

## KOMUNIKASI RINGKAS

### STUDI TENTANG ORGANISME PENYEBAB BERCAK MERAH PADA BAK PEMELIHARAAN LARVA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*)

Des Roza<sup>\*</sup>), Zafran<sup>\*</sup>), dan Isti Koesharyani<sup>\*</sup>)

#### ABSTRAK

*Vibrio harveyi* merupakan salah satu jenis bakteri yang sering menyebabkan kematian massal larva pada panti benih udang windu. Selain menyebabkan larva udang yang terinfeksi kelihatan menyala dalam keadaan gelap (kunang-kunang) *V. harveyi* juga dapat menyebabkan bercak merah pada bak pemeliharaan. Dua isolat bakteri telah diisolasi dari bercak merah yang terjadi pada bak pemeliharaan larva udang windu. Karakteristik dari kedua isolat ini adalah bersifat gram-negatif, oksidase dan katalase positif, fermentatif, sensitif terhadap agen vibriostatik (O/129), novobiocin, aminobenzil penisilin, eritromisin, dan kloramfenikol. Kedua isolat tumbuh baik pada media TCBSA dengan membentuk koloni berwarna kuning, dan diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi*. Dari uji tingkat keganasan terbukti bahwa kedua isolat ini bersifat mematikan terhadap larva udang windu (*Penaeus monodon*).

**ABSTRACT:** *Study on organism causing of red spot in larvae rearing tank of Penaeus monodon. By : Des Roza, Zafran, and Isti Koesharyani*

*Mass mortality cases of Penaeus monodon larvae in hatcheries were mainly caused by Vibrio harveyi infection. Underdark condition, they were luminescent and they also formed red spots in the rearing tank. Two isolates of bacteria were isolated from the red spot found at the bottom of P. monodon larvae rearing tank. The isolates were gram negative, rod shaped, gave positive oxidase and catalase reaction, utilized glucose fermentatively in Hugh-Leifson's semi solid medium. The isolates were sensitive to vibriostatic agent (O/129), novobiocin, aminobenzyl phenilchloride, erythromycin and chloramphenicol. Growth occurred on TCBSA with yellow colony. These isolates were classified as Vibrio harveyi and by infectivity trials the isolates were proved to cause mortalities of P. monodon larvae.*

**KEYWORDS:** *Penaeus monodon, red spot, Vibrio harveyi.*

#### PENDAHULUAN

Belakangan ini di panti benih udang banyak ditemukan kematian larva dengan gejala yang berbeda dari kasus penyakit kunang-kunang. Penyakit tersebut ditandai dengan terbentuknya

Penyakit bakteri, terutama yang disebabkan oleh kelompok *Vibrio* merupakan kendala yang sering dihadapi pada panti benih udang windu. Salah satu yang sudah dikenal secara umum adalah penyakit kunang-kunang atau "luminescent vibriosis" (Baticados *et al.*, 1990; Lavilla-Pitogo *et al.*, 1992; Lightner *et al.*, 1992; Rukyani *et al.*, 1992; Zafran, 1992 dan Zafran *et al.*, 1994).

bercak merah pada dasar bak pemeliharaan larva. Bila bercak merah sudah timbul maka biasanya diikuti oleh kematian massal larva dalam waktu singkat, umumnya kurang dari 48 jam. Karena belum adanya informasi tentang penyebab maupun penanggulangannya, biasanya pengelola panti benih langsung membuang semua larva pada bak saat bercak merah diketahui.

Berdasarkan permasalahan di atas maka di Lolitkanta Gondol telah dilakukan penelitian untuk mengetahui organisme penyebab penyakit bercak merah serta tingkat patogenisitasnya terhadap larva udang windu. Selain itu dilakukan juga uji sensitivitas organisme penyebab bercak

<sup>\*</sup> Peneliti pada Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol, Bali



merah tersebut terhadap beberapa jenis antibiotik.

