



LIMNOTEK

Perairan Darat Tropis Di Indonesia

Volume XVI, Nomor 1, Tahun 2009

ISSN 0854-8390

Puguh Dwi Raharjo

Pemodelan Hidrologi untuk Identifikasi Daerah Rawan Banjir di sebagian
Wilayah Surakarta Menggunakan SIG (Sistem Informasi Geografi)

1-9

Sulastri, Tri Suryono, Yoyok Sudarso & Rosidah

Karakteristik Fisik dan Kimia Limnologi Danau-danau Kecil di Pulau
Jawa

10-21

Iwan Ridwansyah

Kajian Morfometri, Zona Perairan dan Stratifikasi Suhu Danau Diatas
Sumatera Barat

22-32

Eko Harsono, Guruh Satria Ajie & Sulung Nomosatrio

Identifikasi Titik-titik Masukan Aliran Material Konsumen Oksigen Terlarut
(DO) Air Sungai Citarum Hulu

33-45

Untung Bijaksana, M. Zairin Jr, D. Djokosetyanto, I. Supriatna & D.S. Syafe'i

Pengaruh Pemberian Jenis Pakan yang Berbeda Terhadap Kematangan Gonad
Ikan Gabus (*Channa striata* Blk) dalam Wadah Budidaya

46-55

Iman Rusmana & Tri Widiyanto

Seleksi *Bacillus* sp. sebagai Biokontrol *Vibrio harveyi* di Tambak Udang

56-63

PUSAT PENELITIAN LIMNOLOGI
LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA

Majalah Limnotek Perairan Darat Tropis Di Indonesia adalah penerbitan berkala dari Pusat Penelitian Limnologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Terbit dua kali setahun, majalah ini mempunyai sasaran menjadi sarana komunikasi dan untuk menyebarluaskan hasil penelitian limnologi, baik dari para peneliti di Puslit Limnologi-LIPI maupun khalayak limnologi Indonesia pada umumnya.

Susunan Dewan Redaksi Limnotek Perairan Darat Tropis di Indonesia berdasarkan SK Ketua LIPI Nomor 500/E/2009 adalah :

Pemimpin Redaksi : Lukman

Anggota : Muh. Fakhrudin
Djamhuriyah S.Said
Cynthia Henny
Awalina

Pelaksana Teknis : Saepul Mulyana

Alamat Redaksi : Kompleks LIPI
Jl. Prof. Dr. D. Tisna Amidjaja
Cibinong 16911
Telepon 021 – 8757071-3
Fax. 021 – 8757076
Email : saepul@limnologi.lipi.go.id

Nomor Akreditasi : 188/AUI/P2MBI/08/2009
(SK.Ka.LIPI No. 816/D/2009
28 Agustus 2009)

Peer Reviewer
LIMNOTEK
Perairan Darat Tropis Di Indonesia
Edisi 2009, Vol. XVI, No. 1

Tjandra Chrismadha

Hendro Wibowo

Ignasius Dwi Atmana Sutapa

Syahroma Husni Nasution

SELEKSI *BACILLUS SP.* SEBAGAI BIOKONTROL *VIBRIO HARVEYI* DI TAMBAK UDANG

Iman Rusmana* & Tri Widiyanto**

ABSTRAK

Produksi udang di Indonesia mengalami penurunan sejak tahun 1990. Faktor yang mempengaruhinya adalah penurunan kualitas air dan serangan penyakit. Salah satu alternatif usaha pengendalian untuk mengatasi permasalahan ini adalah melalui mekanisme pemanfaatan probiotik diantaranya pemanfaatan isolate bakteri *Bacillus sp.*, sebagai penghambat tumbuhnya bakteri *Vibrio harveyi* yang merupakan indikator penyakit udang. Kelompok bakteri *Bacillus sp.*, telah diisolasi dari sedimen, air tambak, dan udang segar dari Propinsi Lampung. Jumlah total koloni yang terisolasi sebanyak 175 koloni yang ditemukan dari 19 contoh yang berasal dari sedimen, air tambak, dan udang segar. Sebanyak 54 koloni dapat membentuk zona bening, penciri adanya penghambatan tumbuhnya bakteri indikator, namun hanya 8 koloni yang dapat menunjukkan nilai indeks zona beningnya sama atau diatas 0,5 (perbandingan antara diameter zona bening dan diameter koloni). Tiga isolat yaitu LTS36, LTS40, dan LTW54 menunjukkan aktivitas antimikrob yang lebih stabil. Pada pengujian lanjutan isolat LTW54 dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyi*. Kemampuan penghambatan tersebut mencapai 99,98%, oleh karena itu isolat tersebut berpotensi digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri *V. harveyi* di tambak udang.

