
Isolasi bakteri kandidat probiotik *Bacillus* sp dan aplikasinya pada larva udang windu (*Penaeus monodon* Fab.)

Isolation of candidate of probiotic Bacteria bacillus sp and its application to larval tiger shrimp (Penaeus monodon Fab.)

Muhammad Amir

Program Studi Teknologi Budidaya Perikanan Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan

*Correspondence author: muhamir288@gmail.com

Diterima Tanggal 21 Juni 2022, Disetujui Tanggal 11 Agustus 2022

DOI 10.51978/japp.v22i2.457

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi bakteri kandidat probiotik *Bacillus* sp yang efektif menghambat perkembangan bakteri *V. harveyi*, perkembangan dan sintasan larva udang windu. Penelitian terdiri atas 3 tahap, tahap pertama adalah isolasi kateri, tahap kedua karakterisasi bakteri probiotik dan tahap ketiga adalah aplikasi bakteri probiotik pada larva udang fase nauplius-PL₂. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), uji daya hambat dilakukan pengukuran luas zona hambat bakteri probiotik secara *in vivo*, uji patogenitas bakteri dilakukan dengan uji *in vivo* tiga jenis bakteri probiotik terhadap larva udang, dan uji efektivitas bakteri dilakukan secara *in vivo* dari tiga jenis bakteri probiotik. Tiga jenis bakteri untuk uji *in vivo* terdiri atas isolat *Ib₁₂*, *Ib_{2b}* dan *Ib_{1a}*, ditambah kontrol. Data dianalisis secara statistik, perlakuan yang menunjukkan pengaruh signifikan dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*). Parameter yang diamati adalah daya hambat bakteri kandidat probiotik terhadap *V. harveyi*, patogenitas bakteri kandidat probiotik terhadap post larva (PL₂), perkembangan dan sintasan larva udang windu. Hasil penelitian diperoleh 37 isolat, 6 diantaranya potensial menghambat perkembangan *V. harveyi* atau sekitar 16% dari total isolat. Uji patogenitas isolat *Ib₁₂*, *Ib_{2b}* dan *Ib_{1a}*, terhadap post larva udang windu menunjukkan tiga jenis isolat kandidat probiotik uji tidak patogen terhadap hewan uji. Uji efektifitas isolat *Ib₁₂* konsentrasi berbeda pada media pemeliharaan larva tidak berpengaruh signifikan terhadap perkembangan larva udang windu dibanding dengan kontrol, tetapi berpengaruh pada sintasan larva udang windu ($p < 0,05$). Isolat *Ib₁₂* dengan konsentrasi 10^3 cfu/ml efektif sebagai kandidat probiotik dan dapat meningkatkan sintasan larva udang windu 58,83%.

Kata Kunci: bakteri kandidat probiotik, *Vibrio harveyi*, udang windu

Abstract

The aim of this study was to effectively inhibit *Bacillus* sp probiotic candidate bacteria that inhibited the development of *V. harveyi* bacteria, and the development and survival of tiger shrimp larvae. The study consisted of 3 stages, the first stage was the isolation of the catteries, the second stage was the characterization of probiotic bacteria and the third stage was the application of probiotic bacteria to the larvae of the nauplius-PL₂ phase. This study used a completely randomized design (CRD), the inhibition test was carried out by measuring the area of the bacterial inhibition zone *in vivo*, and the bacterial pathogenicity test was carried out by *in vivo* testing three types of probiotic bacteria against shrimp larvae, and the bacterial effectiveness test was carried out *in vivo* from three types of bacteria. probiotic bacteria. Three types of bacteria for *in vivo* test consisted of isolates *Ib₁₂*, *Ib_{2b}* dan *Ib_{1a}*, plus controls. The data were analyzed statistically, and the treatment which showed a significant effect was continued with the DMRT test (*Duncan Multiple Range Test*). Parameters observed were the inhibition of probiotic candidate bacteria against *V. harveyi*, pathos genericity of probiotic candidate bacteria against post larvae (PL₂), and development and survival of tiger shrimp larvae. The results of the study were 37 isolates, 6 of which had the potential to inhibit the development of *V. harveyi* or about 16% of the total isolates. Pathogenicity test of isolates *Ib₁₂*, *Ib_{2b}*, and *Ib_{1a}*, against tiger shrimp post larvae, showed that three types of probiotic candidate isolates were not pathogenic to test animals. The effectiveness test of isolate *Ib₁₂* at different concentrations in larval rearing media did not significantly affect the development of tiger shrimp larvae compared to controls, but had an effect on tiger shrimp larvae survival

($p < 0.05$). *Ib₁₂* isolate with a concentration of 10^3 CFU/ml was effective as a probiotic candidate and could increase the survival of tiger prawn larvae by 58.83%.

