

APLIKASI BAKTERIN DALAM PEMELIHARAAN LARVA KEPITING BAKAU (*Scylla paramamosain*) SKALA MASSAL

Zafran, Des Roza, Fris Johnny, Ketut Mahardika, dan Ibnu Rusdi

ABSTRAK

Suatu penelitian untuk mengetahui efektivitas bakterin bagi pengendalian infeksi bakteri pada larva kepiting bakau (*Scylla paramamosain*) dalam pemeliharaan skala massal telah dilakukan di hatcheri kepiting Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali. Larva kepiting bakau yang baru menetas direndam dalam suspensi bakterin dengan konsentrasi 10^7 cfu/mL selama tiga jam dan selanjutnya dipelihara dalam bak volume 300 L. Sebagai kontrol adalah larva yang tidak diberi perlakuan bakterin. Penelitian dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Penelitian yang sama dilakukan juga menggunakan wadah 4 ton. Pengamatan dilakukan terhadap sintasan larva sampai stadia megalopa, kepadatan bakteri total, dan bakteri *Vibrio* yang dilakukan setiap 3 hari sekali. Hasil penelitian, baik menggunakan wadah 300 L maupun 4 m³, menunjukkan bahwa sintasan larva yang diberi perlakuan perendaman dalam bakterin ternyata lebih tinggi dan berbeda nyata secara statistik dibanding kontrol.

ABSTRACT: *Application of bacterin in rearing mud crab (Scylla paramamosain) in mass scale. By: Zafran, Des Roza, Fris Johnny, Ketut Mahardika, and Ibnu Rusdi*

An experiment to evaluate the effectiveness of bacterin to control vibriosis in mud crab (Scylla paramamosain) larvae in mass scale was conducted in the Research Institute of Mariculture, Gondol-Bali. Healthy newly hatched larvae of mud crab were bathed for three hours in bacterin suspension at concentration of 10^7 cfu/mL and then reared in 300 L volume of carbonate tanks. Larvae without bacterin treatment were used as a control. The experiment was arranged in Completely Randomized Design with three replicates. The experiment was also conducted using 4 m³ of polycarbonate tanks. The survival of larvae from each group were recorded when the larvae reached megalopae stage. Total bacterial density and Vibrio density in the rearing water were also observed for every 3 days. Result of experiment both using 300 L and 4 ton of polycarbonate tanks showed that survival rate of larvae bathed in bacterin were higher and significantly different as compared to control groups.

KEYWORDS: *Scylla paramamosain larvae, vibriosis, bacterin*

PENDAHULUAN

Kepiting bakau (*Scylla* spp.) merupakan komoditas penting sebagai sumber mata pencaharian bagi pembudi daya perikanan di daerah Indo-Pasifik (Keenan, 1999). Bahkan belakangan dijadikan spesies target setelah udang. Hal tersebut tidak berlebihan mengingat kepiting bakau mempunyai pangsa pasar yang belum tergarap secara optimum, baik untuk pasar dalam negeri maupun pasar ekspor. Hanya saja pengembangan budi daya komoditas ini masih menghadapi kendala, yaitu terbatasnya suplai benih. Pada umumnya benih yang dibutuhkan masih berasal dari usaha penangkapan di alam.

Usaha untuk memproduksi benih sebetulnya sudah lama dilakukan di berbagai negara namun hasilnya belum memuaskan, sintasan yang diperoleh masih sangat rendah dan tidak stabil. Pengendalian penyakit mungkin merupakan salah satu aspek dalam upaya

meningkatkan sintasan karena penyebab utama kematian larva kepiting bakau stadia awal adalah infeksi bakteri (Mann *et al.*, 1999). Larva kepiting bakau sudah diketahui rentan terhadap infeksi *Vibrio harveyi* bercahaya (Boer *et al.*, 1993). Faktor lainnya kemungkinan adalah pengelolaan pakan (Quinitio *et al.*, 1999).

Dari penelitian yang telah dilakukan di laboratorium diketahui bahwa larva kepiting bakau memberikan respon positif terhadap perlakuan bakterin (Zafran & Johnny, 1999; Roza *et al.*, 2001). Bahkan Zafran (2003) melaporkan bahwa perlindungan yang diberikan oleh bakterin *Vibrio harveyi* terhadap infeksi *Vibrio harveyi* bercahaya pada larva kepiting bakau masih terdapat sampai larva mencapai stadia megalopa. Hanya saja fenomena di atas belum dibuktikan dalam pemeliharaan larva skala massal di hatcheri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah larva kepiting bakau yang dipelihara dalam skala

massal di hatcheri juga memberikan respon yang sama terhadap perlakuan bakterin sebagaimana hasil penelitian yang telah dilakukan dalam skala laboratorium.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Bakterin

Bakterin dibuat dengan cara mematikan bakteri *Vibrio harveyi* bercahaya yang telah terbukti patogen terhadap larva kepiting bakau. Bakteri *V. harveyi* terlebih dulu ditumbuhkan di atas media *Tryptic Soy Agar* (TSA) + 2% NaCl selama 24—48 jam pada suhu 27°C. Bakteri tersebut selanjutnya dipanen ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan formalin sehingga dicapai konsentrasi akhir 0,5%. Setelah diinkubasi selama semalam maka suspensi bakteri dicuci dengan garam fisiologis (NaCl 0,85%) sebanyak tiga kali melalui proses sentrifugasi. Kepadatan sel bakteri dapat diketahui dengan mengambil 1 mL suspensi bakteri sebelum diberi formalin, dilakukan serangkaian pengenceran 10 kali dan kemudian 0,1 mL dari tiga pengenceran terakhir diinokulasikan ke atas media agar *Thiosulphate Cytrate Bile Salt Sucrose* (TCBS). Kepadatan bakteri diketahui dengan mengalikan koloni bakteri yang tumbuh dengan faktor pengenceran. Kepadatan sel bakteri dinyatakan dalam *colony forming unit* (cfu) per mL. Kepadatan sel bakteri *V. harveyi* yang telah dimatikan diatur sehingga mencapai jumlah 10^{10} cfu/mL dan disimpan dalam lemari pendingin (4°C) sampai digunakan.

Aplikasi Bakterin

Larva kepiting bakau yang baru menetas direndam dalam suspensi bakterin dengan konsentrasi 10^7 cfu/mL selama tiga jam menggunakan wadah stoples plastik bervolume 10 L. Sebagai kontrol adalah larva yang tidak diberi perlakuan bakterin. Larva selanjutnya

dipelihara sebagaimana biasa menggunakan wadah 300 L. Penelitian dilakukan dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga ulangan. Percobaan juga dilakukan menggunakan wadah yang lebih besar, yaitu dua buah bak polycarbonate volume 4 m³. Pengamatan dilakukan terhadap sintasan larva sampai mencapai stadia megalopa, kepadatan bakteri total dan bakteri *Vibrio* dalam air pemeliharaan larva. Perhitungan kepadatan bakteri dilakukan setiap tiga hari. Selama pemeliharaan (12 hari), larva diberi pakan alami rotifer, artemia, dan pakan buatan. Rotifer diberikan dua kali sehari dengan kepadatan 10—20 individu/mL. Naupli artemia diberikan mulai stadia zoea-2 akhir dengan kepadatan 0,5—2 individu/mL. Sedangkan pakan buatan diberikan 1 g/m³ air dan diberikan pagi dan sore hari. Penggantian air sekitar 20% dilakukan setiap dua hari sekali dimulai sejak larva mencapai stadia zoea-2. Suhu air pemeliharaan diatur 30°C ± 1 dengan menggunakan *heater*. Sedangkan salinitas air pemeliharaan dipertahankan tetap 30 ppt.

HASIL DAN BAHASAN

Percobaan Skala 300 L

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sintasan larva kepiting bakau yang diberi perlakuan bakterin ternyata lebih tinggi dibanding kontrol. Hasil tersebut tetap konsisten dari tiga kali penelitian yang dilakukan. Data sintasan larva kepiting bakau dari masing-masing kelompok disajikan pada Tabel 1.

Pada percobaan pemeliharaan pertama tidak terdeteksi keberadaan bakteri *Vibrio harveyi* bercahaya sehingga sintasan larva, baik dari kelompok perlakuan maupun kontrol, tidak berbeda secara statistik ($P > 0,05$). Akan tetapi pada percobaan yang kedua dan ketiga di mana kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* bercahaya dalam air pemeliharaan larva kepiting mencapai 10^4 cfu/mL (Tabel 2), terdapat

Tabel 1. Sintasan larva kepiting bakau yang diberi bakterin sampai stadia megalopa dari tiga kali percobaan menggunakan wadah volume 300 L

Table 1. Survival rate of the larvae of mangrove crab treated with bacterin up to megalopal stage using 300 L tank

Perlakuan <i>Treatment</i>	Sintasan (<i>Survival rate</i>) (%) [*]		
	Percobaan I <i>1st test</i>	Percobaan II <i>2nd test</i>	Percobaan III <i>3rd test</i>
Kontrol (<i>Control</i>)	6.09 ± 1.14 ^a	0.15 ± 0.20 ^a	0.39 ± 0.18 ^a
Bakterin (<i>Bacterin</i>)	8.22 ± 2.05 ^a	3.88 ± 2.09 ^b	2.87 ± 1.84 ^b

Keterangan (*Remark*):

* Hasil rata-rata dari 3 ulangan (*The average of 3 replicates*). Perbandingan adalah vertikal. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda secara statistik (*Comparison is vertical. Values with the same superscripts are not significantly different*) ($P > 0.05$)

Tabel 2. Kepadatan bakteri dalam air pemeliharaan larva kepiting bakau dari 3 kali percobaan menggunakan wadah 300 L

Table 2. Bacterial density in the rearing water during three times rearing experiment using 300 L tanks

Hari Day	Kepadatan bakteri Bacterial density (cfu/mL)	Percobaan I 1 st test		Percobaan II 2 nd test		Percobaan III 3 rd test	
		A	B	A	B	A	B
0	Total	6.0 x 10 ³	7.0 x 10 ³	5.3 x 10 ⁴	5.6 x 10 ⁴	1.3 x 10 ⁵	7.4 x 10 ⁴
	<i>Vibrio</i>	1.6 x 10 ³	1.1 x 10 ³	1.4 x 10 ²	5.3 x 10 ²	1.7 x 10 ³	5.7 x 10 ²
	<i>Vibrio harveyi</i>	TTD	TTD	TTD	TTD	3.3 x 10	3.3 x 10
3	Total	9.3 x 10 ³	1.2 x 10 ³	2.6 x 10 ⁴	1.8 x 10 ⁴	3.7 x 10 ⁴	8.0 x 10 ⁴
	<i>Vibrio</i>	4.7 x 10 ²	4.3 x 10 ²	1.0 x 10 ²	1.3 x 10 ²	3.1 x 10 ³	3.5 x 10 ³
	<i>Vibrio harveyi</i>	TTD	TTD	TTD	TTD	2.6 x 10 ³	2.2 x 10 ³
6	Total	3.5 x 10 ⁴	1.9 x 10 ⁴	3.9 x 10 ⁴	3.2 x 10 ⁴	8.7 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁴
	<i>Vibrio</i>	2.6 x 10 ³	7.3 x 10 ³	1.2 x 10 ⁴	4.2 x 10 ³	5.8 x 10 ³	7.8 x 10 ³
	<i>Vibrio harveyi</i>	TTD	TTD	8.6 x 10 ³	3.2 x 10 ³	4.4 x 10 ³	5.9 x 10 ³
9	Total	6.6 x 10 ⁴	1.7 x 10 ⁴	2.7 x 10 ⁴	2.6 x 10 ⁴	2.0 x 10 ⁴	4.5 x 10 ⁴
	<i>Vibrio</i>	1.9 x 10 ⁴	9.6 x 10 ³	1.2 x 10 ⁴	2.0 x 10 ⁴	8.0 x 10 ³	1.3 x 10 ⁴
	<i>Vibrio harveyi</i>	TTD	TTD	1.0 x 10 ⁴	1.6 x 10 ⁴	3.4 x 10 ³	4.0 x 10 ³
12	Total	1.1 x 10 ⁵	5.4 x 10 ⁴	1.2 x 10 ⁴	2.6 x 10 ⁴	4.7 x 10 ⁴	5.5 x 10 ⁴
	<i>Vibrio</i>	3.3 x 10 ⁴	2.3 x 10 ⁴	5.3 x 10 ³	7.4 x 10 ³	1.0 x 10 ⁴	7.4 x 10 ³
	<i>Vibrio harveyi</i>	2.0 x 10 ³	3.3 x 10	2.5 x 10 ³	2.7 x 10 ³	6.1 x 10 ³	4.1 x 10 ³

Keterangan (Remark): TTD= tidak terdeteksi (*not detected*); A= kontrol (*control*); B= direndam dalam suspensi bakterin (*bathed in bacterin suspension*)

perbedaan yang nyata antara sintasan larva yang diberi perlakuan perendaman dalam bakterin dibanding kontrol ($P < 0,05$). Di bawah kondisi tersebut terlihat sintasan larva turun dibandingkan percobaan pertama, akan tetapi terlihat perbedaan antara kelompok perlakuan dan kontrol. Hasil ini merupakan pembuktian terhadap hasil penelitian skala laboratorium yang telah dilakukan sebelumnya (Zafran & Johnny, 1999; Roza *et al.*, 2001).

Hasil percobaan dalam skala massal langsung di hatcheri ini membawa angin segar bagi pengembangan usaha pembenihan kepiting bakau. Selama ini, di hatcheri udang, penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri umumnya ditanggulangi menggunakan antibiotik yang sudah diketahui mempunyai dampak negatif, antara lain terbentuknya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik, dan mencemari lingkungan. Sedangkan bakterin tidak mempunyai dampak negatif sebagaimana antibiotik sehingga tidak ada keraguan apabila diaplikasikan di pembenihan.

Percobaan Skala 4 m³

Dalam percobaan menggunakan wadah 4 m³ ternyata sintasan larva yang diberi perlakuan

perendaman dalam bakterin juga lebih tinggi dan berbeda nyata secara statistik dibanding kontrol yang tanpa perlakuan bakterin, yaitu masing-masing 3,14% untuk kelompok perlakuan dan hanya 0,74% untuk kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa bakterin mampu memberikan perlindungan kepada larva kepiting bakau yang dipelihara di bawah kondisi hatcheri. Untuk ke depan, perlakuan bakterin ini dapat dimasukkan ke dalam paket teknologi pembenihan kepiting bakau.

Kepadatan bakteri total pada kontrol berkisar dari 2,3 x 10³—3,0 x 10⁴ cfu/mL dan 3,7 x 10³—5,4 x 10⁴ cfu/mL pada perlakuan bakterin; Total vibrio pada kelompok kontrol berkisar dari 2,7 x 10²—2,6 x 10⁴ cfu/mL dan 4,0 x 10—8,1 x 10⁴ cfu/mL pada perlakuan bakterin; Sedangkan bakteri *Vibrio harveyi* bercahaya pada kedua kelompok mencapai 10⁴ cfu/mL. Kondisi ini, terutama kepadatan *V. harveyi*, sudah berada pada kondisi yang kritis bagi larva kepiting bakau. Dari penelitian terdahulu sudah diketahui bahwa pada kepadatan 10³ cfu/mL bakteri *V. harveyi* telah dapat menyebabkan kematian yang signifikan bagi larva kepiting bakau stadia zoea awal.

Infeksi *Vibrio harveyi* bercahaya atau penyakit kunang-kunang merupakan salah satu ancaman serius dalam produksi berbagai spesies krustasea di

hatcheri, antara lain terhadap larva *Penaeus monodon* (Baticados *et al.*, 1990; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1990; Karunasagar *et al.*, 1994; Zafran *et al.*, 1994; Prayitno & Latchford, 1995), *Penaeus vannamei* (Robertson *et al.*, 1998), *Artemia* (Prayitno & Latchford, 1995), dan *Macrobrachium rosenbergii* (Zafran & Jepun, 2004). Pada udang, vibriosis ini telah dilaporkan dapat diatasi dengan cara vaksinasi bakterin melalui perendaman (Horne *et al.*, 1995; Zafran *et al.*, 1998; Teunissen *et al.*, 1998; Alabi *et al.*, 1999).

Mekanisme bagaimana bakterin ini mampu mengaktifkan sistem kekebalan tubuh larva kepiting bakau belum diketahui, tetapi Vadstein (1997) melaporkan bahwa pada stadia larva, ikan maupun krustase, sistem kekebalan yang bisa dirangsang adalah sistem kekebalan non-spesifik. Vargas-Albores & Yepiz-Plascencia (2000) melaporkan bahwa komponen dari dinding sel bakteri dan jamur seperti lipopolysaccharide (LPS) dan β -glucan mampu mengaktifkan secara langsung fungsi seluler seperti fagositosis, melanisasi, enkapsulasi, dan koagulasi pada udang. Mekanisme yang sama diduga juga terjadi pada kepiting bakau.

KESIMPULAN

Larva kepiting bakau (*Scylla paramamosain*) memberikan respon kebal positif terhadap perlakuan perendaman dalam suspensi bakterin di mana sintasan larva kepiting bakau yang diberi perlakuan perendaman dalam suspensi bakterin lebih tinggi dan berbeda nyata secara statistik dibanding kontrol ($P < 0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disarankan untuk memasukkan perendaman larva kepiting bakau dalam bakterin sebagai salah satu bagian dari paket teknologi pembenihan kepiting bakau.