## BAHAN DAN METODE

Dari bercak merah yang terdapat pada dasar bak pemeliharaan larva udang windu telah diambil sampel untuk diamati di bawah mikroskop sebagai diagnosis awal. Dari bercak merah juga dilakukan kultur bakteri menggunakan media *Marine Agar (MA)* dan *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBSA)* serta isolasi jamur menggunakan media *PYGSA* (Pepton 1,25 g; Yeast extract 1,25 g; Glucose 3,0 g; dan Agar 15 g dalam 1 L air laut). Media *MA* dan *PYGSA* disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan *TCBSA* dipanaskan dalam gelas piala yang berisi air sampai larut sempurna. Kultur selanjutnya diinkubasikan pada suhu 25°C selama 48 jam. Setelah masa inkubasi 48 jam bakteri akan tumbuh baik pada media *MA* maupun *TCBSA*, sedangkan pada media *PYGSA* akan kelihatan hifa jamur. Isolat murni bakteri diperoleh melalui pemindahan koloni yang tumbuh baik pada *MA* dan *TCBSA* ke media *MA* baru. Terhadap isolat murni bakteri yang diperoleh dilakukan uji guna mengetahui isolat yang menyebabkan bercak merah. Uji dilakukan dengan menginfeksi suspensi masing-masing isolat ke dalam botol kaca yang berisi 2 L air laut steril dan sedikit pakan buatan (Frippak) sebanyak 0,05 gram sebagai media tumbuh bakteri. Efek bercak merah diamati setelah 24 dan 48 jam perlakuan, yakni dengan mengamati ada atau tidaknya bercak merah pada dasar botol kaca. Selama penelitian suhu diusahakan stabil 30°C dengan menggunakan pemanas. Isolat yang diketahui sebagai penyebab bercak merah selanjutnya diuji tingkat patogenitasnya terhadap larva udang windu. Ke dalam botol kaca yang berisi dua liter air laut steril dimasukkan hewan uji yakni udang windu stadia pasca larva-2 dengan densitas 50 ekor/L. Kepadatan bakteri yang diujikan berkisar dari  $10 \cdot 10^7$  cfu/mL. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan tiga ulangan. Pengamatan dilakukan terhadap mortalitas larva setelah 24, 48 dan 72 jam, kemudian terhadap larva uji dilakukan isolasi bakteri. Isolat yang sudah terbukti sebagai penyebab bercak merah pada dasar bak pemeliharaan larva selanjutnya

diidentifikasi berpedoman pada Baumann *et al.* (1984) dan Holt *et al.* (1994).

Terhadap isolat bakteri penyebab penyakit bercak merah dilakukan uji sensitivitas beberapa jenis antibiotik, di mana yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas sensitivitas yang mengandung antibiotik antara lain agen vibriostatik (0/129), novobiosin, aminobenzil peniklorida, eritromisin, dan kloramfenikol. Diameter daya hambat diukur setelah 24 jam dan bakteri dikatakan sensitif apabila di sekeliling kertas tersebut ada zona yang tidak ditumbuhi bakteri.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi menggunakan media tumbuh untuk bakteri (*MA* dan *TCBSA*) dan jamur (*PYGSA*), ternyata hanya bakteri yang tumbuh setelah 48 jam inkubasi pada suhu 25°C. Pada media *TCBSA* bakteri yang tumbuh semuanya membentuk koloni berwarna kuning dan tidak bercahaya. Melalui proses pemurnian, yakni dengan memindahkan koloni yang tumbuh ke media *MA* baru, diperoleh empat isolat murni. Untuk mengetahui penyebab timbulnya bercak merah, maka keempat isolat tersebut secara terpisah diinfeksi ke dalam botol kaca yang diisi air laut steril serta pakan buatan (Frippak). Setelah 48 jam perlakuan ternyata hanya dua isolat yang menimbulkan efek bercak merah. Karakteristik dari kedua isolat penyebab bercak merah disajikan pada Tabel 1. Kedua isolat ternyata memiliki karakteristik yang sama dan bila dibandingkan dengan *Vibrio* sp. yang dikemukakan oleh Baumann *et al.* (1984) dan Holt *et al.* (1994), kedua isolat tersebut diidentifikasi sebagai *Vibrio harveyi*. Karakteristik khas yang membedakan *V. harveyi* dari *Vibrio* lainnya adalah mampu tumbuh pada suhu 35°C serta mampu memanfaatkan D-manosa dan selobiosa tetapi negatif untuk arginin dehidrolase dan sorbitol.

Penyakit bercak merah pada dasar bak dilaporkan terjadi pada bak bandeng (*Chanos chanos*) dan penyebabnya diidentifikasi sebagai *V. anguillarum* (Huang, 1977). *V. anguillarum* memang sudah banyak dilaporkan sebagai patogen pada ikan laut (Tajima *et al.*, 1981) maupun pada budidaya ikan air tawar (Muroga *et al.*, 1976; 1986).

Tabel 1. Karakteristik dari dua isolat bakteri penyebab bercak merah pada panti benih *Penaeus monodon* dibandingkan dengan *Vibrio harveyi* menurut Baumann *et al.* (1984) dan Holt *et al.* (1994)

Table 1. Characteristics of two isolates as agents of red spot in *Penaeus monodon* hatcheries in comparisons with *Vibrio harveyi* after Baumann *et al.* (1984) and Holt *et al.* (1994)

Karakteristik Characteristic	Isolat 1 Isolate 1	Isolat 2 Isolate 2	<i>V. harveyi</i> (Bauman <i>et al.</i> , 1984)	<i>V. harveyi</i> (Holt <i>et al.</i> , 1994)
Pertumbuhan pada TCBSA ( <i>Growth on TCBSA</i> )	Y	Y	G/Y	G/Y
Pewarnaan gram ( <i>Gram stain</i> )	-	-	-	-
Oksidase ( <i>Oxydase</i> )	+	+	+	+
Katalase ( <i>Catalase</i> )	+	+	+	+
Uji O-F ( <i>O-F test</i> )	F	F	F	F
Motilitas ( <i>Motility</i> )	+	+	+	+
Produksi indol ( <i>Indole production</i> )	+	+	+	+
Metil merah ( <i>Methyl red</i> )	+	+	+	+
Voges-Proskauer	+	+	+	+
Pertumbuhan pada KCN ( <i>KCN, growth</i> )	-	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-
Gas dari glukose ( <i>Gas from glucose</i> )	-	-	-	-
Arginin dehidrolase ( <i>Arginin dehydrolase</i> )	-	-	-	-
Ornithin dekarboksilase ( <i>Ornithin decarboxylase</i> )	-	-	-	-
Lisin dekarboksilase ( <i>Lysin decarboxylase</i> )	+	+	+	+
Pertumbuhan pada NaCl ( <i>Growth in NaCl</i> ):				
0%	-	-	-	-
3%	+	+	+	+
6%	+	+	+	+
8%	-	-	-	-
10%	-	-	-	-
Kepekaan terhadap ( <i>Sensitivity to</i> ):				
Agen vibriostatik ( <i>Vibriostatic agent</i> )	S	S	S	S
Novobiosin ( <i>Novobiocin</i> )	S	S	S	S
Aminobensil penilklorida ( <i>Aminobenzyl phenilchloride</i> )	S	S	S	S
Eritromisin ( <i>Erythromycin</i> )	S	S	S	S
Kloramfenikol ( <i>Chloramphenicol</i> )	S	S	S	S
Oksitetrasiklin ( <i>Oxytetracycline</i> )	R	R	R	R
Pembentukan asam dari ( <i>Acid from</i> ):				
Selobiose ( <i>Cellobiose</i> )	+	+	+	+
Glukose ( <i>Glucose</i> )	+	+	+	+
Manose ( <i>Mannose</i> )	+	+	+	+
Sorbitol	-	-	-	-
Sukrose ( <i>Sucrose</i> )	+	+	+	+
Trchalose	+	+	+	+
Ramnose ( <i>Rhamnose</i> )	-	-	-	-
Sorbose	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-
Glutamin	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-
Manitol ( <i>Mannitol</i> )	+	+	+	+
Arbutin	+	+	+	+

Tabel 1. Tabel 1 (lanjutan)  
Table 1. Table 1 (continued)

Karakteristik Characteristic	Isolat 1 Isolate 1	Isolat 2 Isolate 2	<i>V. harveyi</i> (Bauman et al., 1984)	<i>V. harveyi</i> (Holt et al., 1994)
Tumbuh pada suhu (Growth at temperature):				
4°C	-	-	-	-
30°C	+	+	+	+
35°C	+	+	+	+
40°C	+	-	-	-
Reduksi nitrat (Nitrate reduction)	d	+	+	+
Kebutuhan Na <sup>+</sup> (Na <sup>+</sup> required for growth)	+	+	+	+
Persyaratan faktor pertumbuhan organik (Organic growth factor requirement)	+			
Produksi asetoin/diasetil (Acetoin and/or diacetyl production)	-	-	-	-
Amilase (Amilase)	+	+	+	+
Lipase	+	+	+	+
Alginase	+	+	+	+
Khitinase (Chitinase)	d	+	+	+
Asetat (Acetat)	+	+	+	+
Sitrat (Citrata)	+	+	+	+
Etanol (Ethanol)	-	-	-	-

