

SELEKSI BAKTERI PROBIOTIK UNTUK BIOKONTROL VIBRIOSIS PADA LARVA UDANG WINDU, *Penaeus monodon* MENGUNAKAN CARA KULTUR BERSAMA

Widanarni, I. Tepu, Sukenda, dan Mia Setiawati

Departemen Budidaya Perairan-FPIK, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Kampus, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
E-mail: widanarni@yahoo.com

Naskah diterima: 15 Oktober 2008; Diterima publikasi: 12 Desember 2008

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio harveyi* menggunakan metode kultur bersama. Sebanyak 51 isolat kandidat probiotik berhasil diisolasi dari larva udang dan lingkungan pemeliharaannya di Balai Pengembangan Benih Ikan Air Payau dan Udang (BPBILAPU), Pangandaran serta hatchery udang PT Biru Laut Khatulistiwa dan tambak udang intensif di Lampung. Dari total isolat tersebut setelah diseleksi secara *in vitro* menggunakan metode kultur bersama dipilih 3 isolat kandidat probiotik yang paling potensial dalam menekan atau menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR 5399 R^{fr} yakni 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a. Ketiga isolat tersebut selanjutnya digunakan pada uji patogenisitas dan ujiantang pada larva udang windu. Hasil uji patogenisitas dengan konsentrasi bakteri 10⁶ CFU/mL menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Hasil ujiantang pada larva udang juga menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut mampu meningkatkan sintasan larva udang windu. Nilai sintasan larva pada perlakuan yang selain diinfeksi dengan *V. harveyi* MR5399 R^{fr} juga ditambah probiotik 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a masing-masing adalah 90,0%; 86,7%; dan 78,3% sedangkan pada perlakuan yang hanya diinfeksi dengan *V. harveyi* MR5399 R^{fr} tanpa probiotik nilai sintasannya hanya mencapai 73,3%. Populasi bakteri *V. harveyi* pada perlakuan dengan penambahan bakteri probiotik lebih rendah dibanding perlakuan tanpa probiotik, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya kompetisi antara bakteri *V. harveyi* dengan 1Ub.

KATA KUNCI: bakteri probiotik, vibriosis, *Penaeus monodon*, larva

ABSTRACT: *Selection of probiotic bacteria for biocontrol of vibriosis on tiger shrimp (Penaeus monodon) larvae using co-culture method.*
By: Widanarni, I. Tepu, Sukenda, and Mia Setiawati

This research was aimed to obtain probiotic bacteria that can be used to inhibit the growth of *Vibrio harveyi* using co-culture method. This method succeeded in isolating 51 probiotic bacteria candidates from shrimp larva and their rearing environment in Balai Pengembangan Benih Ikan Laut Payau dan Udang (BPBILAPU), Pangandaran and shrimp hatchery of PT Biru Laut Khatulistiwa and intensively managed shrimp pond in Lampung. After *in vitro* selection of the total isolates using co-culture method, three most potential probiotic bacteria candidates in inhibiting or suppressing growth of *V. harveyi* MR 5399 R^{fr} bacteria were chosen. The three isolates were then used in pathogenicity and challenge test in tiger shrimp larva. Results of pathogenicity test at the concentration of 10⁶ CFU/mL bacteria showed that the three isolates were not pathogen to tiger shrimp larvae. Challenge test results in shrimp larvae also showed that the three isolates could increase survival rates of tiger shrimp larva. Larva survival rate value of treatment using *V. harveyi* MR5399 R^{fr} with 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a

probiotic were 90.0%, 86.7% dan 78.3%, respectively; whereas infection treatment merely using V. harveyi MR5399 R^f without probiotic only gave 73.3% survival rate. V. harveyi population in treatment with addition of probiotic bacteria were lower than that of without probiotic. This suggested the existence of possible competition between V. harveyi and 1Ub bacteria.

KEYWORDS: *probiotic bacteria, vibriosis, Penaeus monodon*

PENDAHULUAN

Vibriosis atau penyakit udang berpendar yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* merupakan salah satu penyakit bakterial yang paling serius dan sering menyebabkan kematian massal udang budidaya terutama pada stadia larva. Udang yang terserang bakteri *V. harveyi* akan tampak bercahaya sehingga sering disebut penyakit kunang-kunang. Bakteri ini biasanya menyerang larva udang stadia zoea, mysis, dan awal pascalarva (Rukyani *et al.*, 1992).

Upaya penanggulangan penyakit tersebut telah banyak dilakukan dengan menggunakan antibiotik (Karunasagar *et al.*, 1994). Penggunaan antibiotik berdampak negatif karena dapat mengakibatkan *V. harveyi* menjadi resisten terhadap antibiotik tersebut. Ruangpan & Kitao (1992) melaporkan bahwa beberapa galur *V. harveyi* penyebab penyakit kunang-kunang telah resisten terhadap berbagai jenis antibiotik seperti penicillin, erythromycin, kanamycin, oxytetracycline, polymixin, dan streptomycin.

Salah satu alternatif yang digunakan untuk menanggulangi permasalahan penyakit vibriosis tanpa menggunakan antibiotik adalah penggunaan bakteri probiotik sebagai biokontrol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*. Usaha ini terbukti berhasil dan telah banyak digunakan dalam usaha hewan ternak (Fuller, 1989) dan akhir-akhir ini banyak diteliti dan diaplikasikan pada sistem budidaya ikan (Gomez-Gil *et al.*, 2000). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri probiotik yang berperan sebagai biokontrol vibriosis pada larva udang windu, *Penaeus monodon* menggunakan cara kultur bersama.

