

## Isolasi bakteri probiotik asal terumbu karang untuk pengendalian vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*)

### Isolation of probiotics bacterium from coral reef for controlling vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae

Ade Dwi Sasanti<sup>1</sup>, Widanarni<sup>2\*</sup>, Sukenda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya

<sup>2</sup>Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

\*Email: widanarni@yahoo.com

#### ABSTRACT

Pathogenic *Vibrio*, especially luminous *Vibrio harveyi*, could cause mass mortality in tiger shrimp culture. One of the technique to work against luminous *Vibrio* is, using probiotic bacteria to inhibit the luminous *Vibrio* growth. This study was carried out to obtain bacteria isolates from coral reef which potentially inhibit *V. harveyi* growth. A total of 110 isolates were isolated from *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecilophora* sp., *Porites* sp and *Haliophora* sp., and have probiotic activity against *V. harveyi* in *in vitro* and *in vivo* test. Of the total 110 isolates, 54 isolates show the inhibiting zone. Two isolates (8A and 1C) were not pathogenic and have the most effective activity in inhibiting growth of *V. harveyi* and significantly reduced larval mortality in *in vitro* and *in vivo* test. Treatment using probiotics candidate have significant different survival rate (83.33%) compared with positive control (61.67%). The growth rate of length of larvae treatment with isolate of 8A (5.25%) and 1C (5.06%) show the significant different compared with positive control (3.54%). The growth rate of weight of larvae treatment with isolate of 8A (17.51%) and 1C (17.61%) show significant different compared with negative (15.27%) and positive control (14.69%).

Keywords: coral reef, probiotic, tiger shrimp, vibriosis, *V. harveyi*.

#### ABSTRAK

*Vibrio* patogen, khususnya *Vibrio harveyi* berpendar, dapat menyebabkan kematian massal pada budidaya udang windu. Salah satu alternatif untuk menghambat *Vibrio harveyi* berpendar adalah dengan menggunakan bakteri probiotik yang dapat menekan pertumbuhan *Vibrio* tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri dari terumbu karang yang potensial menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Total 110 isolat diisolasi dari *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecilophora* sp., *Porites* sp. dan *Haliophora* sp., dilakukan penapisan untuk melihat aktivitas kemampuannya melawan *V. harveyi* MR 5339 Rf<sup>R</sup> dalam uji *in vitro* dan uji *in vivo*. Sebanyak 54 isolat teridentifikasi mampu menghasilkan zona hambat. Dua isolat (8A dan 1C) terbukti tidak bersifat patogen dan memiliki aktivitas probiotik melawan *V. harveyi* MR 5339 Rf<sup>R</sup> pada uji *in vitro* dan *in vivo*. Tingkat kelangsungan hidup larva pada perlakuan yang diberi kandidat probiotik dari kedua isolat tersebut adalah 83,33%, dan menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol positif (61,67%). Laju pertumbuhan panjang larva yang diberi isolat 8A (5,25%) dan 1C (5,06%) menunjukkan hasil yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan kontrol positif (3,54%). Laju pertumbuhan bobot yang diberi isolat 8A (17,51%) dan 1C (17,61%) menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap kontrol negative (15,27%) dan kontrol positif (14,69%).

Kata kunci: probiotik, terumbu karang, udang windu, *V. harveyi*, vibriosis.

#### PENDAHULUAN

Vibriosis merupakan penyakit infeksius yang dapat menyerang udang pada berbagai stadia mulai dari nauplius, zoea, mysis dan post larva di panti benih hingga udang dewasa di tambak pembesaran (Saulnier *et al.* 2000). Penyakit ini disebabkan oleh

infeksi bakteri *Vibrio* berpendar (*luminescent Vibrio*), yang diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi* pathogen (Suwanto *et al.* 1998; Abraham & Palaniappan, 2004). *Vibrio harveyi* diketahui merupakan jenis mikroflora normal yang dapat ditemukan dari berbagai sumber seperti dari udang sakit dan sehat (Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990;

Vandenberghé *et al.*, 2003), dan dari sedimen (Vandenberghé *et al.*, 2003). Salah satu alternatif pencegahan vibriosis adalah dengan menghambat pertumbuhan *V. harveyi* menggunakan bakteri probiotik. Dalam hal ini bakteri probiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui produksi senyawa antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain (Vijayan *et al.*, 2006; Lategan *et al.*, 2006).

Sumberdaya laut yang diduga menyimpan potensi sebagai sumber bakteri probiotik adalah terumbu karang. Terumbu karang merupakan suatu ekosistem yang memiliki keragaman mikroorganisme lebih tinggi dibandingkan air laut dan sedimen laut (Rheinheimer, 1991). Fine dan Loya (2002) dalam Reshef *et al.* (2006) menyatakan bahwa jumlah bakteri terbanyak terdapat pada jaringan terumbu karang setelah dipisahkan dari lapisan mukusnya melalui sentrifugasi. Radjasa (2004) menyatakan bahwa terdapat interaksi antara mikroba *indigenous* dengan mikroba kompetitif yang berasosiasi pada terumbu karang. Mikroba *indigenous* diduga memiliki kemampuan produksi metabolit sekunder yang mampu membuatnya tetap bertahan hidup melawan mikroba kompetitor pada terumbu karang. Koch (1997) dalam Reshef *et al.* (2006) menyatakan bahwa bakteri *indigenous* mampu mencegah infeksi oleh patogen dengan mengkolonisasi permukaan jaringan karang dan dengan memproduksi bahan anti bakteri.

