



TRITON

JURNAL MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

Volume 9, Nomor 1, April 2013

ANALISIS BEBERAPA PARAMETER KUALITAS AIR
DI DAERAH HABITAT TERIPANG

PENGEMBANGAN DESKRIPTOR AKUSTIK PLANKTON
DI TELUK AMBON BAGIAN DALAM
MENGUNAKAN ECHOSOUNDER BIOSONIC DT-X

PEMANFAATAN SUMBERDAYA PELAGIS KECIL DI
PERAIRAN MALUKU TENGAH
(Suatu Pendekatan Bioekonomi)

PENGARUH SUBSTRAT BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN TERIPANG PASIR (*Holothuria scabra*)

KINERJA APARAT PENGELOLA SUMBERDAYA PERIKANAN
BERBASIS MASYARAKAT DI KOTA AMBON

EFEK PEMBERIAN PAKAN ALAMI *Artemia* sp. DAN *Tubifex* sp.
DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP
PERTUMBUHAN IKAM MANDARIN (*Synchiropus splendidus*)

VALUASI EKONOMI EKOSISTEM HUTAN MANGROVE
DI WILAYAH PESISIR PANTAI KOTA AMBON

RENDEMEN EKSTRAK KASAR DAN FRAKSI PELARUT
ALGA MERAH (*Kappaphycus alvarezii* Doty)

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
PENGHAMBAT BAKTERI *Vibrio* sp

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS PATTIMURA
AMBON

TRITON

Vol. 9

No. 1

Hlm. 1-74

Ambon, April 2013

ISSN 1693-6493

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHAMBAT BAKTERI *Vibrio* sp.

(Isolation and Identification of Bacteria Inhibiting Vibrio sp.)

Absalom Luturmas

Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Pattimura
Jl.Mr.Chr.Soplanit, Poka-Ambon
ape_luturmas@yahoo.co.id

ABSTRAK: Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. sering mengakibatkan mortalitas yang tinggi baik secara parsial maupun massal. Penggunaan bahan-bahan kimia dan antibiotik ternyata kurang efektif karena dapat mengakibatkan pengaruh sampingan serta resiko timbulnya strain yang resisten. Tindakan pencegahan merupakan alternatif penanggulangan penyakit yang lebih efektif, diantaranya dengan pemberian bakteri penghambat. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui isolat bakteri hasil isolasi dari lumpur tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Dari hasil isolasi kemudian dilakukan uji antagonisme terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, *V. Parahaemolyticus* dan *V. Alginolyticus* baik secara tunggal maupun kombinasi pada media TCBSA secara in-vitro. Hasil penelitian isolasi dan identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan lumpur tambak udang vannamei ditemukan lima jenis bakteri yaitu *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas* sp dan *proteus mirabillis*. Hasil penelitian uji antagonisme menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi bakteri antara bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp mempunyai daya hambat terbesar pada media TCBSA dan hasil uji daya hambat pada media cair menunjukkan bahwa kombinasi bakteri tersebut dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *V. Parahaemolyticus* dan *V. Alginolyticus* dengan kepadatan 10^4 mengalami kematian pada hari ke-3 selang lima hari pengamatan.

Kata Kunci: isolasi, lumpur tambak udang vannamei, bakteri antagonisme, bakteri *Vibrio* sp.

ABSTRACT: The disease caused by the bacterium *Vibrio* sp. resulted in high mortality often either partially or bulk. The use of chemicals and antibiotics were less effective because it can cause a side effect as well as the risk of emergence of resistant strains. Precautions disease prevention is an alternative that is more effective, such as by inhibiting bacterial administration. The purpose of the study was to determine bacterial isolates isolated from mud ponds vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*). From the test results, then isolation antagonism was tested against *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* either singly or in combination on TCBSA media in vitro. The results of the study of isolation and identification of bacteria associated with the mud ponds vannamei shrimp were found five types of bacteria such as *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas* sp. and *Proteus mirabillis*. The results of the study showed that the antagonism test combination treatment between *Bacillus subtilis* bacteria and *Pseudomonas* sp. had the greatest inhibition TCBSA media and test results inhibition in liquid media indicated that the combination of these bacteria can inhibit the growth of *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus* and *V. alginolyticus* at a density of 10^4 dying on the 3rd day of the five-day observation interval.

Keywords: isolation, mud ponds vannamei shrimp, antagonism bacteria, *Vibrio* sp.

