

KOMUNIKASI RINGKAS

PERCOBAAN PENGENDALIAN BAKTERI BERCAHAYA, *Vibrio harveyi* YANG BERASAL DARI LARVA KEPITING BAKAU, *Scylla serrata* SECARA "IN VITRO" DENGAN BERBAGAI JENIS ANTIBIOTIK

Ibnu Rusdi¹⁾ dan Zafran^{*}

ABSTRAK

Uji secara "in vitro" tiga jenis bahan kimia (antibiotik), masing-masing adalah Oksitetrasiklin, Prefuran, dan Furazolidon dalam menanggulangi *Vibrio harveyi* yang diisolasi dari larva kepiting bakau, *Scylla serrata* sakit dilakukan di Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol, Bali. Tujuan utama penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi terendah yang efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi* dan efektivitasnya dalam menekan mortalitas larva akibat serangan *V. harveyi*. Oksitetrasiklin, Prefuran, dan Furazolidon efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi* pada konsentrasi masing-masing 6,25; 12,50; dan 12,50 mg/L. Hasil aplikasi dalam pemeliharaan larva ternyata ketiga jenis antibiotik tersebut mampu menekan mortalitas larva akibat serangan *V. harveyi*.

ABSTRACT: *Efficacy of three chemotherapeutants againts luminescent vibriosis caused by Vibrio harveyi in mangrove crab, Scylla serrata larvae. By: Ibnu Rusdi and Zafran.*

In vitro activity of three chemotherapeutants, namely Oxytetracycline, Prefuran and Furazolodone againts *Vibrio harveyi* isolated from diseased of mangrove crab, *Scylla serrata*, larvae sampled from Gondol, Bali, were tested for their minimal inhibitory concentration (MIC) using the serial dilution methode in peptone broth with 1% NaCl. The effective MIC values of Oxytetracycline, Prefuran and Furazolodone againts *Vibrio harveyi* are 6.2, 12.5, and 12.5 mg/L. When used therapeutically, all of three chemotherapeutants reduced mortalities caused by *Vibrio harveyi*.

KEYWORDS: *Chemotherapeutants, Vibrio harveyi, Scylla serrata.*

PENDAHULUAN

Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol, Bali telah menemukan jenis penyakit yang menyerang larva kepiting bakau, *Scylla serrata* yang mempunyai kesamaan dengan penyakit pada larva udang windu, *Penaeus monodon*. Hal ini dimungkinkan karena kedua jenis hewan ini masih berada dalam satu kelas, yakni krustasea.

Larva udang windu dilaporkan sensitif terhadap infeksi bakteri vibrio bercahaya (Baticados *et al.*, 1990; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1992; Zafran *et al.*, 1994). Hal yang sama juga dilaporkan pada larva kepiting bakau sebagaimana yang ditemukan di panti benih Gondol, Bali (Boer *et al.*, 1993).

Selain itu larva kepiting bakau juga dapat diinfeksi oleh Baculovirus (Andreson & Prior, 1992).

Vibriosis pada larva dapat diatasi antara lain dengan penggunaan bahan kimia atau antibiotik, namun pemilihan antibiotik yang digunakan harus betul-betul tepat baik jenis maupun dosisnya. Penggunaan antibiotik secara sembarangan selain tidak ekonomis dan berdampak mencemari lingkungan, juga dikhawatirkan dapat menimbulkan strain-strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui dosis yang efektif dari beberapa jenis antibiotik yang sangat umum digunakan di panti benih

¹⁾ Peneliti pada Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol - Bali

dalam mengendalikan penyakit vibrio bercahaya, yakni Oksitetrasiklin (OTC), Prefuran (Pr) dan Furazolidon (FN). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada praktisi panti benih dalam upaya mengatasi penyakit vibrio bercahaya pada larva kepiting bakau di masa mendatang.

BAHAN DAN METODE

a. Uji Konsentrasi Hambat Terendah (Minimum Inhibitory Concentration-MIC) Beberapa Jenis Antibiotik terhadap *Vibrio harveyi*

Dosis masing-masing antibiotik dibuat melalui metode pengenceran dua kali dalam larutan pepton yang mengandung 1% NaCl. Metode pengenceran dua kali umum digunakan untuk uji MIC (Ruangpan & Kitio, 1992). Sampai sekarang belum ada standar baku untuk kisaran konsentrasi obat dalam uji MIC (Lightner, 1996), sehingga dalam percobaan ini diambil kisaran antara 0,1-400 mg/L. Pada langkah pertama disiapkan 13 tabung reaksi. Tabung pertama dibiarkan kosong, sedang tabung ke-2 sampai ke-13 diisi dengan larutan pepton yang mengandung 1% NaCl masing-masing 5 mL. Pada langkah ke-2, ke dalam Erlenmeyer yang sudah diisi larutan pepton yang mengandung 1% NaCl ditambahkan antibiotik uji sehingga dicapai konsentrasi 400 mg/L. Dari larutan pepton yang sudah mengandung 400 mg/L antibiotik uji ini diambil masing-masing 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi nomor 1 dan 2. Tabung reaksi pertama, dengan demikian akan berisi 5 mL pepton dengan konsentrasi antibiotik 400 mg/L. Dari tabung reaksi ke-2 selanjutnya diambil 5 mL dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi nomor 3 dan seterusnya sampai tabung reaksi nomor 13. Kelebihan 5 mL pada tabung reaksi ke-13 dibuang sehingga volume setiap tabung reaksi sama-sama 5 mL. Dengan cara demikian konsentrasi akhir antibiotik uji dalam ketiga belas tabung reaksi adalah 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,1; 1,6; 0,8; 0,4; 0,2 dan 0,1 mg/L. Ke dalam tabung reaksi kemudian diinokulasikan suspensi bakteri uji (setara dengan McFarland Equivalence Turbidity Standard 1,0) masing-

masing satu ose. Semua proses di atas dilakukan dalam *clean bench* sehingga tidak terjadi kontaminasi. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Dalam penelitian ini juga digunakan 5 mL pepton yang mengandung 1% NaCl yang tidak diinokulasi bakteri uji sebagai kontrol negatif dan 5 mL pepton yang mengandung 1% NaCl yang diinokulasi bakteri sebagai kontrol positif. Media uji selanjutnya diinkubasikan pada suhu 25°C selama 24 jam. Nilai MIC dilihat dari dosis terendah masing-masing antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan masing-masing pertumbuhan bakteri uji. Bakteri yang tumbuh dapat dibedakan dari yang tidak tumbuh secara visual dengan melihat kejernihan atau kekeruhan media uji, dalam hal ini larutan pepton.

b. Uji Efektivitas Antibiotik dalam Penanggulangan Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi*

Penelitian dilaksanakan menggunakan 12 wadah dimasukkan masing-masing 100 ekor zoea kepiting bakau yang baru menetas. Selanjutnya ke dalam air pemeliharaan diinfeksi ketiga antibiotik uji dalam menanggulangi infeksi *V. harveyi* pada larva kepiting bakau, maka ke dalam wadah yang telah ditentukan dimasukkan antibiotik Oksitetrasiklin, Prefuran dan Furazolidon dengan dosis sesuai nilai MIC yang diperoleh pada penelitian. Sedangkan untuk kontrol yaitu tanpa pemberian antibiotik. Penelitian dilaksanakan menggunakan rancangan acak lengkap, masing-masing diulang sebanyak tiga kali. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam terhadap sintasan larva kepiting bakau pada masing-masing perlakuan dengan menghitung jumlah total larva yang masih hidup. Selama percobaan, larva diberi pakan Rotifer, *Brachionus rotundiformis* dan *Chlorella*. Untuk mencegah infeksi jamur selama percobaan maka digunakan Treflan (Trifluralin) dengan dosis 0,1 mg/L (Zafran & Taufik, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji dosis terendah ketiga jenis antibiotik yang efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Nilai MIC tiga jenis bahan kimia terhadap *Vibrio harveyi* yang diisolasi dari larva kepiting bakau, *Scylla serrata* sakit.