Dengan mengisolasi bakteri asal terumbu karang diharapkan dapat ditemukan bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* patogen pada larva udang windu. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri probiotik asal terumbu karang dengan metode Kirby-Bauer dan mempelajari efektivitas isolat potensial tersebut dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* patogen pada larva udang windu.

## BAHAN DAN METODE

### Isolasi bakteri dari terumbu karang

Sampel terumbu karang berasal dari perairan di sekitar Pulau Jukung, Kepulauan Seribu. Identifikasi terumbu karang yang

diperoleh dilakukan berdasarkan metode Veron (1986). Terumbu karang yang digunakan berasal dari jenis *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecilophora* sp., *Porites* sp. dan *Haliophora* sp. Sampel dari jaringan terumbu karang ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dibilas dengan air laut steril 1-2 kali untuk mencegah kontaminan, lalu digerus menggunakan mortar steril. Sampel kemudian disebar pada media SWC-agar (5 g *bactopeptone*, 1 g *yeast extract*, 3 ml gliserol, 15 g agar, 750 ml air laut, dan 250 ml akuades), lalu diinkubasi pada suhu ruang (28-31°C) selama 24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian dipilih untuk uji *in vitro*. *V. harveyi* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *V. harveyi* MR5339Rf<sup>R</sup> yang diisolasi dari udang sakit dan merupakan koleksi dari Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros, Sulawesi Selatan dan telah diuji bersifat patogen pada larva udang windu.

### Uji *in vitro* bakteri kandidat probiotik

Isolat murni hasil isolasi dari terumbu karang diuji daya hambatnya terhadap *V. harveyi*MR5339 Rf<sup>R</sup> secara *in vitro* dengan metode Kirby-Bauer yakni dengan mengamati diameter zona hambat pada media SWC agar. Biakan cair *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> dan isolat kandidat probiotik (umur 24 jam) diencerkan hingga memiliki tingkat kekeruhan yang sama dengan konsentrasi biakan dalam suspensi sekitar 10<sup>9</sup> sel/ml. Sebanyak 50µl *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> disebar pada media SWC-agar lalu kertas cakram (*Whatman antibiotic assay paper*) berdiameter 6 mm ditaruh di atasnya dan ditetesi suspensi bakteri kandidat probiotik sebanyak 10 µl. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, zona bening yang dihasilkan diukur menggunakan penggaris pada tiga posisi dari setiap kertas cakram, kemudian hasil pengukurannya dirata-ratakan.

### Uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik

Lima isolat yang menunjukkan aktivitas penghambatan terbesar terhadap *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> diuji patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Lima isolat tersebut

masing-masing ditumbuhkan pada media SWC-cair di dalam inkubator bergoyang selama 10 jam pada suhu ruang. Selanjutnya suspensi biakan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Pelet sel yang terbentuk kemudian diresuspensikan dalam larutan fisiologis, dan ditambahkan pada media pemeliharaan larva udang hingga mencapai kepadatan  $10^6$  CFU/ml. Larva udang yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari panti benih di daerah Anyer, Banten yang memiliki panjang rata-rata sekitar 7,00 mm dan bobot rata-rata sekitar 0,8 mg. Larva dipelihara dalam stoples yang diisi air laut steril 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/l dan diberi pakan *Artemia*. Patogenisitas diamati melalui kematian larva selama 5 hari pemeliharaan dan dibandingkan dengan kontrol, yakni perlakuan tanpa penambahan bakteri kandidat probiotik.

#### **Pembuatan mutan bakteri kandidat probiotik**

Pemberian penanda resisten rifampisin ( $Rf^R$ ) pada bakteri kandidat probiotik dilakukan melalui mutasi spontan dengan menumbuhkan bakteri tersebut pada media SWC-agar yang telah mengandung rifampisin 50  $\mu\text{g/ml}$  (SWC+ $Rf$ ). Pemberian penanda  $Rf^R$  pada bakteri probiotik dimaksudkan agar keberadaan bakteri tersebut pada larva udang dan lingkungan pemeliharaannya dapat dimonitor.

#### **Uji *In Vivo* bakteri kandidat probiotik**

Dua isolat yang menunjukkan tingkat kelangsungan hidup tertinggi pada uji patogenisitas, kemudian diuji efektivitasnya dalam menghambat serangan *V. harveyi* MR5339  $Rf^R$  pada larva udang. Isolat yang digunakan dalam uji *in vivo* merupakan isolat tipe mutan, yaitu mutan isolat 8A dan 1C. Larva udang dipelihara dalam stoples yang diisi air laut steril sebanyak 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/liter. Setelah kokultivasi selama 6 jam, *V. harveyi* MR5339  $Rf^R$  ditambahkan ke dalam stoples hingga mencapai konsentrasi akhir  $10^6$  CFU/ml (Widanarni *et al.*, 2003). Percobaan dilakukan dengan empat perlakuan meliputi pemberian kandidat probiotik tipe mutan (8A dan 1C), kontrol positif (hanya diinokulasi *V.*

*harveyi* MR5339  $Rf^R$ ), dan kontrol negatif (tanpa penambahan *V. harveyi* MR5339  $Rf^R$  dan kandidat probiotik). Semua percobaan dilakukan sebanyak tiga ulangan. Pengamatan dilakukan selama 12 hari meliputi tingkat kelangsungan hidup (SR) larva udang dan populasi bakteri. Pengamatan populasi bakteri dilakukan setiap tiga hari, baik yang terdapat pada larva udang maupun pada media airnya. Selama percobaan larva diberi pakan *Artemia* sebanyak 3-5 individu/ml. Jumlah larva udang yang mati dicatat setiap harinya dan nilai SR akhir dihitung menggunakan rumus Effendie (1997). Laju pertumbuhan larva udang juga dihitung berdasarkan pertambahan bobot dan panjang dengan rumus Effendie (1997).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Isolasi bakteri kandidat probiotik**

Bakteri kandidat probiotik yang berhasil diisolasi dari terumbu karang berjumlah 110 isolat. Sebanyak 43 isolat berasal dari *Acropora* sp., 9 isolat dari *Merulina* sp., 12 isolat dari *Hystrix* sp., 14 isolat dari *Poecilophora* sp., 22 isolat dari *Porites* sp. dan 10 isolat dari *Haliophora* sp.

Sebanyak 82 isolat termasuk golongan *Vibrio* sp dan 28 isolat dari golongan non *Vibrio*. Koloni 82 isolat *Vibrio* berwarna kuning pada media TCBS-agar, tidak berpendar dan bersifat menyebar pada media SWC-agar, sedangkan 17 isolat non *Vibrio* menghasilkan koloni berwarna krem dan 11 isolat menghasilkan koloni berwarna putih pada media SWC-agar.

Terdapat 54 isolat yang mampu menghasilkan zona hambatberkisar antara 8–15 mm (Tabel 1). Ada lima isolat yang menghasilkan zona hambat terbesar, yaitu isolat 1C dan 8A yang diisolasi dari *Acropora* sp., isolat 11D dan 11K yang diisolasi dari *Hystrix* sp., dan isolat 13I yang diisolasi dari *Poecilophora* sp. Radjasa *et al.* (2004) berhasil mengisolasi TAB4.2 dari *Acropora* sp. yang menghasilkan zona hambat 11,75 mm saat uji *in vitro* dengan *V. harveyi*. TAB4.2 diidentifikasi sebagai *Pseudoal-teromonas* dan menghasilkan metabolit sekunder berupa polipeptida.

Verschuere *et al.* (2000) menyatakan bahwa populasi mikroba dapat melepaskan substansi kimia yang memiliki kemampuan bakterisidal atau bakteriostasis yang dapat mempengaruhi populasi mikroba lain. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain dikarenakan satu atau kombinasi dari beberapa faktor seperti: produksi antibiotik, bakteriosin, *siderophores*, *lysozymes*, protease dan atau hidrogen peroksida atau mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik tertentu.

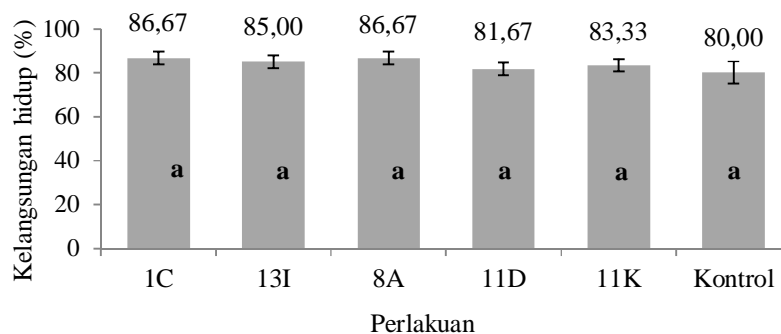
### Patogenisitas bakteri kandidat probiotik

Lima isolat yang menghasilkan zona hambat terbesar, yaitu isolat 1C, 8A, 13I, 11D dan 11K merupakan isolat yang potensial sebagai kandidat probiotik,

