

Penapisan bakteri probiotik asal terumbu karang dengan metode kultur bersama untuk pengendalian vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*)

Screening of probiotics bacteria from coral reef using co-culture method for controlling vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae

Ade Dwi Sasanti^{1*}, Widanarni², Sukenda²

¹ Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya

Jl. Palembang - Prabumulih KM. 32 Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan 30662

² Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Kampus IPB Dramaga Bogor 16680

*email: sasanti.ade@gmail.com

ABSTRACT

This study was carried out to obtain bacteria isolates from coral reef using co-culture method which potentially inhibit *Vibrio harveyi* growth. A total of 110 isolates were isolated from *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecillophora* sp., *Porites* sp., and *Haliophora* sp., and were screened for their antagonistic activity against *V. harveyi* in *in vitro* and *in vivo* test. Five candidate probiotics (5H1 candidate probiotics isolated from *Acropora* sp., 11I and 11G isolates isolated from *Hystrix* sp. and 13B and 13G1 isolates isolated from *Poecillophora* sp., was able to inhibit growth of *V. harveyi* MR5339 RFR up to 10^1 – 10^2 cfu/mL. Two isolates (13B and 13G1) were not pathogenic at concentration 10^6 cfu/mL bacteria and could increase of survival rate of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae in *in vivo* test. Survival rate of tiger shrimp larvae that treatment with 13B and 13G1 were 86,67% and 88,33%, and have a significant different with positive control (61,67%). Partial sequencing of 16S-rRNA showed that 13G1 isolate was similar to *V. alginolyticus*.

Keywords: vibriosis, *Vibrio harveyi*, tiger shrimp, probiotic, coral reef

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri probiotik asal terumbu karang dengan metode kultur bersama untuk pengendalian penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Sebanyak 110 isolat berhasil diisolasi dari *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecillophora* sp., *Porites* sp., dan *Heliophora* sp. dan dilakukan penapisan untuk melihat aktivitas kemampuannya melawan *Vibrio harveyi* MR 5339 RfR dalam uji *in vitro* dan *in vivo*. Sebanyak 56 isolat menghasilkan daya hambat terhadap *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada metode kultur bersama. Lima isolat kandidat probiotik (isolate 5H1 diisolasi dari *Acropora* sp., isolat 11I dan 11G diisolasi dari *Hystrix* sp., serta isolat 13B dan 13G1 yang diisolasi dari *Poecillophora* sp.), mampu menekan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R hingga 10^1 – 10^2 cfu/mL. Kedua isolat (13B dan 13G1) terbukti tidak bersifat patogen pada konsentrasi 10^6 cfu/mL dan mampu meningkatkan sintasan larva udang windu pada uji *in vivo*. Nilai sintasan larva pada perlakuan yang diberi kandidat probiotik 13B dan 13G1 berturut-turut adalah 86,67% dan 88,33%, namun berbeda nyata dengan kontrol positif (61,67%). Hasil analisis sekuen sebagian gen 16S-rRNA menunjukkan bahwa isolat 13G1 termasuk spesies *V. alginolyticus*.

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

PENDAHULUAN

Budidaya komoditas laut skala besar sangat berkaitan dengan isu lingkungan sebagai konsekuensi dari peningkatan kegiatan budidaya yang pesat dan penerapan padat tebar yang tinggi. Pada kegiatan budidaya udang, hal ini berkorelasi dengan peningkatan kejadian penyakit (Reboucas *et*

al., 2011). Vibriosis merupakan salah satu penyakit pada udang yang dapat menyebabkan kematian massal dan menyerang udang pada berbagai stadia mulai dari nauplius, zoea, mysis, dan post larva di hatchery 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* (Abraham & Palaniappan, 2004) dan merupakan jenis bakteri yang dapat hidup bebas atau berasosiasi dengan organisme laut seperti ikan dan udang. Bila populasinya $>10^4$ cfu/mL dapat bersifat patogen bagi udang (Saulnier *et al.*, 2000) sehingga menyebabkan vibriosis.

Gullian *et al.* (2004) menyatakan bahwa populasi *V. harveyi* di udang dapat ditekan dengan cara mengintroduksi bakteri tertentu yang diisolasi dari hepatopankreas udang sehat. Populasi *V. harveyi* patogen digantikan oleh populasi bakteri lain yang menguntungkan bagi udang (Moriarty, 1998). Dalam hal ini, bakteri yang diberikan dapat menyubstitusikan keberadaan bakteri patogen melalui *competitive exclusion* (Fuller 1992; Verschuere *et al.*, 2000) atau dengan memproduksi senyawa antimikrob yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain (Vijayan *et al.*, 2006; Lategan *et al.*, 2006).

Bakteri yang digunakan sebagai probiotik dapat diisolasi dari air laut (Chytanya *et al.*, 1999), sedimen laut (Muliani, 2002) atau invertebrata laut seperti sponge (Suryati *et al.*, 2004). 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 maupun sedimen laut (Rheinheimer, 1991). Dengan mengisolasi bakteri asal terumbu karang diharapkan dapat ditemukan bakteri yang mampu menghambat kolonisasi dan pertumbuhan *V. harveyi* patogen pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri probiotik asal terumbu karang dengan metode kultur bersama dan mempelajari efektivitas isolat potensial tersebut dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* patogen pada larva udang windu.