MATERI DAN METODE

Isolasi Bakteri Kandidat Probiotik

Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari air laut dan lingkungan pemeliharaan ikan dan udang yaitu di Balai Pengembangan Benih Ikan

Laut Payau dan Udang (BPBILAPU), Pangandaran, Jawa Barat serta hatchery udang PT Biru Laut Khatulistiwa dan tambak udang intensif di Lampung. Sampel yang diambil meliputi: berbagai stadia larva udang dan media pemeliharaannya serta pakan alami larva udang berupa kultur alga dan artemia. Masing-masing sampel disebar pada media *seawater complete* (SWC-agar) (5 g bacto peptone, 1 g yeast extract, 3 mL glycerol, 15 g agar, 750 mL air laut, dan 250 mL aquades) dan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (28°C–31°C) selama 24 jam. Koloni yang tumbuh terpisah digores berulang pada media SWC-agar, sehingga diperoleh isolat murni untuk dipakai dalam penelitian lanjut. Isolat murni kandidat probiotik digores pada media *Thiosulphate Citrate Bile-Salt Sucrose* (TCBS-agar, Oxoid) untuk mengetahui isolat tersebut dari golongan *Vibrio* atau non-*Vibrio*.

Sensitivitas *Vibrio* Kandidat Probiotik terhadap Antibiotik Rifampisin

Bakteri kandidat probiotik dari golongan *Vibrio* diuji sensitivitasnya terhadap antibiotik rifampisin dengan cara menumbuhkan isolat-isolat tersebut pada media SWC-agar 10% yang mengandung rifampisin 50 mg/mL. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, respons resistensi dapat diketahui dengan mengamati koloni yang tumbuh pada media tersebut. Uji ini dilakukan sehubungan dengan digunakannya penanda resisten rifampisin pada *V. harveyi* MR5339 dalam uji *in vitro* sehingga jumlah *Vibrio harveyi* MR5339 R^f pada media TCBS atau SWC yang mengandung rifampisin dapat dihitung sedangkan *Vibrio* kandidat probiotik sensitif rifampisin tidak tumbuh.

Uji *In Vitro* Bakteri Kandidat Probiotik Secara Kultur Bersama

Efek penghambatan bakteri kandidat probiotik diuji tantang dengan *V. harveyi* MR5339 R^f dengan metode kultur bersama pada media SWC-*broth*. Isolat yang diuji dengan metode kultur bersama ini adalah semua isolat

yang tidak menghasilkan zona hambat pada uji *in vitro* dengan metode Kirby-Bauer (Rajab, 2006). Setiap isolat murni *Vibrio* dan non-*Vibrio* kandidat probiotik ditumbuhkan pada media SWC-broth 10% dengan kepadatan 10^4 CFU/mL. Pada tabung yang sama juga ditambahkan 10^4 CFU/mL *V. harveyi* MR5339 R^{fr}. Setelah diinkubasi semalam pada suhu 28°C dalam shaker, dilakukan pengenceran dengan larutan garam fisiologis (NaCl 0,85%) steril sampai 10^{-1} untuk kultur campuran dan sampai 10^{-5} untuk kontrol (*V. harveyi* MR5339 R^{fr} tanpa isolat bakteri kandidat probiotik). Selanjutnya hasil pengenceran disebar pada media SWC-agar 10% yang telah ditambahkan antibiotik rifampisin 50 mg/mL untuk bakteri kandidat probiotik dari golongan *Vibrio* dan media TCBS-agar untuk isolat non-*Vibrio*. Hasil penyebaran kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Apabila *V. harveyi* pada tabung kontrol tumbuh jauh lebih banyak dibandingkan kultur campuran (*V. harveyi* MR5339 R^{fr} dengan isolat bakteri kandidat probiotik), berarti isolat probiotik tersebut mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 R^{fr}.

Uji Patogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik

Tiga isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* diuji patogenisitasnya terhadap larva udang sebelum ditantang dengan *V. harveyi*. Uji patogenisitas dilakukan dengan menambahkan suspensi isolat bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL pada media pemeliharaan larva udang. Pasca-larva udang stadia PL₁ dipelihara dalam toples yang diisi air laut steril 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/L dan diberi pakan artemia 3–5 individu/mL. Larva udang dipelihara selama 6 hari dan larva yang mati dihitung setiap hari. Pada akhir percobaan dihitung sintasan larva udang dan dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan isolat bakteri kandidat probiotik).