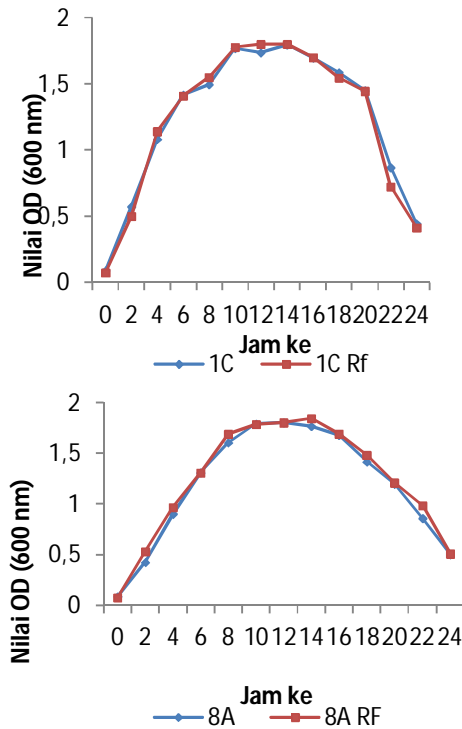
sehingga dilanjutkan untuk menguji patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Hasil yang ada memperlihatkan semua bakteri kandidat probiotik yang diuji tergolong tidak bersifat patogen terhadap larva udang windu pada kepadatan  $10^6$  CFU/ml. Hal ini dapat diketahui dengan melihat persentase tingkat kelangsungan hidup pada semua perlakuan tidak berbeda nyata dengan kontrol dan isolat yang memperlihatkan nilai tingkat kelangsungan hidup tertinggi adalah isolat 1C dan 8A (Gambar 1). Morfologi koloni mutan maupun pola pertumbuhan dari isolat 1C dan 8A (Gambar 2) sama dengan tipe liarnya, sehingga mutan tersebut dapat digunakan untuk mengamati penghambatan pertumbuhan *V. harveyi*MR5339 Rf<sup>R</sup> oleh bakteri kandidat probiotik pada larva udang.

Tabel 1. Zona hambat yang dihasilkan oleh bakteri kandidat probiotik.

No.	Kode isolat	Zona hambat (mm)	No.	Kode isolat	Zona hambat (mm)	No.	Kode isolat	Zona hambat (mm)
1	<b>Acp 1C</b>	<b>13,8</b>	19	Acp 5D	8,0	37	Fol 7A2	11,0
2	Acp 1D	10,0	20	Acp 5E	10,0	38	Hal 9B	11,0
3	Acp 1F	8,0	21	Acp 5F	10,0	39	Hal 9C	10,0
4	Acp 1G	8,0	22	Lam 4B	10,0	40	Hal 9E	8,0
5	Acp 1H	8,0	23	Lam 4C	9,0	41	Hal 9G	8,0
6	Acp 3A	9,0	24	Lam 4D	9,0	42	Hal 9I	8,0
7	Acp 3B	8,0	25	Lam 4E	9,0	43	Acp 13A	10,0
8	Acp 3E	8,0	26	Lam 4G	9,0	44	Acp 13C	8,3
9	Acp 2B	8,0	27	Lam 4H	9,0	45	<b>Acp 13I</b>	<b>15,0</b>
10	Acp 2C	10,0	28	Lam 4I	9,0	46	<b>Acp 11D</b>	<b>12,5</b>
11	Acp 2D	9,0	29	Lam 4J	8,0	47	Acp 1H1	9,0
12	Acp 2E	9,0	30	Acp 6D	8,0	48	<b>Acp 11K</b>	<b>12,5</b>
13	Acp 2F	8,0	31	Acp 6E	8,0	49	Hal 12A	8,0
14	Acp 2G	8,0	32	Acp 6F	8,0	50	Hal 12B	9,1
15	Acp 2H	11,0	33	Acp 6G	11,0	51	Hal 12C	10,0
16	<b>Acp 8A</b>	<b>12,4</b>	34	Fol 7H	9,2	52	Hal 12A2	10,0
17	Acp 8E	8,0	35	Fol 7I	8,0	53	Hal 12A3	11,0
18	Acp 5C	8,0	36	Fol 7A1	8,0	54	Hal 12C2	8,0



Gambar 1. Kelangsungan hidup larva udang windu pada uji patogenisitas.



Gambar 2. Perbandingan pertumbuhan bakteri kandidat probiotik resisten rifampisin dengan tipe liarnya.

### Keberhasilan dua isolat bakteri kandidat probiotik

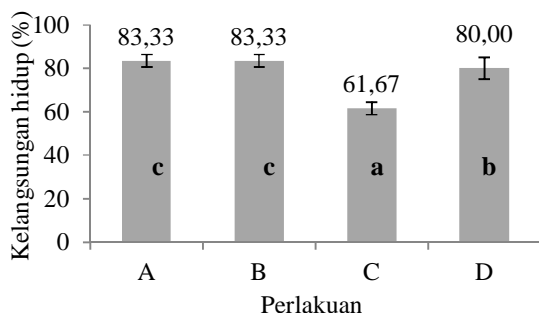
Hasil uji *in vivo* dua isolat tersebut secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dapat meningkatkan kelangsungan hidup larva udang sebesar 83,33% dibandingkan dengan kontrol positif yang hanya sebesar 61,67% (Gambar 3). Peningkatan nilai kelangsungan hidup larva diduga karena adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> pada larva udang oleh bakteri probiotik. Hal tersebut ditunjukkan oleh jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> pada perlakuan dengan penambahan probiotik lebih rendah dibanding kontrol positif, baik pada air pemeliharaan (Gambar 4) maupun pada larva hidup (Gambar 5). Muliani *et al.* (2003) juga melaporkan bahwa populasi *Vibrio harveyi* MR5339 pada media pemeliharaan larva udang windu jauh lebih rendah pada perlakuan penambahan bakteri kandidat probiotik BL542 dibandingkan dengan penambahan bakteri kandidat probiotik

lainnya maupun tanpa penambahan kandidat probiotik.