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan uji *in vitro* bakteri kandidat probiotik

Sampel terumbu karang berasal dari perairan di sekitar pulau Jukung, Kepulauan Seribu. Terumbu karang yang digunakan

berasal dari jenis *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix* sp., *Poecilophora* sp., *Porites* sp., dan *Haliophora* sp. Sampel terumbu karang ditimbang sebanyak 1 g, dibilas air laut steril satu sampai dua kali untuk mencegah kontaminan, lalu digerus menggunakan mortar steril. Sampel kemudian disebar pada media SWC (sea water complete)-agar, diinkubasi pada suhu ruang (28–31 °C) selama 24 jam. Koloni yang tumbuh kemudian digunakan dalam uji *in vitro*.

V. harveyi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *V. harveyi* MR5339 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

Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri *V. harveyi* MR5339 Rf^R oleh bakteri kandidat probiotik diketahui dengan menggunakan metode kultur bersama. Setiap isolat kandidat probiotik hasil isolasi ditumbuhkan pada media SWC cair dengan kepadatan 10^2 cfu/mL, kemudian ditambahkan 10^2 cfu/mL *V. harveyi* MR5339 Rf^R (resisten rifampisin) pada tabung yang sama. Sebagai kontrol, sebanyak 10^2 cfu/mL *V. harveyi* MR5339 Rf^R ditumbuhkan pada tabung lainnya. Selanjutnya isolat diinkubasi selama semalam pada inkubator bergoyang, dengan suhu 28 °C. Hasil kultur selanjutnya disebar pada media SWC+Rf sehingga hanya *V. harveyi* yang tumbuh. Apabila *V. harveyi* pada tabung kontrol (tanpa isolat kandidat probiotik) tumbuh jauh lebih banyak dibandingkan dengan kultur campuran (*V. harveyi* dicampur dengan isolat kandidat probiotik), berarti isolat tersebut mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi*.

Uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik

Lima isolat yang menghasilkan efek penghambatan terbaik ditumbuhkan pada media SWC cair secara terpisah. Inkubasi dilakukan pada inkubator bergoyang selama semalam pada suhu ruang. Selanjutnya hasil kultur cair disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm. Pelet sel yang terbentuk kemudian

disuspensikan kembali dalam larutan fisiologis dan ditambahkan pada media pemeliharaan larva udang hingga mencapai konsentrasi akhir 10^6 cfu/mL. Larva dipelihara dalam stoples yang diisi air laut steril 2 L dengan kepadatan 10 ekor/L dan diberi pakan *Artemia*. Patogenisitas diamati melalui kematian larva selama lima hari pemeliharaan. Pada akhir percobaan dihitung tingkat kelangsungan hidup larva dan dibandingkan dengan kontrol, yakni perlakuan tanpa penambahan bakteri kandidat probiotik.

Pembuatan mutan bakteri kandidat probiotik

Dua isolat yang menghasilkan kelangsungan hidup terbaik pada uji patogenisitas, sebelum uji *in vivo* pada larva udang diberi penanda resisten rifampisin (Rf^R) terlebih dahulu. Pemberian penanda 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 kandidat probiotik yang paling potensial dan tidak bersifat patogen, diuji efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada larva udang. Isolat kandidat probiotik dengan dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan udang hingga mencapai konsentrasi akhir 10^6 cfu/mL sehari setelah larva udang dimasukkan. Setelah kokultivasi selama enam jam, *V. harveyi* MR5339 Rf^R ditambahkan hingga mencapai konsentrasi akhir 10^6 cfu/mL. Percobaan dilakukan dengan tiga ulangan termasuk kontrol (kontrol positif: hanya diinokulasi *V. harveyi* MR5339 Rf^R , dan kontrol negatif: tanpa inokulasi *V. harveyi* MR5339 Rf^R). Uji *in vivo* dilakukan selama 12 hari. Pada akhir percobaan dilakukan penghitungan kelangsungan hidup larva. Populasi bakteri baik dari larva udang maupun dari media

airnya diamati setiap tiga hari. Nilai SR larva udang dihitung menggunakan rumus Effendie (1997):

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan:

SR : tingkat sintasan/survival rate (%)

N_t : jumlah larva udang yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

N_0 : jumlah larva udang yang hidup pada awal pengamatan (ekor)

Sedangkan laju pertumbuhan larva udang dihitung berdasarkan pertambahan bobot dan panjang dengan rumus Effendie (1997):

$$\alpha = \left(\left[\sqrt[t]{\frac{W_t}{W_0}} - 1 \right] \times 100\% \right) \text{ dan}$$

$$\alpha = \left(\left[\sqrt[t]{\frac{L_t}{L_0}} - 1 \right] \times 100\% \right)$$

Keterangan:

α : laju pertumbuhan harian udang (%)

t : lama waktu pemeliharaan udang (hari).

