

PENGARUH INFEKSI BAKTERI *Vibrio harveyi* TERHADAP PERFORMA PASCA LARVA DAN SINTASAN LARVA UDANG GALAH GIMACRO II (*Macrobrachium rosenbergii* II)

Ahmad Ali Akbar dan Diah Artati

Teknisi Litkayasa Balai Penelitian Pemuliaan Ikan Sukamandi
Jl. Raya 2 Sukamandi, Patokbeusi, Subang, Jawa Barat 41263
E-mail: tu.bppi@gmail.com

ABSTRAK

Penyakit merupakan faktor penghambat dalam produksi benih udang galah. Vibriosis merupakan salah satu penyakit utama pada pembenihan udang galah dengan level kematian mencapai 100%. Seleksi untuk meningkatkan tingkat resistensi benih udang galah terhadap vibriosis telah dilakukan di Balai Penelitian Pemuliaan Ikan. Kegiatan ini dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai pengaruh infeksi *Vibrio harveyi* terhadap performa pasca larva dan kelangsungan hidup larva udang galah. Larva udang galah stadia 4-6 dipelihara pada media air dengan salinitas 12‰ yang diinfeksi suspensi bakteri *V. harveyi*. Kelimpahan awal bakteri pada media ujiantang larva sebesar 105 cfu/mL. Sintasan larva diamati pada 48 jam pasca infeksi. Larva selanjutnya dipelihara hingga mencapai stadia pasca larva. Sintasan larva pada 48 jam pasca infeksi bervariasi antara 16-75%. Sintasan larva selama 30 hari pemeliharaan sebesar $5,8 \pm 3,0$ % pada larva yang diinfeksi (I = Infeksi) sedangkan larva yang tidak diinfeksi (K = kontrol), sebesar $20,4 \pm 2,6$ %. Panjang standar dan bobot rata-rata pasca larva (PL) yang terinfeksi bakteri lebih kecil, $6,1 \pm 0,8$ mm; $7,3 \pm 28,9$ mg, dibandingkan PL kontrol, sebesar $6,8 \pm 1,1$ mm; $9,2 \pm 4,5$ mg. Hasil pengujian menunjukkan bahwa infeksi *V. harveyi* menyebabkan performa pasca larva lebih kecil dengan sintasan menurun sebesar 79%.

KATA KUNCI: infeksi, larva, sintasan, pertumbuhan, udang galah, *Vibrio harveyi*

PENDAHULUAN

Salah satu komoditas budidaya perikanan air tawar yang telah lama dikembangkan adalah udang galah. Udang dari perairan air tawar tersebut dapat mencapai ukuran badan yang besar dan kemampuan adaptasi yang cukup luas pada beberapa lingkungan budidaya dengan kisaran salinitas 0-15‰. Potensi keunggulan tersebut menjadikan udang galah sebagai komoditas utama perikanan budidaya di negara-negara Indo-Pasifik, termasuk Indonesia (Wowor & Ng 2007; New 2010). Namun demikian, pengembangan udang galah di Indonesia masih terkendala ketersediaan benih.

Produktivitas panti benih udang galah di Indonesia tergolong rendah, dengan tingkat sintasan larva hingga yuwana sebesar 15%-30%. Kondisi tersebut disebabkan sebagian

besar panti benih belum menerapkan kaidah pembenihan yang baik dengan menerapkan sistem biosekutitas ketat, sehingga sering terjadi kematian karena infeksi patogen. Proses ganti kulit secara periodik pada larva udang menyebabkan kondisi fisiologis larva lemah sehingga mudah terinfeksi penyakit. Sejumlah penyakit dilaporkan menginfeksi udang galah, baik pada fase pembenihan, pendederan, maupun pembesaran (Pillai *et al.* 2010).

Udang galah pada fase pembenihan membutuhkan media air payau sehingga pada fase larva sangat rentan terinfeksi bakteri *V. harveyi*, yang merupakan patogen utama pada pembenihan udang laut (Austin & Zhang, 2006; Ruangan, 1998; Sharshar & Azab, 2008; Gomez *et al.*, 2009; Saulnier *et al.*, 2011; Bo-guang *et al.*, 2014). Dilaporkan

pula oleh Vici *et al.* (2000); Supriyadi *et al.* (2001) bahwa udang galah pada fase pembenihan sangat beresiko terinfeksi penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* spp. Penyakit vibriosis juga berpotensi menginfeksi udang galah pada fase pendederan dan pembesaran yang dilakukan di tambak payau, karena bakteri *Vibrio* sp tidak spesifik inang dan dilaporkan menginfeksi sejumlah komoditas perikanan air payau (Chatterjee & Haldar (2012).