Kedua isolat yang digunakan berasal dari terumbu karang, dimana hewan-hewan karang itu sendiri dapat menghasilkan bahan aktif anti bakteri atau hidup berasosiasi dengan mikroba yang menghasilkan bahan aktif anti bakteri (Proksch 2000; Webster *et al.* 2001; Lee *et al.* 2001). Dengan demikian penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> di tubuh udang pada penelitian ini diduga berasal dari aktivitas bahan aktif yang dihasilkan oleh isolat tersebut.

Penurunan jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> pada air pemeliharaan hingga  $10^3$ CFU/ml terjadi pada hari kedua dan sudah tidak terdeteksi lagi keberadaannya pada hari keenam. Jumlah sel bakteri kandidat probiotik rata-rata menurun pada hari kedua ( $10^4$ CFU/ml) dan tidak terdeteksi lagi pada hari keenam (Gambar 5). Adanya penurunan jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> dan lebih tingginya jumlah sel bakteri probiotik menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> oleh bakteri probiotik.

Jumlah sel bakteri probiotik pada larva hidup (Gambar 6), hingga hari kedua perlakuan, masih lebih tinggi ( $10^4$  CFU/larva) bila dibandingkan jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> ( $10^1$  CFU/larva). Hal ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> oleh bakteri probiotik. Pada hari keempat bakteri probiotik tidak dapat dideteksi lagi keberadaannya di tubuh udang. Dengan demikian terjadi penurunan jumlah bakteri probiotik di media pemeliharaan sehingga terjadi pula penurunan jumlah sel bakteri probiotik di tubuh udang hingga tidak terdeteksi lagi pada hari keempat. Penurunan populasi bakteri probiotik disebabkan oleh frekuensi pemberian probiotik yang hanya dilakukan pada awal pemeliharaan. Widanarni *et al.* (2009) menyatakan bahwa pemberian probiotik SKT-b secara berkala yaitu pada setiap pergantian stadia mampu menghasilkan kelangsungan hidup terbaik pada larva udang windu.

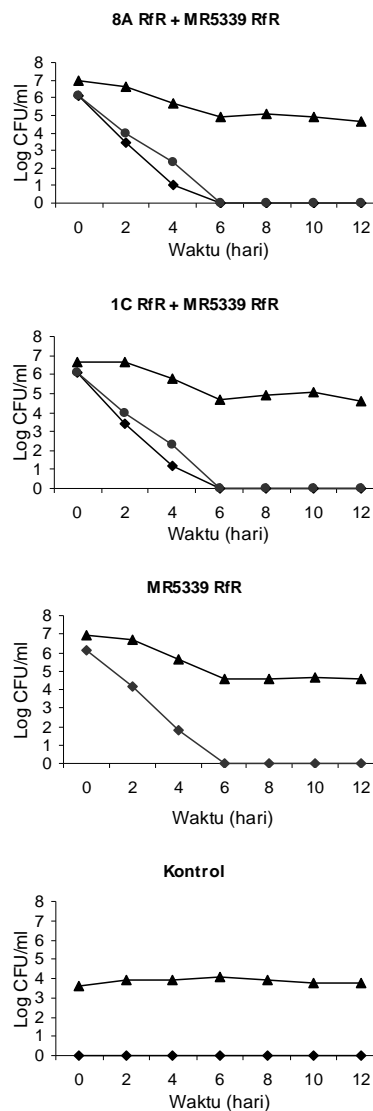


Gambar 3. Kelangsungan hidup larva udang windu yang diberi bakteri probiotik pada uji *in vivo*. A: 8A Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, B: 1C Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, C: MR5339 Rf<sup>R</sup>, D: Kontrol. Huruf berbeda pada bar menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ).