W_t : bobot rata-rata akhir udang (mg)

W_0 : bobot rata-rata awal udang (mg)

L_t : panjang rata-rata akhir udang (mm)

L_0 : panjang rata-rata awal udang (mm)

Identifikasi isolat probiotik terpilih

Identifikasi isolat terpilih dilakukan berdasarkan hasil sekuensing gen 16S-rRNA (Marchesi *et al.*, 1998). Sekuensing gen 16S-rRNA terdiri dari tahapan ekstraksi DNA, amplifikasi gen 16S-rRNA dengan PCR (Suwanto, 2002), *gene clean* menggunakan *Gel/PCR DNA Fragments Extraction KIT* Geneaid dan sekuensing dengan mesin *Sequenser*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri dan uji *in vitro* bakteri kandidat probiotik

Terumbu karang yang diisolasi bakterinya terdiri dari enam jenis yaitu *Acropora* sp., *Merulina* sp., *Hystrix ceriatophora*, *Poecilophora* sp., *Porites* sp. dan *Haliophora* sp. Bakteri kandidat probiotik yang berhasil diisolasi dari terumbu karang ada 110 isolat, yaitu 43 isolat berasal dari *Acropora* sp., sembilan isolat dari *Merulina* sp., 12 isolat dari *Hystrix* sp., 14 isolat dari *Poecilophora* sp., 22 isolat dari *Porites* sp.,

dan 10 isolat dari *Heliophora* sp. Hasil identifikasi menunjukkan, 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.

Uji *in vitro* bakteri kandidat probiotik

Sebanyak 56 isolat menghasilkan daya hambat terhadap *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada metode kultur bersama. Lima isolat kandidat probiotik yaitu isolat 5H1 diisolasi dari *Acropora* sp, isolat 11I, dan 11G diisolasi dari *Hystrix* sp., serta isolat 13B, dan 13G1 yang diisolasi dari *Poecilophora* sp, mampu menekan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R hingga 10^1 – 10^2 cfu/mL (Gambar 1), sedangkan pada tabung kontrol populasi *V. harveyi* mencapai 7×10^8 cfu/mL. Isolat-isolat yang lain juga mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R meskipun dengan daya hambat yang berbeda-beda.

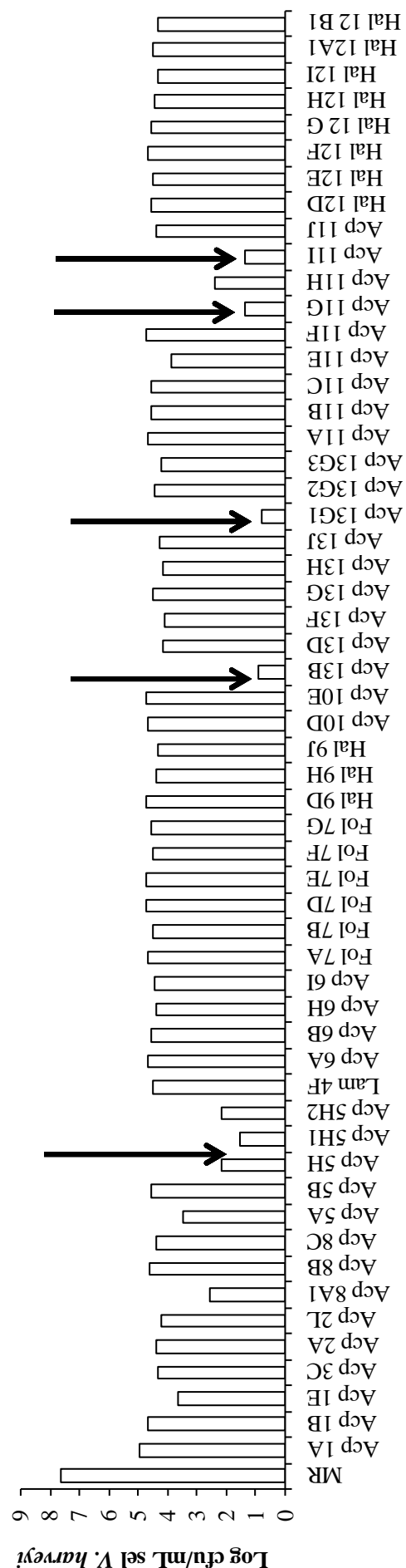
Hasil penelitian Riquelme *et al.* (1997) menunjukkan bahwa dari 57 isolat bakteri yang diisolasi dari air laut, tiga diantaranya (5%) potensial menghambat pertumbuhan *V. anguillarum*. Pada penelitian tersebut, isolat dengan kode SV1 yang tidak memperlihatkan adanya zona penghambatan pada uji *in vitro* ternyata juga dapat meningkatkan kelangsungan hidup kerang-kerangan pada uji *in vivo* (Riquelme *et al.*, 1997).

Uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik

Sebelum dilakukan uji *in vivo* pada larva udang, lima isolat yang potensial sebagai kandidat probiotik diuji patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Hasil yang ada memperlihatkan semua bakteri kandidat probiotik yang diuji tergolong tidak patogen. Hal ini dapat diketahui dengan melihat nilai kelangsungan hidup perlakuan yang tidak berbeda nyata dengan kontrol (Gambar 2).

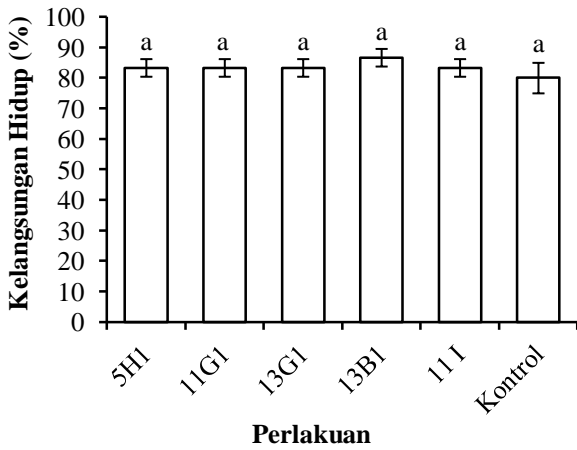
Mutan resisten rifampisin

Dua isolat terbaik hasil uji patogenisitas



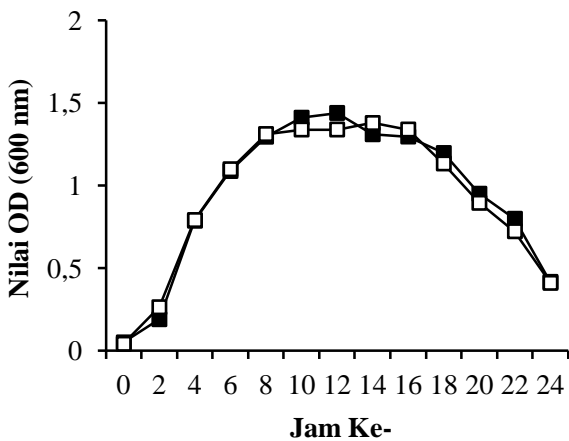
Isolat Kandidat Probiotik

Gambar 1. Penghambatan *Vibrio harveyi* MR5339 Rf^R oleh isolat bakteri kandidat probiotik.



Gambar 2. Kelangsungan hidup larva udang windu (*Penaeus monodon*) pada uji patogenesis.

yaitu 13B dan 13G1 dibuat mutan resisten rifampisin. Pola pertumbuhan antara tipe liar dengan mutannya disajikan pada Gambar 3 untuk isolat kode 13B dan pada Gambar 4 untuk isolat kode 13G1. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat yang dibuat resisten rifampisin atau tipe mutan memiliki morfologi koloni dan pola pertumbuhan yang sama dengan tipe liarnya. Dengan demikian, isolat mutan tersebut dapat digunakan untuk mengamati penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* oleh bakteri kandidat probiotik pada larva udang.

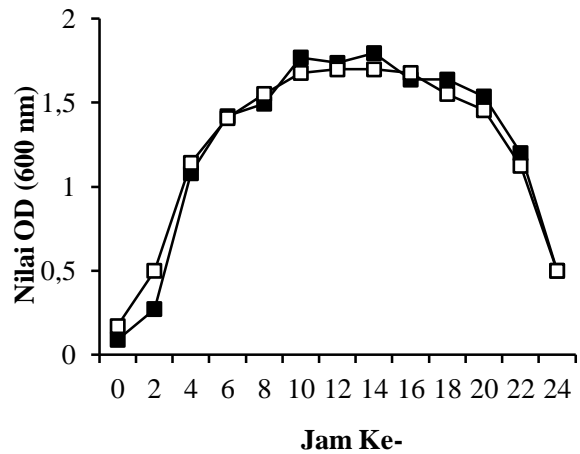


Gambar 3. Perbandingan pertumbuhan bakteri kandidat probiotik tipe liar (13B —■—) dengan resisten rifampisin (13BRf —□—).

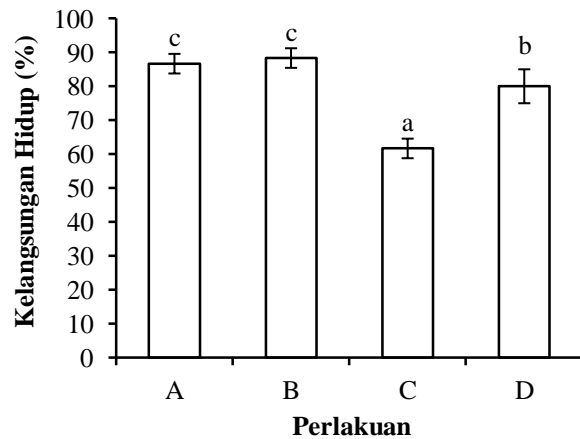
Uji *in vivo* bakteri kandidat probiotik

Dua isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* serta tidak bersifat patogen terhadap larva udang diuji efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada larva udang windu. Hasil pengujian

menunjukkan kedua isolat tersebut secara signifikan ($p < 0,05$) dapat meningkatkan kelangsungan hidup larva udang (Gambar 5).



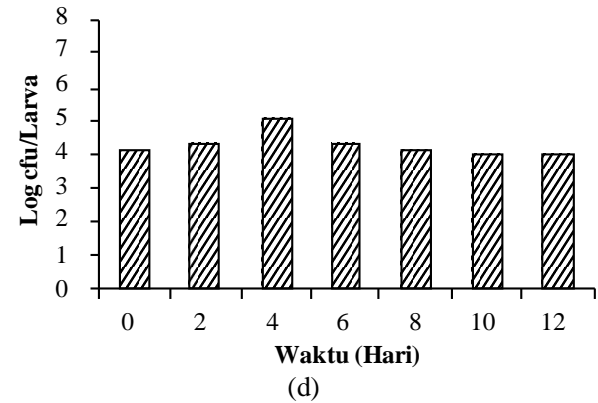
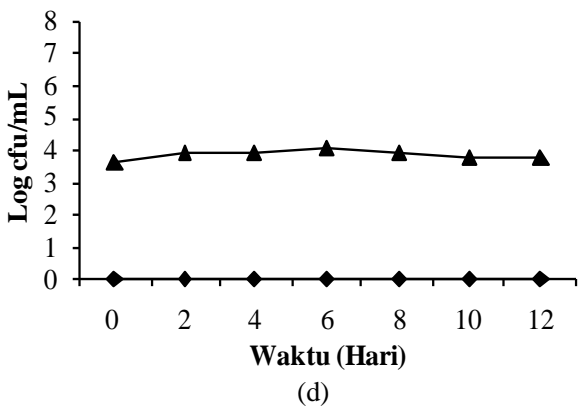
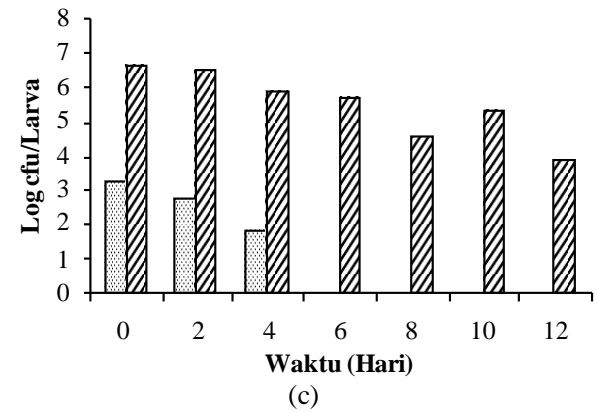
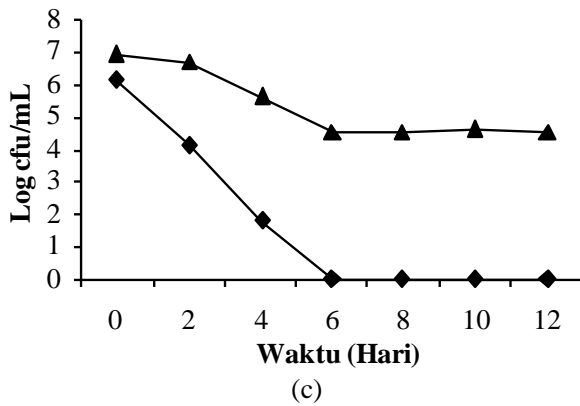
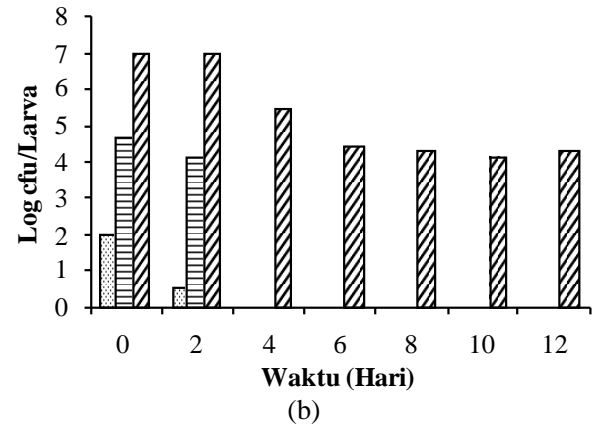
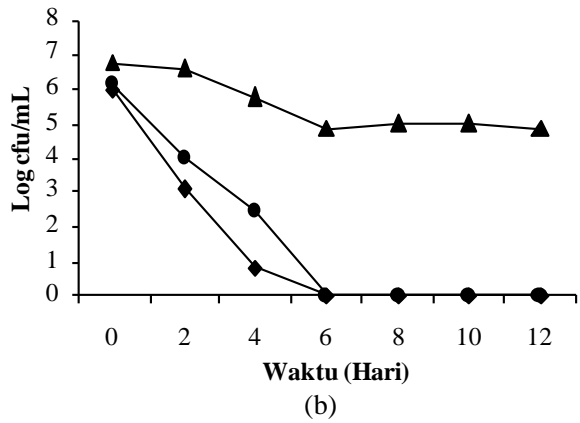
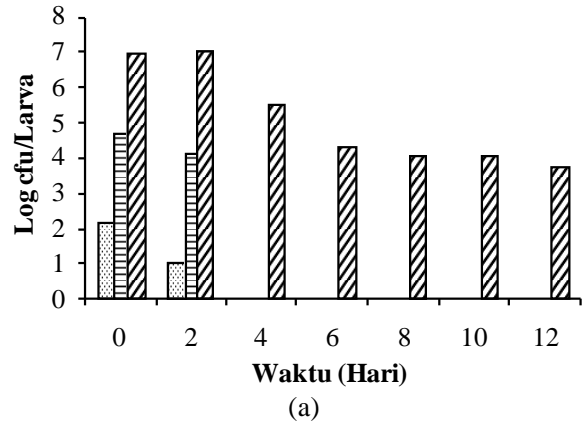
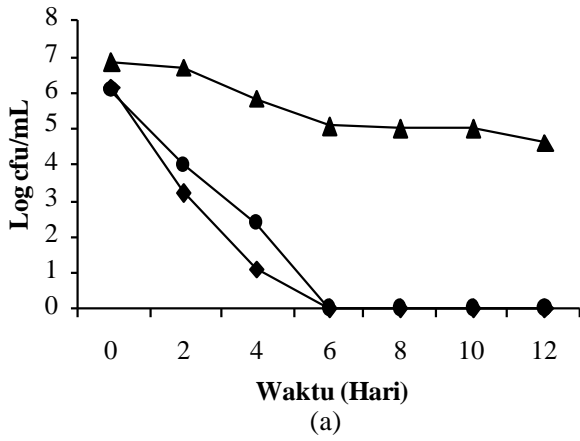
Gambar 4. Perbandingan pertumbuhan bakteri kandidat probiotik tipe liar (13G1—■—) dengan resisten rifampisin (13G1Rf —□—).