Keywords: probiotic candidate bacteria, tiger prawn, *Vibrio harveyi*,

PENDAHULUAN

Dampak negatif yang diakibatkan oleh penggunaan antibiotik dalam mengatasi *V. harveyi* dipanti pembenihan (hatchery), menyebabkan banyak dilakukan upaya untuk mencari metode yang lebih baik. Beberapa alternatif yang telah dilakukan dalam upaya untuk mendapatkan agens biokontrol antara lain, penggunaan spesies rumput laut sebagai anti bakterial terhadap bakteri patogen pada udang windu (Izzati, 2007), pengembangan biofilm *V. alginolyticus* untuk immunostimulan pada udang (Sharma et al. 2010), penggunaan bakteri genus *Pseudoalteromonas* sebagai biokontrol terhadap *Vibrio* (Isnansetyo et al. 2009).

Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan tersebut diatas, aplikasi probiotik jenis *Bacillus* sp pada pembenihan udang windu, sumber dan konsentrasi probiotik belum jelas sehingga aplikasinya belum banyak dilakukan di panti pembenihan.

Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi isolasi bakteri kandidat probiotik *Bacillus* sp dari tiga sumber yaitu usus ikan bandeng, usus induk udang windu, cacing laut dan konsentrasinya, yang potensial menghambat perkembangan *V. harveyi* dan efektif diaplikasikan di pembenihan udang windu (hatchery).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Juli 2021 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Pembenihan Udang (Hatchery) Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene dan Kepulauan Sulawesi Selatan.

Materi Penelitian

Hewan dan Bakteri Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah nauplius dan post larva

(*Pl₂*) udang windu (*Penaeus monodon* Fab.) yang diperoleh dari panti pembenihan udang yang ada di Kabupaten Barru. Bakteri kandidat probiotik diisolasi dari tiga sumber yaitu: usus ikan bandeng, usus induk udang windu dan cacing laut (*Nereis* sp).

Bakteri patogen yang digunakan sebagai bakteri penantang adalah bakteri *V. harveyi* 275 diisolasi dari udang sakit, merupakan koleksi Balai Penelitian dan Pengembangan Perikanan Pantai Maros, Sulawesi Selatan dan telah diuji bersifat patogen pada larva udang windu.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari : uji patogenisitas dan uji efektivitas kandidat probiotik terhadap larva udang windu, terdiri atas 4 perlakuan dan masing-masing 3 kontrol.

Prosedur Penelitian

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Kandidat probiotik

Sampel bakteri kandidat probiotik dikumpulkan dari tiga sumber yaitu: usus ikan bandeng, usus induk udang windu, dan cacing laut. Sampel ditimbang masing-masing 25 gr dan digerus menggunakan mortar, lalu ditambahkan 225 ml larutan fisiologis BPW Difco (Buffer Pepton Water + 1,5% NaCl). Setelah sampel dan larutan fisiologis tercampur rata, sebanyak 1 ml dari campuran tersebut ditambahkan ke dalam 9 ml larutan fisiologis dalam tabung reaksi sehingga diperoleh konsentrasi 10^{-1} atau pengenceran 10 kali. Pengenceran serupa dilakukan terus sehingga diperoleh konsentrasi 10^{-7} dan 10^{-8} , sebanyak 1 ml dari masing-masing sampel disebar pada media MRS-Agar (*de Mann Rogosa Sharpe*) secara merata lalu diinkubasi pada suhu ruang (28-31 °C) selama 48 jam.