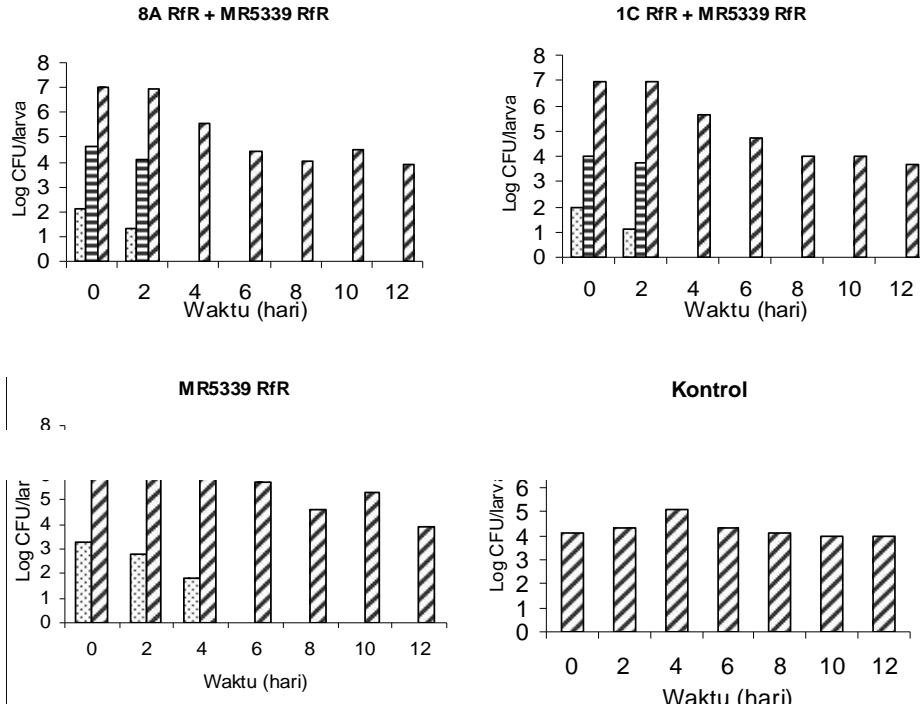
Rerata jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> yang mengkolonisasi larva mati berkisar antara  $10^3$ - $10^4$  CFU/larva (Gambar 6). Pada penelitian Widanarni (2003) dan Hala *et al.* (2002) jumlah *V. harveyi* yang ditemukan pada larva yang mati berkisar antara  $10^2$ - $10^4$  CFU/larva. Populasi *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> pada larva mati dengan perlakuan penambahan bakteri probiotik, baik tipe liar maupun mutan ( $10^2$  CFU/larva) lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan tanpa probiotik ( $10^3$  CFU/larva). Pada perlakuan tanpa probiotik, populasi *V. harveyi* mendekati populasi *V. harveyi* pada larva mati ( $10^3$ - $10^4$  CFU/larva). Hal ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* oleh bakteri probiotik.

Larva udang yang diberi probiotik memiliki nilai pertumbuhan panjang lebih besar (5,06% dan 5,25%) dibandingkan dengan perlakuan tanpa probiotik (3,54% dan 4,30%) (Gambar 7). Demikian pula pertumbuhan bobot menunjukkan hasil yang signifikan setelah diuji statistik ( $P < 0,05$ ) jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa pemberian probiotik (Gambar 8). Diduga pada perlakuan tanpa penambahan probiotik, larva udang membutuhkan energi lebih besar untuk mengatasi *V. harveyi*. Pada perlakuan penambahan probiotik, bakteri probiotik menghambat pertumbuhan populasi *V. harveyi*. Dengan demikian pada perlakuan penambahan probiotik, larva udang dapat memanfaatkan energi untuk tumbuh lebih banyak dibanding pada perlakuan tanpa

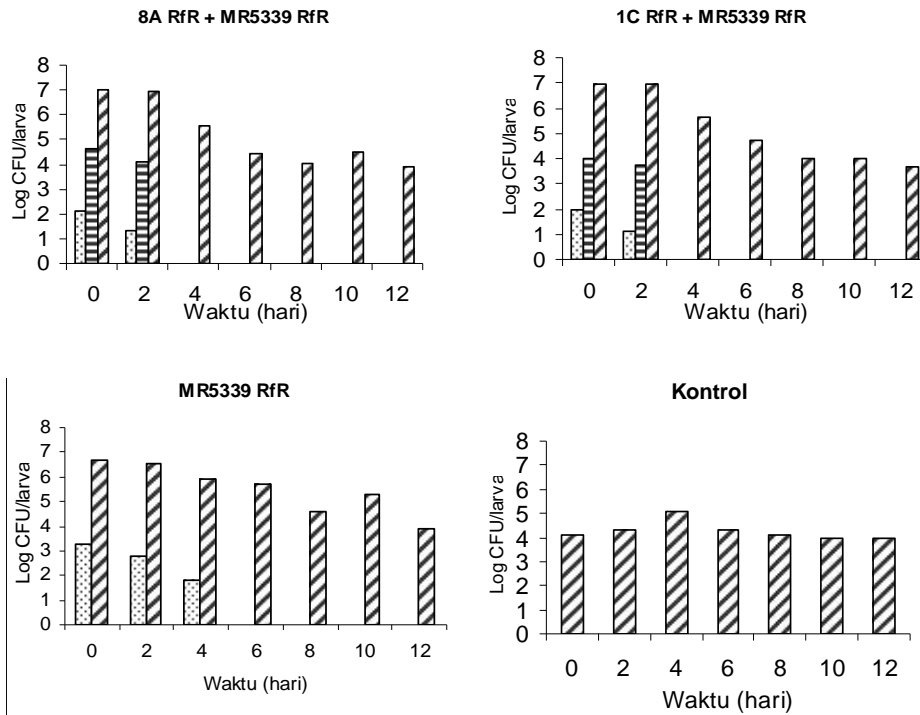
probiotik. Nejad *et al.* (2006), melaporkan bahwa pemberian probiotik *Bacillus* melalui media pemeliharaan menunjukkan peningkatan yang signifikan terhadap aktivitas enzim pencernaan (amilase, protease, dan lipase), laju pertumbuhan bobot, dan tingkat kelangsungan hidup pada udang *Fenneropenaeus indicus* jika dibandingkan dengan kontrol.