+ = positif (positive); - = negatif (negative); Y = kuning (yellow); G = hijau (green);  
S = sensitif (sensitive); R = tahan (resistant); F = fermentatif (fermentative);  
d = reaksi berbeda-beda (different reaction)

Patogenisitas bakteri terhadap larva udang windu juga diuji yakni dengan menginfeksi

isolat bakteri dengan berbagai tingkat kepadatan ke dalam air pemeliharaan larva (Tabel 2).

Tabel 2. Patogenisitas isolat bakteri terhadap larva udang windu dan perkembangan bercak merah.  
Table 2. Pathogenicity of bacteria isolates on *Penaeus monodon* larvae and development of red spot in the tank bottom.

Jumlah bakteri No. of bacteria (cfu/mL)	Mortalitas rata-rata (%) larva udang Averages mortality (%) of shrimp larvae			Perkembangan bercak merah Red spot development
	24 jam (hours)	48 jam (hours)	72 jam (hours)	
10 <sup>7</sup>	79.0	100.0	100.0	+
10 <sup>6</sup>	64.5	100.0	100.0	+
10 <sup>5</sup>	3.3	88.0	90.6	-
10 <sup>4</sup>	0.0	44.5	44.7	-
10 <sup>3</sup>	0.0	13.3	17.3	-
10 <sup>2</sup>	0.0	4.6	16.6	-
10	0.0	4.6	16.0	-
Kontrol (Control)	0.0	4.6	6.0	-

+ = bercak merah teramati (red spot observed);  
- = tidak tampak bercak merah (no red spot observed)

Dalam waktu 24 jam kepadatan bakteri hanya  $10^6$  dan  $10^7$  cfu/mL sudah menyebabkan kematian larva lebih besar dari 60%. Setelah 48 jam perlakuan terlihat adanya peningkatan jumlah kematian larva pada perlakuan  $10^3$  cfu/mL ke atas. Diduga setelah 72 jam, populasi bakteri baik pada air pemeliharaan maupun dalam tubuh larva, sudah mencapai ambang kritis bagi larva itu sendiri sehingga sebagian larva mengalami kematian.

Dibandingkan *V. harveyi* yang diisolasi dari larva udang windu yang terinfeksi penyakit kunang-kunang, maka isolat yang diisolasi dalam penelitian ini kurang patogen. *V. harveyi* sudah dapat menyebabkan kematian massal zoea udang windu dalam waktu 24 jam dengan tingkat kepadatan bakteri  $8,35 \times 10^4$  cfu/mL (Zafran & Roza, 1993). Hal lain yang membedakan isolat ini dengan bakteri penyebab penyakit kunang-kunang adalah warna koloninya pada media TCBSA dan kemampuannya menghasilkan cahaya. *V. harveyi* penyebab penyakit kunang-kunang tumbuh pada media TCBSA membentuk koloni berwarna hijau dan bercahaya dalam kondisi gelap, sedang bakteri yang diisolasi dari bercak merah membentuk koloni kuning dan tidak bercahaya pada media yang sama.

Dalam upaya pencegahan dan penanggulangan penyakit bercak merah, maka telah dilakukan uji sensitivitas isolat bakteri penyebab bercak merah terhadap beberapa jenis antibiotik. Dalam uji ini diketahui bahwa isolat tersebut sensitif terhadap agen vibriostatik (O/129), novobiosin, aminobenzil penisilin, eritromisin, dan kloramfenikol. Untuk aplikasi yang aman dan efektif, perlu diuji dosis minimal masing-masing antibiotik tersebut dalam mengendalikan populasi

*Vibrio harveyi* melalui uji *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Telah diisolasi dua isolat bakteri penyebab penyakit bercak merah pada panti benih udang windu dan keduanya diidentifikasi sebagai *V. harveyi*. Sedangkan jumlah kritis bakteri tersebut bagi larva udang windu adalah  $10^6$  cfu/mL dalam air pemeliharaan. Bakteri penyebab penyakit bercak merah sensitif terhadap agen vibriostatik (O/129), novobiocin, aminobenzil peniklorida, eritromisin, dan kloramfenikol.

Perlu dicari dosis yang efektif masing-masing antibiotik tersebut untuk menekan perkembangan populasi bakteri penyebab bercak merah melalui uji *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baticados, M.C.L., F.R. Cruz-Lacierda, M.C. de la Cruz, R.C. Duremdez-Fernandez, R.R. Gacutan, C.R. Lavilla-Pitogo, and G.D. Lio-Po. 1990. Diseases of penaeid shrimps in the Philippines. SEAFDEC. Aquaculture Extension Manual (16):46 pp.
- Baumann, P., A.L. Furnis, and J.V. Lee. 1984. Facultatively anaerobic gram negative rods. Noel R. Krieg (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 1. Williams & Wilkins. Baltimore-USA:518-538.
- Holt, J.G, Noel R. Krieg, Peter H. A. Sneath, James T. Staley and Stanley T. Williams. 1994. Facultatively anaerobic gram negative rods. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams & Wilkins. Baltimore, USA. 259-274.

Tabel 3. Sensitivitas isolat terhadap beberapa antibiotik.  
Table 3. Isolate sensitivity to some antibiotics.

Antibiotik Antibiotic	Zona hambatan Inhibiting zone (mm)
Agen vibriostatik ( <i>Vibriostatic agent</i> ) 150 µg	22.0
Novobiosin ( <i>Novobiocin</i> ) 20 µg	23.0
Aminobenzil peniklorida ( <i>Aminobenzyl phenilchloride</i> ) 30 µg	19.0
Eritromisin ( <i>Erythromycin</i> ) 50 µg	21.0
Kloramfenikol ( <i>Chloramphenicol</i> ) 100 µg	24.0

- Huang, Y.H. 1977. Preliminary report of the studies on bacterial diseases of milkfish, *Chanos chanos* during winter. JCRR Fish. Series, No.29:50-54.
- Lavilla-Pitogo, 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. 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., T.A. Bell, R.M. Redman, L.L. Mohney, J.M. Natividad, A. Rukyani, and A. Poernomo. 1992. In M. Shariff, R.P. Subasinghe, and J.R. Arthur (Eds.), A review of some major diseases of economic significance in penaeid prawns/shrimps of the Americas and Indopacific. Diseases in Asian Aquaculture I. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines:57-80.
- Muroga, K., Jo Y., and M. Nishibuchi. 1976. *Vibrio anguillarum* isolated from european eel (*Anguilla anguilla*) cultured in Japan. J. of the Faculty of Fish. and Animal Husbandry, Hiroshima University, 15:24-34.
- Muroga, K., M. Iida, H. Matsumoto, and T. Nakai. 1986. Detection of *Vibrio anguillarum* from waters. Bull. Soc. Sci. Fish., 52(4):641-647.
- Rukyani, A., P. Taufik, dan Taukhid. 1992. Penyakit kunang-kunang (luminescent vibriosis) dan cara penanggulangannya di hatchery udang windu. Prosiding Seminar Sehari Upaya Penanggulangan Penyakit Benur Pada Hatchery Udang, Surabaya. 47-60.
- Tajima, K., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1981. Studies on the causative organism of Vibriosis among the pen-cultured coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, in Japan. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47: 35-42.
- Zafran. 1992. Pencegahan penyakit kunang-kunang pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). Prosiding Seminar Sehari Upaya Penanggulangan Penyakit Benur Pada Hatchery Udang, Surabaya:59-61.
- Zafran, D. Roza, K. Sugama, S. Wada, and K. Hatai. 1994. Histological study of luminescens *Vibrio harveyi* infection in hatchery reared larvae of *Penaeus monodon*. Proceeding of the Third Asian Fisheries Forum, Singapore:294-297.
- Zafran dan D. Roza. 1993. Teknik penanggulangan penyakit udang menyala di hatchery melalui pengendalian populasi bakteri. J. Penel. Budidaya Pantai, 9(2):127-132.