Gambar 5. Kelangsungan hidup larva udang windu (*Penaeus monodon*) yang diberi bakteri probiotik pada uji *in vivo*. Keterangan A: 13B Rf^R+MR5339 Rf^R; B: 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R; C: MR5339 Rf^R; D: kontrol. Huruf berbeda diatas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).

Peningkatan nilai kelangsungan hidup larva diduga karena adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada larva udang oleh bakteri probiotik. Hal tersebut ditunjukkan oleh jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada perlakuan dengan penambahan probiotik lebih rendah dibanding tanpa probiotik, baik pada air pemeliharaan (Gambar 6) maupun pada larva hidup (Gambar 7).

Sung *et al.* (1999) menyatakan apabila terjadi penurunan keragaman *Vibrio* sp. pada air media pemeliharaan udang dan didominasi oleh komunitas *Vibrio* patogen



□ *harveyi* □ Probiotik ▨ Total bakteri

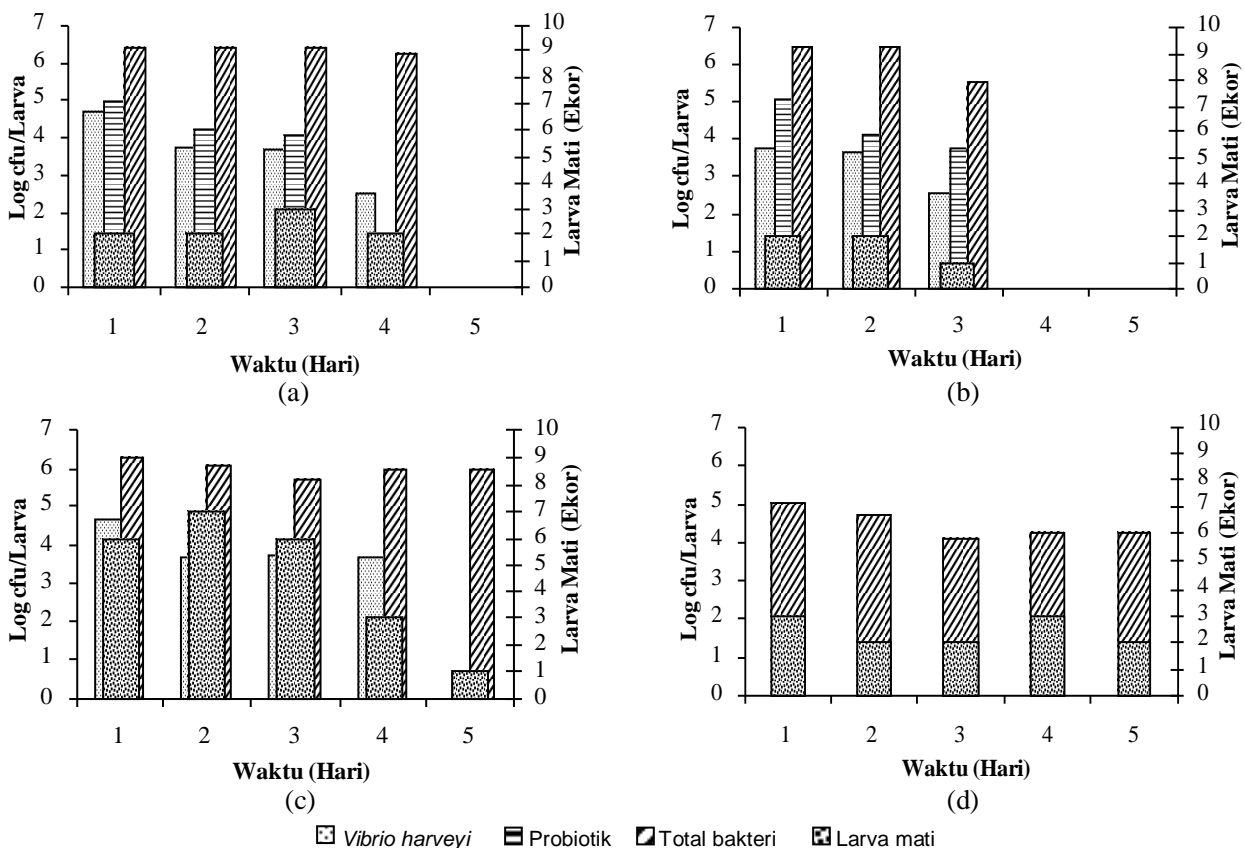
Gambar 6. Jumlah bakteri probiotik (—●—), total bakteri (—▲—), dan *V. harveyi* (—◆—) pada 13B Rf^R+MR5339Rf^R (a), 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R (b), MR5339 Rf^R (c), serta kontrol (d) di air media pemeliharaan

Gambar 7. Jumlah bakteri probiotik, total bakteri, dan *V. harveyi* pada 13B Rf^R+MR5339Rf^R (a), 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R (b), MR5339 Rf^R (c), serta kontrol (d).

