

PENGARUH BAKTERI PROBIOTIK *Bacillus sp* DENGAN PENGECERAN YANG BERBEDA TERHADAP JUMLAH KOLONI TRYPTIC SOY AGAR (TSA) DI TAMBAK UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*)
THE EFFECT OF PROBIOTIC BACTERIA *Bacillus sp* WITH DIFFERENT DILUTIONS ON THE NUMBER OF TRYPTIC SOY AGAR (TSA) COLONIES IN VANNAMEI SHRIMP PONDS

Nurul Hayati, Didik Budiyanto*, Lathifa Annastasya Dwi Adnandya

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian,
Universitas Dr. Soetomo Surabaya
Jl. Semolowaru No. 84, Menur Pumpungan, Kec. Sukolilo, Kota Surabaya, Jawa Timur

*Corresponding author email: dbudiyanto_unitomo@yahoo.com

Submitted: 08 November 2023 / Revised: 05 March 2025 / Accepted: 07 March 2025

<http://doi.org/10.21107/juvenil.v6i1.22916>

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri probiotik terhadap jumlah koloni TSA, penelitian meliputi pembuatan media TSA dan isolasi bakteri air tambak. Media TSA ditimbang sebanyak 20 g dan ditambahkan KCL 0,375 g dan MgSO₄ 3,47 g, NaCl 9,2 g dan aquadest 500 ml, sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 derajat celcius selama 15 menit, inokulasi sampel air tambak dilakukan pengenceran menggunakan larutan Nafis (*Natrium fisiologis*) 0,9 ml dan sampel 0,1 ml bakteri probiotik *Bacillus sp* 0,1 ml diencerkan pada cawan petri yang berisi media TSA di ratakan menggunakan pengaduk try angel lalu diinkubasi 24 jam, dan bakteri dapat dihitung jumlah koloninya. Semakin banyak diencerkan maka semakin banyak juga koloni yang tumbuh dan jumlahnya semakin banyak.

Kata kunci: Jumlah koloni, Bakteri probiotik, TSA, Air tambak.

ABSTRACT

This study aims to determine the effect of probiotic bacteria on the number of TSA colonies. Research includes the manufacture of TSA media and the isolation of pond water bacteria. TSA media was weighed as much as 20 g and added 0,375 g, KCl and MgSO₄ 3,47 g, NaCl 9,2 g and 500 ml of distilled water, sterilized using an autoclave at 121°C for 15 minutes. Inoculation of pond water samples was diluted using 0,9 ml of physiological sodium solution and a sample of 0,1 ml of probiotic bacteria *Bacillus sp* 0,1 ml was diluted in a petri dish containing TSA media, averaged using a try angel stirrer and then incubated for 24 hours. And bacteria, the number of colonies can be counted, the more they are diluted, the more colonies will grow and the number will increase.

Keywords : Number of colonies, probiotic bacteria, TSA, Pond water.

PENDAHULUAN

Berbagai penelitian dan kajian tentang pemanfaatan probiotik telah dilakukan oleh para peneliti, baik itu dari perguruan tinggi, lembaga riset maupun pihak-pihak yang terkait. Demikian juga eksplorasi bakteri. Bakteri alam dari berbagai sumber yang potensial digunakan sebagai probiotik dan biokontrol telah banyak dikaji seperti air laut dan sedimen. (Muliani *et al*, 2003). Daun mangrove (Muliani *et al*, 2004) dan tambak udang (Muliani *et al*, 2006).

Terdapat beberapa keuntungan dalam penggunaan probiotik atau biokontrol untuk penanggulangan penyakit antara lain: (1) organisme yang dipakai telah dipertimbangkan lebih aman daripada berbagai bahan kimia yang digunakan. (2) tidak terakumulasi dalam rantai makanan (3) adanya proses reproduksi yang dapat mengurangi pemakaian yang berulang (4) organisme sasaran jarang yang menjadi resisten dalam agen probiotik atau biokontrol dibandingkan dengan resistensinya terhadap bahan kimia atau *antibiotic* (5) dapat dipakai untuk pengendalian

secara bersama-sama dengan cara-cara proteksi yang telah ada sampai saat ini (Suwanto, 1994).