Uji Tantang Bakteri Kandidat Probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr} pada Larva Udang Windu

Tiga isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* dan tidak bersifat patogen pada larva udang diuji efektivitasnya dalam menghambat serangan *V. harveyi* pada larva udang. Isolat kandidat probiotik dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan udang sehari setelah udang dimasukkan. Larva

udang dipelihara dalam toples yang diisi air laut steril 2 liter dengan kepadatan 10 ekor/L. Setelah kokultivasi dengan larva udang selama 6 jam, *V. harveyi* MR5339 R^{fr} dimasukkan dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL. Percobaan dilakukan dengan tiga ulangan termasuk kontrol positif (*V. harveyi* sendiri tanpa isolat probiotik) dan kontrol negatif (tanpa pemberian *V. harveyi* MR5339 R^{fr} maupun isolat probiotik). Pergantian air dan penyiponan dilakukan setiap hari sebanyak 10% dari volume total wadah pemeliharaan. Selama percobaan, larva udang diberi pakan artemia sebanyak 3–5 individu/mL dengan frekuensi 4 kali sehari (setiap 6 jam). Pengamatan dilakukan selama 6 hari dengan menghitung jumlah larva yang mati, populasi *Vibrio* baik pada air pemeliharaan maupun pada larva udang yang mati, serta laju pertumbuhan panjang dan bobot larva udang. Pada akhir percobaan dihitung pula sintasan larva udang yang dihitung dengan menggunakan rumus Effendie (1979):

$$SR = \frac{N_t}{N_o} \times 100 \%$$

di mana:

SR = Tingkat sintasan (%)

N_t = Jumlah udang yang hidup pada akhir pengamatan (ekor)

N_o = Jumlah udang pada awal pengamatan (ekor)

Populasi bakteri yang dihitung meliputi jumlah bakteri *Vibrio* dengan koloni kuning dan hijau (termasuk *V. harveyi* MR5339 R^{fr}) baik pada air pemeliharaan maupun pada larva udang mati. Jumlah bakteri dihitung berdasarkan rata-rata jumlah koloni yang tumbuh dikalikan dengan faktor pengenceran.

Pertumbuhan bobot dan panjang diamati pada awal dan akhir percobaan. Laju pertumbuhan larva udang windu dihitung berdasarkan pertambahan bobot dan panjang, dengan rumus Huisman (1987):

$$\alpha = \sqrt[t]{\frac{W_t}{W_o}} - 1 \times 100\% \text{ dan}$$

$$\alpha = \sqrt[t]{\frac{L_t}{L_o}} - 1 \times 100\%$$

di mana:

α = Laju pertumbuhan panjang atau bobot udang (%)

t = Lama waktu pemeliharaan udang (hari)

W_t = Bobot rata-rata akhir udang (mg)
 W_o = Bobot rata-rata awal udang (mg)
 L_t = Panjang rata-rata akhir udang (mm)
 L_o = Panjang rata-rata awal udang (mm)

HASIL DAN BAHASAN

Isolat Bakteri Kandidat Probiotik

Sebanyak 51 isolat bakteri kandidat probiotik telah diisolasi dari larva udang dan lingkungan pemeliharaannya di Balai Pengembangan Benih Ikan Laut Payau dan Udang (BPBILAPU), Pangandaran serta hatchery udang PT Biru Laut Khatulistiwa dan tambak udang intensif di Lampung. Dari jumlah tersebut, 14 isolat berasal dari larva dan pascalarva, 6 isolat dari saluran pencernaan udang, 11 isolat dari media pemeliharaan larva, 1 isolat dari sedimen tambak, 4 isolat dari air pemeliharaan udang galah, 1 isolat dari larva kerapu bebek, 1 isolat dari air pemeliharaan abalon, 1 isolat dari udang galah, dan 12 isolat berasal dari pakan alami yang terdiri atas 3 isolat dari *Skeletonema*, 2 isolat dari artemia, 6 isolat masing-masing berasal dari *Tetraselmis*, *Thalassiosera*, *Nannocloropsis*, dan 1 isolat berasal dari *Cyclotella*. Dari total 51 isolat tersebut, 34 isolat termasuk golongan *Vibrio* dan 17 isolat dari golongan non-*Vibrio*. Koloni semua isolat *Vibrio* yang diperoleh berwarna kuning pada media TCBS-agar dan bersifat menyebar pada media SWC-agar. Sedangkan koloni 17 isolat non-*Vibrio* berwarna kuning dan krem pada media SWC-agar.

V. harveyi MR5339 R^{fr} yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Balai Penelitian Perikanan Pantai (Balitkanta) Maros, Sulawesi Selatan. Bakteri tersebut telah diuji bersifat patogen pada larva udang windu. Koloni bakteri berwarna hijau pada media TCBS dan berpendar jika diamati pada ruang gelap.

Sensitivitas *Vibrio* Kandidat Probiotik terhadap Antibiotik Rifampisin

Hasil uji sensitivitas *Vibrio* kandidat probiotik terhadap antibiotik rifampisin menunjukkan bahwa 34 isolat *Vibrio* sp. kandidat probiotik sensitif terhadap antibiotik rifampisin. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Tjahjadi *et al.* (1994) bahwa bakteri *Vibrio* sp. termasuk *V. harveyi* resisten terhadap hampir semua jenis antibiotik kecuali rifampisin. Rifampisin adalah antibiotik bakterisidal yang bekerja dengan menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi.

Rifampisin efektif untuk bakteri gram positif dan beberapa bakteri gram negatif dan sejauh ini tidak pernah digunakan di lingkungan pembenihan udang windu.

