

Screening of Potential Probiotic *Vibrio* sp. Against Vibriosis in the *Litopenaeus vannamei*

Munti Sarida dan Esti Harpeni

PS Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.

Email: munti@unila.ac.id

Abstract

Vibriosis is a bacterial disease generated by *Vibrio* sp., particularly *V. harveyi* that becomes the biggest cause of up to 100% shrimp mortality. Using antibiotics as the curative step is not applicable anymore, because of the residual effects to the shrimp and environment and the resistant effects to the humans as well. The purpose of this study was to screen potentially probiotic from strain *Vibrio* sp. that could inhibit *V. harveyi* as an effort of handling vibriosis diseases. Water sample from the shrimp ponds were isolated and purified in SWC-agar and TCBS-agar and then were incubated overnight at the room temperature. Bacterial concentrations were calculated using MC Pharrland method and spectrophotometer. In vivo test was conducted for the best candidate of potential probiotic isolate, i.e. CP1. Challenged test was leaded within 4 different bacterial concentrations as the treatments and 2 replications using 10 shrimps as the tested organisms per aquarium. The treatments were 10^7 CFU/ml CP1 VS 10^7 *V. harveyi* MR5339 Rif^R (1), 10^6 CFU/ml CP1 VS 10^7 *V. harveyi* MR5339 Rif^R (2), 10^5 CFU/ml CP1 VS 10^7 *V. harveyi* MR5339 Rif^R (3) and PBS (4) as the control. Our study showed that the Survival Rate of the tested organisms was 90% in the treatment 1. This result indicated the capability of growth inhibition of the candidate probiotic bacterium against *V. harveyi*. Presumably, *Vibrio* sp. could be used in the vanamei culture as the probiotic. Finally, the candidate probiotic bacterium was identified as *Vibrio furnissii*.

Key words: Probiotic, Vibriosis, *Litopenaeus vannamei*, MC Pharrland

Pendahuluan

Bakteri *Vibrio* spp. merupakan patogen yang sangat penting penyebab kegagalan pertambakan udang dan penyebarannya hampir di seluruh dunia (Lightner, 1977 dalam Maryani *et al.*, 2002). Dalam budidaya udang putih, penyakit yang sering disebabkan bakteri adalah penyakit vibriosis yang disebabkan oleh serangan bakteri *Vibrio harveyi*. Penyakit ini lebih dikenal dengan penyakit kunang-kunang karena udang yang terserang penyakit tersebut dalam kondisi gelap terlihat bercahaya. Hal tersebut terjadi karena jenis bakteri *V. harveyi* mengeluarkan pendaran (*luminensensi*) (Rukyani, 1992; Lavilla *et al.*, 1998; Sinrat *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2001; Widanarni, 2004).

Bakteri penghasil cahaya ini bersifat sangat patogen dan akut sehingga dapat menyebabkan kematian larva udang sampai 100% dalam waktu satu sampai dua hari. Salah satu tindakan pencegahan terhadap serangan bakteri ini adalah menciptakan lingkungan kondusif yang dibutuhkan oleh udang dan mengurangi peluang berkembangnya organisme patogen dengan cara pengelolaan lingkungan yang baik. (Zonneveld *et al.*, 1991; Widanarni, 2004; Cohen *et al.*, 2005)

Penggunaan obat-obatan seperti antibiotik dapat menyebabkan resistensi bakteri dan bahkan residu pada udang yang dapat membahayakan konsumen. Untuk mengurangi atau bahkan menghilangkan penggunaan antibiotik para petambak udang mengalihkannya dengan penggunaan probiotik. Bakteri probiotik yang diberikan dianggap mampu menambah daya tahan tubuh udang dan menekan pertumbuhan bakteri *V. harveyi* tanpa menimbulkan dampak buruk terhadap sistem keseimbangan ekologi mikroba dan tanpa harus melakukan eradikasi dengan anti mikroba. Atas dasar pertimbangan tersebut maka perlu dilakukan uji skrining terhadap beberapa bakteri yang memiliki sifat mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Upaya pencarian kandidat probiotik tersebut dimaksudkan sebagai upaya menambah jenis probiotik yang nantinya dapat diaplikasikan secara komersial. Upaya pencarian kandidat probiotik yang telah banyak dilakukan dengan cara diisolasi dari beberapa lingkungan perairan, pakan yang

diberikan dalam produksi budidaya serta udangnya sendiri (Rengpipat *et al.*, 1997; Widanarni, 2004).

