

depik

by Ardiansyah Kurniawan



Submission date: 11-Feb-2023 10:12AM (UTC+0700)

Submission ID: 2011378266

File name: Depik_9_1.pdf (1.22M)

Word count: 4850

Character count: 30069

depik

by Ardiansyah Kurniawan

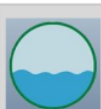
Submission date: 11-Feb-2023 10:12AM (UTC+0700)

Submission ID: 2011378266

File name: Depik_9_1.pdf (1.22M)

Word count: 4850

Character count: 30069



2

Depik

Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan

p-ISSN: 2089-7790, e-ISSN: 2502-6194 <http://jurnal.unsyiah.ac.id/depik>

RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.13170/depik.9.1.12748

3

Aktivitas selulolitik dan patogenisitas *Bacillus cereus*_TSS4 dari serasah daun mangrove

Cellulolytic activity and pathogenicity of Bacillus cereus_TSS4 from leaf litter of mangrove

Yustiana Dewi^{1,2}, Robin³, Eva Prasetyono³, Dwi Febrianti⁴, Ardiansyah Kurniawan^{3*}

¹Program Studi Akuakultur, Universitas Bangka Belitung; ²Dinas Kelautan dan Perikanan, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung; ³Program Studi Akuakultur, Universitas Bangka Belitung; ⁴Pusat Penelitian Limnologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. *Email korespondensi: ardian_turen@yahoo.co.id

Received: 20 June 2019

Accepted: 31 December 2019

Abstract. Leaf litter of mangrove has the potential for cellulolytic bacteria that are beneficial in aquaculture feed. Tin mining in Bangka Island impact for mangrove and allows for new strains of cellulolytic bacteria. Identification and safety evaluations are needed to know the applied to aquaculture. This study aims to obtain and evaluate the potential impact on the aquaculture of cellulolytic bacteria from the Tukak Sadai mangrove, South Bangka. The effects were shown on the survival and clinical symptoms of fish through pathogenicity testing of the selected bacteria. This research was done from March 2017 until March 2018. Leaf litter was a sample taken from mangroves and isolated using 1% Carboxymethyl Cellulosa (CMC) media. Qualitative test of cellulase enzyme activity uses congo red and bacterial identification to use biochemical characterization with Microbact TM. There were six cellulolytic bacterial isolates from the mangrove leaves of Tukak Sadai, South Bangka. TSS4 isolates had the highest cellulolytic index of 26.4 mm compared to other strains. Biochemical characterization of TSS4 isolates show similarities with *Bacillus cereus*. Pathogenicity test on *Bacillus cereus*_TSS4 isolates show that it was not pathogenic with normal fish conditions until the end of maintenance, fish survival reached 100%, and no damage to internal organs occurred.

Keywords: *Bacillus cereus*, mangrove leaf litter, pathogenicity, cellulolytic bacteria

Abstrak. Serasah daun mangrove memiliki potensi bakteri selulolitik yang bermanfaat pada pakan dalam akuakultur. Penambangan timah di Pulau Bangka berdampak pada hutan bakau dan memungkinkan strain bakteri selulolitik baru. Identifikasi dan evaluasi keamanan diperlukan untuk mengetahui penerapan pada budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dan mengevaluasi dampak potensial pada akuakultur dari bakteri selulolitik hutan bakau Tukak Sadai, Bangka Selatan. Dampaknya ditunjukkan pada kelangsungan hidup dan gejala klinis ikan melalui pengujian patogenisitas dari bakteri yang dipilih. Penelitian ini dilakukan mulai Maret 2017 hingga Maret 2018. Serasah daun merupakan sampel yang diambil dari mangrove dan diisolasi menggunakan media Carboxymethyl Cellulosa (CMC) 1%. Uji kualitatif aktivitas enzim selulase menggunakan congo red dan identifikasi bakteri untuk menggunakan karakterisasi biokimia dengan MicrobactTM. Ada enam isolat bakteri selulolitik dari daun mangrove Tukak Sadai, Bangka Selatan. Isolat TSS4 memiliki indeks selulolitik tertinggi 26,4 mm dibandingkan dengan jenis lainnya. Karakterisasi biokimia isolat TSS4 menunjukkan kesamaan dengan *Bacillus cereus*. Uji patogenisitas pada isolat *Bacillus cereus*_TSS4 menunjukkan bahwa tidak patogen dengan kondisi ikan normal sampai akhir pemeliharaan, kelangsungan hidup ikan mencapai 100%, dan tidak terjadi kerusakan pada organ internal.