PENDAHULUAN

Penyakit merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya ikan maupun udang. Timbulnya penyakit pada ikan ataupun udang disebabkan karna adanya interaksi antara inang (host), jasad penyebab penyakit dan lingkungan. Dalam interaksi ini faktor lingkungan berperan penting karena dapat menimbulkan pengaruh positif dan negatif terhadap hubungan antara inang dan patogen (Kabata, 1985). Jenis-jenis penyakit yang sering menyebabkan penyakit pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) adalah bakteri, jamur, dan virus. Khususnya serangan penyakit bakterial yang sering menyerang udang baik di tingkat pembenihan maupun pembesaran di tambak yang paling serius dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada udang adalah serangan bakteri *Vibrio* sp (Moriarty, 1998; Vandenberghe *et al*, 1999; Muliani, 2004). Jenis-jenis *Vibrio* sp yang telah teridentifikasi menginfeksi udang adalah *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Lavilla-Pitogo, 1998; Kamiso *et al*, 1998).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Pusat Penelitian Budidaya Udang, Probolinggo (2003) menunjukkan bahwa udang vannamei yang terserang bakteri patogen disertai kematian secara parsial maupun massal, selalu adanya bakteri dari marga *Vibrio* sp (*Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio harveyi*) dalam jumlah yang cukup besar yaitu masing-masing 10^3 - 10^5 sel/ml dan 10^2 sel/ml, baik di kolam maupun dalam hepatopancres udang. Untuk mengatasi terjadinya infeksi bakteri *Vibrio* sp dalam tambak udang, sering dilakukan dengan terapi kimiawi dan antibiotik. Tingkat keberhasilan penggunaan antibiotik sangat bervariasi tergantung pada lokasi dan waktu penggunaan. Penggunaan antibiotik secara terus-menerus yang tidak terkontrol dapat menyebabkan resistensi bakteri patogen terhadap bahan kimia tersebut maupun terakumulasinya residu dalam

daging udang (Baticados and Paclibare, 1992; Tjahjadi, 1994), sehingga sangatlah perlu dicari alternatif baru dalam mengatasi permasalahan tersebut di atas. Salah satu alternatif untuk mengontrol bakteri patogen khususnya bakteri *Vibrio* sp pada budidaya udang dengan menambahkan bakteri antagonistik sebagai biokontrol. Cara ini telah terbukti berhasil dan banyak digunakan pada usaha hewan ternak (Fuller, 1989).

Tujuan penelitian adalah : 1) Mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri-bakteri yang berasosiasi pada lumpur tambak udang vannamei yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp; 2) Mengetahui efektivitas atau kemampuan bakteri-bakteri tersebut dalam menghambat laju pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

METODE PENELITIAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan lumpur tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) menurut metode Lay (1994), identifikasi bakteri meliputi morfologi bakteri, morfologi koloni serta uji biokimia uji oksidase, uji katalase, uji reduksi nitrat, uji indole, uji citrat uji voges-proskauer (VP), uji penggunaan gula, uji pertumbuhan media selektif vibrio (TCBSA), berdasarkan buku pedoman identifikasi bakteri Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan and Gibbson, 1974).

Uji Antagonisme Bakteri Penghambat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Vibrio sp pada Media Agar

Isolat bakteri *Vibrio* sp di tumbuhkan pada media TCBSA dalam cawan petri selama 24 jam pada suhu 28°C, kemudian diambil sebanyak 15 jarum ose dan ditumbuhkan pada Nutrient Broth (NB) volume 100 ml selama 24 jam pada suhu 28°C. Perhitungan populasi bakteri dalam Nutrient Broth dilakukan dengan

cara pengenceran bertingkat (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan seterusnya), yaitu tiap 1 ml larutan bakteri diencerkan ke dalam 9 ml larutan fisiologis. Kemudian dari larutan bakteri *Vibrio Harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, dan *Vibrio alginolyticus* dengan kepadatan masing-masing bakteri 10^4 CFU/ml. Dari larutan ke tiga jenis *Vibrio* sp. ini di ambil 0,1 ml disebar secara merata pada media TCBSA yang telah dipersiapkan sebelumnya, kemudian ditengah pelat agar tersebut diletakkan kertas *sensitivity disk* yang sebelumnya sudah direndam selama 10 – 15 menit dalam larutan bakteri *Bacillus Subtillis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas* sp. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri dikatakan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio* sp. apabila terdapat zona bening di sekeliling kertas *sensitivity disk* yang bebas dari pertumbuhan ketiga jenis bakteri *Vibrio* sp.

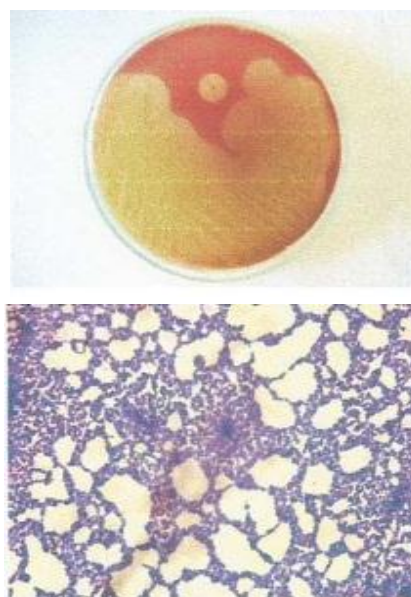
Uji Antagonisme bakteri penghambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* spp pada media cair

Isolat bakteri penghambat yang mempunyai panjang diameter zona bening terbesar yaitu kombinasi antara bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp. Kemudian dilakukan uji antagonisme lanjut terhadap bakteri *Vibrio* sp. pada media cair, menurut

metode yang dikemukakan oleh Benson (1985) sebagai berikut: isolat bakteri *Vibrio* sp di tumbuhkan pada media TCBSA dalam cawan petri selama 48 jam pada suhu 28°C , kemudian diambil sebanyak 15 jarum ose dan ditumbuhkan pada Nutrient Broth (NB) volume 100 ml selama 48 jam pada suhu 28°C . Perhitungan populasi bakteri dalam Nutrient Broth dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , dan seterusnya), yaitu tiap 1 ml larutan bakteri diencerkan kedalam 9 ml larutan gram fisiologis. Kemudian dari larutan bakteri *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio alginolyticus* kepadatan 10^4 CFU/ml diambil 0,5 ml dicampur dengan 0,5 ml larutan kombinasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp dengan kepadatan 10^8 CFU/ml, selanjutnya diambil 1 ml dari masing-masing bakteri tersebut dan di masukkan kedalam larutan Na Fis 2,5 % (25 ppt). Pengamatan dan perhitungan jumlah masing-masing bakteri dilakukan selama 5 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

