

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. SEBAGAI KANDIDAT
PROBIOTIK DARI HUTAN MANGGROVE DESA MARGASARI
LAMPUNG TIMUR**

(Skripsi)

**Oleh
KOMANG RIMA**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF *Bacillus* sp. AS CANDIDATE PROBIOTICS FROM MANGROVE FOREST EAST LAMPUNG MARGASARI VILLAGE

By

Komang Rima

An intensive shrimp farming has raised various issues such as declining in water quality and invading of various diseases by pathogenic microorganisms causing the death of shrimps. One of solutions to this problem is using probiotic as biological control for instance, collected from mangrove ecosystem, one of which is Lampung Mangrove Centre of Margasari Village East Lampung. The purpose of this research is to obtain *Bacillus* sp. isolated from different samples of the mangrove communities and to characterize them for probiotics use.

One way to obtain bacterial candidate for probiotics is selecting them. From this research, 5 isolate *Bacillus* sp. are obtained and can be used as probiotics, namely KPP212, IP121, UJ131, UJ132, and SB141. Characteristics morphology of probiotic candidate are gram-positive cells and bacilli. From variety test conducted for these probiotic candidate indicate that they are able to hydrolyze proteins, grow at extreme pH (4-10) and at extreme salinity from 0-6% NaCl, and have non-pathogenic activity. From biochemical testing indicates that probiotic from isolates is capable of fermenting sugars, non-motile, and no catalase activity (except isolate UJ132). In antibiotics sensitivity test, isolate *Bacillus* sp., such as, KPP212, UJ131, UJ132, SB141 are sensitive to chloramphenicol, nalidixic acid, ampicillin, and streptomycin but resistant to trimethoprim. While isolate *Bacillus* sp. IP121 is sensitive to trimethoprim and resistant to nalidixic acid, ampicillin, and streptomycin.

Keywords: *Bacillus* sp., mangrove ecosystem, and probiotics

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK DARI HUTAN MANGGROVE DESA MARGASARI LAMPUNG TIMUR

Oleh
Komang Rima

Budidaya udang secara intensif telah memunculkan berbagai masalah seperti penurunan kualitas perairan dan serangan berbagai penyakit oleh mikroorganisme patogen yang berdampak pada kematian udang. Solusi dari permasalahan ini adalah dengan menggunakan probiotik sebagai agen biokontrol. Salah satu sumber diperolehnya bakteri kandidat probiotik adalah dari ekosistem hutan mangrove. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan isolat *Bacillus* sp. dari berbagai sampel biota mangrove tersebut dan karakteristiknya untuk digunakan sebagai probiotik.

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 5 isolat *Bacillus* sp. sebagai kandidat probiotik yaitu KPP212, IP121, UJ131, UJ132, dan SB141 dari sampel biota hutan mangrove Desa Margasari Lampung Timur. Karakteristik morfologi sel isolat yaitu basil dengan sifat gram positif. Pada berbagai uji seleksi menunjukkan seluruh isolat mampu menghidrolisis protein, tumbuh pada uji cekaman pH (4-10), tumbuh pada uji cekaman salinitas dengan NaCl 0-6%, tidak bersifat patogen. Pada pengujian biokimia seluruh isolat mampu memfermentasi gula, non-motil, dan bersifat katalase negatif (kecuali isolat UJ132). Pada uji kepekaan terhadap antibiotik isolat *Bacillus* sp. KPP212, UJ131, UJ132, SB141 sensitif terhadap kloramfenikol, asam nalidiksat, ampicilin, dan trimetoprim namun resistan terhadap streptomisin. Sedangkan isolat *Bacillus* sp. IP121 sensitif terhadap trimetoprim dan resistan terhadap asam nalidiksat, ampicilin, dan streptomisin.

Kata Kunci: *Bacillus* sp., hutan mangrove, dan probiotik

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp. SEBAGAI KANDIDAT
PROBIOTIK DARI HUTAN MANGGROVE DESA MARGASARI
LAMPUNG TIMUR**

Oleh
KOMANG RIMA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

pada
Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI *Bacillus* sp.
SEBAGAI KANDIDAT PROBIOTIK DARI HUTAN
MANGGROVE DESA MARGASARI
LAMPUNG TIMUR**

Nama Mahasiswa : **Komang Rima**

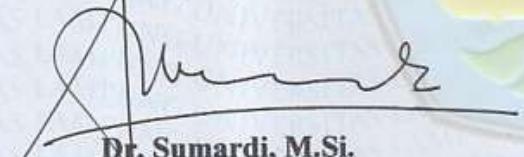
No. Pokok Mahasiswa : **1417021059**

Jurusan : **Biologi**

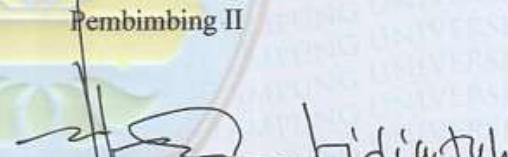
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



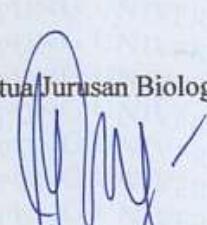
Pembimbing I


Dr. Sumardi, M.Si.
NIP 19650325 199103 1 003

Pembimbing II


Endang Linirin Widiasuti, Ph.D.
NIP 19610611 198603 2 001

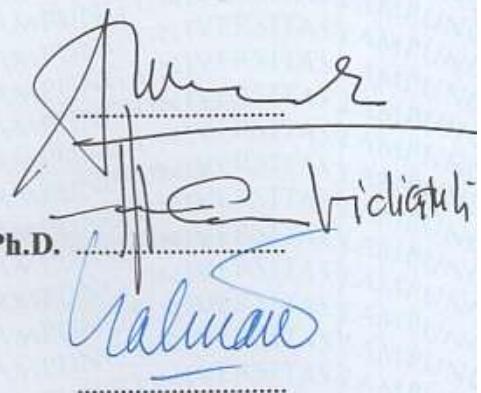
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA


Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Sumardi, M.Si.**



.....
.....
.....

Sekretaris

: **Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.**

Penguji

Bukan Pembimbing : **Ir. Salman Farisi, M.Si.**



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **30 Mei 2018**

RIWAYAT HIDUP



Komang Rima adalah putri dari pasangan Made Duwaste dan Wayan Santi Asih yang lahir di Mulyasari, Kecamatan Negeri Agung, Kabupaten Way Kanan pada tanggal 22 November 1995.

Penulis mengawali pendidikan di SD Negeri 2 Mulyasari pada tahun 2002, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 4 Negeri Agung pada

tahun 2008. Setelah menamatkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama penulis selanjutnya meneruskan pendidikan di SMAN 13 Bandar Lampung pada tahun 2011. Lulus dari Sekolah Menengah Atas penulis kemudian menempuh pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2014 di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten Mikrobiologi Umum, Mikologi, dan Fisiologi Mikroba. Penulis juga aktif berorganisasi dan menjadi anggota Biro Kesekretariatan dan Logistik di HIMBIO (Himpuan Mahasiswa Biologi). Pada masa perkuliahan penulis pernah melaksanakan Karya Wisata

Ilmiah di Desa Sidokaton, Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus selama 7 hari. Penulis juga pernah melaksanakan penelitian dalam Program Kreatifitas Mahasiswa (PKM) dengan judul “Pengaruh Paparan Medan Magnet pada Kefir Susu Kedelai dalam Upaya Menurunkan Kadar Kolesterol LDL pada Tikus *Sprague dawley*” dan “Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Tempoyak sebagai Pengawet Hayati Tahu”. Program Kuliah Kerja Nyata (KKN) penulis laksanakan pada tahun 2017 di Desa Tanjung Harapan, Kecamatan Seputih Banyak, Kabupaten Lampung Tengah selama 40 hari. Penulis juga melaksanakan Kerja Praktik di UPTD Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Provinsi Lampung pada 15 Juli 2017-5 Agustus 2017 dengan judul “Pengujian Bakteri *Salmonella* sp. pada Produk Ikan Tuna di UPTD Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Provinsi Lampung”.

