 salinitas 4
 - medium D : pH 9 salinitas 10
- masing-masing medium dilakukan pengulangan dengan pengenceran berbeda.
- diinkubasi pada suhu ruang selama 2 hari
- dilakukan pengamatan terhadap morfologi tiap-tiap koloni yang tumbuh.

B. Isolasi bakteri dari sampel air dilakukan dengan cara :

- Diambil 10 ml sample air pada tiap-tiap botol sample dan dicampur pada botol sample baru.
- Campuran tersebut dikocok sampai homogen
- Diambil 1 ml dan diencerkan secara bertingkat sampai... kali pengenceran
- Masing-masing pengenceran dikultur pada medium sebagai pengulangan
- Medium yang digunakan divariasikan seperti pada medium kultur mikroba tanah.

C. Pemurnian Isolat Bakteri

- Masing-masing isolat bakteri yang tumbuh pada medium, dipindah pada NA (agar miring) dalam tabung reaksi.
- dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh isolat murni untuk tiap-tiap koloni.

D. Kultur pada Medium Spesifik

- Medium pectin dibuat dengan cara mendidihkan campuran bahan-bahan medium spesifik, selanjutnya dituang pada cawan petri dan dibiarkan membeku
- Tiap-tiap isolat ditanam pada medium spesifik dengan metode streak.
- Diinkubasi pada suhu kamar selama 2 hari
- Dilakukan pengamatan terhadap bidang hambat yaitu daerah transparan di sekitar koloni
- Koloni yang memiliki daerah hambat, selanjutnya diidentifikasi untuk menentukan genus.

4.4.3 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui genus bakteri pectinolitik yang berhasil diisolasi dari sedimen dasar dan air tambak. Menurut Benson (2002), uji – uji yang perlu dilakukan adalah dilakukan adalah :

1. Uji Morfologis

Uji morfologis dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bentuk, ukuran, tekstur, dan warna koloni. Uji morfologis secara makroskopis dilakukan

dengan melihat bentuk dan warna koloni yang dihasilkan, sedangkan uji morfologis secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pengecatan Gram dengan prosedur menurut Chusniati (2002), yaitu :

- a. Mengambil satu *nodle* dari setiap jenis koloni dari media isolasi
- b. Membuat pengulasan film dan dibiarkan kering.
- c. Ditetesi dengan gentian violet 2-3 tetes dan dibiarkan selama 1 menit.
- d. Larutan gentian violet dibuang lalu cuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- e. Ditetesi dengan larutan iodium lugol 2-3 tetes, dibiarkan selama 1menit.
- f. Larutan iodium lugol dibuang lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- g. Ditetesi dengan alkohol aceton 2-3 tetes dan dibiarkan selama 30 detik.
- h. Alkohol aceton dibuang lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- i. Ditetesi dengan Safranin 2-3 tetes dan dibiarkan selama 2 menit.
- j. Safranin dibuang lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan.
- k. Diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x dan bantuan minyak emersi. Sel yang telah terwarnai bersifat gram positif jika sel berwarna biru gelap atau ungu dan bersifat gram negatif bila sel berwarna merah.
- l. Pengamatan juga dilakukan terhadap bentuk bakteri.

2. Uji Motilitas

Uji Motilitas dilakukan untuk mengetahui pergerakan bakteri. Prosedur yang harus dilakukan menurut Santoso (2000) adalah :

- a. Satu nodle dari tiap jenis koloni dalam media isolasi diinokulasikan dengan cara tusukan ke dalam media SIM.
- b. Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 - 48 jam.

Bakteri bersifat motil ditandai dengan pertumbuhan pada media tampak seperti akar pohon cemara terbalik, apabila bakteri hanya tumbuh pada tempat tusukan maka bakteri tersebut bersifat non motil.

3. Uji Fisiologis

a. Uji Gula – gula

Uji Gula – Gula meliputi Uji Glukosa, Uji Lactosa, Uji Dextrosa, Uji Sukrosa, Uji Sakarosa, dan Uji Maltosa. Uji ini berfungsi untuk mengetahui adanya fermentasi gula atau karbohidrat oleh bakteri. Prosedur pelaksanaan Uji Gula – Gula menurut Santoso (2000) adalah :

- Mengambil sedikit bakteri dari media biakan isolasi untuk diinokulasikan ke dalam media Uji Gula – Gula
- Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 jam.

Uji dikatakan positif jika terjadi perubahan warna pada media uji dari merah ke kuning dan uji dikatakan negatif jika tidak terjadi perubahan warna.

b. Uji Urea

Uji Urease digunakan untuk mengetahui produksi enzim urease. Prosedur yang harus dilakukan menurut Santoso (2000) adalah :

- Satu nodle dari media biakan isolasi digoreskan pada permukaan agar miring medium Urea
- Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 jam.

Uji dikatakan positif jika terjadi perubahan warna medium dari putih menjadi merah dan dikatakan negatif jika tidak terjadi perubahan warna.

c. Uji Sitrat

Uji Sitrat digunakan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri menggunakan asam sitrat sebagai sumber karbon untuk metabolisme. Prosedur yang harus dilakukan menurut Santoso (2000) adalah :

- Satu nodle dari media biakan isolasi diambil kemudian digoreskan pada permukaan agar miring medium Citrat
- Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 jam.

Uji dikatakan positif jika terjadi perubahan warna medium dari hijau menjadi biru.

d. Uji Manitol

Prosedur yang harus dilakukan adalah :

- Satu nodle dari media biakan isolasi ditusukkan kedalam Manitol Agar.
- Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 jam.

Uji dikatakan positif jika terjadi perubahan warna dari merah menjadi kuning.

e. Uji Indol

Uji Indol dilakukan untuk mengetahui produksi indol dari tryptophane.

Prosedur yang harus dilakukan menurut Santoso (2000) adalah :

- Satu nodle dari media biakan isolasi ditusukkan ke dalam SIM Agar secara tegak
- Menginkubasi pada suhu 25 – 30°C selama 24 jam.