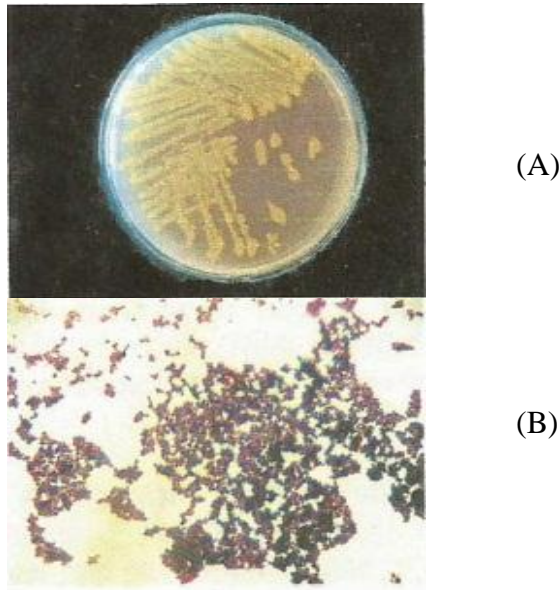
Hasil isolasi dan identifikasi bakteri-bakteri penghambat yang berasosiasi dengan lumpur tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) ditemukan lima jenis bakteri antara lain:



(A)

(B)

Gambar 1. Koloni bakteri *Bacillus subtilis* dengan warna putih pada media selektif Blood Agar Blood Plate/BAP (A). Bakteri *B. subtilis* dengan pewarnaan gram (B)



Gambar 2. Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* dengan warna putih keabuan pada media selektif Mannitol Salt Agar/MSA (A). Bakteri *S. aureus* dengan pewarnaan gram (B)

1. *Bacillus subtilis*

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *B. Subtillis* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: warna koloni bakteri pada media selektif Blood Agar Plate (BAP) yaitu putih dengan diameter koloni berukuran 7 μm , berbentuk bundar (circular), tepi rata dan halus (gambar 1). Sel bakteri berbentuk batang, bersifat gram positif. Pada pengujian biokimia, bakteri *B. Subtillis* mempunyai sifat oksidase dan katalase positif, reduksi nitrit positif, uji vogz-proskaur (VP) negatif, proteolitik positif, dan reduksi indol negatif.

2. *Staphylococcus aureus*

Hasil pengamatan terhadap morfologi koloni bakteri dicirikan sebagai berikut: warna koloni bakteri pada media selektif Mannitol Salt Agar (MSA) yaitu putih keabuan dengan diameter koloni 2 – 3 μm , bentuk koloni dengan penonjolan seperti gunung, dan bagian tepinya halus, sel bakteri berbentuk kokus, reaksi gram positif, dan motilitas negatif (Gambar 2). Sedangkan hasil pengujian biokimia dicirikan sebagai berikut oksidase dan katalase positif, reduksi nitrit positif, produksi nitrit positif serta proteolitik positif.

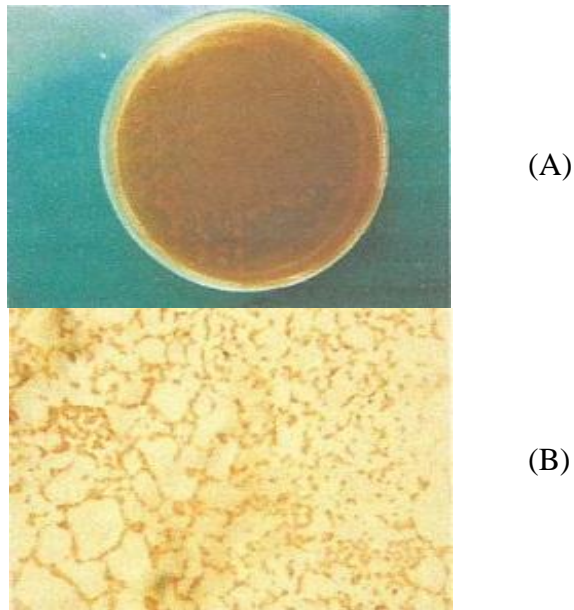
3. *Proteus mirabilis*

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *P. Mirabilis* didapatkan ciri-ciri

