

**UJI AKTIVITAS ENZIMATIK DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
KANDIDAT PROBIOTIK DARI GASTROINTESTINAL NILA
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) DANAU RANAU, LAMPUNG
BARAT**

SKRIPSI

Oleh

**RIKA IWAN SYAHPUTRI
NPM 2014111039**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

**UJI AKTIVITAS ENZIMATIK DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
KANDIDAT PROBIOTIK DARI GASTROINTESTINAL NILA
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) DANAU RANAU, LAMPUNG
BARAT**

Oleh

RIKA IWAN SYAHPUTRI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA PERIKANAN**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ENZIMATIK DAN IDENTIFIKASI BAKTERI KANDIDAT PROBIOTIK DARI GASTROINTESTINAL NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) DANAU RANAU, LAMPUNG BARAT

Oleh

RIKA IWAN SYAHPUTRI

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Danau Ranau, Lampung Barat, memiliki keunggulan yaitu ukuran yang lebih besar sekitar 500 hingga 600 g per ekor, rasa yang lebih gurih, daging yang tebal, dan tidak berbau lumpur. Keunggulan tersebut sangat mungkin dipengaruhi oleh adanya bakteri di dalam ikan yang dapat dijadikan sebagai bakteri probiotik. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh isolat bakteri, mengevaluasi aktivitas enzimatik, dan mendapatkan bakteri kandidat probiotik dari gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Danau Ranau, Lampung Barat. Penelitian ini menggunakan metode eksploratif dengan isolasi bakteri, identifikasi, dan uji aktivitas enzimatik. Hasil penelitian menunjukkan bakteri yang diisolasi dari gastrointestinal ikan nila Ranau diperoleh 12 isolat bakteri. Sebanyak 10 isolat bakteri menghasilkan aktivitas amilase, 12 isolat bakteri menghasilkan aktivitas lipase dan protease yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekeliling koloni bakteri. Isolat bakteri UNR.11 menunjukkan ketiga aktivitas enzimatik dengan zona bening terbesar yaitu $25,5 \pm 2,80$ mm pada enzimatik amilase, $20,4 \pm 1,2$ mm pada enzimatik lipase, dan $22,7 \pm 4,06$ mm pada enzimatik protease. Berdasarkan identifikasi bakteri melalui uji makroskopis, mikroskopis, biokimia, dan analisis sekuens 16S rDNA, isolat bakteri teridentifikasi merupakan *Bacillus cereus* UNR.11 dengan kemiripan tertinggi sebesar 99%. *Bacillus cereus* UNR.11 berpotensi sebagai kandidat probiotik memiliki aktivitas enzimatik pencernaan, amilase, lipase, dan protease.

Kata Kunci : Aktivitas Enzimatis, Bakteri Probiotik, Gastrointestinal, Ikan Nila

ABSTRACT

ENZYMATIC ACTIVITY TESTING AND IDENTIFICATION OF PROBIOTIC BACTERIA CANDIDATE FROM GASTROINTESTINAL NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) FROM RANAU LAKE, WEST LAMPUNG.

By

RIKA IWAN SYAHPUTRI

The tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivated in Lake Ranau, West Lampung, had several advantages, including larger sizes of about 500 to 600 g per fish, a richer taste, thicker flesh, and no muddy smell. These advantages were likely influenced by the presence of probiotic bacteria in the fish. The purpose of this study was to isolate bacteria, evaluated enzymatic activities, and identify probiotic candidate bacteria from the gastrointestinal tract of tilapia (*Oreochromis niloticus*) raised in Lake Ranau, West Lampung. This research employed an exploratory method with bacterial isolation, identification, and enzymatic activity testing. The results showed that 12 bacterial isolates were obtained from the gastrointestinal tract of tilapia from Lake Ranau. 10 bacterial isolates exhibited amylase activity, while all 12 showed bacterial isolates lipase and protease activities, indicated by the formation of clear zones around the bacterial colonies. The bacterial isolate UNR.11 exhibited all three enzymatic activities with the largest clear zones $25,5 \pm 2,80$ mm for amylase activity, 20.4 ± 1.2 mm for lipase activity, and 22.7 ± 4.06 mm for protease activity. Based on the bacterial identification through macroscopic, microscopic, biochemical tests, and 16S rDNA sequencing analysis, the bacterial isolate was identified as *Bacillus cereus* UNR.11 with the highest similarity of 99%. *Bacillus cereus* UNR.11 has as the potential as a probiotic candidate with digestive enzymatic activities of amylase, lipase, and protease.

Keywords: Enzymatic Activity, Probiotic Bacteria, Gastrointestinal, Tilapia

Judul Skripsi

**: UJI AKTIVITAS ENZIMATIK DAN
IDENTIFIKASI BAKTERI KANDIDAT
PROBIOTIK DARI GASTROINTESTINAL
NILA *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)
DANAU RANAU, LAMPUNG BARAT**

Nama Mahasiswa

: Rika Twan Syahputri

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2014111039

Program Studi

: Budidaya Perairan

Jurusan

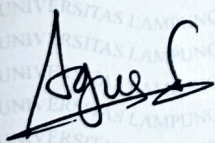
: Perikanan dan Kelautan

Fakultas

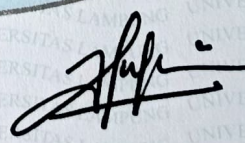
: Pertanian

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

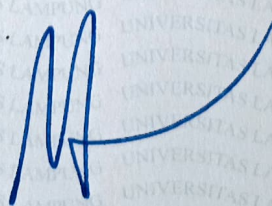


Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP. 198408052009121003



Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.
NIP. 199001282019032018

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan



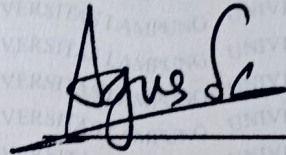
Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.
NIP. 198309232006042001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

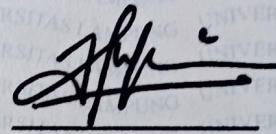
Ketua

: Dr. Agus Setyawan, S.Pi, M.P.



Sekretaris

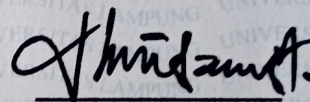
: Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Limin Santoso, S.Pi., M.Si.

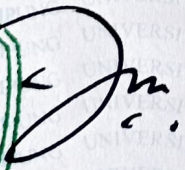


2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

NIP. 196411/181989021002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 Februari 2025

RIWAYAT HIDUP

Penulis memiliki nama lengkap Rika Iwan Syahputri. Lahir pada 13 Juni 2002 di Bandar Lampung, Provinsi Lampung. Penulis adalah anak pertama dari Bapak Iwan Riduan dan Ibu Sri Lestari. Penulis menempuh pendidikan di SDN 1 Karang Maritim pada tahun 2008-2014, lalu melanjutkan pendidikan di SMPN 16 Bandar Lampung pada tahun 2014-2017, kemudian melanjutkan pendidikan di SMAN 6 Bandar Lampung pada tahun 2017-2020.

Penulis melanjutkan pendidikan strata-1 (S1) pada Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2020. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjalani magang/PKL di Balai Budidaya Ikan (BBI) Metro pada tahun 2022. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar pada tahun 2022 dan Manajemen Kesehatan Ikan pada tahun 2023. Penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) sebagai anggota Bidang Kewirausahaan dan pernah menjadi Bendahara Pelaksana acara FIEXPO tahun 2023.

Penulis menjalankan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) pada Januari-Februari tahun 2023 di Desa Cipta Waras, Kecamatan Gedung Surian, Kabupaten Lampung Barat. Penulis juga melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Besar

Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung dengan judul “Pembesaran Lobster Pasir (*Panulirus homarus*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL), Lampung. Penulis melaksanakan penelitian di Danau Ranau, Lampung Barat, Provinsi Lampung dengan judul “Uji Aktivitas Enzimatik dan Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik dari Gastrointestinal Nila *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Danau Ranau, Lampung Barat”.

Untuk orang tua tercinta, Ibu Sri Lestari dan Bapak Iwan Riduan,
serta adik-adik yang tiada henti selalu mendoakan yang terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Tuhan yang Maha Esa, karena atas rahmat dan hidayah-Nya skripsi ini dapat diselesaikan.