Kata kunci: *Bacillus cereus*, serasah daun mangrove, patogenisitas, bakteri selulolitik



Pendahuluan

Kebutuhan pendegradasi selulosa secara biologi semakin penting dalam kehidupan manusia. Industri tekstil, makanan, pakan hewan, biofuel dan fermentasi memerlukan degradator yang memecah selulosa yang terkandung pada bahan yang dimanfaatkan (Sukumaran *et al.*, 2005; Gupta *et al.*, 2012; Sadhu dan Maiti, 2013). Hal ini disebabkan karena komponen utama dinding sel tanaman adalah selulosa. Enzim pendegradasi selulosa menjadi kunci pemanfaatan biomassa dari tanaman (Ahmed *et al.*, 2009; Milala *et al.*, 2005). Enzim selulase telah diterapkan dalam proses bioteknologi seperti pemutihan pulp kertas, produksi pakan ternak, produksi biofuel dari limbah selulosa gula, dan juga untuk pengolahan air limbah (Gomes *et al.*, 2016).

Enzim selulase secara alami dalam pencernaan ikan menentukan kecernaan polisakarida dari pakan (Krogdahl *et al.*, 2005). Degradasi selulosa pada sumber protein nabati yang mengandung selulosa dapat lebih optimum dimanfaatkan untuk menggantikan sumber protein hewani yang cenderung memiliki harga lebih tinggi (Kurniawan *et al.*, 2019a). Suplementasi enzim dalam pakan ikan, terutama ikan herbivora, dapat meningkatkan kecernaan nutrisi dan mengurangi ekskresi nutrisi. Penambahan tersebut membantu enzim yang tersedia secara alami dalam pencernaan ikan (Castillo dan Gatlin, 2015). Umumnya produsen enzim yang digunakan merupakan hasil isolasi dari pencernaan ikan baik jenis yang sama ataupun berbeda (Li *et al.*, 2008; Ghosh dan Mukhopadhyay, 2006).

Bakteri penghasil enzim pendegradasi selulosa juga diaplikasikan pada fermentasi pakan. Pemanfaatan hasil fermentasi *Bacillus subtilis* MA139 pada bahan selulosa dilaporkan dapat mengurangi kandungan serat makanan yang tidak larut secara *in vitro*, menurunkan kelimpahan bakteri selulolitik dalam pencernaan dan meningkatkan kinerja pertumbuhan pada babi (Liu *et al.*, 2017). Apabila kondisi tersebut diujicobakan pada ikan, bukan tidak mungkin dapat meningkatkan peluang memanfaatkan sumber selulosa untuk ikan non-herbivora yang memiliki bakteri selulolitik alamiah lebih sedikit. Bakteri yang diperlukan tidak hanya berpotensi besar mendegradasi selulosa, namun juga tidak membahayakan bagi kehidupan ikan.

Mangrove dikenal sebagai penyedia bakteri selulolitik penghasil enzim selulase secara alami (Behera *et al.*, 2017; Naresh *et al.*, 2019; Kurniawan *et al.*, 2019b; Kurniawan *et al.*, 2019c). Bakteri memainkan peran penting dalam siklus karbon dalam ekosistem sebagai pengurai (Furusawa, 2019; Friesen *et al.*, 2018). Kondisi lingkungan mangrove berperan penting dalam kelimpahan mikroba dan ketersediaan nutrisi. Kerapatan pohon yang berkorelasi pada jumlah guguran daun mangrove sebagai sumber selulosa berhubungan dengan kelimpahan bakteri pengurai dan jumlah nutrisi yang dihasilkan (Ramanathan *et al.*, 2008). Oleh sebab itu, bakteri selulolitik teridentifikasi pada serasah daun mangrove yang telah lapuk (Mahasneh, 2001; Kurniawan *et al.*, 2018; Ntabo *et al.*, 2018) dan keberadaannya mampu menekan keberadaan bakteri patogen (Arta *et al.*, 2009; Thatoi *et al.*, 2013).

Mangrove di Pulau Bangka, khususnya mangrove Tukak Sadai, belum teridentifikasi bakteri selulolitiknya. Tukak Sadai, sebagaimana wilayah lain di Pulau Bangka, terhubung dengan wilayah pertambangan timah. Kurniawan dan Ekowati (2016) memaparkan seleksi dan adaptasi terhadap perubahan lingkungan, termasuk keberadaan logam berat, memungkinkan bakteri yang teridentifikasi memiliki perbedaan dengan mangrove di wilayah lain. Eksplorasi bakteri selulolitik dari mangrove hingga saat ini juga belum mengkaji hingga potensi pemanfaatannya pada akuakultur. Pemilihan bakteri selulolitik pada pakan ikan tidak hanya berdasar pada kemampuannya mendegradasi selulosa, namun juga dipertimbangkan keamanannya terhadap kesehatan komoditi akuakultur.

Terkait permasalahan yang belum dikaji tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri selulolitik dari serasah daun mangrove di Tukak Sadai, Bangka Selatan serta mengevaluasi keamanannya untuk diaplikasikan pada akuakultur. Penelitian



diharapkan memperoleh hasil identifikasi bakteri dari mangrove di Tukak Sadai, Pulau Bangka dan isolat bakteri terpilih yang memiliki kemampuan mendegradasi selulosa serta aman bagi ikan sebagai komoditas akuakultur.

