



ACTIVITY ENZYMATIC OF LACTIC ACID BACTERIA FROM THE DIGESTIVE TRACT OF SPINY LOBSTER (*Panulirus homarus*) AS A PROBIOTICS CANDIDATE

Kiki Rizki Auliyah*, Faturrahman², Fariq Azhar³

¹ Department Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, City, University Mataram, Jl. Majapahit No. 62,83115, Mataram Indonesia

² Department Biology, Faculty of Mathematics and Natural Science, City, University Mataram, Jl. Majapahit No. 62,83115, Mataram Indonesia

³ Biology Education Study Program, Teacher Training and Educational Faculty, University of Mataram, Mataram, Indonesia.

Received:
Revised:
Accepted:
Published:

Corresponding Author:
Author Name*: Kiki Rizki Auliyah,
Email*: rizkik617@gmail.com

DOI:

© 2023 The Authors. This open access article is distributed under a (CC-BY License)



Phone*: +62...

Abstract: Probiotics can be defined as live microbes added in certain amounts that are able to survive in the digestive ecosystem. Lactic acid bacteria (LAB) are bacteria that have the potential to be used as probiotics because of their ability to produce enzymes that can hydrolyze complex molecules such as protein, amylum, and fat. This study aims to determine the proteolytic, amylolytic, and lipolytic potential of LAB from the digestive tract of sand lobster as probiotic candidates. The research began by isolating LAB from the digestive tract of sand lobster. The isolates obtained were then tested for their enzymatic activity qualitatively and semi-quantitatively. Furthermore, bacterial isolates with enzymatic activity were identified based on morphological, biochemical, and physiological characterization. LAB isolates that have enzymatic activity are based on their ability to form a clear zone on the test media. A total of 14 bacterial isolates suspected to be LAB were successfully isolated from the digestive tract of sand lobster. Enzymatic activity test results showed that as many as 6 bacterial isolates each had proteolytic, amylolytic, and lipolytic activities. The highest proteolytic, amylolytic, and lipolytic bacterial activities were achieved by isolate SP6 with a hydrolysis index value of 3.32, isolate SU4 with a hydrolysis index value of 3.67, and isolate SP6 with a hydrolysis index value of 2.62. Based on the results of morphological, biochemical, and physiological characterization, it is known that the bacterial isolates are LAB from the genus *Pediococcus*, *Enterococcus*, and *Lactobacillus*. The enzymatic ability of LAB based on the clear zone formed showed that isolates SP6 (*Pediococcus sp*) and SU4 (*Pediococcus sp*) have the potential to be utilized as probiotics.

Keywords: Proteolytic, amylolytic, lipolytic, spiny lobster, LAB.

Pendahuluan

Lobster pasir (*Panulirus homarus*) merupakan salah satu komoditas perikanan laut Indonesia yang potensial karena banyak diminati dan bernilai ekonomis tinggi. Lobster pasir banyak dikembangkan oleh masyarakat Indonesia terutama di NTB karena prospeknya yang menjanjikan dan keadaan alam di wilayah NTB yang mendukung dalam memenuhi jumlah permintaan pasar. Permintaan konsumsi pasar yang terus meningkat berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2020 nilai ekspor benih lobster mencapai 2.150.420 kg atau senilai US\$ 76.106.250 juta (KKP, 2020). Permintaan ekspor yang semakin meningkat ini mendorong masyarakat untuk melakukan penangkapan

secara terus menerus di alam. Penangkapan secara intensif di alam dapat mengakibatkan terancamnya kelestarian sumber daya lobster.

Upaya untuk melestarikan sumber daya lobster adalah dengan melakukan budidaya. Dalam perkembangan budidaya lobster, muncul berbagai permasalahan diantaranya masa pemeliharaan yang lama dan tingkat mortalitas yang tinggi (Erlania et al., 2017). Masa pemeliharaan yang lama disebabkan oleh laju pertumbuhan lobster yang lambat sehingga tingkat produktivitas rendah (Nisa et al., 2013). Laju pertumbuhan yang lambat diduga akibat adanya defisiensi sejumlah nutrisi penting. Defisiensi nutrisi dapat disebabkan akibat kurangnya penyerapan pakan dalam proses pencernaan.

How to Cite:

Example: Susilawati, S., Doyan, A., Mulyadi, L., & Hakim, S. (2019). Growth of tin oxide thin film by aluminum and fluorine doping using spin coating Sol-Gel techniques. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 1(1), 1-4.

Mikroflora yang ada pada saluran pencernaan memiliki peranan penting dalam meningkatkan efektivitas penyerapan pakan melalui aktivitas enzimatik yang dihasilkannya (Faturrahman et al., 2015). Salah satu solusi untuk meningkatkan kemampuan penyerapan pakan pada hewan budidaya adalah dengan penambahan probiotik.

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah cukup dapat memberikan efek menguntungkan bagi inangnya seperti meningkatkan kesehatan dan nutrisi pada inang (Feliatra, 2018). Probiotik memiliki manfaat dalam mengatur keseimbangan mikroba pada saluran pencernaan dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen serta mensekresikan enzim ekstraseluler yang dapat membantu proses pencernaan makanan. Manfaat lainnya adalah probiotik dapat mengurangi hambatan nutrisi pada pakan karena probiotik mampu menstimulasi peningkatan zat gizi pada inang (Sumarsih et al., 2012). Bakteri yang berpotensi dijadikan sebagai probiotik dapat ditemui baik pada saluran pencernaan hewan terestrial maupun akuatik. Bakteri probiotik yang berasal dari saluran pencernaan memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim ekstraseluler yang berfungsi untuk mencerna makanan seperti amilase, protease, dan lipase. Enzim tersebut menghidrolisis molekul kompleks pada pakan dengan cara memotong ikatan panjang rantai karbohidrat, protein, dan lemak (Putra & Hermawan, 2014).

