

Seleksi Potensial Bakteri Laut dari Perairan Pulau Panjang Sebagai Agen Pengendali Hayati Penyakit Vibriosis pada Budidaya Ikan dan Udang

Willis Ari Setyati dan Subaglyo

Laboratorium Eksplorasi dan Bioteknologi Kelautan, PS. Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Abstrak

Penelusuran bakteri laut yang berasal dari perairan pulau panjang yang mempunyai aktivitas antagonis terhadap beberapa jenis bakteri *Vibrio* penyebab vibriosis pada ikan dan udang bertujuan untuk mendapatkan kandidat bakteri sebagai agen pengendali hayati penyakit vibriosis. Tolok ukur seleksi pada penelitian ini adalah kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio* patogen dan bersifat non patogenik terhadap ikan dan udang. Bakteri diisolasi dari sedimen dan air laut, rumput laut, lamun, karang keras dan karang lunak. Uji aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen (*V. harveyi*, *V. fluvialis*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*) dilakukan dengan metode tusukan dan overlay. Hasil uji aktivitas antagonis didapatkan 15 isolat aktif terhadap *V. harveyi*, 25 isolat aktif terhadap *V. parahaemolyticus*, dan 9 isolat aktif terhadap *V. anguillarum*, dan 6 isolat aktif terhadap *V. fluvialis*, dan tidak ditemukan isolat aktif terhadap *V. alginolyticus*.

Kata kunci : *Vibrio*-antagonistic bacteria, agen pengendali hayati, vibriosis

Abstract

Marine bacteria from Panjang Island waters was screened for antagonistic activity toward vibriotic bacteria. The research was aimed to investigate bio-control agent candidates with ability to control vibriosis in mariculture. The research was conducted with experimental methods. Bacteria were isolated from sea sediment and water, hard corals, soft corals, and sponges. Isolated bacteria were assayed for antagonistic activity by using inoculation and overlay techniques. The result showed that 15 isolats antagonist to *V. harveyi*, 25 isolats antagonist to *V. parahaemolyticus*, 9 isolats antagonist to *V. anguillarum*, and 6 isolats antagonist to *V. fluvialis* and no isolat was found antagonist to *V. alginolyticus*.

Key words : *Vibrio*-antagonistic bacteria,, vibriosis, biocontrol agent

Pendahuluan

Penyakit merupakan salah satu faktor utama penyebab gagal panen pada budidaya udang dan ikan. Diantara penyakit yang menyerang ikan dan udang adalah vibriosis. Vibriosis disebabkan oleh bakteri *vibrio*. Selama ini pendekatan pengendalian penyakit dilakukan melalui penerapan bahan-bahan kimia sebagai racun hama dan penyakit, serta penerapan obat-obatan terutama antibiotik untuk mengobati dan mencegah penyakit infeksi. Aktivitas ini mempunyai dampak kontra produktif yang berupa penurunan daya dukung lingkungan yang disebabkan oleh adanya residu bahan kimia dan antibiotik pada ekosistem tambak, terbentuknya dan meningkatkan resistensi terhadap obat-obatan, terjadinya reaksi-reaksi kimia alami antara bahan organik dan senyawa-senyawa alami dengan bahan-bahan racun hama dan obat-obatan pengendali penyakit. Selain itu kondisi

lingkungan ini juga berdampak pada peningkatan stress lingkungan terhadap hewan budidaya, yang berakibat menjadi rentan terhadap infeksi patogen. Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap kejadian resistensi bakteri terhadap antibiotik (Jones, 1986; Hameed dan Rao, 1994; Kerry *et al.*, 1994) dan residu antibiotik dalam sistem budidaya (Borjklund *et al.*, 1990; Borjklund *et al.* 19901; Coyne *et al.*, 1994), kematian udang karena infeksi patogen yang resisten terhadap antibiotik (Karunasagar *et al.*, 1994)

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mempertahankan keberlanjutan daya dukung ekosistem tambak adalah melalui penggantian aplikasi bahan kimia dan obat-obatan sebagai agent penyubur maupun sebagai agen pengendali hama dan penyakit dengan aplikasi pupuk organik dan musuh alami hama dan patogen. Konsep musuh alami ini akan sangat efektif diterapkan dalam upaya pengendalian hama dan

penyakit secara terpadu. Di lingkungan pesisir laut terdapat kawasan habitat yang potensial sebagai sumber bakteri antagonis terhadap patogen ikan dan udang yaitu ekosistem mangrove, ekosistem lamun, ekosistem rumput laut dan kawasan terumbu karang.