Bahan dan Metode

Waktu dan lokasi

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret 2017-Maret 2018 di lokasi wisata mangrove Tukak Sadai, Laboratorium Budidaya Perairan, Laboratorium Mikrobiologi Universitas Bangka Belitung, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Pengambilan sampel

1 Pengambilan sampel serasah daun dilakukan pada mangrove jenis *Rhizophora apiculata* di Tukak Sadai, Kabupaten Bangka Selatan pada koordinat $-2^{\circ}58'30''$ LS, $106^{\circ}38'56''$ BT (Gambar 1). Pemilihan daun secara acak pada daun yang telah mengalami pelapukan. Sampel disimpan dalam kondisi dingin dan basah pada tempat steril. Penyimpanan dalam kondisi dingin dan basah dimaksudkan untuk menjaga bakteri tidak tumbuh maupun mengalami kematian akibat pengaruh suhu dan kelembapan.



1 Gambar 1. Lokasi pengambilan sampel di Tukak Sadai, Bangka Selatan

Uji kualitatif aktivitas enzim selulase

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif-eksploratif, yaitu dengan mengambil seluruh isolat bakteri dari serasah daun pada mangrove yang diisolasi dengan media selektif 1% *Carboxymethyl Cellulosa* (CMC). Penelitian ini terbagi atas 3 tahapan yaitu : (1) skrining aktivitas enzim selulase menggunakan *congo red*; (2) karakterisasi biokimia terhadap isolat bakteri; (3) uji patogenisitas bakteri selulolitik terpilih. Uji aktivitas enzim ekstraseluler selulase dilakukan dengan menggunakan medium agar yang diperkaya dengan 1% CMC. Sebanyak 1 lup isolat dikultur pada media untuk selanjutnya diinkubasi selama 72 jam. Pengamatan aktivitas enzim selulase dilakukan menggunakan larutan congo red yang dituang di atas media tersebut dan menunjukkan luasan zona bening yang terbentuk di sekitar koloni. Penghitungan indeks selulase menggunakan rumus (Lim *et al.*, 1987): $IS = (X1/X2)/X2$, dimana, IS adalah Indeks aktivitas selulase, X1 merupakan nilai rerata diameter zona bening (mm) dan X2 adalah rerata diameter koloni (mm).

Uji patogenisitas

Uji Patogenisitas dilakukan untuk mengetahui kemanisan isolat bakteri terhadap ikan. Uji patogenitas dimulai dengan mengkultur satu lup isolat ke dalam 10 mL media cair *Nutrient Broth* (NB). Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Isolat bakteri selulolitik dimutasi secara spontan menggunakan metode Widanarni *et al.* (2008) dengan menumbuhkan



bakteri tersebut pada media NA yang telah mengandung rifampisin 50 µg/mL (NA+Rf). Mutasi spontan diperlukan untuk memastikan jenis bakteri yang berperan dan bertahan di tubuh ikan adalah bakteri yang diujikan. Sebanyak 0,1 ml inokulum bakteri yang telah dimutaskan dengan kepadatan 10⁸ CFU/ml disuntikkan ke ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) dengan panjang 20±1,6 cm secara intramuscular. Perlakuan pada uji patogenesis adalah sebagai berikut :

- P1 : perlakuan tanpa penyuntikan
- P2 : perlakuan penyuntikan dengan larutan fisiologis sebanyak 0,1 ml
- P3 : perlakuan penyuntikan dengan bakteri selulolitik terpilih sebanyak 0,1 ml

Pengamatan terhadap ikan yang mati dan gejala klinis dilakukan selama 2 minggu. Pada akhir pemeliharaan, ikan dibedah dan diamati kondisi organ dalamnya meliputi hati, ginjal, empedu dan insang. Variabel kuantitatif yang diamati pada uji patogenesis adalah kelangsungan hidup dengan persamaan yang digunakan oleh Muchlisin *et al.* (2016): Kelangsungan hidup (%) = (No-Nt)/No x100, dimana No = jumlah ikan diawal penelitian, Nt = jumlah ikan yang mati selama penelitian.

Analisis data

Hasil identifikasi bakteri dan gejala klinis uji patogenesis dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk gambar atau tabel. Kelulushidupan pada pengujian patogenesis di analisis sidik ragam (ANOVA).

Hasil

Isolasi bakteri selulolitik dari sampel serasah daun mangrove di Tukak Sadai menghasilkan 6 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada media dengan pengayaan 1% CMC. Karakterisasi koloni bakteri yang membedakan isolat yang ditemukan terdapat pada Tabel 1. Karakterisasi koloni bermanfaat untuk membedakan isolat-isolat bakteri berdasarkan karakter visual sebelum dimurnikan. Terdapat perbedaan diameter zona bening yang dihasilkan pada uji kualitatif enzim selulase keenam isolat bakteri selulolitik. Diameter yang dihasilkan dikonversikan dalam indeks selulolitik. Indeks selulolitik tertinggi ditemukan pada isolat TSS 4 sebesar 2,64 mm (Tabel 2 dan Gambar 2). Indeks selulolitik ini menandakan kemampuan mensekresikan enzim selulase dari isolat tersebut lebih tinggi dibandingkan isolat yang lain. Berdasarkan indeks selulolitik, isolat TSS4 dipilih sebagai kandidat bakteri selulolitik untuk diidentifikasi menggunakan karakterisasi biokimia dan dilakukan uji patogenesis.