Uji dikatakan positif jika terbentuk cincin merah setelah ditetesi dengan reagen Covacs dan diberi chloroform

f. Uji TSIA

Uji TSIA digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri memfermentasikan glukosa, laktosa dan sukrosa serta untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi H₂S. Prosedur yang harus dilakukan menurut Santoso (2000) adalah:

- Satu nodle dari media biakan isolasi digores pada permukaan agar miring media TSIA dan ditusukkan secara tegak ke dalam Agar
- Menginkubasi pada suhu 28⁰C selama 24 jam.

Jika terbentuk warna kuning pada bagian bawah medium TSIA berarti bakteri memfermentasikan glukosa, sebaliknya jika terbentuk warna kuning pada bagian bawah dan atas berarti bakteri memfermentasikan glukosa dan sukrosa. Bakteri memfermentasikan laktosa ditandai dengan warna kuning pada bagian atas medium TSIA. H₂S dikatakan positif jika terbentuk warna hitam, media yang pecah terangkat menunjukkan terbentuknya gas.

Pengenalan spesies setelah dilakukan uji – uji diatas berdasarkan Bergey's Manual of Determinatif Bacteriology (Cappucino and Sherman, 1983).

BAB V**HASIL DAN PEMBAHASAN****5.1 Data Kualitas Air**

Hasil pengukuran kualitas air tambak lokasi pengambilan sampel tanah dan air disajikan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Data Kualitas Air Tambak Tempat Pengambilan Sampel Tanah dan Air

No	Tempat		Kualitas Air					Keterangan
			Warna	PH	DO (mg/l)	Suhu (°C)	Salinitas (ppm)	
1.	GRESIK	Morowudi	Hijau	7	6,8	26	3	p
2.		Cerme	Coklat Kekuningan	7,5	2,5	26	1	p
3.		Suci	Hijau Kecoklatan	8	1,6	27	1	p
4.		Betoyo	Hijau Kecoklatan	8	6,6	33,5	15	s
10.		Pantura	Hijau Coklat Kekuningan	9	5,8	36	10	s
5.	LAMONGAN	Glagah	Hijau	10	7,4	32,5	0	s
6.		Dinoyo 1	Hijau Muda	9	6,8	34	0	sr
7.		Dinoyo 2	Hijau	10	7,6	34	0	sr
8.		Raya Lamongan 1	Hijau Kekuningan	9	6,7	31,9	0	sr
9.		Raya Lamongan 2	Coklat kekuningan	10	7,1	36,1	0	sr

Keterangan :

- p : waktu pengukuran pagi
s : waktu pengukuran siang
sr : waktu pengukuran sore

Hasil pengukuran kualitas air menunjukkan warna perairan berkisar antara hijau, hijau kekuningan sampai kecoklatan. Tidak terdapat perairan tambak yang berwarna hijau pekat. Kondisi ini mengindikasikan tidak terjadi dominansi yang tinggi dari alga hijau biru (*Cyanophyceae*). Namun demikian, keadaan ini sudah mengakibatkan bau tanah pada ikan, terutama pada akhir musim kemarau (berdasarkan wawancara dengan pemilik tambak, seperti saat penelitian ini

dilaksanakan). Hal ini diduga karena kelimpahan alga *Cyanophyceae* sudah berada pada ambang yang mengakibatkan bau tanah pada ikan, walaupun dominansinya tidak tinggi. Selain itu, kemungkinan sedang terjadi suksesi plankton pada air tambak pada saat pengukuran dilakukan.

Nilai pH berkisar antara 7 – 10. Nilai pH antar lokasi cenderung variatif. Hal ini diduga berhubungan dengan variasi kondisi tanah dasar yang sangat bervariasi pula, mulai dari sangat liat, berbahan organik tinggi, sampai dengan sangat porus dan berkapur. Namun, pada penelitian ini tidak diamati hubungan antara pH dengan kondisi tanah dasar. Menurut Trisyani (1997), perairan pada tanah berkapur cenderung memiliki pH tinggi, karena kadar CaCO_3 dalam perairan juga tinggi. Menurut Davis (1955), pH yang tinggi menunjang kelimpahan alga *Cyanophyceae*, sedangkan Prescott (1968) berpendapat bahwa, mayoritas alga *Cyanophyceae* hidup pada pH tinggi. Dari gambaran di atas, maka nilai pH di lokasi pengambilan sampel berada pada kisaran yang layak untuk mendukung pertumbuhan alga, khususnya alga *Cyanophyceae*.

Nilai oksigen terlarut (DO) juga bervariasi, namun cenderung tinggi. Tingginya kandungan oksigen diduga karena tingginya kelimpahan phytoplankton dan pengukuran pada sebagian lokasi dilakukan pada siang hari sehingga produksi oksigen sedang maksimal. Didukung pula, penelitian ini dilakukan pada musim kemarau, sehingga intensitas sinar matahari mulai dari pagi sampai sore sangat tinggi. Kegiatan fotosintesis untuk menghasilkan oksigen juga tinggi.

Salinitas bervariasi antara 0 – 15 ppm, dan sebagian besar adalah rendah bahkan nol. Menurut Davis (1955), alga *Cyanophyceae* mampu hidup pada salinitas rendah sampai tinggi. Rendahnya salinitas perairan pada tambak lokasi pengambilan

sampel lebih dikarenakan faktor geografis yang jauh dari laut, sehingga sumber air berasal dari sungai dan tadah hujan.

5.2. Isolasi Bakteri

Sampel air dan tanah ditanam pada media pectin untuk menumbuhkan jenis-jenis bakteri yang ada. Hasil tahapan ini disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 5.2. Jenis-jenis Koloni Bakteri yang Tumbuh dari Penanaman Sampel Air dan Tanah.