Penelitian ini memiliki tujuan untuk mendapatkan kandidat probiotik dari jenis bakteri *Vibrio* sp. yang mempunyai kemampuan dalam menekan atau menghambat pertumbuhan *V. harveyi* sebagai penyebab penyakit vibriosis pada budidaya udang *L. vannamei*.

Materi dan Metode

Isolasi *Vibrio* sp. Kandidat Probiotik. Skrining bakteri kandidat probiotik dimulai dengan isolasi bakteri dari air pada Tambak Intensif Desa Bakauheni Lampung. Untuk mendapatkan isolat dengan koloni tunggal, air sampel diencerkan sampai dengan kelipatan 10^{-2} . Kemudian tiap pengenceran diambil 100 ml dan disebar pada media SWC 100% (air laut 750 ml, akuades 250 ml, bacto peptone 5 g, yeast ekstrak 1 g, glycerol 3 ml dan bacto agar 15 g.) dan media selektif TCBS-agar (akuades 1000 ml, TCBS-agar 89 g.), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam dalam inkubator.

Uji Tantang in vitro Bakteri *Vibrio* sp. Kandidat Probiotik dengan *V. Harveyi* MR5339. Bakteri yang dipakai dalam ujiantang adalah *V. Harveyi* MR5339 yang diperoleh dari koleksi Balai Penelitian Perikanan Pantai Maros, Sulawesi Selatan dan telah diuji memiliki sifat patogen pada larva udang Windu (Widanarni, 2004). Masing-masing isolat bakteri yang diujiantang (1 ml) diukur nilai *Optical Density* (OD). Setelah itu setiap isolat ujiantang dan kontrol dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} dan dilakukan penyebaran dengan metode cawan sebar pada media TCBS-agar, diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Koloni *Vibrio* sp. kandidat probiotik yang tumbuh menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *V. Harveyi* MR5339. Jika pada cawan kontrol koloni *V. Harveyi* MR5339 tumbuh jauh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni pada cawan ujiantang. Maka *Vibrio* sp. kandidat probiotik dapat dipakai sebagai kandidat probiotik.

Uji in vivo *Vibrio* sp. Kandidat Probiotik. Uji *in vivo* dilakukan pada wadah pemeliharaan (akuarium, berukuran 50 x 30 x 35 cm³) yang diisi dengan 30 liter air laut steril dengan sistem resirkulasi. Udang yang digunakan ukuran rata – rata 19 g. Sebelum dilakukan penyuntikan suspensi bakteri ke tubuh udang uji diadaptasikan dalam wadah pemeliharaan dan dipuaskan. Penentuan konsentrasi bakteri dibandingkan dengan penyamaan kekeruhan dari larutan MC. Pharland yang sudah diuji secara *in vitro* untuk tiap isolat bakteri dengan mencampurkan senyawa H₂SO₄ dan BaCl₂ (1:9). Uji dilakukan dengan menyuntikkan isolat bakteri *V. Harveyi* MR5339 Rif^R ke tubuh udang dengan konsentrasi masing-masing 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷ CFU/ml dan kontrol (PBS). Pengamatan dilakukan selama tujuh hari setiap empat jam, dengan parameter yang diamati adalah kematian, pengamatan morfologi dan tingkah laku, pengamatan kualitas air.

Uji tantang secara in vivo. Pada tahap ini tiap isolat bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi 10⁷, 10⁶, 10⁵ CFU/ml yang diujiantang dengan *V. Harveyi* MR5339 Rif^R serta kontrol dengan tujuan untuk melihat kemampuan *Vibrio* sp kandidat probiotik dalam menghambat serangan dari *V. Harveyi* MR5339 pada udang uji. Dalam uji ini suspensi bakteri kandidat probiotik disuntikkan terlebih dahulu, enam jam sebelum suspensi bakteri *V. Harveyi* MR5339 Rif^R diinjeksikan ke udang. Pengamatan dilakukan selama enam hari setiap empat jam.