Aplikasi bakteri antagonis, menurut Kamiso (2004), merupakan salah satu upaya pengendalian penyakit yang memberikan hasil cukup baik bersamaan dengan kegiatan skrening benur, penggunaan vaksin, immunostimulant dan pola budidaya sehat (*good management practices*). Salah satu bentuk agen pengendali hayati adalah konsorsia bakteri bakteri antagonis terhadap patogen ikan dan udang yang efektif menekan populasi patogen dalam ekosistem tambak. Untuk mengembangkan agen pengendali hayati yang dapat mengendalikan penyakit telah dilakukan studi mengenai mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menekan patogen. *Tetraselmis suecica* dilaporkan mampu menghambat *Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Serratia liquefaciens*, *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida*, *Yersinia ruckeryi*. Austin et al (1992), *Lactobacillus spp* dilaporkan efektif menghambat vibriosis (Jiravanichpaisal dan Chuaychuwong, 1997), *Pseudomonas fluorescens* dapat menghambat *Vibrio anguillarum* (Gram et al, 1999; Holmstrom dan Gram, 2003), *Pseudomonas bacillus*, *Staphylococcus* yang berasal dari tanah tambak ikan kerapu dapat menghambat *V. harveyi* (Nuchsin dan Hatmanti, 2004), *Bacillus sp* sebagai untuk menekan bakteri vibrio (Suprpto, 2005).

Materi dan Metode

Pengambilan sampel karang keras, karang lunak dan sponge dilakukan dengan teknik scuba diving. Sampel karang keras diambil menggunakan palu dan tатаh. Kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel steril secara terpisah sesuai dengan jenisnya. Sampel karang lunak diambil dengan cara memotong di bagian pangkal. Sampel selanjutnya disemprot dengan air laut steril, selanjutnya dimasukkan ke dalam botol sampel steril.

Terhadap isolat bakteri dari masing-masing sampel yang diperoleh dilakukan seri pengenceran menggunakan 75% aged sea water. Kemudian dilakukan penanaman dengan teknik pour plate pada medium Zobell 2216E (15,0 gr Bacto-agar, 5,0 gr Bacto-peptone, 1,0 gr yeast ekstrak dan 19,5 mg Feri fosfat dan ASW hingga mencapai volume 1 liter, pH diatur hingga 7,5-7,6) dan diinkubasi selama 2x24 jam sampai koloni koloni bakteri tumbuh. Selanjutnya masing-masing koloni bakteri yang tumbuh dimumikan dan diisolasi dengan teknik goresan.

