

***L-Lactate Dehydrogenase*-Bearing Bacteria Isolated from Shrimp Intestines as Potential Probiotics: an in Silico Study**

Frentina Murti Sujadi^{1,2*}, Jefri Anjaini^{1,2}, Lilik Setiyaningsih^{1,2}, Dandi Setio Wibowo¹, Rudi Nirwantono³

¹Program Studi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah;

²Aquadv Research Group, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah;

³Program Studi Bioteknologi, Universitas BINUS, Jakarta;

Article History

Received : June 07th, 2026

Revised : June 19th, 2026

Accepted : July 23th, 2026

*Corresponding Author:

Frentina Murti Sujadi,

Program Studi Akuakultur
Fakultas Perikanan dan Ilmu
Kelautan, Universitas Jenderal
Soedirman, Purwokerto, Jawa
Tengah;

Email:

frentina.murti@unsoed.ac.id

Abstract: *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD) is a key enzyme in lactic acid metabolism, found in various bacteria, including lactic acid bacteria (LAB), which are potential probiotics for aquaculture. This study aims to analyze bacterial species isolated from shrimp intestines that possess LLD genes in their genomes and to examine the phylogenetic relationships of their LLD proteins, as a basis for assessing their potential as probiotics in the future. Bacterial species were collected through a literature review on isolates from shrimp intestines or culture media. After excluding pathogenic bacteria, the protein sequences from the included species were retrieved from NCBI using the Bio.Entrez and SeqIO modules in Biopython. Afterward, multiple sequence alignment (MSA) was performed using MEGA X software with the ClustalW algorithm, and a phylogenetic tree was constructed using the Maximum Likelihood method with 1000 bootstrap replications. In total, 23 bacterial species were identified from the literature, of which 15 were found to possess LLD protein sequences that were successfully retrieved. Phylogenetic analysis revealed groupings of bacteria based on the kemiripan of their LLD sequences. LAB species, such as *Lactiplantibacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus*, clustered together, while species from the genus *Bacillus* and related taxa (e.g., *Geobacillus thermoleovorans*) formed a separate cluster. Overall, this sequence-based analysis successfully reconstructed the phylogenetic relationships among the identified bacteria based on their LLD sequences and highlighted groups of LLD-producing bacteria with potential probiotic applications in aquaculture. The findings provide a foundation for the further selection and development of promising indigenous lactic acid bacteria from shrimp intestines as probiotics.

Keywords: Aquaculture; Lactate Dehydrogenase; Lactic Acid Bacteria; Probiotics; Phylogenetic Analysis; Shrimp Intestine.

Pendahuluan

Bakteri asam laktat (LAB) memproduksi asam laktat melalui enzim L-laktat dehidrogenase (LLD), yang memainkan peran krusial dalam metabolisme energi mereka dengan mengkatalisis konversi reversibel laktat menjadi piruvat disertai reduksi NAD⁺ menjadi NADH. Enzim ini secara langsung terkait dengan kapasitas metabolik dan viabilitas sel bakteri, mempengaruhi kemampuannya untuk bertahan hidup dan berfungsi secara efektif sebagai probiotik. Asam laktat yang dihasilkan memiliki sifat antimikroba, berkontribusi pada penghambatan bakteri patogen. Karakterisasi enzim LLD pada bakteri asli dari usus udang memberikan dasar ilmiah untuk mengevaluasi

potensi probiotiknya, karena konservasi dan fungsi enzim ini berkorelasi dengan kemampuan bakteri untuk metabolisme secara efisien dan mempertahankan viabilitasnya di lingkungan usus, sehingga meningkatkan kemampuannya untuk memberikan manfaat bagi inang (Macharia *et al.*, 2023).

L-Lactate Dehydrogenase (LLD) merupakan enzim kunci pada bakteri asam laktat (BAL) yang mengkatalisis konversi piruvat menjadi L-laktat disertai regenerasi NAD⁺ sehingga mempertahankan metabolisme energi selama proses fermentasi. Produksi asam laktat melalui aktivitas LLD berperan penting dalam menurunkan pH lingkungan usus, menghasilkan kondisi yang kurang menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri patogen, termasuk *Vibrio*

spp. yang merupakan penyebab utama penyakit pada budidaya udang. Selain itu, bakteri penghasil LLD berkontribusi terhadap pemeliharaan keseimbangan mikrobiota usus melalui kompetisi ruang dan nutrisi serta produksi metabolit antimikroba yang mendukung kesehatan inang.

Oleh karena itu, keberadaan gen atau protein LLD tidak hanya mencerminkan kapasitas metabolik bakteri dalam fermentasi asam laktat, tetapi juga berkaitan dengan salah satu mekanisme utama probiotik dalam meningkatkan kesehatan, ketahanan terhadap penyakit, dan performa budidaya udang. Meskipun karakter probiotik tidak dapat ditentukan hanya berdasarkan satu marker molekuler, LLD merupakan marker fungsional yang relevan untuk skrining awal karena berhubungan langsung dengan metabolisme fermentatif yang menjadi ciri utama BAL, sehingga analisis filogenetik dan konservasi protein LLD dapat menjadi dasar ilmiah dalam menyeleksi kandidat probiotik untuk aplikasi akuakultur sebelum dilakukan validasi melalui pengujian *in vitro* dan *in vivo* (Hasan *et al.*, 2024; Pereira *et al.*, 2022).

Konteks mikrobiota usus udang, aktivitas LDH/LLD pada bakteri berperan dalam mendukung metabolisme fermentatif sehingga bakteri mampu bertahan dan berkompetisi di lingkungan saluran pencernaan yang dinamis. Produksi asam laktat oleh bakteri pembawa LDH dapat membantu menciptakan kondisi mikro-lingkungan usus yang kurang mendukung bagi pertumbuhan bakteri patogen, terutama kelompok *Vibrio* yang sering menjadi masalah utama dalam budidaya udang. Selain itu, kemampuan metabolik tersebut juga berkaitan dengan mekanisme probiotik melalui kompetisi nutrisi, stabilisasi komunitas mikrobiota usus, dan peningkatan keseimbangan ekologis saluran pencernaan udang. Oleh karena itu, keberadaan dan konservasi protein LLD pada bakteri asal usus udang dapat digunakan sebagai indikator awal untuk menyeleksi kandidat probiotik indigenous yang potensial untuk akuakultur.