PERSEMBAHAN

*Om Āwighnam Astu Namo Sidham
Om Sidhirastu Tat Astu Swaha*

Puji syukur Sang Hyang Widhi Wasa atas segala berkat-Mu

Saya Persembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta dalam hidup saya

*Kepada Orang tua-ku tercinta yang selalu memberi-ku kasih sayang tulus,
dukungan, semangat, dan doa yang tiada henti*

Bapak-Ibu Dosen atas ilmu pengetahuan dan bimbingannya yang tak ternilai

Saudara dan Sahabat atas dukungan, semangat, dan doa.

dan Almamaterku tercinta.

MOTTO

“*Tat Twam Asi*”
(*Candayoga Upanisad*)

*Tak^luk^kkanlah kemarahan orang lain tanpa kemarahan
Tak^luk^kkanlah penjahat dengan kebaikan
Tak^luk^kkanlah orang yang kikir dengan sifat saling memberi
Tak^luk^kkanlah kebohongan dengan kebenaran*
(*Udyogaparwa* 38. 73-74)

Tidak ada pekerjaan ikhlas yang sia-sia
(Anonymous)

SANWACANA

Puji Syukur Penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. sebagai Kandidat Probiotik dari Hutan Mangrove Desa Margasari Lampung Timur”**. Penelitian ini merupakan bagian dari proyek penelitian Bapak Dr. Sumardi, M.Si. tahun 2018.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
2. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku Pembimbing utama atas bimbingan, bantuan saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
4. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D. selaku Pembimbing kedua atas bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku Pembahas atas bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
6. Ibu Dra. Tundjung T. Handayani, M.S. selaku Pembimbing Akademik atas nasihat dan bimbingan selama ini.

7. Orang tua-ku tercinta, terimakasih atas doa, dukungan, semangat, dan nasehatnya selama ini.
8. Gege teman terbaik-ku, terimakasih sudah bersedia mendengarkan keluh kesah-ku selama ini, bantuan, waktu, nasehat, dan juga doanya selama ini sangat berarti.
9. Teman terdekat sejak awal berkuliah dan teman sepermainan Agung, Benny, Ketut, Ros, dan Theo terimakasih sudah banyak meluangkan waktu bersama, berbagi keluh kesah, dan dukungannya.
10. Teman sejak SMA Fifi, Kadek, Luh, Rosa terimakasih untuk dukungan dan doa kalian.
11. Diana, Indri, Jess, Nandia, Rizka, dan Titin terimakasih tak hingga untuk kalian.
12. Teman-teman yang sudah banyak mengajari dan berbagi ilmu Nuzulul Istikomah, Nadhiroh Zulpa, Nabila Iffatun Hanun, Eka Prasetya Wati, Aprillia Sari, Intan Agnia Safitri, Okta Maida Listiawati, Astri Ayu Andari, dan Retno Wulantari terimakasih bantuan kalian selama menuntut ilmu dan pembuatan skripsi.
13. Teman-teman satu tim penelitian Rizka Oktavia, Nandia Putri Aulia, Rismayanti, Milsa Solva Diana, dan Suminta Frida terimakasih sudah banyak membantu tenaga dan waktu dalam penelitian selama ini.
14. Teman-teman Microholic'14 terimakasih banyak atas kebersamaannya.
15. Teteh Minah, teteh Maria, sepupu, tetangga kost an, keluarga Bougenville No. 17 terimakasih atas bantuan, dukungan, doa, dan semangat yang kalian berikan.

16. Teman-teman Biologi A dan Biologi angkatan 2014 terimakasih banyak atas kebersamaannya.

Akhir kata, penulis menyadari masih banyak kekeliruan dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini, namun terlepas dari itu semua sedikit harapan penulis skripsi ini dapat memberi manfaat untuk kita semua.

Bandar Lampung, Mei 2018

Penulis,

Komang Rima

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DATAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	2
C. Manfaat Penelitian	3
D. Kerangka Pikir	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Probiotik	4
B. <i>Bacillus</i> sp	7
C. Hutan Mangrove	10

III. METODE PENELITIAN.....	14
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	14
B. Alat dan Bahan.....	14
C. Pelaksanaan.....	15
D. Gambaran Alur Penelitian	19
E. Analisis Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
A. Isolasi dan Pemurnian	23
B. Pengujian Proteolitik.....	25
C. Pengujian Cekaman pH dan Salinitas	26
D. Pengujian Patogenisitas	27
E. Karakterisasi Bakteri	28
F. Pengujian Kepakaan Antibiotik.....	30
V. KESIMPULAN	32
A. Kesimpulan	32
B. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Jenis Bakteri yang Diisolasi dan Identifikasi dari Perairan Hutan Mangrove di Pasuruan	5
Tabel 2. Isolat <i>Bacillus</i> sp. dari Hasil Isolasi dan Pemurnian	23
Tabel 3. Indeks Proteolitik Isolat <i>Bacillus</i> sp	25
Tabel 4. Luas Isolat <i>Bacillus</i> sp. pada Cekaman pH dan Salinitas.....	26
Tabel 5. Sifat Hemolisis Isolat <i>Bacillus</i> sp. pada Agar Darah	27
Tabel 6. Morfologi Isolat <i>Bacillus</i> sp. Kandidat Probiotik.....	28
Tabel 7. Karakteristik Biokimia Isolat <i>Bacillus</i> sp. Kandidat Probiotik ..	28
Tabel 8. Kepekaan Isolat <i>Bacillus</i> sp. terhadap Antibiotik	30
Tabel 9. Jumlah Isolat <i>Bacillus</i> sp. dari Isolasi dan Berbagai Uji Seleksi	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi <i>Bacillus</i> sp	8
Gambar 2. Endospora <i>Bacillus</i> sp.....	8
Gambar 3. Peta Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur Tahun 2016.....	13
Gambar 4. Alur Kerja Penelitian	21
Gambar 5. Sampel Biotik dan Abiotik	24
Gambar 6. <i>Bacillus</i> sp. Menghasilkan Enzim Protease	39
Gambar 7. Pertumbuhan Koloni pada Uji Cekaman Salinitas dan pH....	39
Gambar 8. Morfologi Sel Isolat	39
Gambar 9. Hasil Uji Fermentasi Gula Positif	40
Gambar 10. Uji Motilitas Negatif	40
Gambar 11. Katalase Negatif.....	41
Gambar 12. Isolat <i>Bacillus</i> sp. KPP212 Resisten Streptomisin	41

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Hutan mangrove merupakan jenis hutan yang tumbuh di air payau dan dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Tumbuhan mangrove memiliki kemampuan untuk beradaptasi pada lingkungan yang ekstrim seperti kadar garam tinggi, kondisi tanah yang tidak stabil, dan kondisi tanah yang tergenang. Hutan mangrove memiliki berbagai fungsi baik secara ekologi dan juga ekonomi seperti pencegah abrasi pantai, habitat bagi organisme laut, obat-obatan, bahan kertas, dan pengendali kualitas perairan (Suci, 2013).

Keberadaan mikroorganisme dekomposer pada ekosistem mangrove bertanggung jawab atas keseimbangan dalam lingkaran rantai makanan. Dekomposisi seresah yang berasal dari tanaman mangrove berupa buah, bunga, daun dan ranting serta berbagai bagian lain menjadi sumber nutrien bagi biota yang mendiami ekosistem ini (Zamroni dan Rohyani, 2008).