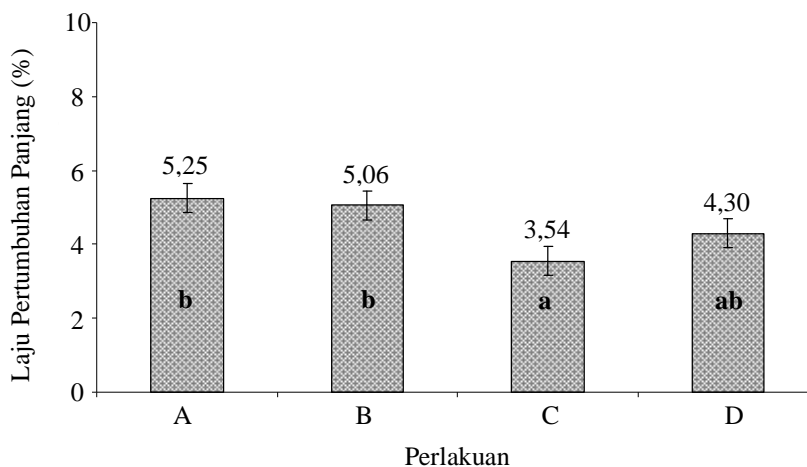
Gambar 4. Jumlah bakteri probiotik, *Vibrio harveyi* dan total bakteri pada air media pemeliharaan larva udang windu yang diberi bakteri kandidat probiotik tipe mutan. Keterangan:  $\blacklozenge$  = *v.harveyi*  $\bullet$  = Probiotik  $\blacktriangle$  = Total bakteri.



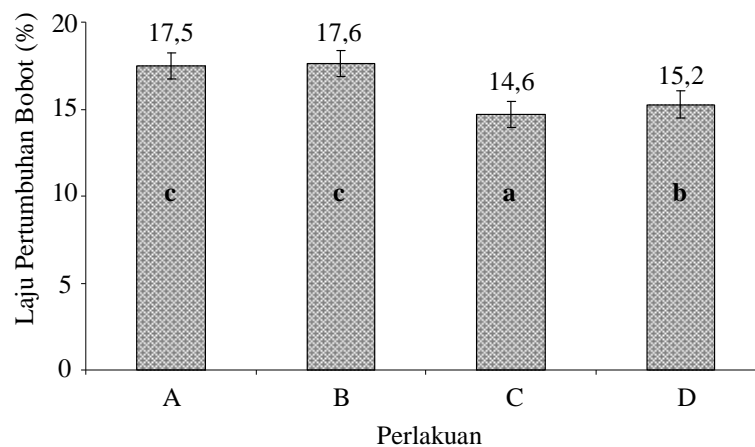
Gambar 5. Jumlah bakteri probiotik, *Vibrio harveyi* dan total bakteri pada larva hidup yang diberi bakteri kandidat probiotik. Keterangan: ▨ = v. harveyi ▩ = Probiotik ▧ = Total bakteri.



Gambar 6. Jumlah bakteri probiotik, *Vibrio harveyi* dan total bakteri pada larva mati yang diberi bakteri kandidat probiotik tipe mutan. Keterangan: ▨ = v. Harveyi ▩ = Probiotik ▧ = Total bakteri ▩ = Larva mati.



Gambar 7. Pertumbuhan panjang larva udang windu yang diberi bakteri kandidat probiotik. A: 8A Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, B: 1C Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, C: MR5339 Rf<sup>R</sup>, D: Kontrol.



Gambar 8. Pertumbuhan bobot larva udang windu yang diberi bakteri kandidat probiotik. A: 8A Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, B: 1C Rf<sup>R</sup> + MR5339 Rf<sup>R</sup>, C: MR5339 Rf<sup>R</sup>, D: Kontrol.