Karakterisasi Bakteri Kandidat Probiotik

Karakter spesifik dari bakteri hasil isolat pada penelitian dapat diketahui dengan

melakukan uji fisiologi dan biokimia. Berdasarkan hasil pengujian dapat diperkirakan genus bakteri melalui identifikasi menggunakan metode *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* serta pendekatan spesies berdasarkan enzim yang dimilikinya serta reaksinya terhadap berbagai jenis karbohidrat (Holt, 1994).

Karakterisasi secara morfologi meliputi bentuk tepian, elevasi, warna koloni, dan sifat gram dengan pewarnaan gram. Sedangkan karakterisasi secara biokimia meliputi uji katalase, indol, oksidasi fermentatif, dan sitrat.

Uji Daya Hambat secara In Vitro Bakteri Kandidat Probiotik terhadap *V. harveyi* 275

Isolat murni bakteri kandidat probiotik yang diperoleh diuji daya hambatnya terhadap *V. harveyi* 275 secara *in vitro* (Widanarni *et al*, 2003). Isolat bakteri kandidat probiotik dan *V. harveyi* 275 yang berumur 24 jam sebanyak 1 ose disuspensikan ke dalam 10 ml nutrisi broth + 1,5% NaCl steril di dalam tabung reaksi 20 ml dengan menggunakan vortex. Sebanyak 0,1 ml ($1,34 \times 10^5$ cfu/mL) suspensi *V. harveyi* 275 disebar pada media NA dengan bantuan batang penyebar dan dibiarkan sampai agak kering. Paper disk steril diameter 0,5 mm diletakkan di atas media NA yang telah diberi *V. harveyi* 275 secara aseptik, selanjutnya dengan menggunakan mikropipet sebanyak 0,5 ml ($1,5 \times 10^7$ cfu/ml) suspensi bakteri kandidat probiotik diteteskan di atas paper disk. Uji ini dilakukan dengan 3 ulangan dan masing-masing 1 kontrol menggunakan larutan fisiologis steril. Setelah inkubasi pada suhu ruang (28-31 °C) selama 24 jam, zona hambat diukur dan nilainya dirata-ratakan.

Uji Pathogenisitas Kandidat Probiotik terhadap Post Larva (PL_2) Udang Windu

Tiga isolat yang memiliki zona hambat terluas berdasarkan uji *in vitro*, diuji patogenitasnya pada post larva (PL_2) udang windu. Pengujian dilakukan dengan menambahkan suspensi bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi 10^8 cfu/mL (Hala 1999 dalam Muliani, 2002) secara perendaman (Hameed 1995 dalam Muliani, 2002). PL_2 udang dipelihara dalam toples kaca yang diisi air laut bersih 2 L, disusun dalam sebuah bak fibre glass yang telah diisi air laut setinggi permukaan

media pemeliharaan serta diberi heater dan aerasi untuk menjaga kestabilan suhu dalam wadah penelitian (28 – 32°C). Kepadatan post larva 20 ekor/L dan diberi pakan artemia 2-3 individu/ml. Pemeliharaan larva udang dilakukan selama 24 jam dan pada akhir penelitian dihitung sintasan larva udang dan dibandingkan dengan kontrol, yakni perlakuan tanpa penambahan bakteri kandidat probiotik.

Uji Efektifitas Bakteri Kandidat Probiotik terhadap Larva Udang Windu

Satu isolat bakteri kandidat probiotik yang menghasilkan sintasan paling tinggi dipilih untuk diuji efektifitasnya dalam meningkatkan perkembangan dan sintasan larva udang windu dengan konsentrasi berbeda. Setelah kokultivasi dengan larva udang selama 6 jam, bakteri kandidat probiotik dimasukkan ke dalam wadah pemeliharaan larva udang dengan masing-masing konsentrasi tersebut diatas. Pengamatan dilakukan sejak fase nauplius ditebar sampai larva udang memasuki perkembangan fase post larva (PL_1) selama 11 hari pengamatan, dan selama penelitian diamati perkembangan dan dihitung sintasan larva udang diakhir penelitian. Selama percobaan larva udang pada fase zoea diberi pakan alami jenis *skeletonema* dengan kepadatan 5.000-15.000 sel/ml, sedangkan pada fase mysis diberikan 20.000-40.000 sel/ml.