Pada penelitian Yulma *et al.* (2017) *Bacillus* sp. merupakan salah satu bakteri dekomposer yang paling dominan ditemukan di kawasan hutan mangrove. Hal ini berkaitan dengan karakteristik morfologi dan fisiologi *Bacillus* sp.

Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringga, Kabupaten Lampung Timur yang secara astronomis terletak pada $5^{\circ}51'84''$ LS dan $105^{\circ}64'84''$ BT memiliki luas mangrove 6,65% dari total luas hutan mangrove provinsi

Lampung (Suci,2013). Hal ini menjadikannya termasuk dalam kawasan *Lampung Mangrove Center* berdasarkan Surat Keputusan Bupati No. 660/305/04/SK/2005/1546/J.26/KL/2005 tanggal 10 Mei 2005 (Monografi Desa Margasari, 2012).

Banyak tekanan dari berbagai pihak terhadap ekosistem mangrove kini telah menjadi ancaman yang serius. Hal yang sama juga terjadi pada hutan mangrove desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Lampung Timur (Suci, 2013). Tingginya potensi ancaman yang timbul mendasari dilakukannya penelitian ini sebagai salah satu bentuk penerapan kegiatan penelitian yang menjadi program Universitas Lampung dalam pengelolaan hutan mangrove. Sekaligus untuk menjawab tantangan dalam pesatnya budidaya perikanan khususnya di daerah Lampung.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan isolat bakteri *Bacillus* sp. dari pencernaan udang, kerang, ikan, kepiting, sotong, tumbuhan bakau, air, dan lumpur yang berpotensi sebagai probiotik.
2. Mengetahui karakteristik isolat bakteri *Bacillus* sp. dari pencernaan udang, kerang, ikan, kepiting, sotong, tumbuhan bakau, air, dan lumpur.

C. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah kepada mahasiswa dan pembudidaya udang mengenai isolasi dan karakterik *Bacillus* sp. yang diperoleh dari organ pencernaan organisme, tumbuhan bakau, air beserta lumpur.

D. Kerangka Pikir

Budidaya udang secara intensif telah memunculkan berbagai masalah seperti penurunan kualitas perairan dan serangan berbagai penyakit oleh mikroorganisme patogen yang berdampak pada kematian udang. Penggunaan antibiotik sebagai solusi masalah ini sudah banyak ditinggalkan dan digantikan dengan probiotik mengingat dampak buruk yang dapat ditimbulkan. Probiotik menjadi solusi yang pas dalam menjawab tantangan pesatnya perkembangan sektor perikanan dan kelautan di Indonesia khususnya di daerah Lampung. Terdapat berbagai jenis bakteri yang dapat digunakan sebagai kandidat probiotik. Salah satunya adalah bakteri dari genus *Bacillus*. Berbagai karakteristik pendukung yang dimiliki *Bacillus* menjadikan bakteri ini sebagai kandidat probiotik yang sangat potensial. Berkaitan dengan lampung sebagai salah satu wilayah dengan hutan mangrove terluas di Indonesia dan hubungan dengan usaha pelestarian serta keberagaman mikroorganisme yang tentu ada pada ekosistem ini maka dilakukanlah pengambilan sampel dari kawasan hutan mangrove Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringga, Kabupaten Lampung Timur.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Probiotik

Probiotik pada perairan kerap dikenal sebagai bakteri yang mampu memperbaiki kualitas air (Suminto dan Diana, 2015). Pemberian probiotik bertujuan meningkatkan kesehatan inang dengan menekan perkembangan mikroorganisme patogen, memperbaiki kualitas perairan, dan membantu mendegradasi limbah organik (Haditomo *et al.*, 2016). Aktivitas bakteri probiotik akan menurunkan akumulasi lumpur dan bahan organik di dasar tambak yang bermanfaat memperbaiki penetrasi oksigen kedalam sedimen serta membantu mengurangi senyawa beracun seperti amonia dan sulfida (Gunawati, 2002).

Pemberian probiotik pada suatu perairan lebih baik apabila menggunakan bakteri yang berasal dari wilayah itu sendiri dengan tujuan untuk mengefektifkan kemampuan kerja probiotik (Purwanta dan Mayrina, 2002). Kriteria probiotik akuakultur yang cocok adalah mampu memberikan pengaruh positif dalam ekosistem dan rantai makanan perairan tersebut (Haditomo *et al.*, 2016). Bakteri kandidat probiotik umumnya menghasilkan substansi antimikroba seperti asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, diasetil, asam piroglutamat, reuterin, dan bakteriosin (Anurogo, 2014).

Kemelimpahan keberadaan bakteri kandidat probiotik pada ekosistem mangrove didukung oleh penelitian Yahya *et al.*, (2014) yang melakukan isolasi bakteri dari Perairan Hutan Mangrove di Pasuruan. Berikut adalah tabel jenis bakteri yang diperoleh.

Tabel 1. Jenis Bakteri yang Diisolasi dan Identifikasi dari Perairan Hutan Mangrove di Pasuruan

No	Jenis Mangrove	Isolat/Jenis Bakteri
1	<i>Sonneratia alba</i>	<i>Bacillus megaterium</i>
		<i>Nitrococcus</i> sp.
		<i>Bacillus substillis</i>
		<i>Planococcus citreus</i>
		<i>Bacillus mycoides</i>
2	<i>Avecennia alba</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
		<i>Bacillus megaterium</i>
		<i>Bacillus pumilus</i>
		<i>Bacillus substillis</i>
		<i>Nitrococcus</i> sp.
3	<i>Rhizophora apiculata</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>
		<i>Bacillus mycoides</i>
		<i>Micrococcus</i> sp.
		<i>Bacillus megaterium</i>
4	<i>Avicennia marina</i>	<i>Nitrococcus</i> sp.
		<i>Staphylococcus</i> sp.
		<i>Pseudomonas putida</i>
		<i>Lactobacillus</i> sp.
		<i>Bacillus substillis</i>
		<i>Nitrococcus</i> sp.
		<i>Bacillus substillis</i>
		<i>Bacillus pumilus</i>
		<i>Pseudomonas putida</i>
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>
		<i>Micrococcus luteus</i>
		<i>Vibrio</i> sp.

Kandidat bakteri probiotik dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti juga dari saluran pencernaan hewan. Penelitian Yulvizar (2013) terhadap pencernaan ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) diperoleh tiga jenis genera dan satu spesies bakteri kandidat probiotik antara lain genus *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Micrococcus*, dan spesies *Hafnia alvei*. Marzouk *et al.* (2008) dari ikan laut memperoleh *Bacillus*, *Lactococcus*, *Micrococcus*,

Carnobacterium, Enterococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Weisslla, Aeromonas, Alteromonas, Photorhodobacterium, Pseudomonas, dan Vibrio.

Kurniasih *et al.* (2013) menyatakan *Bacillus cereus* merupakan kandidat bakteri yang berpeluang untuk dijadikan probiotik dengan kemampuan menghasilkan *L-lactat, acetat, format, succinat, ethanol*, dan *carbon dioxide* dari sumber karbon sukrosa dan glukosa melalui respirasi anaerobik (Mols *et al.*, 2007).

Fuller (1992) mengemukakan bahwa probiotik berperan dalam beberapa mekanisme yaitu:

1. Sintesis vitamin atau senyawa penting yang kurang tersedia dalam pakan
2. Menghambat reaksi-reaksi yang menghasilkan toksin
3. Merangsang produksi atau menggantikan enzim pencernaan yang tidak ada
4. Merangsang reaksi enzimatis dalam proses detoksifikasi bahan-bahan potensial toksin baik yang berasal dari luar maupun dari dalam tubuh inang

Tidak semua mikroorganisme dapat digolongkan sebagai probiotik. Terdapat beberapa kriteria mikroorganisme ideal yang dapat dimasukkan ke dalam kelompok probiotik menurut Anurogo (2014).