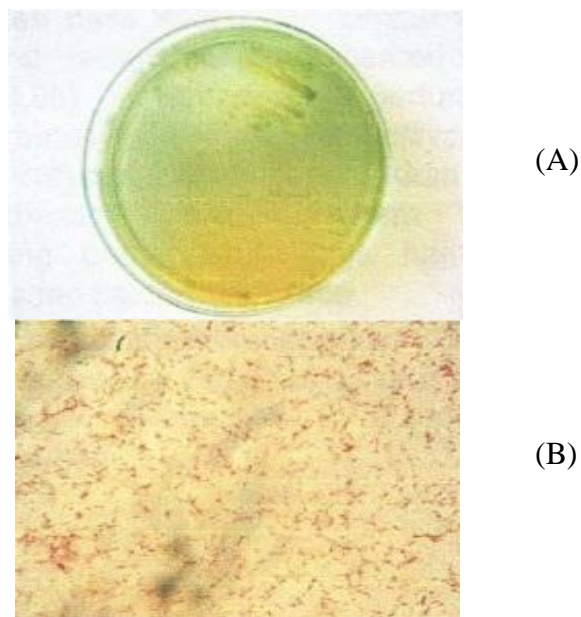
sebagai berikut: warna koloni pada media selektif Blood Agar Plate (BAP) yaitu berwarna kuning, mempunyai diameter koloni yaitu 4 μm , koloni bakteri dengan penonjolan seperti gunung, dan tepi halus, reaksi gram negatif, sel bakteri berbentuk batang, dan motilitas negatif (Gambar 3). Pada pengujian biokimia terhadap bakteri *P. Mirabilis* dengan ciri-ciri sebagai berikut: Oksidase positif, produksi H₂S positif, produksi indol negatif, uji VP negatif, proteolitik negatif dan uji TSIA bersifat A/K artinya bakteri ini mampu memfermentasi laktosa atau sukrosa.

4. *Pseudomonas sp*

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri *Pseudomonas sp* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: warna koloni bakteri pada media selektif Muller Heaton Agar (MHA) yaitu berwarna hijau dengan diameter koloni 5 μm , koloni bakteri dengan penonjolan seperti gunung, tepi halus, reaksi gram negatif, sel berbentuk batang, motilitas positif (Gambar 4). Sedangkan dari pengujian biokimia terhadap isolat ini dengan ciri-ciri sebagai berikut: oksidase dan katalase positif, produksi H₂S negatif, reduksi nitrit negatif produksi indol positif, penggunaan karbon dari citrat positif, uji VP negatif, proteolitik negatif dan uji TSIA bersifat K/K artinya isolat ini tidak mampu memfermentasi gula.



Gambar 3. Koloni bakteri *Proteus mirabilis* dengan warna kuning pada media selektif Blood Agar Plate/BAP (A). Bakteri *P. Mirabilis* dengan pewarnaan gram (B)



Gambar 4. Koloni bakteri *Pseudomonas* sp dengan warna hijau pada media selektif Muller Heaton Agar/MHA. Bakteri *Pseudomonas* sp dengan pewarnaan gram (B)

5. *Vibrio parahaemolyticus*

Morfologi koloni isolat bakteri *V. Parahaemolyticus* mempunyai ciri-ciri sebagai berikut: warna koloni pada media selektif Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBSA) yaitu hijau dengan diameter koloni bakteri 3 µm, koloni bakteri dengan penonjolan timbul dan bulat agak keruh, tepi halus, reaksi gram negatif, sel bakteri berbentuk koma, motilitas

positif (Gambar 5). Pada pengujian biokimia isolat bakteri dengan ciri-ciri sebagai berikut: oksidase positif, katalase negatif, produksi H₂S negatif, dan produksi indol positif, penggunaan karbon dari citrat negatif, proteolitik negatif dan uji TSIA bersifat A/A artinya bahwa bakteri mempunyai kemampuan untuk memfermentase glukosa, laktosa dan sukrosa (Gambar 5 B).

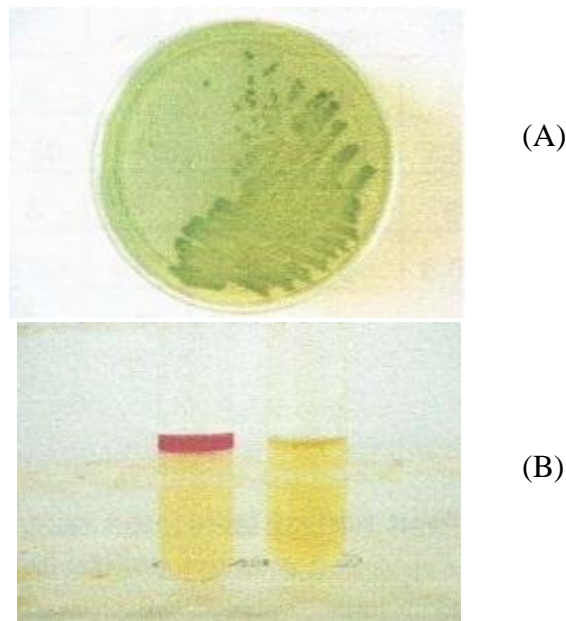
Uji Antagonism bakteri penghambat terhadap pertumbuhan bakteri Vibrio sp pada media agar

Berdasarkan hasil uji awal antagonism masing-masing bakteri penghambat *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas sp* dan *Proteus mirabilis* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada media Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar (TCBSA) menunjukkan rata-rata panjang diameter zona bening yang terbentuk berkisar antara 6 – 6,50 mm, terhadap pertumbuhan bakteri *V. Parahaemolitycus* dengan panjang diameter zona bening yang terbentuk berkisar antara 6 – 7 mm dan *V. Alginolitycus* dengan panjang diameter zona bening yang terbentuk berkisar antara 6,17 – 7 mm (Tabel 1).

Hasil analisa kemampuan daya hambat uji antagonism dari zona bening bakteri

penghambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *V. Parahaemolitycus*, *V. Alginolitycus* secara *in-vitro* menunjukkan bahwa keempat perlakuan masing-masing bakteri hasil isolasi dari lumpur tambak udang vannamei tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap pertumbuhan *V. harveyi*, *V. Parahaemolitycus*, *V. Alginolitycus*. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian bakteri secara tunggal tidak berpengaruh daya hambatnya terhadap bakteri *Vibrio sp*.

Untuk itu penelitian ini dilanjutkan dengan mengkombinasikan bakteri-bakteri hasil isolasi dari lumpur tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) karena menurut penelitian Madigan et al (1997) bahwa setiap sel bakteri menghasilkan ribuan enzim yang berbeda, masing-masing merupakan katalis yang efektif untuk reaksi kimia tertentu. Apabila bakteri dikombinasikan satu sama lain dan dapat



Gambar 5. Koloni bakteri *V. Parahaemolitycus* dengan warna hijau pada media selektif Thiosulfate Citrate Bile Sucrose Agar/TCBSA (A). Sifta indol positif pada media SIM, setelah penambahan reagen Kovac's terbentuk warna pink (B).

Tabel 1. Panjang diameter zona bening penghambatan masing-masing bakteri hasil isolasi dari lumpur tambak udang vannamei terhadap laju pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Perlakuan	<i>V. harveyi</i> (mm)			Rata-rata	<i>V. parahemolyticus</i> (mm)			Rata-rata	<i>V. alginolyticus</i> (mm)			Rata-rata
	I	II	III		I	II	III		I	II	III	
A	7	7	6,50	6,83	6,50	7	7,50	7	7	6,50	7,50	7
B	5,50	6	6	5,83	6	6	6	6	6	6,50	6	6,17
C	7	6	6,50	6,50	7,5	6	6,50	6,67	7,50	6	6,50	6,67
D	7	6	6	6,33	7	6	6	6,33	6,50	6	6	6,17

Keterangan : A = *Bacillus subtilis*, B = *Staphylococcus aureus*, C = *Pseudomonas* sp, D = *Proteus mirabilis*

bersimbiosis akan menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat saling menunjang dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain dibandingkan dengan pemberian bakteri secara tunggal. Hasil uji kombinasi bakteri *B. Subtillis* dengan bakteri *S. Aureus*, *Pseudomonas* sp dan *Proteus mirabilis* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *V. Parahaemolyticus*, *V. Alginolyticus* pada media agar dengan metode uji cakram secara *in-vitro* tersaji pada tabel 2.

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa berbeda sangat nyata ($P > 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian isolat bakteri secara

kombinasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan dengan mempergunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Pada Gambar 6 menunjukkan bahwa nilai tertinggi pada perlakuan C dalam menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, *V. Parahaemolyticus*, *V. Alginolyticus*. Hasil uji antagonisme kombinasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *pseudomonas* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp pada media agar tersaji pada gambar 6, 7, dan 8.

Tabel 2. Panjang diameter zona bening penghambatan kombinasi bakteri hasil isolasi dari lumpur tambak udang vannamei terhadap laju pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Perlakuan	<i>V. harveyi</i> (mm)			Rata-rata	<i>V. parahemolyticus</i> (mm)			Rata-rata	<i>V. alginolyticus</i> (mm)			Rata-rata
	I	II	III		I	II	III		I	II	III	
A	7	7	8	7,3	10	9	9	9,3	9	7	8	8
B	10	9	10	9,6	9	8	7	8	8	9	7	8
C	15	14	17	15,3	10	10	11	10,3	12	11	10	11
D	7	7	7	7	7	8	9	8	9	9	8	8,6

Keterangan : A = *Bacillus subtilis*, B = *B. subtilis* + *Staphylococcus aureus*, C = *B. subtilis* + *Pseudomonas* sp, D = *B. subtilis* + *Proteus mirabilis*



Gambar 6. Uji daya hambat Kombinasi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada media TCBSA.



Gambar 7. Uji daya hambat Kombinasi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada media TCBSA.



Gambar 8. Uji daya hambat Kombinasi Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio alginolyticus* pada media TCBSA.

Kemampuan penghambatan yang baik dari kombinasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *pseudomonas* sp., diduga disebabkan oleh interaksi antara kedua jenis bakteri ini. Interaksi untuk menghasilkan berbagai jenis enzim yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri lain. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Kauffman *et al.*, (2000) bahwa dari sifat suatu organisme yang bersimbiosis dengan mikroorganisme lain dalam menghadapi organisme lain yang dikenal sebagai *Quorum Sensing*. Selain itu pula diduga terkait dengan enzim yang diekspresikan oleh setiap jenis bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain. Sugita *et al* (1998) dalam penelitiannya mengemukakan bahwa bakteri dalam memerankan kemampuannya menekan populasi *Vibrio* sp. yaitu dengan mengeluarkan senyawa semacam antibakterial. Efek dari antibakterial dari beberapa bakteri umumnya disebabkan oleh kombinasi beberapa faktor yaitu produksi antibiotic, bacteriocins, siderospore, Lysozyme, protease, dan pelepasan nilai pH yang menghasilkan asam organik.

Lebih lanjut Sugita *et al.*, (1998) melakukan uji efektivitas enzim antimikroba dari *Bacillus Subtillis* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio fulnificus* menunjukkan bahwa bakteri *B. subtilis* menghasilkan zat antimikroba yaitu siderophore dengan masa molekul kurang dari 5 kD.

Pendapat yang dikemukakan oleh Nakamura *et al.*, (1999) menunjukkan bahwa mekanisme bakteri dapat berperan sebagai biokontrol dalam menekan *Vibrio* sp. adalah dihasilkannya senyawa *vibriostatik* atau *vibriosidal* oleh bakteri dan *niche competition* antara *Vibrio* sp. dan bakteri agen biokontrol. Menurut Gibson *et al.*, (1998), bakteri *Aeromonas* media dapat melepaskan senyawa penghambat yang di sebut *Bacteriocinlike Inhibitory Substance* pada oyster *Crassostrea gigas*.

Selain bakteri *B. Subtillis* yang mampu menghasikan siderophore sebagai antimikroba, bakteri *Pseudomonas* sp. juga dapat menghasilkan enzim yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp, walaupun dalam penelitian ini bakteri *Pseudomonas* sp yang

diberikan secara tunggal terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. Alginolyticus* kurang berpengaruh aktivitas mikrobanya, namun setelah dikombinasikan dengan bakteri *B. Subtillis* mempunyai kemampuan hambatan terbesar. Sesuai dengan yang dikemukakan oleh Chytanya *et al* (2002) bahwa aktifitas hambatan bakteri *Pseudomonas* 1-2 dipengaruhi oleh pyocyanine. Dikemukakan pula oleh Kumar *et al* (1997) yang melakukan uji antagonisme bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* terhadap pertumbuhan bakteri *S. Aureas* dimana enzim pyocyanine mempunyai kemampuan sebagai antimikroba.

Berdasarkan hasil pengujian masing-masing bakteri pada media cair menunjukkan bahwa bakteri *B. subtilis* mengalami penurunan hingga 10^3 CFU/ml, dan *Pseudomonas* sp. mengalami penurunan kepadatan hingga 10^1 CFU/ml setelah diuji daya hambatnya dengan *Vibrio harveyi* sedangkan untuk *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus*, bakteri *Pseudomonas* sp. mengalami penurunan kepadatan hingga 10^2 CFU/ml. Hal ini dikemukakan oleh Simidu *et al.*, (1987) dalam Murdjani (2002) bahwa bakteri *Vibrio* sp penghasil toksin antara lain; *V. alginolyticus*, *V.*

parahaemolyticus, dan *V. angularium* yang berupa anhydrotetrodotoksin. Meskipun kurang toksik, tetapi pada kondisi pH rendah mudah sekali terkonversi menjadi tetradotoksin yang merupakan neurotoksin.

Berdasarkan hasil uji daya hambat kombinasi bakteri antara *B. subtilis* dan *Pseudomonas* sp. terlihat bahwa penurunan kepadatan kombinasi bakteri sampai pada hari ke-5 menurun hingga 10^4 CFU/ml, sedangkan bakteri *vibrio harveyi*, *vibrio parahaemolyticus*, dan *vibrio alginolyticus* mengalami kematian pada hari ke-3 (tabel 3). Penurunan jumlah kepadatan bakteri *B.subtilis* dan *Pseudomonas* sp maupun kombinasi keduanya, kemungkinan disebabkan karena toksik yang dihasilkan oleh bakteri *Vibrio* sp.

Nilai pengukuran pH pada media cair menunjukkan bahwa terjadi penurunan nilai pH pada akhir penelitian (tabel 4), namun dengan kisaran pH tersebut bakteri *B. subtilis* dan *Pseudomonas* sp dapat tumbuh dengan baik. Menurut Frohiser (1965) bahwa kisaran pH untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* sp yaitu 6 – 8, sedangkan kisaran pH untuk bakteri *B. Subtilis* berkisar antara 5 – 7 sehingga dimungkinkan pada kisaran tersebut bakteri *B. subtilis* dan *Pseudomonas* sp mampu tumbuh secara optimal.

Tabel 3. Jumlah Kepadatan Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp Dalam Uji Daya Hambat Pada Media Cair Selama 5 (lima) Hari Pengamatan.