Parameter yang Diamati

Daya Hambat Bakteri Kandidat Probiotik terhadap *V. harveyi* 275

Pada uji daya hambat bakteri kandidat probiotik terhadap perkembangan *V. harveyi* 275 dengan metoda Kirby-Bauer, pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya zona hambat disekitar kertas cakram untuk kemudian diukur diameter zona hambatnya.

Pathogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik terhadap Post Larva (PL_2) Udang Windu

Uji pathogenisitas bakteri kandidat probiotik terhadap post larva udang windu dilakukan secara perendaman, hal ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh hasil isolat bakteri kandidat probiotik terhadap sintasan larva udang windu.

Perkembangan Larva Udang Windu

Perkembangan larva akan diketahui sampai sejauh mana pengaruh penambahan bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi berbeda terhadap kecepatan pergantian fase larva ke fase berikutnya (dari nauplius ke zoea, zoea ke mysis, dan mysis ke post larva (PL)).

Sintasan Larva Udang Windu

Sintasan larva udang diamati pada uji patogenisitas dan aplikasi bakteri kandidat probiotik. Sintasan larva udang dihitung dengan rumus menurut Effendie (2003) sebagai berikut :

$$SR = \frac{N_t}{N_0} \times 100\%$$

Keterangan :

SR = Sintasan (%)

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

N_0 = Jumlah udang yang hidup pada awal penelitian (ekor)

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa sintasan dan perkembangan larva udang windu dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). Perlakuan yang menunjukkan pengaruh signifikan, dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) pada selang kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Sedangkan daya hambat bakteri kandidat probiotik dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Kandidat Probiotik jenis *Bacillus* sp

Ditemukan 37 isolat dari 3 sumber yaitu 14 diantaranya diisolasi dari usus ikan bandeng, 10 isolat dari usus induk udang windu dan 13 isolat dari cacing laut. Penampilan koloni isolat-isolat tersebut pada media MRS-agar bermacam-macam. Warna koloni terdiri dari ungu, putih, putih kecoklatan, putih susu, putih berkabut, putih serabut, putih kekuningan, putih buram, putih keruh, coklat bening, coklat berlendir, crem, crem bening. Ukuran dan bentuk koloninya juga bermacam-macam ada yang bulat kecil, bulat sedang, bulat besar, coccus, cekung, cembung, batang pendek dan beberapa menyebar (*swarming*).

Karakterisasi Bakteri Kandidat Probiotik

Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia ke 37 isolat, hanya 6 isolat potensial sebagai bakteri kandidat probiotik yang memiliki karakter fisiologi dan biokimia jenis bakteri *Bacillus* sp berdasarkan metode *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

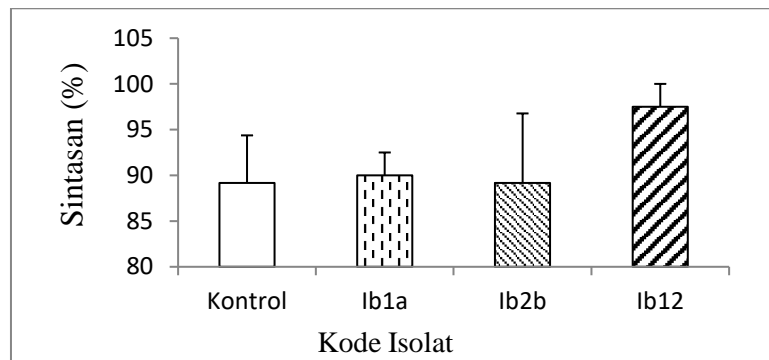
Uji Daya Hambat secara In Vitro Bakteri Kandidat Probiotik

Berdasarkan hasil penapisan terhadap 37 isolat, 6 diantaranya potensial menghambat *V. harveyi* 275 (sekitar 16%) dari total isolat adalah: isolat Ib_{1a} (8,0 mm); Ib_{2b} (8,9 mm); Ib_{12} (11,0); Uw_1 (7,5 mm); Uw_2 (7,3 mm); Cl_{10} (6,7 mm).