Keberadaan dan penyebaran isolat bakteri *V. harveyi* MR5339 Rif^R perlu diketahui pada organ tubuh udang dengan cara pertama disuntikkan suspensi bakteri kandidat probiotik dengan konsentrasi jumlah bakteri sesuai dengan hasil terbaik dalam ujiantang dengan suspensi bakteri 10⁷ CFU/ml *V. harveyi* MR5339 Rif^R. Kedua disuntikkan suspensi bakteri *V. harveyi* MR5339 Rif^R dengan jumlah konsentrasi bakteri sebesar 10⁷ CFU/ml.

Pengamatan dilakukan selama 24 jam yakni pada waktu tiga jam pertama dan berikutnya setiap enam jam setelah diinjeksi. Untuk pengamatan jumlah bakteri *V. harveyi* MR5339 Rif^R dapat dilihat dari hasil penghitungan jumlah koloni bakteri dicawan dengan media TCBS-agar. Bakteri yang tumbuh dicawan didapat dari hasil re-isolasi organ hepatopankreas dan usus udang. Sampling udang yang di re-isolasi adalah dua ekor udang pada tiap-tiap perlakuan. Re-isolasi udang dilakukan dengan menggerus organ;

sebesar 0.1 ml diambil untuk pengenceran serial sampai pada pengenceran 10^{-2} dan disebar di media SWC yang ditambah Rifampisin 50 $\mu\text{g/ml}$ sebanyak 0,1 ml. Kemudian di inkubasi pada suhu ruang. Bakteri kandidat probiotik yang sudah diuji baik secara *in vitro* maupun *in vivo* diidentifikasi.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah bakteri yang digunakan sebagai kandidat probiotik yang diperoleh dari hasil isolasi sebanyak dua buah isolat jenis bakteri *Vibrio* sp. dan tiga buah isolat bakteri non *Vibrio* sp. Hasil isolat bakteri kandidat probiotik diperoleh dari media pemeliharaan tambak budidaya dan sampel udang (dari organ hepatopankreas dan usus). Koloni *Vibrio* sp. yang tumbuh di media TCBS-agar berwarna kuning dengan karakteristik satu isolat memiliki bentuk koloni bulat cembung dan satu isolat lain dengan sifat menyebar. Kelima isolat yang ditumbuhkan di media SWC memiliki sifat menyebar dan berwarna putih susu.

Sebanyak 12 koloni *V. harveyi* MR5339 memiliki sifat berpendar apabila ditumbuhkan di media TCBS-agar atau SWC dan di inkubasi di suhu ruang (28 sampai 30°C), dengan sifat pendaran terlihat aktif pada usia 18 sampai 20 jam, diruang gelap. Koloni yang tumbuh di media TCBS berwarna hijau sedangkan koloni yang tumbuh di media SWC berwarna krem. Beberapa karakter morfologi dan fisiologi *V. harveyi* MR5339 diantaranya adalah bakteri gram negatif bersifat motil, berbentuk batang pendek, dapat menggunakan glukosa dan laktosa sebagai sumber karbon tetapi tidak dapat menggunakan sukrosa, menghasilkan enzim protease, amilase, dan kitinase.

Dua isolat yang dapat tumbuh dengan baik selanjutnya dipakai sebagai isolat kandidat probiotik dalam penelitian selanjutnya diberi sandi CP1 dan CP2. Adapun prasyarat probiotik yaitu bakteri yang dapat dipakai sebagai kandidat probiotik harus mampu hidup di Intestinum dan dapat disiapkan sebagai produk sel hidup dalam skala industri serta dapat terjaga stabilitas serta lintasan untuk waktu yang lama pada penyimpanan maupun di lapangan.

Vibrio sp. dan *V. harveyi* adalah bakteri yang sensitif terhadap antibiotik Rifampisin meskipun kedua jenis bakteri ini resisten hampir semua jenis probiotik (Tjahyadi *et al.*, 1994 dalam Widanarni, 2004). Rifampisin mempunyai spektrum antibakteri yang luas dan terutama efektif terhadap bakteri, bakteri gram positif dan mikrobakteria. Selama ini rifampisin sangat efektif untuk pengobatan Tuberkolosis secara total. Rifampisin adalah salah satu jenis antibiotik yang mampu menghambat sintesis protein (Liu, 1996). Sampai saat ini penggunaan Rifampisin tidak digunakan pada pembenihan udang (Widanarni, 2004).

Pembuatan "mutan" resisten terhadap Rifampisin diperoleh dari 10^7 CFU/ml *V. harveyi* MR5339 dan didapat sebanyak 37 koloni yang tumbuh di media SWC ditambah Rifampisin 50 $\mu\text{g/ml}$ media. Pembuatan mutan bertujuan untuk membedakan koloni isolat-isolat *Vibrio* sp. alami dengan isolat yang didapatkan sebagai kandidat probiotik, karena hanya bakteri yang telah dibuat mutan yang dapat tumbuh di media SWC/TCBS agar ditambah Rifampisin 50 $\mu\text{g/ml}$.

Tabel 1. Jumlah koloni *V. harveyi* MR5339Rif^R yang tumbuh pada media TCBS-agar berdasarkan nilai *Optical Density*

Table 1. Number of *V. harveyi* MR5339Rif^R colony grew on TCBS-agar medium based on *Optical Density* values

Jenis dan konsentrasi bakteri (CFU/ml)	OD	Jumlah koloni
<i>V. harveyi</i> MR5339 Rif	0,347	17.550.000
CP1 + <i>V. harveyi</i> MR5339Rif	$0,350 \pm 0,347$	250.000
CP2 + <i>V. harveyi</i> MR5339Rif	$0,325 \pm 0,347$	3.700.000

Tiga isolat yang dimurnikan di SWC tidak dapat tumbuh dengan baik sehingga hanya dua isolat yang memiliki koloni berwarna kuning yang dipakai dalam ujiantang

dengan *V. harveyi* MR5339. Hasil ujiantang dari dua isolat dengan *V. harveyi* MR5339 secara *in vitro* disajikan dalam Tabel 1.

Pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa isolat kandidat probiotik CP1 adalah isolat kandidat probiotik yang terbaik dalam menghambat kerja dari bakteri *V. harveyi* MR5339, dan koloni probiotik CP1 tersebut jauh lebih banyak tumbuh dibandingkan dengan isolat pengujiantang *V. harveyi* MR5339. Hasil jumlah koloni ini dapat dilihat setelah isolat *Vibrio* sp. kandidat probiotik yang diujiantang dengan *V. harveyi* MR5339 diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Apabila dibandingkan dengan kontrol, jumlah koloni *Vibrio* sp. kandidat probiotik yang tumbuh di media lebih banyak dibandingkan dengan *V. harveyi* MR5339.

Dengan OD yang sama jumlah *V. harveyi* MR5339 pada perlakuan kontrol (10^7 CFU/ml) dan pada perlakuan *V. harveyi* MR5339 lawan isolat CP2 sebesar 10^6 CFU/ml, ini menunjukkan jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan jumlah *V. harveyi* MR5339 pada perlakuan ujiantang (*V. harveyi* MR5339 lawan isolat CP1) yakni sekitar 10^5 CFU/ml. Jumlah koloni CP1 yang tumbuh lebih dominan dibandingkan koloni bakteri *V. harveyi* MR5339.

Dari isolat yang terpilih untuk diujiantang secara *in vivo* yang didasarkan pada hasil uji *in vitro* didapat satu jenis isolat *Vibrio* sp kandidat probiotik (CP1), lalu diuji kepatogenitasnya didapatkan bahwa isolat tersebut tidak patogen dan aman disuntikkan pada udang uji coba hingga konsentrasi 10^7 cfu/ml dengan tingkat kelangsungan hidup sebesar 100 %.

Hal ini membuktikan bahwa bakteri CP1 aman untuk dipakai dan dapat dijadikan probiotik karena tidak merugikan inangnya. Hal ini dipertegas dengan kultur bakteri yang menguntungkan yang ditambahkan kedalam pakan atau media budidaya yang dapat meningkatkan kelangsungan hidup dan ketahanan tubuh inangnya dapat dipakai sebagai probiotik menurut Moriarty (1999). Salah satu mekanisme kerja probiotik yaitu peningkatan respon imun (kekebalan), perbaikan kualitas air, dan interaksi dengan fitoplankton (Gomez-Gil, 2000).

V. harveyi MR5339 adalah bakteri yang patogen terhadap udang uji. Dalam ujiantang dengan *Vibrio* sp. perlu diketahui jumlah konsentrasi *V. harveyi* MR5339 yang sudah dapat mematikan udang uji lebih dari 50% (LD_{50}), yang nantinya digunakan untuk melihat kemampuan CP1 dalam menghambat *V. harveyi* MR5339 dan perannya sebagai probiotik. Hasil uji kelangsungan hidup *V. harveyi* MR5339 dapat dilihat pada Tabel 2.

V. harveyi MR5339 merupakan agen utama penyakit vibriosis atau bercahaya, menyerang organisme vertebrata dan invertebrata laut pada area geografis yang luas (Aliffudin, *et al.*, 2004). Bakteri *V. harveyi* MR5339 sebagai patogen udang yang signifikan di beberapa Negara tropik dapat menyebabkan mortalitas hingga 100 % di hatchery udang (Alifuddin *et al.*, 2004).

Tabel 2. Tingkat mortalitas udang uji (n = 30) pada uji LD_{50} terhadap tingkat patogenitas *V. harveyi* MR5339 Rif

Table 2. Level of shrimp mortality (n = 30) at LD_{50} on pathogen level of *V. harveyi* MR5339 Rif

<i>V. harveyi</i> MR5339 Rif ^R	Mortalitas	Reisolasi
10^7 CFU/ml	21	Positif
10^6 CFU/ml	5	Positif
10^5 CFU/ml	3	Positif
10^4 CFU/ml	0	Negative
Kontrol (PBS)	0	Negative

Penyakit vibriosis senang hidup pada temperatur tinggi, kepadatan penuh, stress dan kualitas air yang buruk (Howard, 1989). Beberapa dari galur *V. harveyi* dapat menyebabkan kematian total larva udang dengan dosis yang sangat rendah yakni konsentrasi 10^2 CFU/ml (Widanarni, 2004). Pada penelitian Mario *et al.*, (2000) dan

Maryani *et al.*, (2002), jumlah *V. harveyi* yang ditemukan pada larva yang mati juga berkisar 10^2 sampai 10^3 CFU/ml.

Setelah didapat satu isolat terbaik yang tidak patogen terhadap udang uji, dilakukan ujiantang dengan *V. harveyi* MR5339. Hal ini dimaksudkan untuk melihat kemampuan *Vibrio* sp kandidat probiotik (CP1) sebagai probiotik dalam kemampuannya menghambat serangan dari *V. harveyi* MR5339 pada udang uji. Tingkat kelangsungan hidup udang uji yang terbaik adalah penyuntikan CP1 dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml dan *V. harveyi* MR5339 konsentrasi 10^7 Cfu/ml sebesar 90% sama dengan kontrol (Tabel 3).

Penambahan konsentrasi CP1 dapat meningkatkan kemampuan melawan serangan patogen *V. harveyi* MR5339. Nilai tingkat kelangsungan pada perlakuan penambahan konsentrasi *Vibrio* sp. kandidat probiotik 10^5 CFU/ml, 10^6 CFU/ml, 10^7 CFU/ml berturut-turut adalah 35%, 65%, dan 90 % (Tabel 3). Ini berarti semakin besar jumlah konsentrasi yang diberikan semakin tinggi kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339. Sehingga isolat CP1 dapat dipakai sebagai kandidat probiotik karena mampu menekan serangan patogen *V. harveyi* MR5339 dengan konsentrasi 10^7 cfu/ml.

Tabel 3. Tingkat kelangsungan hidup udang uji (n=20) pada ujiantang secara *in vivo* *V. harveyi* MR5339 dengan CP1

Table 3. Shrimp survival (n = 20) on *in vivo* test of *V. harveyi* MR5339 with CP1

	CP1 + <i>V. harveyi</i> MR5339				Menurut (2004),
	Rif ^R	Mortalitas	Reisolasi	SR (%)	
Widanarni	10^7 CFU/ml + 10^7 CFU/ml	2	positif	90	
	10^6 CFU/ml + 10^7 CFU/ml	7	positif	65	
	10^5 CFU/ml + 10^7 CFU/ml	13	positif	35	
	Kontrol (PBS)	2	negatif	90	

penambahan masing-masing *Vibrio* SKT-b, PL₂T-a, dan N-C dengan konsentrasi 10^6 cfu/ml yang diujiantang dengan *V. harveyi* MR5339 dengan konsentrasi 10^3 cfu/ml dapat meningkatkan kelangsungan hidup berturut-turut adalah 93%, 90%, dan 82% sedangkan pada kontrol (*V. harveyi* MR5339) 68%. Peningkatan kelangsungan hidup pada perlakuan penambahan konsentrasi CP1 diduga karena adanya kemampuan CP1 dalam menghambat pertumbuhan *V. harveyi* MR5339. Dengan pertumbuhan *Vibrio* sp lebih mendominasi pertumbuhan MR5339.

Keberadaan total bakteri *V. harveyi* MR5339 pada organ hepatopankreas dan intestinum dapat dilihat pada tabel 4. Pada perlakuan 10^7 CFU/ml CP1 VS 10^7 CFU/ml *V. harveyi* MR5339 pada organ hepatopankreas keberadaan bakteri *V. harveyi* menurun setelah 24 jam penyuntikkan, sedangkan pada organ intestinum semakin meningkat pada saat 24 jam setelah penyuntikkan.

Tabel 4. Keberadaan dan penyebaran isolat bakteri *V. harveyi* MR5339 Rif^R pada organ tubuh udang

Table 4. Presence and distribution of *V. harveyi* MR5339 Rif^R isolate on shrimp organ

Titik waktu Pengamatan	10^7 CFU/ml CP VS 10^7 CFU/ml MR5339		10^7 CFU/ml MR5339	
	Hepatopankreas	Intestine	Hepatopankreas	Intestine
	3 Jam	122500	80	1025400
6 Jam	34950	0	355000	2580
12 Jam	6130	1480	116440	17248.5
18 Jam	15890	423	155800	25600
24 Jam	1750	2300	3250	670

Dari dua perlakuan yang dicobakan didapatkan keberadaan bakteri *V. harveyi* MR5339 pada organ hepatopankreas dan usus pada perlakuan 10^7 CFU/ml *V. harveyi* MR5339 lebih besar dibandingkan dengan perlakuan 10^7 CFU/ml *V. harveyi* MR5339 VS 10^7 CFU/ml CP1 (Tabel 4). Berdasarkan pengamatan morfologi pada uji LD₅₀ bahwa

kematian akibat serangan patogen *V. harveyi* MR5339 adalah pada 0 sampai 3 jam pertama setelah disuntikkan ke udang uji.

Dari keberadaan bakteri *V. harveyi* MR5339 ini dapat menambah satu fakta yang dapat mendukung kesimpulan dari hasil ujiantang secara *in vivo* yakni keberadaan *V. harveyi* MR5339 lebih banyak pada perlakuan kontrol yakni perlakuan tanpa penambahan probiotik. Ini menyatakan bahwa probiotik dapat menghambat pertumbuhan dari *V. harveyi* MR5339.

Hasil identifikasi dari *Vibrio* sp. CP1 adalah bakteri gram-negatif, bersifat motil, berbentuk batang pendek, koloni berwarna kuning bulat pada media TCBS, berwarna putih krem dan menyebar pada media SWC-agar. Isolat *Vibrio* sp kandidat probiotik yang menunjukkan hasil yang paling potensial dalam *uji in vitro* dan *uji in vivo* adalah isolat dengan sandi CP1, berdasarkan hasil identifikasi CP1 adalah *Vibrio furnissii*.

Kesimpulan dan Saran

Hasil isolat *Vibrio* sp sebagai kandidat probiotik yang didapat dari hasil isolasi adalah sebanyak dua jenis isolat. Isolat *Vibrio* sp kandidat probiotik yang menunjukkan hasil yang paling potensial dalam *uji in vitro* dan *uji in vivo* adalah isolat dengan sandi CP1, dimana berdasarkan hasil identifikasi CP1 adalah *Vibrio furnissii*. Perlakuan dengan konsentrasi penambahan probiotik CP1 sebesar 10^6 CFU/ekor dapat meningkatkan sintasan dari udang uji sebesar 90%. Secara umum dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi *Vibrio furnissii* dapat diikuti dengan peningkatan sintasan udang uji.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terselenggara atas hibah Penelitian Dosen Muda Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Terima kasih juga kepada Riviewer Jurnal Biosfera yang sudah mengoreksi jurnal ini.

Daftar Pustaka

- Alifuddin, M.D.D., Pasaribu, F.H., dan Afandi, R., 2004. Pengaruh imunostimulan 60 ppm (LPS, *Saccharomyces cerevisiae* dan Levamisol) terhadap respon imunitas ikan jambal siam (*Pangasius hypophthalmus* Fowler). Jurnal ilmu-ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia, VIII (1), 49-56.
- Alifuddin, Sukenda, dan Dana, D., 2004. Manfaat bahan aktif hidrokuinon dari buah *Sonneratia caseolaris* untuk mengendalikan infeksi buatan *Vibrio harveyi* pada udang windu *Penacus monodon* FAB. Akuakultur Indonesia, 3(1), 29-35.
- Cohen, J., Samocha, T.M., Fox, J.M., Gandy, R.L., and Lawrence, A.L., 2005. Characterization of water quality factors during intensive raceway production of juvenile *L. vannamei* using limited discharge and biosecure management tools. Aquaculture Engineering, 32 (3-4), 425-442.
- Gomez, G.B. and Roque A., 1998. Selection of Probiotic Bacteria for Use in Aquaculture. Di dalam : Flegel TW, editor. Advances in Shrimp Biotechnology. Proceedings to the Special Session on Shrimp Biotechnology, 5th Asian Fisheries Forum; Chiangmai, Thailand. Bangkok : National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. hlm 175.
- Howard, H. H., 1989. Handbook of Fish Disease. TFH Publications. p 123 - 131.
- Lavilla-Pitogo C.R., Lean˜o E.M., and Paner M.G., 1998. Mortalities of pond-cultured juvenile shrimp, *Penaeus monodon*, associated with dominance of luminescent vibriosis in the rearing environment. Aquaculture, 164, 337- 349.

- Liu B. C, Lee, K.K., and Chen, S.N., 1996. Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger prawn, *Penaeus monodon*. Letters in Applied Microbiology, 22, 413–416.
- Mario, Y. T., Rogelio Q.G., and Rogelio, T.D., 2000. The beneficial effects of a probiotic product on selected chemical and growth parameters in *Penacus monodon* Pond waters. Abstract. *World Aquaculture*, p 454.
- Maryani, D.D. dan Sukenda, 2002. Peranan ekstrak kelopak dan buah mangrove *Sonneratia caseolaris* (L) terhadap infeksi bakteri *Vibrio harveyi* pada udang windu (*Penaeus monodon* FAB.). *Akuakultur Indonesia*, 1 (3): 129–138.
- Moriarty, D.J.W., 1999. Disease control in shrimp aquaculture with probiotic bacteria. Di dalam: Bell, C.R., Brylinsky, M., and Johnson-Green, P. (Editor). Proceeding of the 8th International Symposium on Microbial Ecology. Halifax, Canada.
- Rengpipat, S., Phianphak, Piyatiratitivorakul, S., Menasveta, P., Sirirat, R., Wannipa, P., Somkiat, P., and Piamsak, M., 1998. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 161, 301–313.
- Rukyani, A., Taufik P., dan Taukhid, 1992. Penyakit kunang-kunang (*luminescence vibrios*) di hatchery udang windu dan cara penanggulangan penyakit benur di hatchery udang. *J. Litbang Pert*, 2,1 -17.
- Sinrat, R., Sombat, R., Somkiat, P., and Piamsar, M., 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp *Penacus monodon* by a probiont bacterium *Bacillus* S11. *Aquaculture*, 191, 271–288.
- Tjahjadi, M.R., Angka S.L., and Suwanto, A., 1994. Isolation and evaluation of marine bacteria for biocontrol of luminous bacterial diseases in tiger shrimp larvae (*Penaeus monodon* Fab.) *Aspac. J. Mol. Biol. Biotechnol*, 2,234-352.
- Widanarni, 2004. Penapisan bakteri probiotik untuk biokontrol vibriosis pada larva udang windu: konstruksi penanda molekuler dan esei pelekatan. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Zhang, X. H., Meaden, P.G., and Austin, B., 2001. Duplication of hemolysin genes in a virulent isolate of *Vibrio harveyi*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3161–3167.