

PROSIDING
PERTEMUAN AHLI KESEHATAN IKAN 2014

Peranan Ilmu Mikrobiologi dalam Kesehatan Ikan dan Lingkungan



Pengarah dan Penanggungjawab
Kepala Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan
dan Lingkungan Serang

Redaktur

Yan Evan
Suherman
Swastika Dita Soraya
Dinarti

Redaktur Pelaksana

M. Aziz Hakim
Rismelsy

Teknologi Informasi

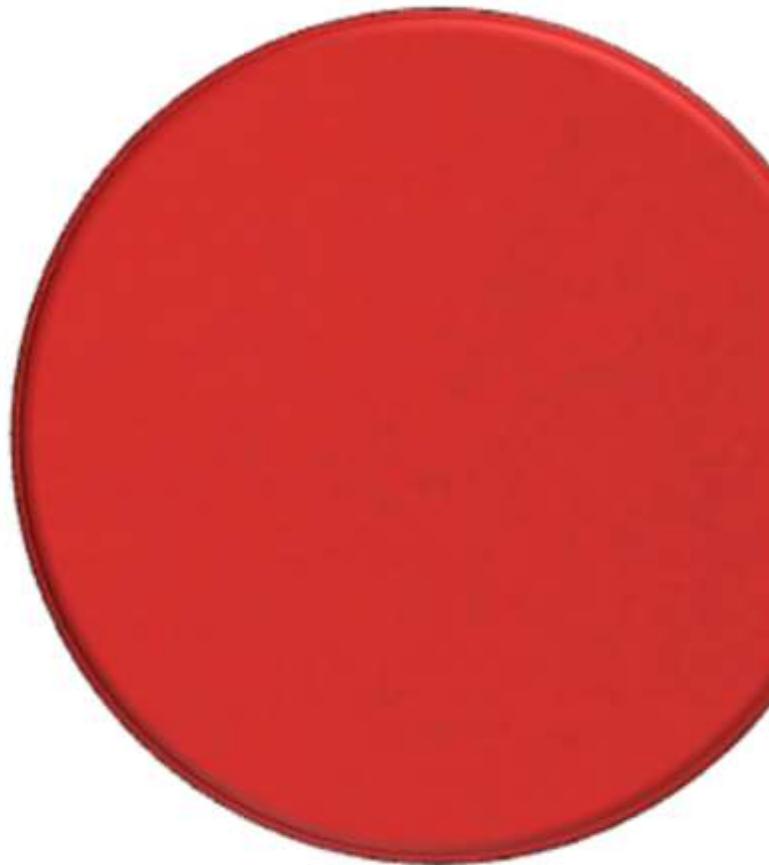
Ronny Irawan Wibisana

ISBN : 978-602-70352-0-1

ISBN : 978-602-70352-0-1



PAKI 



**KEMENTERIAN KELAUTAN DAN PERIKANAN
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA
LOKA PEMERIKSAAN PENYAKIT IKAN DAN LINGKUNGAN SERANG**

JALAN RAYA ANYER CARITA, DESA UMBUL TANJUNG, KECAMATAN CINANGKA

KOTAK POS 123 ANYER LOR, SERANG 42167

TELEPON: (0254) 650431; FAKSIMILE: (0254) 650431

LAMAN www.kkp.go.id, www.lp2i-serang.com; POS ELEKTRONIK ppi_serang@yahoo.co.id

PROSIDING

PERTEMUAN AHLI KESEHATAN IKAN 2014
PERANAN ILMU MIKROBIOLOGI DALAM
KESEHATAN IKAN DAN LINGKUNGAN

Pengarah dan Penanggungjawab

Kepala Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan Serang

Redaktur

Yan Evan

Suherman

Swastika Dita Soraya

Dinarti

Ronny Irawan Wibisana

Redaktur Pelaksana

M. Aziz Hakim

Rismelsy

Teknologi Informasi

Ronny Irawan Wibisana



Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan
Jl. Raya Carita, Desa Umbul Tanjung, Kecamatan Cinangka,
Po. Box 123 Anyer Lor, Serang, Banten 42167
Telp./Faks. : 0254650431
Surel : lppil_serang@yahoo.co.id
Laman : www.lp2il-serang.com

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya kami dapat menyelesaikan Prosiding Pertemuan Ahli Kesehatan Ikan 2014 ini.

Prosiding ini merupakan tindak lanjut pelaksanaan kegiatan Pertemuan Ahli Kesehatan Ikan 2014 dengan tema “Peranan Ilmu Mikrobiologi dalam Kesehatan Ikan dan Lingkungan” yang dilaksanakan pada 11-13 Februari 2014 di Patra Jasa Anyer Beach Resort, Banten. Kegiatan ini bertujuan sebagai sarana komunikasi dan sebagai wadah penyampaian hasil-hasil penelitian dan perekayasa, studi kasus, serta pengembangan metode dalam rangka meningkatkan kompetensi sumberdaya manusia yang bekerja di bidang mikrobiologi perikanan.

Kegiatan Pertemuan Ahli Kesehatan Ikan 2014 ini dilakukan dalam bentuk penyampaian makalah dengan presentasi oral dan kemudian dilanjutkan dengan diskusi yang dipandu oleh beberapa narasumber yang kompeten.