Table 1. MIC values of three chemotherapeutants against *Vibrio harveyi* isolated from the diseased mangrove crab, *Scylla serrata* larvae.

Chemotherapeutants	Nilai MIC (MIC value) (mg/L)
Oxytetracycline (OTC)	6.25
Prefuran (Pr)	12.50
Furazolidone (FN)	12.50

Dari jenis antibiotik uji terlihat bahwa nilai MIC untuk Oksitetrasiklin adalah paling rendah, yaitu 6,25 mg/L, sedangkan Prefuran dan Furazolidon baru mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* masing-masing pada dosis 12,5 mg/L. Nilai MIC antibiotik OTC dan FN terhadap *V. harveyi* pada penelitian ini lebih tinggi dibanding nilai MIC OTC dan FN terhadap *V. harveyi* yang diisolasi dari larva udang windu di Loka Penelitian Perikanan Pantai-Gondol yaitu masing-masing 1,9 mg/L dan 1,9-3,9 mg/L (Zafran *et al.*, 1997). Adanya perbedaan tersebut diduga karena strain *V. harveyi* yang diisolasi dari larva kepiting bakau berbeda dengan strain yang diisolasi dari larva udang windu. Namun hal ini tentunya memerlukan penelitian yang lebih lanjut untuk membuktikannya. Penerapan anti-

biotik secara periodik sedikitnya setiap dua bulan sekali.

Hasil pengamatan sintasan larva kepiting bakau setelah 48 jam percobaan menunjukkan bahwa ketiga antibiotik yang digunakan mampu mencegah infeksi *V. harveyi* pada larva sehingga sintasan larva pada perlakuan yang diberi antibiotik jauh lebih tinggi dibanding kontrol. Terlihat bahwa Prefuran dan Furazolidon memberikan sintasan yang tertinggi dan secara statistik berbeda nyata dengan Oksitetrasiklin maupun kontrol, sedangkan Oksitetrasiklin terlihat masih lebih baik dibanding kontrol ($P < 0,05$). Ketiga antibiotik uji sudah dikenal sebagai antibiotik yang berspektrum luas (Untergasser, 1989; Murray *et al.* 1990). Hasil lengkap uji efektivitas ketiga antibiotik disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata sintasan (%) larva kepiting bakau, *S. serrata* pada masing-masing perlakuan selama 48 jam pengamatan.

Table 2. Average survival rate (%) of mangrove crab, *Scylla serrata* larvae after 48-hour treatment with chemotherapeutants.

Perlakuan Treatment	Dosis Dosage (mg/L)	Sintasan rata-rata Average survival rate (%)
Oxytetracycline	6.25	64.00 ^b
Prefuran	12.50	72.00 ^c
Furazolidone	12.50	70.67 ^c
Control	0.00	34.67 ^a

Rata-rata dalam kolom yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

Averages in columns with the same superscripts indicate not significantly different ($P > 0.05$)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa infeksi *V. harveyi* pada larva kepiting bakau dapat dicegah, dalam hal ini menggunakan antibiotik secara tepat, yaitu setelah melalui uji laboratorium guna menentukan dosis yang efektif juga dapat merangsang terbentuknya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