TUJUAN

Kegiatan ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan informasi mengenai efek infeksi bakteri *V. harveyi* terhadap performa pasca larva dan sintasan benih udang galah pada fase awal budidaya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Kegiatan dilaksanakan di Balai Penelitian Pemuliaan Ikan Sukamandi, Subang. Bahan biologis yang digunakan adalah udang galah strain GIMacro II. Bakteri yang digunakan merupakan isolat *Vibrio harveyi* koleksi Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Departemen Budidaya Perairan, Institut Pertanian Bogor. Bahan lain yang digunakan yaitu formalin, larutan NaCl 12, media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile-salt Sucrose*), media SWC (*sea water complex*), alkohol dan akuades.

Sedangkan peralatan yang digunakan meliputi peralatan hatcheri, berupa : waskom ukuran 3 liter, waskom ukuran 25 liter, spektrofotometer dan peralatan laboratorium, meliputi *autoclave*, *incubator*, laminar flow, hotplate, *vortex*, lampu bunsen, dan peralatan standar laboratorium mikrobiologi.

Metode

Uji patogenitas isolat

Isolat bakteri *V. harveyi* diuji virulensinya terhadap udang galah untuk memastikan bahwa isolat tersebut virulen sehingga efektif digunakan untuk uji tantang. Uji virulensi dilakukan terhadap larva udang galah stadia 4-6. Uji patogenitas bakteri pada larva dilakukan dengan metode perendaman dengan kepadatan bakteri 10⁷ dan 10⁸ cfu/mL. Bakteri dari larva yang mati dan

berpendar diisolasi dengan media TCBS dan dimurnikan.

Penghitungan konsentrasi bakteri

Penghitungan konsentrasi bakteri *V. harveyi* dilakukan untuk mengetahui kepadatan bakteri per mL media tumbuh, sebagai dasar menetapkan berapa banyak bakteri yang harus diambil untuk dosis uji yang dilakukan. Pengukuran konsentrasi bakteri dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dan hasil yang didapat dibandingkan dengan hasil dari perhitungan metode cawan sebar dari hasil pengenceran seri. Sebelum dilakukan pengukuran OD (*optical density*), bakteri *V. harveyi* dikultur selama 24 jam pada media SWC cair dan disimpan di dalam shaker-inkubator pada suhu 28°C. Setelah 24 jam kultur, bakteri diambil dan dilakukan pengukuran OD dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 Å. Selain itu, dilakukan pengenceran serial terhadap bakteri tersebut untuk metode cawan sebar.

Penyiapan larva udang galah

Populasi induk udang galah GIMacro II umur 8 bulan dipijahkan secara massal di kolam 200 m², dengan rasio kelamin 1 Jantan : 2 betina, selama 20 hari pemeliharaan. Induk betina yang mengerami telur dengan warna kecoklatan dipindahkan ke corong penetasan yang diisi air payau 5‰ steril. Larva yang menetas dalam tiga hari bersamaan dipelihara lanjut sesuai prosedur pembenihan, dengan kepadatan 50 ekor/L.

Uji tantang

Uji tantang dilakukan dengan dua tujuan, yaitu untuk mendapatkan larva yang resisten. Perlakuan menggunakan waskom volume 3 L yang diisi 2 L air bersalinitas 12‰ dan untuk mendapatkan populasi larva bertahan hidup (*survivor*) untuk pembentukan generasi selanjutnya, dilakukan dalam waskom volume 25 L yang diisi 20 L air bersalinitas 12‰.

Uji tantang dilakukan terhadap larva dengan stadia 4-6 (umur 7-9 hari pasca menetas). Larva yang diperoleh disterilkan dengan cara perendaman dalam larutan formaldehid dosis 200 ml/liter selama 30 detik dan larva siap dilakukan uji ketahanan terhadap bakteri *V. harveyi*.

Uji tantang dilakukan dengan metode perendaman, dengan kelimpahan bakteri pada media pemeliharaan larva sebanyak

5 x 10⁵ cfu/mL, mengacu pada Khasani *et al.* (2010). Pengamatan dilakukan setiap 12 jam selama 2 hari terhadap jumlah larva yang mati, morfologi dan tingkah laku larva dibandingkan dengan kontrol. Pada ujiantang dengan waskom volume 3 L digunakan 3 kali ulangan untuk 24 famili dan kontrol (tanpa inokulasi bakteri).