Semoga prosiding ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu mikrobiologi perikanan serta seluruh pihak yang memerlukan informasi teknis di bidang mikrobiologi perikanan.

Pada akhirnya kami mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang membantu, sehingga prosiding ini dapat diterbitkan.

Serang, Maret 2014

Redaksi

SAMBUTAN
KEPALA LOKA PEMERIKSAAN PENYAKIT IKAN DAN LINGKUNGAN
SERANG

Puji syukur ke hadhlirot Allah, Tuhan yang Maha Kuasa, atas karunia-Nya kita dapat dipertemukan dalam forum Pertemuan Ahli Kesehatan Ikan 2014 dengan tema **Peranan Mikrobiologi dalam Kesehatan Ikan dan Lingkungan**. Selanjutnya atas karunia-Nya jugalah kami mampu mengkompilasikan hasil presentasi dan ulasan narasumber dalam bentuk prosiding.

Prosiding ini dapat tersusun dengan baik karena banyaknya teman sejawat yang ikut berperan aktif, mulai dari Kepala Balai Besar/Balai/Stasiun di lingkup DJPB dan Badan Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Perikanan yang telah berkenan hadir dan memberikan masukan, para pemakalah serta ketua panitia PAKI 2014 beserta jajarannya. Terimakasih kami ucapkan atas kerjasamanya selama ini.

Prosiding ini terdiri dari 20 judul presentasi terseleksi, masing-masing terdiri dari 6 studi kasus, 3 hasil perekayasa dan 12 makalah hasil penelitian. Sebagai bahan pengayaan, pada setiap makalah kami sertakan hasil evaluasi dari narasumber, dengan harapan agar para pembaca mendapatkan informasi secara lebih lengkap terkait dengan judul makalah tersebut.

Prosiding yang kami susun masih terasa sangat jauh dari kata sempurna. Mohon kritik, saran dan masukan para pembaca demi perbaikan penyusunan prosiding di tahun-tahun mendatang. Semoga prosiding sederhana ini bermanfaat bagi pembaca.

Serang, Februari 2014
Kepala Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan
dan Lingkungan Serang

Toha Tusihadi

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
SAMBUTAN KEPALA LOKA PEMERIKSAAN PENYAKIT IKAN DAN LINGKUNGAN	ii
DAFTAR ISI	iii
KUMPULAN MAKALAH PERTEMUAN AHLI KESEHATAN IKAN 2014: PERANAN ILMU MIKROBIOLOGI DALAM KESEHATAN IKAN DAN LINGKUNGAN	iv
1. Aplikasi Prebiotik untuk Meningkatkan Resistensi Ikan Nila terhadap Serangan Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i> (Achmad N. Putra).....	1
2. Pengembangan Teknik Diagnosa Penyakit <i>Epizootic Ulcerative Syndrome</i> (EUS) pada Ikan Melalui Pendekatan Gejala Klinis, Isolasi Patogen, Histopatologis dan Molekuler (Ade Nurdin, Khumaira Puspasari, Eka Nurdian, Tina Y. Asri, dan Taukhid).....	11
3. Potensi Agen Bakteri Biokontrol Indigenous Tambak Tradisional Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i>) di Lampung Timur Strain D.2.2, terhadap Bakteri Patogen pada Udang dan Ikan (Agus Setyawan, Esti Harpeni, Mahrus Ali, Dennis Clara Mariska, Mufit Budi Aji)	24
4. Uji Imunogenisitas Antigen O <i>Aeromonas salmonicida</i> sebagai Material Vaksinasi pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) dengan Suhu Pemeliharaan yang Berbeda (Dwi Sulistiyono, I Nyoman Suardana, Surya Amanu, Agus Sugiyanto, Afarni).....	32
5. Indeks <i>Vibrio</i> sp. pada Perairan Budidaya sebagai Peringatan Dini (<i>Early Warning</i>) terhadap Serangan WSSV pada Budidaya Udang <i>Vannamei</i> di Karawang (Endah Mardiasuti, Atri Triana Kartikasari)	38
6. Deteksi <i>Vibrio</i> Berpendar Patogenik secara Konvensional dan Molekuler (Ince Ayu K. Kadriah, Koko Kurniawan)	42
7. Uji Patogenitas Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> dengan Konsentrasi yang Berbeda secara Penyuntikan (Koko Kurniawan, Arifuddin Tompo)	50
8. Respon Kekebalan Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) terhadap Vaksinasi dengan Pemberian Antigen Somatik (Polyvalent O) <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Temperatur Pemeliharaan yang Berbeda (Miftahul Fikar Ultira, Suhardo R.T. Simanjuntak, Rina Hernawati, Mario Ari Yudistra).....	58
9. Pemanfaatan Probiotik dalam Peningkatan Produksi Budidaya Lele (Murtiati, Santika A, Tri Wahyuni, Sofi Hanif, Zakki, Jaelani, Juyana).....	68
10. Infeksi dan Pola Resistensi <i>Aeromonas</i> sp. dari Isolat Ikan Piranha (<i>Pygocentrus Nattereri</i>) di Bali Safari and Marine Park (Ni Made Herawati, Hapsari Mahatmi, I Nengah Kerta Besung).....	77