Bakteri asam laktat telah dimanfaatkan sebagai probiotik di bidang akuakultur karena kemampuannya yang bermanfaat bagi organisme akuatik. Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik dalam budidaya udang karena mampu meningkatkan kesehatan inang melalui berbagai mekanisme. Salah satu mekanisme utama adalah *competitive exclusion*,

yaitu kemampuan probiotik berkompetisi dengan bakteri patogen, terutama *Vibrio* spp., dalam memperoleh ruang kolonisasi dan nutrisi di saluran pencernaan sehingga menurunkan peluang infeksi. Selain itu, BAL menghasilkan asam laktat, bakteriosin, dan berbagai metabolit antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Probiotik juga berperan dalam memodulasi komposisi mikrobiota usus sehingga tercipta komunitas mikroba yang lebih stabil dan menguntungkan bagi inang (Pereira *et al.*, 2022; Vargas-Albores *et al.*, 2017). Dalam tinjauan saat ini, fokus akan ditempatkan pada pencegahan mikroorganisme patogen dalam pengaturan akuakultur. Strain yang menguntungkan dapat berfungsi dengan memblokir mikroorganisme patogen karena persaingan untuk ruang pada permukaan sel inang (Pereira *et al.*, 2022).

Penelitian sebelumnya telah mengisolasi berbagai bakteri dari usus udang, namun analisis mendalam mengenai potensi probiotiknya berdasarkan karakterisasi enzim kunci seperti LLD masih terbatas. Dalam penelitian ini, L-Lactate Dehydrogenase (LLD) dipilih sebagai marker molekuler karena merupakan enzim utama yang menghubungkan metabolisme energi bakteri dengan produksi asam laktat, yaitu salah satu mekanisme utama probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mempertahankan keseimbangan mikrobiota usus. Konservasi sekuens LLD juga memungkinkan analisis hubungan evolusioner dan kedekatan fungsional antar isolat sehingga berpotensi digunakan sebagai alat skrining awal kandidat probiotik. Namun demikian, LLD merupakan marker fungsional tunggal sehingga tidak dapat menggambarkan seluruh karakter probiotik, seperti kemampuan adhesi, produksi bakteriosin, pembentukan biofilm, toleransi terhadap kondisi saluran pencernaan, maupun aktivitas imunomodulator. Pendekatan *in silico* melalui analisis filogenetik dan multiple sequence alignment enzim LLD dapat memberikan pemahaman awal mengenai hubungan evolusioner dan konservasi fungsional bakteri-bakteri tersebut, sehingga memungkinkan seleksi kandidat probiotik yang lebih terarah dan efisien.

Berbeda dengan penelitian probiotik udang terdahulu yang umumnya mengevaluasi efektivitas isolat setelah proses isolasi atau melalui pendekatan metagenomik komunitas mikroba, penelitian ini menggunakan pendekatan

in silico berbasis filogenetik protein LLD untuk membandingkan berbagai bakteri asal usus udang berdasarkan konservasi marker metabolik yang memiliki relevansi langsung terhadap fungsi probiotik. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan filogenetik dan tingkat konservasi enzim *L-Lactate Dehydrogenase* pada bakteri indigenous dari usus udang sebagai dasar ilmiah dalam menyeleksi kandidat probiotik yang potensial untuk aplikasi akuakultur berkelanjutan (Sutanti *et al.*, 2024).

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* untuk menganalisis hubungan filogenetik bakteri yang dilaporkan berasal dari usus udang berdasarkan keberadaan protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD) sebagai marker fungsional yang berkaitan dengan potensi probiotik. Daftar spesies bakteri diperoleh melalui telaah pustaka terhadap penelitian yang melaporkan bakteri asal usus udang atau lingkungan budidaya udang (Atmomarsono *et al.*, 2022; Chino de la Cruz *et al.*, 2023; Fatchiyyah *et al.*, 2021; Haliman *et al.*, 2023; Huynh *et al.*, 2019; Sriwulan *et al.*, 2019; Triwijayani *et al.*, 2018; Vargas-Albores *et al.*, 2017; Zulfani *et al.*, 2025). Untuk setiap spesies yang memenuhi kriteria, sekuens protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD) diunduh dari basis data publik NCBI menggunakan nomor akses (*accession number*) yang tersedia. Dengan demikian, seluruh data yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari sumber sekunder yang telah dipublikasikan dan bukan merupakan hasil isolasi bakteri oleh penulis. Daftar spesies dan nomor akses protein LLD yang digunakan dalam analisis disajikan pada Tabel 1.

Literatur dikumpulkan melalui pencarian sistematis pada basis data *Scopus*, *PubMed*, *ScienceDirect*, dan *Google Scholar* menggunakan kata kunci ("*shrimp intestine*" OR "*shrimp gut*") AND (*probiotic* OR *lactic acid bacteria*) AND (*Litopenaeus vannamei* OR *Penaeus monodon*) terhadap artikel berbahasa Inggris yang diterbitkan pada periode 2015–2025. Artikel diikutsertakan apabila melaporkan spesies bakteri yang berasal dari usus udang atau lingkungan budidaya udang dengan identifikasi hingga tingkat spesies serta memiliki sekuens protein LLD yang tersedia pada basis data NCBI Protein, sedangkan artikel ulasan, publikasi

duplikat, spesies yang tidak teridentifikasi hingga tingkat spesies, dan spesies tanpa sekuens LLD dikeluarkan dari analisis.

Tabel 1. Daftar spesies bakteri dan nomor akses protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD)

Spesies	Accession Number
<i>Macrococcoides caseolyticum</i>	WP_437790415.1
<i>Mycoplasma mageritensis</i>	WP_011283600.1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	BHD51538.1
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	WWY81951.1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	WP_443972351.1
<i>Fusobacterium</i>	WP_339009144.1
<i>Bacillus mycoides</i>	WP_444876475.1
<i>Bacillus cereus</i>	WP_443756574.1
<i>Bacillus cereus group</i>	WP_087986012.1
<i>Priestia aryabhattai</i>	XVG49785.1
<i>Brevibacillus laterosporus</i>	WP_429825831.1
<i>Bacillus subtilis</i>	WP_443091948.1
<i>Geobacillus thermoleovorans</i>	WP_434407574.1
<i>Halomonas beimenensis</i>	ATJ84448.1
<i>Pseudopedobacter saltans</i>	PZP51431.1
<i>Streptomyces misionensis</i>	SEE14646.1
<i>Ketogulonicigenium vulgare</i>	WP_273689833.1
<i>Salmonella enterica</i>	WP_443582769.1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	XZY07583.1
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	XOV28139.1
<i>Stutzerimonas</i>	WP_407295415.1
<i>Xanthomonas albilineans</i>	XZA03094.1
<i>Serratia marcescens</i>	WP_443001952.1

Seluruh sekuens protein LLD diunduh dari NCBI Protein berdasarkan nomor akses (*accession number*) pada Juli 2026 menggunakan modul Bio.Entrez dan SeqIO pada Biopython, dengan satu sekuens representatif dipilih untuk setiap spesies guna menghindari redundansi. Takson yang dianalisis dipilih untuk mewakili bakteri yang telah dilaporkan berasosiasi dengan usus udang, mencakup kelompok yang dikenal memiliki potensi probiotik, seperti *Lactiplantibacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, dan beberapa spesies *Bacillus*, serta bakteri non-probiotik atau patogen sebagai pembanding untuk mengevaluasi kemampuan protein LLD dalam membedakan kelompok bakteri berdasarkan hubungan evolusionernya.

Analisis *multiple sequence alignment* (MSA) dilakukan menggunakan MEGA X version 10.2.6 dengan algoritma ClustalW pada sekuens protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD). Setelah bagian terminal yang tidak sejajar dipangkas, alignment final termasuk situs konservatif dan variabel. Posisi yang mengandung gap atau data hilang ditangani menggunakan metode *partial deletion* sesuai

pengaturan yang digunakan selama analisis. Model substitusi asam amino terbaik ditentukan terlebih dahulu melalui fitur *Find Best Protein Models* (ML) pada MEGA X dan dipilih berdasarkan nilai *Bayesian Information Criterion* (BIC) terendah. Rekonstruksi pohon filogenetik dilakukan dengan metode *Maximum Likelihood*, menggunakan pohon awal yang dibentuk secara otomatis melalui metode *Neighbor-Joining* dan *BioNJ*, kemudian dipilih topologi dengan nilai *log-likelihood* tertinggi. Keandalan percabangan dievaluasi melalui 1.000 replikasi *bootstrap*. Pohon filogenetik kemudian digunakan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan kemiripan sekuens protein LLD serta mengevaluasi kedekatan evolusionernya dengan bakteri asam laktat yang telah dilaporkan memiliki potensi probiotik.

Hasil analisis Multiple Sequence Alignment

Analisis Multiple Sequence Alignment

WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	-----MKLGI	5
WP_011283600.1_Mycoplasma_synoviae	-----MKKIIV	6
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	-----MRKYGV	6
WWY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	-----MTRKIGI	7
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	-----MTRKIGI	7
WP_339009144.1_Fusobacterium	-----M-VNTRKIGI	9
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	-----MN-RNTRKIAI	10
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	-----MK-RHTRKIAI	10
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	-----MK-RNTRKIAI	10
XVG49785.1_Priestia_aryabhattai	-----MKT-QFT-PKTRKIVAV	14
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	-----MLS-RKVSVAL	11
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	-----MMN-KHVNVAL	11
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	-----MKN-DGGTRVVV	11
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	-AGLDGIRLLEREGIEVIFPEDQTCGQPAYTSGYQDEARAVAEQDLDFPEPWPI---I	84
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	-----LSGSQ-----PVDLKTFLFGHYDAPFGI	81
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	RAALARRRIVPRM-----LRDVR-----ERDLSVEVFGRTLPAFL	97
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	TTDFADIRLRQRV-----AVDMS-----NRSLKTTMLGRDVSMPVAL	76
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	VEDLSQVALRQRV-----LKNMS-----DLSLETLFNETLSMPVAL	75
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	VQDLSEIALRQRV-----LNDMS-----ALSLETKLFNETLSMPVAL	75
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	VEDLSKALRQRV-----LNDMS-----ELSLETKLFNETLSMPVAL	75
WP_407295415.1_Stutzerimonas	VEDLASLALRQRV-----LRNMS-----ELSLETLQFGEKLSMPVAL	75
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	VADLADIALRQRV-----LRDMS-----ALDLHTELFGERLALPVAL	75
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	TADLADIALRQRV-----LRNMS-----ELSLQTLFGEQLTMPVAL	75
:		
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	IGVGRVGSQVLTVDQYLNVFNEIVLIDSDENVATGEAMDLHLSQIGVGTN-HINIIY--AG	62
WP_011283600.1_Mycoplasma_synoviae	IGMGNVGTTFVNIALARGLVANFVVDKNEEICQAHVDFQDMIALM-PR-NNSTFKVGT	64
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	IGLGQVGATVAYTLVQGTVDLVLIDKNEAKVADALDFEDAMPNL-TS-TTKII--LN	62
WWY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	IGMGHVGAQAQIITNGYADDLVLIDKNEAKVADALDFEDAMPNL-TS-HANII--VN	63
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	IGMGHVGSTVAHALIAQIGDDYVFIOTNVKVNADIMDFQDALANA-TY-HANIV--LN	63
WP_339009144.1_Fusobacterium	IGAGHVSGHCAFMSMLQGICDDITFVDVNKEKAVSQALDCMDTLAFL-PH-KVVIK--SG	65
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	IGTGLVGSSCAYSIVNQICEELLIDINHERAVGEAMDLSHCINFT-NT-RTKVY--AG	66
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	IGTGLVGSSCAYSIVNQICEELLIDINHERAVGEAMDLSHCINFT-NT-RTKVY--AG	66
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	IGTGLVGSSCAYSIVNQICEELLIDINHERAVGEAMDLSHCINFT-NT-RTKVY--AG	66
XVG49785.1_Priestia_aryabhattai	IGTGFVGSSYAFSMVNGIANELVLIDMNEKAEGEARDINHGMPFA--T-PMKIW--AG	69
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	IGSGFVGSSYAYALLNQIGVNLVIVDVNKAEGDAMDLSHGLPFT--S-PMKIW--AG	66
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	IGAGFVGSSYAFALINQGITDELVDVNKEKAMGDVMDLNHGKAFA-PQ-PVKTS--HG	67
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	IGTGFVGASYAFALMNGIADIEIVLIDANESKAIGDAMDNLHGKVFA-PK-PAVVR--NG	67
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	VPSGSCGG--MMR-----VHYPDLFADTPREA---QAREVAGRVFELTEFLVHVC--HL	131
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	APVGLQGL--IWP-----NAPE-----ILA---KAAFEQNIPTLS--TVSTS--SI	119
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	APVGLVSI--MHP-----DAES-----AAA---RAAAQGVPPVLS--SAST--PM	135
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	SPVGLTGM--QSA-----DGEI-----KAA---RAAAKGVPPVLS--TMSIC--SI	114
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	APVGLCGM--YAR-----RGEV-----QAA---AAADAKGIPFTLS--TVSVC--PI	113
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	APVGLTGM--YAR-----RGEV-----QAA---MAADKKGIPFTLS--TVSVC--PI	113
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	APVGLTGM--YAR-----RGEV-----QAA---VAAEKNGIPFTLS--TVSVC--PI	113
WP_407295415.1_Stutzerimonas	APVGLTGM--LAR-----RGEV-----QAA---RAADKKGIPFTLS--TVSVC--PI	113
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	APVGLTGM--YAR-----RGEV-----QAA---RAAAKGVPPVLS--TVSVC--PI	113
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	GPVGLTGM--YAR-----RGEV-----QAA---RAAAKKGIPFTLS--TVSVC--SI	113
* .		
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	TYKDLKDAADVIV--IAASTK--TDTSPIDRTAL-AKANTVIEKEITTRIGEVTTDALL	115