NO	Sumber bakteri	Nomor koloni yang tumbuh
I	Sedimen	
	1. Ph 7 sal 4 (1)	1,2,3,4,6,7,8,10,13,15,23
	2. ph 7 sal 4 (2)	1,24,29
	3. ph 7 sal 10 (1)	2,4,7,9,14,15,17,19,29
	4. ph 7 sal 10 (2)	5,15,18,19,22,24,29
	5. ph 9 sal 4 (1)	1,3,9,10,15,19,24,25,26,27,29,30
	6. ph 9 sal 4 (2)	24,26,29,30
	7. ph 9 sal 10 (1)	9,18,19,22,23,24,29
	8. ph 9 sal 10 (2)	7,9,10,15,19,21,29
II	Air	
	1. Ph 7 sal 4 (0)	1,2,3,4,6,7,10,13,28,29
	2. ph 7 sal 4 (1)	2,5,6,7,8,9,10,11,13,16,21,22
	3. ph 7 sal 10 (0)	10,11,13,14,15,16,17,29
	4. ph 7 sal 10 (1)	1,6,10,13,17,18,19,29
	5. ph 9 sal 4 (0)	1,3,4,20,21,22,28,29,31
	6. ph 9 sal 4 (1)	1,4,6,8,15,17,23,29
	7. ph 9 sal 10 (0)	1,4,5,15,22,26,29
	8. ph 9 sal 10 (1)	1,7,19,24,29

Keterangan :

Sumber bakteri :

- 0 : pengenceran 0 kali
- 1 : pengenceran 10 kali
- 2 : pengenceran 100 kali

Nomor koloni yang tumbuh :

- 1,2,3....31 : membedakan dugaan jenis-jenis koloni yang tumbuh

Dari hasil penanaman tersebut, dapat diketahui bahwa dugaan jenis bakteri yang terdapat pada air dan tanah tambak sangatlah banyak. Selain itu, tidak terdapat perbedaan jenis spesifik antara bakteri yang tumbuh di air maupun di tanah. Artinya, bakteri yang tumbuh di tanah, juga dapat tumbuh di air. Untuk tujuan penggunaan sebagai probiotik lingkungan, hal ini sangat menguntungkan karena mikroba probiotik harus mampu hidup secara merata terutama pada stratifikasi badan air tempat organisme yang dituju untuk dihambat pertumbuhannya hidup (Martin, 2002). *Microcystis* sp. bersifat kosmopolitan sehingga dapat hidup merata pada badan air (Saain, 1990). Walaupun sebenarnya *Microcystis* sp.. merupakan plankton bersel tunggal yang hidup melayang di bawah permukaan air, namun karena membentuk koloni dengan perantara gel yang menutup sel, maka dapat berada pada kedalaman air yang lebih tinggi (lebih dalam) karena faktor berat jenis. Bahkan, bila koloni terbentuk dari banyak sel, dapat membentuk semacam lapisan pada dasar perairan (Jianzong, *et. al*, 2004).

Nilai pH dan salinitas pada media tumbuh dikondisikan variatif sesuai nilai hasil survei. Hal ini ditujukan untuk mengetahui apakah ada jenis-jenis bakteri yang mungkin tumbuh spesifik pada kondisi pH dan salinitas tertentu. Dari hasil pengamatan diketahui bahwa jenis-jenis bakteri yang tumbuh sangat acak, artinya tidak terdapat spesifikasi jenis bakteri yang tumbuh pada salinitas dan pH tertentu. Sehingga pada tahap selanjutnya, nilai pH dan salinitas tidak divariasikan, namun menyesuaikan kondisi media tumbuh yang ada. Dan diketahui bahwa, semua isolat dapat tumbuh. Menurut Andriyani (2005), bakteri-bakteri lingkungan perairan, umumnya memiliki toleransi terhadap salinitas dan pH sangat luas. Sehingga dapat tumbuh pada berbagai kondisi dan tersebar luas di perairan. Kondisi ini juga menguntungkan untuk tujuan pembuatan probiotik, karena bakteri akan lebih tahan

hidup dan berkembang pada kisaran pH yang luas, sehingga memudahkan penggunaannya di lapang. Sesuai pendapat Martin (2002) yang menyatakan bahwa sebelum ditetapkan sebagai probiotik, mikroorganisme harus melalui tahap screening terhadap goncangan kualitas air (termasuk pH), karena perairan terbuka merupakan daerah yang rentan terhadap terjadinya perubahan kualitas akibat banyaknya faktor yang mempengaruhi.

Setelah melalui tahapan isolasi sehingga tiap jenis koloni diatas menjadi isolat tunggal, maka dilakukan penanaman pada medium pectin ekstrim dan dilanjutkan pengamatan morfologis dan fisiologis. Dari tahapan ini diperoleh data morfologi koloni bakteri seperti pada Tabel 5.3. dan hasil uji fisiologis pada Tabel 5.4.

Tabel 5.3. Karakteristik morfologis isolat bakteri yang diduga pectinolitik dari tambak Lamongan dan Gresik

NO	Isolat Bakteri	Karakteristik koloni					Karakter sel	
		Bentuk	Warna	Struktur dalam	Tepi	Elevasi	Bentuk	Gram
1.	P2	Tak beraturan dan menyebar	Krem kekuningan		Berlekuk	Timbul	Cocoid	Negatif
2.	P4	Bundar	Putih		Rata	Cembung	Coccus	Positif
3.	P5	Bundar	Transparan		Licin	Berbukit - bukit	Cocoid	Negatif
5.	P9	Tak beraturan dan menyebar	Krem		Berombak	Datar	Micrococcus	Negatif
6.	P19	Tak beraturan dan menyebar	Krem	Transparan	Berlekuk		Batang pendek	Negatif
7.	P25	Bundar	Krem		Sperti ikal rambut	Datar	Batang	Positif
8.	P26	Bundar	Krem		Berlekuk	Datar	Coccus	Positif
9.	P27	Bundar dengan tepi timbul	Krem		Berlekuk	Datar	Coccus	Positif

Tabel 5.4. Hasil uji fisiologis bakteri pectinolitik dari tambak Lamongan dan Gresik.