Uji In Vitro Bakteri Kandidat Probiotik

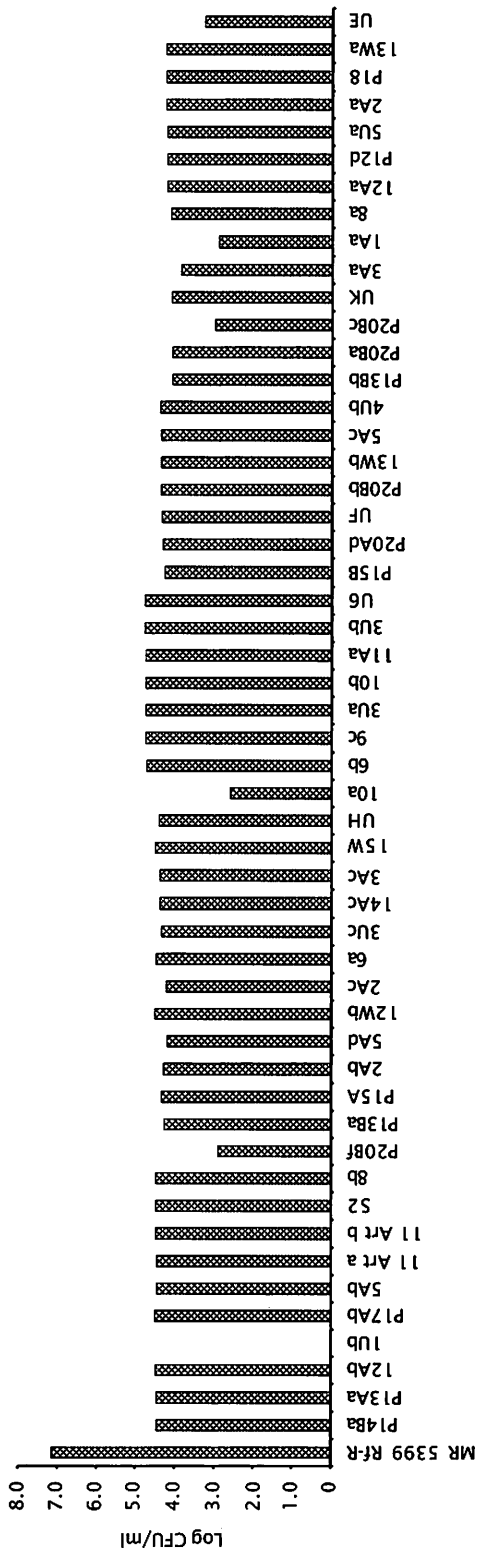
Hasil uji penghambatan *in vitro* dari 51 isolat bakteri kandidat probiotik terhadap *V. harveyi* MR5339 R^{fr} disajikan pada Gambar 1. Tiga isolat terbaik dari 51 isolat yang diuji, yaitu 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a yang berturut-turut diisolasi dari udang vanamei, air pemeliharaan udang galah usia 3 minggu, dan *Skeletonema costatum* menunjukkan hasil terbaik. Jumlah *V. harveyi* MR5339 R^{fr} yang tumbuh dengan penambahan probiotik 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a masing-masing sebanyak 1 CFU/mL, 16 CFU/mL, dan 30 CFU/mL. Sedangkan pada biakan kontrol (hanya diinokulasi dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr}), jumlah *V. harveyi* MR5339 R^{fr} yang tumbuh mencapai $7,6 \times 10^8$ CFU/mL. Isolat kandidat probiotik yang lain juga mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 R^{fr} walaupun dengan daya hambat yang berbeda-beda. Hal ini terlihat dari jumlah koloni *V. harveyi* MR5339 R^{fr} yang tumbuh pada media yang dicampur dengan bakteri kandidat probiotik lebih rendah dibanding kontrol.

Uji Patogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik

Dari hasil uji patogenisitas terlihat bahwa semua kandidat probiotik yang diuji tergolong tidak patogen. Hal ini terlihat dari nilai sintasan pada semua perlakuan yang tidak berbeda nyata dengan kontrol (Gambar 2). Umumnya bakteri yang diisolasi dari air laut dan tambak berpotensi sebagai biokontrol dan tidak bersifat patogen pada larva udang windu (Muliani *et al.*, 2003).

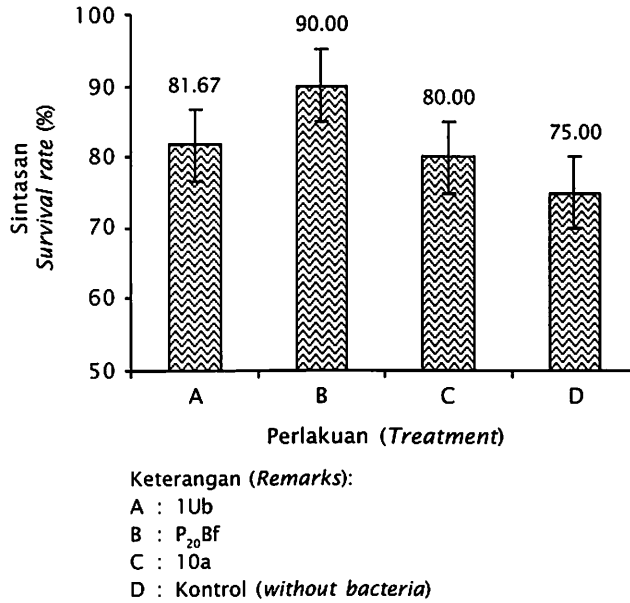
Uji Tantang Bakteri Kandidat Probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr} pada Larva Udang Windu

Tiga isolat bakteri kandidat probiotik yang paling potensial berdasarkan uji *in vitro* dan tidak bersifat patogen terhadap larva udang windu yaitu 1Ub, P₂₀Bf, dan 10a diuji tantang terhadap *V. harveyi* MR5339 R^{fr} pada larva udang windu. Pengamatan dilakukan terhadap sintasan larva udang serta populasi *Vibrio* yang meliputi *Vibrio* dengan koloni warna kuning maupun hijau pada media TCBS, baik pada air pemeliharaan maupun pada larva udang yang mati.