WP_011283600.1_Mycoplasmopsis_synoviae	LLQEAKDADIVI---VTASIP---ANKDFSRLKL-AEANSKLMKSFQDLKEAFKGV	117
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	DYSALADAEVLI---VASGNIGAIMNSSKGRFGE-YDLNQAIIVREIAPKIVASGFKGIL	118
WMY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	DYRALKDADVII---SALGKIALT-DNPNDNRF AE-LPHNREQVQAAEAIKASGNGIL	118
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	WDALSDADVVI---SALGDISLQ-NNKEANRF AE-LPFTSKEVDYSQKLKSSGFRGIL	118
WP_339009144.1_Fusobacterium	EKDKLDGDKDIII---ICVGTI---DNVSKDRLCE-LDHSKLIIKSFVPEIMKTGFKGHF	117
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	SYEDCKMDIVI---ITAGPA---PKPGQSR LDT-LGASAKIMEGVVGGVMESGDFGIF	118
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	SYEDCKMDIVI---ITAGPA---PKPGQSR LDT-LGASAKIMESIVGGIMESGDFGIF	118
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	SYEDCKMDIVI---ITAGPA---PKPGQSR LDT-LGASAKIMESIVGGVMESGDFGIF	118
XVG49785.1_Priestia_aryabhatai	DYKDCADADLAV---ITAGAN---QAPGETRLDL-VEKNVKIFECIVKDIMNSGDFGII	121
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	DYSDCADADLVV---ITAGAN---QLPGETRMDL-IEKNVRIFNKIVTISIMDSGFGQIF	118
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	TYEDCKDADIVC---ICAGAN---QKPGETRL EL-VEKNLKFKGIVNEVMASGDFGIF	119
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	DYSDCHADADLVV---ICAGAN---QKPGETRLDL-VOKNIAIFRSIVESVMASGFGQLF	119
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	RLDDRGAPEKVMAMHTSCSARREMLADTG PALLG-----RLAGVELVEQARAAECCGFG	185
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	-----ERVS-----ELTE-GRAWFQLYHPQEDDLRDKILQRAS-EHCPVLV	158
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	-----EQVA-----EAMGEAERWFQLYWGKDREVT RSLGRARAAGFSVLV	176
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	-----EDVR-----AHSK-EPFWFQLYVMRDEAFVDNIIQRAKNAGVSALV	154
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	-----EEVA-----PTIQ-RPMWFQLYVLDRGFM RNALERAKAAGCSTLV	153
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	-----EEVA-----PAIN-RPMWFQLYVLDRGFM RNALERAKAAGCSTLV	153
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	-----EEVA-----PAIQ-RPMWFQLYVLDRGFM KNVLERAKAAGCSTLV	153
WP_407295415.1_Stutzerimonas	-----EEVA-----PAIK-RPMWFQLYVLDRGFM KNALERAKAAGVTTLV	153
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	-----EEVA-----PAID-RPMWFQLYVLDRGFM RNALERAKAAGVTTLV	153
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	-----EEVA-----PAID-RPMWFQLYVLDRGFM RNALERAKAAGVKTTLV	153
:		
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	IIISNPVDAMT---YIASKY---YPESKVI GTGLLET SR--FKTLIANHYNDIPKSVGEFV	169
WP_011283600.1_Mycoplasmopsis_synoviae	IYAANPCDVM A--SVFTYASNL PFKKVI STGTL L D SAR--FKKFIAQKFNVNADSVQASI	173
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	IDIMNPDCVMT--DYLQRM TGFPRQVRFGTGTFLD TAR--MQKYVGQAAGTNGKNVAGYV	174
WMY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	IPITNPVDVIT--ALYQEATGLPKAHVIGTGTLLDSAR--MKRAVGKGLGVDRPSVSGYN	174
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	IVVTNPVDVIT--QLYQEYTFPKSLVIGTGTLLD TAR--MKRVLGQRLQVDRPSIGGVN	174
WP_339009144.1_Fusobacterium	IVITNPVDIIT--YVYQQLSGLPYNKVIGTGTGLDSAR--LRRILSVETGIDAKSIQAYM	173
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	LLASNPDV DIT--YQVWKL SGLPRNRVIGTGTSLDSSR--LRTLSEMLHVDPRSIHGYS	174
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	LLASNPDV DIT--YQVWKL SGLPRNRVIGTGTSLDSSR--LRTLSEMLHVDPRSIHGYS	174
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	LLASNPDV DIT--YEVWKL SGLPRNRVIGTGTSLDSSR--LRTLSEMLHVDPRSIHGYS	174
XVG49785.1_Priestia_aryabhatai	LVATNPVDILA--HVTQKVSGLPNERVIGSGTILDTAR--FRYLLSDYFEVDSRNHVAYI	177
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	VVASNPVDVLT--YATWKISGLPHEKVI GSGTLLD TAR--FRYLLSRAFEVDSRSVHAYI	174
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	LIATNPVDILT--YATWKFSGLPKERVIGSGTLLD SAR--FRFMLS EYFGAAPQNVHAHI	175
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	LVATNPVDILT--YATWKFSGLPHERVIGSGTILDTAR--FRFLLG EYFSVAPQNVHAYI	175
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	GTFAV-----RHPEV-----	195
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	ILSDVPGFGYRSKEIKNGLSMPRMTLHNILQIMGRPHWALRTL I HGT P--GFATLKPYI	216
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	VLDTLPLLSWRPRDLQAYLPFLHG--VGTANYFTDPA--FRAGLAKPV-H-----	222
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	LTLDLQTLGQRHKDLKNGLSTPPKPT-LRTMAD-LALRWRWCAQMAQTQRRTRFNI VGH A	212
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	FTVDMPPTGARYRDAHSGMSGPN AAM-RRYWQAVMHPKAWDVG LMG RP-HDLGNISAYL	211
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	FTVDMPVPGARYRDAHSGMSGPN AAM-RRYMQSVFHPHWSWNVGLMGRP-HDLGNISKYL	211
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	FTVDMPVPGARYRDAHSGMSGPN AAM-RRYMQSFMPHWA WNVGLMGRP-HDLGNISKYL	211
WP_407295415.1_Stutzerimonas	FTVDMPPTGARYRDAHSGMSGPNANV-RRMLQAMTHPLWAWDVG LHGKP-HDLGNISTYR	211
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	FTVDMPPTGARYRDAHSGMSGPN AAL-RRMLQAVAPRWAWDVGWVGKP-HDLGNISAYR	211
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	FTVDMPVPGARYRDAHSGMSGPN AAL-RRVLQAFAPHWAWDVG L LGKP-HDLGNVSAYR	211
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	IGEHGAHAVPLWSRTRIHGIALEE---YERLS--GH---HKIDKKEITEAIDSVSFDFV	220
WP_011283600.1_Mycoplasmopsis_synoviae	LGEHGSSA PLWSTVKJGDATLEN---LLKSK--KL---KSNELNQILKQTIDEAFYIF	224
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	YGEHGNSQFVAWSTVSNVGQPIKN---FP-----GLNLDQLEEDARQGAFAVM	219
WMY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	LGEHGNSQFTAWSTVTVLDQPIKK---LAQAR-----NLDLDQINEDARMGGRYVM	222
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	LGEHGNSQFVAWSQTVKQGPAIS---LLKV-----EELIQIKEASLKGHGTVF	220
WP_339009144.1_Fusobacterium	LGEHGDSQVAASFCTTNGKYLPE---LITEKPEKF---NKIDFEAIEKKTAETGWDIL	226
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	LGEHGDSQMVAVSHVTGGKPI LQ---ILEEKKDQF---GEIDLDEIV EKTAKAGWEIY	227
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	LGEHGDSQMVAVSHVTGGKPI LQ---ILEEQKQF---GEIDLDEIV EKTAKAGWEIY	227
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	LGEHGDSQMVAVSHVTGGKPI LQ---ILEEKKDRF---GEIDLDEIV EKTAKAGWEIY	227
XVG49785.1_Priestia_aryabhatai	MGEHGDTEFPVWSHAQTGGVKLEH---FINTA-AIE---KEPDMQHLFEQTRDAAYHII	229
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	MGEHGDTELPVWSQASIGGKSITE---CLKQG-VGP---SKEELDQIFINV RDAAYHII	226
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	IGEHGDTELPVWSHANVGGVPVSE---LVEKN-DAY---KQEELDQIVDDVKNAAYHII	227
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	IGEHGDTELPVWSQADTGGVPIRK---LVEAK-GEQ---AKEELERIFTDVRDAAYQII	227
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	-----SGAMVEDKSRAIEAAGA QHFV	216
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	PKGMMNHHLGLFMNKT FNGLNVEKVAALRDWKWGLV IKGIVTEEDTEKVIKGLDGI	276
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	--EDPDAALVHFLGLFGDPGHTWPDLEFLRAHW DGPVLKGLVHPDDARLAADAGMDGV	280
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	PSVGNLSSLSSWTAEQFDPQLDWGKIARIREKWGGLILKGLIDAEDAVMAADAGADAIV	272
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	GKPTGLEDYIGWLANNFDP S ISWKDLEWIREFW DGP MVIK GILDPEDARDAVRFGADGIV	271
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	GKPTGLEDYIGWLGSNFDP S ISWKDLEWIREFW DGP MVIK GILDPEDAKDAVRFGADGIV	271
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	GKPTGLEDYIGWLGNFDP S ISWKDLEWIREFW DGP MVIK GILDPEDAKDAVRFGADGIV	271
WP_407295415.1_Stutzerimonas	GHPTGLEDYIGWLAANFDP S ISWKDLEWIREFW DGP MVIK GILDAEDARDAVTFGADGII	271
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	GHPTGLADYIGWLGNFDP S ISWKDLEWIREFW TGP MVIK GILDPDDARDAVRFGADGII	271
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	GKPTSLEDYIGWLGNFDP S ISWKDLEWIREFW DGP MIIK GILDPEDAKDAVRFGADGII	271
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	HQ-KGWTN-AAISKITVLLIKSL---VLNERSIFPLSTRN-----EELAYSL	262
WP_011283600.1_Mycoplasmopsis_synoviae	SR-KGNTQ-FGIGTSLYEITDAI---LNNKKQVMNIGVKLPANYKN-----AGIYISI	272
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	AG-KHYTN-FAIATCGVRLAEAV---SADAQLACPVSAFD---PQ-----YGTVYGM	263
WMY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	VG-KHYTN-YGVAAAVRLANVV---LND AHEVLPVSNYR---EE-----YGTLYSY	266
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	FG-KKYTS-YGIATAAVRIVLAV---LND SHEL LPVSTFY---ES-----EGVYLGY	264
WP_339009144.1_Fusobacterium	CG-KGSTE-FGIAC TCSDMIRAI--FHDEKKVMPCSAFLQGEYGA-----SGIYAGV	274
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	KR-KGTTY-YGIGNSLAYIARSII--FNDDHRVIAVSAILDGEYGE-----YDICTGV	275
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	KR-KGTTY-YGIGNSLAYIASSI--FNDDHRVIAVSAILDGEYGE-----YDICTGV	275
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	KR-KGTTY-YGIGNSLAYIASSI--FNDDYRVIAVSAILDGEYGE-----YDICTGV	275
XVG49785.1_Priestia_aryabhatai	NR-KGATY-YGIAMGLVRITKAI--LDDENSILTVSALLEGQYGI-----SDVYIGV	277
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	EK-KGATY-YGIGMSLARLT KAI--LYNQNSILTISTLLQGEFGL-----HDTYLG V	274
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	EK-KGATY-YGVMA SLARITKAI--LHNENSILTVSTYLDGQYGA-----DDVYIGV	275
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	EK-KGATY-YGIAMGLARVTRAI--LHNENAILTVSAYLDGPYGE-----RDVYIGV	275
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	TSDCGLMNIAGR-----LEHRKS AVRGE-----HIA-----	243