Kata kunci : Tambak udang, vibriosis, probiotik, *Bacillus sp.*, dan anti-mikroba.

ABSTRACT

SELECTION OF *BACILLIUS SP.* AS BIOCONTROL AGAINST *VIBRIO HARVEYI* IN SHRIMP PONDS. Shrimp production in Indonesia has been decreased since 1990. Factors that influences are poor water quality and diseases. One alternative way to solve this problem is by application of bacterial probiotics. *Bacillus sp.* was isolated from sediment, water, and shrimp guts. The samples were collected from ponds of Lampung Province. The 17 are from pond sediment, pond water, and shrimp guts show 175 isolated colonies. There were 54 colonies showed clear zone, but only eight isolates had clear zone index equal to or more than 0.50 (ratio between the diameter of the clearing zone and the diameter of the colony). Three isolates, i.e. LTS36, LTS40, and LTW54 demonstrated the most stability antimicrobial activity. At the challenge test, the LTW54 isolate showed ability to inhibit growth of *V. harveyi*. The inhibition activity against *V. harveyi* was up to 99.98 %, therefore this isolate has potential application to control growth of *V. harveyi* in shrimp ponds.

Keywords: Shrimp pond, vibriosis, probiotic, *Bacillus sp.*, and anti-microbe.

PENDAHULUAN

Produktivitas tambak udang mengalami kemerosotan antara lain karena munculnya berbagai macam penyakit. Dilain pihak, tantangan yang harus dihadapi pasar dunia bagi komoditi ekspor perikanan budidaya ialah menyangkut mutu dan sanitasi (*food safety*) seperti masalah keberadaan hormon dan antibiotik, bakteri patogen, racun hayati laut (biotoksin) dan pestisida (Djazuli, 2002).

Lightner (1993) melaporkan terdapat beberapa kelompok bakteri penyebab penyakit udang yaitu: *Vibrio* berpendar, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, dan *Flavobacterium*. Kelompok *Vibrio* berpendar merupakan penyebab utama serangan penyakit pada udang, baik pada tingkat larva maupun dewasa (Lavilla-Pitogo et al., 1992). Penggunaan antibiotik untuk pemberantasan penyakit telah menyebabkan resistensi bakteri *Vibrio* terhadap beberapa jenis antibiotik (Tjahjadi et al., 1994).

* Departemen Biologi Fakultas MIPA-IPB

** Staf Peneliti Puslit Limnologi-LIPI

Penyakit vibriosis terjadi karena adanya infeksi sekunder oleh patogen oportunistik, sedangkan penyebab utamanya ialah infeksi oleh patogen lain, defisiensi nutrisi, kondisi lingkungan, dan stress (Lavilla-pitogo *et al.*, 1992; Lightner *et al.*, 1993).

Salah satu upaya untuk menjamin kelangsungan produksi, mencegah dan menanggulangi penyakit pada budidaya udang adalah melalui pendekatan biokondisioner atau biokontrol, antara lain penggunaan aktivitas bakteri probiotik yang biasa disebut dengan uji kompetisi (Widiyanto, 1996). Istilah probiotik didefinisikan sebagai mikrob hidup yang memberikan pengaruh menguntungkan pada inang dengan memodifikasi komunitas mikrob atau berasosiasi dengan inang, memperbaiki nilai nutrisi, memperbaiki respon inang terhadap penyakit, atau memperbaiki lingkungan kualitas ambangnya.