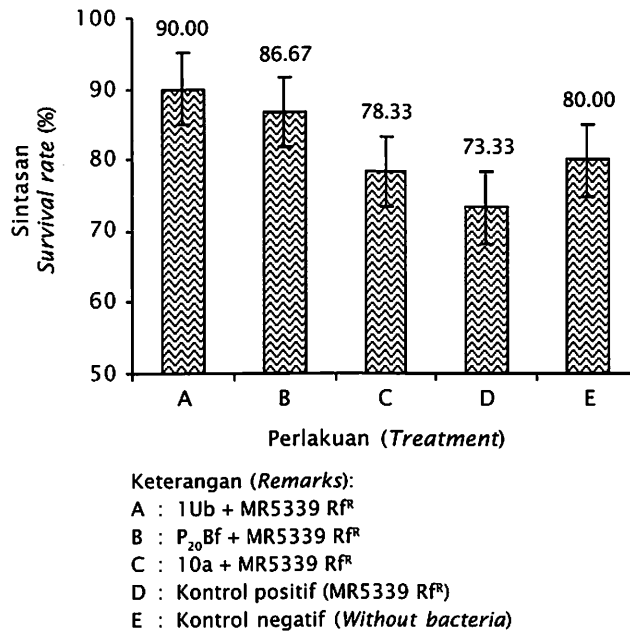


Gambar 1. Penghambatan *V. harveyi* MR5399 R^f oleh bakteri kandidat probiotik pada uji *in vitro*

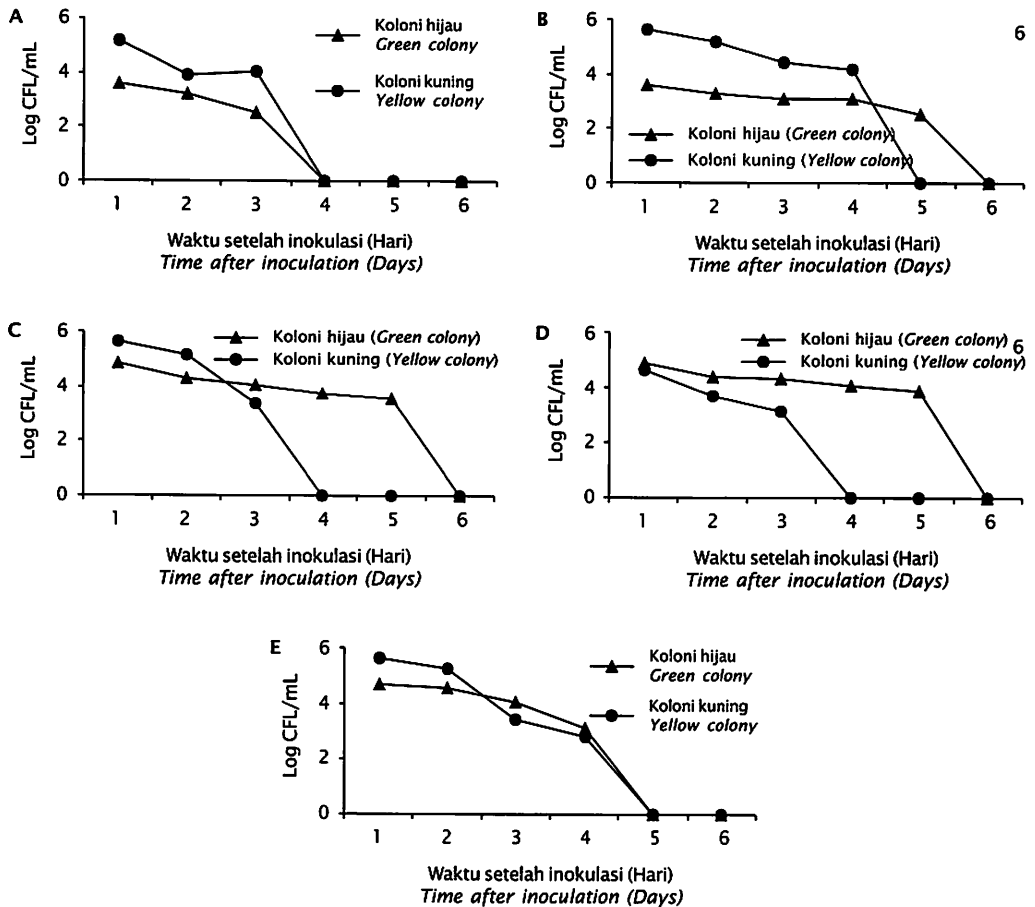
Figure 1. *In vitro* assay for the inhibition of *V. harveyi* MR5399 R^f by probiotic bacteria candidates



Gambar 2. Sintasan larva udang windu pada uji patogenisitas bakteri kandidat probiotik
 Figure 2. Survival rate of tiger shrimp larva after pathogenicity test using probiotic bacteria candidates



Gambar 3. Sintasan larva udang windu pada uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 Rf[®]
 Figure 3. Survival rate of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 Rf[®] with probiotic bacteria candidates



Keterangan (Remarks):

A : 1Ub + MR5339 R^{fr}

B : P₂₀Bf + MR5339 R^{fr}

C : 10a + MR5339 R^{fr}

D : Kontrol positif (MR5339 R^{fr})

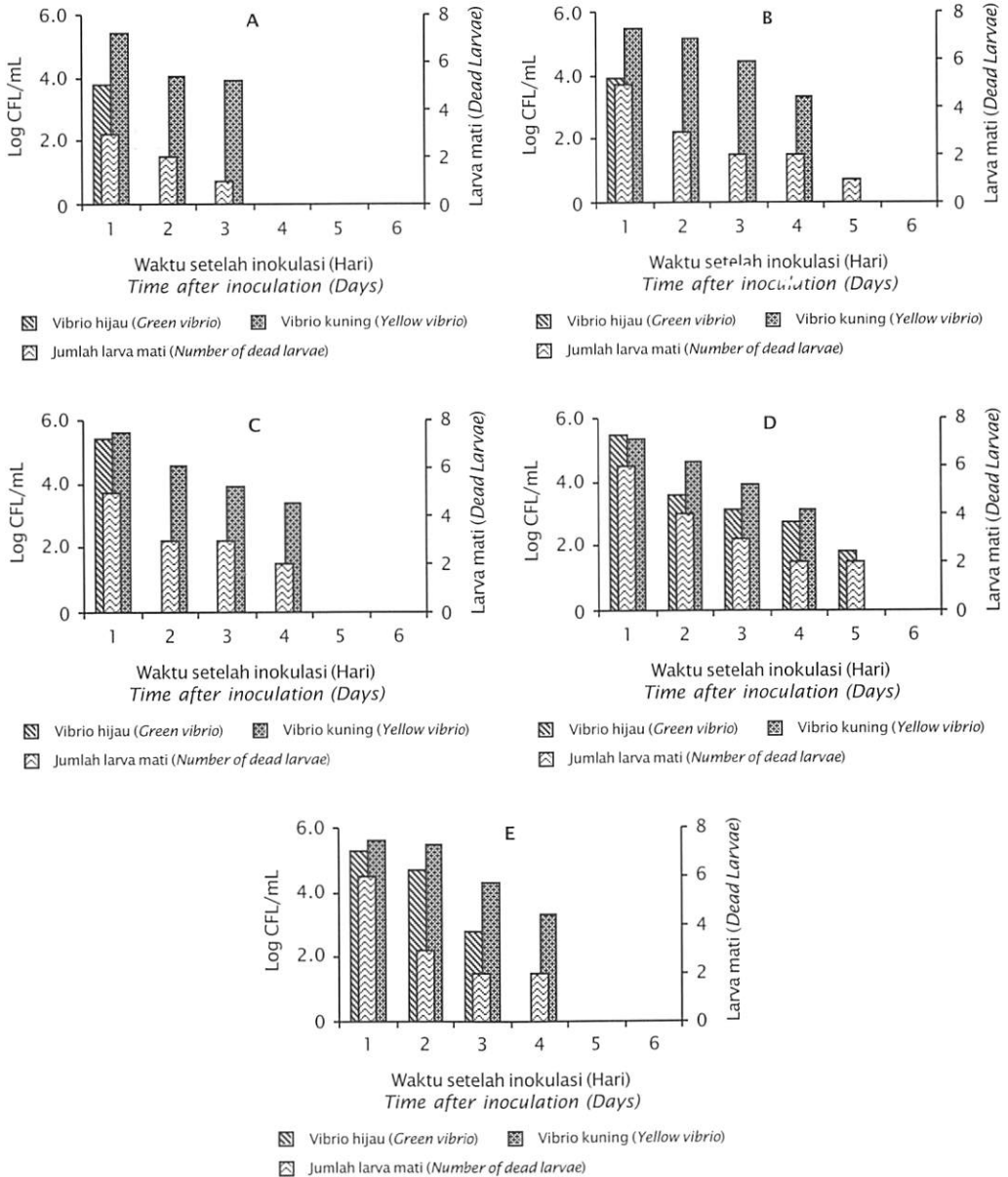
E : Kontrol negatif (Without bacteria)

Gambar 4. Jumlah sel *Vibrio* pada air media pemeliharaan larva udang selama uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr}

Figure 4. Number of *Vibrio* cells in rearing media of tiger shrimp larva during challenge test to *V. harveyi* MR5339 R^{fr} with probiotic bacteria candidates