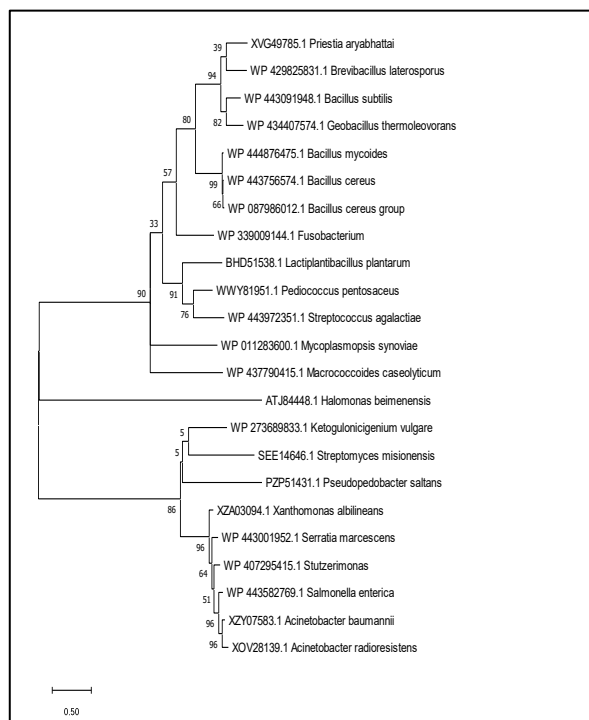
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	VSNHGGGRQ-LDAESSVRSLEVVVK-YKDKIKVMIDSGMRSPDIARALASGAFAFMR	334
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	VSNHGGGRQ-VAGSVAADALPRVAAAAGDRLTVLFDGSGIRSGDDVFKALALGAEAVLLGR	339
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	VSNHGGGRQ-LDGLASSIRILPSIVRAVGDRTEVWLDGSGIRSGQDVKALALGAKATMIGR	331
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	VSNHGGGRQ-LDGLVSSARALPAIADAVKGDIAILADSGIRNGLDVVRMIALGADTVLLGR	330
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	VSNHGGGRQ-LDGMSSARALPAIADAVKGDIAILADSGIRNGLDVVRMIALGADTVLLGR	330
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	VSNHGGGRQ-LDGLVSTTRALPAIADAVKGDILKIMVDSGVRNGLDVVRMIALGADLCLLGR	330
WP_407295415.1_Stutzerimonas	VSNHGGGRQ-LDGLVSSARALPAIADAVKGDILADSGIRSGLDVVRMIALGADTVLLGR	330
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	VSNHGGGRQ-LDGLVSSARALPAIADAVKGDILADSGIRSGLDVVRMIALGADAVLLGR	330
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	VSNHGGGRQ-LDGLVSTARAMPAIADAVKGDITLLADSGIRSGLDVVRMIALGADSVLLGR	330
WP_437790415.1_Macrococcoides_caseolyticum	P-----MLVGKEGIIQRL-DISIDNQEADLTAKQFIRN---TIEQHYN-----	303
WP_011283600.1_Mycoplasmopsis_synoviae	P-----VIVGKNGEYLSVKPNFNNELKQFEASTSHMAKVHKDTLKLINIDMDFE---	323
BHD51538.1_Lactiplantibacillus_plantarum	P-----AVIGKNGIESLI-QLDLTTDERASLAASAKFIKS---QVDVLPQA-----	305
WWY81951.1_Pediococcus_pentosaceus	P-----AVVGRDGIQL-QLDLTDEERYKLRSADFITE---KIKESK-----	306
WP_443972351.1_Streptococcus_agalactiae	P-----AIIGRVGIVERI-SLSLSPKEEQQLTDSAAFIRN---YLKHINL-----	305
WP_339009144.1_Fusobacterium	P-----AVIGKEGIEYII-ELPLNEIEKKLNSAFIEIKH---HVEIGKAKIED----	319
WP_444876475.1_Bacillus_mycoides	P-----AIITRDGVREV-ELNLSEDEESRFAKSNVDLRD---YMKTIGY-----	316
WP_443756574.1_Bacillus_cereus	P-----AIITRDGVREV-ELNLTEDEESRFAKSNVDLRD---YMKTIGY-----	316
WP_087986012.1_Bacillus_cereus_group	P-----AIITRDGIKEIV-ELNLTEDEESRFAKSNVDLRD---YMKTIGY-----	316
XVG49785.1_Priestia_aryabhattai	P-----AIINKNGVRQII-ELNLTPHEQQLEHSASILKQ---TRDAFV-----	318
WP_429825831.1_Brevibacillus_laterosporus	P-----AVVNRSGVREV-ELTLNEEEKAKLKHSAVDLKK---ALSTVSFT-----	316
WP_443091948.1_Bacillus_subtilis	P-----AVVNRGGIAGIT-ELNLNEKEKEQFLHSAGVLKN---ILKPHFAEQKVN---	321
WP_434407574.1_Geobacillus_thermoleovorans	P-----AVINNRGIREVI-EIELNDEKNRFRHSAATLKS---VLARFFTR-----	317
ATJ84448.1_Halomonas_beimenensis	SYLWRR-----TS	251
PZP51431.1_Pseudopedobacter_saltans	SFMYGVAALQDGGTHIT-NILKTQFRQVMQVGCETSDLPNFIVK-----	380
SEE14646.1_Streptomyces_misionensis	PYVYGLGLDGEVGVTHV-RCLLAELDLTLALSGHTTPATLTPADLSEDP-----	389
WP_273689833.1_Ketogulonicigenium_vulgare	SYIYGLGAYGEAGVTMAL-DIIRRELDVTMALVGKRDVRLNDRVLVPKNFEGDWA---	387
WP_443582769.1_Salmonella_enterica	AYLYALATAGKAGVANLL-DLIEKEMKVAMTLTGAKTISDISGDSLVQELGKSLPAALAP	389
XZY07583.1_Acinetobacter_baumannii	AFVYALAAAGGQGVSNLL-DLIDKEMRVAMTLTGAKSISDINADCLVQAIKQGL-----	383
XOV28139.1_Acinetobacter_radioresistens	AFVYALGAAGGEGVNHLL-ELINKEMRVAMTLTGAKTIQDISSECLVKRIME-----	381
WP_407295415.1_Stutzerimonas	AFAYALAVDGEAGVTNLL-NLIEKEMRVAMTLTGAKSISEISKDSLREVDHYQTSRHVD	389
XZA03094.1_Xanthomonas_albilineans	AFVYALAAAGGQGVSNLL-SLIEKEMRVAMTLTGAKSIDAITRDSLAQVADATTGAG---	386
WP_443001952.1_Serratia_marcescens	AFVYALAAAGEAGVANLL-DLIDKEMRVAMTLTGAKTIAEINAGSLVRNA-----	379

Gambar 1. Hasil MSA Isolat BAL

Pohon filogenetik yang direkonstruksi menggunakan metode *Maximum Likelihood* dengan 1.000 replikasi bootstrap menunjukkan pengelompokan bakteri berdasarkan kemiripan sekuens protein L-Lactate Dehydrogenase (LLD). *Lactiplantibacillus plantarum* dan *Pediococcus pentosaceus* berada pada cabang yang berdekatan, sedangkan *Priestia aryabhattai*, *Brevibacillus laterosporus*, *Bacillus subtilis*, kelompok *Bacillus cereus*, dan *Geobacillus thermoleovorans* cenderung membentuk kelompok tersendiri. Takson lain, termasuk *Streptococcus agalactiae*, *Salmonella enterica*, *Acinetobacter baumannii*, *Fusobacterium*, *Mycoplasmopsis synoviae*, dan *Streptomyces misionensis*, menunjukkan posisi filogenetik yang berbeda berdasarkan sekuens LLD.

Nilai bootstrap yang relatif tinggi pada beberapa node mendukung kestabilan pengelompokan sekuens tersebut, tetapi tidak secara langsung menunjukkan kesamaan fungsi probiotik, keamanan, ataupun efektivitas biologis. Kedekatan filogenetik berdasarkan satu protein hanya dapat digunakan sebagai informasi pendukung untuk skrining awal, karena sifat probiotik juga ditentukan oleh faktor lain, seperti keberadaan gen virulensi dan resistensi antimikroba, kemampuan menghasilkan metabolit antimikroba, toleransi terhadap kondisi saluran pencernaan, adhesi dan kolonisasi, serta

efek terhadap pertumbuhan dan imunitas udang. Oleh karena itu, takson yang berdekatan dengan bakteri asam laktat yang telah dilaporkan sebagai probiotik tetap memerlukan analisis genomik yang lebih komprehensif serta validasi *in vitro* dan *in vivo* sebelum dinyatakan aman dan efektif sebagai kandidat probiotik.