Bakteri yang direkomendasikan sebagai agen biokontrol dalam akuakultur ialah bakteri asam laktat (seperti *Lactobacillus* dan *Corinebacterium*), genus *Vibrio* (seperti *Vibrio alginolyticus*), genus *Bacillus* dan genus *Pseudomonas*. Spesies *Bacillus* sp. umumnya ditemukan pada sedimen laut dan dicerna secara alami oleh hewan seperti udang. Keunggulan dari spesies ini diantaranya lebih banyak mengkonversi material organik menjadi CO₂, sehingga sumber biomassa bakteri yang dihasilkan menjadi lebih banyak (Verschueren *et al.*, 2000), serta tidak menggunakan gen resistensi antibiotik atau faktor virulensi dari *Vibrio* atau bakteri gram negatif (Moriarty, 1999). Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat *Bacillus* sp. yang dapat menghambat pertumbuhan *V. harveyi*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan ialah contoh berupa air, sedimen serta udang segar dari tambak di Kabupaten

Tulangbawang, Provinsi Lampung, sedangkan bahan penelitian hidup yaitu *Vibrio harveyi*, berasal dari koleksi isolat Laboratorium Mikrobiologi Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan IPB.

Media yang digunakan untuk isolasi, kultur, dan pengujian bakteri ialah media *Sea Water Complete* (SWC) 50% dengan komposisi air laut 75%, aquadest 25%, gliserol 1,5 ml, *bactopeptone* 2,5 g, *yeast extract* 0,5 g, dan 2,0% agar, pH 7,0 cair dan padat.

Isolasi dan Seleksi Awal *Bacillus* sp.

Sebanyak 1 g contoh sedimen atau 1 ml air tambak disuspensikan kedalam 9 ml NaCl fisiologis steril dengan konsentrasi 98%. Kemudian divortex dan diencerkan secara serial serta diberi *heat shock* pada suhu 80°C selama 15 menit. Pemanasan bertujuan untuk membunuh kelompok bakteri yang tidak dapat membentuk endospora. *Bacillus* sp. dapat membentuk endospora saat dilakukan pemanasan, sehingga diharapkan hanya kelompok bakteri *Bacillus* sp., yang masih dapat hidup di dalam larutan contoh. Sebanyak 100 µl larutan diencerkan secara serial lalu disebar pada media agar SWC 50%. Inkubasi dilakukan selama 48 jam secara aerob. Koloni yang tumbuh dimurnikan kembali pada media yang sama dan merupakan kelompok bakteri *Bacillus* sp.

Contoh yang berupa udang segar ditimbang beratnya, lalu dengan menggunakan *cutter* steril udang dibedah pada bagian dorsal. Saluran usus diambil secara aseptik lalu dimasukkan kedalam NaCl fisiologis steril dengan konsentrasi 98%. Kemudian usus udang digerus hingga halus dan dibentuk suspensi. Sebanyak 1 ml suspensi diencerkan secara serial dan diberi *heat shock* pada suhu 80°C selama 15 menit seperti pada tahapan isolasi contoh dari sedimen dan air. Koloni yang tumbuh dimurnikan kembali pada media yang sama

dan merupakan kelompok bakteri *Bacillus* sp., yang berasal dari udang segar.

Seleksi awal dilakukan dengan menggunakan metode *double layer* yaitu menumbuhkan kedua jenis isolat bakteri hasil seleksi dengan bakteri indikator dalam satu cawan petri, yang terdiri dari dua lapis media. Satu lapisan biakan bakteri indikator (*V. harveyi*) diinokulasikan ke dalam 50 ml SWC 50 % cair. Kemudian diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 110 rpm pada suhu ruang (28-31)°C, selama 24 jam. Sebanyak 1 ml biakan bakteri indikator disuspensi dalam 100 ml media SWC 50% semi solid. Kemudian ke dalam media tersebut diinokulasi isolat bakteri terseleksi, diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dan diamati kemampuan masing-masing isolat dalam menghambat pertumbuhan bakteri indikator (*V. harveyi*). Pengamatan dilakukan terhadap terbentuknya zona bening di sekitar koloni isolat terseleksi. Zona bening menunjukkan penghambatan atau ketidakmampuan untuk tumbuh dari bakteri indikator, karena diproduksinya senyawa anti mikroba oleh isolat bakteri *Bacillus* sp. Panjang diameter zona bening diukur berdasarkan diameter seluruh zona dikurangi diameter isolat. Isolat-isolat bakteri yang memperlihatkan zona bening mengindikasikan bahwa isolat tersebut dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri penyebab penyakit udang, yaitu bakteri *V. harveyi*. Terhadap isolat-isolat tersebut dilanjutkan uji kemampuan daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri penyebab penyakit udang (*V. harveyi*).