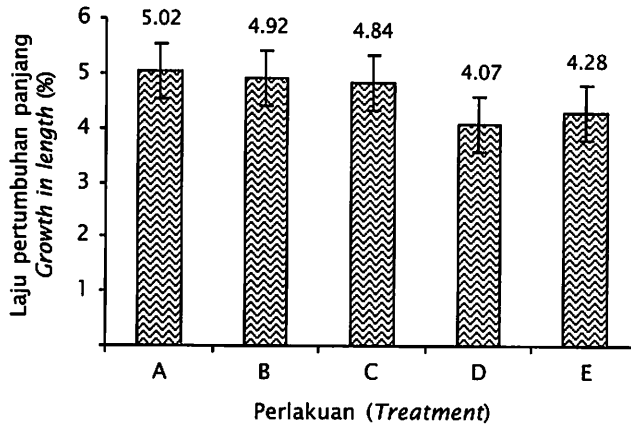
Hasil pengujian menunjukkan bahwa ketiga isolat tersebut secara signifikan ($P < 0,05$) dapat meningkatkan sintasan larva udang (Gambar 3). Sintasan larva pada perlakuan dengan penambahan 1Ub sebesar 90%, perlakuan dengan penambahan P₂₀Bf sebesar 86,67% dan perlakuan dengan penambahan 10a sebesar 78,33%. Sedangkan perlakuan yang hanya diinokulasi dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr} tanpa probiotik, nilai sintasannya mencapai

73,33%. Peningkatan nilai sintasan larva udang diduga karena adanya penghambatan pertumbuhan *V. harveyi* MR5339 R^{fr} pada larva udang oleh bakteri probiotik. Isolat-isolat tersebut diduga juga dapat meningkatkan kesehatan larva udang. Hal ini terlihat dari nilai sintasan larva udang pada perlakuan kontrol negatif (tanpa penambahan bakteri) lebih rendah dibanding dengan penambahan isolat probiotik 1Ub dan P₂₀Bf.



Gambar 5. Jumlah sel *Vibrio* pada larva udang mati selama uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 R^{fr}

Figure 5. Number of *Vibrio* cells in dead tiger shrimp larva during challenge test to *V. harveyi* MR5339 R^{fr} with probiotic bacteria candidates



Keterangan (Remarks):

A : 1Ub + MR5339 RfR

B : P₂₀Bf + MR5339 RfR

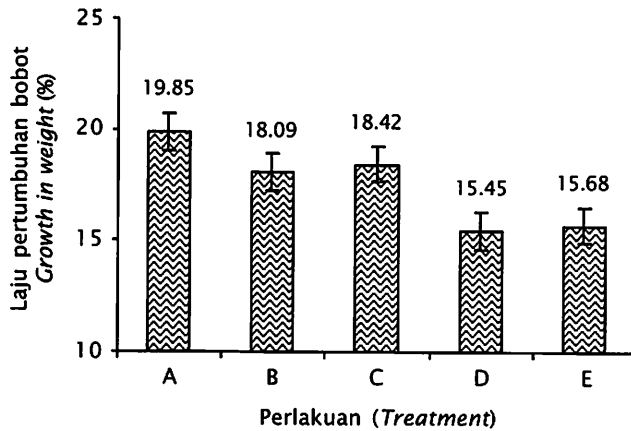
C : 10a + MR5339 RfR

D : Kontrol positif (MR5339 RfR)

E : Kontrol negatif (Without bacteria)

Gambar 6. Laju pertumbuhan panjang larva udang windu pada uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 RfR

Figure 6. Growth rate of length of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 RfR with probiotic bacteria candidates



Keterangan (Remarks):

A : 1Ub + MR5339 RfR

B : P₂₀Bf + MR5339 RfR

C : 10a + MR5339 RfR

D : Kontrol positif (MR5339 RfR)

E : Kontrol negatif (Without bacteria)

Gambar 7. Laju pertumbuhan bobot larva udang windu pada uji tantang bakteri kandidat probiotik dengan *V. harveyi* MR5339 RfR

Figure 7. Growth rate of weight of tiger shrimp larva after challenge test to *V. harveyi* MR5339 RfR with probiotic bacteria candidates

Populasi *Vibrio* dengan koloni hijau pada media TCBS (termasuk *V. harveyi* MR5339 R^{fr}) pada perlakuan dengan penambahan probiotik baik pada media pemeliharaan maupun pada larva udang lebih rendah dibanding perlakuan tanpa probiotik. Pada perlakuan dengan penambahan probiotik, populasi *Vibrio* dengan koloni hijau dalam media pemeliharaan, sudah tidak terdeteksi pada hari ke-4 hingga hari ke-6. Bahkan populasi *Vibrio* ini pada udang mati sudah tidak terdeteksi mulai hari ke-2. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan nilai sintasan pada perlakuan dengan penambahan probiotik dikarenakan adanya kompetisi antara probiotik dengan *V. harveyi* sehingga jumlah (*quorum*) yang dibutuhkan untuk mengekspresikan faktor-faktor virulensi *V. harveyi* tidak tercapai. Tingginya kematian larva udang pada perlakuan tanpa probiotik menunjukkan tidak adanya penghambatan bakteri probiotik terhadap *V. harveyi* pada perlakuan tersebut. Dengan demikian *V. harveyi* MR5339 R^{fr} dapat mengkolonisasi larva udang windu secara maksimal karena tidak terjadi kompetisi dengan bakteri probiotik. Kolonisasi oleh bakteri lain (selain *Vibrio*) sangat mungkin terjadi seperti yang dilaporkan pada penelitian Rengpipat *et al.* (1998a), dimana larva udang juga dikolonisasi oleh bakteri lain selain *Bacillus* S11 yang diberikan.