Salah satu kelompok bakteri indigenous yang bersimbiosis pada saluran pencernaan serta berpotensi dijadikan sebagai kandidat probiotik adalah bakteri asam laktat (Pandiyani et al., 2013). Diketahui bahwa bakteri asam laktat telah banyak di laporkan pemanfaatannya sebagai probiotik karena salah satu kemampuannya menghasilkan sejumlah enzim ekstraseluler seperti amilase, lipase, dan protease (Chizhayeva et al., 2022). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dawood et al. (2019) *Lactobacillus plantarum* mampu meningkatkan pertumbuhan dan daya cerna pada Ikan Nila melalui produksi enzim ekstraseluler seperti amilase, lipase, dan protease. Oleh karena itu, kemampuan menghasilkan enzim yang esensial menjadi salah satu karakteristik yang harus dimiliki oleh kandidat probiotik. Proses isolasi dan seleksi bakteri yang memiliki aktivitas enzimatik perlu dilakukan untuk memisahkan bakteri dengan lingkungannya sehingga diperoleh biakan murni yang akan dijadikan sebagai kandidat probiotik. Proses karakterisasi dan identifikasi dilakukan sebagai tahap awal untuk menyeleksi kandidat probiotik dari lobster pasir (*Panulirus homarus*).

Metode

Pengambilan Sampel

Sampel lobster pasir dewasa diambil dari hasil tangkapan nelayan di Teluk Jukung, Dusun Telong Elong, Kecamatan Jerowaru, Kabupaten Lombok Timur. Sampel dibungkus menggunakan koran dan dimasukkan ke dalam

box berisi es batu, hal ini untuk menjaga lobster tetap hidup hingga dilakukan perlakuan di laboratorium.

Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Lobster Pasir

Saluran pencernaan lobster pasir diambil dengan cara melakukan pembedahan dari bagian chepalotorax hingga abdomen. Organ pencernaan dipisah menjadi 3 segmen yakni kardiak, pilorik, dan usus. Masing-masing organ pencernaan kemudian di timbang sebanyak 1 gram lalu digerus menggunakan mortar. Setiap 1 gram homogenat saluran pencernaan kemudian di suspensikan ke dalam masing-masing 9 mL NaCl 0,9% lalu dihomogenisasi menggunakan vortex sehingga terbentuk seri pengenceran 10-1. Pengenceran dilakukan hingga diperoleh seri pengenceran 10-6. Larutan dengan seri pengenceran 10-4 cfu/m, 10-5 cfu/ml, 10-6 cfu/ml ditumbuhkan pada media MRS agar + CaCO₃ 0,5% dengan metode tuang kemudian di inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C.

Seleksi Isolat BAL Penghasil Enzim Ekstraseluler

Seleksi isolat BAL yang memiliki aktivitas enzimatik dilakukan dengan uji proteolitik, lipolitik, dan amilolitik serta uji hidrolisis menggunakan supernatan bebas sel. Keempat uji tersebut dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam mendegradasi molekul kompleks seperti protein, amilum, dan lemak.

Uji Proteolitik

Uji proteolitik dilakukan dengan menotolkan satu ose bakteri pada media MRS agar yang diperkaya skim milk 1%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

Uji Amilolitik

Uji amilolitik dilakukan dengan menotolkan satu ose bakteri pada media MRS agar yang diperkaya pati 1%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Pengamatan zona bening dilakukan dengan meneteskan iodine pada permukaan media sebagai indikator terhidrolisisnya zat pati.

Uji Lipolitik

Uji lipolitik dilakukan dengan menotolkan satu ose bakteri pada media MRS agar yang diperkaya minyak zaitun 1% dan tween 80 sebagai surfaktan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

Uji Hidrolisis Supernatan Bebas Sel

Isolat bakteri yang memiliki aktivitas enzimatik diseleksi secara kuantitatif menggunakan metode sumuran. Uji ini diawali dengan melakukan produksi enzim ekstraseluler dengan cara mengkultur bakteri ke dalam media MRS broth kemudian di inkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Selanjutnya, sel dipisahkan antara endapan dan supernatant dengan sentrifugasi pada kecepatan 3200 rpm selama 20 menit sehingga diperoleh supernatant bebas

sel. Sebanyak 100 µL supernatan bebas sel yang mengandung ekstrak kasar enzim diinjeksi ke dalam sumuran media uji proteolitik, amilolitik, dan lipolitik selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C.

Indeks Hidrolisis

Pengukuran indeks hidrolisis protein, amilum, dan lemak dilakukan dengan membandingkan diameter zona bening yang terbentuk dengan diameter koloni. (Silitonga *et.al.*, 2019).

$$\text{indeks hidrolisis} = \frac{\text{diameter zona bening (mm)}}{\text{diameter koloni (mm)}}$$

Karakteristik Isolat BAL

Isolat BAL dikarakterisasi menggunakan beberapa uji diantaranya pengecatan gram, uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, uji pertumbuhan pada suhu, pH, dan kadar garam berbeda.

Pengecatan Gram

Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat kemudian dioleskan ke atas kaca benda yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70%, lalu ditetaskan 2 tetes H₂O₂ 3% pada kultur yang berumur 24 jam. Reaksi positif uji katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung-gelembung yang berarti ada pembentukan gas (Cappucino & Sherman, 2002).

Uji Motilitas

Sebanyak 1 ose isolat BAL diambil kemudian ditusukkan pada medium semi-solid lalu di inkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Hasil positif (motil) ditandai dengan bakteri tumbuh menyebar disekitar area tusukan (Cappucino & Sherman, 2002).

Uji Tipe Fermentasi

Uji dilakukan dengan menumbuhkan kultur bakteri terlebih dahulu pada media MRS Broth dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Setelah itu diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Jika terdapat gas (CO₂) atau gelembung pada tabung durham maka isolat bakteri termasuk kedalam bakteri heterofermentatif, sedangkan jika tidak terbentuk gas maka termasuk bakteri homofermentatif (Romadhon *et al.*, 2012).

Uji Pertumbuhan pada Suhu Berbeda

Sebanyak 1 ose kultur bakteri berusia 24 jam diinokulasikan pada media MRS Broth kemudian diinkubasi pada suhu 10°C dan 45°C selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS Broth.

Uji Pertumbuhan pada Kadar NaCl Berbeda

Pertumbuhan bakteri pada konsentrasi NaCl 6,5%

dan 18% dilakukan pada media MRS Broth selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS Broth.

Uji Pertumbuhan pada pH Berbeda

Pengaruh pH terhadap isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada MRS Broth dengan variasi pH 4,4 dan 9,6. Variasi pH dilakukan dengan menambahkan NaOH atau HCl pada sampel kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter. Pertumbuhan ditandai dengan adanya kekeruhan pada media MRS Broth.