Bakteri probiotik yang diisolasi dari lingkungan budidaya tambak diharapkan memiliki keunggulan-keunggulan tertentu disbanding dengan bakteri probiotik yang diisolasi dari sumber lain. Hal ini dikarenakan bakteri yang diisolasi dari tambak dan dikembalikan ke tambak diharapkan akan lebih mudah beradaptasikan berkembang biak serta melaksanakan peranan sebagaimana mestinya. Menurut Poernomo (2004), bahwa probiotik yang diaplikasikan ke dalam tambak harus mampu hidup didalam tambak, mampu tumbuh, berkembang biak dan mampu berfungsi aktif pada bidang masing-masing sesuai yang diharapkan.

Sebelum mengaplikasikan bakteri probiotik di lingkungan budidaya, sebaiknya dilakukan kajian-kajian berbagai aspek yang akan menunjang dapat tidaknya bakteri probiotik tersebut bekerja aktif sesuai fungsinya. Menurut Wang *et al* (1999), bahwa fungsi paling penting penggunaan probiotik adalah mempertahankan kestabilan parameter kualitas air tambak dengan menurunkan bahan organik seperti amoniak, gas hydrogen sulfida, dan gas-gas beracun lainnya. Selain itu, probiotik juga mengontrol terjadinya *Blooming* alga sehingga dapat menjaga kestabilan nilai PH dalam tambak, menurunkan kadar BOD, dan menjaga ketersediaan oksigen bagi pertumbuhan udang. Suatu fungsi yang cukup penting dan sebaiknya dimiliki oleh probiotik yang digunakan adalah dapat menekan petkembangan pathogen dalam tambak seperti *vibrio harveyi* dan virus.

MATERI DAN METODE

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental. Menurut Kurniawan (2016) menyatakan bahwa eksperimen dapat didefinisikan sebagai suatu tindakan yang dibatasi dengan nyata dan dapat dianalisis hasilnya. Penelitian ini menggunakan

Rangkaian Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan, yaitu Perlakuan A: Bakteri probiotik bacillus sp 0,1 ml pengenceran 8 kali; Perlakuan B: Bakteri probiotik bacillus sp 0,1 ml pengenceran 9 kali; Perlakuan C: Bakteri probiotik bacillus sp 0,1 ml pengenceran 10 kali; Perlakuan D: Bakteri probiotik bacillus sp 0,1 ml pengenceran 11 kali

Persiapan Penelitian

Sebelum digunakan tabung reaksi dan cawan petri dicuci menggunakan sabun terlebih dahulu hingga bersih, kemudian dibilas menggunakan air dan setelah itu dikeringkan. Menempatkan 11 tabung reaksi penelitian secara urut. Mengisi dengan larutan natrium fisiologis (*Nafis*) 0,9 ml per tabung reaksi. Mengisikan tabung reaksi dengan sampel bakteri probiotik *Bacillus sp* 0,1 ml. Selanjutnya tabung reaksi pertama diambil sebanyak 0,1 sampel dan diencerkan sampai tabung reaksi ke 11. Setelah selesai siapkan cawan petri sebanyak 4 buah untuk dibiakkan ke cawan petri. Setiap cawan diisi dengan agar TSA secukupnya tunggu sampai mengeras dan siap digunakan.

Setelah mengeras lal tabung reaksi 8,9,10,dan 11 setelah diencerkan menggunakan *Nafis (natrium fisiologis)* ditanam ke cawan petri masing2 1 cawan. Cawan 1 pengenceran 8 begitu seterusnya. Lalu diinkubasi di incubator selama 24 jam. Setelah 24 jam koloni bakteri dapat dihitung

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang Pengaruh Bakteri Probiotik Bacillus sp Dengan Pengenceran Yang Berbeda Terhadap Jumlah koloni Tryptic Soy Agar (TSA) di Tambak Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)., maka diperoleh data rata-rata yang berbeda pada setiap perlakuan. Adapun dekskriptif data statistiknya serta standar deviation nilai pertumbuhan bakteri probiotik pada awal perlakuan hingga akhir perlakuan pemberian probiotik *Bacillus sp* dapat dilihat pada **Tabel 1**.