Penghitungan populasi *V. harveyi* dalam badan larva

Densitas bakteri *V. harveyi* dalam badan larva dihitung pada akhir pemeliharaan. Masing-masing sebanyak tiga ekor larva, baik untuk larva mati, larva bertahan hidup dan larva dari wadah kontrol. Larva dimasukkan ke dalam tabung mikro steril yang diisi air larutan NaCl 12‰ steril. Larva dibilas dua kali, kemudian digerus secara aseptis dan dilakukan pengenceran serial, selanjutnya hasil pengenceran serial disebar pada media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile-salt Sucrose*). Inkubasi selama 24-30 jam pada suhu ruang hingga koloni tumbuh dan mudah dihitung.

Kelimpahan total bakteri (*Vibrio sp.* dan *V. harveyi*)

Kelimpahan total bakteri pada media pemeliharaan dan larva dihitung menggunakan metode hitungan cawan sebar dengan perhitungan sebagai berikut (Hadjoetomo, 1993):

$$\Sigma \text{ Bakteri} = N \times \frac{1}{f} \times \frac{1}{\Sigma \text{ penebaran}}$$

di mana:

Σ bakteri = banyaknya sel bakteri (cfu/mL)

N = jumlah koloni bakteri

f = faktor pengenceran

Pembenihan

Larva yang bertahan hidup pada 48 jam pasca ujiantang (selanjutnya disebut populasi resisten) dipersiapkan untuk dipelihara lanjut dalam sistem pembenihan.

Larva dipindahkan ke media baru, dengan terlebih dahulu disaring dan dibilas dengan air payau steril. Larva yang tidak diujiantang digunakan sebagai populasi kontrol. Masing-masing populasi dipelihara dalam 12 wadah sebagai ulangan. Selama pemeliharaan larva diberi pakan berupa naupli artemia dan pakan buatan (*egg custard*). Penggantian air dilakukan untuk mempertahankan volume air sesuai level awal setelah dilakukan penyiponan kotoran. Pemeliharaan larva dilakukan selama 30 hari hingga semua larva mencapai stadia pasca larva (PL). Pengamatan ukuran panjang dan bobot PL serta sintasan dilakukan pada akhir periode pembenihan.

HASIL DAN BAHASAN

Infeksi bakteri *V. harveyi* pada larva udang galah selain menyebabkan dampak akut berupa kematian masal pasca 48 jam infeksi juga menyebabkan dampak kronis berupa infeksi yang menyebabkan gangguan fisiologis yang menghambat pertumbuhan larva dan menurunkan derajat sintasan selama pembenihan (Tabel 1). Dampak infeksi tentunya dipengaruhi oleh kondisi larva dan densitas bakteri dalam badan larva.

Larva udang secara periodik dalam 1-2 hari ganti kulit, sehingga larva yang terinfeksi sangat lemah dan cenderung dimakan larva lainnya, atau terjadi kanibalisme. Berdasarkan pertimbangan karakter larva tersebut maka efek infeksi bakteri terhadap larva didasarkan pada jumlah larva yang bertahan hidup pasca infeksi dibandingkan jumlah larva yang tidak diinfeksi (kontrol).

Keberadaan bakteri patogen dalam badan larva dengan densitas tinggi akan menyebabkan efek kematian pada larva yang sedang ganti kulit. Sementara itu, apabila densitas bakteri relatif rendah dan larva dalam kondisi normal maka infeksi tersebut masih bersifat gangguan terhadap fisiologis yang terakumulasi pada pertumbuhan terhambat.

Tabel 1. Performa pasca larva dan sintasan larva udang galah yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Panjang standar (mm)	Bobot (mg)	Sintasan (%)
Infeksi	6,1 ± 0,8	9,7 ± 4,5	5,8 ± 3,0 ^{a)}
Non-infeksi	6,8 ± 1,1	7,3 ± 2,9	20,4 ± 2,6 ^{b)}

^{a)} Notasi berbeda menunjukkan nilai berbeda nyata

Tabel 2. Performa pasca larva dan sintasan larva udang galah yang diinfeksi bakteri *Vibrio harveyi*

Sampel	Koloni bakteri (x 10 ² cfu/larva)		
	Kuning	Hitam	Hijau
Kontrol	1,03	0	2,7
Larva hidup	4,6	0,3	4,3
Larva mati	51	7,3	10

Kelimpahan bakteri pada larva uji

Kelimpahan bakteri pada larva uji memberikan gambaran bahwa sebagian bakteri *V. harveyi* yang diinokulasikan pada media pemeliharaan larva telah masuk ke dalam badan larva yang diindikasikan dengan populasi bakteri *Vibrio* sp. pada larva yang diinfeksi lebih tinggi dibandingkan larva kontrol. Populasi bakteri genus *Vibrio* yang terdeteksi pada larva uji ditampilkan pada Tabel 2.

Pada 48 jam pasca infeksi, populasi Bakteri *V. harveyi* di dalam badan larva yang mati sangat tinggi, hingga mencapai 10 kali lipat dibandingkan pada larva yang bertahan hidup. Data tersebut mengindikasikan bahwa apabila densitas populasi bakteri dalam badan larva udang mencapai 103 cfu, level infeksi tersebut dapat menyebabkan kematian. Bakteri *V. harveyi* dengan populasi tinggi akan melakukan komunikasi antar sel, dikenal sebagai quorum sensing. Mekanisme komunikasi antar sel tersebut menstimulus produksi ekstraseluler toksin, hemolisin dan metalloprotease (Haldara *et al.*, 2010; Natrah *et al.*, 2011).

KESIMPULAN

Infeksi *Vibrio harveyi* pada larva udang galah GIMacro II menyebabkan performa pasca larva lebih kecil dan sintasan larva menurun

DAFTAR ACUAN

Austin, B., & Zhang, X-H. (2006). *Vibrio harveyi*: a significant pathogen of marine vertebrates and invertebrates. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology*, 43, 119-124.

Bo-guang, S., Dang, W., Suna, L., & Hua, Y-H. (2014). Short communication. *Vibrio*

harveyi Hsp70: Immunogenicity and application in the development of an experimental vaccine against *V. harveyi* and *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 418-419, 144-147.

Chatterjee, S., & Haldar, S. (2012). *Vibrio* related diseases in aquaculture and development of rapid and accurate identification methods. *J. Marine Sci. Res. Dev.*, 5, 1-7.

Gomez, A.C., Bourne, D.G., Hall, M.R., Owens, L., & Høj, L. (2009). Review molecular identification, typing and tracking of *Vibrio harveyi* in aquaculture systems: Current methods and future prospects. *Aquaculture*, 287, 1-10.

Hadioetomo, R.S. (1993). Mikrobiologi dasar dalam praktek. Gramedia. Jakarta.

Haldara, S., Maharajanb, A., Chatterjeea, S., Hunterc, S.A., Chowdhurya, N., Hinenoyaa, A., Asakuraa,M., & Yamasakia, S. (2010). Identification of *Vibrio harveyi* as acausative bacterium for a tail rot disease of sea bream *Sparus aurata* from research hatchery in Malta. *Microbiological Research*, 165, 639-648

Khasani, I., Wahyuningrum, D., & Evan, Y. (2010). Uji ketahanan larva udang galah dari berbagai sumber populasi terhadap bakteri *Vibrio harveyi*. *J. Ris. Akuakultur*, 5(3), 53-57.

New, M.B. (2010). History and global status of freshwater prawn farming. In New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., & Kutty, M.N. (Eds.). *Freshwater Prawns Biology and Farming*. Blackwell Publishing Ltd. Iowa, p. 1-9.

Pillai, D, Johnson, S.K., & Bueno, S.L.S. (2010). Health management. In New, M.B., Valenti, W.C., Tidwell, J.H., D'Abramo, L.R., & Kutty, M.N. (Eds.). *Freshwater Prawns Biology and Farming*. Blackwell Publishing Ltd. Iowa, p. 1-9.

- Ruangpan, L. (1998). Luminous bacteria associated with shrimp mortality. In Flegel, T.W. (Ed.). Advances in shrimp biotechnology. *Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology. 5th Asian Fisheries Forum Chiangmai. Thailand, 11-14 November 1998.*
- Saulnier, D., Haffner, P., Goarant, C., Levy, P., & Ansquer, D. (2000). Experimental infection models for shrimp vibriosis studies: a review. *Aquaculture*, 191, 133-144.
- Sharshar, K.M., & Azab, E.A. (2008). Studies on diseased freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* infected with *Vibrio vulnificus*. *Pakistan Journal of Biological Science*, 11(17), 2092-2100.
- Supriyadi, H., Hadie, L.E., & Hadie, W. (2001). Insidensi infeksi bakteri pada udang galah (*Macrobrachium rosenbergii*). *Prosiding Workshop Hasil Penelitian Udang Galah*, 26 Juli 2001. Jakarta, 12 hlm.
- Vici, V., Singh, B., & Bhat, S.G. (2000). Application of bacterins and yeast *Acremonium dyosporii* to protect the larvae of *Macrobrachium rosenbergii* from vibriosis.
- Wowor, D., & Ng, P.K.L. (2007). The giant freshwater prawns of *Macrobrachium rosenbergii* species group (Crustacea: Decapoda: Caridea: Palaemonidae). *The Raffles Bulletin of Zoology*, 55(2), 321-336.