Uji patogenesis *Bacillus cereus*_TSS4 terhadap Ikan Lele menunjukkan hasil pengamatan gejala klinis ikan selama uji patogenesis (Tabel 4) dan kelangsungan hidup ikan yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (Tabel 5). Hasil pengamatan secara visual terhadap respon gejala klinis dan pengamatan organ dalam ikan, secara umum tidak terjadi perubahan yang nyata pada ikan sebelum dan setelah perlakuan. Ikan diawal pemeliharaan dalam kondisi sehat, tidak ada cacat ditubuhnya, dan ikan bergerak aktif. Kondisi hampir serupa terjadi pada akhir pemeliharaan ikan. Perubahan terjadi pada respon makan ikan yang kurang aktif disertai dengan warna kulit ikan yang memudar serta perubahan warna organ dalam meliputi hati, empedu dan insang.

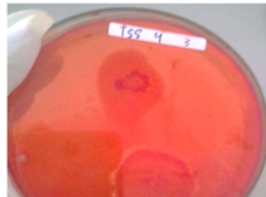
Tabel 1. Karakteristik makroskopis isolat bakteri dari serasah daun mangrove Tukak Sadai

Kode Isolat	Karakteristik Koloni Bakteri				
	Warna	Bentuk	Ukuran	Tepian	Elevasi
TSS 1	Krem	Bundar	Besar	Rata	Datar
TSS 2	Krem	Tak beraturan	Sedang	Tak beraturan	Datar
TSS 3	Krem	Bundar	Sedang	Rata	Datar
TSS 4	Krem	Bundar	Kecil	Rata	Datar
TSS 5	Krem	Bundar	Besar	Bergerigi	Cembung
TSS 6	Putih	Bundar	Kecil	Rata	Datar



Tabel 2. Hasil uji kualitatif aktivitas enzim selulase

Kode Isolat	Positif Selulase	Indek Selulolitik (IS)	Keterangan (Choi <i>et al.</i> ,2005)
TSS 1	+	< 1	Rendah
TSS 2	-	-	
TSS 3	-	-	
TSS 4	+	26,4	Tinggi
TSS 5	-	-	
TSS 6	-	-	



Gambar 2. Uji kualitatif aktivitas enzim selulase menggunakan *ango red* pada isolat TSS4

Tabel 3. Hasil Karakterisasi dan uji biokimia isolat bakteri TSS4

Parameter	Hasil	Parameter	Hasil	Parameter	Hasil
Warna koloni	Krem	Glukosa	+	Sukrosa	-
Diameter koloni (mm)	4, 83	Manitol	-	Lactosa	-
Reaksi gram	Positif	Xylosa	-	Arabinosa	-
Bentuk sel	Basil	ONPG	+	Adonitol	-
Motilitas	NonMotil	Indole	-	Raffinosa	-
Uji TSIA	As/As ₂ G- H ₂ S-	Urease	-	Salicin	-
Spora	+	V-P	+	Arginin	-
Oksidase	-	Sitrat	-	Katalase	+
Motilitas	+	TDA	-	Koagulase	-
Nitrat	+	Gelatin	+	Hemolisa	beta
Lysin	-	Malonat	-	Uji sensitive Novobiosin	TDK
Ornithin	-	Inositol	-	Starch hydrolysis	-
H ₂ S	-	Rhamnosa	-	Casein hydrolysis	+

Tabel 4. Pengamatan gejala klinis dan organ ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*)

Jenis Pengamatan	Sebelum Perlakuan	Setelah Perlakuan		
		P1	P2	P3
Tingkah laku	Ikan aktif	Nafsu makan berkurang, ikan kurang aktif	Ikan kurang aktif dan kurang nafsu makan	Ikan aktif, kurang nafsu makan
Tubuh	Warna hitam pudar, tidak ada cacat	Warna hitam memudar menjadi putih pucat, tidak ada luka	Warna hitam memudar menjadi putih pucat, tidak terdapat luka	Warna hitam memudar menjadi putih pucat, tidak ada luka
Sirip	Normal	Normal	Normal	Normal
Insang	Merah muda	Merah muda pucat	Merah muda pucat	Merah muda pucat
Ginjal	Merah	Merah	Merah	Merah
Hati	Kuning	Merah kecoklatan	Merah kecoklatan	Merah kehitaman
Empedu	Hijau kekuningan	Kuning	Kuning	Kuning



Tabel 5. Rerata kelangsungan hidup ikan lele dumbo pada uji patogenisitas

Perlakuan	Kelangsungan hidup (%)
P1	(100±0) ^a
P2	(100±0) ^a
P3	(100±0) ^a

Keterangan : superscript dengan huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$)

Pembahasan

Isolat bakteri yang mampu hidup memanfaatkan selulosa pada media yang diperkaya dengan CMC adalah isolat TSS1 dan TSS4. Bakteri selulolitik merupakan bakteri yang dapat menghidrolisis kompleks selulosa menjadi oligosakarida yang lebih kecil dan akhirnya menjadi glukosa. Bakteri selulolitik mampu mensekresikan enzim selulase yang terdiri dari tiga komponen enzim, yaitu endo- β -1,4-glukanase, ekso- β -1,4-glukanase dan β -glukosidase (Schlegel dan Schmidt, 1994). Mikroba yang dapat menghidrolisis selulosa kristal dapat mensekresikan kompleks selulase. Kemampuan isolat bakteri yang tumbuh pada media agar yang diperkaya CMC mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mampu memanfaatkan selulosa sebagai salah satu nutrisi terutama sebagai sumber karbon. Bakteri selulolitik mensintesis enzim selulase selama tumbuh pada media selulosa sebagai respon terhadap selulosa pada lingkungannya. Proses ini berlangsung apabila sel bakteri berkontak langsung pada permukaan selulosa (Kurniawan *et al.*, 2018). Besar kecilnya zona bening yang dihasilkan menunjukkan potensi bakteri selulolitik dalam proses dekomposisi selulosa.

Reanida (2012) menyatakan daun yang gugur di atas tanah memungkinkan bahwa kandungan selulosa di tanah tersebut tinggi, maka besar kemungkinan untuk dapat menemukan bakteri pendegradasi selulosa di dalam ekosistem mangrove. Rosado dan Govind (2003) juga menunjukkan bahwa bakteri selulolitik sering diisolasi dari tanah yang mengandung serasah daun karena tanah mengandung bahan organik yang relatif kaya polisakarida kompleks. Serasah mangrove yang tertimbun di lumpur mengalami dekomposisi oleh berbagai jasad renik untuk menghasilkan detritus dan mineral bagi kesuburan tanah serta sumber bagi kehidupan fitoplankton (Mahmudi, 2008).

Isolat TSS4 memiliki zona bening yang lebih besar dibandingkan dengan 5 isolat lainnya. Indeks selulolitik dari isolat TSS 4 adalah 26,4 mm. Pengujian aktifitas enzim selulase menggunakan lugol juga menunjukkan isolat TSS1 dan TSS4 mampu mendegradasi selulosa (Kurniawan *et al.*, 2018). Menurut Choi *et al.* (2005), daya degradasi selulosa diklasifikasikan berdasarkan nilai indeks selulolitik dengan kategori rendah apabila ≤ 1 , sedang antara 1 sampai 2 dan tinggi apabila ≥ 2 . Isolat bakteri selulolitik potensial diperoleh dengan indikasi membentuk zona bening terluas. Luas zona bening tergantung pada konsentrasi CMC dan agar yang digunakan (Hankin dan Anagnostakis, 1997). Selulosa yang terdapat pada media CMC akan habis diserap oleh bakteri selulolitik sehingga saat pewarnaan menggunakan reagen congo red terdapat zona bening karena tidak terdapat ikatan antara selulosa dan congo red, sedangkan pada daerah yang masih terdapat selulosa akan berikatan dengan reagen congo red dan media nampak berwarna merah (Sinatryani, 2014).

Teridentifikasinya *Bacillus cereus* untuk isolat TSS4 memiliki kesamaan dengan publikasi Thenmozhi (2011) pada tanah mangrove Rizosphere di estuaria Parangpettai, India. Uji patogenisitas *Bacillus cereus*_TSS4 pada ikan lele dumbo menunjukkan kelulushidupan 100%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri tidak bersifat patogen. Melati (2014) menyatakan bahwa bakteri dinyatakan tidak bersifat patogen jika bakteri tersebut tidak menyebabkan ikan lele sakit disertai gejala klinis dan kematian pada saat uji patogenitas dan kondisi organ dalam



tidak mengalami kerusakan. Reed dan Muench (1938) dalam Anderson (1974) menyatakan suspensi *A. hydrophila* pada tingkat kepadatan $2,69 \times 10^5$ CFU/mL bersifat patogen karena mengakibatkan kematian sebesar 50 % pada ikan. Perubahan warna tubuh Ikan Lele Dumbo selama pemeliharaan menjadi lebih terang diduga karena adanya perubahan jumlah pigmen. Salah satu penyebabnya adalah adanya stres lingkungan antara lain cahaya matahari, kualitas air, dan kandungan pigmen dalam pakan. Pada kondisi cahaya yang terang, melanofor (sel pembawa warna hitam) menjadi terkonsentrasi di sekitar nukleus, sel nampak berkerut dan membuat kulit ikan tampak lebih cemerlang dan ikan akan berwarna cerah apabila perairan tempat pemeliharaannya dalam kondisi terang dan terkena sinar atau cahaya (Said *et al.*, 2005).