1. Mampu bertahan hidup melalui traktus gastrointestinal pada pH rendah dan berhubungan dengan empedu
2. Stabil terhadap mikroflora usus
3. Melekat ke sel-sel epitel usus

4. Bertahan hidup di dalam bahan makanan dan berkemungkinan untuk penyimpanan dalam bentuk liofilisasi
5. Tidak patogen
6. Memiliki spesifikasi probiotik yang generik
7. Multiplikasi cepat, baik dengan koloniasi temporer atau permanen dari traktus gastrointestinal

Selain itu, menurut Anurogo (2014) ada berbagai faktor utama untuk dipertimbangkan dan dapat mempengaruhi kemampuan probiotik untuk bertahan hidup di dalam produk-produk makanan atau minuman, diantaranya:

1. Kondisi fisik dan kimiawi dari proses makanan
2. Kondisi fisiologis dari probiotik yang ditambahkan
3. Kondisi fisik dari penyimpanan makanan, misalnya suhu
4. Interaksi dengan komponen-komponen produk lainnya
5. Komposisi kimiawi dari produk

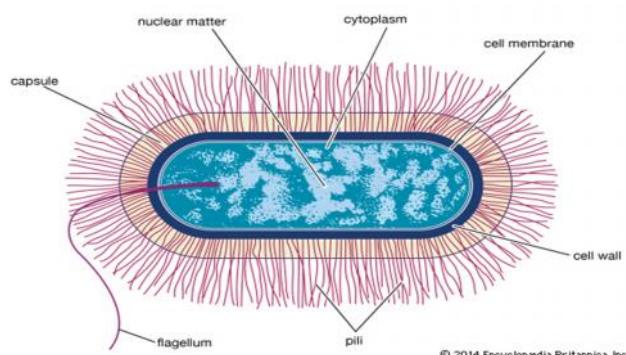
B. *Bacillus* sp.

Menurut Pelczar *et al.* (1976) *Bacillus* adalah salah satu marga bakteri yang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. *Bacillus* berbentuk batang, gram positif, bergerak dengan flagel peritrikus dan membentuk endospora. Endospora adalah struktur berdinding tebal yang sangat reaktif, mengandung sedikit air, dan tahan terhadap kondisi fisik dan kimia (Sopyan, 2009). Endospora *Bacillus* terbentuk di dalam sel vegetatif dengan berbagai bentuk yaitu bulat, oval, dan silinder. Dibandingkan dengan sel vegetatifnya

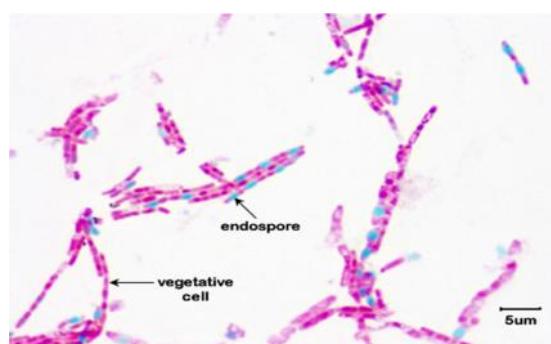
endospora bersifat lebih resisten terhadap perubahan lingkungan Hatmanti (2000).

Menurut de Vos *et al.* (2009) klasifikasi *Bacillus* sp. adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bakteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Bacillaceae
Marga	: <i>Bacillus</i>
Jenis	: <i>Bacillus</i> spp.



Gambar 1. Morfologi *Bacillus* sp. (www.britannica.com)



Gambar 2. Endospora *Bacillus* sp. (<http://faculty.ccbcmd.edu>)

Menurut Hatmanti (2000) *Bacillus* sp. bersifat aerob namun beberapa bersifat fakultatif anaerob dan sebagian besar positif katalase. Hal ini menjadi salah satu sifat yang membedakan *Bacillus* sp. dari bakteri pembentuk endospora lainnya. Menurut de Vos *et al.* (2009) *Bacillus* sp. menunjukkan cara penggunaan gula yang berbeda-beda dalam metabolismenya. Dinding sel *Bacillus* sp. tersusun atas peptidoglikan, asam teikoat, dan asam teikuronat yang merupakan ciri bakteri gram Positif.

Bacillus sp. menjadi salah satu bakteri yang banyak dimanfaatkan sebagai probiotik dalam akuakultur (Hong *et al.* 2004). Pemanfaatan *Bacillus* sp. ini didukung oleh kemampuannya dalam menghasilkan enzim yang beragam, seperti amilase, protease, dan lipase (Hamtini, 2014). Selain itu, bakteri ini juga memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen tertentu didukung oleh produk ekstraselular yang dihasilkannya seperti *subtilin*, *coagulin*, *protease-resistant isocoumarin*, *naphthol-AS-BI-phospholidase*, *surfactin*, *iturins*, *bacilysin*, *aminocoumacin*, dan *polyfermenticum* (Hong *et al.*, 2004 ; Murilio dan Villamil, 2011).

Hatmanti (2000) dalam penelitiannya menyatakan bakteri ini mampu melakukan biodegradasi bahan pencemar seperti senyawa rekalsitran dan xenobiotik. Jenis *Bacillus* sp. yang sering dimanfaatkan sebagai probiotik antara lain *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. pumilus*, dan *B. Laterosporus* (Ulhaq, 2014).

C. Hutan Mangrove

Sorianegara (1987) mendefinisikan hutan mangrove sebagai hutan yang terutama tumbuh pada lumpur aluvial di daerah pantai dan muara sungai, yang eksistensinya selalu dipengaruhi oleh pasang-surut air, dan terdiri dari jenis *Avicennia*, *Sonneratia*, *Rhizophora*, *Bruguiera*, *Ceriops*, *Lumnitzera*, *Excoecaria*, *Xylocarpus*, *Scyphiphora*, dan *Nypa*. Sementara menurut Saenger *et al.* (1983) hutan mangrove memiliki pengertian sebagai suatu formasi hutan yang dipengaruhi oleh adanya pasang-surut air laut, dengan keadaan tanah yang anaerobik.

Mangrove mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan dengan mekanisme anatomi dan fisiologi tertentu yang dimilikinya (Adha, 2015). Beberapa jenis mangrove seperti *Rhizophora* sp., *Bruguiera* sp., dan *Ceriops* sp. memiliki buah (propagul) yang sudah berkecambah sewaktu masih menempel pada pohon induknya, sehingga saat buah matang dan terjatuh akan langsung menancap pada tanah dan tidak terbawa arus air (Pramudji, 2001). Akar napas juga merupakan bentuk adaptasi yang membantu dalam memperoleh oksigen. Juga akar tunjang yang berfungsi menumpu batang pada tanah labil (Adha, 2015).

Keberadaan ekosistem mangrove pada pesisir pantai memiliki fungsi ekologis yang besar (Adha, 2015). Fungsi abiotik mangrove antara lain mempertahankan daerah pesisir pantai dari hembusan angin, arus dan ombak dari laut, memperluas daratan, remediasi bahan pencemar, hingga melindungi

ekosistem padang lamun dan karang dari bahaya pelumpuran (Lasibani dan Eni, 2009 ; Pramudji, 2001).

Sementara pada fungsi biotik ekosistem mangrove adalah sebagai tempat berkembang biak dan sarang beberapa jenis satwa air seperti kepiting, moluska, ikan, dan udang-udangan (Kariada dan Andin, 2014 ; Djohan, 2007). Kanopi hutan mangrove juga sebagai habitat primata, burung, serangga, dan kelelawar (Supriharyono, 2009). Ekosistem mangrove juga menghasilkan senyawa organik dari hasil dekomposisi seresah mangrove oleh mikroorganisme dekomposer yang menjadi sumber makanan organisme penghuni ekosistem mangrove (Yulma, 2017). Dilihat dari segi ekonomi hutan mangrove dimanfaatkan sebagai bahan bakar, bahan bangunan, bahan obat, dan makanan, hingga rekreasi (Arief, 2003).

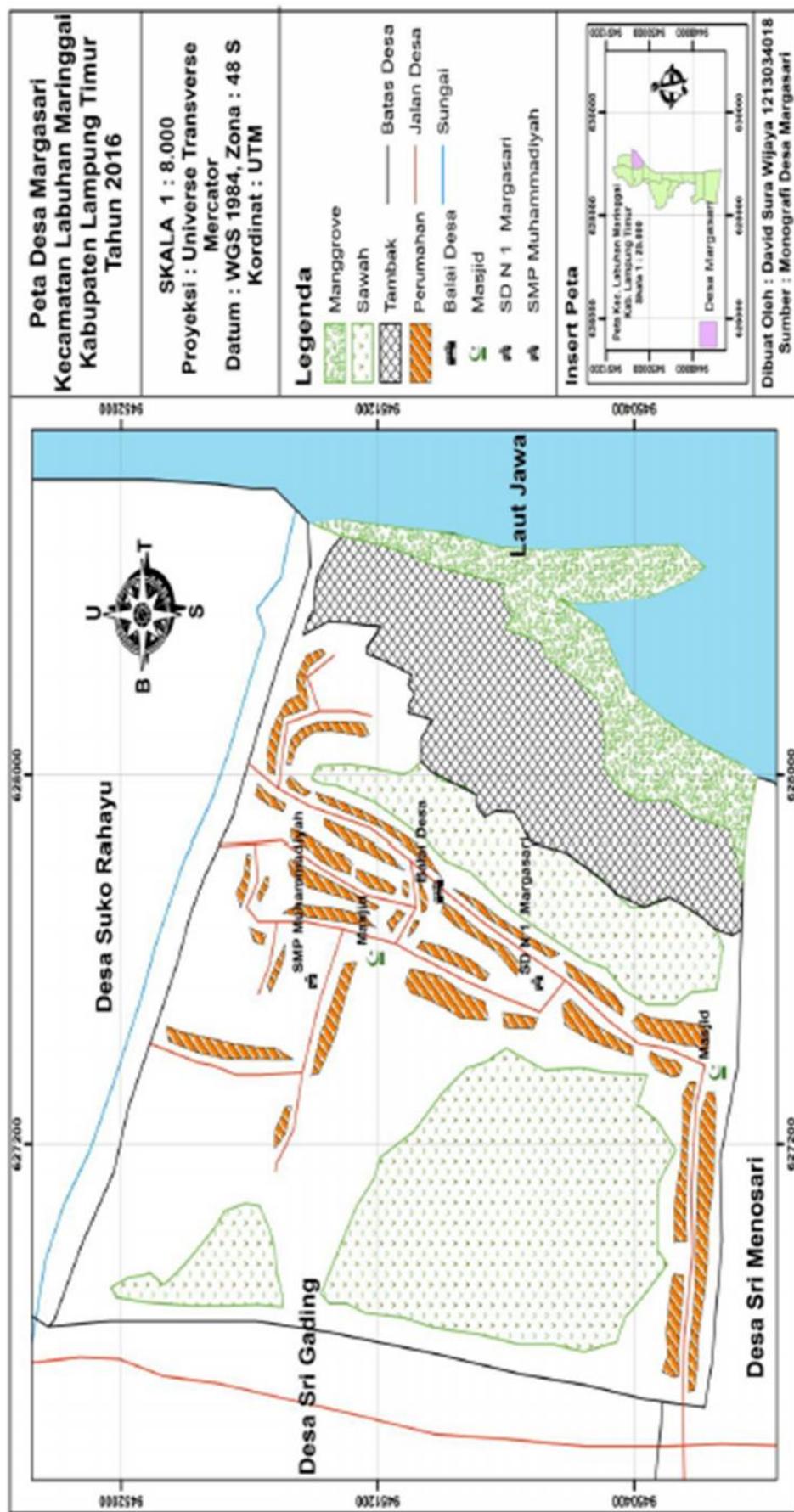
Sekitar 3 juta hektar hutan mangrove tumbuh di sepanjang 95.000 kilometer pesisir Indonesia. Jumlah ini mewakili 23% dari keseluruhan ekosistem mangrove dunia (Giri *et al.*, 2011). Tumbuh dan tersebar dari pulau Sumatera hingga Irian. Indonesia merupakan tempat mangrove terluas dunia (18-23%) melebihi Brazil (1,3 juta hektar), Nigeria (1,1 juta hektar) dan Australia (0,97 juta hektar) (Spalding *et al.*, 1997).

Mangrove di Indonesia lebih bervariasi dibandingkan dengan wilayah lain. *Avicennia marina* yang tingginya mencapai 1-2 meter mudah ditemukan pada pantai tergenang, tegakan *Bruguiera-Rhizophora-Ceriops* dengan ketinggian lebih dari 30 meter (terdapat di Sulawesi Selatan), *Avicennia alba* dan *Sonnetaria alba* pada daerah pantai terbuka. *Sonnetaria caseolaris*

dan *Nypa fruticans* sepanjang sungai bersalinitas rendah. Tercatat ada 202 jenis tumbuhan pada hutan mangrove Indonesia, sebanyak 43 jenis merupakan mangrove sejati dan sisanya adalah jenis mangrove ikutan. Sebanyak 202 jenis tersebut meliputi 89 jenis pohon, 44 jenis terna, 19 jenis pemanjat, 44 jenis epifit, 5 jenis palm, dan 1 jenis paku-pakuan (Noor *et al.*, 2006).

Khusus wilayah lampung, luas hutan mangrove \pm 10.533,676 hektar dengan 6,65% dari total luas tersebut adalah hutan mangrove di Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Mariggai, Kabupaten Lampung Timur Kordi (2012). Berdasarkan Surat Keputusan Bupati No. 660/305/04/SK/2005/1546/J.26/KL/2005 wilayah ini ditetapkan menjadi kawasan *Lampung Mangrove Center* pada 10 Mei 2005 (Monografi Desa Margasari, 2012). Secara geografis Kabupaten Lampung Timur terletak pada $5^{\circ}51'84''$ LS dan $105^{\circ} 64'84''$ BT (Suci, 2013).

Hingga pada tahun 2006 dicapailah suatu kesepakatan dan kerja sama antara Universitas Lampung dengan pemerintah Lampung Timur tentang pengelolaan terpadu mangrove yang berbasis masyarakat di wilayah pesisir timur Lampung seluas 700 hektar. Tujuan dari pengelolaan hutan mangrove berbasis masyarakat ini adalah agar hutan mangrove dapat terjaga kelestarian dan keberlangsungannya. Pengadaan kegiatan pendidikan, penelitian, dan pengabdian dilakukan Universitas Lampung sebagai penyelenggara dengan proses evaluasi guna menilai keberhasilan program (Suci, 2013).