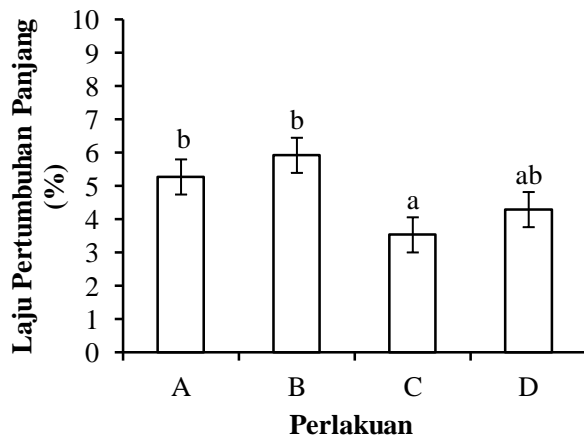
biasanya terjadi vibriosis yang diikuti oleh penurunan populasi udang di tambak. Pada penelitian ini, perlakuan kontrol positif didominasi oleh *V. harveyi* MR5339 Rf^R dengan jumlah larva mati lebih banyak dibanding perlakuan penambahan probiotik baik tipe liar maupun tipe mutan. Pada perlakuan dengan penambahan probiotik, *V. harveyi* MR5339 Rf^R bukan sebagai populasi dominan.

Pada Gambar 7 diketahui bahwa jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada perlakuan penambahan probiotik lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol positif. Jumlah sel bakteri probiotik pada larva hidup, hingga hari kedua perlakuan, masih lebih tinggi (10^4 cfu/larva) bila dibandingkan jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf^R (10^1 cfu/larva). Hal ini menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 Rf^R oleh bakteri probiotik. Pada hari keempat bakteri probiotik tidak dapat dideteksi lagi keberadaannya di tubuh udang. Rata-rata jumlah sel *V. harveyi* MR5339 Rf^R yang mengolonisasi larva mati berkisar antara 10^3 – 10^4 cfu/larva (Gambar 8). Diduga kisaran

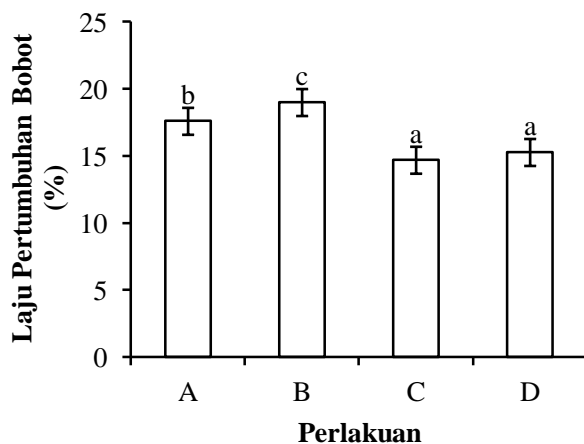
angka tersebut menunjukkan jumlah sel *V. harveyi* yang dapat menyebabkan kematian pada larva udang. Pada penelitian Widanarni (2003) dan Hala *et al.* (2002), jumlah *V. harveyi* yang ditemukan pada larva yang mati berkisar antara 10^2 – 10^4 cfu/larva. Populasi *V. harveyi* MR5339 Rf^R pada larva hidup dengan perlakuan penambahan bakteri probiotik (10^2 cfu/larva) lebih rendah dibanding perlakuan tanpa probiotik (10^3 cfu/larva) (Gambar 7). 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 (5,28% dan 5,93%) dibanding perlakuan tanpa probiotik (3,54% dan 4,30%) (Gambar 9). Demikian pula untuk pertumbuhan bobot menunjukkan bahwa larva udang yang diberi probiotik menghasilkan pertumbuhan bobot lebih besar (18,99%) dibanding perlakuan tanpa pemberian probiotik (14,69% dan 15,27%) (Gambar 10). Diduga pada perlakuan tanpa



Gambar 8. Jumlah bakteri probiotik, total bakteri pada larva mati, pada *V. harveyi* 13B Rf^R+MR5339Rf^R (a), 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R (b), MR5339 Rf^R (c), dan kontrol (d).



Gambar 9. Pertumbuhan panjang larva udang windu (*Penaeus monodon*) yang diberi bakteri probiotik A: 13B Rf^R+MR5339 Rf^R; B: 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R; C: MR5339 Rf^R; D: Kontrol. Huruf berbeda diatas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).



Gambar 10. Pertumbuhan bobot larva udang windu (*Penaeus monodon*) yang diberi bakteri kandidat probiotik. Keterangan: A: 13B Rf^R+MR5339 Rf^R; B: 13G1 Rf^R+MR5339 Rf^R; C: MR5339 Rf^R; D : kontrol. Huruf berbeda diatas diagram batang menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$).

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. Ada pula kemungkinan bakteri probiotik yang diberikan mampu menghasilkan enzim-enzim pencernaan sehingga larva udang dapat mencerna pakan yang diberikan lebih baik dan nutrisi yang diserap jadi lebih banyak.

Identifikasi isolat terpilih

Hasil sekuensing gen 16S-rRNA isolat 13G1 menunjukkan bahwa isolat tersebut termasuk strain *V. alginolyticus* dengan indeks kemiripan 99,49% (Genebank dengan BLASTN <http://blast.ncbi.nlm.gov/blast.cgi>) pada level nukleotida. Isolat 13G1 merupakan isolat paling potensial menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Austin *et al.* (1995) melaporkan bahwa *V. alginolyticus* efektif sebagai probiotik karena dapat mengurangi serangan penyakit yang disebabkan oleh *V. anguillarum* dan *V. ordalii* pada larva udang.

Gomez-Gil *et al.* (2002) menyatakan *V. alginolyticus* C7b yang dikultur bersama microalga *Chaetoceros muelleri* dapat meningkatkan pertumbuhan udang. Widanarni (2003) menyatakan larva udang windu yang diberi probiotik *V. alginolyticus* memiliki kelangsungan hidup lebih besar (93%) dibanding perlakuan tanpa probiotik (63%). Gullian *et al.* (2004) juga melaporkan penggunaan *V. alginolyticus* sebagai probiotik pada udang vannamei dapat meningkatkan immunitas udang uji.

KESIMPULAN

Dua isolat, yaitu 13G1 dan 13B diisolasi dari *Poecilophora* sp., potensial menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada larva udang. Kedua isolat tersebut dapat meningkatkan nilai kelangsungan hidup larva udang. Nilai kelangsungan hidup larva udang pada perlakuan penambahan probiotik 13G1 dan 13B serta diinfeksi dengan *V. harveyi* MR5339 Rf^R berturut-turut adalah 88,33% dan 86,67%, berbeda nyata dengan kontrol positif (61,67%). Isolat 13G1 berhasil diidentifikasi sebagai *V. alginolyticus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham TJ, Palaniappan R. 2004. Distribution of luminous bacteria in semi-intensive penaeid shrimp hatcheries of Tamil Nadu, India. *Aquaculture* 232: 81–90.
- Austin B, Stuckey LF, Robertson PAW, Effendi, Griffith DRW. 1995. A probiotic

- strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii*. *J. of Fish Dis.* 18:93-96.
- Chytanya R, Nayak DK, Venugopal MN. 1999. Antibiotic resistance in aquaculture: News from around the world. *Infofish International* 6: 30–32.
- Effendie I. 1997. *Biologi Perikanan*. Yogyakarta: Yayasan Pustaka Nusatama.
- Fuller R. 1992. History and development of probiotics. In: Fuller R (ed). *Probiotics the Scientific Basis*. London, UK: Chapman and Hall. pp 1–8.
- Gomez-Gill B, Roque A, Velasco-Blanco G. 2002. Culture of *Virio alginolyticus* C7b, a potential probiotic bacterium, with the microalga *Chaetoceros muelleri*. *Aquaculture* 211: 43–48.
- 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 MZ. 2002. Adherence and pathogenicity assay of *Vibrio harveyi* in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae for screening biocontrol agent. *Biotropia* 18: 8–51.
- Lategan MJ, Booth W, Shimmon R, Gibson LF. 2006. An inhibitory substance produced by *Aeromonas media* A199 an aquatic probiotic. *Aquaculture* 254: 115–124.
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Wade WG. 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.
- Moriarty DJW. 1998. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164: 351–358.
- Muliani. 2002. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu *Penaeus monodon* Fabricus [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Reboucas RH, Sousa OV, Lima AS, Vasconcelos FR, Carvalho PB, Vieira Regineb HSF. 2011. Antimicrobial resistance profile of *Vibrio* species isolated from marine shrimp farming environments (*Litopenaeus vannamei*) at Ceara, Brazil. *Environmental Research* 111: 21–24.
- Rheinheimer G. 1991. *Aquatic Microbiology* 4th edition. London: John Wiley & Sons.
- Riquelme C, Araya R, Vergara N, Rojas A, Guaita M, Candia M. 1997. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck 1819). *Aquaculture* 154: 17–26.
- Saulnier D, Haffner P, Goarant C, Levy P, Ansquer D. 2000. Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture* 191: 133–144.
- Sung H, Li H, Tsai F, Ting Y, Chao W. 1999. Changes in the composition of vibrio communities in pond water during tiger shrimp (*Penaeus monodon*) cultivation and in the hepatopancreas of healthy and diseased shrimp. *Jur. of Eksperimental Marine Biology and Ecology* 236: 261–271.
- Suryati E, Parenrengi A, Muliani. 2004. Analisis toksisitas dan penanggulangan penyakit udang windu *Penaeus monodon* Fabricus menggunakan bioaktif sponge. Prosiding Pengendalian Penyakit pada ikan dan Udang berbasis Imunisasi dan Biosecurity, Purwokerto, 18–19 Mei 2004.
- Suwanto. 2002. *Compilation of Practical Manual. Biotrop Training Course in Microbial Biodiversity*.
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64: 655–671.
- Vijayan KK, Singh ISB, Jayaprakash NS, Alavandi SV, Pai SS, Preetha R, RAjan JJS, Santiago TC. 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.
- Widanarni. 2003. Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of Vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. *Biotropia* 20: 11–23.