Skripsi dengan judul “*Uji Aktivitas Enzimatik dan Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik dari Gastrointestinal Nila Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) Danau Ranau, Lampung Barat*” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Universitas Lampung atas dana riset yang diberikan melalui Hibah Riset BLU Unila tahun 2024;
2. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan FP Unila;
3. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan;
4. Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P. selaku Koordinator Program Studi Budidaya Perairan sekaligus Dosen Pembimbing Utama;
5. Hilma Putri Fidyandini, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pembantu/Sekretaris dan Pembimbing Akademik;
6. Limin Santoso, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Penguji Utama;
7. Kedua orang tua ibu Sri Lestari dan Bapak Iwan Riduan.

Bandar Lampung, Maret 2025

Rika Iwan Syahputri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
1.4 Kerangka Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	5
2.2 Danau Ranau	6
2.3 Probiotik di Akuakultur.....	7
2.4 Mikrobioma Usus Ikan.....	8
2.5 Enzim Amilase	8
2.6 Enzim Protease	9
2.7 Enzim Lipase	9
2.8 Mekanisme Kecernaan Pakan	10
III. METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.1.1 Waktu Penelitian	11
3.1.2 Tempat Penelitian.....	11
3.2 Bahan dan Alat	11
3.2.1 Bahan.....	11
3.2.2 Alat	12
3.3 Rancangan Penelitian	13
3.4 Prosedur Penelitian.....	13
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	13
3.4.2 Pembuatan Media	13
3.4.2.1 Media MRSA (<i>deMan Rogosa Sharpe Agar</i>).....	13
3.4.2.2 Media TSA (<i>Tryptic Soy Agar</i>) dan TSB (<i>Tryptic Soy Broth</i>)	14
3.4.2.3 Media Selektif Enzim Amilase, Lipase, dan Protease	14
3.4.2.4 Media <i>Sulfide Indole Motility</i> (SIM).....	14

3.4.2.5 Media O/F Basal	15
3.4.3 Pengambilan <i>Sample</i>	15
3.4.4 Isolasi Bakteri.....	15
3.4.5 Pemurnian Bakteri.....	15
3.4.6 <i>Skrining</i> Bakteri Asam Laktat (BAL)	16
3.4.7 Uji Aktivitas Enzimatik.....	16
3.4.7.1 Uji Aktivitas Amilase	16
3.4.7.2 Uji Aktivitas Lipase	16
3.4.7.3 Uji Aktivitas Protease	16
3.4.8 Identifikasi Kandidat Probiotik	17
3.4.8.1 Karakteristik Bakteri.....	17
3.4.9 Uji Biokimia.....	18
3.4.9.1 Uji Katalase.....	18
3.4.9.2 Uji Motilitas.....	18
3.4.9.3 Uji Oksidatif/Fermentatif.....	18
3.4.10 Analisis Sekuens 16S rDNA	18
3.5 Analisis Data	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1 Hasil.....	19
4.1.1 Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik	19
4.1.2 Aktivitas Enzimatik.....	19
4.1.3 Identifikasi Bakteri Kandidat Probiotik	21
4.1.3.1 Uji Makroskopis	21
4.1.3.2 Uji Mikroskopis	21
4.1.4 Uji Biokimia.....	22
4.1.5 Analisis Sekuens 16S rDNA	23
4.2 Pembahasan.....	25
V. SIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Simpulan.....	29
5.2 Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Bahan penelitian.....	10
2. Alat penelitian	12
3. Nilai diameter zona bening ketiga aktivitas enzimatik	20
4. Morfologi koloni bakteri.....	21
5. Morfologi sel bakteri.....	22
6. Uji biokimia isolat bakteri.....	22
7. Analisis BLAST dari bakteri UNR.11	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	4
2. Ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	5
3. Budi daya ikan nila di Danau Ranau.....	6
4. Zona bening aktivitas enzimatik	19
5. Urutan sekuens basa nukleotida bakteri UNR.11 dalam format Fasta.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Dokumentasi penelitian.....	39
2. Data hasil penjajaran sekuens	40
3. Uji katalase.....	42
4. Uji motilitas.....	42
5. Uji O/F	42
6. Analisis BLAST.....	42
7. Gambar hasil pengamatan makroskopis isolat bakteri	44
8. Gambar hasil pengamatan mikroskopis isolat bakteri	45

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perikanan budi daya merupakan salah satu bagian penting di sektor perikanan Indonesia dalam mendukung ketahanan pangan dan perkembangan sektor ekonomi (Sambuaga et al., 2016). Menurut data Kementerian Kelautan dan Perikanan pada tahun 2022, perikanan budi daya mengalami peningkatan produksi yang didominasi oleh komoditas ikan air tawar salah satunya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Berdasarkan komposisi produksi triwulan IV tahun 2022 ikan nila mencatat produksi tertinggi sebesar 482,25 ribu ton dan peningkatan pertumbuhan sebesar 43,71% (KKP, 2022). Ikan nila merupakan salah satu komoditas ikan air tawar yang potensial untuk dikembangkan dan termasuk dalam komoditas yang banyak dibudidayakan karena memiliki gizi yang tinggi dan tingkat pertumbuhan yang cepat (Nakkina, 2016). Tingginya permintaan pasar baik di kalangan masyarakat lokal maupun global menjadikan ikan nila masuk ke dalam fokus lima komoditas unggulan yang dikembangkan di sektor perikanan budi daya Indonesia diantaranya ikan nila, rumput laut, lobster, kepiting, dan udang (KKP, 2024).

Ikan nila dapat dibudidayakan di kolam, danau, sungai, dan tambak (Ningrum, 2012). Salah satu danau yang dapat dijadikan sebagai tempat budi daya ikan nila adalah Danau Ranau yang terletak di Lumbok Seminung, Lampung Barat. Pada tahun 2022 Dinas Perikanan Kabupaten Lampung Barat mencatat, terdapat kurang lebih 450 unit keramba jaring apung (KJA) dengan komoditas yang mendominasi adalah ikan nila. Ikan nila Danau Ranau memiliki keunggulan yaitu ukuran yang lebih besar sekitar 500 hingga 600 g per ekor, rasa yang lebih gurih, daging yang tebal, dan tidak berbau lumpur dibandingkan dengan ikan nila yang umumnya dijumpai di pasar.

Hal ini dikarenakan kondisi kualitas perairan danau yang masih baik, sehingga mempengaruhi pertumbuhan ikan (Wibowo et al., 2021). Keunggulan ikan nila yang dibudidayakan di Danau Ranau dan perbedaan ikan nila lokal di pasaran salah satunya juga dipengaruhi oleh keberadaan bakteri di dalam tubuh ikan nila yang dapat dijadikan sebagai bakteri probiotik untuk membantu mengoptimalkan penyerapan pakan. Pada penelitian Noor et al. (2023), menyatakan bahwa bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan ikan nila sebagai probiotik kandidat berpengaruh pada pertumbuhan ikan dua kali lebih cepat. Bakteri yang terdapat dalam saluran pencernaan hewan memiliki peran penting dalam meningkatkan pemanfaatan pakan, kesehatan ikan, dan perbaikan lingkungan mikroorganisme (Watson et al., 2008).

Pemanfaatan bakteri yang berasal dari saluran pencernaan ikan sebagai kandidat probiotik sudah banyak dilakukan. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan efek positif meningkatkan keseimbangan flora usus, meningkatkan pencernaan pakan, dan kesehatan inangnya (Nayak, 2010). Beberapa penelitian sebelumnya, bakteri kandidat probiotik telah berhasil diisolasi dari saluran pencernaan. Pada penelitian Sarbaini et al. (2016), menghasilkan bakteri kandidat *Bacillus* sp. dan *Lactobacillus* sp dari ikan nila. Selain itu, bakteri yang diisolasi dari ikan nila menghasilkan bakteri *Lactobacillus* sp (Pangaribuan & Sembiring, 2022). Pada ikan kakap putih diperoleh bakteri *Bacillus* dan *Staphylococcus* (Kaltsum & Mutmainah, 2024).

Aplikasi bakteri saluran pencernaan sebagai probiotik tidak lepas dari aktivitas enzimatis di dalam tubuh ikan (Rojtinnakorn et al., 2012). Salah satu peran bakteri probiotik dalam aspek nutrisi adalah membantu mekanisme pencernaan makanan dengan memproduksi berbagai jenis enzim ekstraseluler seperti enzim protease, enzim amilase, dan enzim lipase (Wang et al., 2018). Pada pakan enzim tersebut menghidrolisis nutrisi dengan memecah ikatan panjang protein, karbohidrat, dan lemak dalam proses pencernaan makanan (Komari & Susilo, 2021). Berdasarkan uraian di atas, belum dilakukan pengkajian terkait bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan ikan nila Danau Ranau serta pengujian aktivitas enzimatisnya. Sehingga dilakukan penelitian ini untuk mengisolasi bakteri pada

saluran pencernaan (*gastrointestinal*) ikan nila Danau Ranau serta menguji aktivitas enzimatisnya sebagai kandidat probiotik.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Memperoleh isolat bakteri kandidat probiotik dari gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Danau Ranau, Lampung Barat.
2. Mengevaluasi aktivitas enzimatis bakteri kandidat dari gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Danau Ranau, Lampung Barat.
3. Mendapatkan bakteri kandidat probiotik untuk budi daya tawar.

1.3 Manfaat Penelitian

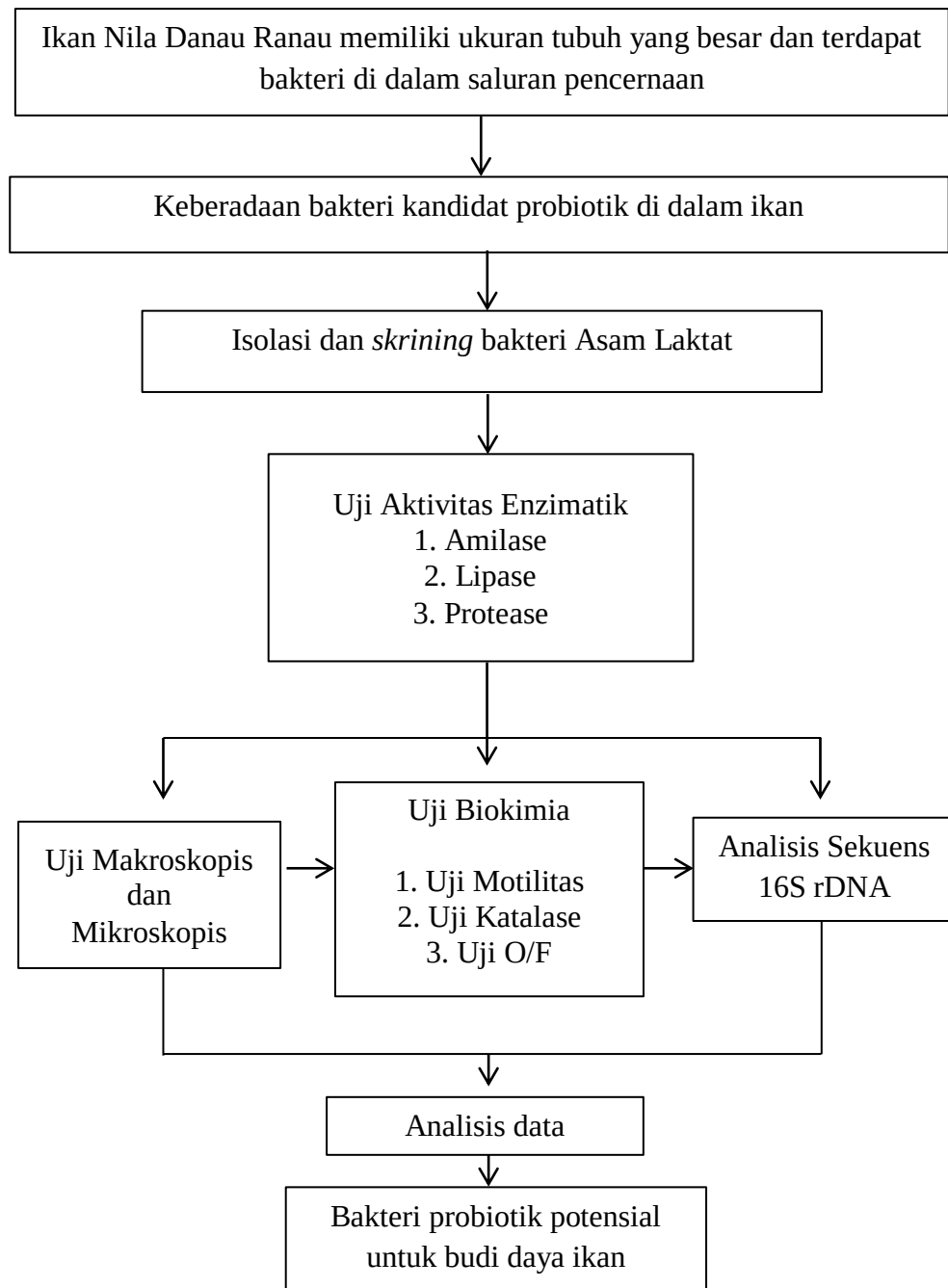
Penelitian ini diharapkan dapat memperoleh isolat kandidat probiotik dari gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang bermanfaat bagi budi daya ikan air tawar.

1.4 Kerangka Penelitian

Ikan nila adalah komoditas unggulan yang mampu dibudidayakan di keramba jaring apung. Ikan nila yang dibudidayakan di Danau Ranau memiliki keunggulan ukuran yang lebih besar sekitar 500 hingga 600 g per ekor, rasa yang lebih gurih, daging yang tebal, dan tidak berbau lumpur dibandingkan dengan ikan nila yang umumnya dijumpai di pasar. Ikan nila termasuk ke dalam jenis ikan omnivora yang mempunyai usus yang lebih panjang dibanding ikan karnivora. Di dalam saluran pencernaan ikan nila terdapat bakteri yang beragam, berfungsi sebagai kandidat probiotik yang membantu proses keberlangsungan hidup Ikan Nila.

Bakteri tersebut juga dapat menghasilkan enzim yang membantu dalam pemecahan zat-zat makanan yang kompleks didalam tubuh untuk membantu mekanisme pertahanan terhadap kesehatan, pertumbuhan, dan proses cerna makanan. Oleh karena itu, dilakukannya penelitian ini untuk memperoleh isolat dan aktivitas

enzimatik kandidat probiotik gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Kerangka pikir penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Klasifikasi ikan nila menurut Saanin (1984) sebagai berikut.

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Kelas	: Osteichtyes
Ordo	: Percomorphii
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Ikan nila mempunyai bentuk tubuh memanjang dan ramping, lebar badan ikan nila umumnya sepertiga dari panjang badannya. Matanya yang menonjol dan besar dengan tepi mata berwarna putih. Posisi mulut ikan nila terletak di ujung hidung (*terminal*) dan dapat disembulkan (Suyanto, 2003). Ikan nila mempunyai sisik *cycloid* di seluruh tubuhnya dan memiliki lima sirip yaitu sirip punggung (*dorsal fin*), sirip dada (*pectoral fin*), sirip perut (*ventral fin*), sirip anus (*anal fin*) dan sirip ekor (*caudal fin*) dengan jumlah sirip yang berbeda-beda (Amri et al., 2007) yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

2.2 Danau Ranau

Danau Ranau (Gambar 3) memiliki luas sebesar 2.700 ha, ketinggian permukaan 1.772 ft, dan kedalaman danau sebesar 571 ft (Sumino et al., 2017) yang merupakan danau terluas kedua di Sumatera setelah Danau Toba. Danau Ranau terbagi menjadi dua bagian wilayah yaitu di Kabupaten Ogan Komering Ulu Selatan (OKU Selatan) yang dapat dijadikan untuk wisata dan di wilayah Kecamatan Lumbok Seminung, Kabupaten Lampung Barat dimanfaatkan masyarakat sebagai tempat untuk budi daya menggunakan keramba jaring apung (KJA).

Jenis ikan yang dibudidayakan sebagian besar adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang memiliki potensi tinggi dan paling diminati (Fidyandini et al., 2023). Dalam sektor perikanan, wilayah Danau Ranau memiliki potensi yang signifikan untuk kehidupan biota akuatik ditunjukkan dengan kualitas air seperti suhu, pH, oksigen terlarut, dan karbon dioksida yang cukup baik (Herlan & Wulandari, 2021) terutama dalam pengembangan budi daya ikan menggunakan sistem keramba jaring apung (KJA). Sistem budi daya keramba jaring apung ditempatkan diperairan seperti danau, waduk, dan teluk dengan menggunakan wadah berupa kantong jaring yang mengapung bantuan pelampung (Emilyasari, 2018).



Gambar 3. Budi daya ikan nila di Danau Ranau

2.3 Probiotik di Akuakultur

Probiotik dalam akuakultur didefinisikan suplemen pakan yang mengandung hidup yang memberikan manfaat bagi inangnya, salah satunya dengan membantu memperbaiki keseimbangan mikroba di saluran pencernaan (Irianto, 2004). Probiotik didalam usus inang berperan sebagai pelindung (*barrier*) terhadap pertumbuhan patogen (Ginting et al., 2018). Pemberian probiotik dapat membantu dalam penyerapan nutrisi pakan ke dalam tubuh dan meningkatkan imunitas tubuh, dengan begitu memacu pertumbuhan biota akuatik menjadi lebih optimal (Basir, 2013).

Prinsip dasar mekanisme probiotik terletak pada kemampuan organisme tersebut dalam memecah rantai panjang karbohidrat, protein, dan lemak (Sembiring et al., 2021). Kemampuan ini terjadi karena adanya enzim khusus yang dimiliki oleh mikroorganisme, memungkinkan mereka untuk memecah ikatan molekul kompleks. Proses pemecahan molekul kompleks ini mempermudah penyerapan nutrisi pada saluran pencernaan inang. Sementara mikroorganisme pemecah ini memperoleh keuntungan berupa energi yang dihasilkan dari proses perombakan molekul kompleks (Widyaningsih, 2011). Dalam meningkatkan kualitas nutrisi pakan, bakteri yang terdapat dalam probiotik berperan dalam mekanisme produksi beberapa jenis enzim pencernaan, seperti amilase, protease, lipase, dan selulase. Oleh karena itu, probiotik akan membantu ikan dalam mencerna makanan lebih efektif. Didukung dengan sifat fisiologis dan kondisi lingkungan inang yang akhirnya mempengaruhi efisiensi probiotik tertentu (Lazado et al., 2015).

Probiotik dapat mengandung satu atau beberapa strain mikroorganisme, dan dapat langsung dicampur dalam air atau pakan ikan dan dikonsumsi melalui pemberian pakan (Opiyo et al., 2019). Menurut Nathanailides et al. (2021), manfaat penggunaan probiotik atau protein sel tunggal untuk pencegahan penyakit, pengurangan penularan penyakit, peningkatan efisiensi konversi pakan, dan peningkatan proliferasi mikrobiota usus yang sehat pada akhirnya dapat menghasilkan kinerja pertumbuhan dan aktivitas antioksidan yang lebih baik.

Mikroorganisme probiotik lain yang telah disetujui oleh Uni Eropa untuk digunakan dalam pakan ternak sebagai aditif pakan meliputi *Bacillus cereus* var. *toyoi*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*), *Enterococcus* spp. (*Enterococcus faecium*), *Lactobacillus* spp. (*Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. farciminis*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*), *Pediococcus* (*P. acidilactici*) (Ringo, 2020).

2.4 Mikrobioma usus ikan

Mikrobioma usus ikan adalah ekosistem kompleks yang mengandung bakteri yang beragam dan melimpah. Mikrobioma usus mengalami interaksi dalam perkembangan inang, kesehatan, dan manajemen penyakit di sebagian besar organisme (Sharma & Thaiss, 2020). Mikrobiota usus dianggap sebagai faktor kunci memperkuat daya tampung metabolisme dan memberikan dampak yang baik terhadap nutrisi inangnya (Wang et al., 2018). Sehingga berhubungan erat dengan pertumbuhan dan perkembangan ikan (Ghanbari et al., 2015).

Metabolisme mikrobiota usus dipengaruhi oleh berbagai faktor dengan seiring perubahan pola makan ikan dan kondisi lingkungan yang berbeda termasuk suhu, pH, dan oksigen (Liu et al., 2016). Pembentukan komposisi mikrobioma usus oleh kombinasi faktor lingkungan, biologis, dan perilaku yang secara umum memengaruhi komunitas mikroba spesies ikan (Bertoncin et al., 2022).

2.5 Enzim Amilase

Amilase adalah enzim yang memainkan peran penting dalam proses pertumbuhan ikan (Upreti et al., 2019). Enzim ini berperan dalam menghidrolisis molekul pati menjadi gula sederhana seperti oligosakarida, maltosa, dekstrin, dan glukosa. Pati merupakan polisakarida utama yang dicerna dalam bahan pakan nabati yang digunakan akuakultur (Francis et al., 2001). Karakteristik amilase berperan penting menghasilkan aktivitas enzim amilase. Enzim amilase adalah enzim yang memiliki kemampuan larut dalam air dan memiliki efek non toksik terhadap lingkungan (Ramadhan & Wikandari, 2021).

2.6 Enzim Protease

Enzim protease berfungsi meningkatkan kemampuan ikan mencerna protein, sehingga buangan protein atau nitrogen melalui feses akan berkurang. Bakteri yang dapat menghasilkan enzim protease disebut bakteri proteolitik dan terbukti bermanfaat untuk ikan (Nopitawati, 2010). Keberadaan bakteri proteolitik didalam saluran pencernaan ikan adalah salah satu adaptasi dalam mencerna substansi kompleks berupa protein dalam waktu yang sangat singkat.

Protease merupakan enzim proteolitik yang mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Protease dibutuhkan secara fisiologi untuk kehidupan organisme pada tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme. Protease tidak hanya berperan dalam proses metabolisme seluler, namun juga dapat diaplikasikan dalam bidang industri. Enzim ini juga merupakan salah satu enzim skala industri dengan tingkat penjualan hingga 60% dari total penjualan enzim didunia (Bella et al., 2020).

2.7 Enzim Lipase

Enzim lipase adalah enzim yang bekerja untuk menghidrolisis lemak dan minyak. Peranan penting berdasarkan fisiologisnya enzim lipase menghidrolisis asam lemak dan gliserol yang dibutuhkan dalam proses metabolisme (Poedjiadi & Supriyanti, 2009). Enzim lipase dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan sebagai biokatalis (Sana et al., 2004). Enzim yang berasal dari mikroorganisme dapat dihasilkan dari beberapa sumber seperti bakteri, jamur, dan khamir (Saxena et al., 2003). Mikroorganisme unggul dalam memproduksi lipase dalam jumlah besar menggunakan media sederhana, lipase yang dihasilkan oleh mikroorganisme ketersediaannya tidak tergantung pada musim (Chandra et al., 2020). Beberapa metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas enzim lipase dengan interfacial, tensiometri, kromatografi, konduktometri, titrimetri, dan spektrofotometri (Murni et al., 2015).

2.8 Mekanisme Kecernaan Pakan

Kemampuan ikan dalam mencerna makanan sangat bergantung pada kelengkapan organ pencernaan yang bekerja langsung dalam proses pencernaan dan ketersediaan enzim pencernaan (Pratama, 2019). Kandungan nutrisi pakan nampaknya berpengaruh pula pada aktivitas enzim pencernaan (Fitriyanti, 2011). Kecernaan adalah indikasi untuk menunjukkan berapa banyak pakan yang dikonsumsi ikan dan tidak dikeluarkan menjadi feses (Affandi et al., 1992). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kecernaan pakan yaitu keberadaan enzim dalam saluran pencernaan, tingkat aktivitas enzim, dan durasi pakan yang bereaksi dengan enzim pencernaan (Liao et al., 2015). Nutrien yang berhasil dicerna dan diserap selanjutnya dialirkan oleh pembuluh darah menuju hati dan digunakan dalam proses metabolisme. Peranan hati sangat penting dalam metabolisme karbohidrat dan lemak (Arifin, 2015).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

3.1.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret hingga November tahun 2024.

3.1.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di keramba jaring apung (KJA) Danau Ranau, Lampung Barat dan Laboratorium Produktivitas, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Bahan penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merk	Fungsi Kegunaan
1	Aquades	-	-	Pelarut bahan kimia.
2	Alkohol	70%	-	Bahan untuk melakukan sterilisasi.
3	Sampel usus dan lambung	-	-	Sampel yang akan diuji.
4	Media MRSA	-	Himedia	Media agar menumbuhkan bakteri.
5	Media TSB	-	Merck	Media cair menumbuhkan bakteri.
6	Media TSA	-	Merck	Media agar menumbuhkan bakteri.
7	PBS	pH 7	Mitra lab	Pelarut sampel.
8	Crystal violet	-	Pupick med	Pewarnaan Gram.
9	Safranin	-	Pupick med	Pewarnaan Gram.
10	Lugol	-	Pupick med	Pewarnaan Gram
11	Spritus	-	-	Bahan bakar bunsen.
12	Minyak Imersi	-	Indo reagen	Memperjelas objek.

No	Nama Bahan	Konsentrasi	Merk	Fungsi Kegunaan
13	H ₂ O ₂	-	Lab mitra	Larutan uji.
14	<i>Skim Milk Agar</i>	-	Himedia	Media uji
15	Minyak zaitun	-	Tatco	Larutan uji.
16	<i>Starch Agar</i>	-	Himedia	Media uji

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Alat penelitian

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merk	Fungsi Kegunaan
1	Alat bedah	-	Gold cross	Alat bedah ikan uji.
2	Cawan petri	-	Anumbra	Wadah media bakteri.
3	Bunsen	Ketebalan 3-4mm	Rofa lab	Alat sterilisasi.
4	Erlenmeyer	Kapasitas 500 ml	PYREX	Wadah membuat media.
5	Spatula	-	Labmart	Mengambil bahan bentuk serbuk.
6	Mikro pipet	Ukuran 0,5-10 μ l	DLAB	Mengambil larutan volume mikro.
7	<i>Alumunium foil</i>	-	Klinpak	Menutup alat yang diperlukan.
8	Jarum ose	-	-	Mengambil koloni bakteri.
9	Spreader	-	-	Alat meratakan bakteri ke media.
10	Mikroskop	-	Leica	Mengamati bakteri.
12	Kaca objek	Ketebalan 1,2 mm	Sailbran d	Meletakkan bakteri pada mikroskop.
13	<i>Hot plate</i>	Max volume 2000 ml	SH-2 digital	Memanaskan larutan.
14	Inkubator	360x280x360 mm	INC 100	Inkubasi sampel.
15	<i>Magnetic stirrer</i>	Ukuran 4 cm	-	Menghomogenkan larutan.
16	Lemari pendingin	187 L	LG	Penyimpanan sampel dan media.
17	<i>Coolbox</i>	24S	Lion star	Meletakkan sampel uji.
18	<i>Laminar flow</i>	Ukuran 71x26x50	Nuaire	Ruang kerja kaca aseptis.
19	Tabung reaksi	Volume 15 ml	Iwaki	Wadah media bakteri.
20	Label	-	T&J	Penanda sampel.
21	Rak tabung	Bahan kayu	-	Meletakkan tabung.

No	Nama Alat	Konsentrasi	Merk	Fungsi Kegunaan
22	<i>Autoclaf</i>	Volume 24 L	Gea Y X24LDJ	Mensterilkan alat dan bahan uji.
23	Timbangan digital	Ketelitian 0,01	OEM	Menimbang bahan.
24	Kamera	-	Xiaomi	Mendokumentasikan kegiatan.
25	Plastik wrapping	-	Klinpak	Membungkus cawan petri.
26	Karet gelang	-	-	Mengikat plastik tahan panas.
27	Tabung <i>corning</i>	Volume 15 ml	Onemed	Menyimpan Sampel.
28	<i>Vortex</i>	200-2500 rpm	Stuart scientific	Menghomogenkan Sampel.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksploratif dengan pengambilan sampel secara langsung di lokasi Keramba Jaring Apung (KJA) Danau Ranau, Lampung Barat untuk mengisolasi, menguji, dan mengidentifikasi bakteri kandidat probiotik yang berasal dari gastrointestinal ikan nila (*Oreochromis niloticus*) Danau Ranau, Lampung Barat.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang berbahan kaca dicuci terlebih dahulu hingga bersih, didekang, dan dibungkus selanjutnya dimasukkan kedalam plastik tahan panas. Bahan yang disterilisasi berupa media agar yang dilarutkan di dalam erlenmeyer dan ditutup menggunakan *aluminium foil*. Alat dan bahan disterilisasi dengan metode basah menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit. Sterilisasi alat dan bahan lainnya menggunakan bunsen dan alkohol 70%.

3.4.2 Pembuatan Media

3.4.2.1 Media MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*)

Media MRSA ditimbang sebanyak 34,1 g lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 500 ml akuades steril. Larutan dipanaskan dan diaduk

hingga homogen menggunakan *hot plate* dan *magnetic stirrer*. Media yang sudah larut di dalam erlenmeyer ditutup dengan kapas dan kasa lalu dibungkus dengan plastik tahan panas untuk disterilisasi menggunakan *autoclaf* pada suhu 121° C selama 15 menit.

3.4.2.2 Media TSA (*Triptic Soy Agar*) dan TSB (*Triptic Soy Broth*)

Media TSA ditimbang sebanyak 20 g dan ditambahkan 500 ml akuades steril. Larutkan media menggunakan erlenmeyer yang sudah ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* di atas *hot plate* dan *magnetic stirrer* hingga homogen. Media disterilisasi menggunakan *autoclaf* pada suhu 121° C selama 15 menit.

Pembuatan media TSB dilakukan dengan cara menimbang media sebanyak 15 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan 500 ml akuades steril dan tutup menggunakan kapas dan *aluminium foil*. Homogenkan larutan di atas *hot plate* dan disterilisasi menggunakan *autoclaf* pada suhu 121° C selama 15 menit.

3.4.2.3 Media Selektif Enzim Amilase, Lipase, dan Protease

Pembuatan medium agar selektif amilase menggunakan media spesifik *stach* agar, dihomogenkan dengan *hot plate* dan *magnetic stirrer* lalu dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan. Media diinkubasi selama 24 jam.

Pembuatan medium agar selektif lipase menggunakan media TSA dengan penam-bahan minyak zaitun sebanyak 2 ml untuk 100 ml media TSA. Selanjutnya media dihomogenkan di atas *hot plate* dan *magnetic stirrer*, dituangkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam di dalam lemari pendingin.

Pembuatan medium agar selektif protease menggunakan media spesifik *skim milk* agar, media dihomogenkan dengan bantuan *hot plate* dan *magnetic stirrer* lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam.

3.4.2.4 Media *Sulfide Indole Motility* (SIM)

Media SIM ditimbang sebanyak 30 g, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 1000 ml akuades steril. Media SIM disterilisasi dan dituang-

kan ke dalam tabung reaksi dengan posisi tegak, kemudian dimasukkan ke lemari pendingin.

3.4.2.5 Media O/F Basal

Media O/F ditimbang 0,938 g dan ditambahkan glukosa sebanyak 1 g dalam 100 ml akuades steril. Media O/F dihomogenkan menggunakan *hotplate* dan disterilisasi menggunakan *autoclave*.

3.4.3 Pengambilan *Sample*

Sample diambil secara langsung dari ikan yang dibudidayakan di keramba jaring apung (KJA) Danau Ranau Lumbok Seminung, Lampung Barat. Ikan yang digunakan berjumlah 3 ekor. Pengambilan ikan dibantu dengan alat berupa jaring kemudian ikan dibius menggunakan minyak cengkeh dan dibedah secara aseptik menggunakan alat bedah untuk diambil bagian saluran pencernaan yaitu usus dan lambung. Selanjutnya usus dan lambung dihancurkan menggunakan mortar porselen yang kemudian diambil dan dimasukkan kedalam larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*.

3.4.4 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil sebanyak 100 µl sampel lalu diinokulasikan ke dalam media TSA dengan metode *spread plate* (cawan sebar) yang kemudian diinkubasi selama 24-48 jam untuk diamati koloni bakteri yang tumbuh.

3.4.5 Pemurnian Bakteri

Bakteri yang tumbuh dari hasil isolasi akan dimurnikan berdasarkan perbedaan yang dimiliki dari warna, bentuk, dan ukurannya. Setiap bakteri yang memiliki karakter berbeda diinokulasikan menggunakan jarum ose steril pada media TSA miring. Isolat bakteri diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam untuk menumbuhkan bakteri.

3.4.6 *Skrining* Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri tunggal selanjutnya diinokulasikan ke media selektif BAL menggunakan media MRSA. Diambil sebanyak satu koloni bakteri dan dipindahkan dengan metode streak plate dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° C. Bakteri yang mengandung asam laktat akan tumbuh dan membentuk koloni pada media spesifik MRSA.

3.4.7 Uji Aktivitas Enzimatik

3.4.7.1 Uji Aktivitas Amilase

Uji aktivitas enzimatik dilakukan pada isolat bakteri berguna untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim yang dapat meningkatkan pencernaan nutrisi pada inang (Agustina et al., 2022). Pada uji aktivitas amilase koloni tunggal murni ditetaskan ke *paper disk* steril sebanyak 10 µl lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Selanjutnya, media ditetaskan larutan *iodine* di atas permukaan media hingga merata. Apabila terjadi proses hidrolisis pati pada bakteri maka ditandai dengan terbentuknya zona bening yang berada disekeliling koloni bakteri, jika tidak terjadi hidrolisis maka ditandai dengan berubahnya warna menjadi biru kehitaman disekitar koloni.

3.4.7.2 Uji Aktivitas Lipase

Pada uji aktivitas lipase menggunakan *paper disk* steril yang ditetaskan biakan bakteri yang sudah diinkubasi dalam media TSB cair. *Paper disk* diletakkan di atas media TSA yang mengandung minyak zaitun dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Indikator yang terjadi ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni yang menunjukkan media larut dan terhidrolisis.

3.4.7.3 Uji Aktivitas Protease

Uji aktivitas protease yang dilakukan menggunakan *paper disk* steril yang diletakkan di atas media *skim milk agar* sebanyak 10 µl, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C. Hasil uji aktivitas protease ditandai dengan ter-

bentuknya zona bening di sekeliling koloni bakteri, maka bakteri yang tumbuh mampu memproduksi enzim protease yang dapat mengurai protein.

3.4.8 Identifikasi Kandidat Probiotik

3.4.8.1 Karakterisasi Bakteri

Pengamatan koloni bakteri dilakukan dengan mengidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Makroskopis dengan melihat secara in situ bakteri yang tumbuh pada media agar meliputi warna, bentuk, tepi, permukaan, dan elevasi yang terbentuk. Mikroskopis dengan melakukan pewarnaan Gram yang berfungsi memberi warna pada sel bakteri untuk mempermudah pengamatan morfologi sel. Uji Gram dilakukan secara aseptik dengan menggunakan kaca objek yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Bakteri sebanyak satu jarum ose diambil dan digoreskan pada bagian tengah kaca objek sampai merata, difiksasi dengan menggunakan api bunsen. Pemberian kristal violet pada isolat bakteri sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Langkah selanjutnya pemberian lugol pada isolat bakteri hingga merata dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Isolat bakteri selanjutnya ditetesi alkohol 95% selama 30 detik, dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Terakhir pemberian safranin selama 30 detik, dibilas dengan akuades dan dikeringanginkan. Isolat bakteri diamati menggunakan mikroskop untuk mengetahui warna dan bentuk sel bakteri. Hasil yang diperoleh jika sel bakteri berwarna merah adalah bakteri Gram negatif dan jika hasil sel bakteri berwarna ungu adalah bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif ketika diamati dibawah mikroskop akan berwarna ungu, hal ini dikarenakan bakteri Gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tebal dibandingkan bakteri Gram negatif dan mampu mengikat kuat zat warna kristal violet ketika pemberian larutan pemucat selama proses pewarnaan gram (Hamidah et al., 2019). Menurut Nester et al. (2007), zat penghilang warna mendehidrasi lapisan peptidoglikan yang tebal dan dinding sel berfungsi menjadi penghalang sehingga menahan pewarna di dalam sel.

3.4.9 Uji Biokimia

3.4.9.1 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri yang dapat menghasilkan enzim katalase. Pengujian dilakukan dengan menggunakan kaca objek yang ditetaskan 1-2 larutan H_2O_2 3% dan ditambahkan koloni bakteri sebanyak satu ose untuk diamati proses penguraian hidrogen peroksida. Hasil yang diperoleh jika uji positif maka akan terbentuk gelembung pada kaca objek dan jika uji negatif maka yang terjadi sebaliknya, tidak akan terbentuk gelembung gas. Gelembung yang terbentuk pada uji katalase menunjukkan bakteri menghasilkan enzim katalase yang dapat mengubah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 .

3.4.9.2 Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui pergerakan bakteri. Satu ose koloni bakteri murni diinokulasikan dengan ditusuk lurus ke dalam media uji, lalu dilakukan proses inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C . Hasil yang diperoleh jika bakteri positif (*motil*) ditunjukkan dengan adanya penyebaran bakteri disekitar media tusukan dan jika hasil bakteri negatif (*non motil*) ditunjukkan dengan tidak adanya penyebaran bakteri disekitar tusukan media.

3.4.9.3 Uji Oksidatif/Fermentatif

Uji O/F bertujuan untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi bakteri terhadap glukosa. Uji ini menggunakan dua tabung yang salah satunya ditutup dengan parafin cair, sehingga diharapkan di dalam media tidak terdapat udara yang mendukung fermentasi. Tabung yang berisi media, lalu ditusukkan bakteri dan diinkubasi selama 24-48 jam.

3.4.10 Analisis Sekuens 16S rDNA

Proses identifikasi bakteri secara molekuler dilakukan dengan mengirim sampel isolat terpilih ke PT. INDOLAB UTAMA Cengkareng Jakarta Barat, dengan menggunakan teknik sekuensing yaitu melakukan perbandingan dengan

database nukleotida pada program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) secara online. Hasil yang diperoleh akan menunjukkan nama spesies dan tingkat kesamaan urutan nukleotida dari rDNA dengan urutan nukleotida dalam database *Gene Bank*. Menurut Madden, (2013) keputusan dalam menentukan tingkat kesesuaian sampel *query* dengan hasil BLAST didasarkan pada tiga aspek, yaitu *query cover*, *e-value*, dan *identity*. Hasil yang paling sama ditandai dengan nilai *query cover* mendekati 100%, *e-value* mendekati 0,0, dan *identity* mendekati 100% pada setiap *database*.

3.5 Analisis Data

Data-data yang diperoleh pada penelitian ini ditabulasi menggunakan *Microsoft Excel 2010*, dianalisis secara deskriptif, disajikan dalam bentuk gambar, dan tabel.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

1. Isolasi bakteri kandidat probiotik dari gastrointestinal ikan nila Danau Ranau diperoleh 12 isolat.
2. Isolat bakteri yang diperoleh memiliki kemampuan enzimatik sebanyak 10 isolat bakteri amilolitik, 12 isolat bakteri proteolitik, dan 12 isolat bakteri lipolitik. Terdapat 1 isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzimatik ditandai dengan terbentuknya zona bening terbesar dari masing masing uji sebesar $25,5 \pm 2,80$ mm pada uji amilase, $20,4 \pm 1,2$ mm pada uji lipase, dan $22,7 \pm 4,06$ mm pada uji protease.
3. Diperoleh bakteri kandidat probiotik berasal dari gastrointestinal ikan nila Danau Ranau teridentifikasi bakteri *Bacillus cereus* UNR.11.

5.2 Saran

Perlu kajian lebih lanjut pada isolat bakteri *Bacillus cereus* UNR.11 yang berasal dari gastrointestinal ikan nila Danau Ranau terkait patogenisitas dan aplikasi pada pakan ikan air tawar.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R., Sjafei, D.S., Rahardjo, M.F., & Sulistiono. (1992). *Fisiologi ikan*. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayati. IPB Bogor.
- Amri, K. & Khairuman. (2007). *Budidaya ikan nila secara intensif*. Agromedia Pustaka.
- Agustina., Saptiani, G., & Hidayat, S. (2022). Potensi bakteri asam laktat sebagai probiotik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam menghadapi penyakit bercak merah. *Jurnal Riset Akuakultur*, 17(4), 205-214. <http://doi.org/10.15578/jra.17.4.2022.205-214>.
- Andriani, Y., Anna, Z., Iskandar, S. Z., & Wiyatna, M. F. (2019). The effectiveness of commercial probiotics appropriation on feed on nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and feed conversion ratio. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology, & Environmental Science*, 21(1), 1-4. <https://www.researchgate.net/publication/332669237>.
- Andriyanto., & Yulianti, E. (2020). Identifikasi bakteri probiotik pada saluran pencernaan ikan semah (*Tor sp.*). *Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*, 3(2), 120-131. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v3i2.1804>.
- Arifin, P.P. (2015). Evaluasi pemberian ekstrak kunyit *Curcuma longa* Linn. pada pakan terhadap enzim pencernaan dan kinerja pertumbuhan ikan gurami *Osphronemus goramy*. Tesis. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Bairagi, A., Ghosh, K. S., Sen, S. K., & Ray, A. K. (2002). Enzyme prducing bacterial flora isolated from fish digestive tracts. *Aquaculture International*, 10, 109-121. <https://doi.org/10.1023/A:1021355406412>.
- Bartram, A. K., Lynch, M. D. J., Strearns, J. C., Hagelsieb, G. B., & Neufels, J. D. (2011). Generation of multimillion sequence 16S Rrna genelibraries from complex microbial communities by assembling paired and illumina reads. *Environmental Microbiology*, 77(11), 38-52. <https://doi.org/10.1128/AEM.02772-10>.
- Basir, B. (2013). Kinerja probiotik *Lactococcus lactis* dalam saluran pencernaan Udang Vanamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan pemberian pakan yang displemen probiotik kacang hijau (Tesis Tidak Terpublikasi). Universitas Hasanuddin.