Gambar 3. Peta Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur Tahun 2016 (Wijaya, 2016).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Oktober 2017-Februari 2018
di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *hot plate magnetic stirrer, laminar air flowcabinet, autoclave, neraca analitik, inkubator, oven, jarum ose, erlenmeyer, vortex mixer, mikropipet, pipet volumetri, mikro tip, pipet tetes, object glass, cawan petri, gelas ukur, kapas, tabung reaksi, tabung Durham, alumunium foil, batang pengaduk, bunsen, water bath, beaker glass, pinset, cutter, spatula, gunting bedah, gunting, mikroskop, ice box, sarung tangan, masker, plastik tahan panas, plastik steril, termometer, karet gelang, kapas, mistar, spuit 5 ml, waterbath, kertas saring, kain kasa, dan pH meter.*

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: udang, kerang, ikan, keping, sotong, tumbuhan bakau, air, lumpur, pepton, ekstrak khamir, gliserol, agar, air laut, *Skim Milk*, air laut steril, garam fisiologis 0,98%, NaCl 0%:3%: 4%: dan 6%, NaOH 1 M, HCl 1 M, kristal violet, iodine, safranin,

akuades, *phenol red*, laktosa, manitol, sukrosa, glukosa, manosa, alkohol 70%, spritus, minyak imersi, disk antibiotik trimetoprim, disk antibiotik streptomisin, disk antibiotik ampisilin, disk antibiotik kloramfenikol, disk antibiotik asam nalidiksat dan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2).

C. Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan dengan mengambil sampel secara langsung untuk kemudian diisolasi dan dikarakterisasi. Penelitian ini dilakukan dalam 3 tahap. Tahap I terdiri atas pengambilan sampel udang, kepiting, ikan, kerang, tumbuhan bakau, air, dan lumpur. Tahap II terdiri atas isolasi *Bacillus* sp. dari berbagai sampel dan pemurnian. Tahap III terdiri atas uji kemampuan proteolitik, uji cekaman terhadap salinitas, uji cekaman terhadap pH, uji patogenisitas, identifikasi, dan uji kepekaan terhadap antibiotik.

Tahap I

Pengambilan sampel udang, kepiting, ikan, kerang, tumbuhan bakau, air, dan lumpur dilakukan dari area hutan mangrove Desa Margasari, Lampung Timur. Sampel udang, ikan, kerang, dan kepiting dipilih yang sehat dan masih segar kemudian disimpan dalam plastik steril. Sampel tumbuhan bakau, lumpur dan air diambil secukupnya dimasukkan dalam plastik steril. Khusus tumbuhan bakau bagian yang diambil adalah akar. Semua sampel disimpan dalam kotak pendingin untuk kemudian dilakukan pengujian di laboratorium.

Tahap II

1. Isolasi Bakteri *Bacillus* sp.

Seluruh sampel dengan massa yang berbeda (10 gram lumpur, 1 gram akar bakau, 1 ml air, 1 ml suspensi pencernaan udang, kepiting, kerang, dan ikan) disuspensikan kedalam 90 ml garam fisiologi (untuk sampel lumpur) dan 9 ml garam fisiologis (untuk sampel air, tumbuhan bakau, udang, kerang, kepiting dan ikan). Semua sampel kemudian di homogen dengan *vortex mixer* dan diberi perlakuan panas dengan suhu 80°C selama 15 menit. Larutan kemudian diencerkan dengan seri pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Masing-masing diambil sebanyak 1 ml dari setiap pengenceran lalu dilakukan pour pada media *Sea Water Complete* (SWC) Modifikasi Skim Agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Hamtini, 2014).

2. Pemurnian

Sebanyak 1 ose *Bacillus* sp. diinokulasikan dengan metode *streak* pada media SWC Agar kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Tahap III

1. Pengujian Proteolitik

Isolat *Bacillus* sp. diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi pada media SWC Modifikasi Skim Agar. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan dengan menghitung Indeks Proteolitik yang terbentuk (Hamtini, 2014; Hapsari, 2016).

2. Pengujian Cekaman Salinitas

Isolat *Bacillus* sp. diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan NaCl konsentrasi 0%; 3%; dan 6%. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada ukuran koloni yang tumbuh (Triyanto *et al.*, 2009).

3. Pengujian Cekaman pH

Isolat *Bacillus* sp. diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan pH 4, pH 7, dan pH 10. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan terhadap ukuran koloni yang tumbuh (Triyanto *et al.*, 2009).

4. Pengujian Patogenisitas

Isolat *Bacillus* sp. diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi ke dalam media SWC Agar Darah. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap kemampuan hemolitik isolat dengan melihat perubahan warna media (Hamtini, 2014).

5. Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi isolat bakteri terduga *Bacillus* sp. dilakukan dalam 2 tahap yaitu:

a. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Morfologi Sel

Karakterisasi morfologi koloni dilakukan dengan pengamatan koloni

sedangkan karakterisasi morfologi sel dilakukan dengan pengecatan Gram (Yulvizar, 2013).

b. Uji Biokimia

Karakterisasi berdasarkan uji biokimia dilakukan dalam beberapa uji antara lain: uji katalase, uji motilitas, dan uji fermentasi gula.

b.1. Uji Katalase

Sebanyak 2 tetes H₂O₂ diteteskan pada object glass steril.

Kemudian sebanyak 1 ose isolat *Bacillus* sp. diambil dan dicampurkan dengan H₂O₂ di object glass (Yulvizar, 2013).

b.2. Uji Motilitas

Sebanyak 1 ose isolat *Bacillus* sp. ditusukkan ke dalam media SWC Agar semi padat. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Samosir *et al.*, 2017).

b.3. Uji Fermentasi Gula

Sebanyak 1 ose isolat *Bacillus* sp. diinokulasikan ke dalam media SWC Cair + 1% gula (glukosa, laktosa manitol, sukrosa dan manosa). Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Samosir *et al.*, 2017).

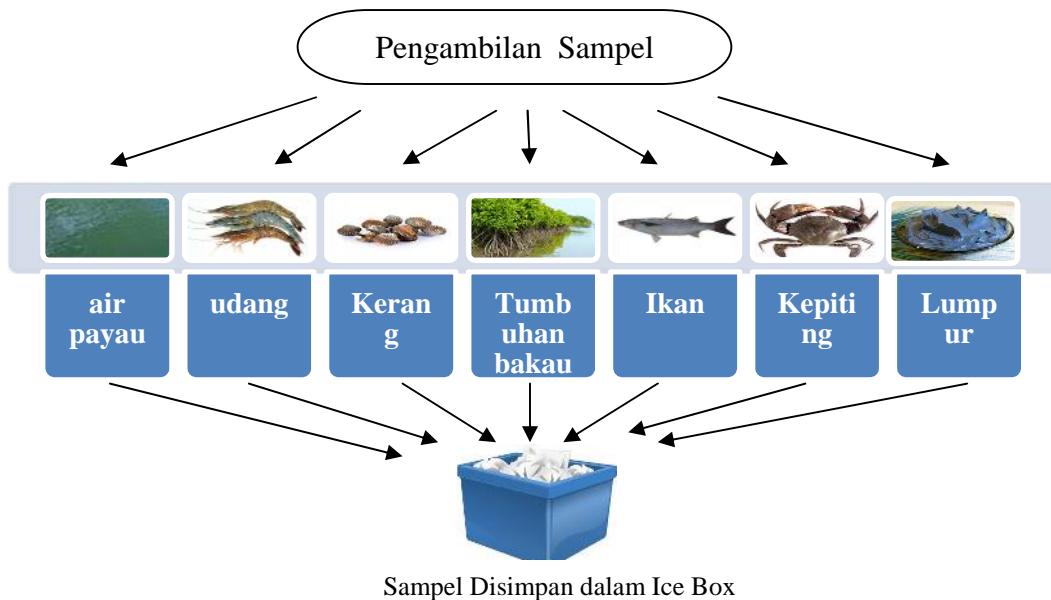
6. Pengujian Kepekaan Antibiotik

Isolat diuji kepekaannya terhadap 5 jenis antibiotik antara lain kloramfenikol 30 µg, ampisilin 10µg, streptomisin 10µg, trimetoprim 5µg, dan asam nalidiksat 30µg dengan menggunakan metode *Kirby-Bauer*. *Bacillus* sp. yang telah ditumbuhkan pada media SWC Cair umur 10 jam diambil menggunakan *swab stick*. Kemudian dilakukan inokulasi secara

swab pada media SWC Agar. Kemudian disk dari 5 jenis antibiotik diletakkan pada cawan kultur menggunakan pinset steril dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Hamtini, 2014 ; Putra, 2017).