Uji Daya Hambat Isolat *Bacillus* sp. Terhadap Bakteri Indikator.

Tahap ini dilakukan dengan metode yang sama seperti seleksi awal untuk menguji isolat yang memiliki kemampuan penghambatan dengan membentuk diameter zona bening terbesar. Isolat-isolat bakteri yang mengindikasikan kemampuan

penghambatan ditumbuhkan secara bersama dalam satu media *double layer*. Konsentrasi sel bakteri indikator *V. harveyi* telah ditentukan, yaitu sebanyak 10^7 sel/ml. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang. Seleksi lanjut dilakukan selama tiga kali berturut-turut dengan dua kali ulangan. Zona hambatan yang terbentuk diukur pada tiga posisi lalu dirata-ratakan. Isolat *Bacillus* sp. yang memperlihatkan nilai zona bening besar mengindikasikan kemampuan daya hambat bakteri yang relatif tinggi, dan mempunyai potensi untuk digunakan sebagai agen probiotik penghambat bakteri penyebab penyakit udang *V. harveyi*. Terhadap isolat *Bacillus* sp. terpilih dilakukan uji tantang lanjutan secara *in vitro* pada media kaldu SWC.

Pengamatan Terbatas Isolat *Bacillus* sp. Terpilih.

Morfologi, sifat pewarnaan gram, dan motilitas isolat *Bacillus* sp., diidentifikasi menggunakan prosedur mikrobiologi standar (Hadioetomo, 1993).

Uji Tantang Isolat *Bacillus* sp. Terpilih Terhadap Bakteri Indikator.

Uji tantang secara *in vitro* dilakukan menggunakan media kaldu SWC dalam labu erlenmeyer. Kepadatan bakteri *V. harveyi* sebanyak 10^7 sel/ml. Hasil uji pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *V. harveyi* bersifat patogen pada kepadatan 10^7 sel/ml (Rengpipat *et al.*, 1998). Kontrol dibuat dengan menginokulasikan isolat *Bacillus* sp., dan bakteri indikator secara terpisah. Persentase penghambatan bakteri indikator oleh isolat *Bacillus* sp., diperoleh melalui cara :

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{X-Y}{X} \times 100\%$$

Keterangan

X = Jumlah sel bakteri indikator pada kontrol

Y = Jumlah sel bakteri pada perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi Awal *Bacillus* sp.

Dari contoh berupa air tambak, sedimen sifon, sedimen tambak umur 138 hari, dan usus udang diperoleh total isolat bakteri *Bacillus* sp., sebanyak 175 contoh yang didominasi oleh isolat dari air tambak sebanyak 64 isolat, sedimen sifon 40 isolat, sedimen tambak 39 isolat. Sedangkan jumlah isolat yang paling sedikit diperoleh dari usus udang yaitu sebanyak 32 isolat (Tabel 1).

Isolasi *Bacillus* sp. dilakukan dengan memberi perlakuan *heatshock* (80°C) selama 15 menit, perlakuan ini akan mematikan semua sel reproduktif dan sel vegetatif, sehingga hanya menyisakan endospora (Lindquist 2001). Endospora merupakan tubuh berdinding tebal, sangat refraktif, dan sangat resisten, dihasilkan oleh semua spesies *Bacillus* sp. (Pelczar *et al.*, 1986). Inkubasi secara aerob akan menyebakan endospora dari spesies *Bacillus* sp., yang dapat berkecambah (Anonim, 2005).

Seleksi awal terhadap indikator penghambatan, paling besar yaitu untuk isolat yang berasal dari sedimen sifon yaitu sebesar 42,5%, kemudian diikuti yang berasal dari sedimen sebesar 41,02%, dan usus udang sebanyak 31,25% (Tabel 1). Dari total 175 isolat hanya diperoleh 54 isolat yang menunjukkan kemampuan menghambat bakteri *V. harveyi*. Dari 54 isolat hanya delapan isolat yang mempunyai indeks penghambatan sama atau lebih dari 0,5, yaitu yang berasal dari sedimen tambak 3 isolat, dari air tambak 2 isolat, dan dari sedimen sifon 3 isolat.

Tabel 1. Hasil Isolasi *Bacillus* sp., dan Jumlah Isolat yang Menghambat *V. harveyi* yang Didapat dari Perairan Tambak Udang di Kab. Tulang Bawang, Propinsi Lampung.

Jenis sampel	Jumlah sampel	Jumlah isolat	Isolat yang menghambat	
			Jumlah	Presentase (%)
Air tambak	2	64	11	17,19
Sedimen sifon	7	40	17	42.50
Sedimen tambak umur 138 hari	2	39	16	41.02
Usus udang	6	32	10	31.25
Total	17	175	54	30.85

Isolat terpilih diperoleh dari hasil seleksi melalui *doube layer method* sebanyak tiga kali berturut-turut dengan tujuan untuk melihat besarnya nilai dan kestabilan indeks penghambatan yang dihasilkan. Zona bening pada uji daya hambat menunjukkan kemampuan isolat *Bacillus* sp., dalam menghambat kolonisasi dari bakteri indikator yaitu *V. harveyi*. Verschuere *et al.*, (2000) menyatakan bahwa komponen penghambat populasi mikrob yang dihasilkan oleh suatu organisme yaitu kemampuan untuk melepaskan substansi kimia yang memiliki efek bakterisidal atau bakteriostatik terhadap populasi mikrob lain. Secara umum, efek antibakteri (baik dalam kondisi tunggal atau kombinasi) diakibatkan faktor-faktor produksi antibiotik, bakteriosin, siderofor, lisozim, protease, dan atau hidrogen peroksida serta perubahan nilai pH melalui produksi asam organik. Pada uji daya hambat, isolat *Bacillus* sp., dapat menekan kolonisasi bakteri indikator diduga karena dapat memproduksi senyawa antimikrob yang dapat berdifusi melalui media semisolida sehingga diperoleh zona bening yang terlihat jelas.

Uji Daya Hambat Isolat *Bacillus* sp. terhadap Bakteri Indikator

Seleksi lanjutan ini dilakukan untuk mencari kandidat biokontrol atau probiotik yaitu isolat yang dapat menghambat laju pertumbuhan bakteri indikator dilihat dari besar nilai dan kestabilan indeks penghambatan. Dari delapan isolat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri indikator terdapat tiga isolat yaitu

LTW54, LTS36, dan LTS40 yang memiliki nilai indeks penghambatan masing-masing sebesar 1,55; 1,54; dan 2,25 terhadap *V. harveyi* (Tabel 2).

Secara umum nilai persentase penghambatan isolat *Bacillus* sp., pada uji daya hambat terhadap bakteri indikator tidak terlalu besar. Hal ini diduga berkaitan erat dengan sifat dari bakteri indikator yaitu *V. harveyi* termasuk kelompok bakteri gram negatif. Ballow *et al.*, (2000) mengemukakan bahwa kebanyakan antibiotik yang diproduksi oleh *Bacillus* sp., aktif menyerang organisme gram positif. Pleczar dan Chang (1988) menambahkan, bahwa pada umumnya bakteri gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikrob dibanding bakteri gram positif karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antimikrob masuk kedalam sel. Sedangkan bakteri gram negatif mempunyai struktur yang lebih kompleks yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa polisakarida dan paling dalam adalah peptidoglikan. Akan tetapi hal tersebut tidak menjadi penghambat dalam proses seleksi dan eksplorasi bakteri *Bacillus* sp., sebagai sumber agen probiotik. Hal ini disebabkan masih terdapat kemungkinan untuk mendapatkan spesies *Bacillus* sp., yang potensial dan relatif mudah dalam penanganan atau preparasi selanjutnya, sebagai agen probiotik.

Isolat *Bacillus* sp.: LTW54, LTS36,

dan LTS40 merupakan isolat terpilih yang memiliki penghambatan paling baik terhadap *V. harveyi*, yakni dibuktikan dengan dihasilkannya zona hambat yang luas dan jelas (Tabel 2).

Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri tidak selalu dapat diamati dengan melihat adanya zona bening pada media padat. Seleksi untuk mengetahui aktivitas penghambatan zat antimikrob yang dimiliki isolat-isolat *Bacillus* sp., yang telah berhasil diisolasi dari tambak udang dilakukan dengan uji tantang isolat tersebut secara *in vitro* terhadap *V. harveyi*. Hasil uji tantang isolat *Bacillus* sp., terhadap bakteri indikator dalam kultur campuran menunjukkan pertumbuhan jumlah sel isolat *Bacillus* sp., dan bakteri indikator menurun. Hal ini diduga disebabkan oleh adanya produksi senyawa antimikrob yang dihasilkan oleh isolat *Bacillus* sp. Sedangkan penurunan populasi isolat *Bacillus* sp., diduga disebabkan oleh terjadinya persaingan untuk mendapatkan nutrien dan ruang tumbuh. Sedangkan pada kontrol yang ditumbuhkan secara terpisah pertumbuhan populasinya lebih baik.

Pengamatan Terbatas Isolat *Bacillus* sp. Terpilih

Pewarnaan gram dan spora menunjukkan bahwa semua isolat *Bacillus* sp., terpilih bersifat gram positif, berbentuk batang, dan membentuk spora. Pengamatan morfologi menunjukkan bahwa isolat LTS36 bersifat motil, bentuk bundar, tepian

Tabel 2. Seleksi Penghambatan Delapan Isolat *Bacillus* sp. Terpilih (rataan \pm SE, n = 2) terhadap Bakteri Indikator *V. harveyi*.

No.	Asal	Kode isolat	Indeks Penghambatan
1.	Sedimen tambak umur 138 hari	LTC5	0,92 \pm 0,20
2	Sedimen tambak umur 138 hari	LTC8	0,92 \pm 0,08
3	Sedimen tambak umur 138 hari	LTC13	0,59 \pm 0,05
4	Air tambak	LTW54	1,55 \pm 0,12
5	Sedimen sifon	LTS36	1,54 \pm 0,04
6	Sedimen sifon	LTS39	1,33 \pm 0,07
7	Sedimen sifon	LTS40	2,25 \pm 0,25
8	Air tambak	LTW4	0,65 \pm 0,05

berombak, elevasi seperti kawah dengan bentuk koloni putih dengan bintik coklat pada bagian tengah koloni. Isolat LTW54 memiliki kemiripan dengan LTS36, hanya warna koloni yang berbeda yaitu putih susu. Sedangkan koloni isolat LTS40 bersifat nonmotil, bentuk bundar, tepian tak beraturan, elevasi timbul, serta warna putih susu (Tabel 3).

Tabel 3. Karakter Morfologi ke Tiga Isolat *Bacillus* sp. Terpilih

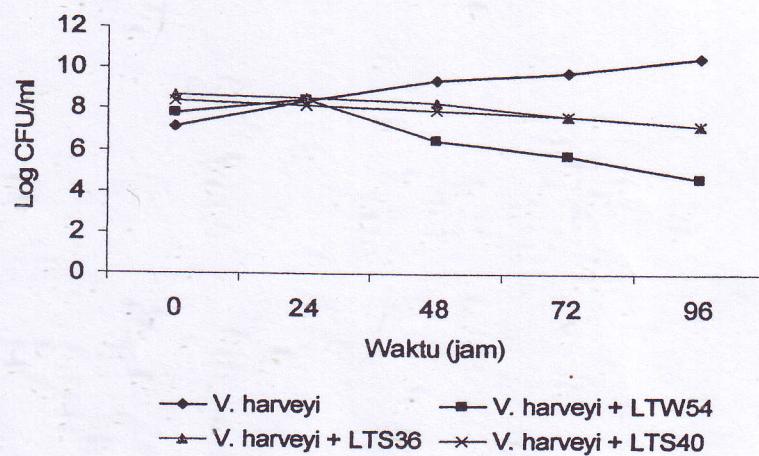
Ciri morfologi	Isolat <i>Bacillus</i> sp. terpilih		
	LTS36	LTS40	LTW54
Pewarnaan gram	Positif	positif	positif
Bentuk	Batang	batang	batang
Motilitas	Motil	nonmotil	motil
Bentuk	Bundar	bundar	bundar
Tepian	Berombak	tak beraturan	berombak
Elevasi	Bentuk kawah	timbul	bentuk kawah
Warna koloni	Putih dengan bintik di bagian tengah	putih susu	putih susu

Uji Tantang Isolat *Bacillus* sp., Terpilih terhadap Bakteri Indikator

Hasil penelitian uji tantang isolat *Bacillus* sp., dengan bakteri indikator memperlihatkan bahwa, populasi *V. harveyi* pada semua perlakuan biokontrol mengalami pola yang sama yaitu penurunan dari hari ke-1 sampai hari ke-4 sejak diinokulasi (Gambar 1). Penurunan paling tinggi terjadi pada perlakuan yang menggunakan isolat

LTW54, yaitu dari 37×10^5 CFU/ml pada jam ke-0 menjadi 35×10^3 CFU/ml pada jam ke-96. Sedangkan isolat LTS36 dan LTS40 memperlihatkan pola penghambatan terhadap perkembangan populasi *V. Harveyi* yang relatif sama, yaitu dari hari ke 1 sampai ke 4, penurunan jumlah bakteri indikator tidak setajam pada perlakuan dengan menggunakan isolat LTW54.

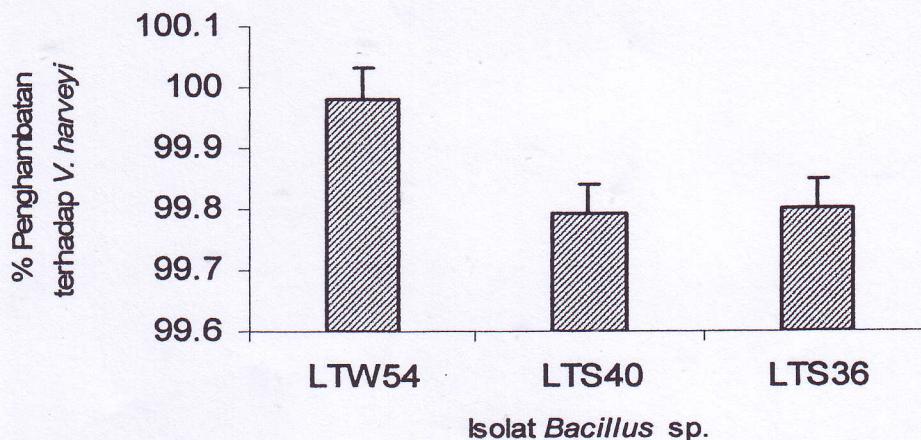
Kompetisi yang tinggi antara isolat *Bacillus* sp., terhadap *V. harveyi* ditunjukkan dengan nilai persentase penghambatan yang tinggi dari tiga isolat LTW54, LTS36 dan LTS40, yaitu masing-masing sebesar 99,99 %, 99,80 % dan 99,79% (Gambar 2). Secara umum nilai persentase penghambatan ke-tiga isolat *Bacillus* sp., terhadap bakteri target tergolong tinggi, akan tetapi isolat LTW54 mampu menekan pertumbuhan



Gambar 1. Populasi *V. harveyi* pada Uji Tantang Secara *in vitro*.

terhadap kedua bakteri target lebih baik dibandingkan isolat lainnya. Hal ini dapat dilihat berdasarkan nilai persentase penghambatan yang tinggi terhadap *V. harveyi* yaitu sebesar 99,98 %.

dalam kompetisi tersebut. Kompetisi antar beberapa jenis atau spesies mikroorganisme yang paling utama adalah disebabkan karena adanya persaingan untuk mendapatkan makanan dan tempat. Hal ini senada



Gambar 2. Persentase Penghambatan Isolat *Bacillus* sp. Terhadap Populasi *V. harveyi*

Hubungan antar mikroorganisme pada satu lingkungan dapat terjadi beberapa interaksi, salah satunya terjadi kompetisi (Atlas & Bartha, 1998). Mekanisme kompetisi merupakan gejala umum yang terjadi antar mikroorganisme dalam satu lingkungan yang sama yang ditandai dengan adanya pengaruh interaksi yang bersifat negatif dari masing-masing organisme. Mekanisme kompetisi antara isolat LTW54 LTS36, dan LTS40 dengan *V. harveyi* memperlihatkan adanya interaksi negatif, yang mana baik isolat-isolat *Bacillus* sp., dan bakteri indikator saling menghambat pertumbuhannya, hal ini ditunjukkan dengan persentase penghambatan yang tinggi pada ketiga isolat LTW54, LTS36, dan LTS40 yaitu masing-masing sebesar 99,98 %, 99,80 %, dan 99,79 %. Terhambatnya pertumbuhan populasi bakteri indikator sebagai bukti dari adanya fenomena kompetisi. Atlas & Bartha (1998) menambahkan apabila kompetisi ini berlangsung dalam waktu yang lama dapat mengakibatkan terjadinya dominasi dari organisme yang menang

dengan yang diungkapkan oleh Weller (1988) bahwa penekanan (supresi) patogen oleh agen biokontrol adalah karena kompetisi substrat, pengusiran karena ceruk ekologi yang sama, produksi antibiotika, asam organik dan siderofor (protein pengkelat besi).