- Benson. (2001). *Microbiological applications laboratory manual in general microbiology*. Eighth Edition. McGraw Hill Science Company : New York.
- Bella, S.S., Manoppo, H., Undap, S.L., Tumbol, R.A., & Ngangi, E.L.A. (2020). Seleksi probiotik *Lactobacillus* sp. dari usus ikan mas (*Cyprinus carpio*) potensial untuk akuakultur. *Budidaya Perairan*, 8(2), 29-41. <https://doi.org/10.35800/bdp.8.2.2020.29902>.
- Bertoncin, A. P. D. S., Tramonte, R. P., Pinha, G. D., Avanci, C. G., Oliveira, M. V. C., & Mormul, R. P. (2022). On the significance of wetlands: three decades of aquatic macroinvertebrate monitoring programs in a Neotropical floodplain. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 34(10), 1-13. <https://doi.org/10.1590/s2179-975x4721>.
- Chandra, P., Enespa. , Ranjan, S., & Pankaj, K. A. (2020). Mikrobial lipase and their industrial applications. *Biomedical and Pharmaceutical Sciences Journal*, 19(169), 1-42. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>.
- Dhanalakshmi, G., Reniprabha, A., & Chandarakala, A. (2015). Studies on the effect of commercial probiotic application in the growth of the fish, *Cyprinus carpio*. *International Journal of Advanced Research*, 3(8), 708-712. <http://www.journalijar.com>.
- Djide, N., & Sartini. (2006). *Dasar dasar mikrobiologi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Emilyasari, D. (2018). Analisis kesuian lahan budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di keramba jaring apung (KJA) perairan Danau Ranau. *Tesis*. Universitas Brawijaya. Malang. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/190768>.
- Fidyandini, H. P., Elisdiana, Y., Kartini, N., & Caesario, R. (2023). Pelatihan pemanfaatan ikan pasca kematian massal menjadi produk non pangan pada kelompok pembudidaya ikan keramba jaring apung Danau Ranau, Lampung Barat. *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 7(1), 71-74. <https://doi.org/10.23960/jss.v7i1.321>.
- Fitriliyani, I. (2011). Aktivitas enzim saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan pakan mengandung daun lamtoro (*leucophala*) terhidrolisis dan tanpa hidrolisis dengan ekstrak enzim cairan rumen domba. *Bioscientiae*, 8(2), 16-31. <https://doi.org/10.20527/b.v8i2.193>.
- Francis, G., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2001). Antinutritional factors present in plant derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199(3), 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9).
- Ginting, S. S. B., Suryanto, D., & Desrita, D. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5(1), 23–29. <https://doi.org/10.29103/aa.v5i1.390>.

- Ghanbari, M., Kneifel, W., & Domig, K. J. (2015). A new view of the fish gut microbiome: advances from next generation sequencing. *Aquaculture*, 448, 464–475. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.033>.
- Hamidah, M. N., Rianingsin, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21. <https://doi.org/10.14710/jitpi.2019.6742>.
- Herlan, H., & Wulandari, T.N.M. (2021). Dinamika populasi ikan sebarau (*Hampala macrolepidota*) di Danau Ranau, Provinsi Sumatera Selatan dan Lampung. *Journal of Global Sustainable Agriculture*, 1(1), 1-35. <https://doi.org/10.32502/jgsa.v1i1.3102>.
- Irianto, A. (2004). *Probiotik akuakultur*. Gadjah Mada University Press.
- Islamiah, D. N., Riza, L., & Rahmawati. (2017). Jenis-jenis bakteri rizosfer kawasan tanah mangrove *avicennia* di Kelurahan Terusan , Kecamatan Mempawah Hilir, Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*, 6(3), 72-165. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v6i3.22471>.
- Kaltsum, U., & Mutmainah, N. (2024). Identifikasi jenis bakteri pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) berbasis sistem budidaya KJA di Kota Baru. *Juvenil*, 5(1), 34-39. <https://doi.org/10.21107/juvenil.v5i1.23345>.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2022). Rilis data kelautan dan perikanan triwulan IV tahun 2022. Balai Sertifikasi Elektronik (BSrE).
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2024). Menteri Trenggono berhasil tingkatkan produksi perikanan budi daya 13,6% di 2024. <https://kkp.go.id/news/news-detail/menteri-trenggono-berhasil-tingkatkan-produksi-perikanan-budi-daya-136-di-2024- vQq0.html>
- Kurniasih, T., Utomo, N.B.P., Azwar, Z.I., Mulyasari., & Melati, I. (2013a). Perbaikan kualitas pakan dan kinerja pertumbuhan ikan nila dengan pertumbuhan enzim protease bakteri pada pakan formulasi. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(1), 87-96. <http://dx.doi.org/10.15578/jra.8.1.2013.87-96>.
- Kurniasih, T., Widanarni., Mulyasari., Melati, I., Azwar, Z. I., & Lusiastuti, A. M. (2013b). Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri dari saluran pencernaan ikan lele sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2), 277-286. <https://doi.org/10.15578/jra.8.2.2013.277-286>.
- Komari, N., & Susilo, T. B. (2021). Macam, fungsi, dan aplikasi enzim. CV. Banyubening Cipta Sejahtera.
- Kosasih, S., Ginting, C.N., Chiuman, L., & Lister, L.N.E. (2019). The effectiveness of *peperomia pellucida* extract against *acne bavteria*. *American Scientific Research Journal For Engineering, Technology, and*

Sciences (ASRJETS), 59(1), 149:153.

https://asrjetsjournal.org/index.php/American_Scientific_Journal/article/view/5062.

- Lazado, C. C., Caipang, C. M. A., & Superio, E. G. E. (2015). Prospects of host associated microorganisms in fish and penaeids as probiotics with immunomodulatory functions. *Fish & Shellfish Immunology*, 45(1), 2-12. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.02.023>.
- Liao, M., Tongjun, R., Lijuan, H., Yuzhe, H., & Zhiqiang, J. (2015). Optimum dietary proportion of soybean meal with fish meal and its effects on growth, digestibility and digestive enzyme activity of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fisheries Science*, 81(5), 915-922. <https://doi.org/10.1007/s12562-015-0916-1>.
- Liu, H., Guo, X., Gooneratne, R., Lai, R., Zeng, C., Zhan, F., & Wang, W. (2016). The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels. *Scientific Reports*, 6(24340), 1-12. <https://doi.org/10.1038/srep24340>.
- Li, J., Fang, P., Yi, X., Kumar, V., & Peng, M. (2022). Probiotics *Bacillus cereus* and *B. subtilis* reshape the intestinal microbiota of pengze crucian carp *Carassius auratus* var. pengze fed with high plant protein diets. *Frontiers in Nutrition*, 9(1027641), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1027641>.
- Madden, T. (2013). *NCBI BLAST information*. pdf. The NCBI Handbook.
- Marlida, R., & Elrifadah. (2017). Isolasi dan uji aktivitas enzimatis kandidat probiotik dari saluran pencernaan ikan-ikan ekonomis rawa Danau Panggang. *Fish Scientiae*, 17(2), 133-134. <https://doi.org/10.20527/fishscientiae.v7i2>.
- Moriarty, D. J. W. (1997). The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture*, 151(1), 333-349. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01487-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01487-1).
- Murni, S. W., Kholisoh, S. D., & Petrissia, E. M. (2015). Produksi, karakterisasi, dan isolasi lipase dari *Aspergillus niger* menggunakan minyak goreng sawit sebagai induser. *Eksergi*, 104(12): 62-274. <http://eprints.upnyk.ac.id/31404/1/8j%202015%20eksergi%20vol%2012%20no%201%20karakterisasi%20enzim%20lengkap.pdf>
- Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: a fish perspective. *Fish and Shellfish Immunology*, 29(1), 2-14. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2010.02.017>.