Wilayah jernih di sekitar koloni atau pertumbuhan *V. harveyi* 275 menunjukkan bahwa senyawa antimikroba yang dihasilkan bakteri kandidat probiotik tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* 275. Kepekaan bakteri *V. harveyi* 275 terhadap bahan antimikroba ditunjukkan oleh luasnya wilayah jernih disekitar kertas cakram yang telah ditetesi isolat bakteri kandidat probiotik.

Uji Pathogenisitas Bakteri Kandidat Probiotik Terhadap Post Larva (PL_2) Udang Windu

Tiga isolat yang menghasilkan zona hambat terluas yaitu Ib_{12} , Ib_{2b} dan Ib_{1a} , diuji patogenisitasnya terhadap post larva udang windu. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri kandidat probiotik yang diberikan pada post larva (PL_2) udang windu tidak menyebabkan udang sakit atau tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Hal ini terlihat sintasan yang dihasilkan cukup tinggi yaitu antara 89,17 – 97,5% (Gambar 1). Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan beberapa jenis isolat kandidat probiotik tidak berpengaruh nyata terhadap sintasan larva udang windu ($p > 0,05$) dengan kontrol, dengan demikian isolat tersebut dapat digunakan sebagai probiotik karena tidak mengganggu kondisi fisiologi hewan uji. Bahkan pada percobaan dengan konsentrasi 10^3 cfu/ml menunjukkan bahwa dengan penambahan Ib_{12} menghasilkan sintasan larva udang windu yang lebih tinggi dibanding kontrol.



Keterangan:

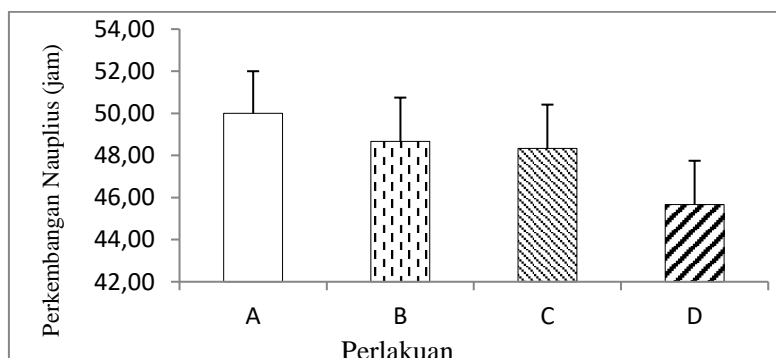
A. Kontrol B. Isolat *Ib_{1a}* C. Isolat *Ib_{2b}* D. Isolat *Ib₁₂*

Gambar 1. Sintasan larva udang windu pada uji pathogenisitas bakteri kandidat probiotik

Uji Efektifitas Bakteri Kandidat Probiotik pada Larva Udang

Isolat *Ib₁₂* dengan sintasan 97,5%, dipilih untuk di uji efektifitasnya pada media pemeliharaan larva udang windu. Efektifitas penambahan bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi berbeda terhadap kecepatan perkembangan dari fase larva ke fase berikutnya (dari nauplius ke zoea, dan zoea ke mysis serta mysis ke PL). Hasil pengujian menunjukkan bahwa pada perkembangan

nauplius, zoea dan mysis membutuhkan waktu lebih pendek pada semua perlakuan bakteri kandidat probiotik dibandingkan kontrol (Gambar 2, 3 dan 4). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan bakteri kandidat probiotik konsentrasi berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan larva udang windu ($p > 0,05$) dibanding dengan kontrol. Hal ini diduga karena perbedaan antar perlakuan terlalu dekat serta konsentrasi yang dicobakan sangat rendah.



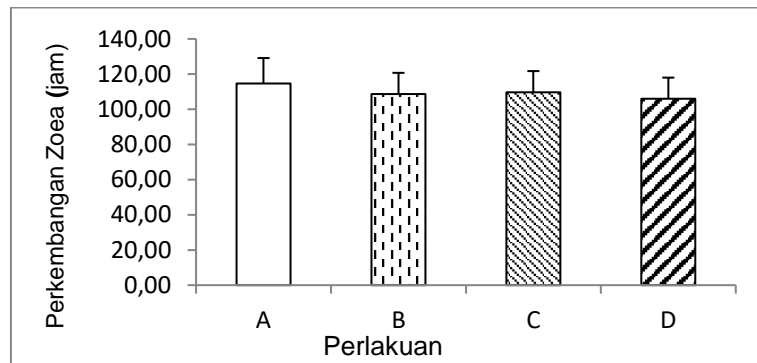
Keterangan:

A. Kontrol B. 10^3 cfu/ml C. 10^4 cfu/ml D. 10^5 cfu/ml

Gambar 2. Waktu yang dibutuhkan larva udang windu dari fase Nauplius ke fase Zoea

Sedangkan sintasan larva udang windu setelah 11 hari pemeliharaan dengan perlakuan isolat *Ib₁₂* dosis berbeda dapat meningkatkan sintasan larva udang windu dibanding kontrol (Gambar 5). Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan konsentrasi berbeda bakteri kandidat probiotik berpengaruh nyata terhadap sintasan larva udang windu ($p < 0,05$). Hasil yang berbeda

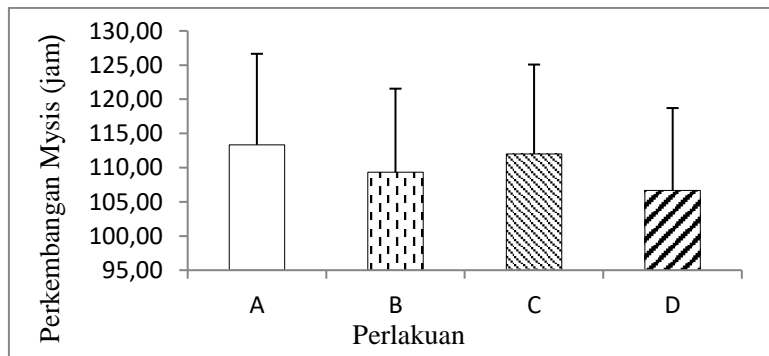
ini yaitu sebesar 15,66%, nilai tersebut dapat berperan dalam meningkatkan hasil produksi benur di panti pembenihan udang windu (hatchery), dengan demikian konsentrasi yang efektif isolat *Ib₁₂* yang dapat diberikan pada media pemeliharaan larva udang windu adalah 10^3 cfu/ml.



Keterangan:

A. Kontrol B. 10^3 cfu/ml C. 10^4 cfu/ml D. 10^5 cfu/ml

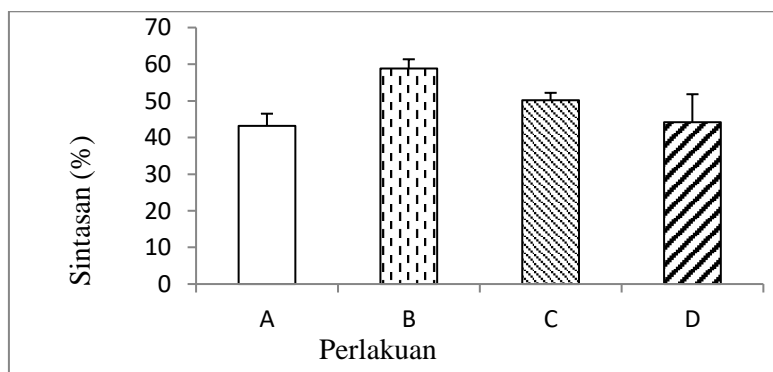
Gambar 3. Waktu yang dibutuhkan larva udang windu dari fase Zoea ke fase Mysis.



Keterangan:

A. Kontrol B. 10^3 cfu/ml C. 10^4 cfu/ml D. 10^5 cfu/ml

Gambar 4. Waktu yang dibutuhkan larva udang windu dari fase Mysis ke fase Post Larva.



Keterangan:

A. Kontrol B. 10^3 cfu/ml C. 10^4 cfu/ml D. 10^5 cfu/ml

Gambar 5. Sintasan larva udang windu pada uji efektifitas bakteri kandidat probiotik konsentrasi berbeda.

PEMBAHASAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri kandidat probiotik terpilih diduga merupakan bakteri jenis *Bacillus* sp sesuai

dengan uji karakteristik biologi maupun biokimia. menggunakan metode *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994).