Insang ikan berubah warna menjadi merah muda pucat, akan tetapi dilihat dari struktur insang tidak terjadi kerusakan pada lapisan insang. Insang berfungsi sebagai alat pernapasan, selain itu insang juga memiliki fungsi sebagai pengatur pertukaran garam dan air antara tubuh dengan lingkungan serta memiliki peran dalam pengeluaran zat sisa metabolisme yang mengandung nitrogen. Kerusakan struktur pada insang ikan sangat berpengaruh terhadap pengaturan osmosis sehingga proses pemapasan dan osmoregulasi ikan terganggu (Sukarni *et al.*, 2012).

Kondisi ginjal berwarna merah pada awal hingga akhir pemeliharaan tidak mengalami perbedaan warna maupun bentuk. Ginjal pada ikan berperan sebagai penyaring (filter) beberapa bahan buangan sisa metabolisme yang terdapat dalam darah. Empedu berwarna hijau kekuningan sebelum perlakuan, dan berubah warna menjadi kuning. Perubahan warna organ empedu bisa disebabkan karena adanya gangguan pada organ hati, sehingga pembongkaran eritrosit menjadi hemin, Fe dan globin menjadi terhambat sehingga menyebabkan produksi hemin sebagai zat asal warna empedu menjadi menurun (Hafsah, 1994 dalam Wahjuningrum *et al.*, 2010). Hati mengalami perubahan berubah warna menjadi merah kecoklatan dan merah kehitaman. Hati merupakan pusat metabolisme tubuh, organ hati menghasilkan cairan empedu sebagai emulsifikator lemak yang berperan penting dalam proses pencernaan makanan (Sukenda *et al.*, 2008). Hati pada Ikan Lele Dumbo yang diinjeksi bakteri *B. cereus*_TSS4 tidak mengalami kerusakan maupun pembengkakan organ. Organ hati merupakan organ penting yang mensekresikan bahan untuk pencernaan. Asniatih *et al.* (2013) menunjukkan bahwa organ hati lele dumbo yang terinfeksi bakteri patogen berubah warna menjadi berwarna merah muda dan merah kehitaman serta mengalami pembengkakan, kondisi ginjal hancur dengan warna merah kehitaman yang disertai dengan peradangan. Alagappan *et al.* (2009) menambahkan bahwa gejala klinis internal pada hati, limpa dan ginjal Ikan Lele (*Arius maculatus*) mengalami pembengkakan. Yardimci dan Aydin (2011) menunjukkan bahwa ikan yang sakit akibat infeksi *A. hydrophila* mengalami peradangan pada ginjal serta hati berwarna pucat.

Perbandingan gejala klinis dan kondisi organ yang terinfeksi bakteri menunjukkan kondisi normal pada semua perlakuan. Hal ini membuktikan bahwa isolat *Bacillus cereus*_TSS4 yang diinjeksikan tidak menyebabkan sakit pada ikan. Kurniasih *et al.* (2003) menunjukkan *Bacillus cereus* aman bagi ikan dan sebagian besar anggotanya merupakan probiotik bagi hewan darat dan ikan. Keamanan isolat *Bacillus cereus*_TSS4 pada ikan memberikan peluang untuk memanfaatkan isolat bakteri tersebut sebagai kandidat pendegradasi selulosa pakan ikan untuk peningkatan efektifitas produksi akuakultur.

Kesimpulan

Isolat TSS1 dan TSS4 merupakan isolat bakteri selulolitik dari serasah daun mangrove Tukak Sadai, Bangka Selatan yang memiliki aktivitas enzim selulase. Isolat TSS4 asal serasah daun memiliki indeks selulolitik tertinggi sebesar 26,4 mm dibandingkan dengan isolat lainnya. Karakterisasi biokimia pada isolat TSS4 menunjukkan kemiripan dengan *Bacillus cereus*. Uji



patogenisitas pada isolat *Bacillus cereus*_TSS4 menunjukkan bakteri tidak bersifat patogen pada ikan.

Ucapan terimakasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi atas pendanaannya melalui program penelitian kerjasama perguruan tinggi (PKPT) tahun 2017-2018 antara Universitas Bangka Belitung dan Universitas Brawijaya.