Aoki (1974) menyatakan bahwa penggunaan antibiotik yang terlalu sering dapat menyebabkan resistensi bagi populasi bakteri transfer "R-plasmid" yang terdapat dalam DNA bakteri. Selain transfer antar individu melalui proses konjugasi, R-plasmid juga dapat ditransfer pada saat pembelahan sel di mana R-plasmid juga ikut mengalami pembelahan. Gejala resistensi bakteri terhadap antibiotik telah banyak dilaporkan, antara lain oleh Aoki (1992), Baticados & Paclibare (1992), Ruangpan & Kitao (1992), dan Zhao *et al.* (1992). Zafran *et al.* (1997) melaporkan bahwa nilai MIC tiga jenis antibiotik terhadap *Vibrio*, terutama *V. harveyi*, selalu lebih tinggi pada *V. harveyi* yang diisolasi dari panti benih udang Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol, Bali, yang tidak menggunakan antibiotik. Gejala yang sama juga ditemukan oleh Karunasagar *et al.* (1994) di India di mana kematian massal larva udang windu, *Penaeus monodon* di panti benih, ternyata disebabkan oleh strain *V. harveyi* berbahaya yang sudah resisten akibat penggunaan antibiotik kloramfenikol secara intensif.

KESIMPULAN

1. Prefuran dan Furazolidon pada konsentrasi masing-masing 12,5 mg/L serta Oksitetrasiklin 6,25 mg/L efektif menghambat perkembangan *Vibrio harveyi*.
2. Prefuran (12,5 mg/L) dan Furazolidon (12,5 mg/L) memberikan sintasan larva yang terbaik dibanding Oksitetrasiklin (6,25 mg/L) dan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, I.G. and H.C. Prior. 1992. Baculovirus infection in the mud crab, *Scylla serrata*, and a freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, from Australia. J. of Invertebrate Pathology, 60(3): 265-273.
- Aoki, T. 1974. Studies of drug resistant bacteria isolated from water of carp ponds and intestinal tracts of carp. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 40:247-254.
- Aoki, T., 1992. Chemotherapy and drug resistance in fish farm in Japan. In Shariff, M., R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds). Diseases in Asian Aquaculture I. fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 519-529.
- Baticados, M.C.L., F.R. Cruz-Lacierda, M.C. de la Cruz, R.C. Duremdez Fernandez, R.R. Gacutan, C.R. Lavilla-Pitago, and G.D. Lio-Po. 1990. Diseases of penaeid shrimps in the Philippines. In Shariff, M., R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds). Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 531-546.
- Boer, D.R., Zafran, A. Parenrengi, dan T. Ahmad. 1993. Studi pendahuluan penyakit kunang-kunang pada larva kepiting bakau, *Scylla serrata*. J. Penelitian Budidaya Pantai, 9(3):119-124.
- 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.
- Lavilla-Patogo, C.R., L.C. Albright, M.C. Paner, and N.A. Sunaz. 1992. Studies on the sources of luminescent *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* hatcheries. In M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds). Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 157-164.
- Lightner, D.V. 1996. A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. The World Aquaculture Society, Louisiana, U.S.A. 220 pp.
- Murray, P.R., W.L. Drew., Drew, G.S. Kobayashi, and J.H. Thompson. 1990. Medical microbiology. Mosby Company, USA.
- Ruangpan, L. and T. Kitao. 1992. Minimal inhibitory concentration of 19 chemotherapeutants against *Vibrio* bacteria of shrimp, *Penaeus monodon*. In M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds). Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 135-142.
- Untergasser, D. 1989. Handbook of fish diseases. T.F.H. Publications, Inc. 160 pp.
- Zafran, D.R. Boer, K. Sugama, K. Hatai, and S. Wada. 1994. Histological study of luminescent *Vibrio harveyi* infection in hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. In Proceedings of the Third Asian Fisheries Forum, Singapore. 294-297.
- Zafran, D.Roza, dan I. Koesharyani. 1997. Resistensi isolat *Vibrio* dari beberapa panti benih udang windu (*Penaeus monodon*) terhadap antibiotik. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, II (1): 11-15.

Zafran dan I. Taufik. 1996. Efektivitas berbagai fungisida dalam menghindarkan infeksi *Lagenidium* sp. pada larva kepiting bakau (*Scylla serrata*). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, II (1): 15-21.

Zhao, J., E.H.Kim, T. Kobayashi, and T. Aoki. 1992. Drug resistance of *Vibrio anguillarum* isolated from Ayu between 1989 and 1991. Nippon Suisan Gakkaishi, 58(8): 1523-1527.