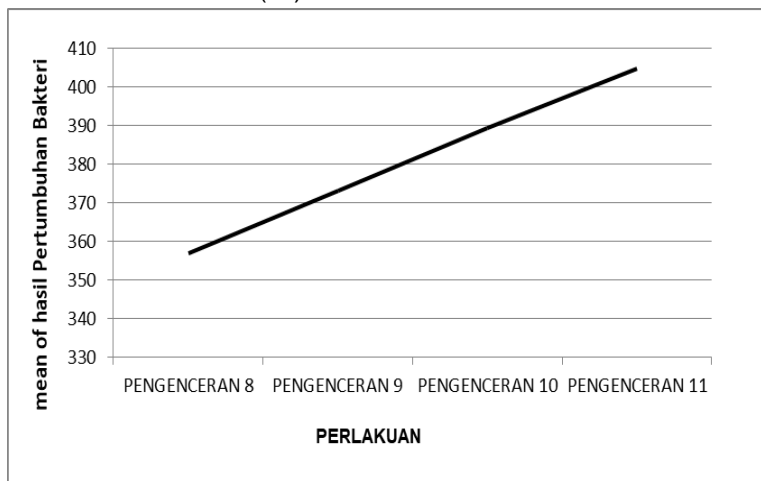
Tabel 1. Dekskriptif data rata-rata pertumbuhan Bakteri probiotik pada pengenceran berbeda

Descriptive Statistics					
	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Pengenceran 8	12	216	452	357,08	71,116
Pengenceran 9	12	235	461	373,17	68,076
Pengenceran 10	12	305	462	389,42	53,878
Pengenceran 11	12	327	464	404,92	50,235
Valid N (listwise)	12				

Sumber : Data Primer (2022)

Berdasarkan **tabel 1** diatas, dengan pengenceran 8 diperoleh nilai rata-rata nilai pertumbuhan bakteri probiotik 357.08 cfu/ml dengan penyimpangan dari nilai rata-rata (Standar deviasi/sd) = 71.116. pengenceran 9 diperoleh rata-rata 373.17 cfu/ml dengan penyimpangan dari nilai rata-rata (sd) =

68.076. perlakuan pengenceran 10 diperoleh rata-rata nilai pertumbuhan 389.42.cfu/ml dengan penyimpangan dari nilai rata-rata (sd) 53.878 perlakuan pengenceran 11 diperoleh rata-rata 404.92cfu/ml dengan penyimpangan dari nilai rata-rata (sd) 50.235.



Gambar 1. Grafik Means Plot Sumber : Data Primer (2022)

Berdasarkan **Gambar 1** dapat dijelaskan, bahwa perlakuan pengenceran 8 kali didapat hasil rata-rata pertumbuhan koloni yang rendah dan tidak dapat dihitung koloninya, Namun, setelah dilakukan pengenceran 9,10 dan 11 kali pertumbuhan koloni pada TSA (*Tryptic Soy Agar*) sudah terlihat jelas koloninya dan dapat dihitung. Sehingga

pertumbuhan bakteri yang baik didapatkan pada pengenceran 11 kali dengan rata rata 404.92 cfu/ml. Apakah data hasil pertumbuhan bakteri berdistribusi normal atau tidak, maka dilakukan uji normalitas dengan uji Kolmogorov-smirnov. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada **tabel 2**.

Tabel 2. Uji Normalitas hasil Pertumbuhan Bakteri pada perlakuan pengenceran yang berbeda.

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Pengenceran 8	.188	12	.200*	.945	12	.565
Pengenceran 9	.164	12	.200*	.952	12	.668
Pengenceran 10	.197	12	.200*	.924	12	.321
Pengenceran 11	.231	12	.078	.873	12	.071

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Sumber : Data Primer (2022)

Tabel 3. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Test

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test					
		p8	p9	p10	p11
N		12	12	12	12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	357.0833	373.1667	389.4167	404.9167
	Std. Deviation	71.11637	68.07594	53.87774	50.23483
Most Extreme Differences	Absolute	.188	.164	.197	.231
	Positive	.097	.098	.134	.145
	Negative	-.188	-.164	-.197	-.231
Kolmogorov-Smirnov Z		.652	.568	.683	.799
Asymp. Sig. (2-tailed)		.789	.903	.740	.546

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data

c. Lilliefors Significance Correction Sumber : Data primer (2022)

Berdasarkan 2 hasil uji normalitas pada **Tabel 3**, diketahui nilai signifikansinya (Sig.(2-tailed)) > 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa data pertumbuhan bakteri pada pengenceran yang berbeda betdistribusi normal. Kemudian

dilanjutkan dengan uji homogenitas. Homogenitas nilai Pertumbuhan Bakteri pada Pengenceran Berbeda dapat dilihat pada **tabel 4**.

Tabel 4. Uji Homogenitas Nilai Pertumbuhan Bakteri Pada Pengenceran Yang Berbeda.

Test of Homogeneity of Variances				
Perlakuan	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Pengenceran 8	5.174	2	9	.032
Pengenceran 9	4.598	2	9	.042
Pengenceran 10	3.728	2	9	.066
Pengenceran 11	6.759	2	9	.016

Sumber : Data Primer (2022) Dari tabel uji homogenitas diatas, diperoleh hasil uji homogenitas dengan

uji levene's diperoleh $P = 0.032 > 0,05$, yang artinya data nilai pertumbuhan bakteri pada perlakuan pengenceran berbeda berdistribusi data homogeny. Untuk mengetahui apakah perlakuan pengenceran bakteri probiotik berpengaruh nyata terhadap nilai pertumbuhan bakteri TSA pada tambak udang

vannamei, maka dari itu dilakukan uji ANOVA satu jalur dan apabila hasil uji menyatakan berbeda nyata maka dilanjutkan pada uji ANOVA lanjutan dengan menggunakan uji Duncan. Tabel uji ANOVA pertumbuhan bakteri pada pengenceran yang berbeda dapat dilihat pada **tabel 5**.

Tabel 5. Uji ANOVA Pertumbuhan Bakteri *Bacillus sp* pada Perlakuan pengenceran yang berbeda

ANOVA					
Hasil Pertumbuhan	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	904852083.333	5	180970416.667	19.372	.000
Within Groups	168157500.000	18	9342083.333		
Total	1073009583.333	23			

Sumber : Data Primer (2022)

Berdasarkan **Tabel 5**. Memperlihatkan hasil nilai $P/sig. = 0.000 < 0.05$, artinya perlakuan pengenceran memberikan pengaruh nyata terhadap nilai pertumbuhan bakteri pada tambak udang vannamei. Berdasarkan hasil uji ANOVA diatas, perlakuan pengenceran pada tambak udang vannamei memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai pertumbuhan bakteri. Sebab pada pengenceran terakhir sangat memberikan pengaruh pada penekanan pertumbuhan bakteri karena semakin banyak pengencerannya semakin banyak juga koloni yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan apabila pengenceran semakin kecil jumlahnya semakin tidak terlihat koloninya dan tidak bisa

dihitung karena pada pengenceran paling kecil koloni yang dihasilkan akan menggumpal sehingga sangat sulit untuk dihitung koloninya. Dalam proses perkembangbiakannya yaitu selama 24 jam sehingga pada waktu yang optimum tersebut diperoleh pertumbuhan bakteri yang baik serta dapat menekan bakteri yang patogen di tambak udang vannamei. Selanjutnya jika diperoleh hasil uji ANOVA maka dapat dilanjutkan pada uji lanjutan yaitu uji ANOVA menggunakan Duncan untuk melihat apakah terdapat perbedaan nyata antara perlakuan pemberian probiotik terhadap nilai pertumbuhan bakteri. Tabel uji Duncan dapat dilihat pada **tabel 6** dibawah ini.

