

Patogenitas Bakteri *Vibrio* sp. pada Udang *Vannamei* di Kabupaten Pohuwato

² Fahrul Roji Mahulauw, ^{1,2} Arafik Lamadi, ² Mulis

¹ nuralim@ung.ac.id

²Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Negeri Gorontalo

Abstrak

Vibrio sp. merupakan jenis bakteri gram negatif yang bersifat fakultatif anaerob, yang dapat menyebabkan kematian pada budidaya udang secara masal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui patogenitas dan jumlah bakteri *Vibrio* sp. pada udang vannamei di sentra tambak udang Kabupaten Pohuwato. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2019 sampai Januari 2020. Metode yang digunakan pada Penelitian ini adalah purposive sampling dan pengujian di laboratorium. Pengambilan sampel udang dilakukan pada tambak udang Desa Yipilo Kecamatan Wanggarasi Timur, Desa Lomuli Kecamatan Lemito, Desa Milangodaa Kecamatan Popayato Timur. Berdasarkan hasil isolasi hepatopankreas pada udang ditemukan bakteri patogen *Vibrio* sp. dengan Total bakteri pada tambak Desa Yipilo sebanyak $8,62 \times 10^3$ koloni, tambak Desa Lomuli sebanyak $8,37 \times 10^3$ koloni dan tambak Desa Malingodaa sebanyak $6,84 \times 10^3$ koloni. Total bakteri *Vibrio* sp. dari ketiga lokasi tambak budidaya tersebut masih dalam batas optimal untuk kegiatan budidaya udang vannamei.

Katakunci: Patogenitas; Udang; *Vannamei*; *Vibrio* sp.

Abstract

Vibrio sp. is a type of gram-negative bacteria that is facultatively anaerobic, which can cause death in mass shrimp culture. This study aims to determine the pathogenicity and number of *Vibrio* sp. on vannamei shrimp in the center of shrimp ponds in Pohuwato Regency. This research was conducted from November 2019 to January 2020. The method used in this study was purposive sampling and testing in the laboratory. Shrimp sampling was carried out in shrimp ponds in Yipilo Village of East Wanggarasi District, Lomuli Village of Lemito District, Milangodaa Village of East Popayato District. Based on the results of the *hepatopancreas* isolation in shrimp, the pathogenic bacteria *Vibrio* sp. with total bacteria in the ponds of Yipilo Village as many as 8.62×10^3 colonies, the ponds of Lomuli Village as many as 8.37×10^3 colonies and the ponds of Malingodaa Village as many as 6.84×10^3 colonies. The total bacteria *Vibrio* sp. of the three locations of aquaculture ponds are within optimal limits for vannamei shrimp cultivation activities.

Keywords: Patogenity; Shrimp; *Vannamei*; *Vibrio* sp.

Pendahuluan

Budidaya udang merupakan sektor perikanan yang berperan sebagai penyumbang devisa non-migas yang besar bagi negara (Budiardi *et al.*, 2013). Salah satu komoditas sektor perikanan yang bernilai ekonomi tinggi ialah udang, dengan kebutuhan pasar di mancanegara yang luas dan terus meningkat (Garno, 2004).

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan jenis udang yang dapat dibudidayakan di tambak selain udang windu (*Penaeus monodon*). Udang vannamei memiliki

keunggulan, yaitu dapat hidup pada rentang salinitas lebar (*euryhaline*) dari 5 ppt hingga 30 ppt, mampu beradaptasi terhadap kepadatan tinggi, serta tumbuh baik dengan pakan berprotein rendah. Demikian juga dengan perubahan salinitas khususnya pada salinitas tinggi, disamping itu udang vannamei juga mempunyai laju pertumbuhan yang relatif cepat (Rahardjo *et al.*, 2003).

Tambak merupakan salah satu wadah pemeliharaan yang dipergunakan sebagai tempat untuk kegiatan budidaya air payau yang berlokasi di daerah pesisir. Secara umum tambak biasanya

dikaitkan langsung dengan pemeliharaan udang, walaupun sebenarnya masih banyak spesies yang dapat dibudidayakan di tambak misalnya ikan bandeng, ikan nila, ikan kerapu, kakap putih dan sebagainya. Tetapi tambak sekarang ini lebih dominan digunakan untuk kegiatan budidaya udang (Riani *et al.*, 2012).

Kawasan budidaya udang di Provinsi Gorontalo cukup besar mencakup kawasan Kabupaten Pohuwato, Kabupaten Boalemo, serta Kabupaten Gorontalo Utara dengan jumlah luasan potensi tambak sebesar 10.900 Ha (Dinas Perikanan dan Kelautan Gorontalo, 2012). Sentra tambak udang yang tergolong besar dan potensial di ketiga kabupaten ini antara lain berlokasi: (1) Kabupaten Pohuwato meliputi Kecamatan Wanggarasi, Kecamatan Lemito, dan Kecamatan Popayato Timur, (2) Kabupaten Boalemo meliputi Kecamatan Manangu, serta di (3) Kabupaten Gorontalo Utara. Kecamatan Kwandang, Anggrek dan Sumalata.