Kultur Bakteri	Pengamatan Jumlah Bakteri (CFU/ml)/Hari					
	0	1	2	3	4	5
<i>Bacillus subtilis</i>	10^8	$8,9 \times 10^7$	$6,4 \times 10^6$	$3,9 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$
<i>Vibrio harveyi</i>	10^4	$7,3 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$3,5 \times 10^7$	$6,7 \times 10^6$	$6,5 \times 10^4$	$7,3 \times 10^2$	$4,3 \times 10^1$
<i>V. harveyi</i>	10^4	$6,0 \times 10^3$	$5,7 \times 10^2$	$4,3 \times 10^1$	6	3
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$7,3 \times 10^7$	$4,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^6$	$6,7 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$
<i>V. harveyi</i>	10^4	$5,4 \times 10^3$	$1,0 \times 10^1$	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	10^8	$2,9 \times 10^7$	$8,2 \times 10^6$	$6,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3$
<i>V. parahaemolyticus</i>	10^4	$4,8 \times 10^3$	$4,3 \times 10^2$	$3,0 \times 10^1$	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$8,1 \times 10^7$	$7,4 \times 10^5$	$5,9 \times 10^4$	$6,4 \times 10^3$	$3,4 \times 10^2$
<i>V. parahaemolyticus</i>	10^4	$7,1 \times 10^7$	$1,0 \times 10^2$	$3,7 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$	5
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$4,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^6$	$7,8 \times 10^5$	$4,3 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$
<i>V. parahaemolyticus</i>	10^4	$3,9 \times 10^3$	$3,2 \times 10^1$	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	10^8	$9,1 \times 10^7$	$6,7 \times 10^6$	$5,3 \times 10^5$	$4,9 \times 10^4$	$3,2 \times 10^3$
<i>V. alginolyticus</i>	10^4	$7,6 \times 10^3$	$2,0 \times 10^2$	$3,2 \times 10^1$	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$8,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$4,8 \times 10^3$	$2,1 \times 10^2$
<i>V. alginolyticus</i>	10^4	$4,9 \times 10^3$	$5,2 \times 10^2$	$4,1 \times 10^1$	8	4
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas</i> sp	10^8	$6,5 \times 10^7$	$7,2 \times 10^6$	$3,2 \times 10^5$	$7,4 \times 10^4$	$5,5 \times 10^3$
<i>V. alginolyticus</i>	10^4	$6,1 \times 10^3$	$6,1 \times 10^1$	0	0	0

Tabel 4. Pengamatan Oksigen Terlarut dan pH Pada Media Cair Selama 5 (lima) hari.

Bakteri Uji	Pengamatan selama 5 hari			
	pH		DO	
	Awal	Akhir	Awal	Akhir
<i>Bacillus subtilis</i>	7,4	6,0	5,4	2,1
<i>Vibrio harveyi</i>				
<i>Pseudomonas sp</i>	7,0	5,6	5,0	1,5
<i>V. harveyi</i>				
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas sp</i>	7,3	6,1	5,5	2,0
<i>V. harveyi</i>				
<i>Bacillus subtilis</i>	7,2	6,0	5,2	1,9
<i>V. parahaemolyticus</i>				
<i>Pseudomonas sp</i>	7,0	5,9	5,0	1,7
<i>V. parahaemolyticus</i>				
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas sp</i>	7,4	6,3	5,5	2,3
<i>V. parahaemolyticus</i>				
<i>Bacillus subtilis</i>	7,4	6,0	5,3	2,0
<i>V. alginolyticus</i>				
<i>Pseudomonas sp</i>	7,0	5,5	5,1	1,8
<i>V. alginolyticus</i>				
<i>B. subtilis</i> + <i>Pseudomonas sp</i>	7,3	6,2	5,5	2,2
<i>V. alginolyticus</i>				

Damayanti (1997) menyatakan bahwa pH dapat untuk mempertahankan kestabilan metabolisme dan kestabilan enzim. Batas pH untuk pertumbuhan mikroba merupakan gambaran dari batas pH bagi aktivitas enzimnya. Hal ini disebabkan pH pada tingkat tertentu dapat menyebabkan koagulasi protein dan mempengaruhi aktivitas enzim.

Setiap jenis organisme akan tumbuh dengan baik di dalam lingkungannya hanya selama kondisinya menguntungkan bagi pertumbuhan dan pertahanan dirinya. Apabila terjadi perubahan fisik atau kimiawi (habis nutrisi atau terjadinya perubahan radikal dalam hal suhu maupun pH) yang membuat kondisi bagi pertumbuhan jenis lain lebih menguntungkan, maka organisme yang telah teradaptasi dengan baik di dalam lingkungan terdahulu terpaksa menyerahkan tempatnya kepada organisme yang dapat beradaptasi dengan baik di dalam kondisi baru itu (Pelczar dan Chan, 1988).

Konsentrasi oksigen terlarut pada media cair selama penelitian memperlihatkan terjadi penurunan nilai oksigen terlarut (tabel 4), hal ini menunjukkan bahwa oksigen terlarut

dimanfaatkan oleh bakteri *B. subtilis* dan *Pseudomonas sp* untuk pertumbuhannya. Hal ini dibuktikan dengan penelitian isolasi dan identifikasi bakteri *B. subtilis* dan *Pseudomonas sp* dapat mengkonsumsi oksigen. Hal yang sama pula dikemukakan oleh Verschuere et al (2000) bahwa bakteri *B. subtilis* dan *Pseudomonas sp* bersifat aerobik artinya kedua jenis bakteri ini mempergunakan oksigen untuk pertumbuhannya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat ditarik dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Hasil identifikasi diperoleh lima jenis bakteri yang berasosiasi dengan lumpur tambak udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) adalah *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Pseudomonas sp* dan *proteus mirabilis*.
2. Berdasarkan hasil uji daya hambat pada media agar diperoleh hasil kombinasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas sp* merupakan kombinasi terbaik dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