Secara keseluruhan, populasi *Vibrio* dengan koloni warna hijau mengalami penurunan sejak pengamatan hari ke-1 hingga hari ke-6 baik pada media pemeliharaan maupun pada larva udang mati. Hal ini mungkin dikarenakan sebelum diberi perlakuan telah terjadi pre-kolonisasi pada larva udang oleh *Vibrio* lain (*Vibrio* dengan koloni warna kuning) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4 dan 5.

Laju pertumbuhan harian panjang larva udang pada perlakuan dengan penambahan 1Ub sebesar 5,02%; perlakuan P20Bf sebesar 4,92%; perlakuan 10a sebesar 4,84%; kontrol positif sebesar 4,07%; dan kontrol negatif (tanpa penambahan bakteri) sebesar 4,28% (Gambar 6). Sedangkan laju pertumbuhan harian bobot pada perlakuan 1Ub sebesar 19,85%; perlakuan P20Bf sebesar 18,09%; perlakuan 10a sebesar 18,42%; kontrol positif sebesar 15,45%; dan kontrol negatif (tanpa penambahan bakteri) sebesar 15,68% (Gambar 7). Laju pertumbuhan larva udang windu dengan penambahan bakteri 1Ub tampak paling tinggi dibanding dengan perlakuan lainnya terutama dibanding dengan kontrol positif.

Peningkatan laju pertumbuhan harian bobot dan panjang larva udang windu yang diberi bakteri 1Ub diduga karena bakteri 1Ub mengandung makro dan mikro nutrisi yang tidak terdapat pakan alami artemia, yang dapat memacu pertumbuhan udang. Keberadaan bakteri 1Ub kemungkinan dapat memperbaiki komunitas mikrob sehingga dapat pula meningkatkan kebugaran larva udang. Selain itu, bakteri 1Ub diduga dapat memberi kontribusi enzim pencernaan yang menyebabkan larva udang dapat mencerna dengan lebih baik sehingga nutrisi yang diserap oleh tubuh juga lebih banyak. Peranan bakteri probiotik dalam meningkatkan laju pertumbuhan hewan akuatik juga telah dibuktikan oleh Riquelme *et al.* (1997), Haryanti *et al.* (2000), Rengpipat *et al.* (1998b), serta Douillet & Langdon (1994).

KESIMPULAN

Isolat probiotik yang diperoleh terutama 1Ub yang diisolasi dari saluran pencernaan udang vanamei efektif menghambat pertumbuhan *V. harveyi* serta secara nyata dapat meningkatkan sintasan larva udang windu. Nilai sintasan larva udang pada perlakuan yang selain diinfeksi *V. harveyi* MR5339 juga ditambahkan isolat 1Ub adalah 90%, berbeda nyata dengan kontrol positif/hanya diinfeksi *V. harveyi* MR5339 (73,3%).

DAFTAR ACUAN

- Douillet, P. & Langdon, C.J. 1994. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture*, 119: 25—40.
- Effendie, M.I. 1979. Metode Biologi Perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor, 105 hlm.
- Fuller, R. 1989. Probiotic in man and animals. *J. Appl Bacteriol.*, 66: 365—378.
- Gomez-Gil, B., Roque, A., & Tumbull, J.F. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organism. *Aquaculture*, 191: 259—270.
- Haryanti, Sugama, K., Tsumura, S., & Nishijima, T. 2000. Potentiality of bacteria isolated from seawater as biological control agent for vibriosis in black tiger shrimp *Penaeus monodon* larvae. Dalam: Hardjito, L. (Ed.). *Proceedings of International Symposium on Marine Biotechnology (ISMB 2000)*. Center for Coastal and Marine Resources Studies, IPB, Bogor, Indonesia, p. 182—189.

- Huisman, E.A. 1987. Principles of Fish Production. Department of Fish Culture and Fisheries. Wageningen Agricultural University. Netherlands, 170 pp.
- Karunasagar, I., Pai, R., Malathi, G.R., & Karunasagar, I. 1994. Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic-resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203—209.
- Muliani, Suwanto, A., & Hala, Y. 2003. Isolasi dan karakterisasi bakteri asal laut Sulawesi untuk biokontrol penyakit vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.). *Hayati*, 10: 6—11.
- Rajab, F. 2006. *Isolasi dan Seleksi Bakteri Probiotik dari Lingkungan Tambak dan Hatchery untuk Pengendalian Penyakit Vibriosis pada Larva Udang Windu (Penaeus monodon)*. Skripsi. Insitut Pertanian Bogor, 43 hlm.
- Rengpipat, S.S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S., & Menasveta, P. 1998a. Probiotic in aquaculture: a case study of probiotic for larvae of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). In: Flegel TW (ed.). *Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the special session on shrimp biotechnology*, 5th Asian Fisheries Forum; Chiangmai, Thailand. Bangkok: National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, p. 176—181.
- Rengpipat, S.S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S., & Menasveta, P. 1998b. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167: 301—313.
- Riquelme, C. et al. 1997. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture*, 154: 17—26.
- Ruangpan, L. & Kitao, T. 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.). *Disease in Asian Aquaculture I*. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, p. 135—142.
- Rukyani, A., Taufik, P., & Taukhid. 1992. Penyakit kunang-kunang (*Luminescence vibriosis*) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. *J. Litbang Pert.*, 2: 1—17.
- Tjahjadi, M.R., Angka, S.L., & Suwanto, A. 1994. Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial diseases in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon* Fab.). *Aspac. J. Mol. Biol. Biotechno.*, 2: 234—352.