Hasil dan Pembahasan

Total 14 isolat diduga BAL berhasil di isolasi dari saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus*) yang dibagi menjadi tiga segmen pencernaan yakni kardiak, pilorik, dan usus. Seluruh isolat kemudian diseleksi pada media uji proteolitik, amilolitik, dan lipolitik secara kualitatif menggunakan koloni sel. Pengujian secara kualitatif dilakukan sebagai tahap awal untuk melihat potensi enzimatik isolat bakteri dalam mendegradasi protein, amilum, dan lemak. Adanya aktivitas enzimatik ditandai dengan zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Hasil isolasi dan seleksi aktivitas enzimatik BAL asal saluran pencernaan lobster pasir ditunjukkan pada Tabel 1.

Table 1 Hasil Isolasi dan Seleksi Aktivitas Enzimatis Isolat BAL asal Saluran Pencernaan Lobster Pasir

Segmen Asal Isolat	Jumlah Isolat	Penapisan		
		Proteolitik	Amilolitik	Lipolitik
Kardiak	1	0	1	0
Pilorik	6	3	3	3
Usus	7	3	2	3
Total	14	6	6	6

Hasil seleksi bakteri yang memiliki aktivitas enzimatik terhadap 14 isolat, diperoleh masing-masing 6 isolat bakteri memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik (Tabel 1). Keberadaan bakteri yang bersifat proteolitik, amilolitik, dan lipolitik pada saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus*) diduga terkait dengan kebiasaan makan mereka. Menurut Purnamaningtyas & Nurfiani (2017) lobster pasir memiliki kebiasaan memanfaatkan organisme akuatik lainnya seperti ikan, krustasea, dan detritus sebagai pakannya yang memiliki kandungan nutrisi tinggi. Menurut Williams (2007) makanan yang baik bagi lobster pasir adalah pakan yang mengandung konsentrasi protein sebesar 25-55%. Selain itu, lobster membutuhkan kandungan karbohidrat sebesar 29,4% dalam pakannya (Kakam *et al.*, 2008). Lobster pasir juga membutuhkan lemak sebesar 10-11% sebagai nutrisi yang digunakan sebagai bahan pembentuk asam lemak untuk sumber energi (Williams, 2007). Dengan demikian, keberadaan bakteri proteolitik, amilolitik, dan lipolitik dibutuhkan untuk membantu menghidrolisis senyawa protein, amilum, dan lemak.

Kardiak dan pilorik merupakan bagian atas dan bawah lambung. Pada bagian kardiak ditemukan bakteri yang memiliki aktivitas amilolitik hal ini diduga karena lobster cenderung mencerna karbohidrat terlebih dahulu sebagai sumber energinya. Sedangkan pada bagian pilorik ditemukan lebih banyak bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik. Pada bagian pilorik lebih banyak terjadi pencernaan secara kimiawi dibandingkan pada bagian kardiak, hal ini karena lingkungan pada bagian pilorik lebih mendukung. Menurut (Perera & Simon, 2015) enzim protease pada saluran pencernaan lobster dapat bekerja optimal pada pH netral dan cenderung basa, sedangkan enzim amilase lebih aktif

pada pH asam. Kondisi pH yang tidak terlalu asam pada usus juga memungkinkan pencernaan karbohidrat dan protein terjadi pada segmen tersebut, sehingga bakteri proteolitik, amilolitik, dan lipolitik juga ditemukan pada segmen usus. Adanya bakteri lipolitik pada segmen pilorik dan usus menunjukkan terjadinya pencernaan lipid pada kedua segmen tersebut.

Selanjutnya, setiap isolat bakteri dikarakterisasi berdasarkan karakter morfologi, biokimia, dan fisiologi. Karakter morfologi sel meliputi karakter morfologi koloni dan karakter morfologi sel dengan pewarnaan gram. Hasil karakterisasi morfologi isolat BAL dapat dilihat pada Tabel 2.

Kode Isolat	Makroskopis				Mikroskopis	
	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Elevasi Koloni	Bentuk Sel	Pewarnaan Gram
SK1	Putih	Bulat	Rata	Membukit	Bulat	Gram Positif
SP3	Kuning	Bulat	Rata	Rata	Bulat	Gram Positif
SP4	Putih	Bulat	Rata	Membukit	Bulat	Gram Positif
SP5	Kuning	Bulat	Rata	Membukit	Batang	Gram Positif
SP6	Putih	Bulat	Rata	Rata	Bulat	Gram Positif
SU3	Putih	Bulat	Rata	Membukit	Batang	Gram Positif
SU4	Putih	Bulat	Rata	Membukit	Bulat	Gram Positif
SU5	Kuning	Bulat	Rata	Membukit	Bulat	Gram Positif

Delapan dari 14 isolat menunjukkan ciri-ciri isolat BAL berdasarkan karakteristik morfologi koloninya yakni, memiliki bentuk koloni bulat, dengan tepian koloni hampir seluruhnya rata dan beberapa ada yang bergerigi. Elevasi didominasi membukit, dan yang lainnya rata. Warna koloni putih, putih susu, hingga kekuningan. BAL umumnya memiliki karakteristik koloni bentuk bulat, tepian rata, elevasi membukit (*convex*) dan permukaan rata (Rahayu & Setiadi, 2023).

Karakteristik morfologi sel kedelapan isolat menunjukkan seluruhnya merupakan bakteri gram positif dan bentuk sel di dominasi bulat dan beberapa ada yang

batang. Bakteri gram positif nampak berwarna keunguan jika diamati di bawah mikroskop. Terbentuknya warna keunguan disebabkan oleh komponen utama penyusun dinding sel bakteri gram positif yakni peptidoglikan yang mampu mengikat pewarna kristal violet (Toole, 2016). Bakteri asam laktat termasuk ke dalam bakteri gram positif (Nursyirwani *et al.*, 2012; Romadhon *et al.*, 2012; Suciati *et al.*, 2016; Irwansyah, 2018).

Karakteristik penting lainnya yang diamati untuk identifikasi BAL meliputi uji katalase, uji motilitas, uji tipe fermentasi, dan uji pertumbuhan pada lingkungan berbeda (Tabel 3).

