

UJI PATOGENISITAS BAKTERI *Acinetobacter* sp. TERHADAP UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)

Nurjanna

Teknisi Litkayasa pada Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros

PENDAHULUAN

Kasus penyakit udang yang terjadi akhir-akhir ini bukan hanya di tambak-tambak intensif yang kondisi lingkungannya kurang baik, tetapi juga di tambak-tambak tradisional yang kepadatannya masih rendah tetapi kondisi lingkungannya kurang normal. Menurut Atmomarsono *et al.* (1993), kasus kegagalan produksi udang di beberapa areal tambak berawal dari kurang diperhatikannya kebutuhan udang. Di antaranya persiapan tambak dan pengelolaan air yang tidak sesuai dengan persyaratan teknis untuk budi daya udang windu. Hal ini menyebabkan timbulnya penyakit yang didahului oleh gejala stres akibat kondisi lingkungan yang tidak mendukung.

Seringnya terjadi kegagalan panen udang baik karena kematian massal akibat serangan penyakit maupun kelambatan dan ketidakseragaman pertumbuhan benur akan teratasi bila kondisi optimum dalam pemeliharaan benur dan penyediaan serta pengelolaan jasad pakan secara teknis teratasi dengan baik. Seiring dengan semakin pesatnya perkembangan tambak udang windu di Indonesia, maka peningkatan kualitas dan kuantitas produknya menjadi prioritas utama. Sebagai mata rantai utama dalam sistem produksi udang, kelambatan penyediaan benih merupakan faktor penghambat baik terhadap kuantitas maupun kualitasnya.

Menurut Rukyani (1993), penyakit umumnya timbul akibat adanya interaksi antara udang sebagai inang dengan patogen dan lingkungan. Ketiga hal tersebut harus senantiasa berada pada posisi yang seimbang. Organisme patogen seperti bakteri, jamur, parasit, dan virus tidak akan menyerang bila kondisi lingkungan tidak mendukung. Satu di antara jenis bakteri tersebut yang paling sering diisolasi dari air, tanah, dan udang adalah jenis bakteri *Acinetobacter* sp. Bakteri ini diduga memegang andil dalam menyebabkan timbulnya penyakit pada udang, walaupun tingkat patogenitasnya belum diketahui. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang patogenitas bakteri *Acinetobacter* sp. pada udang windu.

POKOK BAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros pada bulan Maret sampai bulan April 1997 yang meliputi beberapa tahapan di antaranya: (1) Isolasi bakteri *Acinetobacter* sp., (2) Uji patogenitas bakteri *Acinetobacter* sp. terhadap larva udang windu.

Isolasi Bakteri *Acinetobacter* sp.

Bakteri *Acinetobacter* sp. diisolasi dari udang yang dicurigai terserang penyakit dengan cara mengambil hepatopankreas udang, digerus dan diencerkan dengan larutan garam 0,85% sebanyak 9 mL. Pengenceran dilakukan secara bertingkat (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) kemudian masing-masing pengenceran diambil 0,1 mL dan ditumbuhkan pada media TSA (*Tryptic Soy Agar*) dengan *plate* di mana setiap pengenceran digunakan media TSA secara duplo. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada inkubator dengan suhu 25°C. Untuk menghitung jumlah koloni yang tumbuh digunakan rumus Ganjar *et al.* (1992) sebagai berikut:

$$N = \frac{T \times S}{Q} \times V \text{ (sel/mL)}$$

di mana:

N = Jumlah koloni

T = Total koloni bakteri pada semua *plate* dengan tingkat pengenceran

S = Tingkat pengenceran

Q = Jumlah *plate*

V = Jumlah larutan yang digunakan

Uji Patogenitas Bakteri *Acinetobacter* sp.

Bakteri *Acinetobacter* sp. yang telah diisolasi dari udang diuji patogenitasnya terhadap larva udang windu dengan metode perendaman pada konsentrasi 0 (kontrol), 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 sel bakteri/mL air dengan tiga ulangan untuk masing-masing perlakuan. Wadah yang digunakan adalah gelas kaca yang berkapasitas tiga liter air sebanyak 18 buah. Wadah

tersebut diisi air laut yang bersalinitas 25 ppt yang sebelumnya disterilkan dengan $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ dan dinetralkan dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Hewan uji yang digunakan adalah gelondongan udang windu dengan padat penebaran 5 ekor/L. Sebelum ditebar terlebih dahulu hewan uji disucihamakan dengan KMnO_4 sebanyak 2 mg/L.

Biakan murni bakteri *Acinetobacter* sp. dari TSA ditransfer ke dalam larutan *Nutrien Broth*. Biakan dari NB dimasukkan ke dalam masing-masing wadah penelitian sesuai dengan konsentrasi bakteri yang dikehendaki, dengan menggunakan rumus pengenceran (Brescia *et al.* dalam Rusaini, 1996):

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

di mana:

N_1 = Konsentrasi bakteri dalam NB (CFU/mL)

N_2 = Konsentrasi bakteri yang dikehendaki

V_1 = Volume NB yang digunakan

V_2 = Volume air dalam wadah penelitian

Selama penelitian hewan uji diberi pakan buatan sebanyak 10% dari total bobot badan dengan frekuensi pemberian pakan empat kali sehari. Penyiponan sisa pakan dilakukan setiap pagi hari sebelum pemberian pakan selanjutnya. Pengamatan

dilakukan untuk mengetahui gejala dan kematian yang ditimbulkan setiap jam pada 12 jam pertama. Kemudian dilanjutkan 24, 48, 72, dan 96 jam setelah perlakuan.

HASIL DAN BAHASAN

Karakterisasi bakteri *Acinetobacter* sp.

Berdasarkan hasil uji bakteri pada media kultur diperoleh karakterisasi bakteri *Acinetobacter* sp. yang disajikan pada Tabel 1, terlihat bahwa sifat bakteri *Acinetobacter* sp. yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C atau suhu 28°C berbentuk batang non-motil, gram negatif yang mempunyai ukuran 1,6- 1,8 warna koloni putih kekuning-kuningan oksidase positif, katalase positif, dan bersifat fakultatif anaerob, Cowan (1985).

Tingkat Mortalitas Hewan Uji

Rata-rata mortalitas hewan uji pada setiap perlakuan disajikan pada Tabel 2. Mortalitas terjadi pada konsentrasasi 10^6 CFU/mL pada perendaman selama 96 jam dan mortalitas semakin meningkat dengan makin lamanya waktu perendaman. Dengan demikian semakin lama perendaman, maka peluang

Tabel 1. Karakterisasi bakteri *Acinetobacter* sp. selama penelitian

Media	Uji bakteri	Hasil
TSA	Pewarnaan gram	+
	Bentuk	Batang
	Oksidasi	+
	Katalase	+
O/F	Tumbuh pada suhu 28 ⁰ C	+
TSI	Oksidatif/Fermentatif	-
SIM	Gas	-
Urea Broth	H ₂ S	-
MR-VP	Indol	-
	Motil	-
	Urease	-
Gelatin	Metil- merah	-
King-A	Voges –proskaur	-
King-B	Gelatinase	-
	Pigmentasi	-
	Pigmentasi	-

Keterangan : (+) = Reaksi positif (-) = Reaksi negatif (F) = Fermentatif

Tabel 2. Rata-rata mortalitas (%) udang uji pada setiap perlakuan selama penelitian dari bulan Maret sampai April 1997

Waktu Pengamatan (jam)	Mortalitas					
	K	A	B	C	D	E
12	0	0	0	0	20,0	43,3
24	0	0	0	0	5,67	86,6
48	0	0	0	0	63,3	100,0
72	0	0	0	0	70,0	100,0
96	0	0	0	0	100,0	100,0

untuk terinfeksi bakteri akan semakin besar karena adanya interaksi antara inang, patogen, dan lingkungan, atau interaksi antara ketiganya terus berlangsung. Selanjutnya dari data di atas memperlihatkan bahwa perlakuan D (10^6) dengan jumlah bakteri $5,4 \times 10^6$ CFU/mL setelah pengamatan 96 jam mencapai mortalitas 100%. Sedangkan pada perlakuan E (10^7) CFU/mL mortalitas mencapai 100% setelah perlakuan 48 jam, berarti lebih singkat dari perlakuan D. Namun pada perlakuan A, B, C, dan kontrol (K) tidak memperlihatkan adanya kematian udang, sehingga kematian udang windu yang diakibatkan oleh bakteri *Acinetobacter* sp. hanya terjadi pada konsentrasi 10^6 dan 10^7 . Hal ini diperoleh selama pengamatan pada kondisi laboratorium. Jadi semakin tinggi konsentrasi bakteri *Acinetobacter* sp. yang diaplikasikan maka mortalitas akan semakin meningkat dengan cepat.

Selanjutnya Nurbaya (1997) dalam penelitiannya telah memperoleh bahwa patogenitas bakteri *Enterobacteriaceae* sp. terjadi pada konsentrasi di atas

10^5 CFU/mL dengan tingkat mortalitas udang 100% dalam jangka 12 jam.

Rata-rata jumlah dan persentase total bakteri pada akhir penelitian untuk setiap perlakuan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa jumlah bakteri *Acinetobacter* sp. telah bersifat patogen pada hewan uji pada konsentrasi di atas $5,4 \times 10^6$ dan $5,5 \times 10^7$ CFU/mL sedangkan pada konsentrasi $3,5 \times 10^3$ sampai dengan $5,0 \times 10^5$ CFU/mL belum membahayakan udang windu atau belum bersifat patogen. Hal ini sejalan dengan Plup & Sonches (1983) dalam Austin & Austin (1987), yang menyatakan bahwa infeksi yang mengandung $1,5 \times 10^3$ sel/mL *Eserecia ictaluri* bersifat patogen dan menyebabkan mortalitas 100% populasi *Chanel catfish*. Namun Nurbaya (1997) mendapatkan mortalitas 100% terjadi pada kisaran 10^3 sel/mL (72 jam) dan 10^5 sel/mL (48 jam) pada udang windu dengan infeksi *Enterobacteriaceae* sp.

Tabel 3. Rata-rata jumlah dan persentase total bakteri *Acinetobacter* sp. pada akhir penelitian untuk setiap perlakuan dari bulan Maret – April 1997

Perlakuan	Jumlah bakteri (CFU/mL)	Persentase dari total bakteri
K	0	0
A	$3,5 \times 10^3$	40
B	$4,2 \times 10^4$	45
C	$5,0 \times 10^5$	55
D	$5,4 \times 10^6$	72
E	$5,5 \times 10^7$	82

Tabel 4. Konsentrasi letal (LC) bakteri *Acinetobacter* sp. terhadap hewan uji. dari bulan Maret – April 1997

Waktu Perendaman	LC ₅₀ (CFU/mL)	LC ₉₀ (CFU/mL)
12 jam	1,0 x 10 ⁸	5,0 x 10 ⁹
24 jam	3,12 x 10 ⁶	3,9 x 10 ⁷
48 jam	1,98 x 10 ⁶	2,0 x 10 ⁷
72 jam	1,77 x 10 ⁶	1,79 x 10 ⁷

Berdasarkan hasil analisis regresi konsentrasi letal (Tabel 4) bakteri *Acinetobacter* sp. terhadap hewan uji diperoleh persamaan regresi untuk masing-masing waktu pengamatan sebagai berikut:

$$12 \text{ jam} = y = 1,52 - 8,83 x + 1,86 x^2$$

$$24 \text{ jam} = y = 2,37 - 17,54 x + 3,83 x^2$$

$$48 \text{ jam} = y = 2,78 - 20,27 x + 4,41 x^2$$

$$72 \text{ jam} = y = 2,61 - 20,22 x + 4,45 x^2$$

Tabel 4 menunjukkan semakin tinggi konsentrasi bakteri *Acinetobacter* sp. maka waktu yang diperlukan untuk mematikan hewan uji sebesar 50% dan 90% (LC₅₀ dan LC₉₀) semakin cepat. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Nurbaya (1997) yang mendapatkan konsentrasi bakteri *Enterobacteriaceae* sp. yang mematikan larva udang windu sebesar 50% dan 90% (LC₅₀ dan LC₉₀) semakin kecil dengan semakin bertambahnya waktu perendaman.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian untuk mengetahui pengaruh kepadatan bakteri *Acinetobacter* sp. terhadap sintasan larva udang windu dapat disimpulkan sebagai berikut:

- ♦ Bakteri *Acinetobacter* sp. bersifat patogen pada udang windu dengan konsentrasi di atas $5,4 \times 10^6$ CFU/mL.
- ♦ Semakin tinggi konsentrasi bakteri *Acinetobacter* sp. maka angka mortalitas pada udang windu semakin tinggi pula.

DAFTAR PUSTAKA

- Atmomarsono, M., M.I. Madeali, A. Tompo, dan Muliani. 1993. *Bakteri Penyebab Penyakit Pada Udang Windu di Perairan Tambak Sulawesi Selatan*. Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros. p. 2--9.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial Fish Pathogens Deaseases in Farmed and Wild Fish*. John Willes and Sons New York p. 196--217.
- Cowan, S.T. 1985. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University press London 238 pp.
- Ganjar, I., I.R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo, dan L. Soebagya. 1992. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Fakultas MIPA. UI. Jakarta. 86 pp.
- Nurbaya. 1997. *Pengaruh Konsentrasi Bakteri Enterobacteriaceae terhadap Mortalitas Udang Windu*. Skripsi Strata I Universitas Muslim Indonesia Ujung Pandang.
- Rukyani. A. 1993. *Penanggulangan Penyakit Udang Windu di Tambak*. Makalah pada Seminar Sehari. Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros.
- Rusaini. 1996. *Patogenitas bakteri Vibrio sp. terhadap udang windu (Penaeus monodon Fabricius)*. Skripsi Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang.