



**KARAKTERISASI DAN UJI POSTULAT KOCH BAKTERI GENUS VIBRIO  
YANG BERASAL DARI MEDIA KULTUR MASSAL MIKROALGA**

*Characterization and Postulat Koch Test Genus Vibrio Bacteria  
Derived from Mass Culture Microalgae Medium*

**Setyo Putro Rahmanto, Sarjito\*, Diana Chilmawati**

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

**ABSTRAK**

*Vibriosis* adalah salah satu jenis penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. Penyakit ini merupakan salah satu kendala utama yang sering menyerang pembenihan maupun pembesaran udang. Penelitian ini bertujuan mengetahui agensia penyebab *vibriosis* yang berasal dari media kultur mikroalga dan gejala klinisnya pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Metode yang digunakan penelitian ini adalah metode eksploratif. Metode pengambilan sampel menggunakan metode *simple random sampling*. Isolasi bakteri menggunakan media *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA). Isolasi dilakukan seleksi berdasarkan morfologi koloni untuk dilakukan uji postulat koch. Udang vaname yang digunakan sebagai hewan uji untuk uji postulat koch adalah udang sehat dengan berat 1-1,5 g sebanyak 10 ekor untuk masing – masing isolat dengan ulangan sebanyak 3 kali. Penyuntikan dilakukan pada ruas abdomen kedua dengan kepadatan bakteri  $10^8$  CFU/mL dengan dosis 0,1 mL. Pengamatan gejala klinis uji postulat koch dilakukan selama 96 jam. Identifikasi bakteri dilakukan dengan kriteria uji biokimia dan morfologi bakteri. Hasil penelitian didapatkan 21 isolat bakteri. Seleksi berdasarkan morfologi koloni bakteri didapatkan 6 isolat bakteri (TDS10, TDS12, TDS13, TDS15, TDS20, dan TDS9) untuk dilakukan uji postulat koch. Hasil identifikasi bakteri keenam isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. fischeri* dan *V. mimicus* yang berpotensi sebagai agensia penyebab *vibriosis*.

**Kata kunci** : *Vibriosis*; Mikroalga; *Litopenaeus vannamei*; Uji Postulat Koch

**ABSTRACT**

*Vibriosis* was one type of disease caused by genus *Vibrio*. This disease was one of the major problems in shrimp farming especially shrimp hatchery and rearing. Aims of this research to determine the cause of *vibriosis* derived on culture of microalgae and clinical sign vaname shrimp (*Penaeus vannamei*) affected by *vibriosis*. The method in this research used was exploratory research .The sampling method using was simple random sampling method . The isolation of bacteria used *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA). Isolate the selection was conducted based on colony morphology for Postulat Koch 's test. Shrimp test used vaname for Postulat Koch 's test was healthy shrimp with weigh of 1-1.5 as 10 shrimps for every replication. The bacterial was injected on second abdominal segment with bacterial density of  $10^8$  CFU / mL and 0.1 mL volume. The observations of clinical sign for 96 hour after Postulate Koch's test. Identification bacteria was carried by biochemical and morphological criterias test. The results were obtained 21 isolates. Selection was done based on bacterial colony morphology of bacterial isolates was obtained 6 isaolates (TDS10, TDS12, TDS13, TDS15, TDS20 and TDS9) these isolates was continue for postulates koch's test. The results of identification six bacterial isolates was identified as *Vibrio harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. fischeri* and *V. mimicus* as an agent potentially cause *vibriosis*

**Keywords** : *Vibriosis*; microalgae; *Litopenaeus vannamei*; Postulat Koch's test

\*Corresponding authors (Email : sarjito\_msdp@yahoo.com)



## 1. PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu dari 10 jenis komoditas penting yang ditetapkan oleh KKP. Komoditas udang vaname ini diproyeksikan mengalami peningkatan produksi tiap tahun sebesar 16%. Target produksi udang vaname untuk tahun 2014 telah ditetapkan sebesar 511.000 ton udang (KKP, 2012). Target produksi tersebut membutuhkan upaya dan kerja keras seluruh lapisan masyarakat agar dapat terealisasi dengan sempurna.

Kendala yang sering dihadapi para pembudidaya udang vaname adalah adanya serangan penyakit. Hatmanti (2003) menjelaskan bahwa diantara penyakit tersebut yang paling banyak ditemui adalah penyakit bakterial. Bakteri patogen yang umum ditemukan pada krustasea adalah *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., dan *Salmonella* sp. *Vibriosis* merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. sering menyerang baik di pembenihan maupun pembesaran udang. Saulnier (2000) menyatakan bahwa penyebaran penyakit yang menyerang udang disebabkan oleh beberapa spesies bakteri *Vibrio* antara lain *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* dan *V. penaeicida* yang telah ditemukan pada kolam pemeliharaan dan pembesaran udang vaname. Menurut Chirtolite *et al.* (2007), *V. harveyi* yang sering disebut *Luminescent bacteria* dapat menyebabkan penyakit udang bercahaya. Bakteri ini pernah diisolasi sebanyak 52% dari 338 sampel yang berasal dari *hatchery*, sumber air laut, kolam penetasan, kolam pemijahan, tangki kultur alga dan kolam pemeliharaan larva.