Penyakit merupakan salah satu kendala utama dalam budidaya ikan maupun udang. Timbulnya penyakit pada ikan ataupun udang disebabkan karena adanya interaksi antara inang (*host*), jasad penyebab penyakit dan lingkungan. Dalam interaksi ini faktor lingkungan berperan penting karena dapat menimbulkan pengaruh positif dan negatif terhadap hubungan antara inang dan patogen (Kabata, 1985). Jenis-jenis penyakit yang sering menyebabkan penyakit pada udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) adalah bakteri, jamur, dan virus. Khususnya serangan penyakit bakterial yang sering menyerang udang baik di tingkat pembenihan maupun pembesaran di tambak dan sering menyebabkan terjadinya kematian massal pada udang adalah serangan bakteri *Vibrio* sp. Jenis-jenis *Vibrio* sp yang telah teridentifikasi menginfeksi udang adalah *Vibrio harveyi*, *Vibrio alginolyticus* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Kamiso *et al.*, 1998).

Metode Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan mulai November 2019 sampai dengan Januari 2020. Tempat penelitian ini ada empat lokasi yakni lokasi pengambilan sampel udang vannamei di Kabupaten Pohuwato dan untuk uji sampel udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dilakukan di

Labolatorium Mikrobiologi Farmasi, Universitas Negeri Gorontalo.

Biota uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Biota yang di uji diambil dari tiga lokasi Kabupaten Pohuwato yaitu di Desa Yipilo Kecamatan Wanggarasi Timur, Desa Lomuli Kecamatan Lemito dan Desa Milangodaa Kecamatan Popayato Timur, sampel diambil langsung dari tambak pemeliharaan udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*).

Kegiatan penelitian yang dilakukan, yaitu: melakukan survei untuk menentukan tambak-tambak yang sampel sebagai bahan uji penelitian. Penentuan tambak sebagai tempat penelitian menggunakan metode purposive sampling (Arikunto, 2006).

1. Survey lokasi bertujuan untuk mengetahui gambaran umum tentang lokasi tambak budidaya udang, tambak yang tentukan untuk diambil relatif sama dan diambil pada satu petakan tambak.
2. Melakukan observasi untuk mengumpulkan informasi dari petambak terkait budidaya udang vannamei yang dilakukan dalam tambak tempat pengambilan sampel penelitian.
3. Pengambilan sampel penelitian dilakukan pada ketiga tambak di tiga kecamatan, setiap tambak diambil pada dua titik yakni dipintu masuk atau keluar air tambak dan tengah tambak untuk diuji laboratorium.
4. Pengukuran kualitas air tambak dilakukan pada saat pengambilan sampel, parameter yang diukur berupa suhu, pH, DO, dan salinitas air tambak, terdapat dua titik pengambilan sampel yakni di pintu masuk keluar air dan tengah tambak.

Pengamatan patologi anatomi, Udang yang masih hidup diambil lalu diamati, selanjutnya dilakukan pengamatan pada bagian kepala *Hepatopankreas*. *Hepatopankreas* udang diangkat dengan membuka bagian kepala menggunakan gunting yang steril. Bakteri yang ada di *hepatopankreas* tersebut diisolasi dengan mengambilnya menggunakan jarum ose yang sudah steril yaitu dibakar dengan bunsen sampai membara. Kemudian ditumbuhkan dengan cara goresan pada media agar *Thiosulphate Citrate*

Bile Salt Agar (TCBSA). Masing-masing biakan di inkubasi dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dipindahkan ke media *Nutrient Agar* (NA) miring untuk uji lanjut secara biokimia.

Prosedur penelitian ini terdapat tahap persiapan meliputi sterilisasi alat dan pembuatan media *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA). Tahap pelaksanaan meliputi pengambilan sampel, isolasi bakteri, pemurnian bakteri, kultur bakteri, pemanenan dan pencucian bakteri, dan identifikasi bakteri.

Media *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA) ditimbang sebanyak 22 gram dan dimasukkan ke dalam gelas beker yang telah berisi 250 ml aquadest. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mendidih. Setelah itu dimasukkan ke dalam erlemeyer 250 ml dan ditutup dengan kapas. Sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan suhu 121°C.

Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) atau *Total Plate Count* (TPC) ini bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri pada sampel Udang vanamme yang telah diidentifikasi. Perhitungan ALT/TPC dilakukan terhadap sampel udang dari tiap tingkatan infeksi *Vibrio* sp. sehingga tiap tingkatan infeksi *Vibrio* sp. diambil satu sampel biakan bakteri untuk ditumbuhkan pada media agar *Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar* (TCBSA). Bakteri yang telah diisolasi, diencerkan terlebih dahulu sebelum ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA). Data yang dikumpulkan tersebut dianalisis dan dibahas secara deskriptif dengan pendekatan studi literatur yang sesuai. Proses penghitungan ALT/TPC dilakukan berdasarkan SNI (2006).

Hasil dan Pembahasan

Tambak yang digunakan dalam kegiatan budidaya udang vanname di tiga lokasi penelitian merupakan tambak tradisional. Rata – rata tambak di kabupaten Pohuwato merupakan tambak tradisional. Berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia No. KEP.32/MEN/2010 tentang Penetapan Kawasan Minapolitan maka Kabupaten Pohuwato telah ditetapkan sebagai lokasi pengembangan Kawasan Minapolitan di Indonesia. Kabupaten Pohuwato merupakan

daerah pesisir di Provinsi Gorontalo yang masuk dalam kawasan pengelolaan Teluk Tomini. Kabupaten Pohuwato memiliki lahan tambak yang cukup luas yaitu 3.284 ha dengan produksi 1.534,60 ton (DKP Kabupaten Pohuwato, 2010).

Tambak di Desa Yipilo Kecamatan Wanggarasi Timur merupakan berada di kawasan lahan tambak dan dikelilingi magrove seperti kawasan tambak lainnya. Selain digunakan untuk budidaya udang vanname tambak ini juga digunakan untuk budidaya ikan bandang, ukuran tambak dengan panjang 80 meter dan luas 45 meter dengan kedalaman 50 - 80 centimeter ini berjarak sekitar 200 meter dari pemukiman penduduk. Kebutuhan air tambak sendiri tersedia oleh badan air sungai yang berada di Desa Yipilo dan ketersediaan air laut yang berjarak kurang dari 50 meter. Setiap jenis lahan memiliki karakteristik tersendiri dan pengelolaannya bersifat spesifik (Utujo *et al.*, 2013).

Tambak di Desa Lomuli Kecamatan Lemito memiliki pintu masuk dan keluar air hanya satu, tambak ini berada di kawasan magrove berjarak sekitar 1 km dari pemukiman penduduk, selain udang vanname di tambak ini juga dibudidayakan ikan bandeng, kedalaman tambak 1,5 meter dengan panjang 100 meter, lebar 45 meter. Topografi tambak yang relatif datar dan elevasi yang rendah dapat dijangkau oleh pasang surut agar mangrove dapat hidup dan berkembang. Dengan demikian, topografi kawasan tambak di Kabupaten Pohuwato tergolong datar dan rendah. Lahan yang baik untuk budidaya di tambak adalah relatif datar (Chanratchakool *et al.*, 1995).

Di sekitar tambak di Desa Milangoodaa Kecamatan Popayato Timur dilakukan kegiatan pertanian, dan peternakan. Jarak tambak dari pemukiman penduduk sekitar 100 meter dengan ukuran tambak 80 meter luas 40 meter. Biota yang dibudidayakan adalah udang vanname dan ikan bandeng. Tambak berada di kawasan magrove yang sumber air tawarnya diperoleh dari batang sungai Desa Molingoodaa. Sementara air laut berjarak sekitar 500 meter dari tambak, seperti rata – rata tambak tradisional lainnya tambak ini hanya menggunakan satu pintu sebagai pintu air dan pintu masuk.

Menurut Mulis (2008) Budidaya udang secara tradisional, adalah bentuk tambak yang tidak teratur dengan luas antara 3-10 ha per

petak. Saluran keliling dengan lebar 5-10 meter, di sepanjang keliling petakan sebelah dalam. Di bagian tengah dibuat caren dari sudut ke sudut (diagonal). Kedalaman saluran keliling 30-50 cm lebih dalam dari pada bagian lain dari dasar petakan yang disebut pelataran. Bagian pelataran dapat diisi air sedalam 30-40 cm, tempat ini akan

ditumbuhi klekap/lumut, sebagai bahan pakan alami ikan bandeng atau udang.

Hasil pengukuran kualitas air dari ketiga tambak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3: Kualitas air ketiga tambak ketiga desa

| No | Tambak | Sampel | Kualitas Air | | | |
|--|------------------|------------------------|--------------|---------|-----------|-----------|
| | | | Suhu | DO | pH | Salinitas |
| 1 | Desa Yipilo | Tengah tbk | 35 | 6.04 | 7.88 | 27 |
| | | Pintu Air masuk/keluar | 35 | 7.6 | 7.39 | 27 |
| 2 | Desa Lomuli | Tengah tbk | 34 | 8.4 | 7.96 | 26 |
| | | Pintu Air masuk/keluar | 35 | 7.6 | 7.85 | 27 |
| 3 | Desa Milangoodaa | Tengah tbk | 33 | 7.6 | 7.88 | 27 |
| | | Pintu Air masuk/keluar | 34 | 7.3 | 7.64 | 26 |
| Kisaran optimal (Rakhmatun dan Mudjiman, 2003) | | | 28-32°C | 4-8mg/l | 6.8 – 8.7 | 10-35 ppt |

Suhu dari ketiga tambak berfluktuasi atau tidak tetap dan cukup tinggi untuk melakukan kegiatan di tambak khususnya pemeliharaan udang vannamei, hal ini dapat mengacuh pada pernyataan Haliman dan Adijaya (2005) bahwa untuk pertumbuhan udang vanname yang optimum berkisar antara 26°C - 31°C.

pH pada tambak ini masih optimal, pendapat ini diperkuat dengan hasil dari penelitian Rakhmatun dan Mujiman (2003) bahwa kisaran yang baik untuk tambak udang adalah 6,8 – 8,7. Menurut Wyban dan Sweeny (1991) nilai pH yang baik untuk budidaya udang secara intensif adalah berkisar antara 7,8 – 8,9 dengan nilai standar optimum adalah 8,0 ppt. Rendahnya nilai pH di suatu perairan dapat disebabkan oleh tingginya jumlah bahan organik, dimana turunnya nilai pH disebabkan oleh meningkatnya konsentrasi CO₂ karena aktivitas mikroba dalam menguraikan bahan organik (Sari, 2007).

Oksigen terlarut dari ketiga tambak masih memenuhi batas maksimum. Pendapat ini diperkuat oleh Soetomo (2002), yang menyatakan, kisaran oksigen terlarut yang baik untuk melakukan kegiatan budidaya udang adalah kisaran 4-8 ppm. Menurut, Zavala dan Espino (2000), dimana kandungan oksigen yang rendah di perairan disebabkan oleh tingginya

kandungan bahan organik dan laju dekomposisi. Sehingga selama terkumpul di area tersebut, bahan organik didekomposisi oleh mikro-organisme dan menyebabkan kandungan oksigen terlarut berkurang.

Dari data yang diperoleh salinitas pada ketiga tambak masih mendukung untuk melakukan kegiatan budidaya dan dilihat dari pernyataan Briggs, *et al.*, (2004), salah satu keunggulan udang vanamei adalah toleransinya yang sangat luas terhadap parameter lingkungan perairan. Udang vannamei dapat hidup pada kisaran salinitas 0 – 45 ppt, namun tumbuh baik pada 15 – 25 ppt. Udang ini juga memiliki toleransi suhu yang luas yaitu berada pada kisaran 15 – 33°C. Selanjutnya menurut Wyban dan Sweeney (1991), udang vannamei memiliki toleransi salinitas optimal yang luas yaitu 15 – 35 ppt.

Suhu rata – rata pada tambak desa Yipilo 35°C, tambak desa Lomuli 34,5°C dan tambak desa Milangoodaa 33,5°C, sementara rata – rata nilai pH tambak desa Yipilo 7,63, tambak desa Lomuli 7,9 dan tambak desa Malingoodaa 7,76, pada rata – rata DO didapatkan nilai tambak desa Yipilo 7, tambak desa Lomuli 8 dan tambak desa Malingoodaa 7,45, sedangkan pada salinitas didapatkan nilai rata – rata tambak desa Yipilo 27, tambak desa Lomuli 26,5 dan Tambak desa

Milangodaa 26,5. Selanjutnya Mulis (2008) menyatakan bahwa Fluktuasi suhu yang tinggi mempengaruhi sistem kehidupan dan membatasi kemampuan spesies untuk hidup dan berkembang, karena masing-masing spesies memiliki batas suhu optimum.

Keberadaan *Vibrio* sp. pada perairan budidaya juga dipengaruhi oleh parameter fisika dan kimia. Seperti yang dikemukakan oleh Kharisma (2012), bahwa parameter fisika dan parameter kimia yang tidak baik menjadi penyebab kelimpahan jumlah bakteri *Vibrio* sp. pada air pemeliharaan udang vannamei.

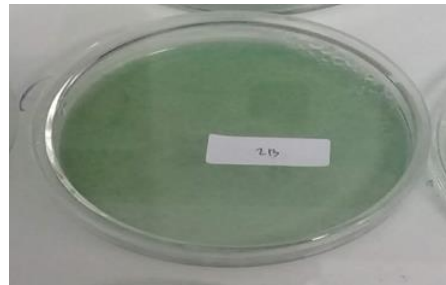
Adanya bakteri *Vibrio* sp diduga karena tingginya suhu pada tambak pemeliharaan, selain suhu tambak adapun sendemina tambak yang harus diperhatikan dengan cara mengganti air selama masa pemeliharaan setiap minggu 2 kali. Hal ini ditunjang oleh pendapat Tompo *et al.*, (2011) bahwa sterilisasi media air dalam arti harus ada pergantian air yang dilakukan dalam petakan perlakuan agar bahan organik terlarut dalam air dan sedimen dapat benar-benar terbuang setelah dilakukan pergantian air yang jadwalnya setiap minggu pergantian air minimal 2 kali. Hal ini berkaitan erat dengan teori bahwa air dengan kadar garam tinggi seperti air laut adalah tempat hidup alami dari *Vibrio* sp sehingga memudahkan proses kontaminasi (Madigan *et al.*, 2002).

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

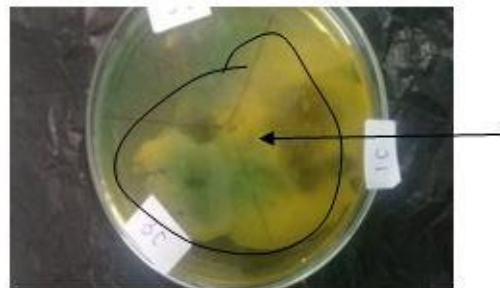
Lavilla-Pitogo *et al.*, (2000) melaporkan udang vannamei (*L. vannamei*) yang terinfeksi vibriosis menunjukkan gejala klinis berupa nekrosis, melanosis pada abdomen, bercak merah pada pleopoda dan pereopoda, dan rostrum berwarna kemerahan. Lavilla-Pitogo *et al.*, (2000) menjelaskan bahwa gumpalan jaringan berwarna coklat yang menyebabkan hepatopankreas terlihat berwarna kecoklatan adalah tubulus hepatopankreas yang mengalami melanosis. Warna kemerahan sampai hitam terjadi akibat adanya infeksi bakteri yang memecah kitin dari eksoskeleton sehingga menyebabkan erosi dan pigmentasi kemerahan, coklat gelap hingga hitam.

Hasil isolasi bakteri yang dilakukan dengan cawan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp dengan ditandai dengan perubahan warna pada cawan yakni warna kuning dan hijau.

Menurut Hikmawati *et al.*, (2019) media Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar (TCBSA) umumnya digunakan untuk menumbuhkan koloni *Vibrio* sp. dengan memunculkan warna kuning dengan koloni yang berukuran besar, halus, keping, jernih, memiliki tepi yang tipis, dilingkari oleh zona yang berwarna kuning, dan sebagian koloni yang terbentuk memiliki warna hijau (Gambar 1 dan 2).



Gambar 1. Isolasi Bakteri menggunakan Media Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar (TCBSA)



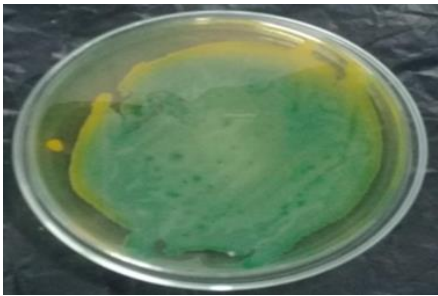
Gambar 2. Hasil dari pertumbuhan bakteri pada cawan petri

Menurut Mailoa dan Setha (2011), warna koloni yang berwarna hijau pada bakteri *Vibrio* sp. disebabkan karena sifatnya yang tidak mampu memfermentasi sukrosa sedangkan warna koloni yang berwarna kuning mampu memfermentasi sukrosa serta mampu menurunkan pH pada media Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar (TCBSA).

Menurut Kreig dan Holt (1984), anggota bakteri genus *Vibrio* sp. mempunyai ciri-ciri antara lain berbentuk batang pendek, bersifat gram negatif, memiliki flagel, tidak berspora, tidak memiliki kapsul, bersifat fakultatif aerob dan berkembang biak dengan pembelahan biner, tumbuh pada media Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBSA) dengan koloni berwarna kekuningan, orange dan hijau. *Vibrio* sp. dapat tumbuh pada media Thiosulfate Citrate Bile Salt

Sucrose Agar (TCBSA) seperti yang dikatakan Oliver dan Kepper (2001) bahwa (TCBSA) merupakan media selektif dan diferensial untuk isolasi bakteri vibrio sp. seperti *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*. Media ini terdiri dari garam empedu yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri non target, natrium klorida (NaCl) yang merupakan media optimal bagi pertumbuhan halofilik dan sodium trisulfat yang merupakan sumber sulfur dan ferric citrate digunakan untuk mendeteksi produksi H₂S.

Setelah dilakukan inkubasi selanjutnya dilakukan pemurnian pada isolat bakteri tunggal cawan petri, kemudian ditumbuhkan di media yang sama Media Thiosulphate Citrate Bile Salt Agar (TCBSA) dengan metode zigzag dan di inkubasi selama 24 jam. Pemurnian dilakukan berulang selama 4 kali sampai ditemukan isolat murni yang ditandai dengan warna yang seragam. Hasil yang diperoleh pada saat inkubasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Pemurnian Bakteri yang di Isolasi Ke-4

Menurut Menurut Rahmanto, et al., (2014) Pemurnian dilakukan dengan melakukan reisolasi isolat 3 – 4 kali sampai ditemukan isolat murni yang ditandai dengan warna yang seragam. Isolat yang sudah murni disimpan pada media miring Nutrient Agar (NA) lalu dilakukan pewarnaan dan pembentukan gram berdasarkan warna dan bentuk koloni bakteri. Selanjutnya isolasi yang sudah murni disimpan pada media miring Nutrient Agar (NA) dengan cara hasil dari pemurnian diambil menggunakan jarum ose kemudian digoresi pada media miring yang telah diisi larutan Nutrient Agar (NA).

Bakteri *Vibrio* sp. umumnya dapat tumbuh dengan baik dan cepat dalam medium biakan standar. *Vibrio* sp. tumbuh secara optimal pada suhu dengan pH, salinitas berkisar antara

mempunyai sifat anaerobik fakultatif (dapat hidup baik dengan ada atau tidak adanya oksigen) (Cahyadi, 2008).

Pada media miring Nutrient Agar (NA) terdapat tumpukan koloni yang tumbuh hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Penggunaan media miring Nutrient Agar (NA)

Media miring Nutrient Agar (NA) yang telah diolesi hasil dari pemurnian bakteri diinkubasi selama 24 – 48 jam setelah itu dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui bakteri yang menyerang udang. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram, pewarnaan bentuk dan Angka Lempeng Total (ALT).

Pewarnaan dan Pembentukan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri termasuk dalam gram positif atau negatif. Hasil dari pewarnaan Gram bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.



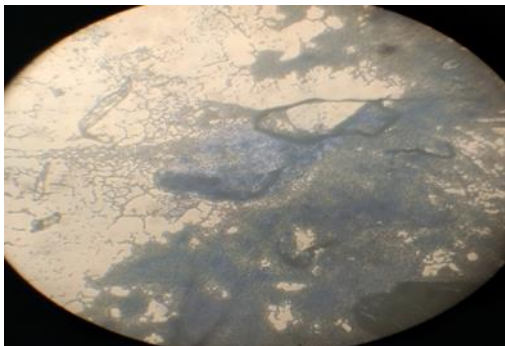
Gambar 5. Pewarnaan Gram bakteri

Menurut Fajriani (2018) Teknik pewarnaan Gram dilakukan dengan memberikan pewarna gram (kristal violet), (lugol), (Alkohol) dan (Safranin) secara bertahap. Tahap awal pewarnaan Gram yaitu aquades diteteskan pada kaca objek dan ditambahkan 1 ose biakan sampel, kemudian difiksasi di atas api bunsen. Selanjutnya pemberian pewarna Gram secara

bergantian. Tahap berikutnya adalah pengamatan morfologi bakteri menggunakan mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah Gram negatif.

Berdasarkan pewarnaan gram diatas menunjukkan adanya patogenitas bakteri *Vibrio* sp. pada ketiga tambak budidaya udang dengan ditandai dengan warna merah saat dilakukan pewarnaan yang berarti hasil tersebut adalah gram negatif atau dapat menjadi indikasi bahwa ketiga tambak terdapat patogen *Vibrio* sp. Bakteri gram positif mempunyai dinding dengan lapisan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak dalam presentase yang lebih tinggi dan memiliki peptidoglikan yang tipis daripada bakteri gram positif (Sunatmo, 2007).

Setelah pewarnaan gram dilakukan, selanjutnya dilihat bentuk dengan cara pembentukan gram, sama halnya dengan melakukan pewarnaan gram namun pada pembentukan gram digunakan *mhytilen blue* agar dapat mengetahui bentuk dari bakteri yang ada. Hasil dari pembentukan gram dapat dilihat pada Gambar 6.

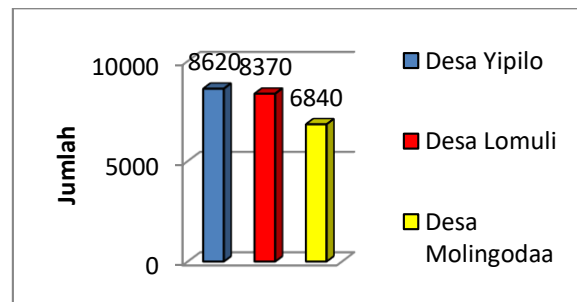


Gambar 6. Pembentukan gram bakteri

Berdasarkan hasil pengamatan dibawah mikroskop, dilihat bakteri *Vibrio* sp. memiliki bentuk panjang dan bulat sehingga dapat digolongkan kedalam bakteri gram negatif karena menunjukkan ciri – ciri dari bakteri gram negatif. ini sesuai dengan pendapat Logan (1994) dalam Gultom (2003), bakteri dari genus *Vibrio* sp. bersifat gram negatif, sel tunggalnya berbentuk batang pendek yang bengkok atau lurus, berukuran panjang 1,4 - 5,0 µm dan lebar 0,3 - 1,3 µm, motil dan mempunyai flagel polar

Angka Lempeng Total (ALT)

Angka lempeng total dilakukan setelah dilakukannya pewarnaan Gram dan pengamatan bentuk pada bakteri yang di diagnosa adalah *Vibrio* sp. tujuan dari melakukan angka lempeng total untuk mengetahui berapa jumlah bakteri yang ditemukan saat melakukan pengujian. Berikut hasil dari angka lempeng total dapat dilihat pada grafik Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Angka Lempeng Total (ALT)

Hasil uji parameter Angka Lempeng Total (ALT) yang dilakukan diperoleh tambak Desa Yipilo sebanyak 8620 koloni, tambak Desa Lomuli sebanyak 8370 koloni dan tambak desa Molingodaa sebanyak 6840 koloni. Sehingga dapat dikatakan bahwa patogenitas pada udang vannamei dalam ketiga tambak berkisar antara 5000 – 9000 koloni bakteri, dengan batas maksimum dari ketiga tambak tidak lebih dari $5,0 \times 10^5$ Kol/25 gr (BSN, 2006).

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa koloni bakteri pada tambak desa Yipilo sebanyak $8,62 \times 10^3$ koloni, tambak Desa Lomuli sebanyak $8,37 \times 10^3$ koloni dan tambak Desa Milangodaa sebanyak $6,84 \times 10^3$ koloni. Bakteri *Vibrio* sp. pada tambak desa Yipilo Kecamatan Wanggarasi, Desa Lomuli Kecamatan Lemito dan Desa Milangodaa Kecamatan Popayato Timur masih dalam batas optimal untuk kegiatan budidaya udang vannamei.

Penelitian ini dapat dilanjutkan untuk lebih jelas mengetahui jenis patogenitas *Vibrio* sp. apa yang terdapat pada tambak yang berada di Kabupaten Pohuwato dan mencari cara penanggulangan yang baik untuk mengatasi patogenitas *Vibrio* sp.

Daftar Pustaka

- Arikunto, S. 2006. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*. Rineka Cipta, Jakarta.
- Briggs, M., Smith, S.F., Subasinghe, R., Phillips, M. 2004. *Introduction and Movement of Penaeus vannamei and Penaeus stylirostris in Asia and The Pacific*. RAP Publication 2004/10: 136-140.
- Budiardi, T., Muzaki A. dan Utomo, N.B.P., 2013. Produksi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Di Tambak Biocrete Dengan Padat Penebaran Berbeda. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 4 (2) :
- Cahyadi. 2008. Gambaran Bakteri *Vibrio* Sp. Pada Benur Udang Windu (*Penaeus Monodon* F) di Hatchery Kota Tarakan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Borneo Tarakan, Kalimantan TimurInternational, Inc
- Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S. Funge-Smith, and C. Limsuwan. 1995. *Health Management in Shrimp Ponds*. Second edition. Aquatic Animal Health Research Institute, Department of Fisheries, Kasetsart University Campus, Bangkok. 111 pp.
- DKP (Dinas Kelautan dan Perikanan) Kabupaten Pohuwato. 2010. Laporan Tahunan Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Pohuwato Tahun 2010. Dinas Kelautan dan Perikanan Kabupaten Pohuwato, Marisa.
- Dinas Perikanan dan Kelautan Gorontalo, 2012, Perubahan Rencana Pembangunan Jangka Menengah Daerah (RPJMD) Provinsi Gorontalo 2012-2017
- Fajriani, B., Anto Budiharjo, Sri Pujiyanto. 2018. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Bakter Antagonis Terhadap *Vibrio parahaemolyticus* Patogen Pada Udang *Litopenaeus vannamei* dari Produk Probiotik Dan Sedimen Mangrove di Rembang. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Garno, Y. S. 2004. Pengembangan Budidaya Udang dan Potensi Pencemarannya Pada Perairan Pesisir. *Jurnal Teknik Lingkungan P3TL-BPPT*, 5(3).
- Gultom, D.M. 2003. Patogenisitas Bakteri *Vibrio Harveyii* Pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.). Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Haliman, R.W. & Adijaya, S.D 2005. *Udang vannamei, Pembudidayaan dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit*, Penebar Swadaya, Jakarta, 75 hlm.
- Hikmawati, F., Ari Susilowati, Ratna Setyaningsi. 2019. Deteksi jumlah dan uji patogenitas *Vibrio* spp. pada kerang hijau (*Perna viridis*) dikawasan wisata Pantai Yogyakarta. PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON. Yogyakarta
- Kabata, Z. 1985. *Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor and Francis, London and Philadelphia. 318 p
- Kamiso H.N., Triyantodan Sri Hartati. 1998. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.) Di Daerah Istimewa Yogyakarta Dan Jawa Tengah Selatan. *Agric. Sci.*, 4 :
- Kharisma, A., Abdul, M. 2012. Kelimpahan Bakteri *Vibrio* Sp. Pada Air Pembesaran Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Sebagai Deteksi Dini Serangan Penyakit Vibriosis. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*.
- Lavilla-Pitogo, C. R; G.D. Lio-Po; E.R. Cruz-Lacierda; E.V. Alapide-Tendencia; L.D. De La Pena. 2000. *Disease of Peneid Shrimps in the Philippines*. 2nded., Southeast Asian Fisheries Development Center, Philippines