Uji antagonis semua isolat terhadap patogen dilakukan dengan teknik tusukan dan overlay (Isnansetyo, 2004). Pada medium Zobell agar, ditusukan blakan murni isolat menggunakan jarum preparat dan diinkubasi selama 24 jam. Overlay dilakukan dengan cara menuang patogen uji yang telah ditumbuhkan dalam medium Zobell agar (70%) keatas media yang telah dilakukan penusukan. Adanya aktivitas antagonis ditunjukkan oleh terbentuknya daerah tanpa pertumbuhan (zone penghambatan) di sekitar koloni hasil tusukan. Diameter zona hambatan diukur menggunakan jangka sorong.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji aktivitas antagonis isolat-isolat yang diperoleh terhadap bakteri vibrio ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji antagonisme (Tabel 1.) diperoleh 15 isolat bersifat antagonis terhadap *V. harveyi* yaitu 5 isolat dari karang keras, 4 isolat berasal dari karang lunak, 1 isolat dari sediment laut, dan 5 isolat dari sponge. Berdasarkan diameter zone hambatan diperoleh isolat dari karang lunak dengan kode SCP.6.11 merupakan isolat dengan diameter zone hambatan terbesar yaitu 2,83 cm. Hasil uji aktivitas antagonisme terhadap bakteri *V. parahemoliticus* diperoleh 25 isolat yang bersifat antagonisme yaitu 11 isolat berasal dari karang keras, 1 isolat dari air laut, 5 isolat dari karang lunak, 2 isolat dari sediment laut dan 6 isolat dari sponge. Berdasarkan diameter zone hambatan, isolat dengan kode KKP.2.12 dari karang keras merupakan isolat yang menghasilkan zone penghambatan yang paling besar. Hasil uji antagonis terhadap bakteri *V. anguillarum* diperoleh 9 isolat bakteri yang bersifat antagonisme yaitu 5 isolat berasal dari karang keras, dan 3 isolat berasal dari karang lunak. Zona hambatan terbesar dihasilkan oleh isolat dengan kode KKP.6.07 dari karang keras yaitu sebesar 2,07 cm. Hasil uji aktivitas antagonisme terhadap *V. fluvialis* menunjukkan ada 6 isolat yang bersifat antagonisme yaitu 1 isolat berasal dari air laut, 2 isolat dari karang keras, 1 isolat dari karang lunak dan 2 isolat berasal dari sediment laut. Diameter zone penghambatan terbesar ditunjukkan oleh isolat dengan kode SLP.06 dan SLP.08 dari sediment laut masing-masing menghasilkan diameter zone hambatan 1,65 cm. Perbedaan zone hambat yang dibentuk oleh isolat-isolat sangat bervariasi. Variasi ini muncul terutama disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri terhadap senyawa antibakteri yang dihasilkan. Adanya variasi sensitivitas ini ditunjukkan oleh hasil penelitian Hameed dan Rao (1994). Hasil penelitian itu menunjukkan bahwa bakteri uji (*V. parahemoliticus* dan *V. alginoliticus*) hanya sensitive

Tabel 1. Aktivitas antagonis isolat-isolat terhadap bakteri vibrio

No	Kode Isolat	Diameter zona hambat (mm)			
		<i>V. harveyii</i>	<i>V. anguillarum</i>	<i>V. parahemoliticus</i>	<i>V. fluvialis</i>
1	ALP.1	-	-	1,29	-
2	ALP.12	-	-	-	0,5
3	KKP.1.12	-	-	0,78	-
4	KKP.2.09	-	-	0,9	-
5	KKP.2.12	1,3	-	1,61	-
6	KKP.2.14	-	-	-	1,18
7	KKP.2.18	-	-	0,82	-
8	KKP.4.04	-	1,32	-	-
9	KKP.4.08	1,1	-	-	-
10	KKP.5.05	-	-	-	1,21
11	KKP.5.07	-	-	1,26	-
12	KKP.6.01	-	-	0,9	-
13	KKP.6.02	1,4	1,05	0,83	-
14	KKP.6.03	-	1,3	0,85	-
15	KKP.6.04	-	1,2	0,83	-
16	KKP.6.05	-	1	0,72	-
17	KKP.6.06	-	-	0,71	-
18	KKP.6.07	-	2,07	-	-
19	KKP.6.18	1	-	-	-
20	KKP.6.21	1,16	-	-	-
21	SCP.2.06	-	-	0,69	-
22	SCP.3.02	-	-	-	1,6
23	SCP.5.05	-	-	0,91	-
24	SCP.5.06	-	-	0,98	-
25	SCP.5.12	-	1,13	-	-
26	SCP.5.15	1,28	1,14	0,83	-
27	SCP.5.16	0,8	0,8	0,8	-
28	SCP.5.17	0,93	-	-	-
29	SCP.6.11	2,83	-	-	-
30	SLP.06	-	-	-	1,65
31	SLP.08	-	-	-	1,65
32	SLP.09	-	-	1,5	-
33	SLP.11	1,5	-	-	-
34	SLP.14	-	-	1,25	-
35	SpP.1.01	2,66	-	-	-
36	SpP.1.11	-	-	1,14	-
37	SpP.1.21	0,6	-	-	-
38	SpP.1.25	-	-	1,12	-
39	SpP.2.01	-	-	1,14	-
40	SpP.2.02	-	-	0,93	-
41	SpP.2.03	-	-	0,85	-
42	SpP.3.01	2,8	-	-	-
43	SpP.3.08	2,07	-	1,24	-
44	SpP.3.16	2,88	-	-	-

Keterangan :

KKP : Karang keras; SCP : Karang Lunak; SpP : Sponge
 SLP : Sedimen laut; ALP : Air Laut

terhadap antibiotic jenis klorampenikol dan tidak sensitive terhadap jenis-jenis antibiotic lain.

Isolat dengan kode KKP.6.02 mempunyai aktivitas ganda terhadap *V. harveyii* dan *V. anguillarum* dan *V. parahemoliticus*. Isolat dengan kode KKP.6.03, KKP.6.04, KKP.6.05 mempunyai aktivitas terhadap *V. anguillarum* dan *V. parahemoliticus*. Isolat dengan kode SCP.5.15 dan SCP.5.16 mempunyai aktivitas terhadap *V. harveyii* dan *V. parahemoliticus*. Isolat dengan kode

SpP.3.08 mempunyai aktivitas terhadap *V. harveyii* dan *V. fluvialis*. Kemampuan bakteri untuk menghambat lebih dari satu jenis bakteri lain menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan jenis antibakteri yang berbeda (Noir dan Simidu, 1987). Menurut Isnansetyo (2004) bakteri menghasilkan hanya satu jenis bakteri tetapi ada pula yang menghasilkan lebih dari satu jenis.

Antagonistik merupakan salah satu strategi adaptasi suatu organisme untuk dapat eksis di alam. Menurut Sugita (1977) dalam Isnansetyo (2004) antagonisme dapat terjadi melalui mekanisme penghasilan siderofor, lisozim, protease, H₂O₂ atau asam organik yang menyebabkan asam organik sehingga media tumbuh tersebut berubah. Berdasarkan hasil uji aktivitas antagonisme tampak bahwa ada variasi jenis bakteri laut yang mempunyai kemampuan antagonisme terhadap vibrio selain itu juga terdapat variasi asal (habitat) isolat bakteri terhadap jumlah isolat yang mempunyai aktivitas antagonis terhadap vibrio. Berdasarkan Tabel 1 tampak bahwa jumlah isolat yang mempunyai aktivitas antagonisme terhadap *V. parahemoliticus* adalah yang paling tinggi, dan yang paling rendah adalah aktivitas antagonisme terhadap *V. alginoliticus*. Dalam penelitian ini tidak dijumpai isolat bakteri yang mempunyai aktivitas antagonisme terhadap *V. alginoliticus*. Berdasarkan asal (habitat) isolat bakteri yang diperoleh tampak bahwa jumlah bakteri yang mempunyai aktivitas antagonisme terhadap Vibrio paling banyak berasal dari karang keras dan sponge. Sedangkan jumlah isolat yang bersifat antagonis terhadap Vibrio paling sedikit diperoleh dari air laut dan sedimen laut. Menurut Noir dan Simidu (1987) distribusi strain-strain yang dapat menghambat bakteri lain dipengaruhi oleh ketersediaan nutrient, sehingga populasi bakteri membutuhkan untuk menghasilkan senyawa antibakteri agar dapat memenangkan kompetisi. Sedangkan menurut Isnansetyo (2004) variasi habitat terutama dilaut menyebabkan mikroorganisme laut mampu menghasilkan antibiotik dengan struktur yang bervariasi.