Kegiatan budidaya udang vaname (*L. vannamei*) pada *hatchery* maupun pembesaran tidak terlepas dari serangan penyakit. Mikroalga yang digunakan sebagai pakan pada tahap awal perkembangan udang vaname dapat menjadi salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya serangan penyakit. Menurut Suminto dan Hirayama (1993), dalam kultur mikroalga tidak terlepas oleh adanya kontaminan dari mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang dapat mengkontaminasi kultur mikroalga adalah bakteri. Bakteri yang merupakan kontaminan dalam kultur mikroalga antara lain adalah bakteri *Alteromonas*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Alcalygenus*, *Vibrio* sp.

Ketersediaan fitoplankton sebagai pakan alami bagi ikan dan udang merupakan salah satu faktor pendukung dalam keberhasilan budidaya perairan dan perikanan khususnya pada upaya kultivasi benih udang di *hatchery*. Jenis – jenis fitoplankton pakan alami seperti *Skeletonema costatum*, *Chlorella* sp. *Chaetoceros calcitrans* telah dikenali sebagai pakan potensial pada tahap awal (Erlina *et al.*, 2004).

Informasi mengenai agensia penyakit yang sering menyerang udang sangat penting untuk diketahui sehingga dapat dilakukan tindakan pencegahan terhadap serangan penyakit. Menurut Sarjito (2010), penelitian mengenai identifikasi agensia penyebab penyakit penting untuk dilakukan dalam rangka memperoleh kepastian dan terapi yang tepat dalam penanganan penyakit.

## 2. MATERI DAN METODE

Isolat bakteri genus *Vibrio* berasal dari media kultur massal mikroalga *hatchery* di Jepara, Rembang, dan Tuban. Sampel mikroalga diambil dari 3 titik yang berbeda pada tiap kolam dengan umur kultur 2 hari atau pada fase penurunan kecepatan pertumbuhan, dimana pada fase tersebut kepadatan sel mencapai puncaknya dan juga memiliki kandungan nutrisi yang optimal. Kondisi kultur massal berwarna pekat yaitu pada kultur *Chlorella* sp. berwarna hijau pekat sedangkan *Skeletonema* sp. berwarna coklat pekat. Sampel mikroalga tersebut diambil untuk kemudian diisolasi ke dalam media TCBS untuk mengisolasi bakteri dari genus *Vibrio*. Hewan uji yang digunakan untuk uji postulat koch adalah udang vaname (*L. vannamei*) sehat yang sebelumnya telah diaklimatisasi dan berat rata-rata 1-1,5 g.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksploratif. Metode pengambilan sampel menggunakan *simple random sampling*. Isolasi bakteri berasal dari kultur massal mikroalga. Isolasi tersebut menggunakan teknik pengenceran bertingkat yang bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan (Sarjito, 2010). Kultur bakteri dilakukan pada media *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA) dengan metode *spread plate* (Harley dan Prescott, 2002).

Isolat bakteri hasil isolasi kemudian dilakukan pemurnian. Pemurnian dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media selektif TCBS. Cara pemurnian yaitu dengan mengambil koloni bakteri tunggal dari cawan petri yang telah berumur 24 jam, kemudian ditumbuhkan pada media agar dengan metode *streak* selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Pemurnian dilakukan dengan melakukan reisolasi isolat 3-5 kali sampai ditemukan isolat murni yang ditandai dengan warna yang seragam. Isolat murni disimpan pada media agar miring *Nutrient Agar* (NA) lalu dilakukan karakterisasi bakteri berdasarkan warna dan bentuk koloni bakteri. Isolat terpilih hasil karakterisasi dilakukan uji postulat koch. Isolat yang terpilih dikultur dengan media *zobell 2201E half strength*, pemanenan dilakukan dengan *centrifuge* dengan pencucian sebanyak 2 – 3 kali. Udang vaname yang digunakan sebagai hewan uji untuk uji postulat koch adalah udang sehat dengan berat rata-rata 1-1,5 g sebanyak 10 ekor untuk masing – masing ulangan dengan ulangan sebanyak 3 kali.

Bakteri yang telah ditemukan dari isolasi media kultur mikroalga akan disuntikan ke udang vaname. Bakteri tersebut sebelumnya harus dikultur dalam media cair agar mempermudah dalam proses penyuntikan. Bakteri disuntikan ke hewan uji melalui ruas abdomen ke dua pada udang vaname. Penyuntikan yang akan



dilakukan menggunakan *syringe tuberculin*. Dosis isolat bakteri yang digunakan dalam uji postulat koch sebanyak  $10^8$  (CFU)/mL sebanyak 0,1 mL (Sarjito, 2010).

Identifikasi bakteri dilakukan dengan berbagai macam kriteria pengamatan morfologi bakteri meliputi warna, bentuk, dan karakteristik koloni. Berdasarkan uji biokimia yang dibandingkan dengan Buller (2004) diperoleh genus suatu bakteri.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri yang berasal dari media kultur massal mikroalga dengan media TCBS didapatkan 21 isolat. Keseluruhan isolat hasil isolasi tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter Isolat Bakteri yang Berasal dari Media Kultur Mikroalga berdasarkan Warna, Bentuk serta Karakteristik Koloni

No.	Kode Isolat	Tingkat Pengenceran	Asal Isolat	Bentuk	Warna	Karakteristik koloni
1	TDS1	$10^1$	<i>Chlorella</i> sp	Fillamentous	Putih	Cembung
2	TDS2	$10^1$	<i>Chlorella</i> sp	Bulat	Putih	Cembung
3	TDS3	$10^1$	<i>Chlorella</i> sp	Bulat	Putih	Cembung
4	TDS4	$10^5$	<i>Chaetoceros</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung
5	TDS5	$10^1$	<i>Chaetoceros</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung
6	TDS6	$10^1$	<i>Chlorella</i> sp	Bulat	Putih	Cembung
7	TDS7	$10^5$	<i>Chlorella</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung
8	TDS8	$10^5$	<i>Chlorella</i> sp	<i>Irregular</i>	Hijau	Rata
9	TDS9	$10^3$	<i>Nannochloropsis</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung
10	TDS10	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Kuning	Cembung
11	TDS11	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Putih	Cembung
12	TDS12	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Putih	Datar
13	TDS13	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Filamentous</i>	Putih	Datar
14	TDS14	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Putih	Cembung
15	TDS15	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Kuning	Datar
16	TDS16	$10^1$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Datar
17	TDS17	$10^5$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Cembung
18	TDS18	$10^5$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Cembung
19	TDS19	$10^5$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Putih	Cembung
20	TDS20	$10^5$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Cembung
21	TDS21	$10^5$	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Cembung

Kemudian dari 21 isolat (Tabel 1) dilakukan pemilihan isolat bakteri berdasarkan warna, bentuk dan karakterisasi koloni bakteri. Berdasarkan morfologi isolat bakteri tersebut, diperoleh 6 isolat untuk dilakukan uji postulat koch. Keenam isolat tersebut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Isolat Bakteri Terpilih yang Dilakukan Uji Postulat Koch pada Udang Vaname (*L. vannamei*).

No.	Kode Isolat	Asal Isolat	Bentuk	Warna	Karakteristik Koloni
1	TDS10	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Kuning	Cembung
2	TDS12	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Putih	Datar
3	TDS13	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Filamentous</i>	Putih	Datar
4	TDS15	<i>Skeletonema</i> sp.	<i>Irregular</i>	Kuning	Datar
5	TDS20	<i>Skeletonema</i> sp.	Bulat	Hijau	Cembung
6	TDS9	<i>Nannochloropsis</i> sp	Bulat	Hijau	Cembung

Isolat bakteri terpilih dari hasil uji karakterisasi bakteri dilakukan uji postulat koch. Hasil pengamatan mortalitas udang vaname (*L. vannamei*) selama uji postulat koch disajikan pada Tabel 3.

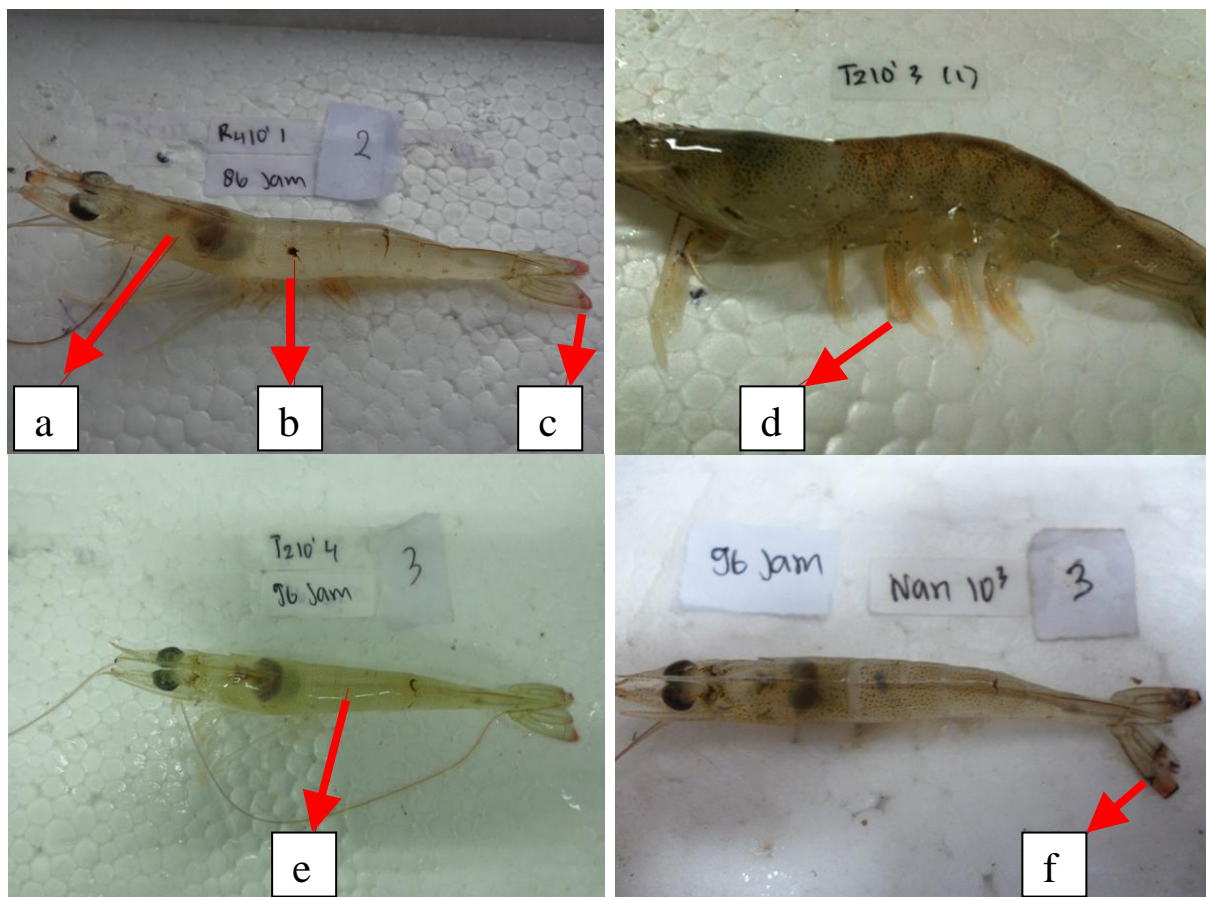


Tabel 3. Hasil Pengamatan Mortalitas Udang Vaname (*L. vannamei*) selama Uji Postulat Koch

Kode Isolat	Total Kematian Udang Vaname			Prosentase Kematian (%)
	I	II	III	
TDS10	2	0	0	7
TDS12	10	10	10	100
TDS13	2	4	2	27
TDS15	0	1	0	3
TDS20	9	10	10	97
TDS9	9	10	9	93

Hasil uji postulat koch menunjukkan bahwa 6 isolat tersebut bersifat patogen terhadap udang vaname. Tiga isolat bakteri (TDS12, TDS20 dan TDS9) yang di uji postulat Koch mengakibatkan kematian diatas 90% selama 96 jam pengamatan. Tiga isolat bakteri lainnya (TDS10, TDS13, dan TDS15) hanya mengakibatkan kematian kurang dari 10%, namun menimbulkan gejala klinis terserang *vibriosis*

Gejala klinis yang ditunjukkan udang vaname yang diinjeksi isolat bakteri TDS10, TDS12, TDS13, TDS15, TDS20, dan TDS9 selama postulat Koch disajikan pada Gambar 1.



Keterangan gambar:

- a. Hepatopankreas pucat kemerahan
- b. Melanosis
- c. Ekor merah
- d. Kaki renang merah
- e. Tubuh pucat, usus kosong
- f. Ekor kehitaman dan geripis

Gambar 1. Gejala Klinis Udang Vaname selama Uji Postulat Koch.

Pengamatan selama uji postulat Koch menunjukkan munculnya gejala klinis *Vibriosis* pada keseluruhan udang vaname. Hasil pengamatan tingkah laku udang vaname selama uji postulat koch adalah pergerakan dari udang vaname berenang miring, berenang memutar dan tak beraturan, sedangkan gejala klinis morfologi udang vaname berupa tubuh berwarna pucat, kaki memerah, ekor merah kecoklatan lalu geripis, hepatopankreas pucat kemerahan, karapas lunak, usus kosong, serta timbul bercak hitam pada tubuh udang yang sering disebut melanosis.

Hasil pengamatan morfologi dan uji biokimia pada keenam isolat bakteri (TDS10, TDS12, TDS13, TDS15, TDS20, dan TDS9) yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalga disajikan pada Tabel 4.





Tabel 4. Hasil Uji Morfologi dan Biokimia Bakteri *vibriosis* yang berasosiasi dengan Kultur Massal Mikroalga

Uji Biokimia	Isolat					
	TDS10	TDS12	TDS13	TDS15	TDS20	TDS9
<b>Morfologi Bentuk</b>						
Bentuk koloni	Bulat	Irregular	Filamentous	Irregular	Bulat	Bulat
Bentuk elevasi	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
<b>Warna</b>						
Media/ Warna	TCBS/Kuning	TCBS/Putih	TCBS/Putih	TCBS/Kuning	TCBS/Hijau	TCBS/Hijau
<b>Morfologi sel</b>						
Gram	-	-	-	-	-	-
<b>Sifat Fisiologis dan Biokimia</b>						
OF	F	F	F	F	-	-
Motility	+	+	+	+	+	+
<b>Produksi</b>						
Katalase	+	+	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+	+	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-
LIA	+	+	+	+	+	+
Ornithin	+	+	+	+	-	+
TSIA	A/A, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)	A/A, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)	A/K, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)	A/A, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)	K/K, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)	K/K, H <sub>2</sub> S (-), Gas (-)
Indol	+	+	+	+	-	-
MR	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-
Citrat	-	-	-	-	+	+
Urea	-	-	-	-	-	-
<b>Hidrolisis</b>						
Esculin	-	-	-	-	-	-
<b>Produksi Asam</b>						
Glukosa	+	+	+	+	-	-
Sukrosa	+	+	+	+	-	-
Laktosa	-	-	-	-	-	-
<b>Kemiripan Bakteri</b>						
	<i>V. harveyi</i> 95%	<i>V. parahaemolyticus</i> 86%	<i>V. parahaemolyticus</i> 86%	<i>V. alginolyticus</i> 90%	<i>V. fischeri</i> 86%	<i>V. mimicus</i> 86%

Keterangan :

+ : 90% lebih strain positif

- : 90% lebih strain negatif

ND : not determine

d : 11-89% positif

v : variabel

Berdasarkan Tabel 4 hasil karakter morfologi dan uji biokimia yang mengacu pada Buller (2004), isolat TDS10 mempunyai kemiripan 95% dengan *V. harveyi*, TDS12 dan TDS13 mempunyai kemiripan 86% dengan *V. parahaemolyticus*, TDS15 mempunyai kemiripan 90% dengan *V. alginolyticus*, TDS20 mempunyai kemiripan 86% dengan *V. fischeri* dan TDS9 mempunyai kemiripan 86% dengan *V. mimicus*.

Hasil isolasi bakteri yang berasal dari media kultur massal mikroalga dengan media TCBS diperoleh 21 isolat bakteri yang kemudian dilakukan seleksi berdasarkan warna, bentuk, dan karakteristik koloni bakteri, diperoleh 6 isolat (TDS10, TDS12, TDS13, TDS15, TDS20 dan TDS9). Uji biokimia dilakukan terhadap 6 isolat bakteri menunjukkan bahwa isolat TDS10 mempunyai kemiripan dengan *V. harveyi*, TDS12 dan TDS13 mempunyai kemiripan dengan *V. parahaemolyticus*, TDS15 mempunyai kemiripan dengan *V. alginolyticus*, TDS20 mempunyai kemiripan dengan *V. fischeri* dan TDS9 mempunyai kemiripan dengan *V. mimicus*.

Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan kultur massal mikroalga menunjukkan adanya kontaminasi bakteri genus *Vibrio*. Chirtolite *et al.* (2007) pernah melaporkan bahwa *V. harveyi* yang sering disebut *Luminescent bacteria* dapat menyebabkan penyakit udang bercahaya. Bakteri ini pernah diisolasi salah satunya dari tangki kultur alga. Suminto dan Hirayama (1993) melaporkan bahwa salah satu bakteri yang mengkontaminasi kultur mikroalga adalah bakteri berasal dari genus *Vibrio*. Kultur mikroalga yang terkontaminasi dapat menyebabkan kepadatan sel yang dihasilkan rendah dan juga dapat menyebabkan kematian pada larva udang akibat dari bakteri patogen.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri genus *Vibrio* yang ditemukan dari media kultur massal mikroalga adalah *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. fischeri*, dan *V. mimicus*. Hasil identifikasi dengan membandingkan dengan Buller (2004) bahwa isolat TDS10 mempunyai kemiripan 95% dengan *V. harveyi*. Menurut Austin dan Austin (2007) *V. harveyi* merupakan salah satu bakteri penyebab *Vibriosis* pada ikan dan invertebrata. Fariedah (2010), melaporkan *V. harveyi* dapat menyerang udang pada insang, kulit dan hepatopankreas. Gejala klinis yang telah diamati pada udang yang terserang akan tampak dengan perubahan warna kulit yang menjadi kusam atau pucat, adanya luka seperti bekas terpotong pada ekor atau rostrum dengan warna merah, tubuh udang menjadi lunak, dan hilangnya nafsu makan. *V. harveyi* pernah ditemukan menyerang udang dengan gejala klinis tubuh memerah yang ditemukan pada udang vaname di pasifik



(Jayasree, 2006 dan Sonia *et al.*, 2012). *V. harveyi* pernah menyerang hatchery di India yang mengakibatkan penyakit udang bercahaya (Vinod *et al.*, 2006 dan Chrisolite *et al.*, 2008).

Hasil identifikasi yang mengacu pada Buller (2004) bahwa isolat TDS12 dan TDS13 mempunyai kemiripan 86% dengan *V. parahaemolyticus*. Koloni bakteri *V. parahaemolyticus* yang tumbuh pada media TCBS berwarna hijau dengan diameter 3-5 mm. Mawengkang (2010), menjelaskan bahwa *V. parahaemolyticus* tidak dapat memfermentasi sukrosa dan koloni bakteri berwarna hijau pada media TCBS. Hasil penelitian Melky (2006), menunjukkan bahwa *V. parahaemolyticus* banyak ditemukan di perairan. *V. parahaemolyticus* pernah ditemukan menyerang udang vaname di China dan Thailand oleh Sudheesh (2002). Martin (2004) melaporkan bahwa *V. parahaemolyticus* adalah spesies bakteri patogen penting karena umumnya berada di perairan budidaya udang. Udang yang disuntikan *V. parahaemolyticus* dengan konsentrasi  $10^4$  CFU membunuh setengah dari populasi udang selama 7 hari (Martin, 2004). Longyant *et al.* (2007) melaporkan *V. parahaemolyticus* menginfeksi udang vaname dengan gejala klinis terdapat garis-garis hitam di sisi *cephalothorax*.

Hasil identifikasi isolat TDS15 mengacu pada Buller (2004), mempunyai kemiripan 90% dengan *V. alginolyticus*. Menurut Feliatra (1999), *V. alginolyticus* mempunyai ciri-ciri morfologi berwarna kuning, diameter 3-5 mm. Karakteristik fisika-biokimia menunjukkan pewarnaan gram negatif, dan mempunyai sifat fermentatif. Liu *et al.* (2004) menunjukkan bahwa *V. alginolyticus* adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang. Mawengkang (2010) menyatakan bahwa *V. alginolyticus* berwarna kuning karena mampu memfermentasikan sukrosa dan menurunkan pH dari media TCBS. Warna TCBS akan menjadi kuning karena bakteri tersebut memfermentasikan sukrosa menjadi asam. Martin (2004) melaporkan bahwa *V. alginolyticus* adalah spesies bakteri patogen penting karena umumnya berada pada perairan budidaya udang. Hasil penelitian Liu *et al.* (2004) melaporkan, bakteri *V. alginolyticus* pernah menyerang tambak udang di Taiwan dengan gejala klinis pertumbuhan lambat, pergerakan pasif, ekor kemerahan, tubuh putih pucat, serta dapat menyebabkan kematian. *V. alginolyticus* pernah dilaporkan Ren *et al.* (2013) menyerang sistem budidaya udang di China. Selvin (2003) melaporkan *V. alginolyticus* berasosiasi dengan penyakit WSSV menyerang budidaya udang ekstensif di India.

Hasil identifikasi isolat TDS20 yang mengacu pada Buller (2004) mempunyai kemiripan 86% dengan *V. fischeri*. Buller (2004) melaporkan bahwa *V. fischeri* memiliki reaksi negatif terhadap uji VP. Austin dan Austin (2007) mengemukakan bahwa faktor yang biasanya menyebabkan wabah penyakit *Vibriosis* berhubungan dengan perubahan lingkungan dan stres. Salah satu spesies bakteri *Vibrio* yang sering menyerang ikan dan invertebrata adalah *V. fischeri*.

Hasil identifikasi isolat TDS9 yang mengacu pada Buller (2004) bahwa isolat TDS9 mempunyai kemiripan 86% dengan *V. mimicus*. *V. mimicus* pernah ditemukan menyerang udang (Pengsuk *et al.* 2009 dan Payane 2004). Payane (2004), menyebutkan *V. mimicus* menyerang hepatopankreas udang dewasa yang sakit. Selain itu *V. mimicus* juga ditemukan hidup bebas pada ekosistem perairan (Acuna *et al.*, 1999 dan Pengsuk *et al.*, 2009).

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam bakteri tersebut bersifat patogen terhadap udang karena dapat menyebabkan udang sakit ataupun mati. Nasi (2012) pernah melaporkan bahwa *Vibriosis* menyerang di tambak udang kabupaten Kendal dengan tingkat patogenisitas yang rendah. Jayasree (2006) melaporkan bahwa *Vibrio* sp. pernah menyerang kolam budidaya udang di pesisir Andhra Pradesh India. Serangan penyakit tersebut mengakibatkan gejala klinis pada udang diantaranya ekor geripis (nekrosis), penyakit *shell* (karapas), penyakit merah, *Loose Shell Syndrome* (LSS), dan penyakit usus putih (WGD). Menurut Sonia *et al.* (2012), *V. harveyi* pernah menyerang udang vaname di Pasifik dengan tingkat patogenisitas yang tinggi. Kematian udang mencapai 80% sebelum 24 jam setelah di uji tantangan dengan dosis  $10^3$  CFU. Longyant *et al.* (2008), melaporkan bahwa *V. parahaemolyticus* ditemukan di hepatopankreas udang dan dapat menyebabkan kematian massal. Liu *et al.* (2004) melaporkan bahwa *V. alginolyticus* pernah menyerang tambak udang di Taiwan dengan tingkat kematian mencapai lebih dari 50%. Austin dan Austin (2007), melaporkan bahwa *V. fischeri* merupakan salah satu spesies *Vibrio* yang sering menginfeksi ikan dan invertebrata. Sedangkan Payane (2003) melaporkan bahwa *V. mimicus* ditemukan menyerang hepatopankreas udang dewasa.

Kematian udang vaname yang diperoleh setelah dilakukan uji postulat Koch menunjukkan bahwa prosentase kematian yang disebabkan oleh isolat TDS10 (7%), TDS12 (100%), TDS13 (27%), TDS15 (3%), TDS20 (97%) sedangkan TDS9 (93%). Infeksi dan total kematian udang vaname dipengaruhi oleh tingkat patogenisitas bakteri yang berbeda. Menurut Sarjito (2010) patogenisitas bakteri terhadap inang berbeda, beberapa hal yang mempengaruhi adalah faktor pertahanan inang dalam melawan patogen, maupun faktor patogenisitas bakteri yang berkaitan dengan kemampuan memproduksi toksin, enzim, plasmid, dan mengatasi ketahanan inang, serta kecepatan berkembang biak.

Gejala klinis yang muncul pada udang vaname pada saat uji postulat Koch adalah pergerakan dari udang vaname berenang miring, berenang memutar dan tak beraturan. Gejala klinis tersebut diikuti tubuh berwarna pucat, kaki memerah, ekor merah kecoklatan lalu geripis, hepatopankreas pucat kemerahan, karapas lunak, usus kosong, serta timbul bercak hitam pada tubuh udang yang sering disebut melanosis. Gejala klinis udang yang berenang memutar dan tak beraturan (Rahmaningsih, 2008), tubuh pucat (Nasi, 2012; Rahmaningsih, 2008;



Handayani, 1998; Fariedah, 2010; dan Liu *et al.*, 2004), ekor merah kecoklatan lalu geripis (Nasi, 2012; Jayasree, 2006; Fariedah, 2010; dan Liu *et al.*, 2004), hepatopankreas pucat kemerahan (Nasi, 2012; dan Payane, 2004), tubuh atau karapas lunak (Handayani, 1998; Jayasree, 2006; dan Fariedah, 2010), usus kosong karena nafsu makan menurun (Jayasree, 2006; Rahmaningsih, 2008; dan Fariedah, 2010), serta timbul bercak hitam atau melanosis pernah ditemukan (Longyan *et al.*, 2007).

#### 4. KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian Karakterisasi dan Uji Postulat Koch Bakteri Genus *Vibrio* yang di Isolasi dari Kultur Massal Mikroalga adalah :

1. Bakteri genus *Vibrio* yang berasal dari media kultur massal mikroalga adalah adalah *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. fischeri*, dan *V. mimicus*.
2. *V. parahaemolyticus*, *V. fischeri*, dan *V. mimicus* diduga sebagai bakteri potensial patogen penyebab *Vibriosis* karena menimbulkan kematian diatas 90% pada uji Postulat Koch.
3. Gejala klinis selama uji postulat koch adalah udang berenang miring, berenang memutar dan tak beraturan, tubuh berwarna pucat, kaki memerah, ekor merah kecoklatan lalu geripis, hepatopankreas pucat kemerahan, karapas lunak, usus kosong, serta timbul bercak hitam pada tubuh udang (melanosis).

Saran yang dapat diberikan adalah perlu adanya penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi isolat secara biomolekuler dan uji patogenitas agensia penyebab *vibriosis* pada berbagai fase udang vaname (*L. vannamei*)

#### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan sebagian dari penelitian payung yang dilakukan oleh Dr. Ir. Sarjito, M.App.Sc. dkk. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada kepada Bapak Yusuf selaku pemilik *hatchery* udang di Rembang, Ibu Nurul Hidayat selaku petugas penyelia bakteri dan berbagai pihak bantuan dalam penyelesaian penelitian ini. Disampaikan pula terima kasih kepada Ketua Laboratorium Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro dan Kepala Balai Karantina Ikan dan Pengendalian Mutu Tanjung Mas Semarang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Acuna, M, T., G. Diaz, H. Bolanos, C. Barquero, O. Sanchez, L.M. Sanchez, G. Mora, A. Chaves, and E. Campos. 1999. *Sources of Vibrio mimicus Contamination of Turtle Egg*. Applied an Environmental Microbiology, 65(1): 336–338.
- Ariawan, K., Puspito., Poniran. 2005. Penerapan Budidaya Udang Vaname (*L. vannamei*) Pola Semi-intensif di Tambak. Laporan Tahunan. Departemen Kelautan dan Perikanan . Direktorat Jendral Perikanan Budidaya. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara.
- Arikunto, S.M. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek*, Edisi Revisi. Rineka Cipta. Jakarta.
- Austin, B. dan D.A. Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogen : Disease in Farmed and Wild Fish*. John Willey and Sons Ltd, England. 90 p.
- Buller, N. B. 2004. *Bacteria from Fish and other Aquatic Animals : A Practical Identification Manual*. CABI Publishing CAB International Wallingford Oxfordshire OX10 8DE . United Kingdom. 361 p.
- Chrisolite, B., S. Thiyagarajan, S.V. Alavandi, E.C. Abhilash, N. Kalaimandi, K.K. Vijayan, T.C. Santiago. 2008. *Distribution of Luminescent Vibrio harveyi and Their Bacteriophages in a Commercial Shrimp Hatchery in South India*. Aquaculture 275: 13–19.
- Fariedah, F. 2010. Pengaruh Imunostimulan *Outer Membran Protein (OMP) Vibrio alginolyticus* dan Infeksi *Vibrio harveyi* terhadap DNA Mitokondria Udang Windu *Penaeus monodon* Fab. [Thesis]. Program Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.
- Feliatra. 1999. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* sp.) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau, J. Nat. Ind. 11 (1): 28 – 33.
- Harley, J.P and M. Prescott. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology 5<sup>th</sup> edition*. The Mc Grow-Hill Comparies. USA, 449 p.
- Hatmanti, A. 2003. Penyakit Bakterial pada Budidaya Krustasea serta Cara Penanganannya. Pusat Penelitian Oseanografi LIPI. Jakarta
- Huang. H.H., X.L. Liu, J.H Xiang, dan P. Wang. 2013. *Immune Response of Litopenaeus vannamei after Infection with Vibrio harveyi*. Aquaculture 406(407): 115–120.
- Jayasree, L., P. Janakiram, dan R. Madhavi. 2006. *Characterization of Vibrio spp. Associated with Diseased Shrimp from Culture Ponds of Andhra Pradesh*. Department of Zoology, Andhra University, Visakhapatnam, Andhra Pradesh. India
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2012. Rencana Strategis Kementrian Kelautan dan Perikanan Tahun 2010-2014. Sekretariat Jendral Kementrian Kelautan dan Perikanan. Jakarta.



- Liu, C.H., W. Cheng, J.P. Hsu, and J.C. Chen. 2004. *Vibrio alginolyticus* Infection in the White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Confirmed by Polymerase Chain Reaction and 16S rDNA Sequencing. *Disease Of Aquatic Organisms*, 61: 169–174.
- Longyant, S., S. Rukpratanporn, P. Chaivisuthangkura, P. Suksawad, C. Srisuk, W. Sithigorngul, S. Piyatiratitivorakul, and P. Sithigorngul. 2008. *Identification of Vibrio spp. in Vibriosis Penaeus vannamei Using Developed Monoclonal Antibodies*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 63–68.
- Martin, G.G., N. Rubin, and E. Swanson. 2004. *Vibrio parahaemolyticus* and *V. harveyi* cause Detachment of the Epithelium from the Midgut Trunk of the Penaeid Shrimp *Sicyonia Ingentis*. *Department of Biology, Disease Of Aquatic Organisms*, 60: 21–29.
- Mawengkang, H.W. 2010. Identifikasi *Vibrio* sp. pada Gonad Ikan Cakalang. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UNSRAT. Jurnal Perikanan dan Kelautan*, VI (1): 18-21.
- Melky dan A. Agussalim. 2006. Distribusi Bakteri *Vibrio* pada Kolom Air Perairan Banyuasin. *Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya*. Palembang.
- Nasi, L., S. B. Prayitno., Sarjito. 2012. Kajian Bakteri Penyebab Vibriosis pada Udang secara Biomolekuler. *Magister Manajemen Sumberdaya Pantai Universitas Diponegoro*. Semarang.
- Payane, M., J. Oakey., L. Owens. 2004. *The Ability of Two Different Vibrio spp. Bacteriophages to Infect Vibrio harveyi, Vibrio cholerae and Vibrio mimicus*. *Journal of Applied Microbiology*, 97: 663–672
- Pengsuk, C., S. Longyant., S. Rukpratanporn., P. Chaivisuthangkura., P. Sridulyakul., P. Sithigorngul. 2010. *Development of Monoclonal Antibodies for Simple Detection and Differentiation of Vibrio mimicus from V. cholerae and Vibrio spp. by Dot Blotting*. *Aquaculture*, 300: 17–24
- Rahmaningsih, S. 2008. Penanggulangan Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) menggunakan Ekstrak Sponge *Haliclona* sp. *Program Studi Ilmu Perikanan Fakanlut. Tuban*
- Ren, C., H. Chaoqun, J. Xiao, S. Hongyan, Z. Zhao, C. Chang, and P. Luo. 2013. *Distribution and Pathogenic Relationship of Virulence Associated Genes among Vibrio alginolyticus from the Mariculture Systems*. *Molecular and Cellular Probes*, 27: 164-168.
- Saulnier, D., P. Haffner, C. Goarant, P. Levy, and D. Ansquer, 2000. *Eksperimental Infection Models for Shrimp Vibriosis Studies: a Review*. *Aquaculture*, 191: 133–144.
- Sarjito. 2010. Aplikasi Biomolekuler Untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosid pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis [Disertasi]. *Program Doktor Manajemen Sumberdaya Pantai Universitas Diponegoro*. Semarang.
- Selvin, J and A.P. Lipton. 2003. *Vibrio alginolyticus* Associated with White Spot Disease of *Penaeus monodon*. *Department of Biotechnology, Malankara Catholic College.* 57: 147–150.
- Sonia, A., A.S. Rodriguez, B.G. Gil, R. Lozano, R.R. Rodriguez, A.L. Dieguez, and J.L. Romlade. 2012. *Virulence of Vibrio harveyi Responsible for the “Bright-Red” Syndrome in the Pacific White Shrimp Litopenaeus vannamei*. *Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain*
- Sudheesh P.S., K. Jie, and H.S. Xu. 2002. *Random Amplified Polymorphic DNA-PCR Typing of Vibrio parahaemolyticus and V. alginolyticus Isolated from Cultured Shrimps*. *Aquaculture* 207:11–17.
- Suminto and K. Hirayama. 1993. *Relation between Diatom Growth and Bacterial Population in Semi Mass Culture Tank of Diatom*. *Bull. Fac., Nagasaki University*, 74(75): 37-41.
- Vinod, M.G., M.M. Shivu, K.R. Umesha, B.C. Rajeeva, G. Krohne, and I. Karunasagar. 2006. *Isolation of Vibrio harveyi Bacteriophage with a Potential for Biocontrol of Luminous Vibriosis in Hatchery Environments*. *Aquaculture*, 255: 117–124