11. Wabah Infeksi <i>Aeromonas</i> sp. pada Induk Nila Adaptasi Air Payau (Rice Novrizah, Irvan Firman Syah, Rizka Masykuri, Nurbariah, Chairin Sofia)	83
12. Agen Kausatif Vibriosis pada Pembesaran Ikan Kakap Putih (<i>Latescalcarifer</i>) di KJA BBPBL Lampung (Rini Purnomowati, Julinasari Dewi, Febri Nugroho)	88
13. Aplikasi <i>Loop-mediated isothermal amplification</i> untuk Deteksi <i>Edwardsiella ictaluri</i> (Sari Utami Hidayati, Rizky Amalia Rahman, Ronald Nainggolan, Ardiani, Sara Tiara Karusha, Wasito)	96
14. Identifikasi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> dengan Menggunakan Metode Konvensional pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak Banten Tahun 2013 (Eko Hendri Gunawan, Sartini Sabir, Arif Nur Rahman).....	106
15. Seleksi Mikroflora Saluran Pencernaan Udang <i>Vannamei</i> (<i>Litopenaeus vannamei</i>) yang Berpotensi sebagai Probiotik (Sri Murti Astuti, Ita Rizkiyanti, Zariah).....	110
16. Pembuatan Antibodi Poliklonal untuk Pemeriksaan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Ikan dengan Metode Serologi (Yan Evan, Suherman, Surya Amanu, Swastika Dita Soraya, Dinarti, M. Aziz Hakim).....	121
17. Identifikasi dan Isolasi Bakteri Penyebab <i>Vibriosis</i> pada Ikan Kerapu dan Patogenesitasnya pada Ikan Kerapu Macan (Yani Lestari Nur'aini, Arman Fahries, Didik BN, Yuliana Prasetyaningsih)	130
18. Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Badut Hitam (<i>Amphiprion percula</i>) (Tri Meilinda, Yudha T. Adiputra, Esti Harpeni, Berta Putri)	142
19. Perbandingan Kualitas dan Kuantitas DNA Plasmid <i>Pseudomonas putida</i> FNCC₀₇₁ dengan Strain <i>Pseudomonas</i> sp. Indigenous Malang Pengurai LAS (<i>Linear Alkylbenzene Sulfonate</i>) Hasil Isolasi Menggunakan Lima Metode (Yulia Arum Anjani, Tri Ardyati, Suharjono)	148
20. Perlakuan Gnotobiotik Kultur <i>Artemia</i> dengan β-Glukan: Kajian Potensi β-Glukan untuk Memperkuat Resistensi terhadap <i>Vibriosis</i> (Romi Novriadi, Muh. Kadari).....	163

**KUMPULAN MAKALAH
PERTEMUAN AHLI KESEHATAN IKAN 2014:
PERANAN ILMU MIKROBIOLOGI DALAM KESEHATAN IKAN DAN
LINGKUNGAN
SERANG, 11-13 FEBRUARI 2014**

JUDUL	NAMA PRESENTER	ASAL INSTANSI
Aplikasi Prebiotik untuk Meningkatkan Resistensi Ikan Nila terhadap Serangan Bakteri <i>Streptococcus agalactiae</i>	Achmad N. Putra	Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
Pengembangan Teknik Diagnosa Penyakit <i>Epizootic Ulcerative Syndrome</i> (EUS) pada Ikan Melalui Pendekatan Gejala Klinis, Isolasi Patogen, Histopatologis dan Molekuler	Ade Nurdin	Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan
Potensi Agen Bakteri Biokontrol Indigenous Tambak Tradisional Udang Windu (<i>Penaeus monodon</i>) di Lampung Timur Strain D.2.2, terhadap Bakteri Patogen pada Udang dan Ikan	Agus Setyawan	Universitas Lampung
Uji Imunogenisitas Antigen O <i>Aeromonas salmonicida</i> sebagai Material Vaksinasi pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) dengan Suhu Pemeliharaan yang Berbeda	Dwi Sulistiyono	Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Tanjungpinang
Indeks <i>Vibrio</i> sp. pada Perairan Budidaya sebagai Peringatan Dini (<i>Early Warning</i>) terhadap Serangan WSSV pada Budidaya Udang Vannamei di Karawang	Endah Mardiasuti	Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya Karawang
Deteksi <i>Vibrio</i> Berpendar Patogenik secara Konvensional dan Molekuler	Ince Ayu K. Kadriah	Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Maros
Uji Patogenitas Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> dengan Konsentrasi yang Berbeda secara Penyuntikan	Koko Kurniawan	Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau Maros

JUDUL	NAMA PRESENTER	ASAL INSTANSI
Respon Kekebalan Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>) terhadap Vaksinasi dengan Pemberian Antigen Somatik (Polyvalent O) <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Temperatur Pemeliharaan yang Berbeda	Miftahul Fikar Ultira	Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Jambi
Pemanfaatan Probiotik dalam Peningkatan Produksi Budidaya Lele	Murtiati	Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar Sukabumi
Infeksi dan Pola Resistensi <i>Aeromonas</i> sp. dari Isolat Ikan Piranha (<i>Pygocentrus nattereri</i>) di Bali Safari and Marine Park	Ni Made Herawati	Bali Safari and Marine Park
Wabah Infeksi <i>Aeromonas</i> sp. pada Induk Nila Adaptasi Air Payau	Rice Novrizah	Balai Budidaya Air Payau Ujung Batee
Agen Kausatif Vibriosis pada Pembesaran Ikan Kakap Putih (<i>Latescalcarifer</i>) di KJA BBPBL Lampung	Rini Purnomowati	Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung
Aplikasi <i>Loop-mediated isothermal amplification</i> untuk Deteksi <i>Edwardsiella ictaluri</i>	Sari Utami Hidayati	Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan
Identifikasi Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> dengan Menggunakan Metode Konvensional pada Ikan Mas (<i>Cyprinus carpio</i>) yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak Banten Tahun 2013	Sartini Sabir	Stasiun Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Banten
Seleksi Mikroflora Saluran Pencernaan Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>) yang Berpotensi sebagai Probiotik	Sri Murti Astuti	Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara
Pembuatan Antibodi Poliklonal untuk Pemeriksaan Bakteri <i>Aeromonas hydrophila</i> pada Ikan dengan Metode Serologi	Yan Evan	Loka Pemeriksaan Penyakit Ikan dan Lingkungan Serang

JUDUL	NAMA PRESENTER	ASAL INSTANSI
Identifikasi dan Isolasi Bakteri Penyebab <i>Vibriosis</i> pada Ikan Kerapu dan Patogenesitasnya pada Ikan Kerapu Macan	Yani Lestari Nur'aini	Balai Budidaya Air Payau Situbondo
Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Badut Hitam (<i>Amphiprion percula</i>)	Yudha T. Adiputra	Universitas Lampung
Perbandingan Kualitas dan Kuantitas DNA Plasmid <i>Pseudomonas putida</i> FNCC ₀₇₁ dengan Strain <i>Pseudomonas sp.</i> Indigenous Malang Pengurai LAS (<i>Linear Alkylbenzene Sulfonate</i>) Hasil Isolasi Menggunakan Lima Metode	Yulia Arum Anjani	Balai Budidaya Air Payau Situbondo
Perlakuan Gnotobiotik Kultur Artemia dengan β -Glukan: Kajian Potensi β -Glukan untuk Memperkuat Resistensi terhadap <i>Vibriosis</i>	Romi Novriadi	Balai Budidaya Laut Batam

POTENSI AGEN BAKTERI BIOKONTROL INDIGENOUS TAMBAK TRADISIONAL
UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) DI LAMPUNG TIMUR STRAIN D.2.2,
TERHADAP BAKTERI PATOGEN PADA UDANG DAN IKAN

Agus Setyawan¹, Esti Harpeni¹, Mahrus Ali¹, Dennis Clara Mariska², Mufit Budi Aji²

¹ Dosen Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

² Mahasiswa Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro No.1, Bandar Lampung 35145

Korespondensi penulis: agusu.san@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi biokontrol bakteri strain D.2.2. terhadap bakteri patogen pada ikan dan udang secara in vitro. Tahapan metode dalam penelitian ini meliputi isolasi bakteri dari tambak tradisional di Lampung Timur, skrining bakteri kandidat anti-vibrio, profil pertumbuhan isolat bakteri kandidat biokontrol, ekstraksi senyawa aktif, uji aktivitas senyawa anti-bakteri patogen dan identifikasi bakteri. Sebanyak 293 isolat bakteri berhasil dikoleksi dari tambak tradisional udang windu (*Penaeus monodon*) di Lampung Timur. Uji antagonisme dengan *Vibrio harveyi* menunjukkan isolat D.2.2 memiliki zona hambat paling luas. Hasil identifikasi secara morfologi dan biokimia menunjukkan isolat D.2.2 identik dengan bakteri *Alteromonas* sp.

Kata kunci : *Alteromonas* sp., Biokontrol, Udang windu, Vibriosis

Udang merupakan salah satu komoditas utama dalam program industrialisasi perikanan. Pemerintah berupaya meningkatkan produksi udang pada tahun 2014 yaitu sebesar 200 ribu ton dengan mengoptimalkan luas area tambak mencapai lebih dari 20 ribu Ha (KKP, 2013). Perkembangan produksi udang di Indonesia selama 3 (tiga) tahun terakhir terus mengalami peningkatan. Prosentase peningkatan produksi tahun 2012 mencapai 32,87%, dari 400.385 ton pada tahun 2011 menjadi 457.600 ton di tahun 2012 (KKP, 2013).

Penurunan produksi udang salah satunya disebabkan oleh penyakit baik itu penyakit virus maupun bakteri. *Vibriosis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp, bersifat akut dan dapat mematikan larva udang dalam waktu 1 sampai 3 hari (Rukyani *et al.* 1992 dalam Maryani, 2002). *Vibriosis* menginfeksi udang di pembenihan maupun di tambak dan yang sering ditemukan di tambak yaitu *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus*, dan *V. fluvialis* (Lightner, 1992; Boer dan Zafran. 1992).

Salah satu penanggulangan penyakit bakteri pada udang adalah dengan menggunakan bakteri biokontrol. Beberapa bakteri biokontrol telah ditemukan dan memiliki efektivitas terhadap *Vibrio* sp. antara lain S2V2 yang secara morfologi dan biokimia mendekati genus

Alteromonas sp, *Pseudoalteromonas* sp, dan *Pseudomonas* (Isnansetyo et al, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi kandidat bakteri biokontrol strain D.2.2 yang diisolasi dari tambak tradisional udang windu (*P. monodon*) di Lampung Timur terhadap Vibriosis.

Metode

Isolasi bakteri

Kandidat bakteri biokontrol dikoleksi dari tambak tradisional udang windu (*P. monodon*) di Desa Mulyo Sari, Kecamatan Pasir Sakti, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil air dan sedimen di tambak bagian hulu, tengah, dan hilir. Sampel air dan sedimen diencerkan hingga 10^{-2} kemudian diinokulasikan kedalam medium SWC (*sea water complete*) mengacu Ayuzar (2008). Inokulum kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk selanjutnya dilakukan pengujian lebih lanjut di laboratorium.

Skrining anti-Vibrio

Sebanyak 293 isolat yang didapatkan selanjutnya dilakukan skrining anti-Vibrio dengan melakukan uji antagonisme terhadap *V. harveyi* menggunakan metode *double layer agar* mengacu pada Isnansetyo and Kamei (2005). Isolat yang memiliki zona hambat paling luas dipilih untuk dijadikan sebagai kandidat bakteri biokontrol terhadap vibriosis.

Penentuan kurva pertumbuhan bakteri isolat terpilih

Isolat terpilih yang memiliki zona hambat paling luas dikultur dalam SWC cair. Sebanyak dua ose isolat bakteri ditumbuhkan dalam 100 ml media SWC cair dan diinkubasi pada inkubator suhu 28⁰C. Pengukuran kerapatan sel (*Optical Density*, OD) dilakukan setiap 3 jam sekali dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm hingga fase kematian. Waktu akhir fase stagnan pertumbuhan bakteri (menjelang fase kematian).

Ekstraksi senyawa anti-bakteri patogen

Ekstraksi anti bakteri mengacu pada Isnansetyo et al. (2009) dengan modifikasi yaitu media fermentasi SWC cair sebanyak 400 ml dibagi menjadi dua tempat dan diinkubasi menggunakan *rotary shaker* selama 84 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm. Setelah diinkubasi kemudian disentrifuse pada dengan kecepatan 5000 rpm selama 25 menit untuk memisahkan supernatan dengan pelet sel bakteri.

Supernatan dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama diekstraksi menggunakan etil asetat sebanyak dua kali kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50⁰ C.

Bagian kedua disaturasi atau dimurnikan menggunakan amonium sulfat dan diletakan pada lemari dingin selama 12 jam kemudian disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 25 menit untuk diambil presipitat atau peletnya.

Pelet sel bakteri dicuci menggunakan phospat buffer saline dan ditambahkan 15 ml buffer yang sama. Suspensi sel bakteri kemudian dipecah menggunakan ultrasonicator selama 30 detik sebanyak 6 kali. Suspensi sel bakteri disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 25 menit untuk diambil supernatnya. Supernatan dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama ditambahkan akuades 100 ml kemudian diekstraksi menggunakan etil asetat sebanyak dua kali dan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50⁰ C. Bagian kedua disaturasi menggunakan amonium sulfat dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya untuk memperoleh protein konstituent.

Uji aktivitas senyawa anti-bakteri patogen

Uji aktifitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi (*diffusion test*) menggunakan kertas cakram. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam dengan hasil ekstraksi dan pemurnian sebanyak 0,5 ml selama 1 jam. Kontrol positif menggunakan antibiotik *oxytetracycline* sedangkan kontrol negatif direndam menggunakan aquades. Sebanyak 2 ose isolat bakteri uji yaitu *Stapylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophyla*, *Vibrio alginoliticus* diencerkan masing-masing dalam 1 ml aquades steril. Bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan media TSA dan digerakan menyerupai angka delapan sehingga media bercampur rata dengan bakteri dan ditunggu hingga membentuk agar. Masing-masing kertas cakram diletakan diatas permukaan media TSA kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram tersebut.

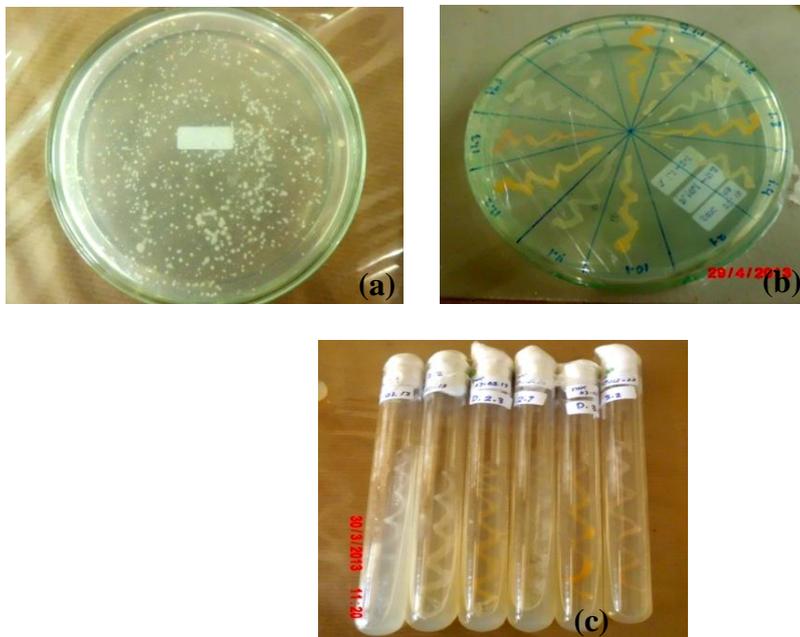
Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimiawi, yaitu uji pewarnaan Gram, uji katalase, uji oksidase-fermentasi, uji LIA, uji TSIA, uji TIO, uji SIMON CITRAT, uji MIO dan uji GELATIN. Identifikasi isolat terpilih mengacu pada *Bergey's Manual of Sistemic Bacteriology* (1994).

Hasil

Isolasi bakteri

Isolat bakteri kandidat biokontrol yang didapat dari penelitian ini sebanyak 293 isolat yang berasal dari sampel sedimen dan air tambak budidaya udang. Keseluruhan Isolat bakteri kandidat biokontrol ini didapat dari tiga lokasi tambak yang berbeda. Perbedaan lokasi tambak ini didasarkan pada tata letak tambak dari saluran utama pengairan tambak (Gambar 1). Isolat bakteri kandidat biokontrol yang memiliki penampilan koloni yang berbeda secara visual (Gambar 1) kemudian dipisahkan ke dalam media agar miring untuk mendapatkan isolat murni yang akan dikaji lebih lanjut.



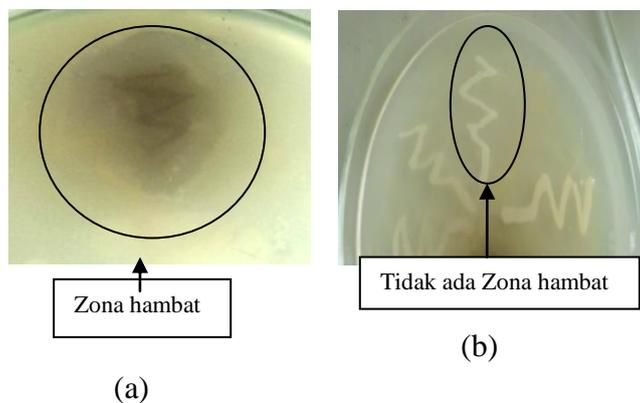
Gambar 1. Hasil isolasi bakteri kandidat biokontrol dari perairan tambak

Tabel 1. Jumlah isolat bakteri yang tumbuh pada media SWC

Pengenceran	Tambak 1		Tambak 2		Tambak 3		Jumlah
	Air	Sedimen	Air	Sedimen	Air	Sedimen	
10^0	27	47	10	24	20	29	157
10^{-1}	17	31	11	4	16	12	91
10^{-2}	6	11	4	8	8	8	45
Jumlah	50	89	25	36	44	49	293

Skrining anti-Vibrio

Uji aktivitas penghambatan bakteri dilakukan untuk melihat kemampuan penghambatan kandidat bakteri biokontrol hasil isolasi terhadap pertumbuhan bakteri patogen *V. harveyi* dalam media uji. Dari hasil seleksi *in vitro* terhadap 293 isolat bakteri kandidat biokontrol dengan menggunakan metode *double layer* didapat 1 isolat bakteri kandidat biokontrol yang mampu menghasilkan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *V. harveyi* dengan kode D2.2 (Gambar 2a).

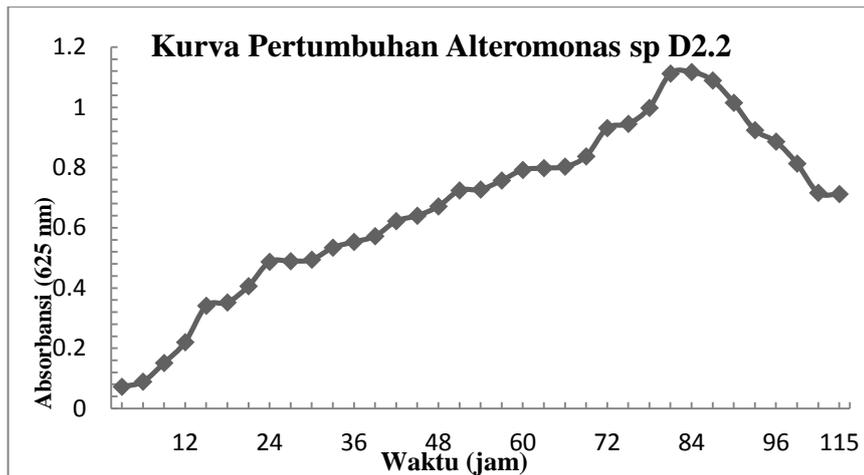


Gambar 2. Hasil uji aktivitas penghambatan

Keterangan : (a). terbentuknya zona hambat/zona bening
(b). tidak terbentuk zona hambat

Penentuan kurva pertumbuhan bakteri isolat terpilih

Berdasarkan kurva fase pertumbuhan bakteri strain D2.2, bakteri ini memiliki fase lag atau fase adaptasi hingga jam ke 6 dan memasuki fase eksponensial pada jam ke 9 dan terus berkembang hingga jam ke 78. Fase stasioner dimulai dari jam ke 81 dan kerapatan sel terus menurun sampai akhir pengamatan.



Gambar 2. Grafik fase pertumbuhan strain bakteri D.2.2

Ekstraksi senyawa aktif anti-bakteri

Produksi substansi antibakteri dengan menggunakan media SWC cair yang diinkubasi menggunakan *rotary shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 150 rpm selama 84 jam. Substansi antibakteri diambil dari sel dan dari media pertumbuhan. Metode yang digunakan yaitu menggunakan prinsip ekstraksi menggunakan etil asetat dan pemurnian menggunakan amonium sulfat.

Tabel 2. Hasil produksi substansi anti bakteri

No	Metode produksi	Hasil (ml)	
1	Supernatan		
-	Bagian pertama	Ekstraksi	30
-	Bagian kedua	Pemurnian	4,2
2	Pelet (sel bakteri)		
-	Bagian pertama	Ekstraksi	40
-	Bagian kedua	Pemurnian	3

Uji Aktifitas Senyawa Antibakteri

Uji aktifitas senyawa antibakteri menunjukkan terbentuknya zona hambat yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Luas zona hambat senyawa antibakteri dalam (mm)

No	Bakteri uji	Ekstrak sel	Ekstrak supernatan	Pemurnian sel	Pemurnian supernatan
1	<i>Stapylococcus aureus</i>	13	17	-	-
2	<i>Aeromonas hydrophyla</i>	17	21	15	18
3	<i>Vibrio alginolyticus</i>	31	24	26	-

Identifikasi bakteri

Hasil identifikasi berdasarkan morfologi dan uji biokimia bakteri strain D.2.2 secara lengkap tercantum dalam Tabel 4. Berdasarkan acuan dari *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology* (1994) bakteri strain D.2.2 diduga memiliki genus *Alteromonas* sp.

Tabel 4. Hasil uji morfologi dan biokimiawi bakteri agen biokontrol

No	Jenis uji	Hasil uji
1.	MORFOLOGI BAKTERI	
	- Bentuk	Batang
	- Gram	-
	- Warna	Kuning
2.	Katalase	-
3.	Oksidase	+
4.	Oksidatif /Fermentatif	Oksidatif
5.	TSIA	Non – reaksi
6.	TIO	Aerob
7.	LIA	-
8.	SIMON CITRAT	-
9.	MIO	
	- Motility	+
	- Indol	-
	- Ornithyne	-
10.	GELATIN	-

Pembahasan

Jumlah isolat bakteri laut yang didapat dari hasil penelitian ini dan mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* sebanyak 1 strain dari 293 isolat. Pada penelitian yang dilakukan Tjahjadi *et al.*, (1994) didapatkan isolat bakteri potensial penghambat *V. harveyi* sebanyak 6,7% dari 64 isolat. Haryanti *et al.*, (2000) mendapatkan isolat sebanyak 1% dari 273 isolat yang didapat dari hatchery udang dan kepiting. Pada penelitian Muliani *et al.*, (2003) yang mengambil sampel dari karang, air laut dan sedimen pantai isolat yang didapat sebanyak 2,5% dari 603 isolat. Hasil penelitian sebelumnya mengenai penapisan kandidat probiotik terhadap bakteri *V. harveyi* menunjukkan bahwa lautan memiliki potensi sebagai penghasil bakteri biokontrol terhadap bakteri *V. harveyi*.

Hasil pengamatan fase pertumbuhan bakteri yang diinkubasi pada suhu ruang menunjukkan bahwa bakteri *strain* D2.2 mengalami fase adaptasi, fase eksponensial, fase

stasioner, dan fase kematian. Pengamatan fase pertumbuhan bakteri dilakukan sebagai dasar untuk menentukan waktu terbaik untuk panen atau aktifitas tertinggi pada saat bakteri mengeluarkan metabolit sekunder. Senyawa antimikroba atau metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri *Alteromonas* sp SB 013 yaitu pada fase lag, fase eksponensial, dan fase stasioner (Muhamad, 2005). Isnansetyo *et al* (2009) membuktikan bahwa bakteri dari genus *Pseudoalteromonas* strain S2V2 memproduksi senyawa antimikroba tertinggi pada jam ke 96 yaitu fase stasioner menuju kematian. Hal ini yang menjadi dasar untuk memutuskan bakteri *strain* D2.2 dipanen pada pada fase stasioner menuju kematian.

Hasil ekstraksi dan pemurnian dari sel dan supernatan menunjukkan adanya zona bening pada uji difusi yang artinya senyawa ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophyla*, dan *Vibrio alginoloticus*. Berdasarkan hasil yang diperoleh senyawa tersebut dapat berupa protein, dan dapat disekresikan ke media, diduga bakteri strain D2.2 ini memiliki kemampuan untuk memproduksi lebih dari satu senyawa aktif yang memiliki aktifitas antibakteri karena bakteri ini mampu mensekresikan senyawa antibakteri ke media.

Hasil identifikasi bakteri strain D.2.2 diduga adalah genus *Alteromonas* sp. Beberapa penelitian yang lain juga menunjukkan bakteri *Alteromonas* sp. sangat potensial sebagai biokontrol di perairan payau dan laut terhadap bakteri patogen baik pada ikan maupun manusia. Penelitian lain yaitu Isolat *Alteromonas luteoviolcea* memiliki kemampuan untuk menghasilkan dua senyawa antibakteri yang mengandung Bromine serta senyawa polisakarida polianionik yang terikat pada membran yang dapat terdifusi ke dalam media dan dapat menghambat bakteri gram positif seperti *Bacillus firmus* (Gauthier dan Flatau, 1976).

Hasil penelitian menunjukkan zona hambat tertinggi yaitu ekstrak sel yang diujikan pada *Vibrio alginoliticus*, sedangkan zona hambat terendah ekstrak sel yang diujikan pada *Stapylococcus aureus*. Hal ini sejalan dengan apa yang telah diteliti Muhamad (2005) yaitu zona hambat tertinggi merupakan senyawa yang diperoleh dari ekstrak kasar sel bakteri *Alteromonas* SB 013. Selain itu Abraham (2004) membuktikan bahwa ekstrak kasar dari sel bakteri *Alteromonas* sp P7 menunjukkan zona hambat tertinggi pada bakteri uji *Vibrio harveyi*.

Senyawa antibakteri yang dihasilkan *Alteromonas* sp D2.2 diduga dapat berupa penghambatan sintesis peptidlogikan pada dinding sel, merusak permeabilitas membran sel, atau merubah sistem respirasi. Senyawa MC21-A (tetrabromo biphenyldiol) yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudoalteromonas phenolica* nov. O-BC30^T memiliki kemampuan untuk

merusak permeabilitas membran sel pada *S. aureus* resistan metisilin akan tetapi tidak menyebabkan lisis pada sel bakteri maupun sel eritrosit manusia (Isnansetyo dan Kamei, 2003).

Bakteri strain *Alteromonas* sp. D2.2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui senyawa yang dihasilkannya. Bakteri ini dapat dijadikan alternatif sebagai pengganti antibiotik, karena lebih ramah lingkungan dan tidak meninggalkan residu yang berbahaya baik pada lingkungan maupun pada manusia.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Stasiun Karantina Ikan dan Pengawasan Mutu Hasil Perikanan Panjang, Lampung dan Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung untuk isolat bakteri uji antagonisme.

Daftar Pustaka

- Abraham T.J. 2004. Antibacterial Marine Bacterium Deter Luminous Vibriosis in Shrimp Larvae. *NAGA, WordFish Quarterly* 27 (3&4)
- Ayuzar E. 2008. *Mekanisme Penghambatan Bakteri Probiotik terhadap Pertumbuhan Vibrio Harveyi pada Larva Udang Windu (Panaeus monodon)*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut pertanian Bogor
- Boer D.R, Zafran. 1992. Bakteri *Vibrio* sp. Sebagai patogen oportunistik bagi udang windu. *J Penel Budidaya Pantai* 7 (1): 73-76.
- Haryanti, Sugama K, Tsumura S, dan Nishijims T. 2000. Vibriostatic Bacterium Isolated from Seawater: Potentiality as Probiotics Agent in the Rearing of *Penaeus monodon* Larvae. *Ind. Fish. Res. J.*, 6:26-32.
- Holt, J.G., and N.R. Krieg. 1984. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Vol. 1. The Williams and Wilkins Co. Baltimore
- Isnansetyo, A. 2005. Bakteri Antagonis sebagai Probiotik untuk Pengendalian Hayati pada Akuakultur. *Jurnal Perikanan* 7 (1) :1
- Isnansetyo A, Istiqomah I, Muhtadi, Sinansari S, Hernawan R.K, Triyanto, Widada J. 2009. A potential bacterial biocontrol agent, strain S2V2 against pathogenic marine *Vibrio* in aquaculture. *World J MicrobiolBiotechnol* (2009) 25:1103–1113
- KKP. 2013. *Kerjasama pencegahan penyakit udang untuk mendukung pencapaian peningkatan produksi*. Berita KKP tgl 14/05/2013
- Lightner D.V. 1992. *Image Courtesy: A Handbook Of Shrimp Patology And Diagnostics Procedures For Disease Of Culture Penaeid Shrimp*. World Aquaculture Association, Baton Rouge, Louisiana, USA.
- Maryani. 2002. Peranan Ekstrak Kelopak dan Buah Mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap Infeksi Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus monodon*). *J. Akuakultur Indonesia* 1(3):129-138
- Muhammad. 2005. *Isolasi Bakteri Epibiotik Penghasil Senyawa Antibakteri dari Permukaan Karang*. [Tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor

- Muliani, Suwanto A, Hala Y. 2002. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asal Laut Sulawesi Untuk Biokontrol Penyakit Vibriosis Pada Larva Udang Windu (*Penaeus Monodon* Fab.). *Hayati* 10 (1): 6 – 11
- Tjahjadi M.R, Angka S.L, dan Suwanto A. 1994. Isolation And Evaluation Marine Bacteria For Biocontrol Of Luminous Bacterial Disease In Tiger Shrimp Larvae (*Penaeusmonodon* Fab.). *Aspac. J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 2:347 – 352