Kesimpulan

Hasil pengujian aktivitas antagonisme terhadap isolat-isolat bakteri yang berasal dari perairan pulau panjang diperoleh 15 isolat bersifat antagonis terhadap *V. harveyii* 25 isolat yang bersifat antagonisme terhadap *V. parahemoliticus* 9 isolat bakteri yang bersifat antagonisme terhadap bakteri *V. anguillarum*, 6 isolat antagonisme terhadap *V. fluvialis* dan tidak ditemukan isolat yang bersifat antagonis terhadap bakteri *V. alginoliticus*.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih diucapkan kepada Sri Wahyuni, Mario Srait, dan Burhan mahasiswa tugas akhir yang telah membantu dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Austin, B., E. Baudet, M. Stobie, 1992, Inhibition of Bacteria Fish Patogens By *Tetraselmis suecica*. *J. of Fish Disease* 15 :53-61
- Bjorklund, H., J. Bonderstam, G. Bylund, 1990, Residue of Oxytetracycline in Wild Fish and Sediment From Fish Farm. *Aquaculture* 86 : 359-367.
- Bjorklund, H.V., C.M. Rabergh, G. Bylund, 1991, Residue of Oxonic Acid and Oxytetracycline In Fish and Sediment From Fish Farm. *Aquaculture* 97: 85-96.
- Coyne R., M. Hiney, B. O'Connor, J. Kerry, D. cazabon, P.Smith, 1994, Concentration and Persistence of Oxytetracycline In Sediments Under A Marine salmon farm,. *Aquaculture* 123: 31-42.
- Gram, L., J. Melchlorsen, B. Spanggaard, I. Huber, T.F. Nielsen, 1999, Inhibition of *Vibrio anguillarum* AH 2 a Possible Probiotic Treatment of Fish. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 969-973.
- Isnansetyo, A, 2004, Bakteri Antagonis Sebagai probiotik Untuk Pngendalian Hayati Pada Akuakultur. *Jurnal Perikanan*, 1: 1-10
- Isnansetyo, A, 2004, Uji Antagonistik Langsung, Suatu Metode Baru Skrining bakteri Penghasil Antibiotik dan Penerapannya Untuk Skrining Probiotik, Pros. Seminar Nasional Penyakit Ikan dan Udang, Unsud, Purwokerto.
- Jiravanichpaisal, P., P. Chuaychuwong, 1997, The Use of *Lactobacillus sp* as The Probiotic Bacteria In The Giant Tiger Shrimp. Phuket, Thailand.
- Jones, J.G., 1986, Antibiotic Resistance In Aquatic bacteria. *J. Antimicrobial Chemotherapy* 18: 149-154.
- Kamiso, 2004, Status Penyakit Ikan dan Pengendallannya, Proc. Seminar Penyakit Ikan dan Udang IV, Unsud, Purwokerto.
- Karunasagar, I., R. Pai, G.R. Malathi, I. Karunasagar, 1994, Mass Mortality of *Penaeus Monodon* Larvae Due To Antibiotic Resistant *Vibrio harveyi* Infection. *Aquaculture* 128 : 203-209.
- Noir, S., U. simidu. 1987. Distribution and Significance of Heterotrophic Marine bacteria with Antibacterial Activity. *App. & Environ. Microbiol.* 53 : 2957-2962.
- Nuchsin R, A. Hatmanti. 2004. Beberapa jenis Bakteri Penghambat Bakteri Patogen *Vibrio Harveyi* Yang Diperoleh Dari tempat Budidaya Krapu Di Bojonegoro, Bantem, Proc. Seminar Penyakit Ikan dan Udang IV, Unsud, Purwokerto.
- Sugita, H., K. Shibuga, 1996, Antibacterial capabilities of Instinal Bacteria In Fresh water Cultured Fish. *Aquaculture* 145:195-203.
- Suprpto, 2004, Studi Pendahuluan *Bacillus sp* sebagai Probiotik Untuk Mengurangi Jumlah Bakteri *Vibrio sp* pada Hepatopankreas dan Air Pemeliharaan. *Jurnal Perikanan*, 1: 54-59