

TEKNIK PEMBUATAN VAKSIN *Vibrio* SECARA PRAKTIS UNTUK PENANGGULANGAN PENYAKIT BAKTERI PADA UDANG WINDU

Nurjanna

Teknisi Litkayasa pada Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros

PENDAHULUAN

Seiring dengan upaya peningkatan produksi budi daya udang akhir-akhir ini khususnya budi daya tambak/hatcheri (pembenihan) dan budi daya laut, maka masalah penyakit juga turut meningkat. Untuk itu, langkah-langkah pengendalian, pencegahan, dan pengobatannya perlu terus dikembangkan (Muliani *et al.*, 2003). Salah satu upaya untuk itu adalah dengan menggiatkan teknologi pembuatan vaksin dan percobaan-percobaan tentang immunostimulan untuk pencegahan penyakit terutama bakteri.

Vaksin *Vibrio* adalah salah satu jenis vaksin yang sekarang telah dikembangkan untuk meningkatkan kekebalan tubuh pada udang terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros telah mencoba membuat vaksin tersebut agar dapat menekan wabah dan berkembangnya bakteri ini baik di tambak maupun di panti-panti benih.

Adapun tujuan dari tulisan teknik pembuatan vaksin ini adalah untuk memberi informasi kepada masyarakat luas tentang pembuatan vaksin *Vibrio* secara teknis dan praktis. Dengan demikian upaya penanggulangan penyakit *Vibrio* ini dapat secara luas diketahui.

ISOLASI BAKTERI *Vibrio* SEBAGAI BAHAN BAKU VAKSIN

Bahan utama adalah udang yang diduga sakit karena bakteri *Vibrio*, selanjutnya hemolimph atau hepatopankreasnya digoreskan dengan bentuk T di atas permukaan media TCBSA (*Thiosulfat Citrate Bile Sucrosa Agar*) dengan menggunakan jarum ose, yang terlebih dahulu dipanaskan di atas api bunsen sampai ose tersebut memerah. Apabila udang tersebut masih kecil diambil 2—5 ekor dihaluskan di lumpang yang sebelumnya sudah disterilkan dengan kapas beralkohol 70% kemudian ditanam ke media TCBSA secara goresan. Media agar TCBSA yang telah ditanami sampel udang diinkubasikan selama 24—48 jam pada inkubator dengan suhu 28°C—37°C, dengan posisi petridist terbalik. Setelah 48 jam salah

satu koloni yang tumbuh pada media agar TCBSA diambil mewakili koloni yang lainnya, lalu dipindahkan atau ditransfer ke media TSA miring untuk lebih memudahkan pengujian biokimia selanjutnya (Hadioetomo, 1993). Identifikasi bakteri udang baik dari tambak maupun dari hatcheri atau panti-panti pembenihan dilakukan beberapa kriteria pengamatan, yaitu morfologi meliputi bentuk koloni, peubah warna, sifat tembus cahaya, pinggiran, dan sifat permukaan bakteri dan uji biokimia. Beberapa tahapan uji yaitu: uji swarming, luminiscence, Vptest, arginin dehidro, gas from glukosa, growth 40°C, lysin decarboksilat, pigmentasi, amylase sucrose, indol, ornithin decarboxilat, putricine, ethanol, serin, heptanoate, xantine, aminobutirate, arabinose, cellubise, glucuronate, ketoglutarate, L-alanin, leucin, dan propionate. Identifikasi bakteri sampai spesies ini dilakukan menurut petunjuk Muir (1996), yang sebelumnya mentabulasi data morfologi dan biokimia ke dalam kemudian dianalisis dengan menggunakan *software* yang dikenal dengan program *Fortran computer* yang telah dimodifikasi.

METODE PEMBUATAN VAKSIN *Vibrio*

Metode Formalin

Hasil identifikasi bakteri murni *Vibrio harveyi* yang didapatkan diremajakan ke media agar TCBSA plate secara goresan dan berbentuk T sedapat mungkin lalu di inkubasikan selama 24 jam pada inkubator bersuhu 28°C. Biakan murni *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media agar TCBSA dipindahkan dengan menggunakan jarum ose yang bundar yang sebelumnya dipanaskan di atas api bunsen sampai memerah. Sebanyak 4—5 ose yang diambil dikultur ke media NB (*Nutrien Broth*) cair yang berisikan campuran NaCl 1,5% dan dikerjakan secara hati-hati di dekat api bunsen untuk menghindari adanya kontaminasi. Larutan *nutrien broth* yang berisikan biakan bakteri tadi digoyang selama 24 jam pada alat pengocok dengan kecepatan 150—200 rpm dalam alat *sentrifuge*, lalu tambahkan dengan formalin 100% sebanyak 1% untuk melemahkan

bakteri yang ada dalam larutan *nutrien broth*. Kemudian larutan bakteri disimpan dalam kulkas dengan suhu 4°C selama 6—12 jam. Biakan kultur bakteri pada *nutrient broth* dimasukkan ke dalam tabung sentrifugal sebanyak 10 mL dan diputar dengan kecepatan 6.000 rpm selama 20 menit. Supernatan dibuang sebanyak 5 mL, dikocok agar endapan terangkat pada permukaan tabung dan ditambahkan kembali larutan garam fisiologis 0,85% sebanyak 5 mL (larutan NaCl 0,85%) sebagai pencuci. Sentrifugasikan selama 20 menit lagi dan supernatan dibuang dan ditambah kembali larutan garam fisiologis sebanyak supernatan yang dibuang. Pada pencucian ketiga kalinya larutan dan supernatan dikocok lagi lalu ditampung pada tempat yang steril dan disimpan di *freezer* atau alat pendingin -20°C (Desrosa *et al.*, 1993).

Metode Suhu

Dalam metode suhu caranya sama dengan metode formalin sampai biakan di media *nutrien broth* (NB). Namun pada metode suhu ini untuk melemahkan bakteri dilakukan pemanasan dalam *water bath* 100°C selama 15 menit.

KESIMPULAN

Teknik pembuatan Vaksin *Vibrio Harveyi* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode suhu dan formalin. Kedua metode ini telah diuji serta

diaplikasikan pada beberapa kegiatan penelitian di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros. Hasil penelitian menunjukkan metode formalin lebih baik, karena dapat lebih menekan pertumbuhan bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Desrosa, B., Zafran, dan T. Ahmad. 1993. Penanggulangan penyakit udang windu (*Penaeus monodon*) di pantai benih. Dalam Hanafi, A., M. Atmomarsono, dan S. Ismawati (Eds.), *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Perikanan Budidaya Pantai*, Maros, p. 9—12.
- Hadioetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: *Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT Gramedia, Jakarta, p. 62—68.
- Muir, P. 1996. *Identification of Vibrio and Pseudomonas Bacteria*. Departemen of Microbiology, Biomedical, and Trofical veterinary Science. James Cook University of Nort Queensland. Australia, 6 pp.
- Muliani, M. Atmomarsono, dan M.I. Madeali. 2003. Pengaruh jenis immunostimulan dan konsentrasinya terhadap sintasan larva udang windu yang papir dengan *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). *Laporan Hasil Penelitian Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau*, 12 pp.