Gambar 2. Pohon Filogenetik Protein L-Lactate Dehydrogenase (LLD)

Pembahasan

Berdasarkan analisis filogenetik dan *Multiple Sequence Alignment* protein L-Lactate Dehydrogenase (LLD), penelitian ini menunjukkan adanya konservasi sekuens pada beberapa bagian protein LLD, terutama pada kelompok bakteri asam laktat, yang mendukung dugaan bahwa fungsi dasar metabolisme laktat relatif dipertahankan. Namun, keberadaan dan konservasi protein LLD tidak secara langsung membuktikan bahwa bakteri tersebut memiliki aktivitas probiotik, mampu menghambat patogen, atau memberikan manfaat bagi udang secara *in vivo*. Produksi asam laktat memang merupakan salah satu mekanisme yang dapat berkontribusi terhadap penghambatan mikroba melalui perubahan kondisi lingkungan, tetapi efek tersebut bergantung pada tingkat ekspresi gen, aktivitas enzim, jumlah metabolit yang dihasilkan, kemampuan bertahan dan berkolonisasi di saluran pencernaan, serta interaksi bakteri dengan mikrobiota dan inang. Oleh karena itu, hasil penelitian ini lebih tepat diposisikan sebagai dasar untuk skrining awal bakteri yang memiliki karakter molekuler terkait metabolisme laktat, bukan sebagai bukti langsung efektivitas probiotik.

Studi Hernández-Palomares *et al.* (2018) mengenai regulasi LDH pada *Litopenaeus vannamei* selama infeksi WSSV menunjukkan pentingnya metabolisme laktat dalam respons fisiologis udang terhadap stres infeksi, tetapi temuan tersebut membahas LDH milik inang dan tidak dapat digunakan sebagai bukti langsung terhadap fungsi probiotik LLD bakteri. Kandidat yang teridentifikasi melalui analisis ini masih perlu dikonfirmasi melalui pengukuran produksi asam laktat, uji antagonisme terhadap *Vibrio* spp., toleransi terhadap kondisi saluran pencernaan, kemampuan adhesi dan kolonisasi, pengujian keamanan, serta uji *in vivo* terhadap respons imun, pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan ketahanan penyakit udang.

Pengelompokan filogenetik menunjukkan bahwa beberapa bakteri yang dilaporkan berasal dari usus udang memiliki kedekatan sekuens protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD) dengan bakteri asam laktat yang telah dilaporkan memiliki potensi probiotik, seperti *Lactiplantibacillus plantarum* dan *Pediococcus pentosaceus*. Nilai bootstrap yang tinggi pada beberapa percabangan mendukung kestabilan pengelompokan berdasarkan protein LLD, tetapi

tidak dapat digunakan untuk menyimpulkan kesamaan fungsi probiotik maupun memprediksi efikasi secara langsung. Produksi bakteriosin, kemampuan adhesi dan kolonisasi, modulasi mikrobiota usus, serta aktivitas antimikroba dikendalikan oleh berbagai gen dan karakter fenotipik yang tidak dapat direpresentasikan hanya oleh satu protein.

Oleh karena itu, kedekatan filogenetik berbasis LLD lebih tepat dipandang sebagai dasar awal untuk menyeleksi kandidat bakteri yang layak dikaji lebih lanjut, sedangkan penetapan potensi probiotik tetap memerlukan uji fungsional, meliputi produksi metabolit antimikroba, antagonisme terhadap *Vibrio* spp., toleransi terhadap kondisi saluran pencernaan, kemampuan adhesi, serta evaluasi keamanan melalui deteksi gen virulensi dan resistensi antimikroba, yang kemudian dikonfirmasi melalui pengujian *in vitro* dan *in vivo* (Pereira *et al.*, 2022; Du *et al.*, 2022).

Variasi sekuens pada region non-katalitik dapat menjadi indikator adaptasi spesifik terhadap lingkungan usus udang. Isolat indigenous yang telah berevolusi dalam habitat target memiliki keunggulan adaptasi dibandingkan probiotik komersial, termasuk ketahanan terhadap kondisi saluran cerna udang, kemampuan kolonisasi yang lebih baik, dan interaksi yang lebih optimal dengan mikrobioma lokal. Karakteristik ini sangat penting untuk keberhasilan aplikasi probiotik dalam akuakultur yang membutuhkan adaptasi terhadap kondisi lingkungan spesifik. Studi menunjukkan bahwa probiotik asli yang diisolasi dari usus udang sehat menunjukkan toleransi yang ditingkatkan terhadap pH asam dan garam empedu, memiliki aktivitas antimikroba terhadap patogen udang seperti spesies *Vibrio*, dan secara efektif dapat menjajah usus udang (Sutanti *et al.*, 2024).

Pemisahan kluster yang jelas antara bakteri probiotik dan patogen berdasarkan sekuens LLD menegaskan validitas pendekatan ini sebagai alat skrining awal. Kemampuan membedakan kelompok fungsional berdasarkan marker enzimatis tunggal menyederhanakan proses seleksi kandidat probiotik dari keragaman mikroba indigenous. Efisiensi ini sangat berharga dalam pengembangan probiotik tailor-made untuk akuakultur yang memerlukan screening cepat dan akurat. Pendekatan ini menjadi penting dalam akuakultur, di mana mengembangkan probiotik yang dibuat khusus yang disesuaikan dengan kondisi lingkungan tertentu

membutuhkan skrining yang cepat dan andal. Dengan berfokus pada penanda enzimatis tunggal, proses seleksi menjadi lebih efisien sekaligus memastikan keamanan dan kemanjuran, pada akhirnya memfasilitasi pengembangan probiotik yang dapat berkembang dan memberikan manfaat dalam sistem akuakultur (Khushboo *et al.*, 2023).

Potensi aplikasi bakteri yang dianalisis dalam akuakultur belum dapat disimpulkan hanya berdasarkan laporan bahwa bakteri tersebut berasal dari usus udang atau lingkungan budidaya. Dalam penelitian ini, informasi mengenai habitat asal, spesies inang, tahap kehidupan udang, kondisi pemeliharaan, dan kemampuan kolonisasi tidak tersedia secara konsisten untuk seluruh takson karena data diperoleh dari literatur dan basis data publik. Oleh karena itu, asal dari usus udang hanya dapat dipandang sebagai indikasi awal adanya asosiasi dengan lingkungan inang, bukan sebagai bukti kompatibilitas ekologis, kemampuan menetap di saluran pencernaan, ataupun rendahnya risiko penolakan oleh inang. Meskipun protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD) berkaitan dengan metabolisme energi dan produksi laktat, keberadaannya tidak membuktikan viabilitas, persistensi, atau fungsi probiotik di dalam usus udang. Penilaian kompatibilitas ekologis perlu didukung oleh data asal isolat yang terperinci, meliputi habitat, spesies dan tahap kehidupan udang, serta pengujian kemampuan bertahan, adhesi, dan kolonisasi. Selanjutnya, potensi kandidat perlu dikonfirmasi melalui uji produksi metabolit antimikroba, antagonisme terhadap *Vibrio* spp., keamanan, efek imunomodulator, serta pengujian *in vivo* terhadap pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan ketahanan penyakit udang.

Temuan ini membuka peluang pengembangan probiotik indigenous yang tidak hanya efektif tetapi juga berkelanjutan untuk akuakultur. Pendekatan berbasis enzim kunci seperti LLD dapat merevolusi strategi seleksi probiotik dengan mengurangi ketergantungan pada probiotik konvensional dan mengoptimalkan potensi mikroba indigenous yang lebih adaptif dengan kondisi lingkungan budidaya secara spesifik. Dengan demikian, kajian lanjutan tetap diperlukan untuk mengetahui lebih lengkap mengenai potensi bakteri pembawa LLD digunakan sebagai probiotik. Pendekatan secara *in vitro* dan *in vivo* sangat diperlukan untuk

mengetahui tingkat optimalnya probiotik tersebut.

Kesimpulan

Berdasarkan analisis *in silico* terhadap protein *L-Lactate Dehydrogenase* (LLD), beberapa bakteri yang dilaporkan berasal dari usus udang menunjukkan konservasi sekuens dan kedekatan filogenetik dengan bakteri asam laktat yang telah dikenal memiliki potensi probiotik. Temuan ini mendukung penggunaan LLD sebagai marker pendukung untuk skrining awal kandidat bakteri, tetapi belum membuktikan aktivitas probiotik, keamanan, kemampuan kolonisasi, maupun efek antimikroba pada udang. Oleh karena itu, kandidat yang teridentifikasi masih memerlukan validasi melalui uji *in vitro*, analisis keamanan, dan pengujian *in vivo* terhadap pertumbuhan, respons imun, kelangsungan hidup, serta ketahanan udang terhadap penyakit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu sehingga artikel penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Apresiasi khusus kami sampaikan kepada rekan sejawat atas masukan konstruktif selama proses penelitian ini berlangsung. Ucapan terima kasih juga kami tujukan kepada keluarga dan sahabat atas dukungan serta semangat yang tak pernah surut selama proses penyusunan penelitian ini.

Referensi

- Atmomarsono, M., Tampangallo, B. R., Nurbaya, and Kamariah. 2022. Effect of bacteria probiotics on maintaining water quality in the super alkaline shrimp pond water. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1119(1): 012059.
- Chino de la Cruz, C. M., Cornejo-Granados, F., Gallardo-Becerra, L., Rodríguez-Alegría, M. E., Ochoa-Leyva, A., and López Munguía, A. (2023). Complete genome sequence and characterization of a novel *Enterococcus faecium* with probiotic potential isolated from the gut of *Litopenaeus vannamei*. *Microbial Genomics*, 9(3).

- Du, Y., Li, H., Shao, J., Wu, T., Xu, W., Hu, X., and Chen, J. (2022). Adhesion and Colonization of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* HC-2 in the Intestine of *Litopenaeus Vannamei* Are Associated With Bacterial Surface Proteins. *Frontiers in Microbiology*, 13.
- Farhana, A., and Lappin, S. L. (2023). Biochemistry, lactate dehydrogenase. In *StatPearls* [internet]. StatPearls Publishing.
- Fatchiyyah, A. R., Haeruddin, H., and Yudiati, E. (2021). Isolation And Identification Of Bacteria From Shrimp Pond As Bioremediation Agent Candidate To Reduce Toxic Ammonia. *Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 17(1): 25-31.
- Haliman, R. W., Kurnia, M. D., Iman, M. N., Kusuma, S. A., Halalludin, B., Rizkiantino, R., Sari, P. P., Rahayu, M., Fitriana, R. N., Panjaitan, B. V., Jacinda, A. K., And Laiman, H. (2023). Isolation of *Pediococcus pentosaceus* to compete *Vibrio harveyi* in the shrimp *Litopenaeus vannamei* hatchery. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(8).
- Hasan, G. M. M. A., Das, A. K., and Satter, M. A. (2024). CRISPR/Cas9-mediated gene editing of *L. bulgaricus* -lactate dehydrogenase (*ldh*) gene to monitor yogurt characteristics. *Food Chemistry Advances*, 5: 100772.
- Hernández-Palomares, M. L. E., Godoy-Lugo, J. A., Gómez-Jiménez, S., Gámez-Alejo, L. A., Ortiz, R. M., Muñoz-Valle, J. F., Peregrino-Uriarte, A. B., Yepiz-Plascencia, G., Rosas-Rodríguez, J. A., and Soñanez-Organis, J. G. (2018). Regulation of lactate dehydrogenase in response to WSSV infection in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 74: 401-409.
- Huynh, T.-G., Hu, S.-Y., Chiu, C.-S., Truong, Q.-P., and Liu, C.-H. (2019). Bacterial population in intestines of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* fed a synbiotic containing *Lactobacillus plantarum* and galactooligosaccharide. *Aquaculture Research*, 50(3): 807-817.
- Khushboo, Karnwal, A., and Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- Macharia, J. M., Kaposztas, Z., Varjas, T., Budán, F., Zand, A., Bodnar, I., and Bence, R. L. 2023. Targeted lactate dehydrogenase genes silencing in probiotic lactic acid bacteria: A possible paradigm shift in colorectal cancer treatment? *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 160: 114371.
- Pereira, W. A., Mendonça, C. M. N., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. Þ., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., Villalobos, E. F., Romero, J., and Oliveira, R. P. S. (2022). Use of Probiotic Bacteria and Bacteriocins as an Alternative to Antibiotics in Aquaculture. *Microorganisms*, 10(9): 1705.
- Rwezawula, P., Waiswa Mwanja, W., Vereecke, N., Bossier, P., and Vanrompay, D. (2025). Advancing aquaculture probiotic discovery via an innovative protocol for isolation of indigenous, heat and salt tolerant, quorum quenching probiotic candidates. *Frontiers in Microbiology*, 16.
- Sriwulan, S., Azwar, A., Rantetondok, A., & Anshary, H. (2019). Screening and application of lactic acid bacteria isolated from *vanamei* shrimp (*Litopenaeus vannamei*) intestine as a probiotic potential for tiger shrimp (*Penaeus monodon*).
- Sutanti, S., Sukenda, S., Widanarni, W., Alimuddin, A., and Siti Aliah, R. (2024). Novel indigenous probiotic isolated from the healthy Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* intestine in differing stages based on metagenomic and screening approaches. *Fish & Shellfish Immunology*, 151: 109678.
- Triwijayani, A. U., Puspita, I. D., Murwantoko, and Ustadi. (2018). Identification of chitinolytic bacteria isolated from shrimp pond sediment and characterization of their chitinase encoding gene. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 139: 012051.
- Vargas-Albores, F., Porchas-Cornejo, M. A., Martínez-Porchas, M., Villalpando-Canchola, E., Gollas-Galván, T., and Martínez-Córdova, L. R. (2017). Bacterial biota of shrimp intestine is significantly modified by the use of a probiotic mixture: a high throughput sequencing approach. *Helgoland Marine Research*, 71(1): 5.

Zulfani, A., Yuhana, M., Sukenda, S., and Afif, U. (2025). Selection of potential probiotic candidate bacteria from seawater and

shrimp pond sediments for controlling the pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 24(1): 10-20.