PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK *Sargassum polycystum* TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) SECARA IN-VITRO

SKRIPSI

MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN

BUDIDAYA PERAIRAN

OLEH:
RANI YUWANITA
0410850062

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
MALANG
2008

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

PENGARUH KONSENTRASI EKSTRAK *Sargassum polycystum* TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon*) SECARA IN-VITRO

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana pada Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang

OLEH:
RANI YUWANITA
0410850062

Dosen Penguji I

Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS
NIP. 131 583 526
Tanggal :

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Ir. ARIEF PRAJITNO, MS
NIP. 131 415 634
Tanggal :

Dosen Penguji II

Ir. ELLANA SANOESI
NIP. 132 206 307
Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Ir. SOELISTYOWATI
NIP. 130 531 838
Tanggal :

Mengetahui,
Ketua Jurusan

Ir. MAHENO SRI WIDODO
NIP. 131 471 522
Tanggal :

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT pemilik segala ilmu dan satu-satunya pemberi hidayah serta ilham, Shalawat dan salam senantiasa tercurah ke pangkuan hamba Allah SWT terkasih Rasulullah SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul "Pengaruh Konsentrasi Ekstrak *Sargassum Polycystum* Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi* Pada Udang Windu (*Penaeus Monodon*) Secara In-Vitro".

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya skripsi ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Bapak Dr. Ir. Arief Prajitno, MS selaku dosen Pembimbing I dan ibu Ir. Soelistyowati selaku dosen Pembimbing II atas arahan dan bimbingannya
- Ibu Laminem, S.Pi, MS selaku penyelia Lab. Bakteriologi Balai Karantina Ikan (BKI) Juanda
- Dr. Ir. Maftuch, Msi. selaku Kepala Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan (PPI) Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya berserta stafnya
- Kedua orang tua terkasih serta semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan selama penelitian dan penyusunan skripsi

Besar harapan dari penulis, semoga tulisan ini bermanfaat bagi pihak yang berminat dan memerlukannya.

Malang, Agustus 2008

Penulis

RINGKASAN

RANI YUWANITA. Pengaruh Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu Secara Invitro (di bawah bimbingan **DR. Ir. ARIEF PRAJITNO**, **MS** dan **Ir. SOELISTYOWATI**)

Komoditas udang windu telah dikenal sebagai andalan utama subsektor perikanan dalam perolehan devisa. Hal ini terlihat dalam program Peningkatan Ekspor Hasil Perikanan (Protekan) 2003 dari target perolehan devisa USD 10 milyar, perolehan dari udang windu adalah komponen terbesar yaitu sebesar 6,7 milyar USD. Namun keragaan produksi udang secara nasional sejak 1994 sampai saat ini tidak menunjukkan peningkatan bahkan terjadi penurunan dari sekitar 100.000 ton/tahun menjadi 70.000 ton. Sedangkan di Jawa Timur penurunan produksi tersebut lebih serius lagi karena pada saat ini hampir 70% petambak mengalami kegagalan. Berbagai kendala telah diketahui sebagai penghambat peningkatan produksi udang windu di tambak, namun penyakit dikenal sebagai penyebab utama.

Permasalahan yang paling serius dalam penyediaan benih udang windu adalah kematian massal yang disebabkan serangan penyakit terutama bakteri menyala (*Luminescent vibriosis*) atau dikenal dengan penyakit kunang-kunang yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi*. Penyakit ini bersifat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi udang dalam tempo 1-3 hari sejak gejala awal tampak dan udang yang terserang sulit diselamatkan. Beberapa cara pengendalian sudah dilakukan tetapi belum memberikan hasil. Mengingat pentingnya penanggulangan bakteri bercahaya bagi kelangsungan usaha usaha budidaya udang, perlu dicari metode pengendalian yang praktis dan efektif untuk diterapkan.

Sampai pada saat ini penelitian penanggulangan penyakit masih terbatas pada pemakaian bahan-bahan kimia seperti formalin, *malachite green* serta beberapa jenis antibiotik seperti *chloramfenicol*, o*xytetracyclin* dan *prefuran* yang dalam penggunaannya seringkali tidak terkontrol sehingga hasil yang diperoleh tidak efektif dan tindakan ini dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik serta mencemari lingkungan perairan yang pada gilirannya akan menimbulkan masalah baru bagi usaha budidaya udang.

Rumput laut coklat merupakan salah satu komoditi laut yang melimpah dan memiliki potensi tinggi karena kandungannya, namun masih sedikit upaya yang dilakukan untuk memanfaatkan potensi rumput laut coklat. Diantara rumput laut yang terdapat di Indonesia, rumput laut coklat adalah spesies yang paling banyak tumbuh, utamanya dari jenis Sargassum. Selain mengandung polisakarida, rumput laut juga mengandung mineral dan senyawa bioaktif. Hasil penelitian rumput laut coklat jenis Sargassum yang potensial untuk bahan obat-obatan adalah *Sargassum polycystum* karena mengandung iodium, protein, vitamin C dan mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, S, P dan Mn, anti-bakteri, anti-tumor, sumber alginat, fenol dan *auxin*, serta zat yang merangsang pertumbuhan dan zat yang dapat mengontrol polusi logam berat.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak *Sargassum polycystyum* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara in-vitro dan mengetahui pengaruh ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda

terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* secara in-vitro. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Balai Karantina Ikan (BKI) Juanda, Surabaya dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan (PPI) Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya pada bulan Maret-Mei 2008.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen, sedangkan rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan yang masing-masing diulang 3 kali. Perlakuan pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum*, yaitu konsentrasi 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 30%. Sebagai parameter utama pada penelitian ini adalah zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram yang mengandung ekstrak *Sargassum polycystum*, sedangkan parameter penunjangnya adalah pH dan suhu inkubator.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda mempunyai pengaruh yang berbeda nyata terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* dengan sifat obat bakteriostatik. Rata-rata untuk masing-masing perlakuan yaitu: perlakuan A (5%) menghasilkan rerata zona hambat 8,34 mm, perlakuan B (10%) dengan rerata 8,75 mm, perlakuan C (15%) dengan rerata 8,78 mm, perlakuan D (20%) dengan rerata 8,89 mm, perlakuan E (25%) dengan rerata 9,41 mm dan perlakuan F (30%) dengan rerata 9,77 mm. Berdasarkan analisa polinomial orthogonal, hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap zona hambat yang dihasilkan mempunyai bentuk linier dengan persamaan $y = 0,154 x + 6,295$ dengan nilai $r = 0,799$. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum*, maka zona hambat yang terbentuk semakin besar. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan untuk menggunakan konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* sebesar 5 % untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

DAFTAR ISI

RINGKASAN i

KATA PENGANTAR iii

DAFTAR ISI iv

DAFTAR TABEL vi

DAFTAR GAMBAR vii

DAFTAR LAMPIRAN viii

I PENDAHULUAN
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 5
1.4 Kegunaan Penelitian 6
1.5 Hipotesis 6
1.6 Tempat dan Waktu Penelitian 6

II TINJAUAN PUSTAKA
2.1 Udang Windu (*Penaeus monodon*) 7
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi 7
2.2.2 Habitat dan Penyebaran 9
2.2.3 Sifat dan Tingkah Laku 10
2.1.4 Daur Hidup 11
2.1.5 Makan dan Kebiasaan 13
2.1.6 Penyakit 13
2.2 *Vibrio harveyi* 15
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi 15
2.2.2 Habitat dan Penyebaran 16
2.2.3 Aktivitas dan Pertumbuhan 17
2.2.4 Tingkat Patogenitas dan Ciri-Ciri Serangan 19
2.3 Rumput Laut *Sargassum polycystum* 21
2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi 21
2.3.2 Habitat dan Penyebaran 22
2.3.3 Sistem Reproduksi 23
2.3.4 Senyawa Aktif Antimikroba *Sargassum polycystum* 25
2.3.5 Mekanisme Kerja Antimikroba 26
2.4 Isolasi dan Identifikasi 27
2.4.1 Isolasi 27
2.4.2 Identifikasi 28

repository.ub.ac
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

2.5 Uji Efektivitas Antimikroba Invitro 30
2.5.1 Metode Dilusi 30
2.5.2 Metode Difusi Cakram 30

III MATERI DAN METODE PENELITIAN
3.1 Materi Penelitian 32
3.1.1 Alat-alat Penelitian 32
3.1.2 Bahan-bahan Penelitian 33
3.2 Metode Penelitian dan Rancangan Penelitian 34
3.2.1 Metode Penelitian 34
3.2.2 Rancangan Penelitian 35
3.3 Prosedur Penelitian 36
3.3.1 Sterilisasi alat 36
3.3.2 Ekstraksi *Sargassum polycystum* 36
3.3.3 Pembuatan Media 37
3.3.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri 41
3.3.5 Identifikasi Bakteri 42
3.3.6 Uji Sensitifitas Ekstrak *Sargassum polycystum* 47
3.4 Parameter Uji 50
3.4.1 Parameter Utama 50
3.4.2 Parameter Penunjang 50
3.5 Analisa Data 50

IV HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Ekstraksi *Sargassum polycystum* 51
4.2 Media Tumbuh Bakteri *Vibrio harveyi* 52
4.3 Isolasi Bakteri *Vibrio harveyi* 53
4.4 Pemurnian Bakteri *Vibrio harveyi* 54
4.5 Identifikasi Bakteri 55
4.5.1 Pewarnaan Gram 55
4.5.2 Uji Biokimia 57
4.6 Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) Ekstak *Sargasum polycystum* 66
4.7 Zona Hambat Ekstak *Sargasum polycystum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi Menggunakan Uji Cakram* 67
4.8 Mekanisme Kerja Anti Mikroba Ekstrak *Sargassum polycystum* 72
4.9 Lingkungan Hidup Bakteri *Vibrio Harveyi* 75

V KESIMPULAN DAN SARAN
5.1 Kesimpulan 76
5.2 Saran 76

DAFTAR PUSTAKA 77

LAMPIRAN 82

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Morfologi Koloni Bakteri Masing-Masing Genus 29
2. Karakterisasi Morfologi Bakteri 29
3. Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk Uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*) 48
4. Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk Uji Cakram 49
5. *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* 67
6. Data hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk dari beberapa konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* 68
7. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat 70
8. Hasil Uji BNT zona hambat 70

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. *Penaeus monodon* 7
2. Daur Hidup Udang Windu 12
3. Diagram Skematis Pembelah Biner Pada Bakteri 18
4. Kurva Pertumbuhan Bakteri..... 19
5. *Sargassum polycystum* 21
6. Daur Hidup *Sargassum polycystum* 24
7. Denah Penelitian 36
8. Diagram Batang Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap Zona Hambat Bakteri *Vibrio harveyi* 68
9. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*..... 72
10. Reaksi antara Fosfolipid dengan Senyawa Fenol 73
11. Diagram Mekanisme Perusakan Membran Sitoplasma Bakteri Oleh Senyawa Fenol dan Turunannya 74

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Diagram Alir Penelitian..... 82
2. Analisis Data 83
3. Bahan Penelitian..... 87
4. Alat Penelitian 88
5. Pewarnaan Gram 89
6. Uji Biokimia 90
7. Identifikasi Bakteri 94
8. Uji MIC 95
9. Zona Hambat Pada Uji Cakram..... 96
10. Kemikalia Pengujian Sifat Biokimia Bakteri..... 97
11. Kandungan Unsur-Unsur pada TCBSA dan NB Merek Oxoid 98

1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Udang windu (*Penaeus monodon*) merupakan salah satu jenis udang yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Kebutuhan akan benih udang windu sangat banyak, seiring dengan semakin luasnya area budidaya di Indonesia. Pasokan benih udang asal penangkapan alam sangat terbatas jumlah maupun kualitasnya, sehingga panti benih dituntut untuk menghasilkan benih udang berkualitas dalam jumlah besar (Koesharyani, 1993). Komoditas udang windu telah dikenal sebagai andalan utama subsektor perikanan dalam perolehan devisa. Hal ini terlihat dalam program Peningkatan Ekspor Hasil Perikanan (Protekan) 2003 dari target perolehan devisa USD 10 milyar, perolehan dari udang windu adalah komponen terbesar yaitu sebesar 6,7 milyar USD. Namun keragaan produksi udang secara nasional sejak 1994 sampai saat ini tidak menunjukkan peningkatan bahkan terjadi penurunan dari sekitar 100.000 ton/tahun menjadi 70.000 ton. Sedangkan di Jawa Timur penurunan produksi tersebut lebih serius lagi karena pada saat ini hampir 70% petambak mengalami kegagalan. Berbagai kendala telah diketahui sebagai penghambat peningkatan produksi udang windu di tambak, namun penyakit dikenal sebagai penyebab utama (Rukyani, 2005).

Prajitno dan Marsoedi (2007) menyatakan bahwa permasalahan yang paling serius dalam penyediaan benih udang windu adalah kematian massal yang disebabkan serangan penyakit terutama bakteri menyala (*Luminescent vibriosis*) atau dikenal dengan penyakit kunang-kunang. Penyakit ini bersifat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi udang dalam tempo 1-3 hari sejak gejala awal tampak dan udang yang terserang sulit diselamatkan. Penyakit *Luminescent vibriosis* banyak menyerang

hatchery di Indonesia dan Philipina yang disebabkan oleh serangan bakteri *Vibrio harveyi*.

Sampai pada saat ini penelitian penanggulangan penyakit masih terbatas pada pemakaian bahan-bahan kimia seperti formalin, *malachite green* serta beberapa jenis antibiotik seperti *chloramfenicol*, o*xytetracyclin* dan *prefuran* (Brown, 1998 *dalam* Suryati, Muliani dan Parenrengi 1998) yang dalam penggunaannya seringkali tidak terkontrol sehingga hasil yang diperoleh tidak efektif dan tindakan ini dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap antibiotik serta mencemari lingkungan perairan yang pada gilirannya akan menimbulkan masalah baru bagi usaha budidaya udang (Yahya Sukoso, Aulanni'am, Bagus dan Basmal, 2002). Tetapi selama ini penggunaan bahan alami masih terbatas pada saponin dan rotenon (Suryati *et al.*, 1998), sedangkan bahan alam yang berasal dari laut seperti rumput laut dari jenis *Sargassum* belum banyak dimanfaatkan.

Indonesia memiliki puluhan ribu pulau serta perairan yang begitu luas. Diantara sekian banyak pulau-pulau yang ada, hampir seluruhnya ditumbuhi rumput laut. Rumput laut tumbuh hampir di seluruh hidrosfir sampai batas kedalaman kurang dari 300 meter yang masih dapat ditembus cahaya matahari. Diantara jenis-jenis rumput laut yang ada di Indonesia, Heyne pada tahun 1922 mencatat 21 jenis rumput laut yang bermanfaat. Daftar jenis rumput laut tersebut terus ditambah dan diperluas dengan memasukkan jenis-jenis yang ekonomis dari kawasan Asia Tenggara (Risjani, 2004).

Rumput laut berdasarkan *fikokoloid* yang dikandungnya dapat dibedakan atas *agarofit* (penghasil agar-agar), *karaginofit* (penghasil karaginan) dan *alginofi*t (penghasil alginat). *Fikokoloid* yang dihasilkan dari rumput laut memiliki sifat yang unik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai stabilisator, pengental, pembentuk gel, pengemulsi dan lain-

lain pada berbagai produk olahan seperti makanan, minuman, farmasi dan pasta gigi (Wibowo, 2006 *dalam* Irianto dan Soesilo, 2007). Selain mengandung polisakarida, rumput laut juga mengandung mineral dan senyawa bioaktif. Ekstrak dari beberapa jenis rumput laut menunjukkan aktifitas farmakologi sebagai a*ntimetrazol, hypotensive, sedative, cholinergic, ionotropic, antiflammatory, anticonvulsant, hyperreflexia, oxidative metabolism inhibitor* dan bersifat toksik (Yunizal, 2004 *dalam* Irianto dan Soesilo, 2007).

Rumput laut coklat merupakan salah satu komoditi laut yang melimpah dan memiliki potensi tinggi karena kandungannya yang luar biasa, namun sayangnya masih sedikit upaya yang dilakukan untuk memanfaatkan potensi rumput laut coklat. Diantara rumput laut yang terdapat di Indonesia, rumput laut coklat adalah spesies yang paling banyak tumbuh, utamanya dari jenis Sargassum (Riyanto, 2007).

Sargassum merupakan alga yang masuk dalam kelas *Phaeophycea*e. Ada 150 jenis Sargassum yang dijumpai di daerah perairan tropis, subtropis dan daerah bermusim dingin (Nizamudin, 1970 *dalam* Kadi 2007). Habitat alga Sargassum tumbuh di perairan pada kedalaman 0,5-10 m ada arus dan ombak. Pertumbuhan alga ini sebagai makroalga bentik melekat pada substrat dasar perairan. Di daerah tubir tumbuh membentuk rumpun besar, panjang thalli utama mencapai 0,5-3 m dengan untaian cabang thalli terdapat kantong udara (*bladder*), selalu muncul di permukaan air (Kadi, 2007).

Dalam proses pengelolaannya, Sargassum diekstrak untuk menghasilkan ekstrak yang berupa senyawa natrium alginat. Rumput laut mengandung berbagai vitamin dalam konsentrasi tinggi seperti vitamin D, vitamin K, karotenoid (prekursor vitamin A), vitamin B kompleks dan tokoverol. Kandungan polisakarida yang tinggi dan sebanding

dengan Glukan (polimer glukosa) dan polisakarida tersulfasi menunjukkan kerja melembabkan dan kerja higroskopis (Anonymous, 2007a).

1.2 Rumusan Masalah

Masalah utama yang dihadapi dalam budidaya udang beberapa tahun belakangan ini adalah tingginya kematian larva selama pemeliharaan yang disebabkan oleh bakteri bercahaya (*Vibrio harveyi*). Kasus penyakit ini tampaknya khas untuk daerah tropis. Beberapa cara pengendalian sudah dilakukan tetapi belum memberikan hasil. Mengingat pentingnya penanggulangan bakteri bercahaya bagi kelangsungan usaha usaha budidaya udang, perlu dicari metode pengendalian yang praktis dan efektif untuk diterapkan.

Bakteri di dalam tubuh udang tidak berbahaya jika jumlah total bakteri di bawah 10^4 sel/ml, namun bakteri akan bersifat patogen dan mematikan apabila bakteri tersebut berada pada kisaran 10^4 sel/ml sampai dengan 10^7 sel/ml. Peningkatan jumlah total bakteri dapat disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya adalah faktor lingkungan yang buruk. Bakteri *Vibrio harveyi* dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik pada kondisi lingkungan yang buruk diantaranya peningkatan suhu, penurunan DO dan kandungan bahan organik yang tinggi (Eryanti, 1999).

Infeksi bakteri di hatchery umumnya ditanggulangi dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat, baik jenis maupun dosisnya dapat memicu timbulnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik tersebut dan dapat mencemari lingkungan (Rusdi, 2004). Sampai saat ini, penggunaan bahan alami masih terbatas pada saponin dan rotenon (Suryati *et al.*, 1998), sedangkan bahan alam yang berasal dari laut seperti rumput laut dari jenis Sargassum belum banyak dimanfaatkan.

Rumput laut, terutama rumput laut cokelat mengandung besi, yodium dan mineral-mineral lainnya. Selain itu rumput laut Sargassum untuk anti-bakteri, anti-tumor, anti-tekanan darah tinggi, mengatasi gangguan kelenjar, penyakit goiter (gondok) dan stylophora digunakan untuk mengatasi penyakit jantung. Hasil penelitian rumput laut coklat jenis Sargassum yang potensial untuk bahan makanan dan obat-obatan adalah *Sargassum polycystum* karena mengandung iodium, protein, vitamin C dan mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, S, P dan Mn, merupakan obat gondok dan kelenjar lainnya, anti-bakteri, anti-tumor, sumber alginat, fenol dan *auxin*, serta zat yang merangsang pertumbuhan dan zat yang dapat mengontrol polusi logam berat (Mariyono Wahyudi dan Sutomo, 2002). *Sargassum polycystum* mempunyai prospek yang cerah untuk dikembangkan dalam upaya pengendalian vibriosis karena tidak mempunyai dampak negatif sebagaimana antibiotik.

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah yang dapat diambil sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*?
- Berapa *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) ekstrak *Sargassum polycystum* yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *Vibrio harveyi*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini antara lain:

- Mengetahui pengaruh ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*
- Mengetahui *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*

1.4 Kegunaan Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi awal dalam upaya menanggulangi penyakit Vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* dengan menggunakan ekstrak *Sargassum Polycystum*.

1.5 Hipotesis

H0 : Diduga penggunaan ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*.

H1 : Diduga penggunaan ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*.

H0 : Diduga konsentrasi 5% ekstrak *Sargassum polycystum* merupakan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *Vibrio harveyi*

H1 : Diduga konsentrasi 5% ekstrak *Sargassum polycystum* bukan merupakan *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *Vibrio harveyi*

1.6 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bakteriologi Balai Karantina Ikan (BKI) Juanda Surabaya dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan (PPI) Fakultas Perikanan Brawijaya Malang pada bulan Maret-Mei 2008.

2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang Windu (*Penaeus monodon*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi udang windu (*Penaeus monodon*) menurut Soetomo (2002) adalah sebagai berikut:

Phylum	: Arthropoda
Sub phylum	: Mandibulata
Class	: Crustacea
Ordo	: Decapoda
Subordo	: Matantia
Family	: Penaedae
Genus	: Penaeus
Species	: *Penaeus monodon*

Gambar 1. Udang Windu (*Penaeus monodon*)

Udang windu (lihat Gambar 1) sering juga disebut dengan udang harimau raksasa (*giant tiger prawn*) karena ukurannya yang besar. Udang dewasa dapat mencapai ukuran panjang 34 cm dengan berat sekitar 270 gram. Tubuh udang terdiri

dari 2 bagian, yaitu bagian depan yang terdiri dari kepala dan dada yang menyatu (*cephalothorax*) serta bagian perut (abdomen) yang terdapat ekor di bagian belakangnya. Semua bagian badan beserta anggota-anggotanya terdiri dari ruas-ruas (segmen). Kepala-dada terdiri dari 13 ruas, yaitu 5 ruas kepala dan 8 ruas pada dadanya. Sedangkan bagian perut terdiri dari 6 ruas (Suyanto dan Mudjiman, 2003).

Udang windu biasanya berwarna gelap, biru kehitam-hitaman, dari *carapace* (kepala) dan perut ditemukan garis tebal melintang berwarna putih (Darmono, 1991). Pada bagian kepala–dada terdapat anggota-anggota tubuh yang berpasang-pasangan. Berturut-turut dari muka ke belakang adalah sungut kecil (*antenulla*), sirip kepala (*scophocerit)*, sungut besar (*antenna*), rahang (*mandibula*), alat-alat pembantu rahang (*maxilla*) yang terdiri atas dua pasang, *maxilliped* yang terdiri atas tiga pasang dan kaki jalan (*pereiopoda*) yang terdiri atas lima pasang. Tiga pasang kaki jalan yang pertama (kaki jalan ke-1, ke-2 dan ke-3), ujung-ujungnya bercapit, yang dinamakan *Chela*. Di bagian perut (abdomen) terdapat 5 pasang kaki renang (*pleopoda*) yaitu pada ruas ke-1 sampai ke-5. sedangkan pada ruas ke-6), kaki renang mengalami perubahan bentuk menjadi ekor kipas atau ekor (*uropoda*). Ujung ruas ke-6 ke arah belakang membentuk ujung ekor (*telson*). Di bawah pangkal ujung ekor terdapat lubang dubur (anus) (Suyanto dan Mudjiman, 2003).

Udang windu memiliki bentuk tubuh simetris bilateral. Kepala dada tertutup oleh kepala atau cangkang kepala (*carapace*) yang berbentuk memanjang ke arah depan dan runcing yang bagian pinggirnya bergigi-gigi yang disebut cucuk kepala (*rostrum*). Mulut udang windu terdapat di bagian bawah kepala di antara rahang-rahang (*mandibula*). Seluruh tubuhnya terdiri dari ruas-ruas (segmen) yang terbungkus oleh kerangka luar (*exoskeleton*) yang terbuat dari bahan semacam zat tanduk (*chitin*) yang diperkeras oleh

bahan kapur (kalsium karbonat), kecuali pada bagian sambungan ruas tubuh yang berdekatan (Soetomo, 2002).

2.1.2 Habitat dan Penyebaran

Udang windu bersifat *euryhaline*, yaitu bisa hidup di perairan yang berkadar garam dengan rentangan yang luas, yakni 5-45‰. Kadar garam ideal untuk pertumbuhan udang windu adalah 19-35‰. Udang windu stadium juvenil umumnya memiliki laju pertumbuhan yang baik di perairan berkadar garam tinggi. Sebaliknya, semakin dewasa udang windu pertumbuhan optimalnya pada perairan berkadar garam rendah. Udang windu menyukai perairan yang relatif jernih dan tidak tahan terhadap cemaran industri maupun cemaran rumah tangga atau pertanian (pestisida) (Amri, 2003). Kisaran suhu optimum untuk pertumbuhan udang windu adalah 21-32°C dengan kisaran temperatur optimal 28 ± 1°C. Udang Windu mengalami stres pada temperatur 20°C atau kurang dan 32°C atau lebih. Dia akan mengalami kematian pada temperatur 35°C (Anonymous, 2007b). Sementara kandungan oksigen terlarutnya 4-7 ppm (Amri, 2003).

Udang Windu biasa hidup di perairan pantai yang berlumpur atau berpasir. Berasal dari perairan laut antara Afrika Selatan dan Jepang dan antara Pakistan Barat sampai Australia Bagian Utara (Anonymous, 2007b). Menurut Dahuri (2003), perairan Indonesia yang memiliki potensi udang penaeid terbesar adalah Laut Arafura (43,10x10^{3} ton/tahun), kemudian baru diikuti oleh perairan Selat Malaka dan Laut Jawa (masing-masing sebesar 11,40x10^{3} ton/tahun); Samudera Hindia (10,70x10^{3} ton/ tahun); Laut Cina Selatan (10,00x10^{3} ton/tahun); Selat Makasar dan Laut Flores (4,80 10^{3} ton/tahun); Laut Sulawesi dan Samudera Pasifik (2,50x10^{3} ton/tahun); serta Laut Seram dan Teluk Tomini (0,90x10^{3} ton/tahun).

2.1.3 Sifat dan tingkah laku

a. Nokturnal

Udang windu merupakan organisme yang bersifat nokturnal yaitu sifat binatang yang aktif mencari makan pada waktu malam. Pada waktu siang udang lebih suka beristirahat, baik membenamkan diri di dalam lumpur maupun menempel pada sesuatu benda yang terbenam dalam air (Suyanto dan Mujiman, 2003). Menurut Darmono (1991), kebiasaan menguburkan diri dilakukan udang sejak muda sampai menjadi dewasa. Penguburan diri tersebut sangat dipengaruhi oleh cahaya. Biasanya udang keluar dari persembunyiannya setelah matahari terbenam dan kemudian menguburkan diri lagi pada waktu matahari terbit. Temperatur juga mempengaruhi kebiasaan ini, bila temperatur di bawah 14^0 C, maka 100% udang melakukan penguburan diri, pada temperatur 14^0C- 28^0C, sebesar 50% dan pada temperatur di atas 28^0C semua udang tidak mengubur diri walaupun cahaya bersinar terang.

b. Kanibal

Sifat yang umum pada udang adalah sifat kanibal yaitu suatu sifat yang suka memangsa jenisnya sendiri. Sifat ini sering timbul pada udang yang sehat, yang tidak sedang ganti kulit dan kekurangan makanan (Anonymous, 2007b). Sasarannya udang-udang yang sedang ganti kulit (Mudjiman, 1988).

Sifat kanibal ini dimiliki oleh udang, terutama pada saat ganti kulit (*moulting*), karena pada proses ganti kulit udang malas makan dan bergerak sehingga kondisi tubuh udang menjadi lemah, pada keadaan ini sering sekali terjadi pemangsaan terhadap udang yang sedang ganti kulit (Hadie dan Hadie, 1993).

c. Ganti Kulit (*Moulting*)

Moulting adalah suatu proses pergantian kutikula. Kutikula yang lama dilepas dan mulai terbentuk kutikula yang baru. Pada peristiwa *moulting* ini, proses biokimiawi juga terjadi, yaitu pengeluaran (ekskresi) dan penyerapan (absorpsi) kalsium dari tubuh hewan (Darmono,1991). Pergantian kulit merupakan awal pertumbuhan pada Udang Windu. Setelah kulit udang yang mengandung kitin tersebut terlepas maka udang dalam keadaan lemah dan kulit baru belum mengeras. Pada saat itulah udang tumbuh. Peristiwa tersebut dibantu dengan penyerapan air dalam jumlah besar. Proses pergantian kulit (*moulting*) ini merupakan indikator dari pertumbuhan Udang Windu. Apabila proses pergantian kulit cepat, maka pertumbuhan akan semakin cepat pula. Selama Udang Windu berganti kulit, biasanya tidak nafsu makan, udang tidak banyak bergerak dan mata terlihat pada tangkai mata udang aktif.

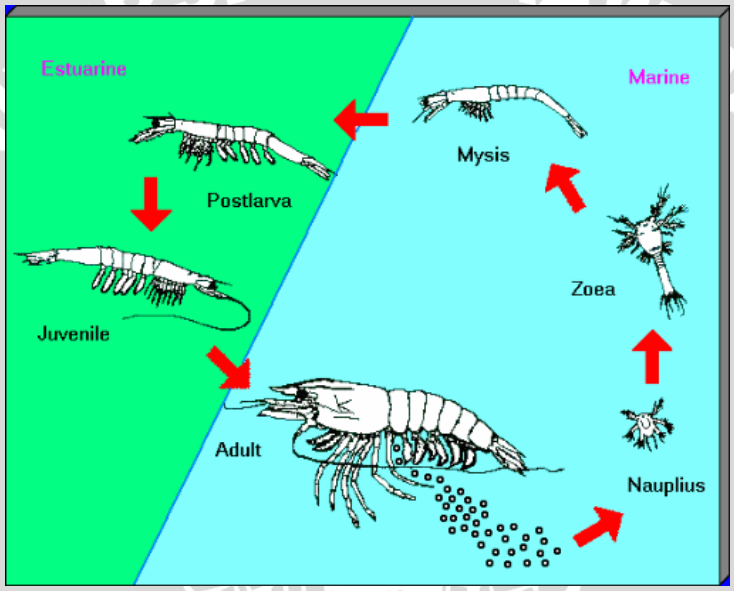
Menurut Buwono (1992), pada proses ganti kulit (*moulting*) terdapat empat tahap yaitu ;

- Tahap *prodecdysis*, yaitu penyerapan ion Ca dari cangkang ke dalam darah kemudian diikuti pembentukan cangkang baru di bawah cangkang lama.
- Tahap *ecdysis*, yaitu cangkang banyak menyerap air.
- Tahap *metecdyisis (post moulting)*, yaitu cangkang baru terbentuk mulai mengeras dan mengapur.
- Tahap *intermolt*, yaitu udang sudah dalam keadaan normal kembali dengan cangkang baru.

2.1.4 Daur Hidup

Menurut Darmono (1991), dalam periode hidupnya, udang *Penaeus* mengalami enam kali perubahan bentuk melalui beberapa lingkungan yang berbeda, yaitu *embryo*,

fase ini dimulai segera setelah terjadi pembuahan lalu periode larva, fase ini dimulai setelah telur menetas. Apabila semua organ tubuhnya telah terbentuk maka larva memasuki periode *juvenile*. Pada periode ini udang bermigrasi ke daerah mulut sungai atau daerah yang terlindung seperti bakau. Di daerah ini udang *juvenile* tumbuh menjadi udang muda (*young*), pertumbuhan udang muda sebelum dewasa (*immature*) dan pada akhirnya menjadi udang dewasa (*mature*) kemudian udang bermigrasi dari mulut sungai menuju laut lepas (Gambar 2).



Gambar 2. Daur hidup udang windu (Anonymous, 2006)

Sedangkan menurut Sutaman (1993), secara umum pergantian bentuk larva mulai dari menetas sampai menjadi post larva (PL) dari udang windu ada empat fase yaitu:

- Fase *Nauplius*, dimulai sejak telur mulai menetas dan berlangsung selama 46-50 jam atau 2–3 hari. Dalam fase ini larva masih belum memerlukan makanan dari luar karena masih disediakan dari dalam kandungan kuning telur itu sendiri. Selama menjadi nauplius, larva mengalami 6 kali ganti bentuk.

- Fase Protozoea (*Zoea*), pada fase in larva harus sudah diberi pakan, karena larva sudah mulai aktif mengambil makanan sendiri dari luar, terutama plankton. Pada fase ini juga larva sangat peka terhadap perubahan lingkungan. Fase zoea hanya berlangsung sekitar 3-4 hari dan larva mengalami 3 kali perubahan bentuk.
- Fase *Mysis*, berlangsung selama 2-3 hari. Pada fase ini larva mirip dengan udang muda dan bersifat planktonis. Fase mysis mengalami 3 kali perubahan bentuk.
- Fase *Post Larva* (PL), merupakan perubahan bentuk yang paling akhir dan sempurna dari seluruh metamorfosa larva udang. Pada fase ini, larva tidak mengalami perubahan bentuk, karena seluruh bagian anggota tubuh sudah lengkap dan sempurna seperti udang windu dewasa. Dengan bertambahnya umur, udang hanya mengalami perubahan panjang dan berat.

2.1.5 Makan dan Kebiasaan Makan

Udang windu bersifat nokturnal, artinya aktif mencari makan pada malam hari atau pada suasana gelap. Makanan udang ini bervariasi baik jenis maupun komposisinya, tergantung dari umurnya. Namun pada umumnya, udang windu bersifat karnivora (pemakan hewan). Makanannya berupa hewan-hewan kecil, seperti invertebrata (hewan tidak bertulang belakang), udang kecil, kerang (*bivalvae*) dan ikan kecil. Ketika mencari makan, udang windu akan berenang dan merayap di dasar perairan yang berpasir sambil menangkap mangsanya. Udang ini memerlukan makanan yang mudah dicerna karena anatomi dan susunan ususnya sangat sederhana (Amri, 2003).

2.1.6 Penyakit

Sifat-sifat organisme penyebab penyakit pada udang adalah patogen (menyebabkan infeksi), parasit (menempel pada tubuh atau organ tubuh dan menyerap zat makanan) dan epibion (menempel pada tubuh udang tanpa menyerap makanan).

Selain itu, ada juga penyakit yang disebabkan oleh faktor abiotik (bukan karena organisme), yaitu faktor suhu, salinitas dan kandungan senyawa beracun (Amri, 2003). Selanjutnya dikatakan oleh Amri (2003) bahwa salah satu penyebab penyakit pada udang adalah bakteri. Bakteri yang menyerang tubuh udang dapat menyebabkan beberapa penyakit sebagai berikut:

a. Penyakit Udang Menyala

   Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Vibrio sp*. Udang yang diserang biasanya berada pada pada stadium larva dan pasca larva (baru ditebar di tambak). Gejala udang yang terserang penyakit ini adalah tubuhnya tampak menyala pada malam hari, tubuh lemah, tidak aktif berenang, nafsu makan berkurang dan muncul bercak merah di sekujur tubuhnya.

b. Penyakit Udang Bengkok

   Ciri-ciri larva udang yang terserang adalah tubuhnya tampak bengkok, gerakan kurang aktif, tubuh dan antenanya berwarna merah, nafsu makan hilang dan molting tidak sempurna. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri jenis Vibrio.

c. Penyakit Cokelat Putih pada Cangkang

   Penyakit ini disebabkan oleh bakteri dari jenis penghancur kitin, kemudian diinfeksi oleh bakteri lain seperti *Vibrio* dan *Pseudomonas*. Gejala serangan pada udang dewasa adalah cangkangnya berwarna kecokelatan. Biasanya diawali dengan terbentuknya bulatan kecil berwarna cokelat kemudian bulatan tersebut semakin lebar. Di sekitar bercak terdapat warna putih yang mengelilinginya.

Chanratchacool *et al*., (1994) *dalam* Plumeriastuti dan Gunanti (2003) menyatakan bahwa salah satu oragan tubuh udang yang paling peka terhadap serangan penyakit adalah hepatopankreas. Selanjutnya dikatakan bahwa secara makroskopis

hepatopankreas sering mengalami pembengkakan, perubahan warna, penyusutan atau pengecilan dan konsentrasi rapuh. Sedangkan secara histopatologi, kelainan atau kerusakan yang sering terjadi karena serangan penyakit adalah kematian sel, adanya jaringan ikat, hongestri adanya bahan inklusi dan adanya akumulasi bakteri (Karunasagar, 1998 *dalam* Plumeriastuti dan Gunanti, 2003). Hal senada juga dikatakan oleh Prajitno (2007) bahwa bagian utama dalam tubuh larva udang yang terserang bakteri ini adalah hepatopankreas. Pada tingkat awal, hepatopankreas terlihat mengalami perubahan warna menjadi kecoklat-coklatan dan pada tingkat serangan yang sudah parah menjadi berwarna coklat kehitaman. Pada organ ini akan banyak terlihat bakteri *Vibrio* yang bergerak secara aktif. Kondisi hepatopankreas yang sudah mengalami penyusutan dan penghancuran, tidak bisa berfungsi secara normal. Hal ini akan mengakibatkan larva menjadi lemah dan akhirnya mati.

2.2 *Vibrio harveyi*

2.2.1 Kalsifikasi dan Morfologi

Menurut Bergey (1962) *dalam* Dwidjosepoetro (1989), klasifikasi dari *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut :

Phylum	: Protophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Pseudomonadates
Sub Ordo	: Pseudomonadineae
Famili	: Spirillaceae
Genus	: Vibrio
Species	: *Vibrio harveyi*

Vibrio dalam mikrofauna yang umumnya berada pada lingkungan laut estuaria. Secara bakteriologi berbentuk batang bulat dengan ukuran lebar 0,5-0,8μ dengan panjang 1,4-2,6 μ. Sebagian besar bakteri vibrio berenang aktif dan gerakannya disebabkan oleh gerakan rotasi flagel (Schagel dan Schmidt, 1994). Bakteri ini bersifat gram negatif, fakultatif anaerobik, fermentatif, bentuk sel batang dengan ukuran panjang antara 2-3μm, menghasilkan katalase dan oksidase, bergerak dengan satu flagella pada ujung sel (Austin, 1988 *dalam* Feliatra, 1999) dan tumbuh baik pada kadar NaCl 1-1,5 % (Kabata, 1985). *Vibrio* merupakan bakteri patogen oportunis, artinya dalam kondisi udang tidak sehat maka bakteri ini akan berubah menjadi patogen (Rukyani *et al.*, 1992)

Pada isolasi bakteri, koloni akan terbentuk setelah isolasi selama 24 jam. Bentuk koloni halus, cembung, melingkar umumnya dengan garis permukaan yang teratur dan berdiameter kira-kira 2,5 mm. Dalam TCBSA koloni berwarna hijau atau kuning tergantung kapasitas mengasamkan sukrosa. Dalam keadaan gelap dapat menimbulkan *fenomenon luminescence* (Anonymous, 2002). Menurut Papilaya dan Ngili (2004), *bioluminesen* adalah suatu proses suatu mikroorganisme hidup memancarkan cahaya. Cahaya yang dihasilkan oleh bakteri diatur oleh sistem enzim *luciferase*. Enzim ini berfungsi sebagai katalisator dalam oksidasi flavin mononukleotida dan aldehid alifatik rantai panjang menjadi flavin mononukleotida, asam lemak dan cahaya (Prajitno, 2005).

2.2.2 Habitat dan Penyebaran

Bakteri *Vibrio* merupakan penyakit vibriosis, salah satu penyakit yang menyebar luas pada budidaya ikan air laut (Kabata, 1985). Penyakit vibriosis ini mula-mula ditemukan oleh Canestrini pada tahun 1983 di Italia dan saat ini vibriosis merupakan

penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius di seluruh usaha budidaya ikan di laut dan air payau di dunia (Prajitno, 2005).

Vibrio ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang luas. Umumnya ditemukan di lingkungan estuarin dan laut serta terdapat pada permukaan intestinal hewan laut sedangkan beberapa spesies ditemukan di air tawar. Prajitno (2007) menyatakan bahwa pada suhu 4 ºC dan 45 ºC bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55 ºC akan mati. Bakteri *Vibrio* termasuk jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi, secara optimum pada salinitas 20-30 ppt. Bakteri dapat tumbuh baik pada kondisi alkali pH optimum 7,5-8,5.

Dari hasil survei tahun 1992-1997 sepanjang pantai utara Jawa, mulai dari pantai Tuban (Bulu, Bancar, Jenu, Palang), Gresik (Sedayu, Manyar), Sidoarjo, Bangil (Raci), Probolinggo, Karang tekok, Banyuwangi (Suri Tani Pemuka) setiap muncul kasus *Vibrio* kondisi salinitasnya rata-rata > 25 ppt (Prajitno, 1997 *dalam* Prajitno *et al.*, 1998). Menurut Rukyani *et al*., (1992), penyakit kunang-kunang hanya dikenal di daerah tropis seperti Philiphina, Thailand, Indonesia dan Equador. Penyakit ini telah menyebar di seluruh Indonesia dan kasus serangannya dilaporkan terutama terjadi di daerah Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulsel, Bali dan Lampung.

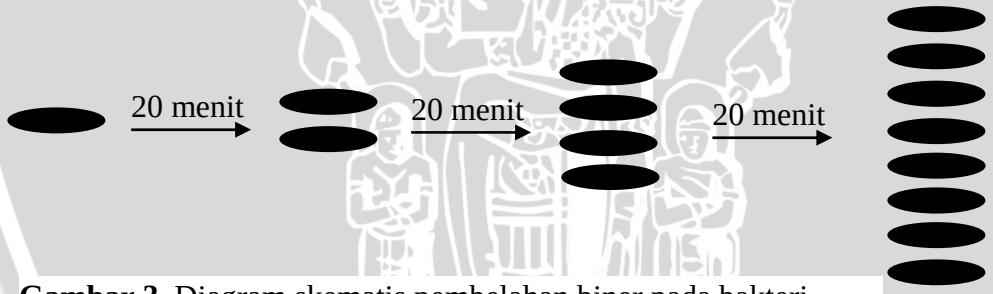
2.2.3 Pertumbuhan

Aktivitas dan pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh faktor abiotik yang meliputi faktor fisik seperti temperatur, cahaya, tekanan osmose dan radiasi, selain itu juga faktor kimia seperti pH, salinitas, bahan organik dan zat-zat kimia lain yang bersifat bakteriosidal maupun bakteriostatik (Prajitno, 1998). Menurut Dwidjosepoetro (1989), *Vibrio* termasuk kemoorganotropik, yaitu mikroba yang dapat menggunakan komponen

organik sebagai sumber karbon dan energi. Medium yang paling cocok bagi kehidupan bakteri adalah medium yang isotonis terhadap isi sel bakteri.

Pada umumnya bakteri Vibrio tumbuh secara optimal pada suhu berkisar dari 18 sampai 37^0C (Peleczar dan Chan, 1986). Sedangkan menurut Lightner (1992) *dalam* Prajitno (2007), pada suhu 4^0C dan 45^0C bakteri tersebut tidak tumbuh dan pada suhu 55^0 C akan mati dan kisaran salinitas yang baik untuk dapat berkembang yaitu antara 20-35 ppt. Serta pH optimumnya untuk dapat tumbuh berkisar antara 7,5-8.5.

Menurut Volk dan Wheeler (1993), pertumbuhan bakteri atau peningkatan jumlah bakteri terjadi dengan proses yang disebut pembelahan biner. Bakteri-bakteri tersebut membelah dengan cara memanjangkan sel diikuti dengan pembelahan sel yang membesar menjadi dua sel. Masing-masing sel ini kemudian membelah menjadi dua sel lagi dan seterusnya (Gambar 3).



Gambar 3. Diagram skematis pembelahan biner pada bakteri

Beberapa ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhan menurut Pelczar dan Chan (1986) sebagai berikut:

- Fase Lamban : Tidak ada pertambahan populasi
  Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukuran, substansi intraselular bertambah
- Fase Logaritma : Sel membelah dengan laju yang konstan
  Massa menjadi dua kali lipat dengan laju sama

Aktivitas metabolik konstan

Keadaan pertumbuhan seimbang

- Fase Statis : Penumpukan produk beracun dan kehabisan nutrien

  Beberapa sel mati dan yang lain tumbuh dan membelah

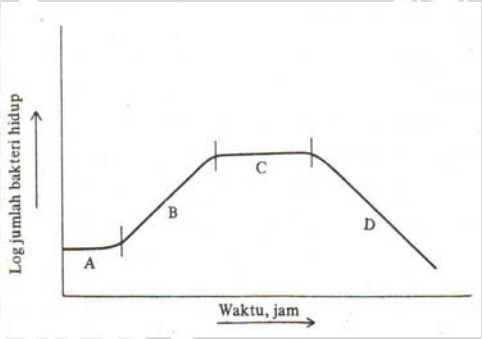
  Jumlah sel hidup menjadi tetap

- Fase Kematian : Sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel baru

  Laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial

  Bergantung kepada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan.

Menurut Pelczar dan Chan (1986), pertumbuhan bakteri mengacu pada perubahan dalam populasi total dan bukan perubahan dalam suatu individu organisme saja. Pada kondisi pertumbuhan seimbang ada suatu pertambahan semua komponen selular (RNA, DNA, protein) secara teratur. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.



Keterangan:

A : fase lamban
B : fase logaritmik (eksponensial)
C : fase statis
D : fase kematian atau penurunan

Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Bakteri (Pelezar dan Chan, 1986)

2.2.4 Tingkat Patogenitas dan Ciri-Ciri Serangan

Patogenitas adalah potensi suatu mikroorganisme (bakteri) yang dapat menimbulkan penyakit atau menginfeksi. Bakteri Vibrio bersifat patogen oportunistik pada budidaya air payau dan laut karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan

sekunder. Sebagai patogen primer, bakteri masuk ke dalam tubuh udang melalui kontak langsung. Sedangkan sebagai patogen sekunder, bakteri menginfeksi udang yang telah terserang penyakit lain misalnya parasit (Fiegel, 1992 *dalam* Prajitno, 2007).

Gejala yang ditimbulkan tergantung tingkat serangan, yaitu kronis dan akut. Beberapa gejala yang terlihat adalah punggung kehitam-hitaman, bercak merah pada pangkal sirip, bergerak lamban, keseimbangan terganggu dan nafsu makan berkurang. Gejala lain yang sering terjadi adalah mata menonjol (*exopthalmia*), perut kembung berisi cairan warna kuning muda, pendarahan (haemorarrhagi) pada insang, mulut, tubuh, usus dan organ dalam. Kamiso (1985) *dalam* Prajitno (2007), mengemukakan bahwa apabila sampel pada fase ini ikan/udang belum mati, maka gejala penyakit akan berkembang seperti kulit mengelupas, koreng atau nekrosis pada beberapa bagian tubuh dan dapat pula terbentuk borok (ulser).

Lebih lanjut dikatakan oleh Prajitno (2007) bahwa penyakit yang disebabkan oleh serangan penyakit terutama bakteri menyala (*Luminescent vibriosis*) atau penyakit kunang-kunang merupakan penyakit yang bersifat akut dan ganas karena dapat memusnahkan populasi udang dalam tempo 1-3 hari sejak gejala awal tampak dan udang yang terserang sangat sulit untuk diselamatkan. Udang diduga mati karena adanya toksin, kehilangan cairan pada saluran pencernaan bagian belakang dan tidak berfungsinya berbagai organ. Cepat tidaknya udang mengalami kematian sangat tergantung pada tingkat patogenitas bakteri patogen. Tetapi tidak semua patogen yang masuk ke dalam tubuh ikan atau udang akan menimbulkan penyakit, sebab banyak patogen yang memerlukan jalan masuk tertentu untuk dapat menimbulkan penyakit. Bakteri menyerang ikan atau udang dapat melalui mulut, saluran pencernaan, insang, kulit dan gurat sisi. Tetapi ada kemungkinan suatu jenis bakteri Vibrio mempunyai

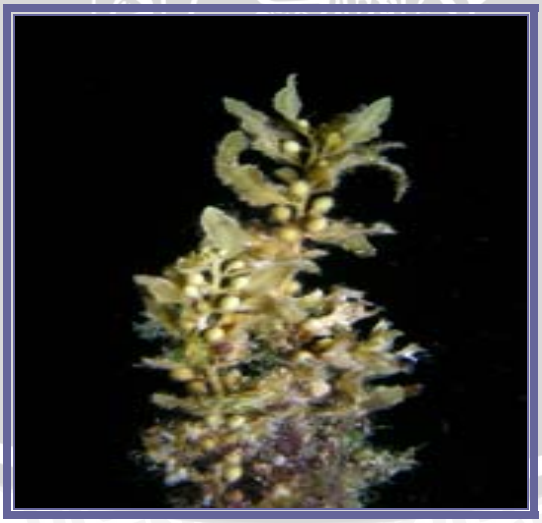
kelebihan untuk menerobos suatu bagian tubuh udang dibanding jenis bakteri lainnya. Hal ini diakibatkan oleh adanya produksi enzim-enzim yang sangat penting peranannya pada proses patogenitas (Prajitno, 2007).

2.3 Rumput Laut *Sargassum polysystum*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi Sargassum menurut Anggadiredja, Irawati dan Kusmiyati (2006) adalah sebagai berikut:

Devisio	:	Rhodophyta
Class	:	Phaeophyceae
Ordo	:	Fucales
Family	:	Sargassaceae
Genus	:	Sargassum
Spesies	:	*Sargassum polycystum*



Gambar 5. *Sargassum polycystum*

Atmadja (1996) *dalam* Atmadja *et al*. (1996), menjelaskan ciri-ciri *Sargassum polycystum* adalah thalli silindris berduri-duri kecil merapat, holdfast membentuk

cakram kecil dengan di atasnya terdapat stolon yang rimbun berekspansi ke segala arah. Batang pendek dengan percabangan utama tumbuh rimbun di bagian ujungnya. Tingginya dapat mencapai sekitar 2 meter. Daun kecil, lonjong, panjang 3 cm dan lebar 1 cm. *Vesicle* atau gelembung udara (gass bladder) bulat telur terletak pada batang percabangan (Gambar 5).

2.3.2 Habitat dan Penyebaran

Lingkungan tempat tumbuh alga Sargassum terutama di daerah perairan yang jernih dan mempunyai substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik dan benda-benda yang bersifat massive yang berada di dasar perairan. Alga Sargassum tumbuh dari daerah intertidal, subtidal sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus deras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5-10 m. Sargassum tumbuh subur pada daerah tropis dengan suhu perairan 27,5-29,30°C dan salinitas 32-33,5‰ (Kadi, 2007). Boney (1965) *dalam* Kadi (2007) menyatakan bahwa pertumbuhan Sargassum membutuhkan intensitas cahaya matahari berkisar 6500-7500 lux.

Menurut Kadi (2007), penyebaran Sargassum sebagai berikut:

- Paparan Terumbu (*reef flats*)

  Substrat paparan yang berbatu karang merupakan tempat untuk melekatkan thalli selama pertumbuhan berlangsung dan sebagai tempat melekatkan kecambah spora. Secara umum, pertumbuhan alga Sargassum yang dominan di daerah paparan terumbu adalah jenis *Sargassum polycystum*, *Sargassum ehinocarpum* dan *Sargassum crassifolium*.

- Daerah Pantai (*beach/tide pool area*)

  Di pantai bersubstrat pasir sedikit dijumpai pertumbuhan Sargassum, sedangkan di pantai bersubstrat terumbu karang merupakan habitat algae yang

ideal. Alga Sargassum yang banyak tumbuh di daerah ini berasal dari jenis *Sargassum polycystum*.

- Punggung Terumbu (*ridge*)

  Punggung terumbu terbentuk dari alga kalkareous dari marga Porolithon atau terbentuk dari bongkahan karang yang telah mati. Daerah sekitar punggung ini merupakan tempat tumbuh alga Sargassum. Jenis Sargassum yang mendominasi adalah *Sargassum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum*.

- Tubir (*reef slope*)

  Daerah tubir merupakan tempat tumbuh alga Sargassum dari jenis thalli yang berthalli panjang 1-3 m. Pertumbuhan berasosiasi dengan karang hidup dan bonggol thalli (*holdfast*) menempel pada bagian karang yang telah mati dan lapuk. Pada umumnya alga Sargassum yang tumbuh di daerah tubir mempunyai thalli utama sangat kuat, bentuk pipih dan daun licin halus berlendir. Jenis yang tumbuh di daerah ini meliputi *Sargassum binderi*, *Sargassum cinerum*, *Sargassum plagyophyllum* dan *Sargassum crassifolium*.

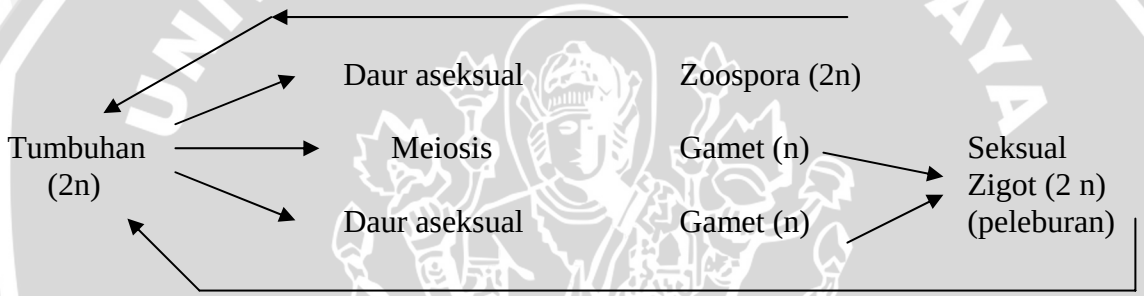
- Goba (*lagoon*)

  Daerah goba merupakan tempat pertumbuhan makroalga yang reproduksinya melalui spora. Alga Sargassum yang tumbuh dominan di perairan ini meliputi *Sargassum echinocarpum*, *Sargassum polycystum*, *Sargassum molleri* dan *Sargassum gracilimum*.

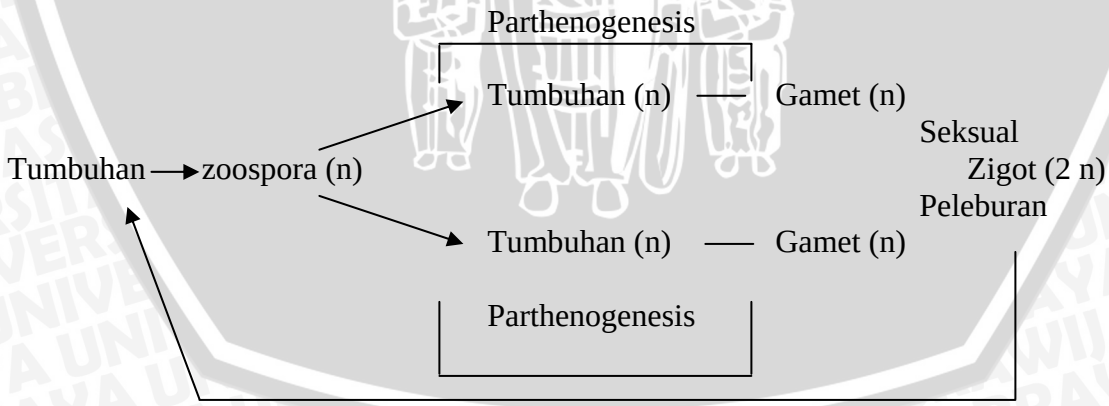
2.3.3 Sistem Reproduksi

Perkembangbiakan atau reproduksi Sargassum melalui dua cara, yaitu *asexual* (vegetatif) dan *sexual* (generatif). Reproduksi vegetatif dilakukan dengan fragmentasi yaitu potongan thallus berkembang melakukan pertumbuhannya. Reproduksi generatif

yaitu perkembangan individu melalui organ jantan (*antheridia*) dan organ betina (*oogenia*). Organ-organ tersebut terjadi dan berada dalam satu lobang yang disebut koseptakel. Antheridia maupun oogonia berada di atas sel tangkai yang tertanam pada dasar koseptakel. Antheridia maupun oogonia berada di atas sel tangkai yang tertanam pada dasar konseptakel. Dinding antheridia terdiri dua lapis di sebelah luar (*exochite*) dan sebelah dalam (*endochite*). Dinding oogonium terdiri tiga lapis di sebelah luar (*exochite*), bagian tengah (*mesochite*) dan bagian dalam (*endochite*). Secara umum reproduksi seksual makroalga coklat ada beberapa daur hidup antara lain:



a. Tipe daur hidup reproduksi seksual Haplobiontik diploid (BOLD and WYNNE (1997) dalam Kadi (2007)



b. Tipe daur hidup reproduksi seksual Diplobiontik (BOLD and WYNNE 1997) dalam Kadi (2007)

Gambar 6. Daur hidup alga coklat

1) Haplobiontik diploid yakni individu melakukan daur hidup secara diploid. Meiosis terjadi pada gamet (gametik meiosis) berkembang menjadi individu dewasa (Gambar 6a).
2) Diplobiontik yaitu dalam proses pembiakan terdapat dua individu dalam daur hidup *gametophyte* (gametofit) haploid yang menghasilkan gamet dan *sporophyte* (sporofit) diploid yang menghasilkan spora. Pertemuan antara dua gamet jantan dan betina akan membentuk zigot yang kemudian berkembang menjadi sporofit. Individu baru inilah yang mengeluarkan spora dan berkembang melalui meiosis dan sporagenesis menjadi gametofit (Gambar 6b).

2.3.4 Senyawa Aktif Antimikroba

Kandungan bahan kimia utama alga Sargassum adalah sumber alginat, protein, vitamin C, iodine, fenol sebagai obat gondok, anti bakteri dan tumor (Trono dan Ganzon, 1988 *dalam* Kadi, 2007). Makroalga ini juga mengandung bahan bioaktif seperti terpenoid, sulfat, polisakarida, antioksidan (Raghavendran, Arumugam dan Thiruvengadam, 2004), fukoidan, alginat, polifenol (Setiawan, 2006), laminarin, selulosa dan manitol (Anonymous, 2007c).

Alga jenis *Sargassum polycystum* mengandung alginat, iodium, protein, fenol, vitamin C dan mineral seperti Ca, K, Mg, Na, Fe, Cu, Zn, S, P dan Mn yang dapat digunakan sebagai obat gondok dan kelenjar lainnya, anti bakteri dan anti tumor (Anonymous, 2007c). Pada alga *Sargassum polycystum* bahan bioaktif yang diduga sebagai anti bakteri adalah senyawa fenol.

Fenol adalah senyawa yang terdiri dari gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada karbon sp^2-hibrida dari cincin aromatik. Struktur fenol menurut Fessenden (1997) sebagai berikut:

Fenol bekerja terutama dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel (Pelezar, 2006). Persenyawaan fenolat dapat bersifat bakteriosidal atau bakteriostatik bergantung pada konsentrasi yang digunakan. Spora bakteri dan virus lebih resisten terhadap persenyawaan tersebut dibandingkan dengan sel vegetatif bakteri. pH alkalin dan bahan organik dapat mengurangi aktivitas antimikrobial fenolat (Pelezar, 2006).

2.3.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Antimikroba mempunyai susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda antara satu obat dengan yang lainnya. Aktivitas antimikroba dilakukan dengan cara mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, yaitu dinding sel, protein, asam nukleat dan metabolit intermedier (Anonymous, 2003).

- Menghambat Sintesis Dinding Sel

  Rusaknya dinding sel bakteri, misalnya karena pemberian enzim lisozim atau hambatan pembentukannya oleh karena obat dapat menyebabkan sel bakteri lisis. Obat antimikroba yang menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang membelah.

- Merusak Membran Sel

  Membran sel menjaga komposisi internal dari sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transpor aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar sel akibat kematian sel.

- Menghambat Sintesis Protein

  Dasar toksisitas selektif antimikroba yang menghambat sintesis protein adalah struktur ribosom sel prokariot (ribosom 70 S). Ribosom 70S bakteri tersusun dari unit 50S dan 30S. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 50S dengan cara menghambat perpanjangan rantai polipeptida serta mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Antimikroba yang bekerja pada unit ribosom 30S dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon berubah serta mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA ribosom.

- Menghambat Sintesis Asam Nukleat

  Antimikroba ini dapat bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel.

- Antagonis Metabolit

  Mekanisme kerja senyawa antimetabolit adalah dengan cara menghambat secara kompetitif (*competitive inhibition*) terhadap sintesis metabolit esensial. Pada umumnya , senyawa antimetabolit bersifat bakteriostatik.

2.4 Isolasi dan Identifikasi

2.4.1 Isolasi

Teknik isolasi dapat dilakukan beberapa cara yaitu secara goresan (*streaking*) atau secara sebar ulas (*spread plating*) pada media padat dalam cawan petri. Sebar luas dilakukan dengan meratakan suspensi ke permukaan media pada cawan petri menggunakan manik-manik gelas (*glass beads*) atau batang *drugalsky*. Sedangkan secara goresan dilakukan hanya menyentuhkan ujung jarum ose, jarum inokulasi atau

cotton bud steril pada bagian-bagian tertentu hewan yang diteliti (misalnya lembar insang, bagian luka atau *mucus*) selanjutnya digoreskan pada media (Irianto, 2005).

Koloni bakteri yang tumbuh pada agar yang diisolasi, biasanya mengandung bakteri lingkungan. Bakteri ini harus dipisahkan dari bakteri patogenik. Patogen pada luka tumbuh dominan, sehingga koloni yang dominan pada agar adalah patogen. Ambil satu dari koloni yang dominan dan sebarkan pada agar yang baru dengan menggunakan jarum ose dan koloni yang seragam akan tumbuh setelah inkubasi selama 1-2 hari (Yuasa, Novita, Meliya dan Edy, 2003).

2.4.2 Identifikasi

Menurut Feliatra, Irwan, dan Edwar (2004), identifikasi bakteri dilakukan terhadap isolat-isolat yang diperoleh dengan melakukan serangkaian uji morfologi dan biokimia yaitu pewarnaan gram, uji motilitas, pengamatan bentuk sel, tipe penggandengan sel, sifat aerobik dan anaerobik, kemampuan tumbuh pada suhu 5^0C, 20^0C dan 30^0C. Pengamatan dilakukan juga pada warna koloni, ukuran koloni, bentuk koloni yang dilihat dari dalam, samping dan atas, kemampuan memproduksi katalase dan oksidase, uji halofilik dan uji oksidase sitokrom untuk menentukan genus bakteri.

Setiap bakteri memperlihatkan karakteristik koloni yang berbeda-beda. Kadangkala dapat diduga genus atau spesies bakteri dari karakteristik koloni pada agar seperti warna, transparansi, bentuk tepi koloni (teratur atau tidak teratur), adanya kerumunan/kelompok dan produksi pigmen. Berikut pada Tabel 1 tertera morfologi koloni bakteri masing-masing genus (Yuasa *et al.*, 2003).

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri masing-masing genus (Yuasa *et al.*, 2003)

Genus	Morfologi atau Karakteristik
Streptococcus	Warna putih
Staphylococcus	Warna kuning
Mycobacterium	Pertumbuhan lambat (1-2 minggu untuk membentuk koloni)
Aeromonas	Warna coklat muda (creamy) Memiliki pigmen kecoklatan (hanya *A. Salmonicida*)
Edwardsiella	Transparan sampai berwarna coklat muda
Pseudomonas	Warna coklat muda (creamy) Memiliki pigmen fluoresen (hanya *P. fluorescen*)
Vibrio	Warna coklat muda (creamy)
Flavobacterium	Warna kuning, datar, melekat/menempel pada agar

Morfologi bakteri diamati dengan pewarnaan gram agar dapat dibedakan gram positif dan gram negatif. Gram positif berwarna biru dan gram negatif berwarna merah. Bakteri terbagi dalam bentuk bulat dan batang (Tabel 2). Bakteri berbentuk batang terbagi menjadi batang pendek, batang bentuk koma, batang dan batang panjang. Bentuk bulat terdiri dari bulat membentuk rantai dan bulat kelompok (Yuasa *et al.*, 2003).

Tabel 2. Karakterisasi morfologi bakteri pada (Yuasa *et al.*, 2003)

Gram	Bentuk	Ukuran	Jenis Bakteri
Gram positif (warna biru)	Rantai Koloni Batang	Diameter 0,5-1,5µm Diameter 0,5-1,0µm 2,5 x 0,5-0,8µm	*Streptococcus* *Staphylococcus* *Mycobacterium*
Gram negatif (warna merah)	Batang pendek Batang bentuk koma Batang Batang panjang	0,8-2 x 0,5-0,8 µm 1,0-2 x 0,5-0,8 µm 2-5 x 0,5-0,8 µm 0,8-2 x 0,4-0,8 µm 3-30 x 0,3-0,5 µm	*Aeromonas* *Vibrio* *Edwardsiella* *Pseudomonas* *Flavobacterium*

2.5 Uji Efektivitas Antimikroba Invitro

Uji kepekaan bakteri terhadap obat-obatan secara invitro bertujuan untuk mengetahui obat antimikroba yang masih dapat digunakan untuk mengatasi infeksi oleh mikroba tersebut. Sensitivitas setiap bakteri patogen terhadap suatu antimikroba harus diuji dengan berbagai konsentrasi untuk menentukan tingkat konsentrasi yang menyebabkan pertumbuhan bakteri tersebut terhambat atau mati. Dengan pengujian tersebut, dapat diketahui apakah bakteri tersebut masih sensitif atau telah resisten terhadap suatu obat. Uji kepekaan terhadap antimikroba pada dasarnya dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu:

2.5.1 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) obat antimikroba (Anonymous, 2003). Prinsip metode dilusi menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji, kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, selanjutnya diamati kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasi pada media agar padat, diinkubasi dan keesokan harinya diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM obat terhadap bakteri uji.

2.5.2 Metode Difusi Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antimikrobial dengan mengukur daerah hambat yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung bahan antimikrobial sesuai dengan dosis perlakuan (Pelczar dan Chan, 1986). Cakram kertas saring berisi

sejumlah obat tertentu yang ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram digunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Jawetz dan Aldelberg's, 2001). Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bahwa hambatan akan terlihat sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan kuman di sekitar kertas cakram. Lebar daerah tergantung pada daya resap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut. Lebih lanjut dikatakan oleh Jawetz dan Aldelberg's (2001), bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba invitro, yaitu pH lingkungan, komponen media, stabilitas obat, ukuran inokulum, waktu inkubasi dan aktivitas metabolik mikroorganisme.

3 MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat Penelitian

- Autoklaf
- Lemari pendingin
- Laminary air flow
- Inkubator
- Timbangan analitik
- Hotplate
- Vortex
- Blender
- Sentrifuge
- Cawan petri
- Beaker glass
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas ukur
- Pipet volume
- Mikropipet dan blue tip
- Stirrer/ pengaduk magnetik
- Bola hisap
- Bunsen
- Jarum ose
- Triangle
- Spatula
- Pinset
- Sprayer
- Mikroskop
- Obyek glass
- Sectio set
- Jangka Sorong
- Rak tabung reaksi
- Corong kecil
- Pisau
- Gunting

3.1.2 Bahan Penelitian

- Udang windu (*Penaeus monodon*)
- Ekstrak *Sargassum polycystum*
- Biakan murni *Vibrio harveyi*
- NB *(Nutrient Broth)* merek OXOID dosis penggunaan 13 g/l
- TCBSA *(Thiosulfate Cytrat Bilesalt Sucrose Agar)* merek OXOID, dosis penggunaan 88 g/l
- TSA 2% (*Triptic Soy Agar*)
- Media Oksidatif/ Fermentatif (agar OF merek DIFCO, dosis penggunaan 11 g/l dan glukosa 10%)
- Media TSIA *(Tryple Sugar Iron Agar)* merek DIFCO, dosis penggunaan 65 g/l
- Media MIO *(Motility Indol Ornithin)* merek DIFCO, dosis penggunaan 31 g/l
- Media Gelatin merek DIFCO, dosis penggunaan 128 g/l
- Media uji gula (pepton 15 gr/l, fenol 0,018 dan gula 1%, masing-masing terdiri dari Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Manitol, Inositol, dan Arabinosa)
- Media LIA *(Lysine Iron Agar)* merek DIFCO, dosis penggunaan 32 g/l
- Media MR (*Methyl Red)* VP (*Vogest Proskaur*) merk MERCK, dosis penggunaan 17 g/l
- Media *Simmons citrate* merek BD, dosis penggunaan 24,2 g/l
- Media Urea merek OXOID, dosis penggunaan 500 gr/20,8 l
- Gram A, Gram B Gram C dan Gram D
- Kertas Oksidase merek MERCK
- Larutan H_2O_2 3% sebagai medium uji katalase
- KOH 3%

- Reagen MR
- Reagen VP
- Kovacs Indol
- Parafin cair
- Aquadest
- Alkohol 70%
- Spirtus
- Kertas perkamen
- Tali/ karet
- Kertas saring
- Kertas alumunium foil
- Kertas label
- Kapas
- Tissue

3.2 Metode dan Rancangan Penelitian

3.2.1 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mengukur daerah hambatan di sekitar kertas cakram yang memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Nazir (1988), metode eksperimen yaitu mengadakan percobaan untuk melihat hasil. Hasil yang didapat akan menegaskan bagaimana hubungan kausal antara variabel - variabel yang diselidiki dan berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimental dan menyediakan kontrol untuk perbandingan.

3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana setiap perlakuan dilakukan sebagai satuan tersendiri, tidak ada hubungan pengelompokan. Rumus dari model RAL adalah sebagai berikut :

$$\mathbf{Y = \mu + T + \varepsilon}$$

Dimana:

Y : Nilai pengamatan

μ : Nilai rata-rata harapan

T : Pengaruh perlakuan

ε : Galat

Penelitian terdiri dari 6 perlakuan dan 1 kontrol, yang masing-masing dilakukan ulangan 3 kali. Sebagai perlakuan adalah pemberian eksrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun perlakuan tersebut adalah sebagai berikut:

- A = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 5 %
- B = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 10 %
- C = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 15 %
- D = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 20 %
- E = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 25 %
- F = Pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 30 %
- K = Kontrol (tanpa perlakuan)

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali, sehingga jumlah unit percobaan yang diamati adalah sebanyak 21 buah (unit). Penempatan perlakuan dilakukan secara acak dengan denah penelitian seperti pada Gambar 7 di bawah ini.

A1	D2	B3	E2	C1	F1	K1
F3	B1	C2	D1	E3	A2	K2
C3	F2	E1	A3	B2	D3	K3

Gambar 7. Denah penelitian

Keterangan:

A,B,C,D,E,F : Perlakuan

1,2,3 : Ulangan

K : Kontrol

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat

- Alat-alat yang akan digunakan dicuci dengan detergen, dikeringkan kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas perkamen dan diikat menggunakan benang
- Alat-alat yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam *autoclave*
- Power dinyalakan kemudian diset waktunya selama 15 menit (tekanan 1 atm dan suhu 121^0 C)
- Tombol start ditekan dan diatur waktunya selama 30 menit
- Ditunggu hingga suhunya turun 0^0C
- Alat yang sudah steril diambil dan dioven pada suhu 150^0C

3.3.2 Ekstraksi *Sargassum polycystum*

- *Sargassum polycystum* segar dibersihkan dan dicuci air tawar kemudian dipotong kecil-kecil
- Dikeringanginkan

- Ditimbang sebanyak 100 gram
- Ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:1 (setiap 1 gram sampel diberi aquades 1 ml)
- Diblender
- Ekstrak diambil dan disaring menggunakan kain penyaring kemudian dilanjutkan penyaringan menggunakan kertas saring
- Disentrifugasi dengan putaran 3000 rpm selama 20 menit
- Diambil supernatan

3.3.3 Pembuatan Media

a). Media NB

- Ditimbang NB sebanyak 1,5 g kemudian dimasukkan ke dalam 100 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer hingga bening
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C tekanan 1 atm selama 15 menit
- Didinginkan hingga suhunya 50^0C kemudian dituang dalam tabung reaksi

b). Media TCBSA

- Ditimbang media TCBSA sebanyak 44 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer hingga homogen
- Diangkat dan ditutup aluminium foil
- Didinginkan hingga suhunya 50^0C kemudian dituang dalam petri disk

c). Media TSA 2%

- Ditimbang TSA sebanyak 10 g dan NaCl sebanyak 3,75 g kemudian dimasukkan ke dalam 100 ml aquades

- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer hingga bening
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C tekanan 1 atm selama 15 menit
- Didinginkan hingga suhunya 50^0C kemudian dituang dalam petri disk

d). Media TSIA

- Ditimbang media TSIA sebanyak 32,5 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga bening
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna merah)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan kemiringan 35^0

e). Media LIA

- Ditimbang media LIA sebanyak 16 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna ungu)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan kemiringan 35^0

f). Media MIO (*Motilityl Indol Ornithin)*

- Ditimbang media MIO sebanyak 15,5 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih

- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna ungu)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan posisi tegak

g). Media Gelatin

- Ditimbang media gelatin sebanyak 64 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf (media yang sudah jadi berwarna kuning)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan posisi tegak

h). Media O/F (Oksidatif Fermentatif)

- Ditimbang media O/F sebanyak 5,5 g dan glukosa 5 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna hijau)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan posisi tegak.

i). Media Uji Gula

- Ditimbang media pepton sebanyak 7,5 g kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades dan diaduk sampai rata
- Dimasukkan 0,009 g phenol red

- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil (media yang sudah jadi berwarna merah)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C
- Ditambah serbuk gula (glukosa, sukrosa, laktosa, inositol, manitol dan arabinosa) 1 g ke dalam 1 ml media pepton
- Divortex hingga tercampur rata
- Dipanaskan dengan water bath dengan suhu 55-60^0C
- Dituang dalam tabung reaksi kecil dengan posisi tegak.

j). Media Urea

- Ditimbang urea pupuk sebanyak 4 g ke dalam 10 ml aquades (I)
- Ditimbang media urea base 4,8 g ke dalam 185,2 ml aquades kemudian dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih. Setelah mendidih diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (II)
- Dikeluarkan (II) dari autoklaf dan didinginkan hingga suhunya 55-60^0 C
- Dicampurkan (I) ke dalam (II) kemudian dipanaskan dengan water bath 250 ml pada suhu 55-60^0C selama 30 menit

k). Media Simmons Citrate

- Ditimbang media simmon citrate sebanyak 12,1 kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna hijau)

- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan kemiringan 35^0

l). Media MR VP

- Ditimbang media MR VP sebanyak 8,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam 500 ml aquades
- Dipanaskan menggunakan hotplate stirrer pada suhu 200^0C hingga mendidih
- Diangkat dan ditutup aluminium foil kemudian diautoklaf pada suhu 121^0C selama 15 menit (media yang sudah jadi berwarna kuning)
- Didinginkan hingga suhunya 50^0 C kemudian dituang dalam tabung reaksi dengan posisi tegak.

3.3.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

a. Isolasi Bakteri

Metode isolasi sebagai berikut:

- Mematikan udang windu (*Penaeus monodon*) dengan menusuk bagian *medulla oblongata*
- Digunting menggunakan section set pada bagian bawah karapaks *chephalothorax* secara vertikal hingga kebagian karapaks dada.
- Digunting kedua bagian pinggir *chephalothorax* samping kaki jalan untuk memudahkan pembukaan karapaks *chephalothorax*
- Karapaks dibuka dicari bagian hepathopankreas sebagai organ internal yang diduga terserang bakteri
- Diambil dengan jarum ose secara aseptis dan diisolasi pada media TCBSA

b. Pemurnian Bakteri

Cara pemurnian bakteri sebagai berikut:

- Disiapkan media TCBSA dalam cawan petri
- Dipijarkan jarum ose diatas bunsen
- Diambil koloni bakteri hasil isolasi kemudian digoreskan secara aseptis
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam.

3.3.5 Identifikasian Bakteri

a. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

Pengamatan morfologi meliputi warna, bentuk, tepian, elevasi dan struktur dalam.

- Bentuk koloni bakteri yaitu: bundar, bundar dengan tepian kerang, bundar dengan tepian timbul, keriput, konsentris, tak beraturan dan menyebar, berbenag-benang, bentuk L, bundar dengan tepian menyebar, filiform, rizoid, dan komples
- Tepian koloni bakteri yaitu: licin, berombak, berlekuk, tak beraturan, siliat, bercabang, seperti wol, seperti benang dan seperti ikal rambut
- Elevasi koloni bakteri yaitu: datar, timbul, cembung, seperti tetesan, seperti tombol, berbukit-bukit, tumbuh ke dalam medium dan seperti kawah
- Struktur dalam bakteri yaitu: transparan, *transclusent* (meneruskan sinar walaupun di bawahnya tidak terlihat dengan jelas), *opaque* (tidak dapat ditembus cahaya), *smooth* (licin/rata), *finely granular* (butiran yang halus), *coarsely granular* (butiran yang kasar), *wavy enterlaced* (tali yang berombak), *filamentaus* (menyerupai filament-filamen), *arborescent* (menyerupai pohon yang bercabang-cabang).

b. Uji Gram

Uji gram bakteri dengan cara pewarnaan gram sebagai berikut:

- Disiapkan obyek glass, bakteri hasil pemurnian dan media pewarnaan yang terdiri dari Gram A, Gram B , Gram C dan Gram D
- Dibuat fiksasi bakteri dengan cara :
  - Dipijarkan jarum ose diatas bunsen, diambil inokulum bakteri secara aseptis
  - Diletakkan pada obyek glass setelah obyek glass diberi 1-2 tetes aquadest steril
  - Diratakan dengan jarum ose
  - Difiksasi diatas bunsen agar cepat kering
- Ditetesi dengan Gram A ± 2-3 tetes
- Dibiarkan selama 1 menit
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan
- Ditetesi dengan Gram B sebanyak ± 2-3 tetes
- Dibiarkan selama 1 menit
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan
- Ditetesi dengan Gram C sebanyak ± 1-2 tetes
- Dibiarkan selama 30 detik
- Dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan
- Ditetesi Gram D sebanyak ± 2-3 tetes
- Dibiarkan selama 2 menit
- Dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan
- Diamati hasil preparat di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000X

Uji gram bakteri menggunakan KOH sebagai berikut:

- Disiapkan obyek glass, KOH 3% dan biakan murni bakteri
- Diambil inokulum bakteri secukupnya dan diletakkan pada obyek glass
- Diteteskan 2-3 tetes KOH 3%
- Difiksasi
- Dilihat hasilnya berdasarkan berlendir atau tidak pada hasil fikasasi

b). Pengujian biokimia

1). Uji oksidase

- Disiapkan media bakteri yang sudah dimurnikan dan kertas oksidase
- Dipijarkan jarum ose di atas bunsen
- Diambil biakan murni bakteri secara aseptis
- Digoreskan pada kertas oksidase lalu dibiarkan beberapa saat
- Diamati perubahan warna yang terjadi.

2). Uji katalase

- Disiapkan obyek glass, H_2O_2 3% dan biakan murni bakteri
- Diambil inokulum bakteri secukupnya dan diletakkan pada obyek glass
- Diteteskan 2-3 tetes H_2O_2 3%
- Diamati perubahan yang terjadi dengan melihat ada atau tidaknya gelembung gas.

3). Uji TCBSA (*Thiosulfat Citrate Bilesalt Sucrose Agar*)

- Disiapkan media TCBSA
- Diinokulasi bakteri menggunakan jarum ose dengan metode zig-zag
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam
- Diamati pertumbuhan bakteri

4). Uji TSIA *(Triptic Soy Iron Agar)*

- Disiapkan tabung reaksi, media TSIA dan biakan murni bakteri
- Diambil biakan murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis
- Diinokulasikan dengan cara goresan miring (*slant*) dan tusukan (*butt*) pada agar vertikal
- Diinkubasi pada suhu 27ºC selama 24 jam
- Diamati perubahan warna yang terjadi

5). Uji LIA *(Lysine Iron Agar)*

- Disiapkan tabung reaksi yang berisi media LIA dan biakan murni bakteri
- Diambil biakan murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis
- Diinokulasikan dengan cara tusukan pada agar secara vertikal (*butt*) dan goresan miring (*slant*)
- Diinkubasi pada suhu 27ºC selama 24 jam
- Diamati perubahan yang terjadi

6). Uji MIO *(Motility Indol Ornithine)*

- Disiapkan tabung reaksi yang berisi media MIO dan biakan murni bakteri
- Diambil biakan murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis
- Diinokulasikan secara tusukan tegak (*butt*)
- Diinkubasi pada suhu 27ºC selama 24 jam
- Diamati perubahan yang terjadi berdasarkan pada perubahan warna di sekitar tusukan dan perubahan setelah diberi 2 tetes kovacks

7). Uji Gelatin

- Diambil tabung reaksi yang berisi media gelatin dan biakan murni bakteri
- Diambil biakan murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis

- Diinokulasikan pada media gelatin
- Diinkubasi pada suhu 27ºC selama 24 jam
- Diamati perubahan yang terjadi berdasarkan cair atau bekunya media setelah dimasukkan dalam lemari pendingin sampai suhunya 18°C selama ± 15 menit

8). Uji O/F (Oksidatif- Fermentatif)

- Disiapkan 2 tabung reaksi yang berisi media O/F dan biakan murni bakteri
- Ditutup salah satu tabung dengan parafin cair sebanyak 2-3 tetes
- Dipijarkan jarum ose di atas bunsen
- Diambil biakan murni bakteri secara aseptis
- Ditusukkan pada media O/F
- Diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang
- Diamati perubahan warna yang terjadi

9). Uji Gula (Glukosa, Laktosa, Sukrosa, Manitol, Inositol, Arabinosa)

- Disiapkan media gula (glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol, arabinosa) dan biakan murni bakteri
- Diambil biakan murni bakteri menggunakan jarum ose secara aseptis
- Diinokulassikan pada masing-masing tabung media gula
- Diinkubasi pada suhu 27ºC selama 24 jam
- Diamati perubahan warna yang terjadi pada masing-masing uji gula

10). Uji *Urea*

- Disiapkan media urea dan biakan murni bakteri
- Diinokulasikan dengan cara goresan miring (*slant*)
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam
- Diamati perubahan warna yang terjadi di sekitar goresan

11). Uji *Simmons citrate*

- Disiapkan media dan biakan murni bakteri
- Diinokulasi dengan goresan miring (*slant*)
- Diinkubasipada suhu ruang selama 18-24 jam
- Diamati perubahan warna yang terjadi di sekitar goresan

12). Uji MR (*Methyl Red* : metil merah)

- Diinokulasi beberapa koloni bakteri pada agar
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 18-24 jam
- Ditambahkan 2-3 tetes pereaksi metil merah
- Diamati perubahan yang terjadi berdasarkan perubahan warna media

13) Uji VP

- Disiapkan media
- Diinokulasi beberapa koloni bakteri pada agar
- Diinkubasi pada suhu 25-28^{0}C selama 18-24 jam
- Ditambahkan 1 ml larutan pereaksi VP
- Ditambahkan 0,2 ml larutan pereaksi KOH
- Diamati perubahan yang terjadi

3.3.6 Uji Sensitivitas Ekstrak *Sargassum polycystum*

a. Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

MIC yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding. Dalam hal ini yang digunakan sebagai kontrol adalah media cair (*Triptic Soy Broth*) yang tidak mengandung bakteri. Cara melakukan Uji MIC sebagai berikut:

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* ditanam dalam 5ml media cair (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart Mc Farland (21 x 10^8 sel/ml)
- Membuat larutan stok NB yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dari NB kemudian dimasukkan dalam 100 ml NB yang sudah disterilkan (kepadatan 1,05 x 10^6 sel/ml)
- Penentuan konsentrasi perlakuan ekstrak *Sargassum polycystum* yang digunakan disajikan pada Tabel 3
- Diinkubasi selama 18-24 jam
- Diamati tingkat kekeruhannya

Tabel 3. Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk Uji MIC *(Minimum Inhibitory Concentration)*

Konsentrasi (%)	Larutan stok ekstrak *Sargassum polycystum* (ml)	Larutan stok broth yang dinokulasi bakteri (ml)
0,1	0,005	4,995
0,5	0,025	4,975
1	0,050	4,950
1,5	0,075	4,925
2	0,100	4,900
2,5	0,125	4,875
3	0,150	4,850
3,5	0,175	4,825
4	0,200	4,800
4,5	0,225	4,775
5	0,250	4,740

b. Uji Cakram

Tahapan uji cakram meliputi :

- 5 inokulum biakan murni bakteri *Vibrio harveyi* ditanam dalam 5ml media cair (*Nutrient Broth*) dan diinkubasi selama 3 jam sehingga terbentuk kekeruhan yang sama dengan larutan Standart Mc Farland

- Membuat larutan stok NB yang diinokulasi bakteri dengan cara mengambil 0,5 ml biakan bakteri dari NB kemudian dimasukkan dalam 100 ml NB yang sudah disterilkan (kepadatan 1,05 x 10^6 sel/ml)
- Disiapkan tabung reaksi untuk perlakuan konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum*. Konsentrasi minimum didapatkan berdasarkan hasil uji MIC.
- Penentuan konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* untuk uji cakram disajikan pada Tabel 4
- Direndam kertas cakram steril ke dalam ekstrak *Sargassum polycystum* selama 15 menit berdasarkan konsentrasi yang telah ditentukan (Tabel 4)
- Diambil 0,05 ml bakteri dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media agar dengan ketebalan ± 6 mm
- Diratakan bakteri dengan triangle
- Diletakkan kertas cakram yang telah ditiriskan pada permukaan lempeng agar
- Dilakukan pembacaan hasil setelah diinkubasi pada suhu ruang (37°C) selama 18-24 jam dengan cara mengukur zona hambat yang terbentuk
- Diukur diameter zona hambat

Tabel 4. Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* untuk Uji Cakram

No	Perlakuan	Konsetrasi (%)	*Ekstrak S. polycystum* (ml)	Aquades (ml)
1.	A	5	0,25	4,75
2.	B	10	0,50	4,50
3.	C	15	0,75	4,25
4.	D	20	1,00	4,00
5.	E	25	1,25	3,75
6.	F	30	1,50	3,50
7.	Kontrol	0	0	5,00

3.4 Parameter Uji

3.4.1 Parameter Utama

Parameter utama menggunakan parameter kuantitatif, yaitu data yang diperoleh dari hasil pengukuran zona hambat ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* pada masing-masing perlakuan yang terlihat disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

3.4.2 Parameter Penunjang

Sebagai parameter penunjang pada penelitian ini adalah suhu inkubator dan pH media, yang keduanya merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

3.5 Analisa Data

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis keragaman atau uji F dan apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT untuk menentukan perlakuan mana yang memberikan respon terbaik pada taraf 0,05 (derajat kepercayaan 95 %) dan pada taraf 0,01 (derajat kepercayaan 99%). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil, dilakukan perhitungan analisis regresi yang tujuannya untuk mengetahui sifat dan fungsi regresi yang memberikan keterangan tentang pengaruh respon terhadap perlakuan.

4 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi *Sargassum polycystum*

Sargassum polycystum yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Pantai Talango, Madura. *Sargassum polycystum* yang akan diekstraksi dipotong kecil-kecil agar luas permukaan kontak antara bahan dengan cairan lebih besar sehingga proses ekstraksi lebih efektif. Setelah dipotong-potong, kemudian dikeringanginkan untuk menghilangkan kadar air dan untuk mempermudah dalam penghancuran. Dalam mengeringkan *Sargassum polycystum* digunakan suhu ± 40 ^{0}C agar senyawa aktif yang terkandung didalamnya tidak rusak atau menguap.

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah air (aquades) dengan perbandingan bahan : pelarut = 1:1. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut. Fenol merupakan senyawa yang terdiri dari gugus hidroksil (-OH). Senyawa yang mempunyai gugus OH dapat dikategorikan sebagai senyawa polar, sehingga senyawa fenol dapat larut dengan sempurna di dalam air. Selain itu, penggunaan aquadest dimaksudkan agar lebih efisien karena aquadest mudah didapatkan, harga terjangkau dan tidak meracuni organisme tersebut.

Dalam penelitian ini digunakan *Sargassum polycystum* sebanyak 100 gr dan pelarut aquades 100 ml, sehingga diperoleh larutan stok 100 %. Pelarutan sampel dilakukan dengan cara memblender Sargassum polycystum dan air selama 15 menit atau sampai sampel sudah menjadi seperti bubur. Setelah itu dilakukan perendaman selama 20 jam agar senyawa-senyawa yang terkandung pada *Sargassum polycystum* dapat larut dengan baik. Selain itu perendaman dilakukan untuk memudahkan dalam proses penyaringan. Selanjutnya, larutan dipisahkan dengan endapannya dengan menggunakan

kertas saring. Sedangkan endapannya diambil dengan cara diperas menggunakan kain saring. Setelah dilakukan penyaringan, akan didapatkan ekstrak *Sargassum polycystum*. Untuk memisahkan ekstrak dari endapan-endapan yang masih tersisa, dilakukan sentrifugasi pada putaran 3000 rpm selama 20 menit kemudian diambil supernatannya (bagian yang bening). Berdasarkan uji fenol menggunakan metode spektrofotometri, hasil kuantitatif fenolik dan turunannya (flavonoid) pada ekstraksi rumput laut *Sargasum polycystum* menggunakan pelarut air adalah 13,56 ppm. Menurut Anonymous (2007d), fenol memiliki kelarutan terbatas dalam air, yakni 8,3 gram/100 ml.

4.2 Media Tumbuh Bakteri *Vibrio harveyi*

Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri *Vibrio harveyi* selama penelitian ada 2 macam, yaitu media TCBSA sebagai media padat dan NB sebagai media cair. Media TCBSA (agar) digunakan untuk membiakkan bakteri dengan metode gores atau sebar, sedangkan NB digunakan untuk membiakkan bakteri dengan metode tuang. Menurut Dwidjosepoetro (1989), kedua metode pembiakan tersebut efektif digunakan dalam pembiakan mikroorganisme karena membutuhkan waktu yang singkat dan mudah untuk mendapatkan biakan.

TCBSA mengandung unsur pepton, zat mineral dan agar. Media ini mempunyai tingkat selektifitas yang baik untuk mengisolasi bakteri Vibrio. Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), bakteri ini dapat mengadakan metabolisme pada media yang mengandung sukrosa, mineral yang mengandung karbon sederhana dan glutamat. Komposisi unsur-unsur yang terkandung dalam TCBSA merek OXOID yang digunakan selama penelitian disajikan pada Lampiran 12.

Dwiastuti (2001) *dalam* Sumargono (2004) menjelaskan bahwa TCBSA merupakan agar pepton dasar dengan perasan ragi, garam empedu, sitrat, sukrosa, ferrisitrat dan sodium thiosulfat. Bahan-bahan yang digunakan pada medium TCBSA ini mempunyai fungsi masing-masing seperti medium selektif lainnya, antara lain sebagai sumber karbon dan nitrat yang diperlukan untuk metabolisme kuman. Karbohidrat berupa sukrosa sebagai sumber energi. Bahan yang memperkaya adalah perasan ragi (untuk pertumbuhan). Sebagai inhibitor adalah garam empedu dan sodium sitrat yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan kuman yang tidak diharapkan. Biru timol brom sebagai indikator pH untuk mengukur perubahan pH pada media yang dihasilkan metabolisme kuman serta sebagai indikator pada proses fermentasi sukrosa. Indikator tercampur ion ferri untuk mendeteksi produksi H_2S serta bahan kimia dari campuran berbagai jenis, contohnya sodium thiosulfat untuk menyediakan sumber sulfur.

Bakteri *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media TCBSA membentuk koloni dengan warna kuning dan hijau. Warna ini disebabkan oleh kemampuan bakteri *Vibrio harveyi* dalam menguraikan sukrosa. Roza *et al*. (1997) *dalam* Sumargono (2004) menjelaskan bahwa *Vibrio harveyi* yang tidak mampu mensintesa sukrosa, koloninya berwarna hijau dan yang mampu mensintesa sukrosa, koloninya berwarna kuning.

4.3 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri udang windu diambil dari bagian hepatopankreas karena pada bagian ini merupakan bagian yang paling peka terhadap serangan bakteri. Hepatopankreas merupakan organ yang terletak di bawah carapace yang selalu membuka jika udang sedang berenang (Chanratchakool *et al*. *dalam* Plumeriastuti dan Gunanti 2003), sehingga kondisi ini memungkinkan hepatopankreas lebih rentan

terhadap serangan penyakit. Pada saat isolasi, kondisi hepatopankreas pada udang windu berwarna kehitaman dan lembek karena mengalami penyusutan. Menurut Plumeriastuti dan Gunanti (2003), hepatopankreas yang terserang penyakit sering mengalami pembengkakan, perubahan warna, penyusutan, atau pengecilan dan konsistensi rapuh. Setelah diisolasi, selanjutnya inokulum bakteri ditanam pada media TSA 2% dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu ruang.

Penyebaran inokulum di atas media agar (isolasi) dilakukan untuk memisahkan sel-sel mikroba satu dengan yang lainnya sehingga setelah diinkubasi, sel akan tumbuh dan berkembang biak membentuk kumpulan sel atau koloni yang dapat terlihat oleh mata. Semakin banyak penyebaran yang dilakukan, semakin sedikit sel-sel mikroba yang terbawa kawat inokulasi sehingga setelah diinkubasi akan terbentuk koloni-koloni secara terpisah.

4.4 Pemurnian Bakteri

Dari penanaman bakteri yang telah diinkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam, didapatkan biakan campuran koloni bakteri yang harus dikultur murni untuk mendapatkan isolat murni *Vibrio harveyi*. Koloni yang akan dimurnikan merupakan koloni yang berwarna putih keruh bentuknya bundar besar, tepi rata dengan elevasi yang cembung. Selain ciri-ciri tersebut, koloni yang dimurnikan merupakan koloni yang tumbuh terpisah dan dominan dengan asumsi bahwa bakteri yang tumbuh dominan tersebut merupakan penyebab penyakit. Koloni yang telah diambil kemudian disebarkan pada media TCBSA dengan mengunakan kawat inokulasi secara aseptis di dalam laminary air flow. Menurut Lay dan Hastowo (1994), untuk mendapatkan biakan murni dilakukan dengan cara menggores suspensi mikroba yang akan diisolasi pada media agar

setelah itu diberi antibiotik berupa nouvobiocin 30 mg. Antibiotik merupakan bahan yang dihasilkan mikrooganisme yang membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Pemberian antibiotik tiap komoditi berbeda. Pada komoditi laut antibiotik yang diberikan berupa nouvobiocin 30 mg, sedangkan untuk komoditi tawar antibiotik yang diberikan berupa ciprofloaxin 5 mg. Pemberian antibiotik ini akan lebih memudahkan dalam pengidentifikasian jenis bakteri. Bakteri *Aeromonas sp* pada komoditi tawar lebih sensitif terhadap ciprofloaxin 5 mg sedangkan bakteri *Vibrio harveyi* pada komoditi laut lebih sensitif terhadap nouvobiocin 30 mg. Bakteri yang sensitif terhadap antibiotik yang digunakan akan membentuk zona terang di sekitar antibiotik dengan ukuran diameter minimal 1 mm. Koloni yang seragam akan tumbuh setelah inkubasi pada suhu kamar selama 18-24 jam. Setelah 18-24 jam, biakan murni yang dihasilkan siap dilakukan uji biokimia untuk mengidentifikasi apakah bakteri yang dimurnikan merupakan bakteri *Vibrio harveyi* atau bukan.

4.5 Identifikasi Bakteri

4.5.1 Pewarnaan Gram

Pemeriksaan mikroskopis menggunakan pewarnaan gram dapat digunakan untuk mengetahui bentuk morfologi bakteri, misalnya batang, kokus atau spiral dan untuk mengetahui sifat gram bakteri, positif atau negatif. Sebelum melakukan pewarnaan gram, dilakukan fiksasi terlebih dahulu terhadap bakteri. Menurut (Anonymous, 1994), fungsi fiksasi antara lain untuk mencegah mengkerutnya globula-globula protein sel, merubah afinitas cat, mencegah otolisis pada sel, membunuh bakteri dengan tidak menyebabkan peubahan bentuk dan strukturnya serta melekatkan bakteri di atas obyek glass dan membuat sel-sel lebih kuat.

Pada perlakuan fiksasi, biakan murni bakteri yang telah dihasilkan diambil sedikit kemudian diletakkan pada obyek glass yang telah ditetesi aquades. Selanjutnya diratakan dengan jarum ose sambil sesekali dilewatkan di atas nyala api bunsen dan dibiarkan mengering. Usahakan hasil fiksasi tidak terlalu tebal atau terlalu tipis karena jika fiksasi terlalu tebal, maka bakteri yang diwarnai akan terlalu padat sehingga hasil pewarnaan tidak maksimal. Sebaliknya jika hasil fiksasi terlalu tipis, maka hasil pewarnaan tidak akan terlihat. Menurut Hadioetomo (1985), olesan yang terlalu tebal tidak akan memucat secepat olesan dengan kerapatan sel yang normal.

Setelah dilakukan fiksasi, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram. Dalam pewarnaan gram diperlukan empat jenis larutan yaitu Gram A sebagai pewarna primer, Gram B yang merupakan bahan untuk meningkatkan kemampuan afinitas sel, Gram C untuk melarutkan kristal ungu violet dan Gram D sebagai warna tandingan.

Dengan pewarnaan gram, akan didapat dua kelompok bakteri, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang dapat mempertahankan kompleks warna primer ungu kristal violet iodium (sel-sel berwarna ungu atau biru) sedangkan bakteri gram negatif adalah bakteri yang kehilangan kompleks pewarna primer pada waktu pembilasan dengan alkohol namun kemudian terwarnai dengan pewarna tandingan safranin (sel-sel tampak berwarna merah) (Hadioetomo, 1985). Menurut Pelezar dan Chan (1986), mekanisme pewarnaan gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif mengandung lipid dalam persentase yang lebih tinggi daripada gram positif dan dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis daripada dinding sel negatif. Karena lipid pada bakteri gram negatif lebih tinggi, pada perlakuan etanol menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau permeabilitas dinding selnya. Jadi

kompleks ungu kristal-yodium (UK-Y) yang telah memasuki dinding sel dapat terekstraksi. Karena itu bakteri gram negatif kehilangan warna tersebut dan dapat menyerap warna tandingan. Karena kandungan lipidnya yang lebih rendah, dinding sel bakteri gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan etanol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang dan komplek UK-Y tidak dapat terekstraksi. Jadi pada saat diberi pewarna tandingan, bakteri gram positif tidak dapat terwarnai.

Selain dengan pewarnaan gram, uji gram juga dilakukan dengan menggunakan KOH 3%. Jika inokulum mengental dan lengket, maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif dan apabila inokulum tidak lengket ketika diaduk, maka bakteri termasuk gram negatif (Anonymous, 1994). Dinding sel bakteri gram positif resisten terhadap reagen KOH tetapi bakteri gram negatif larut oleh reagen tersebut sehingga timbul material viscus dari asam nukleat yang dibebaskan.

Dari hasil uji gram dapat diketahui bahwa bakteri hasil pemurnian merupakan bakteri gram negatif. Pada pengamatan mikroskop, bakteri berwarna merah dengan bentuk batang pendek seperti koma, sedangkan pada uji gram menggunakan KOH, inokulum bakteri mengental dan berlendir setelah diaduk (Lampiran 5).

4.5.2 Uji Biokimia

Pemeriksaan bakteri dengan uji biokimia dilakukan untuk mengetahui ciri fisiologis atau biokimiawi bakteri. Uji biokimia dilakukan pada biakan murni bakteri yang berumur 18-24 jam. Pembacaan hasil uji biokimia dilakukan setelah 24 jam.

a. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui kemampuan organisme dalam menghasilkan enzim oksidase (Anonymous, 1994). Bakteri yang menghasilkan enzim oksidase akan memperlihatkan reaksi positif dengan berubahnya kertas uji dari warna

kuning menjadi berwarna biru tua atau ungu. Sedangkan bakteri yang tidak menghasilkan enzim oksidase akan memperlihatkan reaksi negatif dengan tidak adanya perubahan warna pada kertas uji (Anonymous, 1994). Berdasarkan hasil oksidase pada kertas oksidase menunjukkan perubahan warna dari kekuningan menjadi biru tua (Lampiran 6). Dari perubahan warna tersebut dapat diketahui bahwa hasil oksidase merupakan positif. Menurut Irianto (2006), pengujian ini dikorelasikan dengan adanya sitokrom dalam kadar yang tinggi, yang dapat dipakai untuk mengenal bakteri tertentu yang termasuk dalam genus *Pseudomonas* dan *Neisseria*. Oksidasi dari p-aminodimetilanilina menjadi warna merah tua sampai hitam dapat dipakai sebagai aktifitas sitokrom.

$$\text{(i) 2 reduksi sitokrom C} + 2H^{+} + \tfrac{1}{2} O_2 \xrightarrow[\text{Oksidase}]{\text{sitokrom}} \text{2 oksidasi sitokrom C} + H_2O$$

$$\text{(ii) 2 oksidasi sitokrom C + reagen} \xrightarrow[\text{Oksidator}]{} \text{perubahan warna}$$

(Faddin, 2000)

b. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktifitas enzim katalase dalam memecah H_2O_2 yang ditandai dengan adanya pembentukan gelembung gas. Bakteri yang menunjukkan reaksi katalase positif akan menghasilkan gelembung udara, sedangkan bakteri yang menunjukkan reaksi negatif akan mati karena tidak terbentuknya enzim katalase sehingga H_2O_2 meracuni bakteri tersebut (Faddin 1983). Hadioetomo (1985) menyatakan bahwa bakteri aerobik yang menggunakan oksigen akan menghasilkan hidrogen peroksida yang sesungguhnya bersifat racun bagi sistem enzimnya sendiri,

namun mereka tetap hidup karena dihasilkannya enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

$$\underset{\text{Hidrogen peroksida}}{2H_2O_2} \xrightarrow{\text{katalase}} \underset{\text{air}}{2H_2O} + \underset{\text{oksigen}}{O_2} \text{ (gelembung udara)}$$

Karena pada hasil Uji Katalase menghasilkan gelembung udara setelah diberi KOH, maka bakteri tergolong Katalase (+), artinya, bakteri mampu menghasilkan enzim katalase (Lampiran 6).

c. Uji O/F (Oksidatif / Fermentatif)

Uji O/F digunakan untuk membedakan bakteri oksidatif dengan bakteri fermentatif. Pada pengujian diperlukan dua buah tabung reaksi berisi media O/F yang salah satu tabungnya ditutup dengan parafin cair setelah bakteri diinokulasi. Tujuan pemberian parafin cair ini untuk mengetahui apakah suatu bakteri mampu bernapas tanpa adanya oksigen bebas. Bakteri yang mampu bernapas tanpa menggunakan oksigen bebas disebut bakteri anaerob sedangkan bakteri yang bernapas dengan menggunakan oksigen bebas disebut bakteri aerob. Pada uji O/F, bakteri dikatakan fermentatif jika tabung reaksi yang tidak ditutup parafin cair maupun yang ditutup parafin cair mengalami perubahan warna menjadi kuning. Oksidatif jika tabung reaksi yang tidak ditutup parafin berwarna kuning, sedangkan tabung reaksi yang ditutup parafin cair berwarna hijau. Apabila kedua media uji O/F tersebut tidak mengalami perubahan warna berarti tidak terjadi reaksi (NR) (Anonymous, 1994). Perubahan warna kuning terjadi karena adanya produksi asam. Dari hasil uji O/F dapat diketahui bahwa biakan murni bakteri yang diisolasi dari hepatopankreas udang windu bersifat fermentatif karena pada hasil uji menunjukkan tabung reaksi baik yang tidak ditutup parafin cair maupun yang

ditutup parafin cair mengalami perubahan warna dari warna hijau yang merupakan warna media O/F menjadi berwarna kuning (Lampiran 6).

d. Uji LIA (Lysine Iron Agar)

Uji LIA bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menguraikan lisin. Bila bakteri mampu menguraikan lisin, maka warna media akan berubah dari ungu menjadi kuning. Hal ini disebabkan karena pada saat fermentasi glukosa akan menurunkan pH media dan menyebabkan perubahan warna indikator pH dari ungu menjadi kuning (Lay dan Hastowo, 1994). Sedangkan menurut Anonymous (2003) *dalam* Nurhayati (2008), warna kuning di sekitar tusukan disebabkan karena bakteri tersebut mampu merubah suatu asam amino 1-Lysine menjadi cadaverine yang mempunyai 2 gugus amina (NH2). Pada uji LIA, jika pada goresan berwarna ungu dan kuning pada tusukan, berarti Lysine Decarboxylase (+) tetapi jika warna menjadi ungu pada goresan dan ungu pada tusukan, berarti Lysine Decarboxylase (-) (Anonymous, 1994). Karena pada hasil Uji LIA menunjukkan warna kuning pada goresan dan tusukan, maka Lysine Decarboxlase pada biakan murni bakteri termasuk Lysine Decarboxylase (+) (Lampiran 6).

e. Uji TSIA (Triptic Soy Iron Agar)

Uji TSIA dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memecah glukosa, laktosa dan sukrosa. Selain itu juga unuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan gas serta ada atau tidaknya H_2S. Jika pada hasil Uji TSIA warna menjadi kuning maka bakteri membentuk asam/A, jika warna menjadi merah maka bakteri membentuk basa/K, jika pada tusukan terdapat rongga udara berarti bakteri menghasilkan gas dan jika pada media TSIA berwarna hitam, berarti terdapat H_2S (Anonymous, 1994). Hasil uji TSIA menunjukkan terjadinya perubahan warna media

pada sekitar tusukan dan goresan menjadi kekuningan (Lampiran 6). Ini menunjukkan bahwa bakteri uji bersifat asam, baik pada tusukan maupun goresan (A/A). Dari hasil uji ini diketahui tidak terdapat H_2S karena pada media TSIA tidak dijumpai warna hitam dan bakteri tidak mampu menghasilkan gas.

f. Uji MIO (Motility Indol Ornithine)

Uji MIO dilakukan untuk mengetahui motilitas bakteri, kemampuan bakteri mengkarboksilase ornithine menjadi amine dan kemampuan bakteri dalam memproduksi indol (Anonymous, 1994). Cara menginokulasikan bakteri dengan cara tusukan tegak (1 kali tusukan) karena akan dilihat ada tidaknya pergerakan bakteri tersebut.

Pada uji motilitas menunjukkan hasil yang positif. Hal ini menunjukkan bakteri uji bersifat motil. Dikatakan motilitas positif jika pada tusukan terlihat adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya pelebaran pada tusukan tersebut dan dikatakan motilitas negatif jika tidak ada pelebaran pada tusukan. Mc Faddin (1983) mengatakan bahwa organisme motil yaitu yang mengalami perpindahan dari garis tusukan dan berdifusi pada medium di sekitar tusukan yang disebabkan oleh turbiditas sehingga menyebabkan pertumbuhan pada daerah tusukan nampak jelas.

Setelah ditetesi *Kovacks Indole Reagen* 2 tetes, pada permukaan media berwarna merah (Lampiran 6). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diuji bersifat indol positif. Menurut Woodland (2004), jika timbul lapisan/cincin merah pada permukaan media dikatakan indol positif, apabila tidak timbul dikatakan indol negatif. Indol adalah zat yang dapat diperiksa adanya dengan penambahan kovacs yang mengakibatkan medium berwarna merah. Penggunaan eter atau silol dimaksudkan untuk mengekstraksi indol dari medium, sehingga bila jumlah indol sedikit dapat dikumpulkan ke permukaan medium dan bereaksi dengan reagen di permukaan medium berupa cincin merah.

Pada uji Ornithin juga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi kuning di sekitar tusukan. Perubahan warna kuning di sekitar tusukan disebabkan karena bakteri tersebut mampu merubah suatu asam amino 1-Ornithine menjadi putrescine yang mempunyai 2 gugus amina (NH_2) yang ditandai dengan warna kuning Anonymous 2003 *dalam* Nurhayati 2008). Uji ornithin dikatakan positif apabila timbul warna kuning di sekitar tusukan, sebaliknya apabila tidak timbul warna kuning dikatakan ornithin negatif (Anonymous, 1994).

g. Uji Gelatin

Uji gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim proteolitik gelatinase (Woodland, 2006). Gelatin merupakan protein yang akan membentuk gel bila didinginkan. Pada hasil uji gelatin, bila media mencair berarti gelatin positif dan bila media padat maka gelatin dikatakan negatif (Anonymous, 1994). Menurut Lay dan Hastowo (1994), pada suhu 35^0C gelatin dapat mencair bila diinokulasi dengan mikroorganisme yang mampu/tidak mencairkan gelatin. Berdasarkan pernyataan tersebut gelatin harus dimasukkan dalam lemari es selama 30 menit untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mencairkan gelatin. Dari hasil uji gelatin, menunjukkan bahwa biakan bakteri termasuk dalam gelatin positif karena setelah dimasukkan ke dalam kulkas (membeku), beberapa menit kemudian gelatin mencair.

h. Uji TCBSA

Media TCBSA merupakan media selektif yang dapat menghambat satu atau lebih pertumbuhan kelompok bakteri tanpa menghambat pertumbuhan bakteri vibrio harveyi. Uji TCBSA bertujuan untuk mengetahui apakah biakan murni yang diperiksa tergolong vibrio atau bukan. Jika bakteri yang ditanam pada media TCBSA tumbuh (hasilnya positif) maka alternatif bakteri yang tumbuh merupakan bakteri golongan

Vibrio. Karena pada hasil uji TCBSA bakteri yang ditanam tumbuh, maka bakteri tersebut masuk ke dalam golongan vibrio (Lampiran 6).

i. Uji Gula

Uji gula dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan gula (Woodland, 2006). Gula yang digunakan terdiri dari enam jenis yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, inositol dan arabinosa. Bila fermentasi mengakibatkan terbentuknya asam, pH medium akan lebih rendah dari pH semula. Bila pH turun sampai 6,0 dan indikator yang digunakan merah fenol (*phenol red*), akan tampak warna medium yang awalnya merah berubah menjadi kuning. Tetapi bila dipakai indikator merah metil (*methyl red*), maka pada pH 6,0 indikator ini belum memperlihatkan perubahan yang nyata. Baru pada pH yang jauh dari asam, merah metil tampak merah, sehingga bagi bakteri yang tidak membentuk asam sebanyak ini, hasilnya dapat dibaca negatif, walaupun ada fermentasi (Irianto, 2006). Pada uji gula, apabila terjadi perubahan warna pada media dari warna merah menjadi kuning berarti gula tersebut terfermentasi (+) dan bila media tidak berubah warna maka gula tersebut tidak terfermentasi (Anonymous, 1994). Pada uji gula diperoleh hasil sebagai berikut: glukosa (+), sukrosa (-), Laktosa (+), manitol (+), inositol (-) dan arabinosa (-) (lihat Lampiran 6). Hal ini berarti bakteri yang diidentifikasi dapat mefermentasikan glukosa dan laktosa tetapi tidak dapat memfermentasikan sukrosa, manitol, inositol dan arabinosa.

j. Uji MR (Methyl Red)

Uji MR (*Methyl Red*) digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasikan glukosa untuk menghasilkan asam (Faddin, 2000). Bakteri bersifat MR positif jika pada permukaan media MR berwarna merah setelah diberi indikator

MR. MR negatif jika pada permukaan berwarna kuning setelah diberi indikator MR (Anonymous, 1994).

2 glukosa + H_2O ⟶ 2 asam laktat + asam asetat + etanol +$2CO_2$ + 2H (asam format ─ H_2 + CO_2) (Faddin, 2000).

Karena dari hasil uji MR pada permukaan media MR mencapai warna merah, maka bakteri yang diujikan tergolong dalam MR positif, artinya bakteri mampu menghasilkan asam (Lampiran 6).

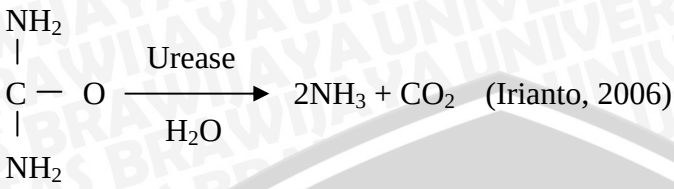
k. Uji VP (*Voges Preskaur*)

Uji VP (*Vogest Preskaur*) bertujuan untuk mengetahui apakah dalam proses pertumbuhan organisme terbentuk asetilmetilkarbinol sebagai produk antara (*intermediet product*) dari proses metabolisme karbohidrat. Asetilmetilkarbinol dalam lingkungan yang mengandung potasium hidroksida dan udara akan teroksidasi menjadi senyawa diasetil. Senyawa ini dengan alfa-naftol dan inti guanidin dari asam-aminoorgania (dari pepton) menghasilkan warna merah (Irianto, 2006). Pada uji VP, jika terbentuk warna kemerah-merahan pada permukaan media, maka bakteri dikatakan VP positif, tetapi jika di permukaan terdapat warna kuning seperti warna reagent, maka bakteri dikatakan VP negatif (Anonymous, 1994). Dari hasil uji VP, diketahui bahwa bakteri uji tergolong bakteri VP positif karena permukaan media berubah dari warna kuning menjadi merah(Lampiran 6).

l. Uji Urea

Uji urea bertujuan untuk mengetahui produksi enzim urease (Faddin, 2000). Pada produksi urease dan hidrolisis urea menghasilkan amonia, menyebabkan pH naik sehingga adanya indikator *methyl red* medium akan berubah menjadi berwarna merah atau merah muda. Bakteri yang menunjukkan reaksi positif akan merubah warna media

urea menjadi merah dan menunjukkan reaksi negatif jika tidak merubah warna media (Anonymous, 1994).



(Irianto, 2006)

Dari hasil uji diketahui bahwa bakteri yang diuji tergolong urea positif, karena warna media berubah menjadi merah muda (Lampiran 6). Ini berarti bakteri yang diuji mampu memproduksi urea.

m. Uji *Simmons Citrate* (SC)

Uji *simmon citrate* bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri menggunakan asam sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon untuk proses metabolisme (Anonymous, 1994). Dalam medium ini digunakan natrium sitrat sebagai sumber karbon. Bila natrium sitrat ini dapat diuraikan, maka amonium hidrogenfosfat turut teruraikan dan akan melepaskan NH_3 sehingga menyebabkan medium menjadi alkalis dan indikator bromtimol biru berubah dari hijau menjadi biru. Pada uji *simmons citrate*, jika bakteri yang ditanam pada media *Simmon citrate* tumbuh dengan merubah warna media hijau menjadi biru maka bakteri dikatakan *simmons citrate* positif, jika tidak tumbuh dan tidak ada perubahan warna (tetap hijau) dikatakan *simmons citrate* negatif. Dari hasil uji, diketahui bahwa bakteri yang diujikan tergolong bakteri *simmons citrate* positif karena setelah ditanam pada media, warna media berubah menjadi biru (Lampiran 6). Hal ini berarti bahwa bakteri tersebut mampu menggunakan asam sitrate sebagai sumber karbon untuk roses metabolisme.

4.6 Uji MIC (*Minimum inhibitor Concentration*) Ekstrak *Sargassum polycystum*

Pengamatan kualitatif terhadap ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media cair (*Tryptic Soy Broth*) dilakukan untuk mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimum suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menggunakan kontrol sebagai pembanding (Bonang dan Koeswardono, 1982). Dalam hal ini kontrol yang digunakan adalah media cair (NB) yang mengandung bakteri sebagai kontrol positif (+) dan NB yang tidak mengandung bakteri sebagai kontrol negatif (-). Uji MIC dilakukan dengan metode *tubb dillution* (dilakukan di dalam tabung). Cara pengujiannya yaitu dengan mengamati kekeruhan campuran NB yang sudah diinokulasi bakteri dengan konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dan diinkubasi selama 24 jam. Menurut Taslihan (1986), apabila media keruh bakteri masih tumbuh yang berarti ekstrak tidak efektif menghambat pertumbuhan bakteri. Apabila media jernih berarti ekstrak efektif menghambat pertumbuhan bakteri (bersifat bakteriostatik) maupun membunuh bakteri (bersifat bakteriosidal).

Dari hasil uji kadar hambat minimal (MIC) diketahui kadar hambat minimal ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* terlihat pada konsentrasi 5 % yang ditandai dengan berkurangnya pertumbuhan bakteri setelah masa inkubasi 24 jam (Lampiran 8). Hasil uji MIC ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Tabel 5.

Pada hasil pengujian MIC, kekeruhan yang terjadi tidak diikutsertakan dalam analisa perhitungan. Hal ini disebabkan karena pengukuran kekeruhan yang dilakukan hanya berdasarkan pengukuran visual sehingga sulit untuk menentukan batas kekeruhan dan membedakan tingkat kekeruhan diantara larutan yang berbeda.

Dari hasil uji MIC dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* dengan kandungan fenolik 13,64 ppm pada perlakuan 5% merupakan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara invitro.

Tabel 5. *Minimum Inhibitor Concentration* (MIC) ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi*

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan bakteri
0,1	+
0,5	+
1	+
1,5	+
2,0	+
2,5	+
3,0	+
3,5	+
4	+
4,5	+
5,0	-

Keterangan: + : ada pertumbuhan bakteri
- : pertumbuhan bakteri berkurang
K (-) : media dan ekstrak *Sargassum polycystum*
K (+) : media dan bakteri *Vibrio harveyi*

4.7 Zona Hambat Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Pertumbuhan Bakteri Vibrio harveyi Menggunakan Uji Cakram

Pemeriksaan daya antimikrobial ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dengan menggunakan metode cakram menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Hal ini dapat dijelaskan dengan adanya area (zona) jernih di sekitar kertas cakram yang mengandung ekstrak *Sargassum polycystum*. Pengambilan data zona hambat dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi, selanjutnya dilakukan pengamatan setelah masa inkubasi 48 jam untuk menentukan sifat ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio*

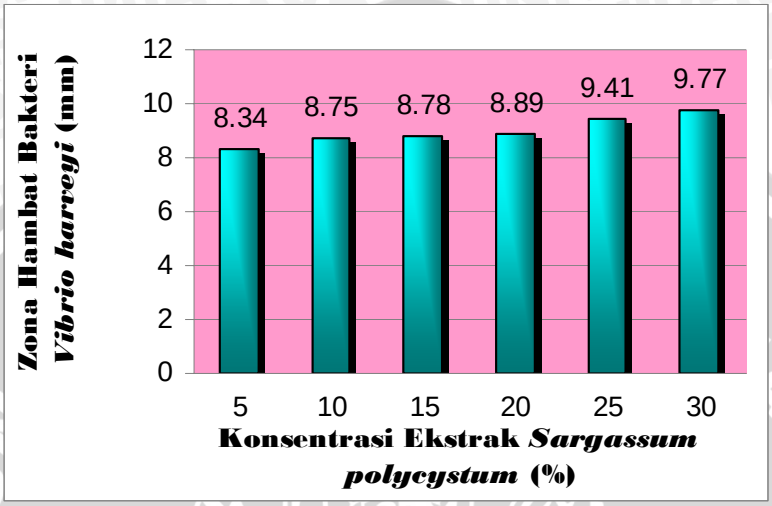
harveyi, apakah bersifat bakteriostatik (menghambat) atau bakteriosidal (membunuh). Pemeriksaan daya antimikrobial setelah masa inkubasi 48 jam, menunjukkan bahwa ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25% dan 30% hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* (bakteriostatik). Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri di zona hambat setelah masa inkubasi 48 jam. Gambar hasil uji cakram ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Lampiran 9.

Tidak seperti halnya obat-obatan maupun senyawa-senyawa anti bakteri seperti antibiotik, antibakteri yang berasal dari alam seperti *Sargassum polycystum* belum memiliki standar atau parameter yang dapat digunakan untuk menentukan kepekaan suatu kuman apakah resisten, intermediate atau sensitif terhadap obat yang digunakan. Dengan demikian, pada penelitian ini belum dapat digolongkan tingkat sensitifitas dan resistensi bakteri *Vibrio harveyi* terhadap ekstrak *Sargassum polycystum*. Tetapi dari hasil penelitian ini dapat diinformasikan bahwa konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda dapat mempengaruhi zona hambat yang terbentuk. Data hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk dari beberapa konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Data hasil pengukuran zona hambat yang terbentuk dari beberapa konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum*

Perlakuan (%)	Zona Hambat (mm)			Total (mm)	Rata-rata (mm)
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
0	6,00	6,00	6,00	18,00	6,00
5	8,12	8,78	8,10	25,00	8,34
10	8,23	9,12	8,89	26,24	8,75
15	8,34	8,56	9,45	26,35	8,78
20	8,67	9,00	9,00	26,67	8,89
25	9,45	9,00	9,79	28,24	9,41
30	9,67	10,2	9,45	29,32	9,77

Untuk memperjelas perbedaan zona hambat yang dihasilkan setiap konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* yang digunakan, dapat digambarkan dalam bentuk diagram batang yang disajikan pada Gambar 8 sebagai berikut:



Gambar 8. Diagram Batang Konsentrasi Ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap Zona Hambat Bakteri *Vibrio harveyi*

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum*, maka zona hambat yang terbentuk semakin lebar. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya zat antibakteri seiring dengan meningkatnya konsentrasi dari setiap perlakuan. Jawetz dan Aldelberg's, (1984) menjelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan, maka kemampuan untuk membunuh bakteri semakin cepat.

Dwidjosepoetro (1989) mengatakan bahwa dengan menempatkan kertas cakram berisi obat dengan konsentrasi yang berbeda pada media tertentu, maka obat akan meresap ke dalam media. Apabila obat tersebut menghambat, maka pertumbuhan bakteri akan terhenti dan di sekitar kertas cakram akan terlihat daerah bening yang tidak ditumbuhi bakteri setelah masa inkubasi 18-24 jam. Lebih lanjut dikatakan, bahwa besar kecilnya daerah hambatan di sekitar kertas cakram tergantung konsentrasi obat.

Sedangkan menurut Bonang dan Koeswardono (1982), lebar daerah hambatan di sekitar kertas cakram tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat yang digunakan.

Untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, maka perlu dilakukan analisa keragaman. Hasil sidik ragam disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Sidik Ragam Zona Hambat

Sumber keragaman	db	JK	KT	F Hitung	F 5 %	F 1 %
Perlakuan	5	4,01	0,802	4,582*	3,11	5,06
Acak	12	2,1	0,175			
Total	18	6,11				

Dari hasil sidik ragam (Tabel 7), dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda memberikan hasil yang berbeda nyata dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*. Selanjutnya untuk mengetahui konsentrasi terbaik, dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf nyata 0,05% (selang kepercayaan 95%) maupun taraf nyata 0,01% (selang kepercayaan 99%). Hasil uji BNT (Lampiran 2) dengan nilai BNT 5% dan 1% disajikan pada Tabel 8.

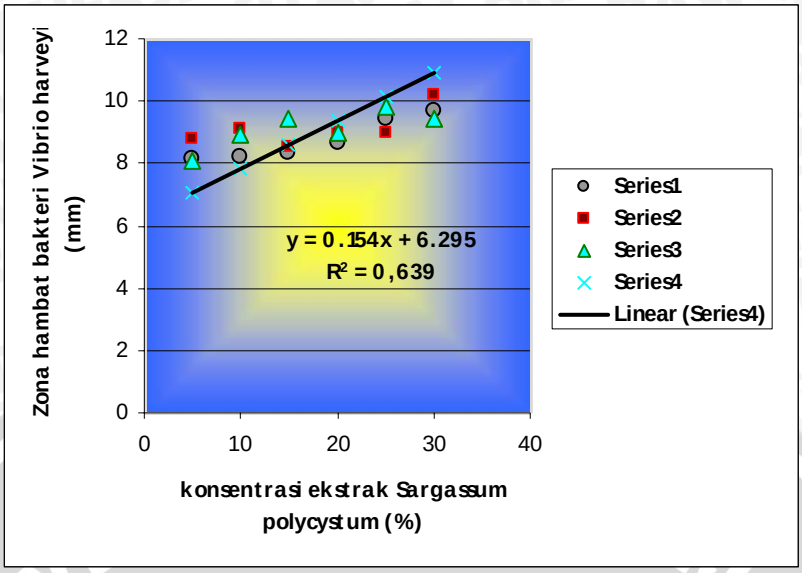
Tabel 8. Uji BNT zona hambat

Perlakuan (%)	Rerata (mm)	Notasi
A = 5	8,34	a
B = 10	8,75	ab
C = 15	8,78	ab
D = 20	8,89	ab
E = 25	9,41	bc
F = 30	9,77	c

Dari uji BNT, secara statistik dapat diketahui bahwa perlakuan B, C dan D memberikan hasil yang sama. Dalam hal penggunaan konsentrasi dari perlakuan tersebut, sebaiknya dipilih perlakuan B yang mempunyai konsentrasi terendah. Hal ini mengingat pada pertimbangan efek biologis terhadap lingkungan, tingkat resistensi bakteri terhadap zat antibakteri serta pertimbangan ekonomis. Pelezar dan Chan (2006) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin cepat sel bakteri akan terbunuh. Tetapi tidak efektif menggunakan konsentrasi yang terlalu tinggi dalam pengobatan. Disamping akan menimbulkan resistensi bakteri terhadap antibakteri tertentu, penggunaan dosis yang terlalu tinggi dapat membunuh hospes dan juga kurang ekonomis dalam pemakaiannya.

Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan zona hambat yang terbentuk, digunakan analisa regresi. Secara lengkap perhitungan analisa regresi disajikan pada Lampiran 2. Dari hasil analisa regresi, diperoleh bentuk regresi linier dengan persamaan $y = 0{,}154\ x + 6{,}295$ dan nilai koefisien korelasi r sebesar 0,799. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* disajikan pada Gambar 9.

Gambar 9 menjelaskan bahwa penggunaan ekstrak *Sargassum polycystum* mempunyai korelasi positif terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* pada uji cakram. Pada konsentrasi terendah (5%), diperoleh zona hambat dengan nilai rerata 8,34 mm. Untuk konsentrasi tertinggi (30%) diperoleh zona hambat dengan nilai rerata 9,77 mm. Rendahnya zona hambat ini bisa disebabkan karena rendahnya konsentrasi antibakteri yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum polycystum*.



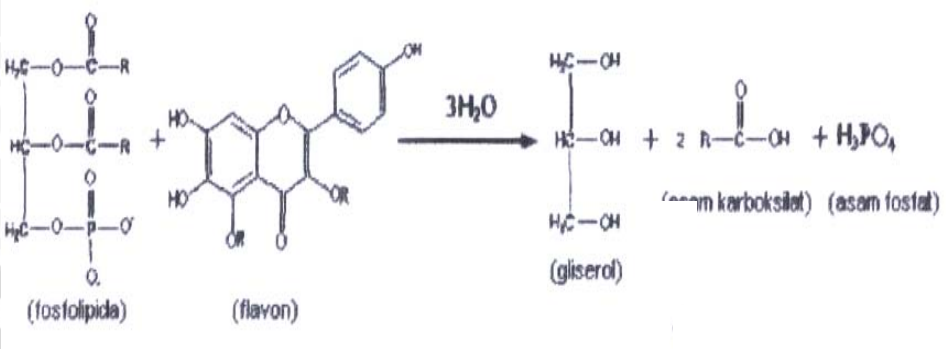
Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* dengan zona hambat bakteri *Vibrio harveyi*

4.8 Mekanisme Kerja Anti Mikroba *Sargassum polycystum*

Pada *Sargassum polycystum* senyawa yang aktif sebagai antibakteri adalah fenol. Park dan Ikekagi (1998) *dalam* Prajitno (2007) menyatakan bahwa polifenol utama yang terdapat dalam polifenol adalah flavonoid yang disertai oleh asam fenolik dan esternya, fenolik aldehid, alkohol dan keton. Penelitian selanjutnya mengindikasikan bahwa asam fenolik dan esternya juga merupakan unsur yang berperan dalam antibakteri.

Dijelaskan Gilman, Rall, Nies dan Taylor (1991) *dalam* Prajitno (2007) bahwa senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) merupakan salah satu antibakteri yang bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma. Membran sitoplasma adalah lapisan tipis yang terletak di sebelah dalam dinding sel, tersusun atas 60% protein dan 40% lipid yang umumnya bersifat fosfolipid (Anonymous, 2003). Ion OH^+ dari senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipida pada dinding sel bakteri akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat dan asam fosfat. Dalam keadaan demikian, fosfolipida tidak mampu

mempertahankan bentuk membran sitoplasma, akibatnya membran sitoplasma akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan bahkan kematian. Diagram mekanisme perusakan membran sitoplasma bakteri oleh senyawa fenol dan turunannya (flavonoid) disajikan pada Gambar 10.



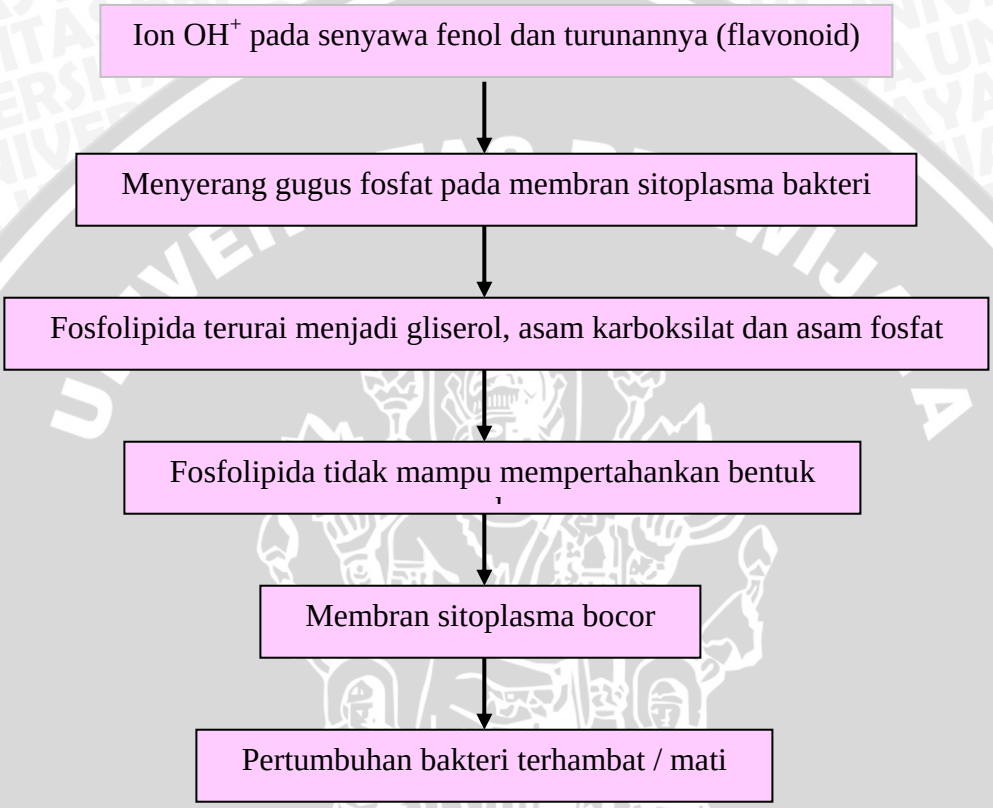
Gambar 10 . Reaksi antara fosfolipid dengan senyawa fenol (Prajitno, 2007).

Jawetz *et al*. (2001) mengatakan bahwa membran sitoplasma berperan sebagai barier permeabilitas selektif, membawa fungsi transpor aktif dan mengontrol komposisi internal sel. Fungsi membran plasma yang lain adalah mengatur masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi. Pada membran sitoplasma bakteri dapat ditemukan enzim-enzim yang mampu mengkatalisir reaksi kimia yang berkaitan dengan proses pemecahan (*breakdown*) bahan makanan untuk menghasilkan energi (Anonymous, 2003).

Dikatakan oleh Volk and Wheeler (1983) bahwa pada konsentrasi rendah, fenol dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting yang menginaktifkan sistem enzim bakteri, sedangkan pada konsentrasi yang tinggi mampu merusak membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel. Kerusakan membran ini juga dapat mencegah masuknya bahan-bahan penting ke dalam sel secara

difusi maupun osmosis, karena membran sel juga mengendalikan pengangkutan aktif ke dalam sel. Hal ini menyebabkan kematian sel atau menghambat pertumbuhan bakteri.

Diagram mekanisme perusakan membran sitoplasma bakteri oleh senyawa fenol dan turunannya disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram mekanisme perusakan membran sitoplasma bakteri oleh senyawa fenol dan turunannya.

Selain dapat merusak membran sitoplasma, cara kerja fenol adalah dengan mendenaturasi protein. Zat antimikroba menghambat perpanjangan rantai polipeptida serta mencegah perjalanan ribosom di sepanjang mRNA. Selain itu dengan cara mengubah bentuk ribosom sehingga bentuk kodon berubah serta mengganggu perlekatan tRNA pada kompleks mRNA ribosom (Anonymous, 2003).

4.9 Lingkungan Hidup Bakteri *Vibrio harveyi*

Bakteri memerlukan unsur kimiawi serta kondisi fisik tertentu untuk dapat tumbuh dengan baik. Sebagai parameter penunjang, dalam penelitian ini dilakukan pengukuran terhadap pH media, salinitas media dan suhu inkubator.

Pada penelitian ini, pengukuran pH dilakukan menggunakan pH paper pada saat media dalam kondisi cair. Dari hasil pengukuran, didapatkan pH media sebesar 7. Kondisi ini baik untuk pertumbuhan bakteri. Disamping nutrisi yang memadai, sejumlah kondisi lain harus dipenuhi untuk menumbuhkan bakteri. Media harus mempunyai pH yang tepat yaitu tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa, pada dasarnya tidak satupun bakteri dapat tumbuh baik pada pH lebih dari 8. Sebagian besar bakteri patogen tumbuh baik pada pH netral (pH = 7) atau pada pH yang sedikit basa (Volk and Wheeler, 1998). Bakteri Vibrio dapat tumbuh baik pada kondisi alkali, yaitu pH optimum berkisar antara 7,5-8,5 (Bauman *et al*., 1984) *dalam* (Prajitno, 2008).

Selain pH, suhu juga merupakan parameter dalam pertumbuhan bakteri. Suhu yang diukur pada penelitian adalah suhu inkubator. Pada saat penelitian, suhu inkubator yang digunakan sebesar 35^0C. Bauman *et al.* (1984) *dalam* Prajitno (2008) menyatakan bahwa suhu optimum untuk pertumbuhan Vibrio berkisar antara 30 – 35^0C sedangkan pada suhu 4^0C dan 45^0C bakteri tersebut tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55^0C akan mati. Dengan demikian suhu yang digunakan dalam penelitian masih berada dalam kisaran yang optimal untuk pertumbuhan bakteri.

5 KESIMPULAN DAN SARAN

5. 1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian "Pengaruh Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) Secara In-vitro" dapat disimpulkan sebagai berikut:.

- Pemberian Ekstrak *Sargassum polycystum* dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap zona hambat bakteri *Vibrio harveyi* dengan bentuk hubungan Y = 0,154 x + 6,295.
- Ekstrak *Sargassum polycystum* hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* (bakteriostatis) dan konsentrasi 5% merupakan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian "Pengaruh Ekstrak *Sargassum polycystum* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) Secara In-vitro" disarankan beberapa hal:

- Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsentrasi ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dengan menggunakan konsentrasi di atas 30%.
- Perlu dilakukan uji Efektifitas Ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap organisme yang terserang *Vibrio harveyi* (in-vivo)

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 1994. **Determinasi Bakteri Patogenik Penyebab Penyakit Ikan**. Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 122 hal.

_____. 2002. ***Vibrio harveyi***. (http://bacterio.cict.fr/bacdico/vv/harveyi.htm, diakses tanggal 6 Februari 2008). 1 hal.

_____. 2003.**Bakteriologi Medik.** Editor: Sjokoer M Dzen, Roekistiningsih, Santosa, S. dan Winarsih S. Bayumedia Publishing. 373 hal.

_____. 2006. ***Penaeus monodon* Fabricius**. (http://www.talaythai.com, diakses tanggal 5 Februari 2008). 1 hal.

_____.2007a **Rumput Laut**. (http: //www.wikipedia.wiki.org., diakses tanggal 5 Februari 2008). 1 hal.

_____. 2007b. **Udang Windu** (http://hastamina.gaiaindonesia.com, diakses tanggal 5 Februari 2008). 1 hal.

_____. 2007c. **Sehat Bersama Minuman Rumput Laut**. (http:// achpoer. Blogspot.com, diakses tanggal 6 Februari 2008). 1 hal.

_____. 2007d. **Fenol.** (http://www.blogger.com., diakses tanggal 26 Mei 2008).

Amri, K. 2003. **Budidaya Udang Windu Secara Intensif.** Agromedia Pustaka. Jakarta. 98 hal.

Anggadireja . J. S. Irawati dan Kusmiyati. 2006. **Potensi dan Manfaat Rumput Laut Indonesia Dalam Bidang Farmasi**. Tim Rumput Laut BPP Teknologi. Seminar Nasional Industri Rumput Laut. Jakarta

Atmadja, W.S., Kadi, A., Sulistijo dan Rachmaniar. 1996. **Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut Indonesia.** Puslitbang Oseanologi – LIPI. Jakarta. 191 hal.

Bonang, G. Dan E.S. Koeswardono.1982. **Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik**. PT. Gramedia. Jakarta. 199 hal.

Buwono, I. D. 1992. **Tambak Udang Windu Sistem Pengelolaan Berpola Intensif.** Kanisius. Yogyakarta. 151 hal.

Dahuri, R. 2003. **Keanekaragaman Hayati Laut Aset: Pembangunan Berkelanjutan Indonesia**. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 412 hal.

Darmono. 1991. **Budidaya Udang Penaeus.** Kanisius. Yogyakarta. 104 hal.

Dwidjosepoetro, D. 1989. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Penerbit Djambatan. Jakarta. 214 hal.

Eryanti, Y., Zamri, A., Syafril, D., Balatif, N., Yuharmen. 1999. **Identifikasi dan Isolasi Senyawa Kimia dari *Mangrove* (Hutan Bakau)**. Jurnal. Pusat Penelitian Kawasan Pantai dan Perairan. Lembaga Penelitian Universitas Riau. Pekanbaru. 18 hal.

Faddin, M. 1983. **Biochemical Test For Identification of Medical Bacteria**. Second Edition. Williams and Wilkins Baltimore. London. 560 hal.

Feliatra. 1999. **Identifikasi Bakteri Pathogen (*Vibrio sp*) di Perairan Nongsa Batam Propinsi Riau.** Jurnal Natur Indonesia Volume II. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau. Riau. Hal. 28-33.

Feliatra, Irwan, E. dan Edwar S. 2004. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan**. Jurnal Natur Indonesia 6(2). Hal. 75-80.

Fessenden, R. dan Fessenden, J. 1997. **Kimia Organik.** Erlangga. Jakarta

Hadie, W dan L.E. Hadie. 1993. **Pembenihan Udang Galah Industri Rumah Tangga**. Kanisius. Yogyakarta. 110 hal.

Hadioetomo, R.S. 1985. **Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek**. Gramedia. Jakarta. 163 hal.

Irianto, I. 2005. **Patologi Ikan Teleostei**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 255 hal.

Irianto, K. 2006. **Mikrobiologi. Menguak Dunia Mikroorganisme.** Jilid 2. CV. Yrama Widya. Bandung. 304 hal.

Irianto, H.E. dan I. Soesilo. 2007. **Dukungan Teknologi Penyediaan Produk Perikanan**. Makalah Disampaikan pada Seminar Hari Pangan Sedunia di Auditorium II Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu Bogor. 20 hal.

Jawetz, M. and Aldelberg's. 2001. **Mikrobiologi Kedokteran.** Salemba Medika. Jakarta. 528 hal.

Kabata, Z. 1985. **Parasite and Desease of Fish Culture in The Tropics.** International Departement Research Council. London. 318 p.

Kadi, A. 2007. **Beberapa Catatan Kehadiran Marga *Sargassum* di Perairan Indonesia**. Jurnal. Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI. Jakarta. (http: //www.google.co.id, diakses tanggal 22 Januari 2008). 13 hal.

Khopkar, S.M. 2003. **Konsep Dasar Kimia Analitik**. Penerjemah Saptorahardjo, A. Universitas Indonesia Press. Jakarta 429 hal.

Koesharyani, I. 1993. **Patogenesis *Vibrio alginolyticus* Terhadap Pasca Larva Udang Windu**. Prosiding Simposium Perikanan Indonesia Pertama (I). Pusat penelitian dan pengembangan Perikanan. Jakarta. 9 hal.

Lay,B.W. dan Hastowo, S. 1994. **Mikrobiologi**. Rajawali Pers. Jakarta.

Mariyono, A., Wahyudi dan Sutomo. 2002. **Teknik Penanggulangan Penyakit Udang Menyala Melalui Pengendalian Populasi Bakteri di Laboratorium**. Buletin Teknik Pertanian, (Online), Vol.7, No. 1, (www.pustaka-deptan.go.id/publication/bt071028.pdf, diakses tanggal 5 Februari 2008). Hal. 25-27.

Mudjiman, A. 1988. **Budidaya Udang Windu**. Penebar Swadaya. Jakarta. 87 hal.

Natzir, M., 1998. **Metode Penelitian**. Ghal.ia Indonesia. Jakarta. 212 hal.

Novi Nurhayati. 2008. **Identifikasi dan Uji Invitro Bakteri Penyebab Ekor Melepuh pada Lobster Air Tawar (*Cerax quadricarinatus*) Menggunakan Gentacimin.** Skripsi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. Tidak diterbitkan. 72 hal.

Papilaya, E dan Y. Ngili. 2004. **Mengenal Organisme Bioluminenses Laut Indonesia**. (http://www.pikiran-rakyat.com, diakses tanggal 5 Februari 2008). 4 hal.

Pelezar, M. J. dan E.C.S. Chan. 1986. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Jilid 1. Ahli Bahasa: Hadioetomo, R.S., T. Imas, S. S. Trjitrosomo dan S. Lestari. UI Press. Jakarta. 443 hal.

Pelezar, M. J. dan E.C.S. Chan. 2006. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Jilid 2. Ahli Bahasa: Hadioetomo, R.S., T. Imas, S. S. Trjitrosomo dan S. Lestari. UI Press. Jakarta. 997 hal.

Plumeriastuti, H. dan Gunanti, M. 2003. **Gambaran Histopatologis Hepatopankreas Udang Windu yang Dipelihara di Tambak dengan Menggunakan Imunostimulan Dinding Sel Bakteri Vibrio di Lamongan Jawa Timur**. Jurnal Penelitian Media Eksakta Vol. 4 No. 2. hal. 102-107.

Prajitno, A., Herawati, E.Y. dan Hariati, A.M. 1998. **Strategi Pengaturan Salinitas dan Pemberian Serbuk Jamur Merang sebagai Penanggulangan Penyakit Kunang-Kunang (*Vibrio spp*) pada Udang Windu di Mini Backyard**. Laporan Akhir Hasil Penelitian tidak diterbitkan. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 40 hal.

Prajitno, A. 2005. **Diktat Kuliah Parasit dan Penyakit Ikan**. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang. 104 hal.

Prajitno, A. dan Marsoedi. 2007. **Uji Sensitivitas Bio-Aktif Alami *Hal.imeda Opuntia* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara Invitro (Uji Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi*).** Jurnal penelitian Perikanan Vol 10 No. 1, Juni 2007. Hal. 22-27

Prajitno, A. 2007. **Penyakit Ikan-Udang. Bakteri**. Cetakan I. UMM Press. 107 hal.

Raghavendran, H.R.B, Arumugam S. and Thiruvengadam, D. 2004. **Hepatoprotective Nature of Seaweed Alcoholic Extract on Acetaminophen Induced Hepatic Oxidative Strees**. Journal of Health Science, 50 (1) 42-46.

Risjani, Y. 2004. **Potensi Sumberdaya Laut di Jawa Timur dan Jenis-Jenis Ekonomis Penting**. Universitas Brawijaya Fakultas Perikanan. Malang

Rosa, D. 1993. **Teknik Pencegahan Penyakit Vibriosis pada Larva Udang Windu (P. Monodon) Dengan Pengendalian Populasi Bakteri Bercahaya.** Simposium Perikanan Indonesia I. Jakarta 25-27 Agustus 1993. 10 hal.

Riyanto, Rudi. 2007. **Industri Alginat (Peluang dan Potensinya).** (http://www.kabarindonesia.com, diakses tanggal 5 Februari 2008). 1 hal.

Rukyani, A. 2000. **Teknologi Penanggulangan Penyakit White Spot**. Tulisan disampaikan pada pertemuan Dialog Solusi dan Aksi 2000 tentang Penanganan Kematian Udang Windu di Tambak. 13 hal.

Rusdi, I dan Zafran. 2004**. Pengendalian Infeksi *Vibrio harveyi* Bercahaya pada Larva Kepiting Bakau (*Scylla paramamosain*) Menggunakan Bakterin dan Antibiotik**. Jurnal. Balai Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali. Hal. 22-26

Schlagel, H.G dan K. Schmidt. 1994. **Mikrobiologi Umum**. Ahli Bahasa: Tedjo Baskoro. Edisi Keenam. UGM Press. Yogyakarta.

Setiawan, Bambang. 2006. **Pemanfaatan Makroalgae untuk Neutraceoticals dan Agrochemichal.s**. (http: //www. Google.com., diakses tanggal 5 Februari 2008). 1 hal.

Soetomo, H.A. 2002. **Teknik Budidaya Udang Windu**. Sinar Baru Algensindo. Bandung. 180 hal.

Sumargono. 2005. **Pengaruh pemberian Perasan Jahe Merah (Zingiber officinale) dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan Bakteri Vibrio harveyi Secara Invitro.** Skripsi Fakultas Perikanan Uninersitas Brawijaya Malang. Tidak diterbitkan. 71 hal.

Suryati, E. Muliani dan Parenrengi. 1998. **Analisis serta Pemanfaatan Bioaktif Bunga Karang *Hal.ichondria sp*. Yang Aktif Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio* sp. Pada Udang.** Prosiding Simposium Perikanan Indonesia II. Hal. 192-194.

Sutaman. 1993. **Petunjuk Praktis Budidaya Udang Windu Skala Rumah Tangga.** Kanisius. Yogyakarta. 86 hal.

Suyanto, S.R. dan Mudjiman, A. 2003. **Budidaya Udang Windu**. Penebar Swadaya. Jakarta. 213 hal.

Taslihan, A. 1986. **Petunjuk umum Cara Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Air, Udang dan Ikan di Air Payau**. Balai Budidaya Air Payau. Jepara

Volk, W.E dan M.F. Wheeler. 1993. **Mikrobiologi Dasar.** Alih bahasa: Markham. Edisi ke-5. Erlangga. Jakarta. 341 hal.

Woodland, J. 2004. **Bacteriology**. Second Edition. NWFSH Laboratory Procedures Manual. Tidak diterbitkan. 42 hal.

Yahya, Sukoso, Aulanni'am, Bagus S.B.U dan J. Basmal. 2002. **Identifikasi dan Purifikasi Bioaktif Hasil Ekstrak Jaringan Tentakel Ubur-Ubur Laut sebagai Bakterisida Selektif untuk *Vibrio harveyii* Penyebab Penyakit pada Larva Udang.** Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Vol. 14 –No.1. Hal. 106-119.

Yuasa, K. Novita P., Meliya B. dan Edy B.K. 2003. **Panduan Diagnosa Penyakit Ikan.** Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Air Tawar di Indonesia. Balai Budidaya Air Tawar Jambi. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan dan Japan International Cooperation Agency JICA. 75 hal.