DAFTAR PUSTAKA

- Alabi, A.O., D.A. Jones, and J.W. Latchford. 1999. The efficacy of immersion as opposed to oral vaccination of *Penaeus indicus* against *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 178: 1—11.
- Baticados, M.C.L., C.R. Lavilla-Pitogo, E.R. Cruz-Lacierda, L.D. de la Pena, and N.A. Sunaz. 1990. Studies on the chemical control of luminous bacteria *Vibrio harveyi* and *V. splendidus* isolated from diseased *Penaeus monodon* larvae and rearing water. *Dis. Aquat. Org.*, 9: 133—139.
- Boer, D.R., Zafran, A. Parenrengi, dan T. Ahmad. 1993. Studi pendahuluan tentang penyakit kunang-kunang pada larva kepiting bakau, *Scylla serrata*. *J. Pen. Per. Pantai*, 9(3): 119—124.
- Horne, M.T., M. Poy, and P. Pranthanpipat. 1995. Control of vibriosis in black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, by vaccination. In *Diseases in Asian Aquaculture II*. M. Shariff, J.R. Arthur, and R.P. Subasinghe (Eds.). *Fish Health Section*, Asian Fisheries Society. Manila, p. 459—467.
- Karunasagar, I., R. Pai, G.R. Malathi, and I. Karunasagar. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203—209.
- Keenan, C.P. 1999. Aquaculture of the mud crab, genus *Scylla*-past, present and future. In *Mud crab aquaculture and biology*. C.P. Keenan and Blackshaw (Eds.). *Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin Australia, 21-24 April 1997*. p. 9—13.
- Lavilla-Pitogo, C.R., M.C.L. Baticados, E.R. Cruz-Lacierda, and L.D. de la Pena. 1990. Occurrence of luminous bacterial disease of *Penaeus monodon* larvae in the Philippines. *Aquaculture*, 91: 1—13.
- Mann, D., T. Asakawa, and M. Pizutto. 1999. Investigation into the reproductive and larval culture biology of the mud crab, *Scylla paramamosain*: A research overview. In *Mud crab aquaculture and biology*. C.P. Keenan and Blackshaw (Eds.). *Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin Australia, 21-24 April 1997*, p. 153—158.
- Prayitno, S.B. and J.W. Latchford. 1995. Experimental infections of crustacean with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*: effect of salinity and pH on infectiosity. *Aquaculture*, 132: 105—112.
- Quinitio, E.T., F. Parado-Esteba, and V. Alava. 1999. Development of hatchery technique for the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) : Comparison of feeding schemes. In *Mud crab aquaculture and biology*. C.P. Keenan and Blackshaw (Eds.). *Proceedings of an International Scientific Forum held in Darwin Australia, 21-24 April 1997*. p. 125—130.
- Robertson, P.A.W., J. Calderon, L. Carera, J.R. Stark, M.Zherdmant, and B. Austin. 1998. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. *Dis. Aquat. Org.*, 32: 151—155.
- Roza, D., F. Johnny, dan Yunus. 2001. Pengendalian vibriosis pada larva kepiting bakau menggunakan bakterin. *J. Pen. Per. Indonesia*, 7(3): 28—32.
- Teunissen, O.S.P., R. Faber, G.H.R. Booms, T. Latscha, and J.H. Boon. 1998. Influence of vaccination on vibriosis resistance of the giant black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture*, 164: 359—366.
- Vadstein, O. 1997. The use of immunostimulation in marine larviculture: Possibilities and challenges. *Aquaculture*, 155: 401—417.
- Vargas-Albores, F. and G. Yepiz-Plascencia. 2000. Beta glucan binding protein and its role in shrimp immune response. *Aquaculture*, 191: 13—21.
- Zafran, D. Roza, K. Sugama, S. Wada, and K. Hatai. 1994. Histological study of luminescent *Vibrio harveyi* infection in hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. In *Chou et al.* (Eds.). *Proceedings of the Third Asian Fisheries Forum*. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 294—297.

- Zafran dan F. Johnny. 1999. Respons larva kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap vaksin anti *Vibrio harveyi*. *Prosiding Simposium V Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia*. Malang, p. 384—388.
- Zafran, F. Johnny, D. Roza, I. Koesharyani, and K. Hatai. 1998. Increased survival of *Penaeus monodon* larvae treated with *Vibrio harveyi* bacterin. *Fish Pathology*, 33(4): 449—450.
- Zafran. 2003. Lama kekebalan yang diberikan oleh perlakuan bakterin pada larva kepiting bakau (*Scylla serrata*) terhadap infeksi *Vibrio harveyi* bercahaya. *J. Ilmu-Ilmu Perairan dan Per. Indonesia*, 10(2): 105—107.
- Zafran dan N.M. Jepun. 2004. Infeksi alami dan buatan larva udang galah oleh bakteri *Vibrio harveyi* bercahaya. *Prosiding Lokakarya Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia VII*. Malang, p. 634—639.