3. Aplikasi pemakaian kombinasi bakteri antara *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp menunjukkan bahwa dengan dosis 50 % bakteri *Bacillus subtilis* dan 50 % bakteri *Pseudomonas* sp efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

Adapun saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian ini yaitu :

1. Untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp di tambak udang dapat mempergunakan kombinasi bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp sebagai probiotik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas* sp dengan mengisolasi Extra Cellular Product (ECP) untuk mengetahui enzim spesifik apa saja yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Benson, H. J. 1985. *Microbiological Applications A Laboratory Manual in General Microbiology*. Forth Edition Wm.C. Brown Publisher. Durbuqur, Iowa, 450 p.
- Buchanan, R. E. And N. E. Gibbson, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight Edition. Williams and Wilkins, Baltimore. 1267 p.
- Damayanti, Y. D. A. 1997. *Pengaruh pH terhadap Biodegradasi ABS oleh Kurthia Zoopfi dan Enterobacter gergoviae dengan Uji Toksisitasnya terhadap Daphia*.
- Frobsher, M. 1965. *Fundamentals Of Microbiology*. 7th edition. WB, Saunders co. Philadelphia.
- Fuller, R. 1989. Probiotics, *J. Appl. Bacteriology Supplement*. 5 – 75 p.
- Gibson, L. F., J. Woodworth, and A. M. George. 1998. Probiotic Activity Of *Aeromonas media* On The Pasific Oyster *Crassostrea gigas*, when Challenged With *Vibrio tubiashi*. *Aquaculture* 169: 111-120.
- Haryanti; S. Lante; dan S. Tsumura, 1997. Studi Pendahuluan Bakteri *Flavimonas* BY-9 Sebagai Probiotik dalam Pemeliharaan Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*), *J. Penelitian dan Perikanan Indonesia* 3 (1): 44-52.
- Kabata Z. 1985. *Parasites and Diseaces Of Fish Cultured In The Tropics*. Pasific Biological Station Nanaimo. British Columbia, Canada, p. 153.
- Kamiso, H. N. 1996. Vibriosis pada Ikan dan Alternatif Penanggulangannya, *J. Perikanan UGM (GMU J. Fish sei.)*, 1 (1): 78 – 86.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Cetakan Pertama PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta p. 47-54.
- Lavilla-Pitogo, C. R.; Leano, M. G. Paner. 1998. Mortalities of Pond-Cultured Juvenile Shrimp, *Penaeus monodon*, Associated with Dominance of Luminescent Vibrios in the Rearing Environment. *J. Aquaculture*. 164 (1998): 337-349.
- Maeda, M., K. Nogami. 1989. *Some Aspect of the Biocontrolling Method in Aquaculture*. 395-398. In Miyachi S., I. Karube and Y. Ishida (eds); *Current Topics in Marine Biotechnology*. Japan Soc. Mar. Biotechnol. Tokyo.
- Moriarty, D. J. W. 1998. Control of Luminous *Vibrio* Species in Penaeid Aquaculture Ponds. *J. Aquaculture*. 164 (1998): 351-358.
- Muliani,. E. Suryati, A. Tenriulo, dan B. R. Tampangallo, 2004. Efektifitas Ekstrak Mangrove *Osbornia octodanta* pada Budidaya Udang Windu *Penaeus monodon*. Dalam A. Irianto (ed), *Prosiding. Pengendalian Penyaki Pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity*. Purwokerto. P. 60-66.
- Pelczar, M. Dan E. C. S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerjemah Hardioetomo, Imas, Tjirosomo, Angka. Penerbit Universitas Indonesia Press. Jakarta. 433 h.
- Rengpipat, S., W. Phranphak., S. Piyatirtitivorakul., P. Menasveta. 1998. Effects Probiotic Bacterium On Black Tiger Shrimp *Penaeus monodon* Survival and Growth. *J. Aquaculture* 167: 301-313.
- Tjahyadi, M. R. 1994. *Bakteri Penghambat Vibrio harveyi Untuk Menanggulangi Penyakit Berpendar pada Larva Udang Windu (Penaeus monodon Fab)*. Skripsi IPB. P. 77.
- Sugita, H. Y. Hirose, N. Matsuo, and Y. Deguchi. 1998. Production of the Antibacterial Substance by *Bacillus* sp strain NM 12, an Intestinal bacterium of Japanese Coastal Fish. *J. Aquaculture* 165: 269-280.
- Salosso, Y; M. Atmomarsono dan A. Tahir. 2004. Pengaruh Perbedaan Kepadatan Bakteri Probiotik *Bacillus subtilis* dan Salinitas Terhadap Sintasan PascaLarva Udang Windu (*Penaeus monodon*) Setelah Diuji Tantang

dengan *Vibrio harveyi* dalam A. Irianto (ed), *Prosiding. Pengendalian Penyakit pada Ikan dan Udang Berbasis Imunisasi dan Biosecurity*. Purwokerto. P. 144-148.

Vandenberghe, J; L. Verdonck; R. Robles-Arozarena; G. Rivera; A. Gil; J. Calderon; P.

Sorgeloos; J. Swings. Vibrios Associated with *Litopenaeus vannamei* Larvae, Postlarvae, Broodstock. And Hatchery Probiotics, *J. Applied and Environmental Microbiology*. 65 (6): 2592-2597.