Uji daya hambat secara *in vitro*, 6 isolat potensial menghambat *V. harveyi* 275. Wilayah jernih di sekitar koloni atau pertumbuhan *V. harveyi* 275 menunjukkan bahwa senyawa antimikroba yang dihasilkan bakteri kandidat probiotik tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *V. harveyi* 275. Kepekaan bakteri *V. harveyi* 275 terhadap bahan antimikroba ditunjukkan oleh luasnya wilayah jernih disekitar kertas cakram yang telah ditetesi isolat bakteri kandidat probiotik.

Verschuere *et al.* (2000) menyatakan bahwa populasi mikroba dapat melepaskan substansi kimia yang memiliki kemampuan bakterisidal atau bakteriostatik yang dapat mempengaruhi populasi mikroba lain. Secara umum kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri lain dikarenakan satu atau kombinasi beberapa faktor seperti : produksi antibiotik bakteriosin, siderophores, lysozymes, protease dan atau hydrogen peroksida atau mempengaruhi pH media dengan menghasilkan asam organik, dan penghambatan pertumbuhan bakteri tidak selalu dapat diamati dengan melihat adanya zona bening pada media agar.

Uji pathogenesis terhadap 3 isolat yang menghasilkan daya hambat terluas yaitu *Ib₁₂*, *Ib_{2b}* dan *Ib_{1a}*, menunjukkan bahwa bakteri kandidat probiotik yang diberikan pada post larva (*Pl₂*) udang windu tidak menyebabkan udang sakit atau tidak bersifat patogen pada larva udang windu. Hal ini terlihat sintasan yang dihasilkan cukup tinggi yaitu antara 89,17 – 97,5%. Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan ke-3 jenis isolat kandidat probiotik tidak berpengaruh nyata terhadap sintasan larva udang windu ($p > 0,05$) dibandingkan dengan kontrol.

Hasil penelitian Muliani (2002) menunjukkan bahwa perendaman bakteri kandidat biokontrol yang diisolasi dari sedimen laut (BL542) dan air laut (BL546) dan (BL548) Pulau Balang Lombo Sulawesi Selatan pada kepadatan 10^5 , 10^6 , 10^7 , dan 10^8 cfu/ml selama 24 jam perendaman tidak bersifat patogen pada larva udang windu.

Uji efektifitasnya isolat *Ib₁₂* dengan sintasan 97,5%, pada media pemeliharaan larva udang windu konsentrasi berbeda, menunjukkan bahwa perlakuan bakteri kandidat probiotik konsentrasi berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan

larva udang windu ($p > 0,05$) dibanding dengan kontrol. Hal ini diduga karena perbedaan antar perlakuan terlalu dekat serta konsentrasi yang dicobakan sangat rendah. Rata-rata waktu yang dibutuhkan perkembangan larva udang windu dari fase Nauplius ke fase Zoea. berturut-turut yaitu: perlakuan (A) kontrol 50,00 jam, (B) 10^3 cfu/ml 48,67 jam, (C) 10^4 cfu/ml 48,33 jam, (D) 10^5 cfu/ml 45,67 jam dan perkembangan larva udang windu dari fase Zoea ke Mysis. berturut-turut yaitu: perlakuan (A) kontrol 114,67 jam, (B) 10^3 cfu/ml 108,67 jam, (C) 10^4 cfu/ml 109,67 jam, (D) 10^5 cfu/ml 106,00 jam, serta perkembangan larva udang windu dari fase Mysis ke fase Post Larva (PL). berturut-turut yaitu: perlakuan (A) kontrol 113,33 jam, (B) 10^3 cfu/ml 109,33 jam, (C) 10^4 cfu/ml 112,00 jam, (D) 10^5 cfu/ml 106,67 jam. Hasil ini tidak berbeda jauh apa yang telah dihasilkan oleh Silas *et al.* (1979) yaitu: Fase nauplius ke fase zoea dijalani selama 40-55 jam, Fase zoea ke fase mysis dijalani selama 108-144 jam, Fase mysis ke fase post larva (PL) dijalani selama 72-144 jam.