Tabel 6. Uji lanjutan menggunakan Uji Duncan

Nilai pertumbuhan Bakteri				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Pengenceran 8	4	27450.00		
Pengenceran 9	4	30625.00		
Pengenceran 10	4		39150.00	
Pengenceran 11	4		40300.00	40300.00
Sig.		.159	.288	.075

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Sumber : Data Primer (2022)

Pada tabel 6 diatas dapat dijelaskan perbedaan nilai pertumbuhan bakteri TSA pada pengenceran 8 berbeda nyata dengan pengenceran 11 serta berbeda nyata juga dengan pengenceran 9 dan 10. pada perlakuan pengenceran 8 didapatkan hasil pertumbuhan bakteri yaitu 274.00 cfu/ml, dibandingkan dengan perlakuan pengenceran 11 jumlah koloni yang dihasilkan lebih banyak yaitu 403.00 cfu/ml sehingga perlakuan pengenceran sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri pada tambak udang vannamei. Hasil perbandingan diatas disebabkan karena semakin banyak pengenceran yang dilakukan maka semakin banyak jumlah koloni yang dihasilkan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian Pengaruh Bakteri Probiotik *Bacillus sp* Dengan Pengenceran Yang Berbeda Terhadap Jumlah Koloni Tryptic Soy Agar (TSA) Di Tambak Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) maka kesimpulan yang diperoleh adalah Pengenceran bakteri probiotik berpengaruh nyata terhadap jumlah koloni yang dihasilkan dimana pada perlakuan pengenceran 8 kali menghasilkan rata-rata 274/cfu/ml, dimana jumlah koloni yang dihasilkan sedikit dan tidak dapat dihitung koloninya sehingga dilakukan pengenceran 11 kali yang menghasilkan rata-rata 403 cfu/ml. Hasil pengenceran bakteri probiotik yang paling baik adalah pengenceran 11 kali karena semakin jelas pertumbuhan koloninya. Kualitas air terhadap jumlah koloni selama penelitian didapat hasil yang masih dalam kisaran normal.

DAFTAR PUSTAKA

- Muliani, S. (2006). *Anatomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Kanisius
- Suwanto A., dan Tjahjono, B. (1994). Populasi Bakteri Endofit Sebagai Senyawa Bioaktif. *Jurnal Hayati* 3, 26-30.
- Purnomo, Hari. (2004). Perencanaan dan Perancangan Fasilitas. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Wang, Y. B., Li, J. R., and Lin, J. (2008). Probiotics cell wall hidropbobicity in bioremediation of aquaculture. *Aquaculture* 269, 349-352.
- Hidayat, R. P., & Mahasri, G. (2017). Evaluasi Pemberian Crude Protein Zoothamnium penaei Terhadap Laju Pertumbuhan, Respon Imun dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Di Tambak. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 19(2), 111-132.
- Haliman, R. W., dan Adijaya. (2005). *Udang*

- Vannamei*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Jannah, M., Junaidi, M., Setyowati, D. N. A., & Azhar, F. (2018). Pengaruh pemberian *Lactobacillus sp.* dengan dosis yang berbeda terhadap sistem imun udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*, 11(2), 140-150.
- Purnamasari, B. (2017). *Kinerja Produksi Ikan *Synodontis eupterus* Pada Teknologi Bioflok C/N 12 dengan pada Tebar Berbeda*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Moriarty, D. J. W. (1998). Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture*, 164(1-4), 351-358.
- Simarmata, J. (2006). *Perancangan Basis Data*. Andi. Yogyakarta.
- Yudiati, E., Arifin, Z., & Riniatsih, I. (2010). Pengaruh aplikasi probiotik terhadap laju sintasan dan pertumbuhan tokolan udang vanamei (*Litopenaeus vannamei*), populasi bakteri *Vibrio*, serta kandungan amoniak dan bahan organik media budidaya. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 15(3), 153-158.
- Pustadin KKP. (2018). *Produksi Perikanan Dan Kelautan Satu Data - Kementerian Kelautan Dan Perikanan*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. <https://kkp.go.id/setjen/satudata> [10 Oktober 2021]
- Widanarti. (2005). *Penapsiran Bakteri Probiotik untuk Biokontrol Vibriosis pada Larva Udang: Konstruksi Penanda Molekuler dan Esei Pelekatan*. Disertasi. Institusi Pertanian Bogor. Hlm 268.