Karakteristik	Kode Isolat								Pc	Ec	Lb
	SK1	SP3	SP4	SP5	SP6	SU3	SU4	SU5			
Bentuk Sel	C	C	C	B	C	B	C	C	C	C	B
Pewarnaan Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalase	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Motilitas		-	-		-	-	-		-	-	-
Tipe Fermentasi		Ho	Ho		Ho	Ho	Ho		Ho	Ho	Ho/Hf
Suhu:											
- 10°C		-	+		-	+	+		±	+	±
- 45°C		+	+		+	-	+		±	+	±
pH:											
- 4,4		+	+		+	+	+		+	+	±
- 9,6		-	+		-	-	-		-	+	-
NaCl:											
- 6,5%		-	+		-	+	+		±	+	±
- 18%		-	-		-	-	-		-	-	-

Uji katalase merupakan salah satu uji biokimia untuk mendeteksi keberadaan enzim katalase pada bakteri (Rahayu & Setiadi, 2023). Berdasarkan hasil uji katalase diketahui bahwa 5 isolat menunjukkan katalase negatif (-) yang ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas. Sedangkan 3 isolat lainnya menunjukkan katalase positif (+) yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas sebagai hasil pemecahan hidrogenperoksida (H₂O₂) oleh enzim katalase yang akan membentuk air dan oksigen. Ketiga isolat dengan katalase positif diduga kuat bukan merupakan kelompok BAL sehingga tidak dilanjutkan proses identifikasi selanjutnya. Hasil ini sesuai dengan karakteristik BAL yaitu bersifat gram positif, tidak membentuk spora, dan hampir semua strain tidak mampu menghasilkan enzim katalase (Widodo, 2003).

Hasil uji motilitas menunjukkan kelima isolat BAL bersifat non motil. Hal ini terlihat dari sebaran koloni BAL yang ditumbuhkan pada media SIM semi padat tidak menyebar karena koloni tersebut tidak memiliki flagela. Sifat non motil juga merupakan ciri umum BAL (Axelsson, 2004).

Karakteristik penting yang digunakan untuk membedakan genus BAL adalah uji tipe fermentasi. Berdasarkan tipe fermentasinya BAL dibedakan menjadi dua kelompok yakni homofermentatif yang menfermentasi glukosa menjadi asam laktat, dan heterofermentatif yang menfermentasi glukosa menjadi asam laktat, etanol, asam asetat dan gas CO₂ (Wang *et al.*, 2021). Hasil uji tipe fermentasi menunjukkan bahwa kelima isolat BAL termasuk kelompok homofermentatif. Menurut Axelsson (2004) BAL yang tergolong homofermentatif yakni berasal dari genus *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*.

Hasil uji pertumbuhan pada lingkungan berbeda yakni pada suhu, pH, dan kadar NaCl berbeda menunjukkan bahwa, isolat BAL memiliki kemampuan pertumbuhan berbeda terhadap suhu berbeda yaitu 10°C dan 45°C (Tabel 3). Menurut Axelsson (2004) beberapa genus *Lactobacillus* dan *Pediococcus* ada yang mampu tumbuh pada suhu 10°C dan 45°C dan beberapa genus tersebut tidak mampu tumbuh tergantung pada spesiesnya.

Kemampuan tumbuh isolat pada kadar garam 6,5% dan 18% juga digunakan sebagai dasar klasifikasi genera dalam BAL. Beberapa isolat memiliki kemampuan tumbuh pada kadar garam 6,5 % dan yang lainnya tidak. Seluruh isolat tidak mampu tumbuh pada kadar garam 18%. Menurut Axelsson (2004) beberapa genus *Lactobacillus* *Leuconostoc*, *Oenococcus* dan *Pediococcus* ada yang mampu dan tidak mampu tumbuh pada kadar garam 6,5% tergantung dari spesiesnya.

Kemampuan pertumbuhan pada kondisi asam (pH 4,4) dan basa (pH 9,6) merupakan salah satu dasar klasifikasi genus BAL lainnya. Kelima isolat memiliki kemampuan tumbuh pada kondisi asam dan hanya 1 isolat yakni SP4 yang mampu tumbuh pada kondisi. Menurut Axelsson (2004) genus *Pediococcus* memiliki kemampuan tumbuh pada kondisi asam (4,4) dan genus *Enterococcus* mampu tumbuh pada kondisi asam maupun basa.

Sedangkan beberapa *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus* dan *Weisella* ada yang mampu tumbuh pada kondisi asam dan ada yang tidak tergantung dari spesies.

Hasil pegujian aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik isolat menggunakan kultur sel maupun supernatan bebas sel yang mengandung ekstrak kasar enzim memperlihatkan adanya zona bening. Perbedaan ukuran zona bening yang dihasilkan menunjukkan perbedaan kemampuan dalam menghidrolisis protein, amilum, dan lemak. Nilai indeks hidrolisis protein dan lemak tertinggi dihasilkan oleh isolat SP6, kemudian nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi dihasilkan oleh isolat SU4. Nilai indeks hidrolisis protein, amilum, dan lemak disajikan pada Tabel 4.

Uji Aktivitas Enzim	Kode Isolat	Diameter Zona Bening (mm)	Diameter Koloni (mm)	Zona Bening Supernatan Bebas Sel (mm)	Indeks
Proteolitik	SP3	6,67	4,00	12,20	1,67
	SP4	16,67	6,34	18,67	2,63
	SP6	11,01	3,34	18,71	3,32
	SU3	11,67	4,67	29,67	2,50
	SU4	13,00	6,00	28,67	2,16
	SU5	6,67	5,00	12,17	1,33
Amilolitik	SK1	6,97	5,43	11,50	1,28
	SP4	1,20	7,00	19,70	1,71
	SP5	3,67	2,67	11,37	1,38
	SP6	10,34	3,34	22,40	3,10
	SU3	7,00	4,00	16,00	1,75
	SU4	22,00	6,00	24,33	3,67
Lipolitik	SP3	5,00	3,67	10,83	1,36
	SP4	12,33	6,67	15,00	1,85
	SP6	11,33	4,33	17,33	2,62
	SU3	9,67	5,33	13,00	1,81
	SU4	11,07	5,54	12,67	1,98
U	SU5	9,00	4,00	16,00	2,25

Uji aktivitas proteolitik dilakukan terhadap isolat BAL dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan isolat BAL dalam menghidrolisis protein. Hasil uji aktivitas proteolitik terhadap keenam isolat memperlihatkan diameter zona bening dengan kisaran nilai indeks hidrolisis protein berkisar antara 1,33-3,32 (Tabel 4). Isolat SP6 sebagai isolat dengan nilai indeks hidrolisis protein tertinggi yakni 3,32. Sebaliknya, isolat SU5 memiliki nilai indeks hidrolisis protein terendah yaitu 1,33. Isolat dengan nilai indeks hidrolisis protein tertinggi diduga sebagai isolat bakteri proteolitik paling potensial dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Terbentuknya zona bening disekitar koloni menunjukkan bahwa bakteri mampu menghidrolisis substrat kasein dengan menghasilkan enzim ekstraseluler (Suciati *et al.*, 2016). Bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler disebut bakteri proteolitik. Bakteri proteolitik dapat menghidrolisis protein pada media MRS agar yang telah diperkaya dengan kasein 1% yang kemudian

akan membentuk zona bening. Menurut Hou & Jonhson (1992) dalam Faturrahman *et al* (2019) zona bening yang terbentuk pada media uji proteolitik sebagai hasil dari pemecahan protein menjadi asam amino yang akan larut dalam media sehingga kekeruhan media akan berkurang.