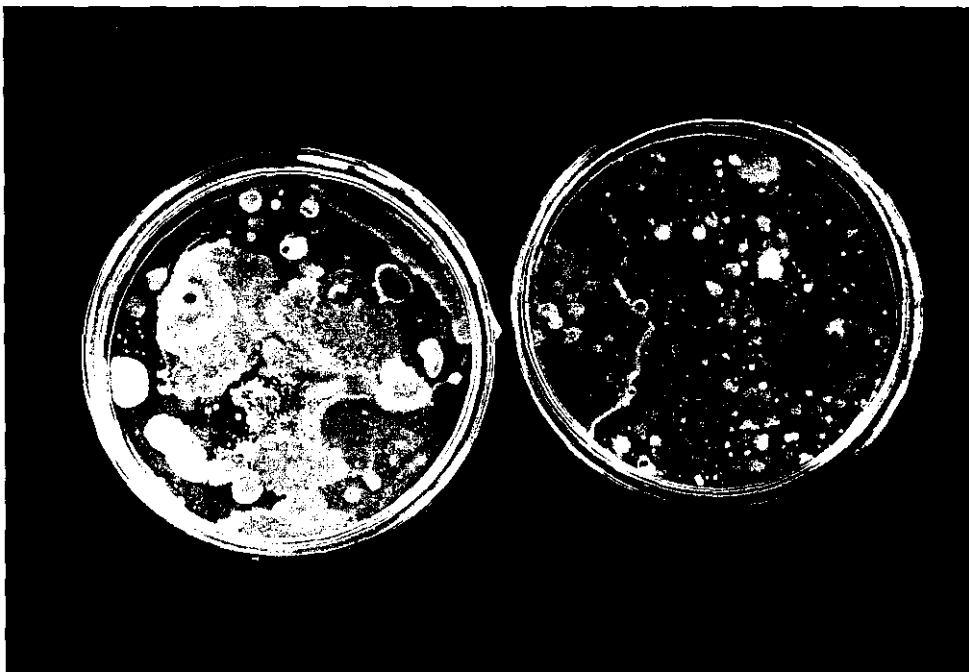
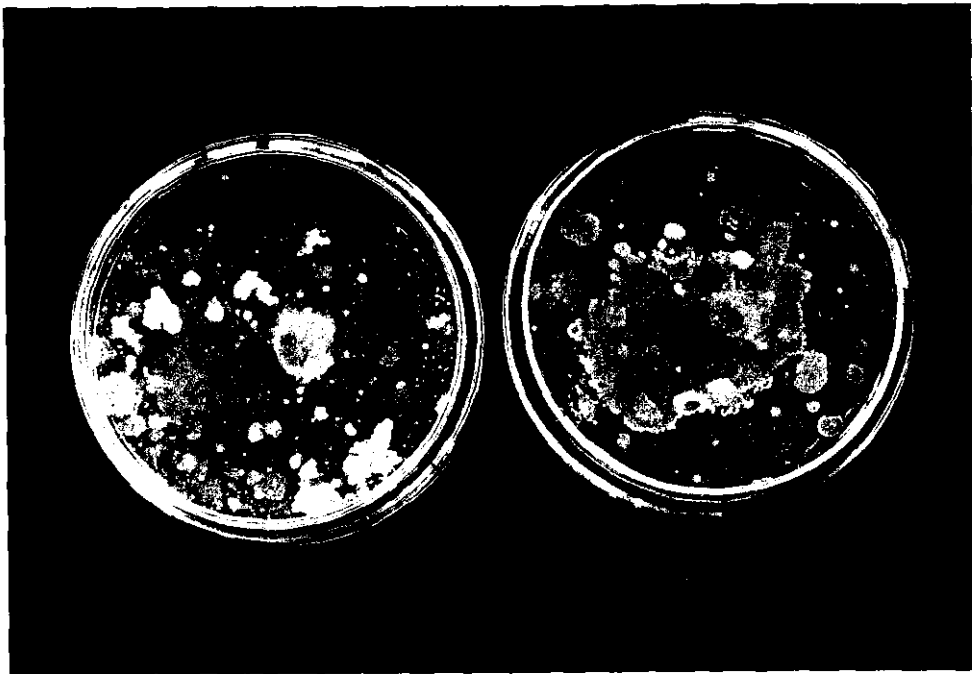
Isolat	Gram	Bentuk	Oksidase	Katalase	O/F (Media NB)	SIM	Media NA	Genus
P2	-	Cocoid	+	+ K	O (+)	-	Fakultatif	Flavobacterium
P4	+	Coccus	+	+ K	O (+)	-	Aerob	Micrococcus
P5	-	Cocoid	+	+ K	O (+)	-	Fakultatif	Flavobacterium
P9	+	Mikrococcus	+	+ K	O (+)	+	Fakultatif	Mikrococcus
P19	-	Batang pendek	+	+ K	O (+)	+	Fakultatif	Pseudomonas
P25	+	Batang	+	+ L	O (+)	+	Fakultatif	Bacillus
P26	+	Coccus	+	+ L	O (+)	+	Aerob fakultatif	Mikrococcus
P27	+	Coccus	+	+ L	O (+)	+	Aerob fakultatif	Mikrococcus

Hasil yang diperoleh dari isolasi dan identifikasi bakteri pectinolitik asal tanah dan air tambak Lamongan dan Gresik, diperoleh 4 genus yaitu *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* dan *Bacillus*. Keempat genus tersebut menunjukkan sifat pectinolitik karena menunjukkan adanya bidang hambat di sekitar koloni pada medium pectin. Sehingga diduga bakteri tersebut mampu mengekspresikan enzim pectinolitik yang memecah pectin menjadi galacturonic acid.