KESIMPULAN

Lima puluh empat dari 175 isolat *Bacillus* sp., yang diisolasi dari sedimen sifon, sedimen, air tambak, dan udang segar memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi*, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening. Tiga isolat mempunyai nilai zona bening terbesar yaitu LTW54, LTS36, dan LTS40. Isolat LTW54 yang diisolasi dari air tambak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *V. harveyi* tertinggi yaitu sebesar 99,98 %. Isolat tersebut potensial digunakan untuk mengontrol laju pertumbuhan *V. harveyi* di tambak udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2005, Todar's Online Textbook of Bacteriology: The Genus *Bacillus*. Kenneth Todar University of Winconsin-Madison Departement of Bacteriology. <http://www>. [1 Juli 2005].
- Atlas R. M., & R. Bartha, 1998, Microbial Ecology, Fundamental and Applications. Ed ke-4. California: Benjamin/Cummings Science Publishing.
- Ballow C.H., & S. M. Bhavnani, 2000, New Agents for Gram-Positive Bacteria. *Curr. Op. Microbiol.* 3: 528-534.
- Djazuli N., 2002, Penanganan dan Pengolahan Produk Perikanan Budidaya dalam Menghadapi Pasar Global: Peluang dan Tantangan. Bogor:Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB. http://rudyct.tripod.com/sem1_023/nazori_djazuli.htm. [8 Mei 2005].
- Hadioetomo R.S., 1993, Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Lavilla-Pitogo R. C., L. J. Albright, M. G. Panner & N. A. Sunaz, 1992, Studies on the Source of Luminecent *Vibrio harveyi* in *Penaeus monodon* Fab. Hatcheries. Di dalam: M Sharrif, RP Subagshinge, JR Arthur, editor. Disease in Asian Aquaculture I. Manila: Asian Fisheries Society. hlm 157-164.
- Lightner D.V., 1993, Disease of Culture Penaeid Shrimp. Di dalam: Mc Vey PJ, editor. Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture. Florida: CRC Press Inc. hlm 393-487
- Lindquist J., 2001, Isolation of *Bacillus*. University of Winconsin-Madison. http://www.splammo.net/bact102/10_2bacillus.html. [1 Juli 2005].
- Moriarty D. J. W., 1999, Disease Control in Shrimp Aquaculture with Probiotic Bacteria. Di dalam: Green, editor. Microbial Biosystem: New Frontiers. Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology; Canada 1999. Australia: The University of Queensland.
- Pleczar M. J., & E. C. S. Chan, 1988, Dasar-Dasar Mikrobiologi. Volume ke-2. Hadioetomo R.S, Tedja-Imas. Tjitrosomo S.S, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: Elements of Microbiology.
- Rengipat S, Rukprapaton S, Piyatiratitivorakul S, Menavesta P., 1998, Probiotic in aquaculture: a case study of probiotic for larvae of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*, di dalam: Fegel TW, editor. Advaces in Shrimp Biotechnology. Bangkok. National Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, 177-181 p.
- Tjahjadi M R., S. L. Angka & A. Suwanto, 1994, Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial diseases in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon* Fab.). *Aspac J Mol Biol Biotechnol.* 2:234-352.
- Verschueren L., G. Rombaut, P. Sorgeloos, & W. Verstraete, 2000, Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture [ulas balik]. *J Microbiol Mol Biol* 64 (4):655-671. <http://mmb.asm.org/cgi/ontent/abstract/64/4/655>. [8 Mei 2005].
- Weller D. M., 1988, Biological control of soilborn plant pathogens in the rizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol.* 26: 379-407.
- Widiyanto T., 1996, Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Sebagai Biokontrol di Tambak Udang: Pengurangan Produksi H₂S dan Pengaruhnya Pada Pertumbuhan *Vibrio harveyi*. [tesis]. Bogor: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB.