

**ANTAGONISTIK BAKTERIN *Vibrio parahaemolyticus*  
TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA *In Vitro***

**SKRIPSI  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN  
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN**

**OLEH :**

**NAMA : MUHAMAD AMRIN  
NIM : 0310850052**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
MALANG  
2010**

**SKRIPSI**

**ANTAGONISTIK BAKTERIN *Vibrio parahaemolyticus*  
TERHADAP BAKTERI *Vibrio harveyi* SECARA *In Vitro***

**Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Pada  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang**

**OLEH :**

**NAMA : MUHAMAD AMRIN  
NIM : 0310850052**

**Dosen Penguji I**

**(Dr. Ir. SRI ANDAYANI, MS)**

**Tanggal :**

**Dosen Penguji II**

**(Ir. M. RASYID FADHOLI, MSi)**

**Tanggal :**

**Menyetujui;  
Dosen Pembimbing I**

**(Dr. Ir. MAFTUCH, MSi)**

**Tanggal :**

**Dosen Pembimbing II**

**(ATING YUNIARTI, S.Pi, M.Aqua)**

**Tanggal :**

**Mengetahui;  
Ketua Jurusan MSP**

**(Dr. Ir. HAPPY NURSYAM, MS)**

**Tanggal :**

## RINGKASAN

**MUHAMAD AMRIN.** Antagonistik Bakterin *Vibrio parahaemolyticus* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi* Secara *In Vitro* dibawah bimbingan **Dr. Ir. MAFTUCH, Msi** dan **ATING YUNIARTI, S.Pi. M. Aqua**

---

---

Dalam usaha peningkatan ekspor sumberdaya nonmigas, udang merupakan salah satu komoditas penting untuk penambahan cadangan devisa Negara. Udang sangat digemari oleh konsumen negara maju, karena kadar kolesterolnya yang lebih rendah dari pada hewan mamalia, maupun karena rasanya yang sangat gurih.

Dalam usaha budidaya, keberhasilan di bidang produksi ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain: penyediaan benih, kualitas air, pengelolaan dan penyakit. Penyakit merupakan kendala utama dalam keberhasilan produksi yang sangat merugikan. Penyakit ikan adalah sesuatu yang menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Timbulnya serangan penyakit dikolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak serasi ini akan menyebabkan stres pada ikan, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan mudah diserang penyakit, akhirnya timbul kematian.

Oleh karena itu, perlu adanya metode yang aman bagi biota dan lingkungannya. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan sifat antagonisme antar bakteri atau komunitas bakteri. Terdapat beberapa tahapan untuk mendapatkan bakteri penghambat yang mampu menekan perkembangan bakteri patogen yang diawali dengan uji tantang antara kandidat bakteri penghambat dengan bakteri patogen hasil isolasi. Selanjutnya, dilakukan uji *postulat koch* yaitu menguji kembali bakteri patogen hasil isolasi yang berasal dari ikan yang sakit ke ikan yang sehat. Tahapan selanjutnya adalah mencari jumlah formulasi yang tepat bakteri penghambat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri-bakteri patogen pada budidaya udang dalam skala laboratorium.

Penelitian ini dilaksanakan selama bulan Juni - Juli 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Tujuan dari diadakannya penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* serta untuk mengetahui konsentrasi optimum bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Pada dasarnya tujuan daripada eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberi perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol perbandingan.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa bakterin *Vibrio parahaemolyticus* pada konsentrasi tertentu melalui uji antimikroba (uji cakram) mempunyai potensi antagonistik terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan terbentuknya daerah hambat (berwarna bening) di sekitar kertas cakram. Data besarnya diameter daya hambat dari perlakuan dalam penelitian ini adalah; perlakuan A (dosis 25 mg/ml) dengan besar daerah hambat 6.03 mm (ulangan 1), 6.03 mm (ulangan 2) dan 6.01 mm (ulangan 3); perlakuan B (dosis 50 mg/ml) dengan besar daerah hambat 6.08 mm (ulangan 1), 6.07 mm (ulangan 2) dan 6.08 mm

(ulangan 3); perlakuan C (dosis 75 mg/ml) dengan besar daerah hambat 6.11 mm (ulangan 1), 6.11 mm (ulangan 2) dan 6.13 mm (ulangan 3); perlakuan D (dosis 100 mg/ml) dengan besar daerah hambat 11.43 mm (ulangan 1), 11.37 mm (ulangan 2) dan 11.48 mm (ulangan 3); perlakuan kontrol (dosis 0 mg/ml) dengan besar daerah hambat 6.00 mm (ulangan 1), 6.01 mm (ulangan 2) dan 6.00 mm (ulangan 3).

Pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* akan terhambat pada konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* 100 mg/ml (perlakuan D) dengan diameter daerah hambat sebesar 11.34 mm (ulangan 1), 11.37 mm (ulangan 2), 11.48 mm (ulangan 3) dan rata-rata ulangan sebesar 11.39 mm. Sedangkan pada perlakuan yang lain yaitu pada perlakuan A (dosis 25 mg/ml), perlakuan B (dosis 50 mg/ml), perlakuan C (dosis 75 mg/ml) dan perlakuan kontrol (dosis 0 mg/ml), bakterin *vibrio parahaemolyticus* tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi*.

Dari data yang telah diperoleh dari penelitian tersebut, dapat disarankan bahwa untuk menghambat pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi* dapat dilakukan dengan pemberian bakterin bakteri *vibrio parahaemolyticus*.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat Rahman dan Rahim serta Hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan Laporan Praktek Kerja Lapang dengan judul "Teknik Pembenihan Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Di PT. Tri Windu Kencana Seraya, Desa Wotgaleh, Kecamatan Yosowilangun, Kabupaten Lumajang, Propinsi Jawa Timur". Shalawat serta salam selalu tercurah kepada Rasulullah Nabi Besar Muhammad SAW sebagai pelita yang menuntun manusia untuk menuju keselamatan. Laporan Praktek Kerja Lapang ini merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya Laporan Praktek Kerja Lapang ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada :

- Kedua orang tua (Bapak dan Mama) yang telah memberikan ridho, do'a, serta perjuangan materi maupun moril yang tidak terhingga. Tidak lupa juga, ucapan terima kasih penulis haturkan kepada uak, paman serta bibi yang sudah penulis anggap seperti orang tua sendiri atas semua ridho, do'a, dorongan moril maupun materi serta semangat yang telah diberikan.
- Adik-adikku yang tercinta dan tersayang (Tuti, Fatu, Yuni, Heru dan Anas) serta sepupu-sepupuku (Arif, Dila, Iffa, Zaqi, Rahmi, Mief, Bang Subhan, Kak Sri dan semuanya yang tidak dapat disebutkan satu per satu) yang selalu menjadi sumber motivasi, inspirasi serta semangat untuk terus menyelesaikan perjuangan ini.

- Ir. Maheno Sri Widodo, MS, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan motivasi, arahan, wejangan serta bimbingan yang menumbuhkan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
- Ir. Arning Wilujeng E, MS, selaku dosen penguji.
- Semua teman-teman seperjuangan BP angkatan 2003 (One For All, All For One) yang selalu memberikan bantuan tenaga, dorongan moril serta motivasi kepada penulis.
- Teman-teman BP angkatan 2004, 2005 dan 2006 yang selalu memberikan semangat serta bantuan buku-bukunya.
- Teman-teman alumni atau yang masih berada di kost DONAL atas dukungannya (Cupez, Iqbal, Birri, Bunyani, Zainul, Mas Ayi', Pak Lek, Mas Wahid, Mas Pendik dan Mas Eko).
- Special Thank's untuk Lia atas printernya dan motivasi serta semangat yang selalu diberikan.
- Semua pihak yang turut membantu, yang tak bisa disebutkan satu per satu.

Akhirnya penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi bagi semua pihak yang berminat dan membutuhkannya.

Malang, 1 Juni 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>ix</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Kegunaan Penelitian.....	4
1.5. Hipotesis.....	4
1.6. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1. Antagonisme Antar Bakteri .....	5
2.2. Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	6
2.2.1. Klasifikasi Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	6
2.2.2. Karakteristik Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	7
2.2.3. Habitat dan Penyebaran Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	7
2.2.4. Patogenitas Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	8
2.3. Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	8
2.3.1. Klasifikasi Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	8
2.3.2. Karakteristik Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	9
2.3.3. Habitat dan Penyebaran Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	9
2.3.4. Patogenitas Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	10
2.3.5. Faktor Virulensi Bakteri.....	11
2.4. Uji Efektivitas Antimikroba Secara <i>In Vitro</i> .....	12
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN</b> .....	<b>14</b>
3.1. Materi Penelitian.....	14

3.1.1. Bahan .....	14
3.1.2. Alat .....	14
3.2. Metode Penelitian .....	15
3.3. Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1. Persiapan Bahan dan Alat.....	17
3.3.2. Pembuatan Media Agar .....	18
3.3.3. Pemiakan Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan <i>Vibrio harveyi</i> .....	20
3.3.4. Pembuatan Bakterin.....	22
3.3.5. Pelaksanaan Penelitian.....	22
3.3.6. Parameter Uji.....	24
3.3.7. Analisa Data .....	24
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>26</b>
4.1. Data Hasil Kultur Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> dan Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	26
4.2. Data Hasil Uji Cakram Bakterin <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Terhadap <i>Vibrio harveyi</i> .....	28
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>35</b>
5.1. Kesimpulan.....	35
5.2. Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>39</b>



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	7
2. Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	9
3. Pembagian zona sensitif, intermediet dan resisten pada uji cakram .....	13
4. Tata Letak Media Perlakuan .....	16
5. Warna Koloni <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	26
6. Warna Koloni <i>Vibrio harveyi</i> .....	27
7. Sel bakteri <i>V. parahaemolyticus</i> .....	27
8. Sel bakteri <i>V. harveyi</i> .....	27
9. Proses Uji Hambat Skala Laboratorium dengan Cawan.....	29
10. Diameter Daerah Hambat Perlakuan A.....	29
11. Diameter Daerah Hambat Perlakuan B.....	29
12. Diameter Daerah Hambat Perlakuan C.....	29
13. Diameter Daerah Hambat Perlakuan D.....	29
14. Diameter Daerah Hambat Kontrol.....	30
15. Pengukuran diameter Daerah Hambat.....	30
16. Grafik Persamaan Regresi.....	34



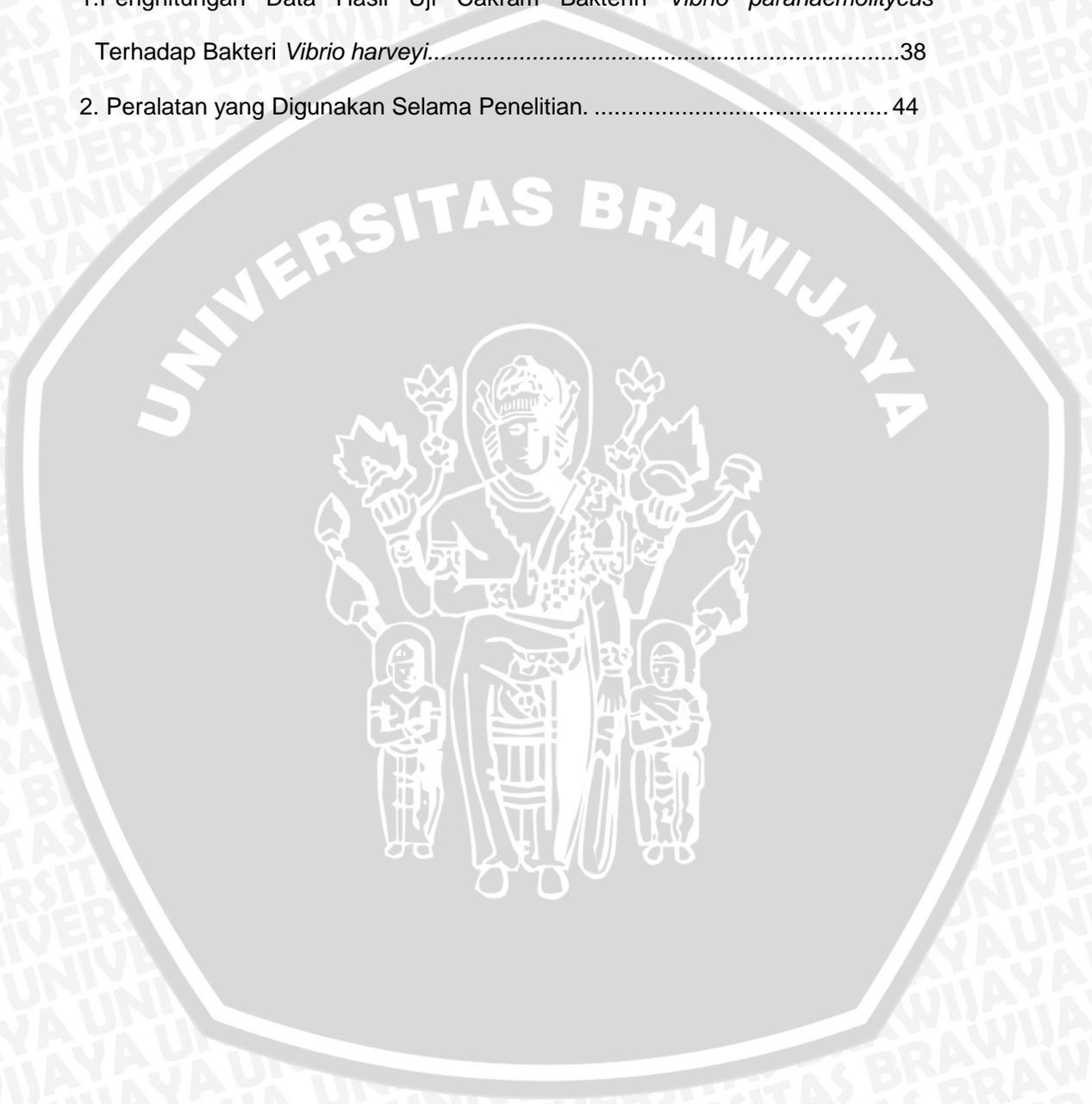
## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TSA.....	18
2. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TCBSA.....	19
3. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TSB.....	20
4. Data Hasil Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri <i>Vibrio Harveyi</i> Oleh Bakterin <i>Vibrio Parahaemolyticus</i> .....	30
5. Analisa Keragaman.....	32
6. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).....	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Penghitungan Data Hasil Uji Cakram Bakteri <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Terhadap Bakteri <i>Vibrio harveyi</i> .....	38
2. Peralatan yang Digunakan Selama Penelitian. ....	44



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Dalam usaha peningkatan ekspor sumberdaya nonmigas, udang merupakan salah satu komoditas penting untuk penambahan cadangan devisa Negara. Udang sangat digemari oleh konsumen negara maju, karena kadar kolesterolnya yang lebih rendah dari pada hewan mamalia, maupun karena rasanya yang sangat gurih (Darmono, 1991).

Dalam usaha budidaya, keberhasilan di bidang produksi ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain: penyediaan benih, kualitas air, pengelolaan dan penyakit. Penyakit merupakan kendala utama dalam keberhasilan produksi yang sangat merugikan. Menurut Afrianto dan Liviawaty (1999), penyakit ikan adalah sesuatu yang menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Timbulnya serangan penyakit dikolam merupakan hasil interaksi yang tidak serasi antara ikan, kondisi lingkungan dan organisme penyakit. Interaksi yang tidak serasi ini akan menyebabkan stres pada ikan, sehingga mekanisme pertahanan diri yang dimilikinya menjadi lemah dan mudah diserang penyakit, akhirnya timbul kematian.

Udang didapatkan dari hasil penangkapan di laut dan juga dari hasil budidaya di tambak. Dengan dilarangnya jaring trawl (pukat harimau) di Jawa, Bali dan Sumatera, serta dibatasi jumlahnya hingga hanya 1.000 unit saja di Indonesia bagian timur, maka hasil tangkapan (produksi) udang dari laut akan menurun. Sebab hasil utama dari alat jaring trawl adalah udang. Untuk mengatasi penurunan produksi udang tersebut, maka pemerintah pada dewasa ini sedang giat menggalakkan program budidaya udang di tambak (Mudjiman, 1988).

Dari sekitar 135.000 hektar tambak udang di seluruh Indonesia, lebih dari 100.000 hektar di antaranya hingga kini dibiarkan telantar. Ini terjadi karena petani tambak udang masih trauma akibat serangan virus udang yang sangat ganas beberapa tahun lalu, harga yang fluktuatif, dan rawannya keamanan usaha tambak udang, terutama pascapanen (Anonymous, 2005).

Dalam perkembangannya masalah gagal panen maupun penurunan hasil produksi merupakan masalah utama yang mangancam keberhasilan budidaya udang di Indonesia. Penyakit adalah salah satu faktor kendala dalam keberhasilan produksi pada budidaya udang. Penyakit pada ikan dan udang dapat diklasifikasikan dalam dua kelompok, yaitu; penyakit non infeksi dan penyakit infeksi. Penyakit non infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh gangguan non patogen (nutrisi, kualitas air, racun dan penanganan), sedangkan penyakit infeksi adalah penyakit yang disebabkan oleh organisme patogen (jamur, bakteri dan virus) sehingga dapat menular dari satu inang ke inang yang lain (Murdjani, 2003).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio* merupakan masalah utama yang sangat serius. Penularannya dapat melalui air atau kontak langsung antar ikan dan menyebar sangat cepat pada ikan-ikan yang dipelihara pada kepadatan tinggi. Infeksi bakteri *Vibrio* dapat menyebabkan erithema di sekitar sirip, perut dan mulut; luka nekrotik otot perut; rectum menjadi terbelah dan menyebabkan mortalitas hingga 30% - 90% (Maftuch, 2002).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio* dikenal dengan nama *Luminescent Vibriosis* atau penyakit udang menyala atau disebut juga sebagai penyakit kunang-kunang. Penyakit ini dapat menginfeksi udang dari zoea sampai tahap post larva. Penyebab dari penyakit *Luminescent Vibriosis* diidentifikasi sebagai bakteri *Vibrio harveyi* (Zapran, Roza, Koesharyani dan Johnny, 1998 dalam Winarti, 2004).

Upaya yang dilakukan untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri dari genus *Vibrio* dapat dilakukan secara rutin dengan pemberian berbagai jenis antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang berlebihan dan terus-menerus dengan dosis yang kurang tepat dapat menyebabkan bakteri *Vibrio* menjadi resisten (Rukyani, 1992 dalam Widanarni, 2000).

Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian metode lain yang aman bagi biota dan lingkungannya. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan sifat antagonisme antar bakteri atau komunitas bakteri. Terdapat beberapa tahapan untuk mendapatkan bakteri penghambat yang mampu menekan perkembangan bakteri patogen yang diawali dengan uji tantang antara kandidat bakteri penghambat dengan bakteri patogen hasil isolasi. Selanjutnya, dilakukan uji *postulat koch* yaitu menguji kembali bakteri patogen hasil isolasi yang berasal dari ikan yang sakit ke ikan yang sehat. Tahapan selanjutnya adalah mencari jumlah formulasi yang tepat bakteri penghambat yang mampu menekan pertumbuhan bakteri-bakteri patogen pada budidaya udang dalam skala laboratorium (Hatmandi, 2009).

## 1.2. Rumusan Masalah

Adapun perumusan masalah yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berapa konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.
2. Sejauh mana efektifitas bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

### 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari diadakannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui apakah bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi optimum bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

### 1.4. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi akademisi maupun masyarakat secara umum dalam memberikan data yang tepat dalam hal penggunaan dosis atau konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang sesuai sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dalam uji antagonistik antar bakteri.

### 1.5. Hipotesis

$H_0$  : Diduga bahwa ujiantang bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap *Vibrio harveyi* tidak memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

$H_1$  : Diduga bahwa ujiantang bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap *Vibrio harveyi* memberikan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

### 1.6. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama bulan Juni - Juli 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Antagonisme Antar Bakteri

Dalam suatu lingkungan yang kompleks yang berisi berbagai macam organisme, aktivitas metabolisme suatu organisme akan berpengaruh terhadap lingkungannya. Mikroorganisme yang berada dalam lingkungan yang kompleks senantiasa berhubungan baik dengan faktor biotik dan faktor abiotik. Hubungan mikroorganisme dapat terjadi baik dengan sesama mikroorganisme, hewan ataupun dengan tumbuhan. Hubungan ini membentuk suatu pola interaksi yang spesifik yang dikenal dengan simbiosis (Kusnadi, 2003).

Interaksi antar mikroorganisme yang menempati suatu habitat yang sama akan memberikan beberapa pengaruh bagi mikroorganisme itu sendiri. Adapun pengaruh yang ditimbulkan yaitu berupa pengaruh positif (saling menguntungkan), pengaruh negatif (saling merugikan) dan netral (tidak ada pengaruh yang berarti). Ada beberapa macam hubungan antar spesies bakteri di alam, antara lain ialah komensalisme, mutualisme serta antagonisme atau amensalisme. Komensalisme merupakan suatu interaksi antara mikroorganisme dengan organisme lain dimana satu jenis dapat diuntungkan namun jenis lain tidak dirugikan. Sedangkan interaksi antar mikroorganisme yang dapat saling menguntungkan disebut dengan simbiosis mutualisme dan hubungan mikroorganisme yang dengan organisme lain yang saling menekan pertumbuhannya disebut dengan antagonisme (Kusnadi, 2003).

Bentuk interaksi ini merupakan hubungan asosial. Biasanya spesies yang satu menghasilkan suatu senyawa kimia yang dapat meracuni spesies lain yang menyebabkan pertumbuhan spesies lainnya terganggu. Senyawa kimia yang dihasilkan dapat berupa sekret atau metabolit sekunder. Biasanya bentuk interaksi ini muncul karena ada beberapa jenis mikroorganisme yang menempati

ruang dan waktu yang sama, sehingga mikroorganisme tersebut harus memperebutkan nutrisi untuk tetap dapat tumbuh dan berkembangbiak. Akhirnya dari interaksi semacam ini memberikan efek beberapa mikroorganisme tumbuh dengan optimal sementara organisme yang lainnya tertekan pertumbuhannya (Kusnadi, 2003).

Antagonisme dapat terjadi antara mikroba ada yang bersifat menguntungkan dan mikroba yang bersifat pathogen. Mikroba antagonis merupakan suatu jasad renik yang dapat menekan, menghambat dan memusnahkan mikroba lainnya. Mikroba antagonis ini dapat berupa bakteri, jamur atau cendawan. Mikroba yang bermanfaat juga termasuk mikroba antagonis yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan aktif biopestisida untuk pengendalian hama dan penyakit tanaman (Anonymous, 2009).

## **2.2. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus***

### **2.2.1. Klasifikasi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus***

Adapun klasifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* menurut Anonimous (2010), yaitu:

- Kingdom : Bakteri
- Filum : Proteobakteri
- Class : Gamma Proteobakteri
- Ordo : Vibrionales
- Family : Vibrionaceae
- Genus : *Vibrio*
- Spesies : *Vibrio parahaemolyticus*

Di bawah ini merupakan gambar dari bakteri *Vibrio parahaemolyticus*:



Gambar 1. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

### 2.2.2. Karakteristik Biologi Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

*Vibrio parahaemolyticus* adalah bakteri yang menyebabkan penyakit kolera. *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri gram negatif. Hal ini sesuai dengan bentuk tubuh bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang seperti tanda koma. *Vibrio parahaemolyticus* secara alami, banyak terdapat di perairan pantai di Amerika Serikat dan Canada. Pertumbuhannya akan semakin tinggi selama musim panas, sehingga bakteri ini digolongkan dalam organisme halofilik (Anonymous, 2010).

### 2.2.3. Habitat dan Penyebaran Bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

Bakteri *Vibrio* merupakan genus yang dominan pada lingkungan air payau dan estuari. Pada umumnya bakteri *Vibrio* menyebabkan penyakit pada hewan di perairan payau (Feliarta, 1999).

Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri ini berkisar antara 30°C - 35°C, sedangkan pada suhu 4°C - 45°C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55°C bakteri akan mengalami kematian. Media yang cocok bagi pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yaitu medium yang bersifat isotonis terhadap isi sel bakteri. Bakteri ini bersifat halofit, yaitu bakteri yang mampu

hidup pada salinitas tinggi. Pertumbuhan optimum bakteri ini pada salinitas 20 - 30 ppt dan dapat tumbuh dengan baik pada kondisi alkali dengan pH optimum berkisar antara 7,5 – 8,5 (Prajitno, 2008).

Bakteri *Vibrio* banyak ditemukan di habitat-habitat aquatik dengan kisaran salinitas yang tinggi. Umumnya terdapat pada permukaan intestinal hewan laut sedangkan beberapa spesies ditemukan di air tawar. Bakteri dari spesies *Vibrio* secara langsung akan menimbulkan penyakit (patogen) yang dapat menyebabkan kematian biota laut yang ada di perairan dan secara langsung bakteri yang masuk dan terakumulasi ke dalam tubuh biota laut seperti ikan atau udang akan di konsumsi oleh manusia, sehingga dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit pada manusia (Bauman dan Lee, 1984).

#### **2.2.4. Patogenitas Bakteri *Vibrio parahaemolyticus***

Patogenitas adalah kemampuan suatu bakteri tertentu untuk menyebabkan suatu penyakit (Jewetz, 2001). Bakteri *Vibrio sp* tergolong dalam bakteri gram negatif, bersifat bakteri patogen dan dapat menular melalui persinggungan dengan ikan atau udang yang sakit melalui media air. Serangan yang ditimbulkan bakteri ini dapat melalui insang, kulit dan saluran pencernaan. Pada tahap selanjutnya dapat merusak serabut jaringan yang terdapat pada otot dan tulang rawan dan pada tahap kritis dapat menyebabkan kematian pada induk ataupun larva ikan dan udang (Bullock, 1987).

### **2.3. Bakteri *Vibrio harveyi***

#### **2.3.1. Klasifikasi Bakteri *Vibrio harveyi***

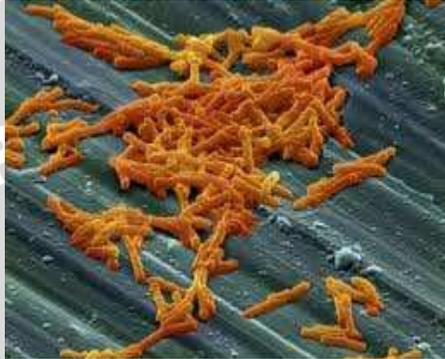
Menurut Untung (2007), klasifikasi bakteri *Vibrio harveyi* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bakteri

Divisi : Protozoa

Kelas : Schizomycetes  
Ordo : Eubacterials  
Famili : Vibrionaceae  
Genus : Vibrio  
Spesies : *Vibrio harveyi*

Di bawah ini merupakan gambar bakteri *Vibrio harveyi*:



Gambar 2. Bakteri *Vibrio harveyi*

### 2.3.2. Karakteristik Bakteri *Vibrio harveyi*

Bakteri *Vibrio harveyi* tergolong dalam famili Vibrionaceae yang mempunyai bentuk tubuh seperti batang dan memiliki kemampuan untuk bergerak karena dilengkapi dengan flagel. Bakteri *Vibrio harveyi* termasuk ke dalam golongan bakteri gram negatif, bersifat oksidatif dan fluktuatif anaerob. Bakteri ini mempunyai ukuran lebar sekitar  $0,5 \mu\text{m} - 0,8 \mu\text{m}$  dan panjang antara  $1,4 \mu\text{m} - 2,6 \mu\text{m}$  (Kordi, 2004 dalam Firdiansyah, 2007).

### 2.3.3. Habitat dan Penyebaran Bakteri *Vibrio harveyi*

Menurut Murdjani (2002), penyakit *vibriosis* pertama kali ditemukan oleh Canesterini pada tahun 1983 di Italia. Saat ini, *vibriosis* merupakan penyakit yang umum dijumpai dan merupakan masalah yang serius di seluruh usaha budidaya air laut maupun air payau.

Bakteri *Vibrio harveyi* termasuk bakteri yang bersifat *halofilik*, yaitu bakteri yang dapat tumbuh dengan rentang toleransi salinitas antara 5 ppt – 80 ppt dan mampu tumbuh optimal pada salinitas antara 20 ppt – 40 ppt. Suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri ini berkisar antara 30° C - 35° C, sedangkan pada suhu 4° C - 45° C bakteri tidak dapat tumbuh dan pada suhu 55° C bakteri akan mengalami kematian (Taslihan, 1992 dalam Untung, 2007).

Pada umumnya bakteri *Vibrio harveyi* dapat tumbuh dengan baik dan cepat dalam medium kultur standar. Medium yang dapat digunakan untuk kultur bakteri *Vibrio harveyi* antara lain: medium ORI yang mengandung 0,1 % pepton, 0,2 % protease dan 0,2 % ekstrak khamir; medium CEY yang mengandung 20 gram/liter asam amino, 6 gram/liter ekstrak khamir dan 2,5 gram/liter NaCl; medium NaCl tanpa nutrisi agar; medium TGY (*Tryptone Glucose Yeast*); medium BHI (*Broth Heart Infusion*); medium TSA (*Tryptic Soya Agar*) serta medium TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*) (Taslihan, 1992 dalam Untung, 2007).

#### **2.3.4. Patogenitas Bakteri *Vibrio harveyi***

Bakteri *Vibrio* merupakan penyebab utama penyakit pada udang dan dapat berperan sebagai patogen primer ataupun sekunder. Sebagai patogen primer, *Vibrio* masuk melalui kontak langsung dengan organisme, sedangkan sebagai patogen sekunder, *Vibrio* menginfeksi organisme yang terlebih dahulu terinfeksi penyakit lain. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini pada umumnya menyerang udang pada stadia *mysis* sampai awal pasca larva (Taslihan, 1992 dalam Untung, 2007).

### 2.3.5. Faktor Virulensi pada Bakteri

Menurut Bellanti (1993), virulensi bakteri atau kemampuan bakteri untuk menyebabkan infeksi dan penyakit ditentukan oleh beberapa faktor, diantaranya ialah:

#### a) Perlekatan (*Adhesin*) pada Permukaan Sel Epitel

Pertama-tama bakteri akan menembus garis pertahanan primer (kulit utuh atau membran mukosa) agar dapat menimbulkan infeksi pada mikroorganisme, kemudian melekat pada permukaan sel epitel, traktus respiratoris (saluran pernapasan) dan traktus gastrointestinal (saluran pencernaan).

#### b) Penembusan dan Invasi Jaringan

Setelah terjadi patogen dengan hospes yang rentan, maka diperlukan invasi untuk menimbulkan penyakit. Faktor-faktor yang menambah virulensi berbeda pada berbagai jenis organisme. Pada infeksi bakteri akut, faktor-faktor ini terdiri dari pembentukan kapsul dan produksi enzim yang mempermudah invasi.

#### c) Produksi Bahan-Bahan Toksin

Bila bakteri sudah berhasil menginvasi hospes, bahan toksin dapat dihasilkan oleh organisme. Ada dua jenis toksin, yaitu; eksotoksin dan endotoksin. Eksotoksin merupakan protein yang dihasilkan oleh bakteri sebagai produk ekstraseluler yang mempunyai kemampuan bekerja sebagai racun sel sedangkan endotoksin tersusun dari kompleks lipida-polisakarida.

#### d) Kemampuan Mengadakan Perubahan Genetik

Faktor yang membantu pemeliharaan virulensi suatu organisme pada populasi adalah kemampuan patogen tertentu untuk melakukan mutasi secara periodik. Mutasi patogen ini bertanggung jawab pada gelombang baru epidemi. Mutasi yang serupa antar patogen lain memungkinkan pemeliharaan strain virulen dalam alam.

#### 2.4. Uji Efektivitas Antimikroba Secara *In Vitro*

Untuk menentukan konsentrasi atau dosis obat (bakterin) yang tepat untuk menghambat atau mematikan pertumbuhan bakteri atau kuman, perlu dilakukan uji efektivitas. Metode yang digunakan untuk menguji efektivitas antimikroba pada umumnya bisa dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode pengenceran dan metode kertas cakram.

Metode pengenceran pada dasarnya untuk menentukan secara kuantitatif konsentrasi terkecil suatu obat yang dapat menghambat pertumbuhan kuman atau bakteri dalam media cair oleh suatu obat yang dicampurkan ke dalam media (Bonang dan Koeswardono, 1982).

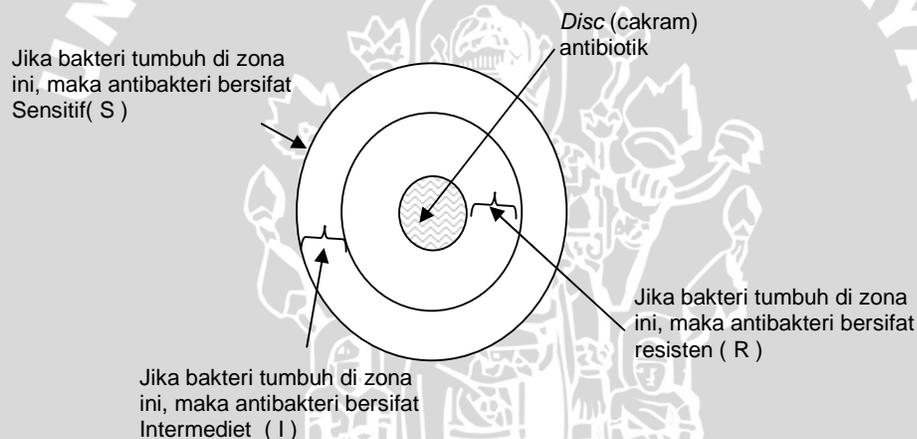
Bahan antibakteri bersifat menghambat bila digunakan dalam konsentrasi kecil, namun bila dalam konsentrasi tinggi dapat mematikan. Salah satu cara untuk menguji bahan antibakteri dapat dilakukan dengan uji cakram. Pengujian antibakteri dengan metode cakram bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa persen (%) bakteri yang bersifat bakteristatik maupun bakterisidal. Pada uji cakram, lempengan agar disemai dengan mikroorganisme yang diuji. Cakram yang berisi antibakteri diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri akan terlihat sebagai wilayah yang jernih. Lebar diameter daerah hambatan ini tergantung pada daya serap obat ke dalam media agar dan kepekaan bakteri terhadap obat tersebut (Lay, 1994).

Menurut Edberg (1986) pengujian dengan metode cakram akan menghasilkan sensitifitas terhadap antibakteri berdasarkan difusi antibakteri dari kertas cakram ke dalam media agar. Nilainya, disebut dalam istilah organisme yang sensitif (S), resisten (R) dan intermediate atau tidak ditentukan (I).

Metode uji kertas cakram menghasilkan kategori sensitifitas terhadap anti mikroba berdasarkan difusi anti mikroba dari kertas cakram ke dalam agar.

Nilainya dilaporkan dalam istilah organisme yang sensitif (S) bila daerah hambat obat terhadap bakteri lebih atau sama dengan 17 mm, intermediet (I) bila daerah hambat obat terhadap bakteri antara 13-17 mm dan resisten (R) bila daerah hambat obat terhadap bakteri kurang dari atau sama dengan 13 mm. Adapun cara peletakan kertas cakram yaitu : jarak kertas cakram minimal 15 mm, jika jumlah cakram lebih dari satu (jarak cakram minimal 24 mm), saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun, pengukuran diameter hambatan dalam milimeter (Lay, 1994).

Pembagian zona sensitif (S), intermediet (I) dan resisten (R) pada uji cakram ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 3. Pembagian zona sensitif, intermediet dan resisten pada uji cakram (Tendencia and Pitogo, 2004)**

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1. Materi Penelitian

##### 3.1.1. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Biakan murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus*
- b. Biakan murni bakteri *Vibrio harveyi*
- c. Media-media yang digunakan untuk pembiakan bakteri, yaitu media padat berupa Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar (TCBSA), Tryptic Soya Agar (TSA), *Tryptic Soya Broth* (TSB)
- d. NaCl dan KCl
- e. Aquades
- f. Kertas saring
- g. Aluminium foil
- h. Pewarna gram
- i. Tissue
- j. Kapas

##### 3.1.2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam menunjang penelitian ini ialah sebagai berikut:

- |                  |                     |
|------------------|---------------------|
| a. Petri disk    | k. Bunsen           |
| b. Pinset        | l. Pipet ukur       |
| c. Spatula       | m. Erlenmeyer       |
| d. Jarum ose     | n. Gelas ukur       |
| e. Tabung reaksi | o. Lemari pendingin |

- |                       |                |
|-----------------------|----------------|
| f. Rak tabung reaksi  | p. Autoclave   |
| g. Timbangan analitik | q. Mikroskop   |
| h. Pipet tetes        | r. JMikroskop  |
| i. Inkubator          | s. Cover glass |
| j. Karet penghisap    | t. Objek glass |

### 3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Pada dasarnya tujuan daripada eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta seberapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberi perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen dan menyediakan kontrol perbandingan. Teknik pengumpulan data dilakukan dengan observasi langsung atas pengamatan langsung (Nazir, 1988).

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 4 perlakuan dan 1 kontrol serta dilakukan 3 ulangan dari masing-masing perlakuan tersebut. Rumus dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) menurut Sastrosupadi (1973) adalah sebagai berikut :

$$Y = \mu + T + \varepsilon$$

Dengan; Y = Nilai Pengamatan

$\mu$  = Nilai rata-rata Harapan

T = Pengaruh Faktor Perlakuan

$\varepsilon$  = Gallat

Rincian ketiga perlakuan yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) tersebut adalah:

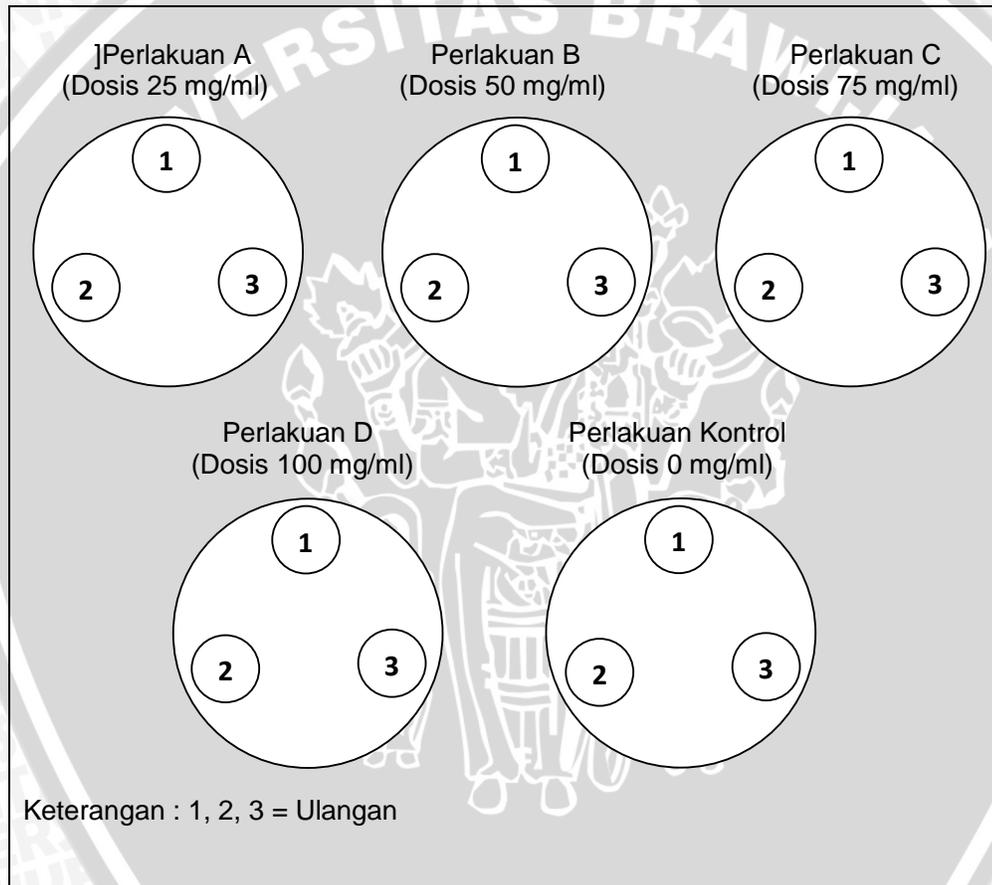
1. Perlakuan A, pemberian bakterin dengan dosis 25 mg/ml.
2. Perlakuan B, pemberian bakterin dengan dosis 50 mg/ml.

3. Perlakuan C, pemberian bakterin dengan dosis 75 mg/ml.
4. Perlakuan D, pemberian bakterin dengan dosis 100 mg/ml.
5. Kontrol (K), pemberian bakterin dengan dosis 0 mg/ml atau perlakuan tanpa pemberian bakterin.

Adapun tata letak media perlakuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada

Gambar 4 :

**Gambar 4. Tata Letak Media Perlakuan**



### 3.3. Prosedur Penelitian

#### 3.3.1. Persiapan Bahan dan Alat

##### 1. Persiapan Bahan

Persiapan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu dimulai dengan:

- a. Dilakukan identifikasi dan pembiakan bakteri *Vibro parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*.
- b. Disiapkan medium untuk pembiakan bakteri, yang berupa medium *Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar* (TCBSA), *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan *Tryptone Soya Agar* (TSB).
- c. Disiapkan bahan-bahan lain seperti: NaCl, KCl, aquadest, kertas saring, aluminium foil, pewarna gram, tissue dan kapas.

##### 2. Persiapan Alat

Persiapan alat yang akan digunakan dalam penelitian ini, dimulai dengan:

- a. Disiapkan alat-alat seperti: mikroskop, inkubator, obyek glass, autoclave, erlenmeyer, timbangan analitik, bunsen serta jarum ose yang akan digunakan untuk mengidentifikasi bakteri.
- b. Dicuci alat-alat yang akan digunakan dengan menggunakan deterjen.
- c. Dikeringkan alat-alat tersebut dan dibungkus dengan menggunakan kertas koran, kemudian diikat dengan benang.
- d. Dituangkan air secukupnya ke dalam autoclave dan dimasukkan alat-alat yang telah dibungkus tadi ke dalam autoclave.
- e. Ditutup autoclave dan dinyalakan pada suhu 121° C dan tekanan 1 atm, dipertahankan selama 15 menit.
- f. Dimatikan autoclave setelah 15 menit dan ditunggu hingga suhunya mencapai 0°C.

- g. Dikeluarkan alat-alat dari autoclave, kemudian disimpan dalam inkubator.

### 3.3.2. Pembuatan Media Agar

#### 1. Pembuatan Medium TSA (Tryptone Soya Agar)

Adapun takaran dan formula pembuatan medium TSA (Tryptone Soya Agar) dapat dilihat pada Tabel 3 (Hadioetomo, 1985).

**Tabel 1. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TSA**

Formula	Gram per Liter
Tryptone	15
Soya Peptone	5
Sodium Chloride	5
Agar	15

- 1 Ditimbang 40 gram bubuk medium TSA.
- 2 Dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- 3 Ditambahkan aquadest sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
- 4 Dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 100<sup>0</sup> C selama 15 menit.
- 5 Digoyang erlenmeyer selama proses pemanasan untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
- 6 Disterilisasi medium dalam erlenmeyer tersebut dalam autoclave suhu 121<sup>0</sup> C tekanan 2 Atm selama 15 menit.
- 7 Setelah disterilisasi medium didinginkan sampai suhu ± 45<sup>0</sup> C.
- 8 Dituangkan medium pada cawan steril ± 20 ml per cawan Petri.
- 9 Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi 37<sup>0</sup> C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium.
- 10 Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

## 2. Pembuatan Medium TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*)

Adapun takaran dan formula pembuatan medium TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TCBSA**

Formula	Gram per Liter
Yeast Extract Powder	5
Bacteriological Pepton	10
Sodium thosulphate	10
Sodium Citrat	10
Ox Bile	8
Sucrose	20
Sodium Chloride	10
Ferrc Citrat	1
Bro-thymol blue	0,04
Thymol-blue	0,04
Agar No.1	14

(Hadioetomo, 1985)

Prosedur Pembuatan :

1. Ditimbang 88 gram bubuk medium TCBSA.
2. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
3. Ditambahkan aquadest sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
4. Dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 100<sup>0</sup> C selama 15 menit.
5. Digoyang erlenmeyer selama proses pemanasan untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
6. Dituangkan medium pada cawan steril  $\pm$  20 ml, tutup cawan dibiarkan sedikit terbuka untuk mengeluarkan uap panas.
7. Jika sudah mengeras medium dalam cawan tersebut diinkubasi 37<sup>0</sup> C selama 24 jam untuk uji sterilitas medium.
8. Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

### 3. Pembuatan Medium TSB (Tryptone Soya Broth)

Adapun takaran dan formula pembuatan medium TSB (Tryptone Soya Broth) dapat dilihat pada Tabel 4 (Hadioetomo, 1985).

**Tabel 3. Takaran dan Formula Pembuatan Medium TSB**

Formula	Gram per Liter
Pandreatic Digest of Casein	17
Papaic Digest of Soybean Meal	3
Sodium Chloride	5
Dibasic Potassium phosphate	2,5
Dextrose	2,5

- 1 Ditimbang 40 gram bubuk medium TSB.
- 2 Dimasukkan ke dalam erlenmeyer.
- 3 Ditambahkan aquadest sedikit-sedikit sambil digoyang sampai 1 liter.
- 4 Dimasukkan dalam waterbath dengan suhu 100<sup>0</sup> C selama 15 menit.
- 5 Digoyang erlenmeyer selama proses pemanasan untuk membantu pelarutan (supaya homogen).
- 6 Medium dalam erlenmeyer tersebut disterilisasi dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup> C pada tekanan 2 Atm selama 15 menit.
- 7 Jika melewati uji sterilitas medium sudah siap untuk digunakan.

#### 3.3.3. Pembiakan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*

Menurut Pelczar dan Chan (1986), ada dua jenis pembiakan bakteri yang menggunakan media, yaitu pembiakan bakteri dengan media agar dan media cair.

- a) Pembiakan bakteri dengan media agar ialah dengan mengambil biakan murni bakteri dengan menggunakan jarum ose, setelah itu dilakukan inokulasi pada media TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose*

Agar). Selanjutnya media TCBSA (*Thiosulphate Citrate Bilesalt Sucrose Agar*) diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 35° C selama 24 jam.

- b) Pembiakan bakteri dengan media cair yaitu: disiapkan media yang telah disterilkan dengan autoclave. Media yang telah dingin tersebut dimasukkan bakteri dari biakan murni sebanyak 5 ose. Kemudian dinkubasi pada suhu 35° C selama 18 – 24 jam, selanjutnya hasil biakan disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4° C.

### 3.3.3.1. Penanaman Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* pada Media

Menurut Cappuccino dan Sherman (1998), prosedur penanaman bakteri adalah sebagai berikut:

- a. Disiapkan cawan petri berisi media TSA (*Trypton Soya Agar*) yang telah disterilkan.
- b. Diambil koloni bakteri *Vibrio* dari biakan murni dengan jarum ose dengan memanaskan ujungnya, kemudian menggoreskannya pada media secara zig-zag.
- c. Ditutup cawan petri kemudian sekeliling tutup dipanaskan diatas api bunsen.
- d. Dibungkus cawan petri yang telah ditanami bakteri *Vibrio* dengan kertas koran, kemudian dimasukkan cawan ke dalam lemari pendingin.

### 3.3.3.2. Kultur Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*

Kultur bakteri dilakukan dengan menumbuhkan pada medium TSA (*Trypton Soya Agar*). Menurut Cappuccino dan Sherman (1998), perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan pengenceran sebagai berikut:

- a. Diambil 1 ose biakan bakteri *Vibrio* kemudian ditanam pada media TSA (*Trypton Soya Agar*).
- b. Diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 28°C.
- c. Dilakukan pengenceran bakteri sampai 9 kali (pengenceran 10<sup>9</sup>).
- d. Diambil 1 ml dari pengenceran 10<sup>1</sup> sampai 10<sup>9</sup>, kemudian ditanam dalam media TSA (*Trypton Soya Agar*) dan ditumbuhkan selama 24 jam.
- e. Dihitung jumlah koloni yang tumbuh, didapatkan pada pengenceran 10<sup>5</sup> yang memenuhi kriteria kepadatan 30 - 300 koloni dan jika tidak ada maka dipilih yang mendekati.
- f. Digunakan bakteri hasil pengenceran untuk penelitian utama.

$$\text{Jumlah bakteri (sel/ml)} = 10 \times \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}$$

#### 3.3.4. Pembuatan Bakterin

Pembuatan bakterin menggunakan metode dari Joly, E., Jane Kirk, Keith Jermyn and Jeffrey Williams (1990). Bakterin dibuat dengan cara mematikan *Vibrio parahaemolyticus* dengan cara dipanaskan pada suhu 100° C selama 10 menit. Setelah itu, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit.

#### 3.3.5. Pelaksanaan Penelitian

##### 1. Uji Cakram

Uji cakram merupakan pengujian untuk antimikrobal dengan mengukur daerah hambat yang terjadi di sekitar kertas cakram yang mengandung antimikrobal sesuai dengan dosis perlakuan. Konsentrasi terkecil yang digunakan pada uji cakram ditentukan berdasarkan hasil uji MIC (*Minimal Inhibitor Concentration*), dimana 1 % merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Pleczar dan Chan, 1986).

Lempengan agar pada uji cakram disemai dengan mikroorganisme penguji, cakram yang berisi anti mikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat anti mikroba terlihat sebagai wilayah jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme. Lebar daerah hambatan ini tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan bakteri terhadap obat tersebut (Lay, 1994).

Cara cakram menghasilkan kategori sensitifitas terhadap anti mikroba berdasarkan difusi anti mikroba dari kertas cakram ke dalam agar. Nilainya dilaporkan dalam istilah organisme yang sensitif (S) bila daerah hambat obat terhadap bakteri lebih atau sama dengan 17 mm, intermediet (I) bila daerah hambat obat terhadap bakteri antara 13-17 mm dan resisten (R) bila daerah hambat obat terhadap bakteri kurang dari atau sama dengan 13 mm. Adapun cara peletakan kertas cakram yaitu : jarak kertas cakram minimal 15 mm, jika jumlah cakram lebih dari satu (jarak cakram minimal 24 mm), saat meletakkan kertas cakram tidak boleh ada pergeseran sedikitpun, pengukuran diameter hambatan dalam milimeter (Lay, 1994).

Menurut Cappuccino dan Sherman (1998), prosedur Uji Cakram (Uji Antimikroba) dapat dilakukan dengan metode sebagai berikut:

1. Ditandai lempeng agar Muller Hinton Agar (MHA) dengan nama, tanggal dan mikroorganisme yang akan diuji.
2. Dichelupkan kapas lidi (cotton swab) steril dalam suspensi biakan uji, dengan OD : 0,1 CFU/ml, kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut.
3. Disebar mikroorganisme pada seluruh permukaan lempeng agar dengan cara dioleskan, untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata, kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian diputar lempeng agar 90° dan

dibuat olesan kedua , dengan lempeng agar diputar 45<sup>0</sup> dan dibuat olesan ketiga.

4. Dibiarkan lempeng agar mengering kurang lebih 5 menit, kemudian ditempatkan kertas cakram yang sudah direndam dengan sampel yang diujikan pada permukaan lempeng agar.
5. Dalam 1 lempeng agar dapat digunakan 5-6 macam dosis perlakuan, jarak antara kertas cakram harus cukup luas , sehingga wilayah jernih tidak saling berhimpitan yang nantinya akan menyulitkan dalam proses pengukuran zona hambat.
6. Kertas cakram ditekan dengan pinset, tidak perlu terlalu keras karena akan merusak permukaan agar.
7. Lempeng yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada suhu optimal tumbuh dari bakteri patogen yang sedang diujikan.
8. Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata, dan terlihat adanya zona jernih dipermukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan mengukur diameternya.

### 3.3.6. Parameter Uji

Sebagai parameter uji utama yang digunakan dalam penelitian ini ialah data yang diperoleh dari hasil pengukuran daerah hambatan bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap pertumbuhan *Vibrio harveyi* pada masing-masing perlakuan yang terlihat di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong.

### 3.3.7. Analisa Data

Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 3 kali ulangan untuk masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui pengaruh

perlakuan digunakan analisis keragaman atau uji F. Apabila nilai F berbeda nyata atau sangat nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) untuk menentukan perlakuan yang memberi respon terbaik. Respon terbaik yang digunakan pada taraf 5% (derajat kepercayaan 95%) dan 1% (derajat kepercayaan 99%). Untuk mengetahui hubungan antara perlakuan dengan hasil yang dipengaruhi digunakan analisa regresi yang bertujuan untuk menentukan sifat dari fungsi regresi yang memberikan keterangan mengenai pengaruh perlakuan yang terbaik pada respon. Selanjutnya untuk mengetahui bentuk kerja antara perlakuan dengan penentuan penelitian dilakukan uji polinomial orthogonal (Sastrosupadi, 1973).



#### 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### 4.1. Data Hasil Kultur *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi*

Isolat murni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* didapatkan dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo, kemudian dibiakkan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Hasil kultur bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* diidentifikasi berdasarkan sifat gram dan morfologi koloni. Koloni bakteri yang dikultur pada media TCBSA pada suhu kamar selama 24 jam, selanjutnya diamati bentuk koloni bakteri serta bentuk tepi pertumbuhan bakteri. Koloni *Vibrio parahaemolyticus* pada media TCBSA akan menyebar, tepi tajam, permukaan halus, berwarna kuning. Bentuk koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 5. Warna Koloni *Vibrio parahaemolyticus*

Menurut Lee, Moon Y.S dan Lee Shang (2008), setelah 18 – 24 jam diinkubasi dalam media TCBSA, bakteri *Vibrio parahaemolyticus* akan memfermentasi sukrosa dan menghasilkan koloni berwarna hijau. Sedangkan bakteri *Vibrio harveyi* yang tumbuh pada media padat TCBSA secara visual membentuk koloni berwarna kuning dan koloni membulat dengan permukaan cembung. Warna kuning pada koloni *Vibrio harveyi* yang dibiakkan pada media TCBSA disebabkan karena kemampuan bakteri *Vibrio harveyi* dalam

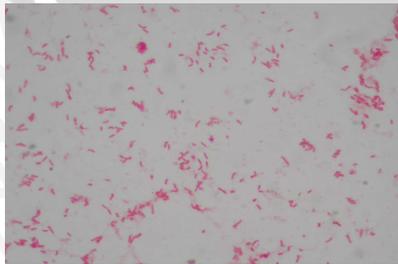
memanfaatkan sukrosa. Bentuk koloni bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 5.



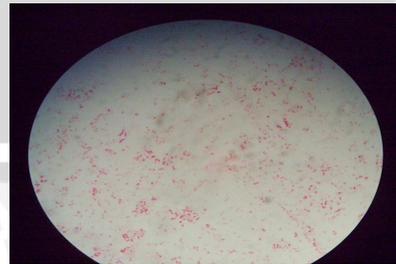
**Gambar 6. Warna koloni *Vibrio harveyi***

Bakteri *Vibrio harveyi* yang mampu menguraikan sukrosa, koloninya akan tampak kuning pada media TCBSA dan yang tidak mampu menguraikan sukrosa maka koloninya akan berwarna hijau pada media TCBSA (Zafran dan Koesharyani (1997) dalam Winarti (2004)).

Morfologi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* dapat diamati dengan metode pewarnaan gram. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram untuk mengetahui apakah biakan tergolong bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. Hasil isolasi terhadap *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* dari media TSA dan TSB menunjukkan bahwa bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Vibrio harveyi* merupakan bakteri gram negatif dan berbentuk batang. Deskripsi bakteri dapat diamati dengan menggunakan mikroskop Olympus perbesaran 1000x setelah dilakukan pewarnaan gram yang ditunjukkan pada Gambar 7 dan Gambar 8 di bawah ini :



**Gambar 7. Sel bakteri *V. parahaemolyticus***



**Gambar 8. Sel bakteri *V. harveyi***

Dalam proses pewarnaan gram, sel bakteri golongan gram positif memiliki afinitas yang besar terhadap kristal violet sehingga mampu mempertahankan cat tersebut dan tidak mengalami pelunturan dengan alkohol, sehingga dengan pengecatan safranin tidak akan terwarnai. Sebaliknya, bakteri golongan gram negatif yang memiliki afinitas rendah terhadap cat kristal violet akan luntur dengan pemberian alkohol sehingga dapat terwarnai oleh safranin (Taslihan (1986) dalam Winarti (2004)).

Bakteri gram positif dan bakteri gram negatif dibedakan berdasarkan warna sel setelah perlakuan pengecatan, untuk bakteri gram positif akan berwarna biru atau ungu sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah. Perbedaan ini disebabkan karena dinding sel bakteri gram positif lebih tebal serta kandungan lemak yang relatif lebih sedikit dibanding dengan bakteri gram negatif yang memiliki dinding sel lebih tipis serta kandungan lemak lebih banyak (Taslihan (1986) dalam Winarti (2004)).

Setelah didapatkan isolat bakteri, maka dilakukan perbanyakkan bakteri pada media cair menggunakan TSA dan dikultur selama 24 jam dalam cawan petri. Untuk bakteri *Vibrio parahaemolyticus* media TSA yang digunakan sebanyak 250 ml dengan jumlah bakteri sebanyak 1 ose. Sedangkan untuk bakteri *Vibrio harveyi* media BHIB yang digunakan hanya 100 ml.

#### **4.2. Data Hasil Uji Cakram Bakterin *Vibrio parahaemolyticus* Terhadap *Vibrio harveyi***

Ujiantang dilakukan untuk melihat daya hambat kandidat bakteri penghambat terhadap pertumbuhan bakteri patogen hasil isolasi (Hatmanti, Ruyitno dan Julinasari, 2009). Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui formulasi jumlah bakteri penghambat yang diperlukan agar dapat menghambat

pertumbuhan bakteri patogen. Uji ini dilakukan dalam skala laboratorium menggunakan cawan.

Proses uji cakram bakterin *Vibrio parahaemolyticus* untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9. Proses Uji Hambat Skala Laboratorium dengan Cawan**

Uji tantangan (*inhibition test*) dilakukan menggunakan *paperdisc method* (metode kertas cakram). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya zona hambatan (*clearzone, halo*) di sekeliling kertas cakram. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terdapatnya zona hambatan di sekeliling kertas cakram. Zona hambat *Vibrio parahaemolyticus* terhadap bakteri *Vibrio harveyi* dapat dilihat pada gambar berikut.



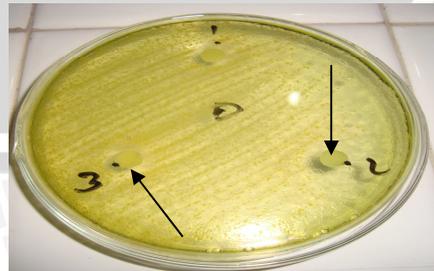
**Gambar 10. Diameter Daerah Hambat Perlakuan A**



**Gambar 11. Diameter Daerah Hambat Perlakuan B**



**Gambar 12. Diameter Daerah Hambat Perlakuan C**



**Gambar 13. Diameter Daerah Hambat Kontrol**



Gambar 14. Diameter Daerah Hambat Perlakuan D



Gambar 15. Pengukuran Diameter Daerah Hambat

Hasil pengamatan daerah hambatan pada uji cakram menunjukkan bahwa pemberian bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dengan konsentrasi yang berbeda mempengaruhi lebar daerah hambatan yang terbentuk. Terlihat jelas dari gambar hasil pengamatan, bahwa penghambatan pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* oleh bakterin *Vibrio parahaemolyticus* efektif pada dosis 100 mg/ml atau bakterin *Vibrio parahaemolyticus* tanpa pengenceran dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*.

Data hasil daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* oleh bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini :

**Tabel 4. Data Hasil Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio Harveyi* Oleh Bakterin *Vibrio Parahaemolyticus***

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A = 25 mg/ml	6,03	6,03	6,01	18,07	6,02
B = 50 mg/ml	6,08	6,07	6,08	18,23	6,08
C = 75 mg/ml	6,11	6,11	6,13	18,35	6,12
D = 100 mg/ml	11,34	11,37	11,48	34,19	11,40
G				88,84	
Kontrol	6,00	6,01	6,00	18,01	6,033

Dari tabel diatas dapat dilihat daerah hambatan tertinggi yang dihasilkan oleh bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, terdapat

pada dosis 100 mg/ml dengan rata-rata sebesar 2,8 mm, sedangkan daerah hambat terkecil terdapat pada dosis 25 mg/ml dengan rata-rata sebesar 6,02 mm. Dari data yang didapatkan, terlihat jelas bahwa semakin tinggi konsentrasi atau dosis bakterin *Vibrio parahaemolyticus*, maka diameter daerah hambatan yang diperoleh akan semakin besar pula. Hal ini disebabkan oleh semakin tingginya konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dari perlakuan maka jumlah senyawa antibakterinya semakin tinggi, sehingga daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* akan semakin tinggi pula. Menurut Bonang dan Koeswardono (1982), lebar daerah hambatan yang terbentuk pada uji cakram tergantung pada daya serap obat ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut.

Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian, besarnya daerah hambat bakterin *vibrio parahaemolyticus* terhadap pertumbuhan bakteri *vibrio harveyi* dari seluruh perlakuan yaitu tidak lebih besar dari 13 mm, itu berarti bakterin *vibrio parahaemolyticus* bersifat resisten. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994), nilai zona hambat antibakteri akan bersifat sensitif (S) bila daerah hambat obat terhadap bakteri lebih atau sama dengan 17 mm, intermediet (I) bila daerah hambat obat terhadap bakteri antara 13-17 mm dan resisten (R) bila daerah hambat obat terhadap bakteri kurang dari atau sama dengan 13 mm.

Untuk mengetahui lebih lanjut bagaimana pengaruh antagonistik pemberian konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang berbeda terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, maka dilakukan analisa keragaman dengan hasil seperti pada Lampiran 2.

Setelah dilakukan perhitungan dari data hasil pengamatan uji antagonistik bakterin *Vibrio parahaemolyticus* dengan konsentrasi berbeda terhadap daya

hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi*, maka diperoleh hasil berupa tabel sidik ragam seperti yang tercantum pada Tabel 6 dibawah ini :

**Tabel 5. Analisa Keragaman**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	63,79	21,2633	17010,7**	4,07	7,59
Acak	8	0,01	0,00125			
Total	11	63,80				

Keterangan : \*\* = F. Hit > F tabel 5% = berbeda sangat nyata

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam pada tabel 7 dapat diketahui bahwa uji antagonistik bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan konsentrasi berbeda menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata (*highly significant*). Hal ini dapat ditunjukkan dengan nilai F hitung (17010,7) yang lebih besar dari pada F 1% (7,59) dan F 5% (4,07).

Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui perbedaan setiap perlakuan dan untuk mengetahui pada perlakuan mana (konsentrasi berapa) yang menunjukkan perbedaan, maka dilakukan dengan taraf nyata 0,05% (selang kepercayaan 95%) dan taraf nyata 0,01% (selang kepercayaan 99%). Adapun hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk perlakuan pemberian bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan konsentrasi berbeda disajikan pada Tabel 7.

**Tabel 6. Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)**

Perlakuan	A = 6,02	B = 6,08	C = 6,12	D = 11,4	Notasi
A = 6,02	-	-	-	-	a
B = 6,08	0,06 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
C = 6,12	0,1 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	-	-	a
D = 11,4	5,38**	5,32**	5,28**	-	b

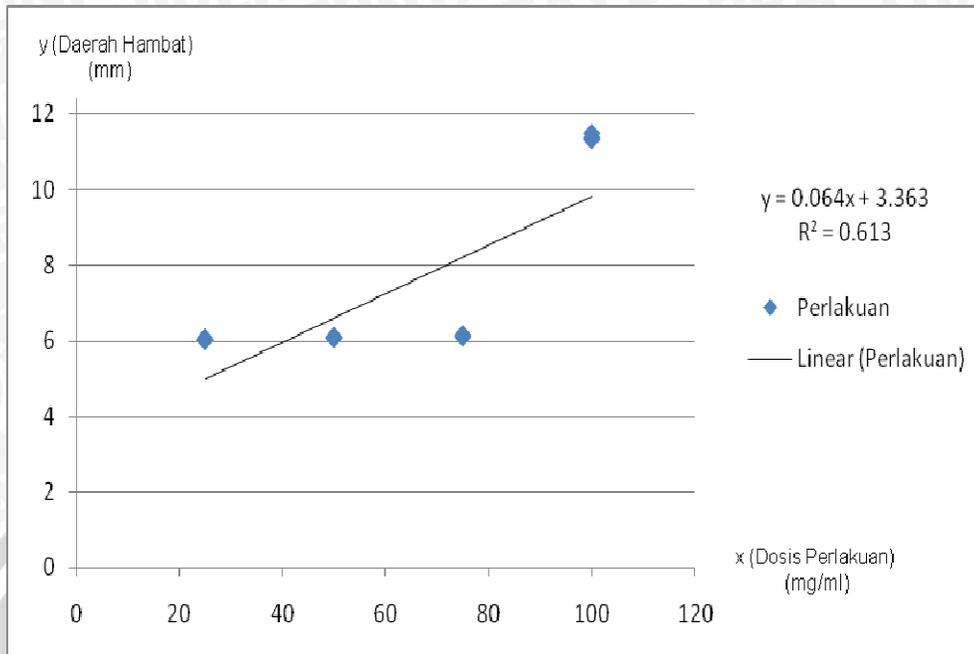
Keterangan : \*\* = berbeda sangat nyata

Dari hasil perhitungan uji Beda Nyata Terkecil (BNT), menunjukkan bahwa perlakuan D (dosis 100 mg/ml) memberikan hasil yang berbeda sangat nyata terhadap perlakuan A (dosis 25 mg/ml), perlakuan B (dosis 50 mg/ml) dan perlakuan C (dosis 75 mg/ml). Namun, pada perlakuan A (dosis 25 mg/ml), perlakuan B (dosis 50 mg/ml) dan perlakuan C (dosis 75 mg/ml), menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Jika dilihat dari data di atas, maka dapat dibuat sebuah pernyataan yaitu; semakin tinggi pemberian konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus*, maka diameter daerah hambat yang terbentuk akan semakin besar atau sebaliknya, semakin kecil konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang diberikan, maka diameter daerah hambat yang terbentuk akan semakin kecil.

Adanya daerah hambat yang semakin besar akibat pemberian konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* yang semakin tinggi, membuktikan bahwa pada bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terdapat zat antibakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan respon imun inang. Pernyataan ini diperkuat oleh literature, menurut Rozi (2008), bahwa salah satu cara pengendalian bakteri patogen adalah mempertemukan dengan bakteri antagonisnya dalam perannya sebagai agen pengendali hayati melalui mekanisme menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan patogen, mempertinggi respon imun inang, meningkatkan kualitas air dan adanya interaksi dengan fitoplankton.

Setelah dilakukan perhitungan persamaan regresi, maka didapatkan persamaan regresi seperti terlihat pada Gambar 8 di bawah ini :



**Gambar 16. Grafik Persamaan Regresi**

Dari hasil perhitungan konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap diameter daerah hambat dengan analisa regresi menunjukkan bahwa nilai regresi  $R^2 = 0,99974$  dengan persamaan  $Y = -4,817 + 19,392x$ . Berdasarkan hasil analisa tersebut, tampak bahwa besarnya diameter daerah hambat yang terbentuk dipengaruhi oleh konsentrasi bakterin *Vibrio parahaemolyticus* sebesar 99,99% dan sisanya 0,01% dipengaruhi oleh variabel lain.

Dari grafik tersebut diatas dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi konsentrasi antibakteri yang digunakan, maka kemampuan untuk membunuh bakteri semakin cepat. Tetapi pada grafik tersebut tidak bisa menentukan konsentrasi optimal dari pemberian bakterin *Vibrio parahaemolyticus*, karena dosis 0 mg/ml hingga 100 mg/ml bersifat bakteriostatik (hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* tanpa membunuhnya), tetapi tidak bersifat bakteriosidal (membunuh bakteri) (Jawetz, Melnick dan Adelberg, 1982).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

- a. Bakterin *Vibrio parahaemolyticus* pada konsentrasi tertentu melalui uji antimikroba (uji cakram) mempunyai potensi antagonistik terhadap bakteri *Vibrio harveyi*, karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* dengan terbentuknya daerah hambat (berwarna bening) di sekitar kertas cakram.
- b. Pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* akan terhambat pada dosis bakterin *Vibrio parahaemolyticus* 100 mg/ml (perlakuan D) dengan diameter daerah hambat sebesar 11,34 mm (ulangan 1), 11,37 mm (ulangan 2), 11,48 mm (ulangan 3) dan rata-rata ulangan sebesar 11,39 mm.

### 5.2. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan dan data yang telah diperoleh, dapat disarankan untuk perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang antagonistik bakterin *Vibrio parahaemolyticus* terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio harveyi* secara *In Vivo* pada organisme yang terinfeksi oleh bakteri *Vibrio harveyi*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto dan E. Liviawaty, 1992. **Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan**. Kanisius: Yogyakarta, 89 hal
- Anonymus, 2005. **Lebih 100.000 Ha Tambak Udang Dibiarkan Telantar**. www.Kompas.com.
- Anonymous. 2009. Antagonisme Antar Bakteri. (<http://www.google.com>, diakses pada tanggal 30 Juli 2010), 1 hal.
- Anonymous, 2010. **Vibrio parahaemolyticus**. (<http://www.google.com>, diakses pada tanggal 28 Mei 2010), 1 hal.
- Bauman dan Lee. 1984. **Facultatively Anaerobic Gram Negative Rods: Genus I Vibrio**. In King N. R and Holt J. G (Ed). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. William and Wilkins Baltimore USA. P, hal. 518-538.
- Bellanti, 1993. **Immunologi Umum III**. Gajah Mada University Press: Yogyakarta, 647 hal.
- Bonang, G dan E. S. Koeswardono. 1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik**. Gramedia. Jakarta, 199 hal.
- Brooks. 2000. **Mikrobiologi Kedokteran**. Salemba Medika: Jakarta, 528 hal.
- Bullock, G.L. D. A. Conroyand and S.F. Sniezko. 1971. **Bacterial Disease of Fish**. TF.H. Publication . England, 145 hal.
- Cappuccino, James G. and Natalie Sherman. 1998. **MICROBIOLOGY: A Laboratory Manual**. Benjamin/Cummings Science Publishing 2725 Sand Hill Road Menlo Park: California, 477 hal.
- Darmono. 1991. **Budidaya Udang Penaeus**. Kanisius: Yogyakarta, 104 hal.
- Edberg, S. C. 1986. **Tes Kerentanan Antimikroba. Dalam : Antibiotika dan Infeksi**. Alih bahasa : Chandra Sanusi. CV EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta, hal 199-211.
- Fakhrudin Al Rozi, 2008. **Penerapan Budidaya Udang Ramah Lingkungan dan Berkelanjutan Melalui Aplikasi Bakteri Antagonis Untuk Biokontrol Vibriosis Udang Windu (*Penaeus monodon*)** Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Feliarta. 1999. **Tes Kerentanan Mikroba dalam Antibiotik dan Infeksi**. Alih Bahasa Chandra Sanusi. CV. EGC. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta, 219 hal.
- Hatmanti, A., Ruyitno Nuchsin dan Julinasari Dewi, 2009. **Scening Bakteri Penghambat Untuk Bakteri Penyebab Penyakit Pada Budidaya Ikan**

**Kerapu dari Perairan Banten dan Lampung.** Makara, Sains, Vol. 13, No. 1, April 2009: hal. 81-86.

Jawetz E., J. L. Melnick dan E. A. Adelberg's. 1982. **Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. Edisi 14.** Alih Bahasa: G. Bonang. ECG. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta, 864 hal.

Jewetz, Melnick dan Adelberg's. 2001. **Mikrobiologi Kedokteran.** Penerjemah: Eddy M, Kuntaman, Eddy Warsito. Penerbit Salemba Medika: Jakarta.

Joly, E., Jane Kirk, Keith Jermyn and Jeffrey Williams. 1990. **Addition of Heat-Killed Bacteria to Dictyostelium Transformats.**

Kokarkin, C, dkk., 2002. **Teknis Operasional Budidaya Udang Rostris Dengan Sistem Resirkulasi.** Departemen Kelautan dan Perikanan Budidaya Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau: Jepara, 151 hal.

Kordi, 2004 dalam Skripsi Firdiansyah, 2007. **Pengaruh Pemberian Alkalid Ubur-Ubur (*Bougainvillia sp.*) Melalui Pakan Terhadap Perubahan Histopatologi Hati dan Ginjal Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang Terinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*.**

Kusnadi, dkk. 2003. **Mikrobiologi.** Bandung: JICA.

Lay, B. W. 1994. **Analisis Mikroba di Laboratorium.** Penerbit PT Raja Grafindo Persada, Jakarta 168 hal.

Lee Y. D., Moon Y. S., Lee Shang, Yang Y. Hee, Lee. M.S. 2008. **Sheptic Shock due to *Vibrio alginolyticus* in a Cirrhotic Patient:** The First Case in Korea. Yonsei Med J 49(2):329-332, 2008. DOI 10.3349/ymj

Maftuch. 2002. **Karakteristik Protein Adhesin Omp *Vibrio alginolyticus* dan Antibodi Hasil Induksinya Serta Pengaruhnya Terhadap Respon Imun Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*).** Disertasi Program Doktor. Universitas Brawijaya: Malang.

Mudjiman, A. 1988. **Budidaya Udang Putih.** Penebar Swadaya: Jakarta, 45 hal.

Murdjani. 2002. **Identifikasi dan Patologi Bakteri *Vibrio alginolyticus* Pada Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*).** Disertasi Program Pasca Sarjana. Universitas Brawijaya: Malang

Nazir. 1988. **Metode Penelitian.** Penerbit Ghalia: Jakarta, 662 hal.

Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1986. **Dasar-Dasar Mikrobiologi.** Penerbit Universitas Indonesia Press: Jakarta, 441 hal.

Prajitno, Arief. 2008. **Penyakit Ikan – Udang: Bakteri.** Penerbit Universitas Negeri Malang (UM Press): Malang, 107 hal.

Sastrosupadi, A. 1973. **Statistik Percobaan.** Lembaga Pengembangan Tanaman Industri. Balai Pengembangan Penelitian Pertanian: Malang

- Slavik. 2004. **Antimicrobial Pharmacodynamics CSHP BC CS**. Power Point Slides, 60 hal.
- Surakhmad, W. 1990. **Pengantar Penelitian Ilmiah. Dsar dan Teknik**. Edisi Ketujuh. Bandung, 127 hal.
- Suryabrata. 1988. **Metode Penelitian**. Rajawali: Jakarta.
- Suryadi , Yadi dan M. Machmud M. 2008. **Seleksi dan Karakterisasi Mikroba Antagonis**. (<http://www.pustaka-deptan.go.id/publikasi/wr262044.pdf><http://www.pustaka-deptan.go.id/publikasi/wr262044.pdf> diakses pada tanggal 26 April 2008).
- Taslihan, 1986 dalam Winarti, S., 2004. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachta Indica*) Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Skripsi Program S1, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Brawijaya Malang
- Taslihan, 1992 dalam M Untung Kurnia Agung .2007. **Penelusuran Efektifitas Beberapa Bahan Alam Sebagai Kandidat Antibakteri Dalam Mengatasi Penyakit Vibriosos Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*)**. Suatu Kajian Kepustakaan Makalah. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjajaran Jatinangor: Semarang.
- Tendencia and Pitogo, 2007. **Bacterial Diseases**. [www.rfdp.seafdec.org.ph/](http://www.rfdp.seafdec.org.ph/)
- Rukyani, 1992 dalam Widanarni. 2000. **Studi Mekanisme Perlekatan *Vibrio sp.* Pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) untuk Penapisan Bakteri Biokontrol**. Makalah Falsafah Sains (PPS 702) Program Pasca Sarjana-S3. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Winarsih. 2003. **Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Kedokteran**. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang: Malang.
- Winarti S., 2004. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachta Indica*) Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Skripsi Program S1, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Brawijaya Malang.
- Zafran, D. Roza dan I. Koesharyani. 1997 dalam Winarti S., 2004. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Nimba (*Azadirachta indica*) Dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri *Vibrio harveyi* Secara In Vitro**. Skripsi Program S1, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan – Universitas Brawijaya Malang.

## LAMPIRAN

Lampiran 1. Penghitungan Data Hasil Uji Cakram Bakterin *Vibrio parahaemolyticus* Terhadap Bakteri *Vibrio harveyi*

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata-Rata
	1	2	3		
A = 25 mg/ml	6,03	6,03	6,01	18,07	6,02
B = 50 mg/ml	6,08	6,07	6,08	18,23	6,08
C = 75 mg/ml	6,11	6,11	6,13	18,35	6,12
D = 100 mg/ml	11,34	11,37	11,48	34,19	11,40
G				88,84	
Kontrol	6,00	6,01	6,00	18,01	6,033

## Perhitungan :

- Faktor Koreksi (FK) =  $\frac{G^2}{n} = \frac{88,84^2}{12} = \frac{7892,54}{12}$
- = 657,71
- JK Total =  $(6,032+6,032+6,012+...+911,482) - 657,71$   
= 63,80
- JK Perlakuan =  $\left[ \left( \frac{18,07^2 + 18,23^2 + 18,35 + 34,19^2}{3} \right) - 657,71 \right]$   
= 721,50 - 657,71  
= 63,79
- JK Acak = JK Total - JK Perlakuan  
= 63,80 - 63,79 = 0,01

• **Tabel Analisa Keragaman :**

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F.Hit	F5%	F1%
Perlakuan	3	63,79	21,2633	17010,7**	4,07	7,59
Acak	8	0,01	0,00125			
Total	11	63,80				

\*\* = F. Hit > F tabel 5% = berbeda sangat nyata

$$\begin{aligned}
 SED &= \sqrt{\frac{2KT.acak}{r}} = \sqrt{\frac{2 \times 0,00125}{3}} \\
 &= \sqrt{0,0025} \\
 &= 0,05
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 5\% &= t \text{ table } 5\%(\text{db acak}) \times SED \\
 &= 2,306 \times 0,05 \\
 &= 0,1153
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 BNT \ 1\% &= t \text{ table } 1\%(\text{db acak}) \times SED \\
 &= 3,355 \times 0,05 = 0,16775
 \end{aligned}$$

• **Tabel Uji BNT :**

Perlakuan	A = 6,02	B = 6,08	C = 6,12	D = 11,4	Notasi
A = 6,02	-	-	-	-	a
B = 6,08	0,06 <sup>ns</sup>	-	-	-	a
C = 6,12	0,1 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	-	-	a
D = 11,4	5,38**	5,32**	5,28**	-	b

\*\* = berbeda sangat nyata

• **Polinomial Ortogonal :**

Perlakuan	Data (Ti)	Linier	Kuadratik	Kubik
A = 25 mg/ml	18,070	-3	1	-1
B = 50 mg/ml	18,230	-1	-1	3
C = 75 mg/ml	18,350	1	-1	-3
D = 100 mg/ml	34,190	3	1	1
Q		48,48	15,68	15,76
Kr		60	12	60
JK		39,1718	20,4885	4,13963

• **Tabel Sidik Ragam Regresi :**

Sumber Keragaman	db	Jk	Kt	F Hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	63,79	21,2633	17010,7	4,07	7,59
Linier	1	39,17	39,1718	31337,5		
Kuadratik	1	20,49	20,4885	16390,8		
Kubik	1	4,14	4,13963	3311,7		
Acak	8	0,01	0,00125			
Total	11	63,80				

$$R^2 \text{ Linier} = \frac{JK \text{ linier}}{JK \text{ Total korelasi}}$$

$$= \frac{39,17}{39,17 + 0,01}$$

$$= 0,99974$$

$$R^2 \text{ Kuadratik} = \frac{JK \text{ kuadratik}}{JK \text{ Total korelasi}}$$

$$= \frac{20,49}{20,49 + 0,01}$$

$$= 0,99951$$

$$R^2 \text{ Kubik} = \frac{JK.kubik}{JK.Totalkorelasi}$$

$$= \frac{4,14}{4,14+0,01} = 0,9975$$

• **Tabel Persamaan Regresi Linier :**

Perlakuan	X	Y	XY	X <sup>2</sup>
A	0,25	18,07	4,518	0,0625
B	0,50	18,23	9,115	0,25
C	0,75	18,35	13,763	0,5625
D	1,00	34,19	34,190	1
Total	2,50	88,840	61,585	1,875
Rata-Rata	0,63	7,40		

$$b_1 = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$$

$$= \frac{61,585 - \frac{2,5 \times 88,84}{4}}{1,875 - \frac{(2,5)^2}{4}}$$

$$= \frac{61,585 - 55,525}{1,875 - 1,5625}$$

$$= \frac{6,06}{0,3125}$$

$$= 19,392$$

$$b_0 = \bar{y} - b_1 \bar{x}$$

$$= 7,4 - 19,392 \times 0,63$$

$$= -4,817$$



• **Persamaan Linier :**

$$Y = b_0 + b_1X$$

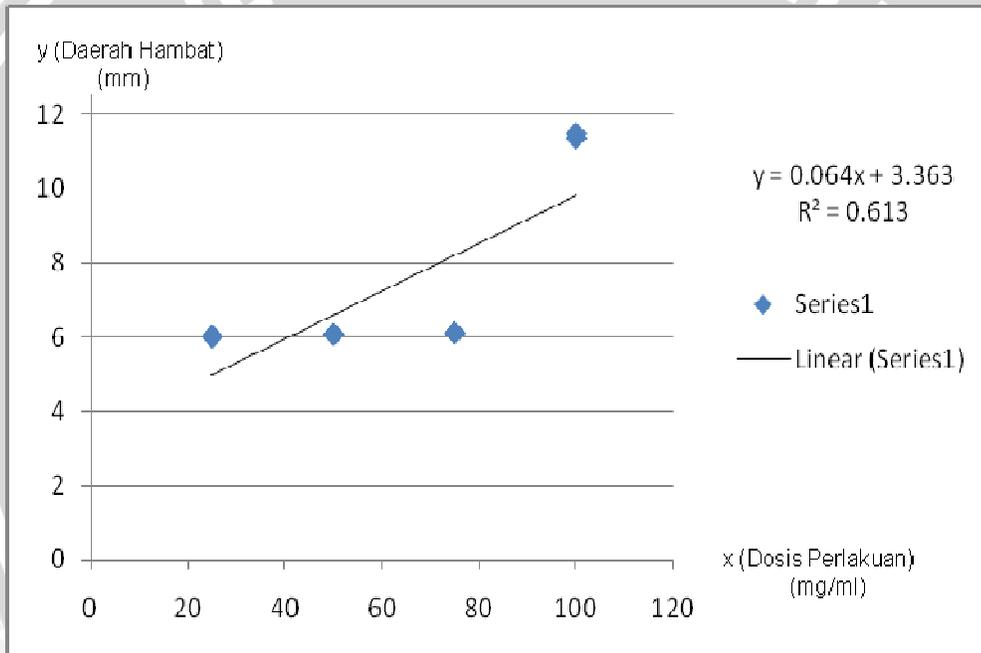
$$X_A = 0,25 \rightarrow -4,817 + 19,392 \times 0,25 \rightarrow -0,03$$

$$X_B = 0,5 \rightarrow -4,817 + 19,392 \times 0,5 \rightarrow 4,879$$

$$X_C = 0,75 \rightarrow -4,817 + 19,392 \times 0,75 \rightarrow 9,727$$

$$X_D = 1 \rightarrow -4,817 + 19,392 \times 1 \rightarrow 14,575$$

• **Grafik Persamaan Linier Uji Antagonistik Bakterin *Vibrio parahaemolyticus* Terhadap Bakteri *Vibrio Harveyi***



### Lampiran 2. Peralatan yang Digunakan Selama Penelitian



Timbangan Digital



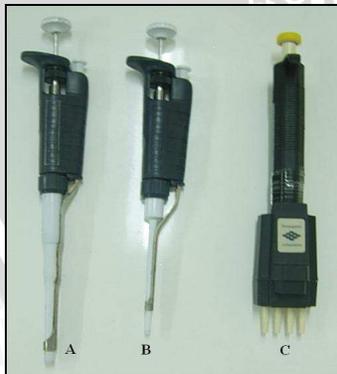
Beaker Glass



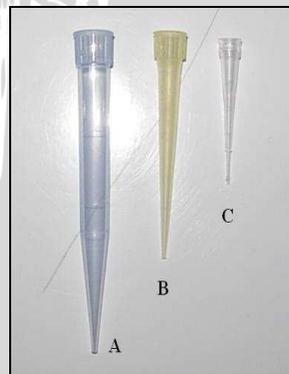
Inkubator



A. Falcon 15 cc  
B. Eppendorf



A. Pipet Mikro 1000 µl  
B. Pipet Mikro 200 µl  
C. Pipet Mikro 50 µl



A. Blue Tip  
B. Yellow Tip  
C. White tip



Shaker



Autoklaf



Fortex



Sentrifuge



Mikroskop