Adanya aktivitas proteolitik pada BAL berkaitan dengan pemanfaatan kasein sebagai sumber asam amino bebas yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Sistem proteolitik BAL terdiri dari proteinase, peptidase, dan protein transport khusus. Proteinase merupakan enzim ekstraseluler yang berikatan dengan dinding sel BAL berfungsi menghidrolisis kasein menjadi oligopeptida (Kieliszek *et al.*, 2021). Hasil hidrolisis kasein berupa dipeptida, tripeptida, dan oligopeptida ditransport kedalam sel untuk selanjutnya dihidrolisis oleh berbagai jenis enzim peptidase seperti endopeptidase, aminopeptidase, dipeptidase, dan peptidase spesifik prolin menjadi asam amino bebas (Wang *et al.*, 2021). Adanya protein transport khusus yakni Opp, DtpP, dan DtpT pada BAL memungkinkan asam amino dan peptida diangkut melintasi membran sitoplasma (Kieliszek *et al.*, 2021).

Tahap awal proteolisis menunjukkan enzim ekstraseluler proteolitik (CEP) mampu menghidrolisis protein susu kasein menjadi senyawa yang lebih sederhana (Kieliszek *et al.*, 2021). Kasein terdiri dari empat fraksi yakni α S1-, α S2-, β -, dan k-casein klasifikasi enzim didasarkan pada kemampuannya mengikat substrat berbeda (Bhat *et al.*, 2016). Enzim Protease pada *Lactococcus lactis* yakni lactopenin I (PI) menargetkan substrat β -casein sedangkan lactopenin III (PIII) mampu mengikat substrat α S1-, β -, dan k-casein. Selain itu, enzim PrtP pada *Lactobacillus rhamonus* juga berikatan dengan substrat β -casein (T. Guo *et al.*, 2016). Sehingga setiap enzim hanya mampu berikatan dengan substrat tertentu. Asam amino bebas yang merupakan produk akhir dari hidrolisis kasein akan digunakan oleh BAL untuk kebutuhan pertumbuhan dan perkembangannya (Kieliszek *et al.*, 2021). BAL dapat menghasilkan berbagai zat yang bermanfaat ketika menguraikan protein dalam lingkungan sekitarnya yang digunakan untuk kebutuhan pertumbuhan mereka. BAL dapat meningkatkan pencernaan protein dalam makanan, oleh karena itu BAL banyak dimanfaatkan sebagai probiotik.

Suciati *et al* (2016) melakukan uji aktivitas proteolitik terhadap BAL kandidat probiotik asal saluran pencernaan kepiting bakau (*Scylla sp*), didapatkan isolat WK 54 (*Pediococcus sp.*) yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler protease dengan diameter zona bening sebesar 12 mm. Penelitian lainnya oleh Faroby (2021) menunjukkan isolat CA2K6 (*Bacillus coagulan*) yang berasosiasi dengan abalon memiliki nilai indeks hidrolisis protein paling tinggi dengan nilai indeks 3,13. Bakteri *Pediococcus sp.* dan *Bacillus coagulan* termasuk kategori reaksi enzimatik kuat. Apabila dibandingkan potensi proteolitiknya, isolat BAL asal saluran pencernaan lobster pasir indeks hidrolisisnya lebih besar daripada *Pediococcus sp.* asal saluran pencernaan kepiting dan *Bacillus coagulan* yang berasosiasi dengan abalon.

Selain melakukan uji aktivitas proteolitik, dilakukan juga uji aktivitas amilolitik terhadap keenam isolat BAL. Aktivitas bakteri yang mampu mendegradasi pati atau bakteri amilolitik berkaitan erat dengan kemampuan bakteri dalam mensekresikan enzim amilase. Enzim amilase sebagai biokatalisator yang mampu mengkatalis proses hidrolisa pati menjadi senyawa lebih sederhana seperti dekstrin, maltose, dan glukosa (Nangin & Sutrisno, 2015). Secara umum, enzim pendegradasi pati dibagi menjadi empat kelompok yakni endoamilase, eksoamilase, enzim pengurai cabang, dan transferase (Petrova *et al.*, 2013). Pati merupakan polisakarida yang terdiri dari amilosa yang merupakan rantai linear α -glukosa dengan ikatan glikosida α -(1-4) dan amilopektin yang terdiri dari rantai-rantai amilosa (ikatan α -(1-4)) yang saling terikat membentuk cabang dengan ikatan glikosida α -(1-6). Enzim amilase ekstraseluler pada *Lactobacillus sp.* merupakan endoamilase yang menghidrolisis ikatan glikosida α -(1-6) dan α -(1-4) dalam amilosa, amilopektin dan pullulan (Ganzle & Follador, 2012).

Tidak semua BAL memiliki kemampuan dalam mendegradasi pati hal ini berkaitan dengan kemampuan mereka dalam menghasilkan asam laktat langsung dari pati sebagai sumber karbon (Petrova *et al.*, 2013) Bakteri *Lactobacillus amylophilus* GV6 diketahui memiliki enzim ekstraseluler amilopullulanase yang mampu mendegradasi berbagai jenis pati seperti pati larut, amilosa, glikogen, pullulan dengan aktivitas tertinggi terhadap amilopektin (Vishnu *et al.*, 2006). Genus *Pediococcus* diketahui memiliki enzim α -amilase, neopullulanase, dan oligoglukosidase yang berkerja dengan memutus ikatan glikosida α -(1-6) menjadi rantai yang lebih pendek (Turpin *et al.*, 2011)

Hasil penelitian menunjukkan kisaran nilai indeks hidrolisis amilum dari keenam isolat yakni antara 1,28-3,67. Isolat SU4 dengan nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi yakni 3,67, sedangkan nilai indeks hidrolisis amilum terendah diperoleh oleh isolat SK1 dengan nilai 1,28. Nilai indeks hidrolisa amilum menunjukkan kemampuan produksi enzim amilase untuk memecah amilum.