Sedangkan sintasan larva udang windu setelah 11 hari pemeliharaan dengan perlakuan isolat *Ib₁₂* konsentrasi berbeda, yaitu: pada perlakuan (A) kontrol 43,17%, (B) 10^3 cfu/ml 58,83%, (C) 10^4 cfu/ml 50,17%, (D) 10^5 cfu/ml 44,17%. Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan konsentrasi berbeda bakteri kandidat probiotik berpengaruh nyata terhadap sintasan larva udang windu ($p < 0,05$).

Hasil yang berbeda ini yaitu sebesar 15,66%, nilai tersebut dapat berperan dalam meningkatkan hasil produksi benur di panti pembenihan udang windu (hatchery), dengan demikian konsentrasi yang efektif isolat *Ib₁₂* yang dapat diberikan pada media pemeliharaan larva udang windu adalah 10^3 cfu/ml. Konsentrasi bakteri kandidat probiotik tersebut diduga mengandung makro dan mikro nutrient yang dibutuhkan larva udang dapat memberi kontribusi enzim untuk pencernaan yang menyebabkan udang dapat mencerna pakan lebih baik, sehingga nutrisi yang diserap oleh tubuh larva udang lebih banyak, yang akhirnya akan memberikan sintasan yang lebih tinggi (Ayuzar, 2008).

KESIMPULAN

Terdapat enam isolat bakteri hasil penapisan yang dapat menghambat perkembangan *Vibrio harveyi* secara in vitro, yaitu isolat Ib_{1a} , Ib_{2b} , Ib_{12} , Uw_1 , Uw_2 , Cl_{10} . Pemberian bakteri kandidat probiotik konsentrasi berbeda pada larva tidak berpengaruh nyata terhadap perkembangan larva udang windu ($P>0,05$). Pemberian bakteri kandidat probiotik konsentrasi berbeda pada larva berpengaruh nyata terhadap sintasan larva udang windu ($P<0,05$). Isolat Ib_{12} dengan konsentrasi 10^3 cfu/mL menghasilkan sintasan tertinggi.

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi sifat fisiologi dan genetik isolat Ib_{12} dan potensinya sebagai bakteri probiotik dalam menghambat *V. harveyi* untuk dimanfaatkan pada panti pembenihan udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayuzar E. (2008). Mekanisme Penghambatan Bakteri Probiotik Terhadap *Vibrio harveyi* pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*). Tesis. Program Pascasarjana IPB. Bogor. 50p.
- Effendi R. (2003). Telaah Kualitas Air Untuk Pengelolaan Sumberdaya Dan Lingkungan Perairan. Yogyakarta: Kanisius.
- Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. (1986), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol.2. Williams & Wilkins, Baltimore.pp.1104-1137.
- Isnansetyo A, Istiqomah I, Muhtadi, Sinansari S, Hernawan RK, Triyanto, Widada J. A. (2009). Potential bacterial biocontrol agent, strain S2V2 against pathogenic marine *Vibrio* in aquaculture. *World J Microbiol Biotechnol.*; 25: 1103-13.
- Izzati, M. (2007) *Skreening Potensi Antibakteri pada Beberapa Spesies Rumput Laut terhadap Bakteri Patogen pada Udang Windu*. BIOMA, 9 (2). pp. 62-67. ISSN 1410-8801
- Muliani, A. Suwanto, dan Y. Hala. (2002). Isolasi dan karakterisasi bakteri asal Sulawesi untuk biokontrol penyakit Vibriosis pada larva udang windu (*Penaeus monodon*). *Hayati*, 10:6-11.
- Sharma S. R. K, K. M. Shankar, M. L. Sathyanarayana, Raj Reddy Patil, H. D. Narayana Swamy and Suguna Rao (2010). Development of biofilm of *Vibrio alginolyticus* for oral immunostimulation of shrimp. *Aquaculture International*, vol. 19. Number 3, 423-430.
- Silas, E G and Muthu, M S and Pillai, N N and George, K V. (1979). *Larval development-Penaeus monodon Fabricius*. CMFRI Bulletin, 28 . pp.2-11.
- Verschuere L, Rombaut G, Sorgeloos P, Verstraete W. (2000). Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbial Mol Biol Rev* 65:655-671.
- Widanarni, Suwanto A, Sukenda, Lay BW. (2003). Potency of *Vibrio* isolates for biocontrol of vibriosis in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) larvae. *Biotropia* 20: 11-23.