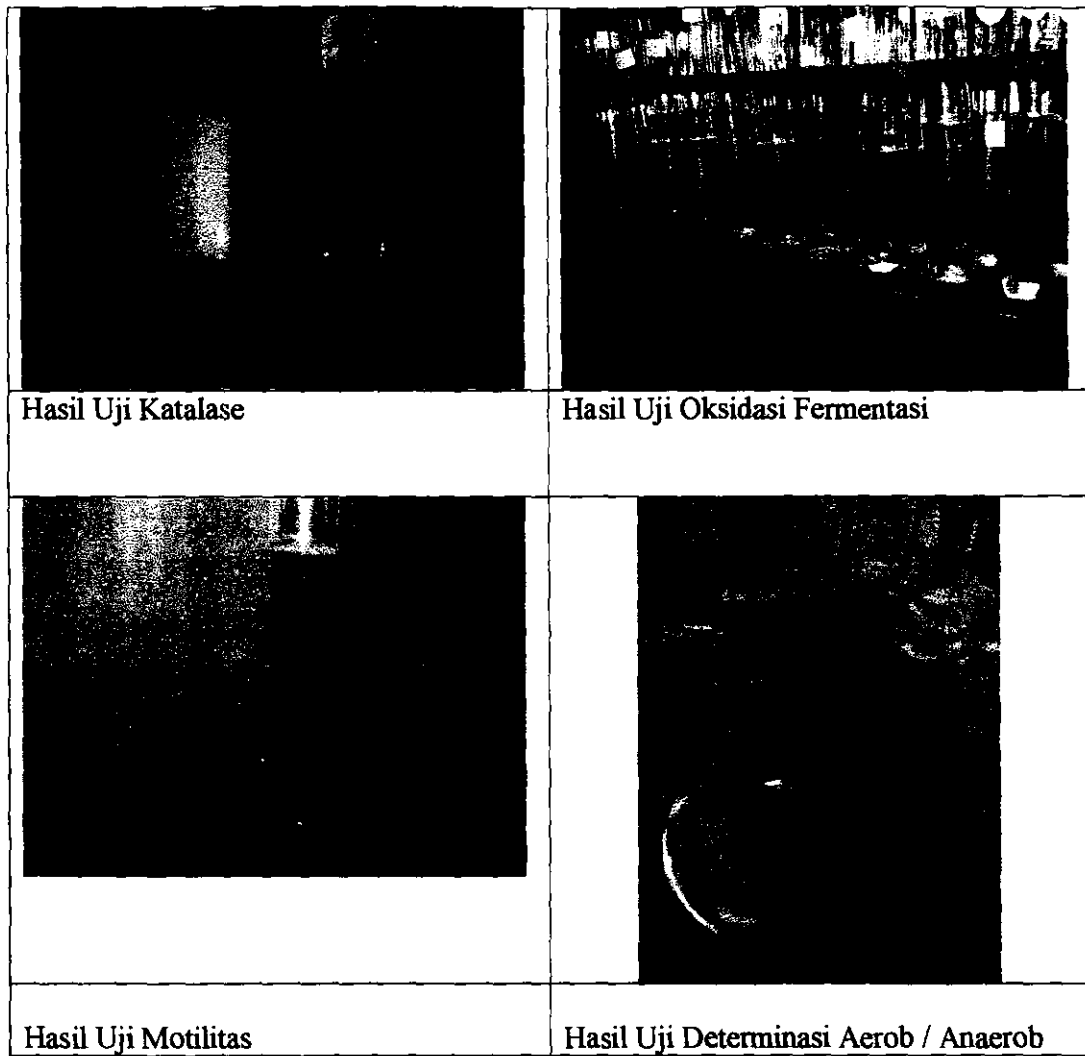
Beberapa spesies dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* telah diketahui digunakan sebagai probiotik. Beberapa genus *Pseudomonas* dari sampel air estuarin telah diisolasi oleh Chynthanya *et.al.* (2002) sebagai bahan probiotik untuk mengendalikan *Vibrio harveyi*, *V. fluvialis*, *V. parahaemolyticus*, *V. damsela* dan *V. vulnificus*, namun belum diuji secara *in vivo*. Moriarty (1998) mengisolasi *Bacillus* sebagai probiotik untuk menekan pertumbuhan *Vibrio sp.* yang menyerang udang penaeid. Sugita *et. al.* (1998) mengisolasi *Bacillus sp.* NM12 dari intestine *Callionymus sp.* sebagai probiotik untuk menekan *V. vulnificus* RIMD 2219009 namun belum diuji secara *in vivo*. Rengpipat *et. al.*(1998) dan Meunpol *et. al.* (2002) mengisolasi *Bacillus sp.* S11 dari lumpur dan air tambak udang untuk menekan

pertumbuhan *V. harveyi* D331 yang menyerang *P. monodon*. Sedangkan Vaseeharan and Ramasamy (2003) mengisolasi *B. subtilis* BT23 untuk menekan *V. harveyi* yang menyerang *P. monodon*.

Flavobacterium dan *Micrococcus* belum diketahui digunakan sebagai probiotik dalam budidaya perairan, namun demikian, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi dan patogenitasnya. Penggunaan bakteri sebagai bahan probiotik harus melalui serangkaian uji baik ketahanan terhadap lingkungan, antibiotik maupun uji patogenitasnya terhadap ekosistem perairan (Suprpto, 2005; Susanto, dkk., 2005; Muliani, dkk., 2005; Martin, 2002). Hal ini disebabkan bakteri yang digunakan sebagai agen pengendali hayati mempunyai jenis yang sangat bervariasi dan sangat strain spesifik. Walaupun bakteri dari isolat yang sama, potensi untuk dijadikan agen pengendali hayati dapat sangat berbeda atau bahkan dapat bersifat kebalikan. Suatu strain dapat dijadikan sebagai bahan probiotik, tetapi strain yang lain dalam spesies tersebut mungkin tidak mempunyai kemampuan yang sama sekali sebagai pengendali hayati terhadap patogen yang sama. Selain itu, strain dari suatu spesies mungkin dapat bersifat patogen, tetapi strain lain dari spesies tersebut dapat digunakan sebagai probiotik. Sebagai contoh, dalam Isnansetyo (2005), *V. alginolyticus* dapat digunakan sebagai agen pengendali hayati dalam budidaya *Salmon salar*, *P. monodon* dan udang *Vannamei*, namun strain lain dari *V. alginolyticus* diketahui bersifat patogen dalam kultur *Artemia* dan *Spirulina costatum*.



Gambar 5.1. Beberapa Jenis Koloni Tumbuh pada Media Agar



Gambar 5.2 Beberapa Hasil Uji Fisiologis

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Bakteri pectinolitik yang berhasil diisolasi dari air dan tanah tambak Lamongan dan Gresik terdiri dari 4 genus, yaitu *Pseudomonas* (1 isolat), *Bacillus* (1 isolat), *Flavobacterium* (2 isolat) dan *Micrococcus* (4 isolat).

6.2. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui spesies masing-masing isolat dan uji potensi, ketahanan dan patogenitas terhadap lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2005. Media Recipes.
<http://www.micro.utexas.edu/research/utex/old/medrec.htm>.
- Abercrombie, M.dkk. 1993. Kamus Lengkap Biologi. Erlangga. 668 hal.
- Andriyani, N.,1995. Daya Hambat Ekstrak Tike (*Eleocharis dulcis*) Hensel Terhadap Pertumbuhan Populasi Alga Biru Hijau *Microcystis aeruginosa* Kuetz dan Alga Hijau *Chlorella pyrenoidosa* Chick. Aster ThesesJBPTITBBI. Departemen Biologi. ITB.
- Aulanni'am. Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press.
- Avault, J.W. 1996. Off Flavor of Chanel catfish Soem fundamentals Reveiuwed. Aquaculture 22 : 6.
- Ball, A.S. Williams M., Vincent D. And Robinson J. 2001. Algal Growth Control by Barley Straw Extract. Bioresour. Technol. 77:177-181.
- Barret P.R.F., Curnow J. And Little John J.W. 1996. The Control of Diatom and Cyanobacterial Blooms in Reservoirs Using Barley Straw. Hydrobiol. 340:307-311.
- Bekri, M, A., J. Desair., V. Keijers., P. Proost., M. S. Leeuwen., J. Vanderleyden and A. Broek. 1999. *Azospirillum irakense* Produces a Novel Type of Pectate Lyase. Journal of Bacteriology 181(8) : 2440 – 2447.
- Benson, H. 2002. Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology Eight Edition. Pasadena City College. 478 p.
- Boyd, C.E. 1979. Water Quality in Warmwater Fish Ponds. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Auburn. Alabama. USA.
- Cappuccino, J, G., N. Sherman. 1983. Microbiology : A Laboratory Manual. Addison Wesley Publishing Company. 465p.
- Chusniati, S., D. Handijatno., R. Kusdarwati., Sudarno. 2002. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Program S1 Budidaya Perairan Fakultas Kedokteran Hewan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Universitas Airlangga. 53 hal.
- Doran, J. Final Report For Screening of *Aspergillus niger* Strains for Enzyme Production in Sugar Beet Pulp Fermentations to Produce Fuel Ethanol. Central Michigan University. 5 p.

- Edwards, V.A. 2005. Managing Cyanobacteria. <http://www.alken-murray.com/Cyanobacteria.htm>
- Front, J. and V. Horiyck. 1994. Sites of Uptake of Geosmin, a Cause of Early-Flavor in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 41:1224-1226.
- Gerber, N.N. 1979. Odorous Substances from Actinomycetes. Society for Industrial Microbiologist, Arlington. Virginia.
- Gatesoupe, F.J. 1999. The Use of Probiotics in Aquaculture. *Aquaculture* 180:147-165.
- Gibson M.T., Wslch, I.M., Barret P.R.F. and Ridgel. 1990. Barley Straw as an Inhibitor of Algal Growth II. Laboratory Studies. *J.Appl. Phycol.* 2.241-248.
- Gonzales, E.T., and C. Allen. 2003. Molecular Plant Microbe Interaction 16 (6) : 536 – 544.
- Hameed, A.S.S. 1995. Susceptibility of Three *Penaeus* Species to a *Vibrio campbelli*-like bacterium. *J. World Aqua. Soc.*, 26:315-319.
- Harding W.R. and Plaxon B. 2001. Cyanobacteria in South Africa. A Review. W.R.C. Report No; TT 153/01.
- Haryanti., G. N. Permana., S. B. Moria., N. A. Giri dan K. Sugama. 2002. Penggunaan Bakteri Probiotik *Alteromonas* sp. BY – 9 Dalam Pemeliharaan Larva Udang Melalui Pakan Alami dan Buatan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia VIII*, 5 : 55 – 66.
- Hoiczky, E. dan A. Hansel. 2000. Cyanobacterial Cell Walls : News From an Unusual Prokaryotic Envelope. *J. Bacteriol*, 182 (5) : 1191 – 1199.
- Irianto, A. 2003. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press. 125 hal.
- Isnansetyo, A. 2005. Bakteri Antagonis sebagai Probiotik untuk Pengendalian Hayati pada Aquaculture. *Jurnal Perikanan VII* (1): Februari 2005.
- Isnansetyo, A. dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Penerbit Kanisusu. Yogyakarta.
- James, D. and D. Ottey. 1996. Biological Principles of Pond Culture Fish. Oregon State University. Corvallis. Oregon.
- Jianzhong C, Z Liu and G. Ren. 2004. Control of *Microcystis aeruginosa* with batangas mandarin skin and dwarf banana peel. *Water S.A J.* 30(2)279-282.

- Kastitonif. 2002. Muddy Smell. *Majalah Mitra Bahari*. Tahun VII Nomor 2/2002.
- Kennedy, S. 2002. Final Report : Probiotics to Increase Shellfish Hatchery Production. Pacific Shellfish Institute. Olympia, WA.
- Kowalski, R. 2003. Gelatinolytic and antitripsin Activities in Seminal Plasma of Common Carp. *Aquatic Living Source*. Elsevier. 16 (2003) 438-444
- Kumar, H. D., and H. N. Singh. 1982. A Text Book On Algae Third Edition. Affiliated East – West Press Pvt Ltd. New Delhi.
- Lelana, I.Y.B. 1993. Geosmine and Flafor in Channel catfish. Doctoral Disertation. Auburn University. Auburn. Alabama. USA.
- Lovell, R.T.1999. Flavor problem in Fish Culture *in* T.V.R. pillay and W.M. A. Dill. *Advances in Aquaculture*. Fishing News Books Ltd. Farnham. Surrey. England.p.186-190.
- Lowell, T. and L.A. Sackey. 1973. Absorption by Channel Catfish of Earty-Musty Flavor Compounds Synthesized by Cultures of Blue Green Alga. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 102:774-777
- Manage, P., Z.E. Kawabata and S. Nakano. 2000. Algacidal Effect of The Bacterium *Alcaligenes denitrificans* on *Microcystis* spp. *Aquat Microb Ecol.* 22:111-117
- Mason CF. 1999. *Biology of Fresh Water Pollution*. 3rd eds. Longman. Essex
- Moriarty, D, J, W. 1998. Control of Luminous *Vibrio* Species in Penaeid Aquaculture Ponds. *Aquaculture* 164 :351 – 358.
- Muliani, Nurhidayah dan M. Atmomarsono. 2005. Karakterisasi, Analisis Gen 16S-rRNA Bakteri BL542 dan Evaluasi Efek Bakterisidanya terhadap *Vibrio harveyi* Penyebab Penyakit Udang pada Udang Windu. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11 : 1
- Nganro, N.R., I.N.P. Arvantha, P. Adistiawati dan D.I. Astuti. 1997. Pengembangan Paket Produk Probiotik Bakteri Penghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen *Vibrio* pada Budidaya Tambak Udang. Departemen Biologi. Institut Teknologi Bandung.
- NOSB Materials Database. 1999. *Enzymes, Plant and Fungal Processing*. 11 p.
- Oberholster P.J., Botha and Grobbelaar. 2004. *Microcystis aeruginosa* : Source of Toxic Microcystins in Drinking Water. *African Journal of Biotechnology* 3(3); 159-168

- Paerl, H, W. 1998. Growth And Reproductive Strategies Of Fresh Water Phytoplankton. Cambridge University Press. pp.261 – 315.
- Person, P.E. 1999. The Source of Muddy-Odor in Bream (*Abramis brama*) from the Porvoo Sea area. *Journal of The Fisheries Research Board of Canada*. 36:883-890.
- Poernomo, A. 2004. Teknologi Probiotik Untuk Mengatasi Permasalahan Tambak Udang dan Lingkungan Budidaya. Makalah Seminar The National Symposium on Development and Scientific and Tecnology Innovation in Aquaculture, Semarang, 27 – 29 Januari 2004. 24 hal
- Pribadi, J. 2002. Probiotik Dalam Budidaya Udang. *Majalah Mitra Bahari Edisi VII (3)* : 140 – 147.
- Ridge I. and Pillinger J.M. 1996. Towards Understanding The Nature of Algal Inhibitors of Barley Straw. *Hydrobiol.* 340.301-305.
- Ridge I., Pillinger J.M. and Walters J. 1995. Alleviating The Problems of Excessive Algal Growth. In: DM. Harper and A.J.D. Ferguson (eds). *The Ecological Basis for River Management*. John Wiley Chichester. 211-218
- Rodina, A.G. 1972. *Methods In Aquatic Microbiology*. University Park Press. Baltimore. Butterworths. London. pp. 85 -148.
- Saanin, 1990. *Planktonologi*. Jurusan Perikanan. Fakultas Peternakan dan Perikanan. Institut Pertanian Bogor.
- Sachlan, M. 1981. *Planktonologi*. Fakultas Peternakan dan Perikanan Universitas Diponegoro.
- Sackey, G.L. 1973. *Authrotopic and Heterotropic Production of Microorganism in Untensely Manured Fish Pond and Related Fish Yield*. Houghton miffilin Company. Boston.
- Saidi, D. 2002. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Selulolitik dan Pelarut Fosfat dari Andisol Sebagai Agensia Pupuk Hayati. *Habitat XIII (4)* : 201 – 211.
- Santoso, S,B. 2000. Isolasi dan Identifikasi *Vibrio* sp. dari Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang Dipelihara di Tambak Tradisional dan Intensif di Kabupaten Lamongan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.54 hal.
- Schlegel, H, G. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gadjah Mada University Press. 688 hal.

- Schroeder, G.L. 1998. Autotropic and Heterotropic Production of Microorganism in Intensely Manured Fish ponds and related Fish yield. *Aquaculture* 14:247-260.
- Silalahi, G, A. 2003. *Metodologi Penelitian dan Studi Kasus*. Citra Media. 151 hal.
- Sjofjan, O., Aulani'am., Surisdiarto., A.Rosdiana dan Supriyati. 2003. Isolasi dan Identifikasi *Bacillus* spp. Dari Usus Ayam Petelur Sebagai Sumber Probiotik. *Jurnal Ilmu – Ilmu Hayati.*, 15 (2) :153 – 167.
- Smith, L. 1993. *Introduction to Fish Physiology*. T.F.H. Publications. Neptune. New Jersey. USA.
- Song L., Sano T. Li R., Watanabe, Liu Y. Kaya K. 1998. Microcystin Production of *Microcystis viridis* under Different Culture Condition. *J. Phycol* 46:19-23
- Soriano, M. 2000. *Jurnal Mikrobiologi* 146 : 89 – 95.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torrie. 1991. *Principles and Procedures of Statistics. A Biometrical Approach*. International Student Edition. McGraw Hill international Book Company. 633 pp.
- Sugita, H., N. Matsuo, Y. Hirose, M. Iwato and Y. Degushi. 1997. *Vibrio* sp. Strain NM 10 with an Inhibitory Effect Against *Pasteurella piscicida* from The Intestine of Japanese Coastal Fish. *Appl. Environ. Microbiol.* 63(12):4986-4989.
- Suprpto, H. 2005. Studi Pendahuluan *Bacillus* sp sebagai Probiotik untuk Mengurangi Jumlah Bakteri *Vibrio* sp. Pada Hepatopankreas dan Air Pemeliharaan udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal of Fisheries*. VII(1) : 54-59
- Susanto, B., I. Setyadi, D. Syahidah, M. Marzuqi dan I. Rusdi. 2005. Penggunaan bakteri Probiotik sebagai Kontrol Biologi dalam Produksi Massal Benih Rajungan. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11 : 1
- Sutanto, I. dan Suprpto. 2004. Peranan Probiotik Dalam Budidaya Udang Intensif. Makalah Seminar The National Symposium on Development and Scientific and Technology Innovation in Aquaculture, Semarang, 27 – 29 Januari 2004. 22 hal.
- Sze, P. 1993. *A Biology Of Algae Second Edition*. Wm, C, Publishers. pp. 19 – 34.
- Tabachek, J.L. and R.M. Yorkowski. 1996. Isolation and Identification of Blue Green Algae Producing Muddy-Odor Metabolites Geosmin and 2-methyl isoborneol in Saline Lakes in Manitoba. *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. 33:25-35.