D. Gambaran Alur Penelitian

Tahap I

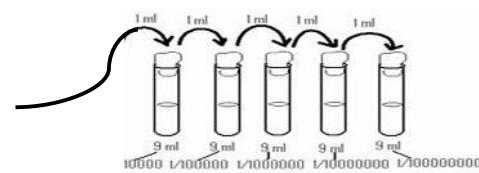


Tahap II

1. Isolasi Bakteri *Bacillus* sp.



Sampel dalam garam fisiologis dipanaskan dengan suhu 80°C selama 15 menit (Lestari, 2008).

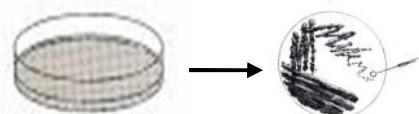


Sampel dibuat seri pengenceran hingga 10^{-2}



Inokulasi dengan teknik pour sebanyak 1 ml tiap pengenceran pada media SWC Modifikasi Skim Agar (Hamtini, 2014).

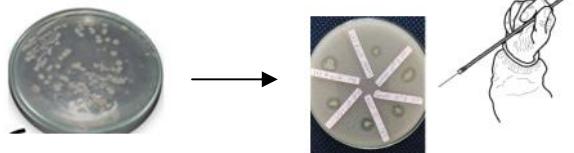
2. Pemurnian



Pemurniaaan isolat *Bacillus* sp. pada media SWC Agar.

Tahap III

1. Pengujian Proteolitik

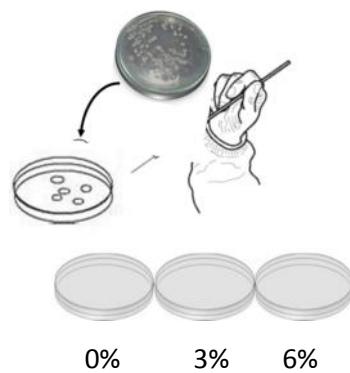


Isolat *Bacillus* sp. diambil menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasi pada media SWC Modifikasi Skim.

Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan terhadap zona jernih dengan menghitung Indeks Proteolitik yang terbentuk (Hamtini, 2014; Hapsari, 2016).

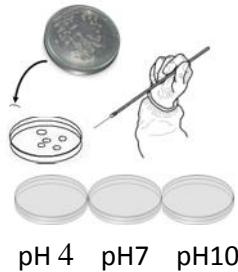
2. Pengujian Cekaman Salinitas

Isolat *Bacillus* sp. diinokulasi ke dalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan NaCl konsentrasi 0%; 3%; dan 6%. Kultur diinkubasi pada 24 jam suhu 37°C (Triyanto et al., 2009).



3. Pengujian Cekaman pH

Isolat *Bacillus* sp. diinokulasi kedalam media SWC Agar yang dimodifikasi dengan pH 4, pH 7, dan pH 10. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Triyanto *et al.*, 2009).



4. Pengujian Patogenisitas

Isolat *Bacillus* sp. diinokulasi kedalam media SWC Agar darah. Kultur kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap kemampuan hemolitik isolat dengan melihat perubahan warna media (Hamtini, 2014).



5. Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi morfologi koloni dan morfologi sel



Uji biokimia dilakukan dalam beberapa uji yaitu: katalase, motilitas, dan fermentasi gula (Yulvizar, 2013 ; Samosir *et al.*, 2017).



6. Pengujian Kepekaan Antibiotik



Isolat *Bacillus* sp. diinokulasi dengan *swab* pada media SWC Agar cawan petri, kemudian disk dari antibiotik diletakan pada cawan kultur dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Hamtini, 2014 ; Putra, 2017).

Gambar 4. Alur Kerja Penelitian

E. Analisis Data

Data disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

V. KESIMPULAN

A. Kesimpulan

1. Penelitian ini menghasilkan 5 isolat *Bacillus* sp. sebagai kandidat probiotik yaitu *Bacillus* sp. KPP212 dari pencernaan kepiting pemanjat pohon, *Bacillus* sp. IP121 dari pencernaan ikan pirit, *Bacillus* sp. UJ131 dan *Bacillus* sp. UJ132 dari pencernaan udang jerbung, serta *Bacillus* sp. SB141 dari pencernaan siput bakau.
2. Kelima isolat uji memenuhi persyaratan sebagai bakteri probiotik.

B. Saran

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap isolat kandidat probiotik untuk memastikan potensi dan keamanannya dalam pengaplikasian pada hewan inang maupun lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adha, M. 2015. Analisis Kemelimpahan Kepiting Bakau (*Scylla spp.*) di Kawasan Mangrove Dukuh Senik, Desa Bedono, Kecamatan Sayung, Kabupaten Demak. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Walisongo. Semarang.
- Anonim. 2006. *Cara Uji Mikrobiologi Bagian 2: Penentuan Salmonella pada Produk Perikanan. SNI-01-2332.2-2006*. Badan Standarisasi Nasional.
- Anonim. 2015. Phenol Red Indicator. <http://himedialabs.com>. Diakses pada 9 Maret 2018 pukul 18.48 WIB.
- Anurogo, D. 2014. Probiotik : Problematika dan Progresivitasnya. *Medical Review*. 27 (3) : 46-57.
- Arief, A. 2003. *Hutan Mangrove: Fungsi dan Manfaatnya*. Kanisius. Yogyakarta.
- Brooks, F. G., C. C. Karen, B. S. Janet, M. A. Stephen, dan M. A. Timothy. 2010. *Medical Microbiology 26th Edition (1)* : 13-401. Mc. Graw Hill. New York.
- Darmono. 1991. *Budidaya Udang Peneus*. Kanisius. Yogyakarta.
- De Vos, P., G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K. H. Schleifer dan W. B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume Three : The Firmicutes*. Bergey's Manual Trust. New York.
- Djohan, T. S. 2007. Distribusi Hutan Bakau di Laguna Pantai Selatan. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 14 (1) : 15-25.
- Fatoni, A., Zusfahair, dan L. Puji. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Protease Ekstraseluler dari Bakteri dalam Limbah Cair Tahu. *J Natur Indonesia*. 10 (2) : 83-88.
- Febrianti, D. 2011. Efektivitas Probiotik Asal Usus Udang dalam Menghambat Pertumbuhan *Vibrio harveyi* pada Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Feliatra, 2001. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Heterotrof yang Terdapat pada