- Lavilla-Pitogo. C. R., Baticados. M. C. L., Cruz-Lacierda, E. R., de la Pena, L. D. 1998. *Occurrence of luminous bacterial disease of Penaeus monodon larvae in the Philippines*. Aquaculture (in press)
- Madigan, M.T., P.J. Martinko and J. Parker. 2002. Brock Biology of Microorganisms. New York: Prentice Hall International Inc., Englewood Cliff.
- Mailoa. M.C. dan Setha. B. 2011. Karakteristik Patogenitas Vibrio sp. Diisolasi dari Lendir Sidat (*Anguilla Sp.*). Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Pattimura. ISSN: 1979-6358.
- Mulis, 2008. Kajian Lingkungan Kawasan Pesisir Untuk Evaluasi Kesesuaian Lahan Tambak Budidaya Udang Di Kecamatan Tiworo Kepulauan Kabupaten Muna Provinsi Sulawesi Tenggara. Tesis. Pasca Sarjana, Universitas Gadjadara, Yogyakarta.
- Oliver JD, Kepper JB. 2001. Vibrio Sp.esies. In: Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ (eds) Food Microbiology: Fundamentals and Frotiers. 2nd . ASM Press, Washington.
- Rahardjo S. P., Sutikno, Subiyanto, dan Adiwijaya. 2003. Petunjuk Teknis Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Sistem Sirkulasi Tertutup. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Rahmanto, S. P., Sarjito, Diana Chilmawati. (2014). Karakterisasi Dan Uji Postulat Koch Bakteri Genus *Vibrio* Yang Berasal Dari Media Kultur Massal Mikroalga. Journal of Aquaculture Management and Technology. Semarang.
- Rakhmatun, S. dan Mudjiman, A. 2003. Budidaya Udang Windu. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Riani, Hanisa, Rita R dan Walim Lili. 2012. Efek Pengurangan Pakan terhadap Pertumbuhan Udang Vaname (*Lithopenaeus Vannamei*) PL-21 yang diberi Bioflok. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unpad. Bandung.
- Rossiter, D.G. 1996. A theoretical framework for land evaluation. *Geoderma*, 72: 165- 202
- Sari, S. G. 2007. Kualitas Sungai Maron Dengan Perlakuan Keramba Ikan di Kecamatan Trawas, Kabupaten Mojokerto, Jawa Timur.
- SNI 01-2332.3-2006. 2006. *Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Sunatmo, T.I. 2007. Eksperimen Mikrobiologi Dalam Laboratorium. Penerbit ArdyAgency, Bogor
- Soetomo. 2002. Teknik Budidaya Udang Windu. Penerbit Sinar Baru Algensindo Bandung. Anggota IKAPI. Bandung.
- Tompo, A. Atmomarsono, M. Nurhidayah E. Susianingsih, 2011. Aplikasi Bakteri sebagai prtaf pencegahan penyakit pada budidaya udang windu di tambak rakyat Pinrang, Kabupaten Pinrang. Prosiding From Inovasi Teknologi Akuakulture.
- Utojo, Akhmad M, Rezeki AS. 2013. Penentuan Kesesuaian Lahan Budidaya Tambak Berkelanjutan di Kabupaten Pasuruan Jawa Timur. Balai Penelitian Dan Pengembangan Budidaya Air Payau: Sulawesi Selatan.
- Wyban, J.A., J.N. Sweeney. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. The Oceanic Institute. Hawaii.
- Zavala, E. H., dan G. Espino. 2000. Limnology and Pollution of A Small, Shallow Tropical Water-body (jagÜey) in North-East Mexico.