Potensi isolat SU4 dalam memproduksi enzim amilase termasuk dalam kategori kuat. Semakin tinggi nilai indeks hidrolisis maka semakin besar juga aktivitas enzim amilase isolat bakteri. Hal ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Elida *et al* (2022) bahwa reaksi enzim ekstraseluler dikategorikan kuat apabila nilai indeks hidrolisis >2. Jika nilai indeks hidrolisis enzim ekstraseluler 1-2 maka dikategorikan reaksi sedang, sedangkan apabila nilai indeks hidrolisis 0-1 maka dikategorikan reaksi lemah.

Aktivitas amilolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di koloni bakteri pada media MRS agar yang diperkaya 1% pati. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni mengindikasikan bahwa pati yang terdapat pada media telah terhidrolisis oleh enzim amilase menghasilkan senyawa lebih sederhana. Pada penelitian ini visualisasi zona bening nampak jelas pada uji aktivitas enzim yang menggunakan kultur sel meski tanpa penambahan larutan iodin. Akan tetapi pada pengujian menggunakan supernatant bebas sel zona bening kurang terlihat sehingga diperlukan penambahan larutan iodin. Penggunaan larutan iodin

berfungsi untuk memudahkan pengamatan dan pengukuran diameter zona bening. Penambahan indikator membuat visualisasi lebih kontras antara amilum yang tidak terhidrolisis dengan amilum yang berhasil dihidrolisis. Warna gelap yang terbentuk pada media setelah ditetesi iodine diakibatkan adanya reaksi antara iodine dengan pati yang tidak terhidrolisis (Kiti *et al.*, 2020).

Uji hidrolisis terhadap BAL pada akuakultur sebelumnya pernah dilakukan oleh Suciati *et al.* (2016) dengan mengisolasi BAL asal saluran pencernaan kepiting bakau (*Scylla sp.*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat WK 53 (*Streptococcus sp.*) mampu menghasilkan enzim amilase ekstraseluler yang ditandai dengan terbentuknya zona bening. Penelitian Suciati *et al.* (2016) sedikit berbeda dengan penelitian karena hanya mengidentifikasi kemampuan BAL secara kualitatif melalui pengamatan zona bening yang terbentuk. Sedangkan penelitian ini tidak hanya mengamati adanya zona bening yang terbentuk, akan tetapi juga melakukan pengukuran zona bening dan perhitungan indeks hidrolisis untuk mengetahui potensi isolat yang paling potensial sebagai kandidat probiotik pada lobster pasir.

Uji selanjutnya yang dilakukan adalah uji lipolitik terhadap isolat BAL, yaitu bakteri yang mampu menghasilkan enzim lipase. Enzim lipase diketahui mampu mengkatalis reaksi hidrolisis ikatan ester pada triasilgliserol menjadi gliserol dan asam lemak pada wilayah antarmuka substrat hidrofobik dan air (Amina *et al.*, 2020). Enzim ini dapat ditemukan sebagai enzim intraseluler maupun ekstraseluler. Pada BAL sebagian besar enzim lipase berada di dalam sel (intraseluler), sehingga harus dilepaskan melalui autolisis untuk dapat berinteraksi dengan substrat mereka. Semakin tinggi konsentrasi substrat maka semakin tinggi aktivitas lipolitik yang dihasilkannya (Thierry *et al.*, 2017).

Hasil uji aktivitas lipolitik terhadap keenam isolat menunjukkan diameter zona bening dengan kisaran indeks hidrolisis lemak berkisar antara 1,36-2,62. Tiga isolat yang mempunyai aktivitas lipolitik tertinggi adalah isolat SP6, SU5, dan SU4 berturut-turut dengan nilai indeks hidrolisis lemak sebesar 2,62, 2,25, 1,98. Isolat SP6 dengan nilai indeks hidrolisis lemak tertinggi termasuk kategori reaksi kuat, sehingga berpotensi dijadikan sebagai kandidat probiotik.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Wanna *et al.*, 2021) pemberian probiotik BAL pada udang putih (*L.vanamei*) dapat meningkatkan pertumbuhan, efisiensi pakan, dan efisiensi penyerapan lemak melalui peningkatan aktivitas enzim pencernaan. Zona bening yang terbentuk disekitar koloni dikarenakan bakteri lipolitik mensekresikan enzim lipase yang mendegradasi substrat yang mengandung lemak yang terdapat pada media MRS agar yang diperkaya 1% minyak zaitun. Penambahan minyak zaitun sebagai substrat yang akan dihidrolisis oleh bakteri lipolitik. Minyak zaitun diketahui sebagai substrat yang paling cocok digunakan untuk meningkatkan aktivitas lipase, hal ini berkaitan dengan tingginya kandungan asam lemak tak jenuh yakni asam oleat dalam minyak (Kivanc &

Acu, 2022).

Berdasarkan uji proteolitik, amilolitik, dan lipolitik diperoleh 5 isolat BAL yang memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik. Isolat SP6 memiliki nilai indeks hidrolisis paling tinggi dalam uji aktivitas proteolitik dan lipolitik. Sedangkan isolat SU4 memiliki nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi. Isolat dengan aktivitas enzimatis paling tinggi dapat diindikasikan sebagai kandidat bakteri probiotik. Hasil seleksi kandidat probiotik paling potensial melalui uji hidrolisis senyawa dalam penelitian ini dapat menjadi acuan dalam mengoptimalkan penggunaan probiotik BAL asal saluran pencernaan lobster pasir.

Menurut Yulvizar *et al.* (2014) bakteri probiotik akan sangat efektif digunakan apabila probiotik tersebut berasal dari saluran pencernaan inang dan lingkungan yang sama. Bakteri probiotik secara aktif akan membantu memproduksi dan mensekresikan enzim-enzim pencernaan untuk menguraikan senyawa-senyawa kompleks menjadi sederhana. Keberadaan bakteri probiotik dalam saluran pencernaan secara tidak langsung akan bermanfaat dalam meningkatkan absorpsi pakan (Ali Djunaedi & Subagiyo, 2011).

Bakteri probiotik dapat diaplikasikan dalam pakan yang diberikan pada lobster pasir, dengan menambahkan konsorium pakan berupa kandidat isolat BAL probiotik. Keberadaan bakteri probiotik dapat membantu meningkatkan pertumbuhan lobster pasir dan dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif dalam budidaya lobster pasir. Wanna *et al.*, (2021) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa pemberian probiotik BAL *Pediococcus pentosaceus* pada udang putih (*L.vanamei*) dapat meningkatkan pertumbuhan, penyerapan pakan, dan meningkatkan aktivitas enzim pencernaan.

Kesimpulan

Hasil isolasi dan seleksi isolat BAL asal saluran pencernaan lobster pasir (*Panulirus homarus*) menunjukkan bahwa 5 isolat BAL yakni SP3, SP4, SP6, SU3, dan SU4 memiliki aktivitas proteolitik, amilolitik, dan lipolitik. Hasil identifikasi genus dari kelima isolat tersebut diketahui bahwa 3 isolat yakni SP3, SP6, dan SU4 merupakan BAL dari genus *Pediococcus*, isolat SP4 merupakan genus *Enterococcus*, dan isolat SU3 merupakan genus *Lactobacillus*. Isolat BAL yang potensial dijadikan sebagai probiotik adalah isolat SP6 (*Pediococcus sp.*) yang memiliki nilai indeks hidrolisis protein dan lemak tertinggi berturut-turut dengan nilai 3,32 dan 2,62, kemudian isolat SU4 (*Pediococcus sp.*) dengan nilai indeks hidrolisis amilum tertinggi yakni 3,67).

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada seluruh pihak yang turut membantu dalam kegiatan penelitian ini, terutama kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram yang telah menyediakan Laboratorium untuk penelitian.

Referensi

- Ali Djunaedi, & Subagiyo. 2011. Skrining Kandidat Bakteri Probiotik dari Saluran Pencernaan Ikan Kerapu Berdasarkan Aktivitas Antibakteri Dan Produksi Enzim Proteolitik Ekstraseluler. *Ilmu Kelautan*, 16(1), 41-48.
- Axelsson, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspect. Eds by Salminen, S., A. V., Wright, dan A. Ouwehand, Third edition, Revised and Expanded, Marcel Dekker, Inc. New York.
- Cappucino, J.G., dan Sherman, N., 2002, Mikrobiologi: Manual Laboratorium, Edisi ke-6, Pearson Education Inc., San Francisco.
- Chizhayeva, A., Amangeldi, A., Oleinikova, Y., Alybaeva, A., dan Sadanov, A., 2022, Lactic acid bacteria as probiotics in sustainable development of Aquaculture, *Aquatic Living Resources* 35.
- Erlania, E., Radiarta, I. N., dan Haryadi, J., 2017, Status Pengelolaan Sumberdaya Benih Lobster Untuk Mendukung Perikanan Budidaya: Studi Kasus Perairan Pulau Lombok, *Jurnal Kebijakan Perikanan Indonesia* 8(2): 85.
- Elida, M., Agustina, A., Ermiami, E., & Desminarti, S. 2022. Isolate Characterization And Amyolytic Properties Of Lactic Acid Bacteria From Traditional Fermented Dadih. *Iop Conference Series: Earth And Environmental Science*, 1097(1).
- Faturrahman, Ismiati, I., dan Nurhasanah, A., 2019, Distribusi Bakteri Penghasil Enzim Ekstraseluler Pada Saluran Pencernaan Lobster Mutiara (*Panulirus ornatus*), *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan* 5 (2): 71-82.
- Faturrahman, Meryandini, A., Zairin Junior, M., dan Rusmana, I., 2015, The Role of Agarolytic Bacteria in Enhancing Physiological Function for Digestive System of Abalone (*Haliotis asinina*), *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 5(5): 49-56.
- Gänzle, M. G., & Follador, R., 2012, Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: a review. *Frontiers in microbiology*, 3, 340.
- Guo, J., Chen, C., Wang, S., dan Huang, X., 2015, Enzyme and Microbial Technology A convenient test for lipase activity in aqueous-based solutions, *Enzyme and Microbial Technology* 7(1): 8-12.
- Hedberg, N., Stenson, I., Pettersson, M. N., Warshan, D., Nguyen-kim, H., Tedengren, M., dan Kautsky, N., 2018, Antibiotic use in Vietnamese fish and lobster sea cage farms: implications for coral reefs and human health, *Aquaculture* 495 (1), 366-305.
- Irwansyah, I. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Pada Saluran Pencernaan Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus Blochii*). *Intek Akuakultur*, 2(2), 25-32.
- Kementerian Kelautan Perikanan, 2020, Data Ekspor-Import, Kementerian Kelautan Perikanan, Jakarta.
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., dan Kot, A. M., 2021, Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria, *Molecules*, 26(7).
- Li, M., Wang, Y., Cui, H., Li, Y., Sun, Y., dan Qiu, H. J., 2020, Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated From the Gastrointestinal Tract of a Wild Boar as Potential Probiotics, *Frontiers in Veterinary Science* 7 (2): 1-10.
- Martirosyan, V., Hovnanyan, K., dan Ayrapetyan, S., 2012, Carbon Dioxide as a Microbial Toxicity Enhancer of Some Antibacterial Agents: A New Potential Water Purification Tool, *ISRN Biophysics* 1-7.
- McGaw, I. J., dan Curtis, D. L., 2013, A review of gastric processing in decapod crustaceans, *Journal of Comparative Physiology, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 183 (4): 443-465.
- Melliawati, R., dan Djohan, A. C., 2015, Seleksi bakteri asam laktat sebagai penghasil enzim protease Selection of lactic acid bacteria as a protease enzyme producer, *Pros Semnas Biodiv Indon* 1(2): 184-188.
- Mikami, S., dan Takashima, F., 2008, Functional Morphology of the Digestive System. *Spiny Lobsters: Fisheries and Culture: Second Edition*, 1997, 601-610.
- Nangin, D., dan Sutrisno, A., 2015, Enzim Amilase Pemecah Pati Mentah dari Mikroba: Kajian Pustaka, *Jurnal Pangan Dan Agroindustri* 3(3): 1032-1039.
- Nguyen, V. D., Pham, T. T., Nguyen, T. H. X., Nguyen, T. T. X., dan Hoj, L., 2014, Screening of marine bacteria with bacteriocin-like activities and probiotic potential for ornate spiny lobster (*Panulirus ornatus*) juveniles, *Fish and Shellfish Immunology* 40 (1): 49-60.
- Nisa, A., Yuniarti Lumbessy, S., dan A Kartamihardja, U. K., 2013, Efektivitas Pakan Bioaktif Terhadap Pertumbuhan, Kelangsungan Hidup, dan Biomassa Akhir Juvenil Lobster Pasir (*Panulirus homarus*) Yang Dipelihara Di Dalam Wadah Terkontrol, *Jurnal Perikanan Unram* 1 (2): 30-46.
- Okfrianti, Y., Darwis, D., dan Pravita, A., 2018 Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea

- Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik, *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan* 6 (1): 49–58.
- Oktaviani, D. P., Fadlilah, S., Muwakhidah, U. J., dan Damaiyanti, E., 2021, Evaluasi Penambahan Probiotik Bakteri Asam Laktat Pada Pakan Terhadap Pertumbuhan Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*), *Manfish Journal* 2 (1): 1–6.
- O'toole, G. A. 2016. Classic Spotlight: How The Gram Stain Works. *Journal Of Bacteriology*, 198(23).
- Pandiyan, P., Balaraman, D., Thirunavukkarasu, R., George, E. G. J., Subaramaniyan, K., Manikkam, S., dan Sadayappan, B., 2013, Probiotics in Aquaculture, *Drug Invention Today* 5 (1): 55–59.
- Pant, G., Prakash, A., Pavani, J. V. P., Bera, S., Deviram, G. V. N. S., Kumar, A., Panchpuri, M., dan Prasuna, R. G., 2014, Production , optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis* Production , optimization and partial purification of protease from *Bacillus subtilis*, *Integrative Medicine Research* 9(1): 50–55.
- Perera, E., dan Simon, C., 2015, Digestive physiology of spiny lobsters: Implications for formulated diet development, *Reviews in Aquaculture* 7 (4): 243–261.
- Petrova, P., Petrov, K., & Stoyancheva, G., 2013, Starch-modifying enzymes of lactic acid bacteria—structures, properties, and applications, *Starch-stärke*, 65(1-2), 34-47.
- Philips, B.F., Cobb, J.S., dan George, R.W., 1980, Spiny Lobster Management, Finishing News Book, Cambridge.
- Pratiwi, D., Sebayang, F., dan Jamilah, I., 2013, Produksi Dan Karakterisasi Enzim Lipase Dari *Pseudomonas Aeruginosa* Dengan Menggunakan Induser Minyak Jagung Serta Kofaktor Na⁺ Dan Co²⁺, *Jurnal Sainatika Kimia* 1(2): 1-10.
- Purnamaningtyas, S. E., & Nurfiyani, A. 2017. Kebiasaan Makan Beberapa Spiny Lobster Di Teluk Gerupuk Dan Teluk Bumbang, Nusa Tenggara Barat. *Akuatika Indonesia*, 2(2), 155.
- Putra, Y. P., dan Handayani, N. S. N., 2018, Variasi genetik lobster hijau pasir (*Panulirus homarus* L.) di Teluk Bumbang Pulau Lombok berdasarkan penanda inter simple sequence repeats (ISSR), *Jurnal Laut Khatulistiwa* 1 (3): 81–88.
- Putra, A.N. dan D. Hermawan, 2014, Seleksi Bakteri Probiotik Amilolitik pada Saluran Pencernaan Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy*), *J. Ilmu Pertanian dan Perikanan* 3 (1):30- 45
- Rahmi, 2021, Mikrobiologi Akuatik, Nas Media Pustaka, Makasar.
- Ramadhan, B., dan Wikandari, P. R., 2021, Review Artikel: Aktivitas Enzim Amilase Dari Bakteri Asam Laktat (Karakteristik Dan Aplikasi) *Unesa J, ournal of Chemistry* 10(2): 109–120.
- Romadhon, Subagiyo, dan Sebastian, M., 2012, Penghasil Bakteriosin sebagai Agen Antibakteria pada Produk-Produk Hasil Perikanan, *Jurnal Saintek Perikanan* 8 (1): 59–64.
- Said, M. , dan Likadja, S., 2012, Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan Kulit Pt. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta, *JITP* 2(2): 121–128.
- Silitonga, Lamtiur, R., Nursyirwani., dan Irwan E, 2019, Isolation, identification and Sensivity of Amilolitic Bacteria from Mangrove Ecosystem Sediment in Purnama Marine Station Dumai on the Phatogenic Bacteria, *Asia Journal of Aquatic Sciences* 2 (3): 257-266.
- Sudewi, Z. Widiastuti, B., dan Slamet, K. M., 2018, Investigasi Penyakit Pada Pembesaran Lobster Pasir Panulirus Homarus Di Karamba Jaring Apung (Lombok, Pegamatan Dan Pangandaran), *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 10 (1): 111–122.
- Suciati, P., Tjahjaningsih, W., Masithah, E. D., & Pramono, H., 2016, Aktivitas Enzimatis Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Kepiting Bakau (*Scylla* spp.) Sebagai Kandidat Probiotik, *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan* 8 (2): 94–108.
- Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdsi, M. A., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G., & Spinnler, H. E., 2017, Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. In *Cheese* (pp. 423-444). Academic Press.
- Vishnu, C., Naveena, B. J., Altaf, M. D., Venkateshwar, M., & Reddy, G., 2006, Amylopullulanase—a novel enzyme of *L. amylophilus* GV6 in direct fermentation of starch to L (+) lactic acid, *Enzyme and Microbial Technology*, 38(3-4), 545-550.
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., dan Geng, W., 2021, Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 9 (5) 1–19.
- Wanna, W., Surachat, K., Kaitimonchai, P., & Phongdara, A.

2021. Evaluation Of Probiotic Characteristics And Whole Genome Analysis Of *Pediococcus Pentosaceus* Mr001 For Use As Probiotic Bacteria In Shrimp Aquaculture. *Scientific Reports*, 11(1), 1-17.
- White, B. 2009. Dietary Fatty Acids. *American Family Physician*, 80(4).
- Widodo, 2019, Bakteri Asam Laktat Strain Lokal, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Williams, K. C. (2007). Nutritional Requirements And Feeds Development For Post-Larval Spiny Lobster: A Review. *Aquaculture*, 263(1-4), 1-14.
- Yao, W., Liu, K., Liu, H., Jiang, Y., Wang, R., dan Wang, W., 2021, *A Valuable Product of Microbial Cell Factories Microbial Lipase*, 12(1): 1-16.
- Yulvizar, C., Dewiyanti, I., & Devira, C. N. 2014. Seleksi Bakteri Berpotensi Probiotik dari Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Indegenous Jantho Berdasarkan Aktivitas Antibakteri secara In Vitro. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 6(2).