Daftar Pustaka

- Ahmed, S., A. Bashir, H. Saleem, M. Saadia, A. Jamil. 2009. Production and purification of cellulose-degrading enzymes from a filamentous fungus *Trichoderma harzianum*. Pakistan Journal of Botany, 41(3): 1411-1419.
- Alagappan, K. M., B. Deivasigamani, S. Kumaran, M. Sakthivel. 2009. Histopathological alteration in estuarine catfish (*Arius maculatus*; Thunberg, 1972) due to *Aeromonas hydrophila* infection. World Journal of Fish and Marine Science, 1(3): 185-18.
- Anderson, D.P. 1974. Fish Immunology. In: Disease of Fishes. Vol. 4. T.F.H.Publication. Inc Ltd. The British Crown Colony of Hongkong.
- Arta, A.P, A. Maidie, G. Saptiani. 2009. The effect of mangrove vegetation treatment on *Vibrio* sp. bacterial population in Bontang coast. Jurnal Kehutanan Tropika Humida, 2(2): 133-142.
- Asniatih., M. Idris, K. Sabilu. 2013. Studi histopatologi pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Mina Laut Indonesia, 3(12): 13–21.
- Behera, B.C., B.K. Sethi, R.R. Mishra, S.K. Dutta, H.N. Thatoi. 2017. Microbial cellulases–diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(1): 197-210.
- Castillo, S., D. M. Gatlin. 2015. Dietary supplementation of exogenous carbohydrase enzymes in fish nutrition: A review. Aquaculture, 435 : 286-292.
- Choi, Y.W., I.J. Hodgkiss, K.D. Hyde. 2005. Enzyme production by endophytes of *Brucea javanica*. Journal of Agricultural Technology, 1: 55-66.
- Dierick, N. A. 1989. Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzymes and fermentation. Archives of Animal Nutrition, 39(3) : 241-261.
- Friesen, S. D., C. Dunn, C. Freeman. 2018. Decomposition as a regulator of carbon accretion in mangroves: a review. Ecological Engineering, 114 : 173-178.
- Furusawa, G. 2019. Biodiversity of Plant Polysaccharide-Degrading Bacteria in Mangrove Ecosystem. Tropical Life Sciences Research, 30(3) : 157–172
- Ghosh, K., P. K. Mukhopadhyay. 2006. Application of enzymes in aqua feeds. Aqua Feeds Formulation Beyond, 3(4) : 7-10.
- Gomes, E., A. R. de Souza, G. L. Orjuela, R. Da Silva, T. B. de Oliveira, A. Rodrigues. 2016. Applications and benefits of thermophilic microorganisms and their enzymes for industrial biotechnology. In Gene Expression Systems in Fungi: Advancements and Applications. Springer, Cham, pp. 459-492.
- Gupta, P., K. Samant, A. Sahu. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. International journal of microbiology, 2012 : 1-6.
- Hankin, L., S.L. Anagnostakis. 1997. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect Cx cellulase activity of microorganisms. Journal of General Microbiology, 98: 109-115.
- Krogdahl, Å., G. I. Hemre, T. P. Mommsen,. 2005. Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. Aquaculture Nutrition, 11(2): 103-122.



- Kurniasih, T., W. Widanarni, M. Mulyasari, I. Melati, Z.I. Azwar, A.M. Lusastuti. 2013. Isolasi, seleksi, dan identifikasi bakteri dari saluran pencernaan ikan lele sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(2): 277-286.
- Kurniawan, A, A.A. Prihanto, S.P. Sari, A. Kurniawan, E. Asriani, A.B. Sambah. 2018. Cellulolytic bacteria mangrove leaf litter in Bangka Island. *Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan*, 9(1): 6-11.
- Kurniawan, A, N. Ekowati. 2016. Mycoremediation of Heavy Metal: A Review. *Bioteknologi and Biosains Indonesia*, 3(1): 36-45.
- Kurniawan, A, S.P. Sari, E. Asriani, A.A Prihanto, A. Kurniawan, A.B. Sambah. 2019a. Bakteri Selulolitik Mangrove. UBB Press. pp 125.
- Kurniawan, A., S. P. Sari, E. Asriani. 2019b. Molecular Identification of Cellulolytic Bacteria From Mangrove Sediment at Tin Minning Region In West Bangka. *International Journal of Applied Biology*. 3(1) : 7-14.
- Kurniawan, A., S.P. Sari, E. Asriani, A. Sambah, A. Kurniawan, A.A Prihanto. 2019c. Culturable Cellulolytic Bacteria From Mangrove With *Anadara Granosa* Cultivation In Sukal, West Bangka. In *International Conference on Maritime and Archipelago (ICoMA 2018)*. Atlantis Press.
- Li, H., Z. Zheng, X. Cong-xin, H. Bo, W. Chao-yuan, H. Gang. 2008. Isolation of cellulose—producing microbes from the intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). In *Chinese Fishes Springer*, Dordrecht. pp. 131-135.
- Lim, G., T.K. Tan, N.A. Rahim. 1987. Variations in amylase and protease activities among *Rhizopus* isolates. *MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 3(3): 319-322.
- Liu, P., J. Zhao, P. Guo, W. Lu, Z. Geng, C. L. Levesque, N. Ma. 2017. Dietary corn bran fermented by *Bacillus subtilis* MA139 decreased gut cellulolytic bacteria and microbiota diversity in finishing pigs. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7 : 526.
- Mahasneh, A. M. 2001. Bacterial decomposition of *Avicennia marina* leaf litter from Al-khor (Qatar-Arabian Gulf). *Online Journal of Biological Sciences*. 1(8) : 717-719.
- Mahmudi, M. 2008. Laju dekomposisi serasah mangrove dan kontribusinya terhadap nutrisi di hutan mangrove reboisasi. *Jurnal Penelitian Perikanan*, 11(1): 107-117.
- Melati, I. 2014. Mikroba selulolitik dari rumput laut untuk peningkatan mutu hasil samping olahan ubi kayu sebagai bahan baku pakan ikan. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Milala, M. A., A. Shugaba, A. Gidado, A. C. Ene, J. A. Wafar. 2005. Studies on the use of agricultural wastes for cellulase enzyme production by *Aspergillus niger*. *Research journal of agriculture and biological sciences*, 1(4): 325-328.
- Muchlisin, Z.A., F. Afrido, T. Murda, N. Fadli, A.A. Muhammadar, Z. Jalil, C. Yulvizar. 2016. The effectiveness of experimental diet with varying levels of papain on the growth performance, survival rate and feed utilization of *keureling* fish (*Tor tambra*). *Biosaintifika*, 8(2): 172-177.
- Naresh, S., B. Kunasundari, A. A. N. Gunny, Y. P. Teoh, S. H. Shuit, Q. H. Ng, P. Y. Hoo. 2019. Isolation and partial characterisation of thermophilic cellulolytic bacteria from north Malaysian tropical mangrove soil. *Tropical life sciences research*, 30(1) : 123-147.
- Ntabo, R. M., A. K. Nyamache, W. Lwande, J. Kabii, J. Nonoh. 2018. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates from Selected Mangrove Plants in Kenya. *The Open Microbiology Journal*, 12(1) : 354-363.
- Ramanathan, A. L., G. Singh, J. Majumdar, A. C. Samal, R. Chauhan, R. K. Ranjan, S. C. Santra. 2008. A study of microbial diversity and its interaction with nutrients in the sediments of Sundarban mangroves. *Indian Journal of Marine Science*, 37 (2) : 159-165.