- Tan – Kersten, J., Y. Guan and C. Allen. 1998. *Ralstonia solanacearum* Pectin Methylesterase Is Required for Growth on Methylated Pectin but Not for Bacterial Wilt Virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(12) : 4918 – 4923.
- Tardy, F., W. Nasser., J.R. Baudouy and N. H. C. Pattat. 1997. Comparative Analysis of the Five Major *Erwinia chrysanthemi* Pectat Lyases : Enzyme Characteristics and Potential Inhibitors. *Journal of Bacteriology* 179 (8) : 2503 – 2511.
- Trisyani, N. 1997. Hubungan Antara Kualitas Air Tambak Dan Pertumbuhan Alga Cyanophyceaea Terhadap Citarasa Lumpur Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forskal). Tesis. Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya. Malang. 92 hal.
- Verschuere. L., G. Rombaut., P. Sorgeloos and W. Verstraete. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 655 – 671.
<http://mibr.asm.org/cgi/content/full/64/4/655/T1>
- www.genome.jp. 2005. Database Enzyme Search Term : Pectin.
http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bfind_sub?mode=bfind&max_hit=1000&dbkey=enzyme&keywords=pectin. 4 hal
- www.gettingwell.com. 2002. *Pectin*. http://www.gettingwell.com/drug_info/nmdrugprofiles/nutsupdrugs/pec_0198.shtml. 5 hal
- www. phototour.minneapolis.mn.us. 2002. Candida and Probiotics Summary of Probiotic Strains.
<http://www.phototour.minneapolis.mn.us/candida/summary.html>
- www. textbookofbacteriology.net. 2005. The Genus *Bacillus*.
<http://textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>. 15p.
- Welch M., Barret P.R.F., Gibson M.T. and Ridge T. 1990. Barley Straw as an Inhibitor of Algal Growth I. *Studies in The Chesterfield Canal. J. Appl. Phycol.* 2.231-239.
- Yamamoto Y and Suzuki.1993. Occurrence of Heterothrophic Bacteria causing Lysis of Cyanobacteria in Euthrophic Lake. *J. Phycol* 41:215-220.
- Yukasano, D. 2002. Teknik Mengontrol Mikroba Dalam Budidaya Udang Intensif. *Majalah Mitra Bahari Edisi VII (3) : 140 – 147.*

Lampiran 1. Karakteristik Koloni Bakteri yang berhasil Diisolasi dari Tambak Lamongan dan Gresik

NO	Isolat Bakteri	Karakteristik koloni				
		Bentuk	Warna	Struktur dalam	Tepi	Elevasi
1.	P1	Bundar	Krem kekuningan		Rata	Timbul
2.	P2	Tak beraturan dan menyebar	Krem kekuningan		Berlekuk	Timbul
3.	P3	Bundar	Krem		Rata	Seperti tombol
4.	P4	Bundar	Putih		Rata	Konveks
5.	P5	Bundar	Berpendar biru		Licin	Berbukit - bukit
6.	P6	Bundar	Berpendar	Transparan	Seperti wol	Datar
7.	P7	Bundar	Putih		Licin	Timbul
8.	P8	Tak beraturan dan menyebar	Berpendar biru	Transparan	Berlekuuk	Datar
9.	P9	Tak beraturan dan menyebar	Krem		Berombak	Datar
10.	P10	Bundar	Krem		Berlekuk	Datar
11.	P11	Bundar	Kuning		Rata	Cembung
12.	P13	Bundar	Oranye		Rata	Cembung
13.	P14	Rizoid	Krem		Berlekuk	Timbul
14.	P15	Bundar	Berpendar hijau kebiruan		Rata	Datar
15.	P16	Bundar	Krem		Siliat	Seperti kawah
16.	P17	Bundar	Krem		Berlekuk	Timbul
17.	P18	Tak beraturan dan menyebar	Krem		Tak beraturan	Tumbuh ke dalam medium
18.	P19	Tak beraturan dan menyebar	Krem	Transparan	Berlekuk	Datar

19.	P20	Tak beraturan dan menyebar	Putih susu		Berlekuk	Datar
20.	P21	Bundar dengan tepian menyebar	Putih		Bercabang	Timbul
21.	P22	Keriput	Krem		berlekuk	Berbukit - bukit
22.	P23	Bentuk L	Krem berpendar biru		Berlekuk	Timbul
23.	P24	Bundar	Krem berpendar biru kehijauan		Berlekuk	Datar
24.	P25	Bundar	Krem		Sperti ikal rambut	Datar
25.	P26	Bundar	Krem		Berlekuk	Datar
26.	P27	Bundar dengan tepi timbul	Krem		Berlekuk	Datar
27.	P28	Tak beraturan dan menyebar	Kuning		Berlekuk	Datar
28.	P29	Bundar	Krem berpendar biru kehijauan	Transparan	Licin	Datar