- Nakkina, M. (2016). Study of growth rate in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture Research and Development*, 7(8), 1-4. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000440>.
- Nathanailides, C., Kolygas, M., Choremi, K., Mavraganis, T., Gouva, E., Vidalis, K., & Athanassopoulou, F. (2021). Probiotics have the potential to significantly mitigate the environmental impact of freshwater fish farms. *Fishes*, 6(4), 1-76. <https://doi.org/10.3390/fishes6040076>.
- Nester, E. W., Anderson, D. G., Roberts, J. R. C. E., & Nester, M. T. (2007). *Microbiology a human perspective 5th edition*. Mc Graw Hill. New York.
- Nicholson, W. L., Munakata, N., Horneck, G., Melosh, H. J., & Setlow, P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 64(3), 548-572. <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.548-572.2000>.
- Ningrum, N. (2012). *Keragaan pertumbuhan ikan nila best (Oreochromis niloticus) hasil seleksi F3, F4 dan nila okal*. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Noor, N. M., Handayani, M., Kurniawan, A., & Septika, M. (2023). Aplikasi probiotik hasil microbial screening saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai material penunjang pertumbuhan dan antibodi alami pada ikan. *Jurnal Perikanan*, 13(4), 1093-1101. <https://doi.org/10.29303/jp.v13i4.703>.
- Nopitawati, T. (2010). Seleksi bakteri probiotik dari saluran pencernaan untuk meningkatkan kinerja pertumbuhan udang vaname *Litopenaeus vannamei*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Opiyo, M. A., Jumbe, J., Ngugi, C. C., & Karisa, H. C. (2019). Different levels of probiotics affect growth, survival and body composition of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in low input ponds. *Scientific African*, 4(1), 1-7. <https://dx.doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00103>.
- Pangaribuan, R. D., & Sembiring, J. (2022). Isolasi bakteri potensial probiotik pada saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai bahan pakan untuk menunjang pertumbuhan dan antibodi ikan. *Jurnal Sainsmat*, 11(1), 86-94. <https://doi.org/10.35580/sainsmat111224672022>.
- Poedjiadi, A. D. M., & Supriyanti, T. (2009). *Dasar dasar biokimia*. Edisi Revisi Jakarta. UI-Press.
- Pratama, R. (2019). Sistem pencernaan. *Jurnal Pendidik*, 2(1), 46-63. Pp. 46-63

- Ramadhan, B. & Wikandari, P. R. (2021). Review artikel: aktivitas enzim amilase dari bakteri asam laktat (karakteristik dan aplikasi). *Journal of Chemistry*, 10(2), 109-120. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2>.
- Rahmawati., & Isnaeni, D. (2016). Isolasi dan karakterisasi mikrosimbion dari spons *Callyspongia vaginalis* dan uji daya hambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *Majalah Farmasi Nasional*, 13(2), 8-19. https://scholar.google.co.id/citations?view_op=view_citation&hl=id&user=QzNV4kEAAAAJ&citation_for_view=QzNV4kEAAAAJ:UeHWp8X0CEIC.
- Rahmawati, L. R., Adlina, S., & Yuliana, A. (2021). Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil protease ekstraseluler dari limbah cair tahu putih. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 21(2), 187–193. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v21i2.748>.
- Remijawa, E. S., Rupidara, A. D. N., Ngginak, J., & Radjasa, O. K. (2020). Isolasi dan seleksi bakteri penghasil enzim ekstraseluler pada tanah mangrove di Pantai Noelbaki. *Jurnal Enggano*, 5(2), 164-180. <https://doi.org/10.31186/jenggano.5.2.164-180>.
- Ringo, E. (2020). Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquaculture and Fisheries*, 5(1), 1-27. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.12.001>.
- Rojtinnakorn, J., Rittiplang, S., Tongsiri, S., & Chaibu, P. (2012). Tumeric extract inducing growth biomarker in sand goby (*Oxyeleotris marmoratus*). 2nd *International Conference on Chemical, Biological, and Environment Science*, 41-42.
- Saanin, H. (1984). *Taksonomi dan kunci identifikasi ikan*. Bina Cipta.
- Sana., Hossin, I., Haque, E., & Shaha, R. (2004). Identification, purification and characterization of lipase from germination oil seed (*Brassica napus L.*). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), 246–252. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.246.252>.
- Sambuaga, V. O., Rarung, K. L., & Durand, S. S. (2016). Analisis finansial usaha budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di karamba jaring tancap di Desa Sinuian Kecamatan Remboken. *Akulturas*, 4(8), 407-431 <https://doi.org/10.35800/akulturas.4.8.2016.14964>.
- Sarbaini, Lesje, L., & Nursyirwani. (2016). Isolation pf probiotic bacterial candidates from the intestine of nila (*Oreochromis niloticus*) to control *Streptococcus agalactiae*. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau*, 3(1), 1-17. <https://www.neliti.com/publications/203312/isolation-of-probiotic-bacterial-candidates-from-the-intestine-of-nila-oreochrom#cite>.

- Saxena, R. K, Sheoran, A., Giri, B., & Davidson, W. S. (2003). Purification strategies for microbial lipases. *Journal of Microbiological Methods*, 52(1), 1–18. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(02\)00161-6](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(02)00161-6).
- Sembiring, S. B. M., Hutapea, J. H., Giri, I. N. A., Hadisusanto, S., Pratiwi, R., & Haryanti. (2021). Isolating and characterizing bacteria in the intestine of wild sandfish (*Holothuria scabra*) as probiotics candidate. *Earth and Environmental*, 890(2), 1-10. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/890/1/012023>.
- Simanjuntak, L. M., Lukistyowati, I., & Feliatra, F. (2019). Addition of superior heterotrof bacteria mixed in feed to improve health of saline tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Asian Journal of Aquatic Sciences*, 2(3), 170-180. <https://doi.org/10.31258/ajoas.2.3.170-180>.
- Sharma, V. P., & Thaiss, A. C. (2020). Host-microbiome interactions in the era of single cell biology. *Microbiol*, 10(569070), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.569070>.
- Sumino, M. H., Alam, S. S., & Oktaviani, D. (2017). Protected, prohibited, and invasive fish diversity and distribution in Ranau Lake of West Lampung District. *Aquasains*, 6(1), 553-558. <https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JPBP/article/view/1710/1521>.
- Suyanto. (2003). *Pembenihan dan pembesaran nila*. Penebar Swadaya.
- Untu, P., Rumengan, I. F., & Ginting, E. L. (2015). Identifikasi mikroba yang koeksis dengan *ascidia lissoclinum patella* menggunakan sekuens gen 16S RNA . *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 3(2), 23-33. <https://doi.org/10.35800/jplt.3.2.2015.10110>.
- Upreti, A., Byanju, B., Fuyal, M., Chhetri, A., Pandey, P., Ranjitkar, R., Bhatta, J.J., & Pandey, B. P. (2019). Evaluation of α -amylase, lipase inhibition and in-vivo pharmacological activities of *Eucalyptus camaladulensis* dehn leaf extract. *Journal Traditional Complement Medicine*, 9, 312–318. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.07.001>.
- Wang, A. R, Ran, C., Ringø, E., & Zhou, Z. G. (2018). Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, 10(3), 626-640. <https://doi.org/10.1111/raq.12191>.
- Watson, K, A., Kaspar, H., Lategan, M. J., & Gibson, L. (2008). Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1), 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.019>.
- Wibowo, T, A., Untari, D, S., & Anwar, R. (2021). Tingkat penerimaan masyarakat terhadap ikan nila (*Oreochromis niloticus*) segar dengan

habitat yang berbeda. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 12(1), 72-79.
<https://doi.org/10.35316/jsapi.v12i1.1124>.

Widyaningsih, E. N. (2011). Peran probiotik untuk kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, 4(1), 14-20. <http://hdl.handle.net/11617/2931>.

Wijnands, L., Dufrenne, J., Zwietering, M. H., & Leusden, F. (2006). Spores from mesophilic *Bacillus cereus* strain germinate better and grow faster in simulated gastrointestinal conditions than spores from psychrotrophic strains. *International Journal of Food Microbiology*, 112(2), 120-128.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.015>.

Wilson, P., & Remigio, Z. (2012). Production and characterization of protease enzyme produced by a novel moderate thermophilic bacterium (EP1001) isolated from an alkaline hot spring, Zimbabwe. *Africal Journal of Microbiology Research*, 6(27), 5542-5551.
<https://doi.org/10.5897/AJMR11.158>.

Yang, G., Cao, H., Jiang, W., Wen, C., Kajbaf, K., Kumar, V., Tao, Z., & Peng, M. (2019). Dietary supplementation of *Bacillus cereus* as probiotics in Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. *Pengze*) effects on growth performance, fillet quality, serum biochemical parameters and intestinal histology. *Aquaculture Research*, 50(1), 2207-2217.
<https://doi.org/10.1111/are.14102>.

Yuka, R. A., Setyawan, A., & Supono. (2021). Identifikasi bakteri bioremediasi pendegradasi total ammonia nitrogen (TAN). *Jurnal Kelautan*, 14(1), 20-29. <https://doi.org/10.21107/jk.v14i1.8499>.

Zubaidah, A., Prasetyo, D., Handajani, H., Rohmah, S. P., & Puspita, D. A., (2019). Screening bakteri selulolitik dan amilolitik pada rumen sapi sebagai kandidat probiotik pada budidaya ikan secara *In Vitro*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 14(4), 261-271.
<http://dx.doi.org/10.15578/jra.14.4.2019.261-271>.