- Reanida, P. Pramita, A. Supriyanto, Salamun. 2012. Eksplorasi bakteri selulolitik dari tanah mangrove Wonorejo Surabaya. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rosado, W., N.S. Govind. 2003. Identification of carbohydrate degrading bacteria in sub-tropical regions. *Revista de Biología Tropical*, 51(4): 205-210.
- Sadhu, S., T. K. Maiti. 2013. Cellulase production by bacteria: a review. *British Microbiology Research Journal*, 3(3) : 235-258.
- Said, W. Supiyawati, Noortiningsih. 2005. Pengaruh jenis makan dan kondisi cahaya terhadap penampian warna ikan pelangi merah *Glosolepis incises* Jantan. *Jurnal Iktiologi Indonesia*, 5(2): 61-67.
- Schlegel. H.G., K. Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Ed.6. Terjemahan Tejo Baskoro dan Joke R Wattimena. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Sinatryani, D., 2014. Kelimpahan bakteri selulolitik di muara Sungai Gunung Anyar Surabaya dan Bancaran Bangkalan. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sukarni, Maftuch, H. Nursyam. 2012. Kajian penggunaan ciprofloxacin terhadap histologi insang dan hati ikan botia (*Botia macracanthus*, Bleeker) yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Journal Explore Life Science*, 2(1): 6-12.
- Sukenda, L. Jamal, D. Wahjuningrum, A. Hasan. 2008. Penggunaan kitosan untuk pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo dumbo *Clarias* sp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(2): 159-169.
- Sukumaran, R.K., R.R. Singhanian, A. Pandey. 2005. Microbial celulases: Productions, applications and challenges. *Journal of Scientific and Industrial research*, 64: 832-844.
- Thatoi, H., B. C. Behera, R. R. Mishra, S. K. Dutta. 2013. Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: a review. *Annals of Microbiology*. 63(1) : 1-19.
- Thenmozhi, C., R. Sankar, V. Karupiah, P. Sampathkumar. 2011. L-asparaginase production by mangrove derived *Bacillus cereus* MAB5: Optimization by response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(6): 486-491.
- Wahjuningrum, D., E.K. Solikhah, T. Budiardi, M. Setiawati. 2010. Pengendalian infeksi *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan campuran meniran (*Phyllanthus niruri*) dan bawang putih (*Allium sativum*) dalam pakan. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 9(2): 93-103.
- Widanarni, Sukenda, M. Setiawati. 2008. Bakteri probiotik dalam budidaya udang: Seleksi, mekanisme aksi, karakterisasi, dan aplikasinya sebagai agen biokontrol. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 13(2): 80-89.
- Yardimci, B., Y. Aydin. 2011. Pathological findings of experimental *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 58(1) : 47-54.
- Zverlova, V., V.W. Holl, H. Schwarz. 2003. Enzymes for digestion of cellulose and other polysaccharides in the gut of longhorn beetle larvae, *Rhagium inquisitor* L. (Col., *Cerambycidae*). *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51: 175-179.

How to cite this paper:

Dewi, Y., Robin, E. Prasetyono, D. Febrianti, A. Kurniawan. 2019. Aktivitas selulolitik dan patogenisitas *Bacillus cereus*_TSS4 dari serasah daun mangrove. *Depik Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan*, 9(1): 8-17.

depik

ORIGINALITY REPORT

18%

SIMILARITY INDEX

17%

INTERNET SOURCES

12%

PUBLICATIONS

7%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

journal.umg.ac.id

Internet Source

8%

2

Submitted to Padjadjaran University

Student Paper

7%

3

journal.uny.ac.id

Internet Source

3%

Exclude quotes On

Exclude matches < 3%

Exclude bibliography On