- Daun Mangrove (*Avicenna* sp. dan *Sonneratia* sp.) dari Kawasan Stasiun Kelautan Dumai. *Jurnal Natur Indonesia*. 3 (2) : 104-112.
- Fuller, R. 1992. History and Development of Probiotics. In *Probiotics the Scientific Basis*. Chapman and Hall.
- Giri, C., E. Ochieng, L. L. Tieszen, Z. Zhu, A. Singh, A. Loveland, J. Masek dan N. Duke. 2011. Status and Distribution of Mangrove Forests of The World Using Earth Observation Satellite Data. *Global Ecology and Biogeography*. 20 (1) : 154-159.
- Gunawati, R. M. 2002. Keberadaan Bakteri Probiotik dan Hubungannya dengan Karakteristik Kimia Air dalam Kondisi Laboratorium. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Haditomo, A. H. C., A. M. Lusistuti, dan Widanarni. 2016. Studi *Bacillus firmus* Sebagai Kandidat Probiotik dalam Menghadapi *Aeromonas Hydrophila* pada Media Budidaya. *Jurnal Saintek Perikanan*. 11 (2) : 111-114.
- Hamtini. 2014. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. dari Ikan Lele (*Clarias* sp.) serta Potensinya sebagai Probiotik. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hapsari, T., W. Tjahjaningsih, M. A. Alamsjah, dan H. Pramono. 2016. Aktivitas Enzimatis Bakteri Proteolitik Asal Gastrointestinal Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Marine and Coastal Science*. 5 (3) : 109.
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* spp. *Oseanografi*. 25 (1) : 31-41.
- Hong, H. A., L. H. Duc, dan S. M. Cutting. 2004. The Use of Bacterial Spore Formers as Probiotics. *Federation of European Microbiological Sciences Microbiology Reviews*. 29 : 813-835.
- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H. A. Sneath dan S. T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Lippicott William and Wilkins. New York.
- Hutabarat, S. 2000. *Produktivitas Perairan dan Plakton Telaah terhadap Ilmu Perikanan dan Kelautan*. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Irianto, A. 2005. *Probiotik Akuakultur*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 125 halaman.
- Kariada, T. M. dan A. Irsadi. 2014. Peranan Mangrove sebagai Biofilter Pencemaran Air Wilayah Tambak Bandeng, Semarang. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 21 (2) : 188-194.

- Kordi, K. M. G. H. 2012. *Ekosistem Mangrove: Potensi, Fungsi dan Pengelolaan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Kurniasih, T., Widanarni, Mulyasari, I. Melati, Z. I. Azwar, dan A. M. Lusiastuti 2013. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri dari Saluran Pencernaan Ikan Lele Sebagai Kandidat Probiotik. *J. Ris. Akuakultur*. 8 (2) : 277-286.
- Lasibani, S. M., dan E. Kamal. 2009. Pola Penyebaran Pertumbuhan "Propagul" Mangrove *Rhizophoraceae* di Kawasan Pesisir Sumatera Barat. *Jurnal Mangrove dan Pesisir*. 10 (1) : 33-38.
- Marzouk, M.S., M.M. Moustafa, dan N. M. Mohamed. 2008. The Influence of Some Probiotic on The Growth Performance and Intestinal Microbial Flora of *O. niloticus*. *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. 1059-1071.
- Mols, M., M. de Been, M. H. Zwietering, R. Moezelaar, dan T. Abbe. 2007. Metabolic Capacity of *Bacillus cereus* Strains ATCC 14579 and ATCC 10987 Interlinked with Comparative Genomics. *Environmental Microbiology*. 9 (12) : 2.933-2.944.
- Monografi Desa Margasari. 2012. *Potensi Desa Margasari, Kecamatan Labuhan Maringgai, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung*.
- Muchtadi, D. dan S. L. Betty. 1983. *Petunjuk Praktek Mikrobiologi Hasil Pertanian* 2. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Murilio, I. dan L. Villamil. 2011. *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis* Used as Probiotics in Rotifer (*Branchionus plicatilis*) Cultures. *Journal Aquaculture Research and Development*. S1 : 007.
- Noor, Y. R., M. Khazali, I. N. N. Suryadiputra. 2006. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. Wetlands International. Indonesia Programme.
- Pelczar, M. J., E.C.S. Chan, and N.R. Krieg. 1976. *Microbiology*. Me Graw Hill Book Company. New York : 896 pp.
- Purwanta, W. dan M. Fidayati. 2002. Pengaruh Aplikasi Mikroba Probiotik Pada Kualitas Kimia Perairan Tambak Udang. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 3 (1) : 61-65.
- Putra, R. O. 2017. Pengujian Daya Hambat Antibiotik pada Sel Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus* sp. yang Dipapar Medan Magnet. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Pramudji. 2001. Ekosistem Hutan Mangrove dan Perannya Sebagai Habitat Berbagai Fauna Aquatik. *Oseana*. 26 (4) : 13-23.

- Ricky, B. 2008. *Usaha Pemeliharaan Gurami (Osphronemus gouramy)*. Penebar Swadaya. Jakarta. 47 hlm.
- Saenger, P., E. J. Hegerl and J. D. S. DZ. Vie 1983. *Global Status of Mangrove Ecosystems*. By The Working Group on Mangrove Ecosystems on The IUCN Commission on Ecology. The environmentalist. 3: p. 88.
- Samosir, M. F., D. Suryanto, dan Desrita. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Mas (*Cyprinus caprio*). *Jurnal Bidang Manajemen Sumberdaya Perairan*. 15 (1).
- Soerianegara, I. 1987. Masalah Penentuan Jalur Hijau Hutan Mangrove. *Pros. Sem. III Ekos. Mangrove*. MAB-LIPI : 3947.
- Sopyan, A. S. 2009. Karakterisasi Fisiologi dan Identifikasi Molekular Isolat-Isolat *Bacillus* spp. Penghasil Bakteriosin Asal Hutan Wana Wisata Cangkuang. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Spalding, M. D., F. Blasco dan C. D. Field Editor. 1996. *World Mangrove Atlas*. International Society For Mangrove Ecosystems. Okinawa. Japan.
- Suci, A. K. 2013. Kawasan Hutan Mangrove di Desa Margasari, Lampung Timur. *Artikel*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Sudarsono A. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (*Lepidocibium flavobronneum*). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Suminto dan D. Chilmawati. 2015. Pengaruh Probiotik Komersial pada Pakan Buatan Terhadap Pertumbuhan, Efisiensi Pemanfaatan Pakan, dan Kelulushidupan benih Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) D₃₅-D₇₅. *Jurnal Saintek Perikanan*. 11 (1) : 11-16.
- Sunarjati, S. 2015. *Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik pada Infeksi Bakteri*. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran. Universitas Padjadjaran
- Supriharyono. 2009. *Konservasi Ekosistem Sumberdaya Hayati di Wilayah Pesisir dan Laut Tropis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Triyanto, A. Isnansetyo, I. D. Prijambada, J. Widada., dan A. Tarmiawati. 2009. Isolasi, Karakterisasi dan Uji Infeksi Bakteri Proteolitik dari Lumpur Kawasan Hutan Bakau. *Jurnal Perikanan*. XI (1) : 13-18.
- Ulhaq, M. F. 2014. Pemberian Probiotik *Bacillus* sp. pada Media Pemeliharaan Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) untuk Pencegahan Penyakit *Motile Aeromonads Septicemia*. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Wardika, A. S., Suminto, dan A. Sudaryono. 2014. Pengaruh Bakteri Probiotik Pada Pakan dengan Dosis Berbeda terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan dan Kelulushidupan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (4) : 9-17.
- Wijaya, S. D. 2016. Profil Keadaan Sosial Ekonomi Keluarga Petani Tambak di Desa Margasari Kecamatan Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Timur Tahun 2016. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Yahya, Y., H. Nursyam, Y. Risjani, dan S. Soemarno. 2014. Karakteristik Bakteri di Perairan Mangrove Pesisir Kraton Pasuruan. *Ilmu Kelautan*. 19 (1) : 35-42.
- Yulma, B. Ihsan, Sunarti, E. Malasari., N. Wahyuni, dan Mursyban. 2017. Identifikasi Bakteri pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. 2 : 28-33.
- Williams, R. J., J. M. Ward, B. Henderson, S. Poole, B. P. O'Hara, M. Wilson, and S.P. Nair. 2000. Identification of a novel gene cluster encoding staphylococcal exotoxin-like protein: Characterization of the prototypic gene and its product, SET1. *Infect. Immunol.* 68: 4407-4415.
- Yulvizar, C. 2013. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies*. 6 (2) : 1-7.
- Zamroni, Y. dan I. S. Rohyani. 2008. Produksi Serasah Hutan Mangrove di Perairan Pantai Teluk Sepi, Lombok Barat. *Biodiversitas*. 9 (4) : 284-287.