## KESIMPULAN

Dua isolat, yaitu 8A dan 1C yang diisolasi dari *Acropora* sp., potensial menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada larva udang. Tingkat kelangsungan hidup larva udang pada perlakuan penambahan kedua isolat tersebut adalah 83,33%, dan berbeda nyata dengan kontrol positif yang hanya diinfeksi *V. harveyi* MR5339 Rf<sup>R</sup> dengan tingkat kelangsungan hidup sebesar 61,67%. Pertumbuhan panjang larva yang diberi kandidat probiotik 8A (5,25%) dan 1C (5,06%) menunjukkan hasil yang secara signifikan berbeda dengan kontrol positif (3,54%). Pertumbuhan bobot juga

menunjukkan hasil yang signifikan berbeda untuk penambahan isolat 8A (17,51%) dan 1C (17,61%) jika dibandingkan dengan kontrol positif (14,69%).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, T.J., Palaniappan, R. 2004. Distribution of luminous bacteria in semi-intensive penaeid shrimp hatcheries of Tamil Nadu, India. *Aquaculture* 232, 81-90.
- Eleonor, A.T., Leober, D. de la P. 2001. Antibiotic resistance of bacteria from shrimps ponds. *Aquaculture* 195, 193-204.



- Fuller, R. 1992. History and Development of Probiotics. Di dalam: Fuller R, editor. *Probiotics the Scientific Basis*. London: Chapman and Hall. hlm 1-8.
- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J. 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 233, 1-14.
- Hala, Y., Suwanto, A., Affandi, R., Zairin, M.Z. 2002. Adherence and pathogenicity assay of *Vibrio harveyi* in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae for screening biocontrol agent. *Biotropia* 18, 8-51.
- Lategan, M.J., Booth, W., Shimmon, R., Gibson, L.F. 2006. An inhibitory substance produced by *Aeromonas media* A199 an aquatic probiotic. *Aquaculture* 254, 115-124.
- Lavilla-Pitogo, C.R., Baticados, L.L., Cruz, Laciarda, E.R., de la Pena, L.D. 1990. Occurrence of luminous bacterial diseases of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture* 91, 1-13.
- Lee, Y.K., Lee, J.H., Lee, H.K. 2001. Microbial symbiosis in marine sponge. *J. Microbiol* 39, 254-264.
- Marchesi *et al.* 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 64, 795-799.
- Muliani, Suwanto, A., Hala, Y. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal Laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabb). *Hayati* 10, 6-11
- Proksch, P. 2000. Bioactive natural products from marine invertebrates and associated microorganisms. *Proc. Int. Symposium on Marine Biotechnology*. Jakarta, 29-31 Mei 2000.
- Radjasa, O.K. 2004. Marine invertebrate associated bacteria in coral reef ecosystems as a new source of bioactive compounds. *Journal of Coastal Development* 7(2), 65-70.
- Radjasa, O.K., Torben, M., Thorsten, B., Hans-Peter, G., Agus, S., Meinhard, S. 2004. Antibacterial Activity of secondary metabolite producing coralbacterium TAB4.2 against pathogenic *Vibrio harveyi*. *Prosiding Pengendalian Penyakit pada ikan dan Udang berbasis Imunisasi dan Biosecurity*, Purwokerto, 18-19 Mei 2004.
- Reshef, L., Koren, O., Loya, Y., Rosenberg I. Z., Rosenberg, E. The coral probiotic hypothesis. *Environmental Microbiology* 8(12), 2068-2073.
- Rheinheimer, G. 1991. *Aquatic Microbiology* 4<sup>th</sup> edition. John Wiley & Sons. London.
- Saulnier, D., Haffner, P., Goarant, C., Levy, P., Ansquer, D. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture* 191, 133-144.
- Suwanto, A., Yuhana, M., Herawaty, E., Angka, S.L. 1998. Genetic diversity of luminous *Vibrio* isolated from shrimp larvae. Di dalam: Flegel TW, editor. *Advances Shrimp Biotechnology*. Proceedings to the special session on shrimp biotechnology, 5<sup>th</sup> Asian Fisheries forum; Chiangmai, Thailand, Bangkok; National Center for Genetic engineering and Biotechnology. Hlm 217-224.
- Vandenbergh, J., Thompson, F.L., Gomez-Gill, B., Swings, J. 2003. Phenotypic diversity amongst *Vibrio* isolates from marine aquaculture systems. *Aquaculture* 219, 9-20.
- Vaseharan, B., Ramasamy, P. 2003. Control of pathogenic *Vibrio* spp. by *Bacillus subtilis* BT23, a possible probiotic treatment for black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Appl. Microbiol.* 36, 83-87.
- Veron, J.E.N. 1986. *Coral of Australia and the indo pacific*. Angus & Roberts. Australia.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64(4), 655-671.
- Vijayan, K.K. *et al.* 2006. A brackishwater isolate of *Pseudomonas* PS-102, a potential antagonistic bacterium against pathogenic vibrios in penaeid and non-penaeid rearing system. *Aquaculture* 251, 192-200.
- Webster NS, Wilson KJ, Blackall LL, Hill RT. 2001. Phylogenetic diversity of bacteria associated with the marine

- sponge *Rhopaloides odorabile*. Appl. Environ. Microbiol. 67, 434-444.
- Widanarni. 2003. Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. Biotropia 20, 11-23.
- Widanarni. 2009. Pengaruh pemberian bakteri probiotik *Vibrio* SKT-b pada stadia yang berbeda terhadap kelangsungan hidup larva udang windu *Penaeus monodon*. Jurnal Akuakultur Indonesia 8, 149-157.