

## PENERAPAN BAKTERI *Alteromonas* sp. BY-9 AWETAN UNTUK PRODUKSI BENIH UDANG WINDU, *Penaeus monodon*

Haryanti<sup>1</sup>\*, I Gusti Ngurah Permana<sup>1</sup>, Sari Budi Moria S.<sup>1</sup>\*, Ketut Sugama<sup>2</sup>\*\*, dan Jovita Tri Murtini<sup>3\*\*\*</sup>

### ABSTRAK

Tingkat kematian yang tinggi selama pemeliharaan larva udang pada umumnya disebabkan oleh serangan penyakit, akibatnya diperoleh produksi dan mutu benih yang relatif rendah. Penggunaan antibiotik, obat-obatan, dan bahan-bahan kimia untuk pencegahan penyakit dirasakan tidak efektif. Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali sudah menerapkan kontrol biologi untuk vibrio berbahaya dalam pemeliharaan larva. Penelitian menggunakan sel awetan (imobil bakteri) *Alteromonas* sp. BY-9 sudah dilakukan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *Vibrio* spp. dapat ditekan hingga  $10\text{--}10^2$  CFU/mL dalam air pemeliharaan larva udang. Didapatkan tingkat sintasan benih stadia PL-10 sebesar 35,6% pada perlakuan penggunaan sel awetan dan 34,0% pada kontrol (sel segar). Hasil ini menyimpulkan bahwa probiotik *Alteromonas* sp. BY-9 dalam bentuk sel awetan dapat diaplikasikan sebagai kontrol biologi dalam produksi benih udang. Hal ini akan membantu sektor swasta dalam menyederhanakan penggunaan bakteri probiotik dan meminimalkan penggunaan antibiotik dalam produksi benih udang.

**ABSTRACT:** *Application of immobile cell of Alteromonas sp. BY-9 to produce black tiger shrimp Penaeus monodon fry. By: Haryanti, I Gusti Ngurah Permana, Sari Budi Moria, Ketut Sugama, and Jovita Tri Murtini*

*High mortalities on the larval rearing of black tiger shrimp *Penaeus monodon* are mostly due to infection diseases. Consequently, this results in low survival and low quality of larvae. Application of antibiotic, drug, and chemical tocontrol the diseases was ineffective. The use of biological control against luminescent vibriosis (*Vibrio harveyi*) in the rearing media of shrimp has been applied by RIM, Gondol-Bali. Study on the application of immobile cells morder to produce black tiger shrimp *P. monodon* fry was carried out by using *Alteromonas* sp. BY-9 that was immobilized by Na-alginate. Addition of immobile cells of *Alteromonas* sp. BY-9 strain was able to suppress the growth of *Vibrio* up to  $10\text{--}10^2$  CFU/mL in the rearing water. The survival rate of larvae up to PL-10 was 35.6 % on the group added with immobile cell *Alteromonas* sp. BY-9 strain at  $10^6$  cfu/mL. But it was not significant different with the control (fresh cell bacterium) which was 34.0 %. The finding suggested that immobile cell of *Alteromonas* sp. BY-9 strain could be applied as biological control agent of vibriosis in the rearing media of shrimp larvae. This will help the private sector to simplify the use probiotic and minimize the use of antibiotic for seed production of shrimp larvae.*

**KEYWORDS:** *Alteromonas* sp. BY-9, *immobile cells*, *Penaeus monodon*

### PENDAHULUAN

Penelitian mengenai mikroorganisme terus berkembang seiring dengan perkembangan teknologi, khususnya di bidang bioteknologi. Penggunaan bakteri sebagai salah satu penghasil enzim atau senyawa sejenis antibiotik yang potensial juga semakin berkembang. Dari rangkaian penelitian yang telah dilakukan oleh Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali, dihasilkan satu strain bakteri, *Alteromonas* sp. BY-9 yang dapat diaplikasikan sebagai probiotik dan kontrol biologi dalam produksi

benih udang windu, *Penaeus monodon* skala massal (Haryanti *et al.*, 2000<sup>b</sup>, Haryanti *et al.*, 2000<sup>c</sup>, Haryanti *et al.*, 2001). Dari indikator perannya dalam menekan populasi vibrio patogen dan menstimulasi pertumbuhan larva serta meningkatkan vitalitas benih, maka penggunaan antibiotik maupun bahan-bahan kimia sudah dapat ditiadakan dalam produksi benih. Hasil penelitian yang telah diperoleh menunjukkan bahwa pemanfaatan strain bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 dapat meningkatkan sintasan (46%--63%), pertumbuhan yang lebih cepat, dan mutu benih yang lebih baik serta dapat menekan vibrio patogen hingga

<sup>1</sup> Peneliti pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

<sup>2</sup> Pusat Riset perikanan Budidaya

<sup>3</sup> Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan

populasi sangat rendah ( $10 \text{ cfu/mL}$ ) atau bahkan tidak ada dalam media pemeliharaan larva maupun individu benih (Haryanti *et al.*, 1997<sup>a</sup>; Haryanti *et al.*, 1997<sup>b</sup>; Haryanti *et al.*, 1998; Haryanti & Sugama, 1998).

Dalam upaya untuk mempermudah penanganan dan penggunaan bakteri probiotik tersebut, juga telah dilakukan penelitian melalui teknik preservasi dan diujikan dalam pemeliharaan larva skala laboratories maupun massal. Penggunaan bakteri probiotik yang telah dipreservasi dengan pengeringan dingin (*lyophilized*) untuk pemeliharaan larva menunjukkan hasil keragaan pertumbuhan dan sintasan yang tidak berbeda bila dibandingkan dengan penggunaan sel hasil kultur segar. Demikian pula teknik mencampur/menempelkan sel bakteri probiotik *Alteromonas* sp. BY-9 dalam pakan alami hasil *axenic clone culture* memberikan hasil yang baik dalam menghasilkan benih (Haryanti *et al.*, 2000<sup>a</sup>). Beberapa ahli juga berpendapat bahwa pertumbuhan mikroalga dapat distimulasi dengan adanya koeksistensi strain bakteri yang diinokulasikan dalam kulturnya (Fukami *et al.*, 1992; Haryanti, 1997; Riquelm *et al.*, 1988, Sukoso *et al.*, 1998).

Penggunaan strain *Alteromonas* sp. BY-9 awetan berbentuk sel awetan dapat lebih efektif dan disederhanakan, sehingga mudah diterapkan bagi pengguna. Diharapkan hanya dengan menebarkan sel awetan maka bakteri akan berkembang biak dalam air pemeliharaan.

Penelitian preservasi bakteri probiotik juga telah dilakukan Rengipat *et al.* (1998) dalam budi daya udang *Penaeus monodon* di tambak, dan ternyata preservasi pengeringan dingin yang dicampur dengan pakan memberikan hasil yang lebih baik. Hasil ini juga disinyalir dapat meningkatkan sistem imunitas dari udang dengan adanya probiotik (Rengipat *et al.*, 2000). Fuller (1986) dan Uma (1999) menjelaskan bahwa bakteri probiotik sebagai suplemen pakan memiliki pengaruh menguntungkan untuk memperbaiki keseimbangan mikroflora pada saluran pencernaan larva, sehingga dapat lebih diaktifkan. Penggunaan probiotik dalam kultur organisme akuatik juga telah banyak dilakukan dengan menghasilkan peningkatan sintasan (Gomez-Gil *et al.*, 2000).

Dengan demikian penambahan bakteri probiotik dalam bentuk sel awetan yang dihasilkan dengan cara menjerat sel-sel bakteri dalam bahan *filler* (Na-alginate) diharapkan dapat memperbaiki teknik penggunaan bakteri probiotik awetan (sel awetan) yang mudah dan efektif dalam meningkatkan produksi benih udang windu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan teknik produksi benih dengan aplikasi bakteri probiotik *Alteromonas* sp. BY-9 awetan dalam bentuk sel awetan, agar mempermudah dan efektif penggunaannya secara luas dan komersial.

## BAHAN DAN METODE

### Kultur Bakteri *Alteromonas* sp. BY-9

Satu koloni isolat *Alteromonas* sp. BY-9 dikembangbiakkan dalam media *bacto peptone*, *bacto soytone*, *bacto malt extract*, dan *yeast extract*, masing-masing dengan konsentrasi 0,05%; 0,1%; 0,1%; dan 0,05% (Nogami & Maeda, 1992) dengan wadah 5 L pada suhu 25°C dan waktu inkubasi 48 jam. Selama kultur dilengkapi dengan aerasi. Kepadatan kultur bakteri diharapkan mencapai  $10^{11}$  sampai  $10^{12}$  (populasi puncak) per mL. Sel setelah dipropagasi selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 8.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Endapan sel yang diperoleh dicuci dengan 0,05 M Tris HCl ber-pH 7,5 untuk diimobilisasi.

### Imobilisasi Bakteri *Alteromonas* sp. BY-9

Teknik imobilisasi bakteri dilakukan dengan metode penjeratan sel bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 menggunakan alginat. Sediaan alginat dibuat dengan cara mensuspensikan sebanyak 1,5% (w/v) Natrium Alginat dalam akuades. Alginat yang digunakan dalam penelitian ini merupakan produksi dari Laboratorium Kimia Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta. Selanjutnya suspensi diaduk selama 6 jam dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 malam pada suhu ruangan. Larutan alginat selanjutnya disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk mencegah depolimerisasi, maka alginat harus mempunyai pH 7,0.

Larutan alginat steril selanjutnya dicampur dengan suspensi sel bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 dengan perbandingan 1:3. Proses pengawetan dilakukan dengan cara meneteskan larutan alginat berisi sel bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 menggunakan alat jarum suntik berukuran 0,1–1,0 mm di atas larutan 1% CaCl<sub>2</sub>. Butiran kecil manik-manik yang terbentuk selanjutnya mengeras sekitar 15–20 menit, dan dibiarkan pada suhu 4°C selama 4 jam. Selanjutnya butiran dikumpulkan dan dicuci dengan akuades steril dan disimpan dalam 0,05 M larutan penyanga Tris-HCl dengan pH 7,5 pada suhu 4°C.

### Pemeliharaan Larva

Larva udang stadia naupli yang sehat dijadikan hewan uji dalam penelitian ini. Wadah yang digunakan adalah bak beton volume 6 m<sup>3</sup> sebanyak 6 buah, diisi air laut dan didesinfeksi dengan 25 mg/L natrium hipoklorit (NaClO) selama 24 jam, selanjutnya dinetralkalisir dengan natrium tiosulfat. Sebelum digunakan sebagai hewan uji naupli didesinfeksi

dengan menggunakan iodine 100 mg/L selama 10 menit. Kepadatan naupli 75 ekor L<sup>-1</sup> dan dipelihara hingga mencapai stadia postlarva (PL)-10. Selama penelitian, larva diberi pakan alami *Chaetoceros ceratosporum* dengan kepadatan awal 5.000 sel mL<sup>-1</sup> dan secara bertahap ditingkatkan hingga 50.000 sel mL<sup>-1</sup> disesuaikan dengan perkembangan stadia larva dan pakan buatan (mikroenkapsulasi).

Ada 2 perlakuan dalam penelitian ini yaitu:

1. Pemberian bakteri probiotik strain *Alteromonas* sp. BY-9 hasil awetan dalam bentuk sel immobil untuk pemeliharaan larva udang;
2. Inokulasi bakteri probiotik strain *Alteromonas* sp. BY-9 hasil pengkulturan sel utuh dalam bentuk liquid dan segar.

Metode pemeliharaan larva sesuai dengan Haryanti *et al.*, (1997<sup>a</sup>) yaitu dengan ulangan 3 kali pada masing-masing perlakuan. Pengujian terhadap stabilitas kemampuan bakteri probiotik immobil dilakukan dengan menganalisis *Extra Cellular Product* (ECP) dan keragaan *fragment* genom (polimorphism) DNA melalui amplifikasi PCR dan pemotongan menggunakan enzim restriksi, kemudian dibandingkan dengan sel bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 yang tidak diawetkan. Analisis dilakukan dengan agarose gel electrophoresis dalam larutan penyanga TAE 1 x selama 30 menit dan diwarnai dengan ethidium bromide.

Perubahan biologi diamati meliputi sintasan, pertumbuhan, vitalitas larva, populasi vibrio, dan kualitas air, sedangkan analisis data dengan rancangan acak lengkap (*Randomized Complete Design*).

## HASIL DAN BAHASAN

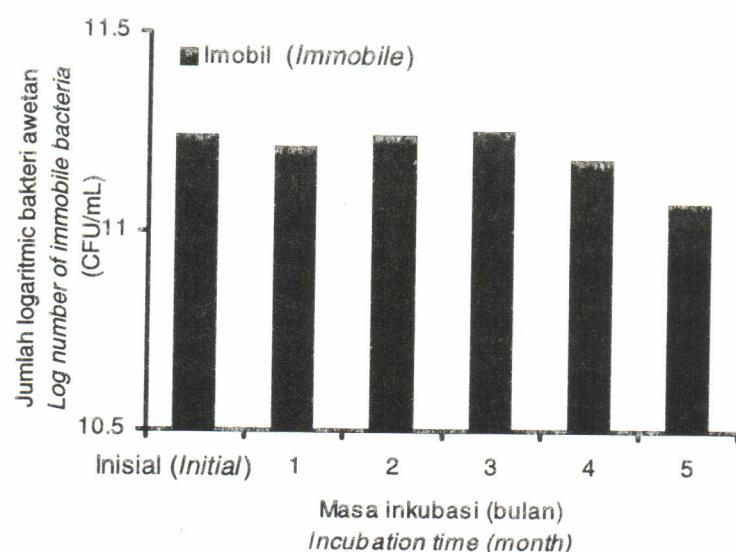
### **Stabilitas Penyimpanan Sel Immobil *Alteromonas* sp. BY-9**

Hasil pengamatan terhadap stabilitas sel awetan *Alteromonas* sp. BY-9 pada penyimpanan dalam larutan buffer Tris HCl terhadap populasi bakteri tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata dengan interval waktu tertentu. Hal ini terlihat pada Gambar 1.

Pengamatan terhadap kepadatan sel bakteri yang diperangkap dengan Na alginat relatif stabil dalam penyimpanan dengan Tris HCl buffer pada suhu 4°C. Hal ini diduga bahwa pada proses pengawetan, bakteri dapat menahan aktivitas katalitik, namun aktivitas enzimatiknya masih ada. Dengan demikian waktu penyimpanan pada suhu tetap (4°C) tidak menyebabkan penurunan jumlah sel dalam Na-alginat. Sel *terimobilisasi* didefinisikan sebagai sel mikroorganisme yang secara fisik ditempatkan dalam suatu ruang yang dapat menahan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan berulang-ulang (Peranginangin *et al.*, 1998). Sel ini dapat dalam keadaan hidup, mati, atau dalam fase pertumbuhan.

### **Sintasan dan Perkembangan Stadia Larva Udang**

Berdasarkan hasil sampling terhadap larva tiap stadia menunjukkan kepadatan yang berbeda antar perlakuan. Pada awal stadia, kepadatan larva relatif sama dengan awal penebaran, tetapi pada saat mencapai stadia zoea-3 terlihat penurunan kepadatan



Gambar 1. Kepadatan *Alteromonas* sp. BY-9 dalam kondisi sel awetan pada penyimpanan yang berbeda  
Figure 1. Density of immobile cell *Alteromonas* sp. BY-9 in different duration of storage

yang sangat tajam (Gambar 2). Hal ini mungkin berhubungan dengan tercapainya tahapan pembentukan sistem *digestibility* larva secara sempurna termasuk aktivasi enzimatis usus larva untuk mernanfaatkan pakan buatan yang diberikan, sehingga larva harus melakukan adaptasi natural dan memerlukan energi. Giri *et al.* (1992) menyatakan bahwa pembentukan enzim pencernaan mengalami tahapan sesuai dengan perkembangan alat pencernaan larva udang dan enzim pencernaan berperan dalam proses perombakan molekul besar bahan pakan menjadi molekul kecil sehingga dapat diserap dan diedarkan ke seluruh bagian tubuh.

Demikian pula dimulainya pergantian air sehingga menimbulkan perubahan kondisi lingkungan dalam wadah pemeliharaan. Adanya perubahan kondisi tersebut menyebabkan larva harus mempunyai kemampuan adaptasi dan energi untuk meresponnya. Sintasan larva dengan perlakuan penambahan sel awetan *Alteromonas* BY-9 hingga stadia PL-5 sebesar 40,96% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan penggunaan sel segar *Alteromonas* BY-9 (34,85%). Demikian pula sintasan hingga stadia PL-10.

Pengamatan terhadap perkembangan stadia larva menunjukkan perbedaan yang tidak nyata antara perlakuan penambahan bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 dalam bentuk sel awetan dan segar, seperti tertera pada Gambar 3. Perkembangan stadia larva dari naupli hingga zoea-3 nampaknya tidak ada perbedaan antar perlakuan, yaitu semua larva dapat berganti kulit secara seragam. Sedangkan pada saat larva mengalami metamorfosis ke stadia *mysis*, terjadi

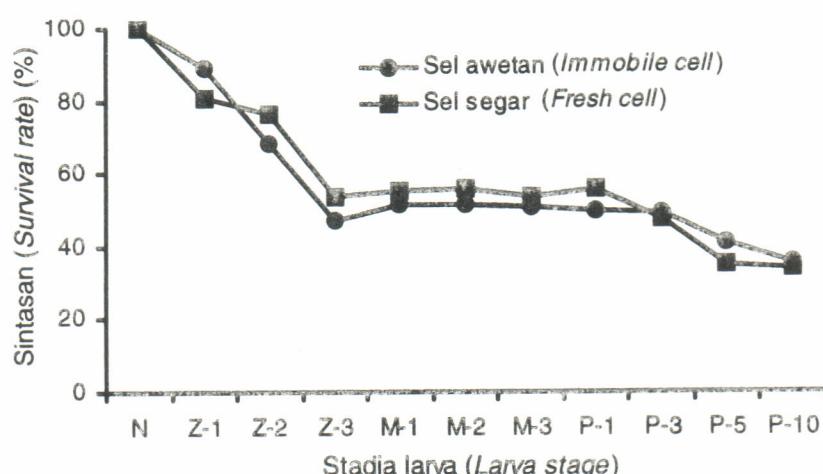
perbedaan yaitu sekitar 23%--27%, larva masih pada stadia zoea-3 dan sisanya dapat berubah menjadi *mysis*. Keadaan yang sama ini terjadi pada perlakuan inokulasi *immobile cells* dan *fresh cells*.

Tidak adanya perbedaan pengaruh terhadap perkembangan stadia ini nampaknya disebabkan oleh kemampuan probiotik yang tidak berubah walaupun sudah diawetkan dalam bentuk sel awetan. Stabilitas sel probiotik awetan tersebut tercermin juga dari pengujian ekstra *cellular product* serta polimorphism DNA sel *Alteromonas* BY-9 awetan.

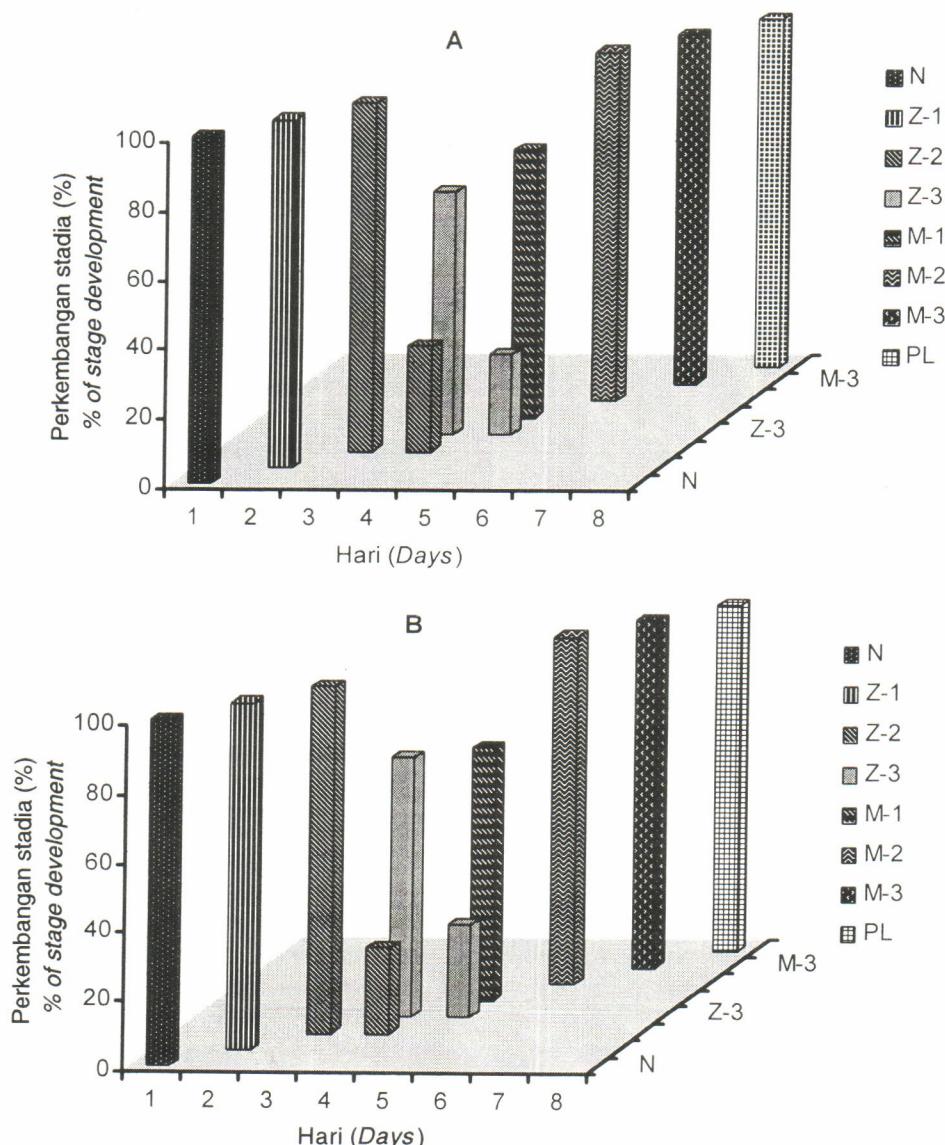
#### Penghambatan terhadap Bakteri Patogen (*Vibrio* spp.)

Peran probiotik *Alteromonas* sp. BY-9 awetan dan segar terhadap penghambatan *Vibrio* patogen terlihat dari hasil pemantauan populasinya dalam air pemeliharaan larva. Inokulasi probiotik awetan dan segar menunjukkan hasil yang sama terhadap kemampuan penghambatan *Vibrio* spp., hal ini terlihat dalam Gambar 4.

Kemampuan probiotik awetan dalam menghasilkan substansi penghambat atau senyawa yang diduga sejenis antibiotik tidak menurun akibat pengawetan dalam bentuk sel awetan. Pada stadia zoea hingga postlarva, populasi *Vibrio* spp. terlihat hanya mencapai  $10^2$  CFU/mL. Hal ini tidak berbeda nyata dengan perlakuan inokulasi probiotik dari sel segar. Teknik pengawetan sel awetan nampaknya sesuai untuk bakteri bagi penonaktifan aktivitas katalitiknya selama diawetkan, namun setelah diaktifkan kembali tidak kehilangan kemampuannya dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen.



Gambar 2. Sintasan larva udang dengan inokulasi probiotik *Alteromonas* sp. BY-9 sel awetan dan sel segar  
Figure 2. Survival rate of larvae treated with different inoculation of probiotic (*immobile cells* and *fresh cells* of *Alteromonas* sp. BY-9)



Gambar 3. Persentase perkembangan stadia larva dengan inokulasi *Alteromonas* sp.BY-9 berbeda (A. Inokulasi sel segar, B. Inokulasi sel awetan)

Figure 3. Percentage of larva stage development treated with different inoculation of *Alteromonas* sp.BY-9  
(A. Inoculation of fresh cells, B. Inoculation of immobile cells)

### Vitalitas Larva

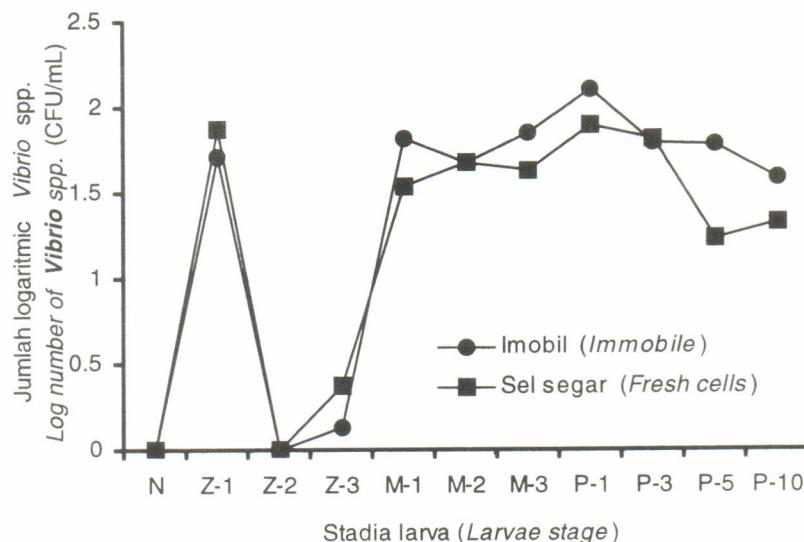
Pengujian benih udang yang telah mendapatkan perlakuan, menunjukkan hasil yang tidak berbeda. Hal ini terlihat dalam Tabel 1.

Vitalitas benih udang dari perlakuan inokulasi probiotik awetan dan sel segar dengan pengujian menggunakan konsentrasi formalin dan waktu pengeringan berbeda menunjukkan bahwa tingkat stres dan mortalitas semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi formalin dan lama pengeringan. Keadaan stres ini akan pulih kembali setelah benih dipindahkan dalam air laut dan diaerasi. Sintasan benih pada penggunaan probiotik awetan

dengan uji formalin tidak berbeda nyata ( $P>0,05$ ) bila dibandingkan dengan perlakuan sel segar. Demikian pula pada uji pengeringan dengan waktu yang beda pada 2 perlakuan. Hal ini diduga adanya peningkatan vitalitas benih akibat perlakuan penggunaan probiotik. Pengujian secara kimiawi dan fisik biasa digunakan sebagai indikator kemampuan vitalitas benih.

### Uji Tantang *Vibrio harveyi* Terhadap Benih Udang

Hasil uji tantang benih udang terhadap *Vibrio harveyi* dengan kepadatan  $10^4$  CFU/mL tersaji pada Gambar 5. Nampaknya infeksi *V. harveyi* dengan



Gambar 4. Kepadatan *Vibrio* spp. dalam media pemeliharaan larva udang dengan inokulasi sel *Alteromonas* sp. BY-9 awetan dan sel segar

Figure 4. Density of *Vibrio* spp. in the rearing water of larvae inoculated with immobile and fresh cells of *Alteromonas* sp. BY-9

waktu perendaman 12 jam menghasilkan mortalitas benih yang relatif rendah antar 2 perlakuan (6%--12%). Sementara itu dengan waktu perendaman 20 jam, mortalitas benih pada perlakuan inokulasi awetan bakteri sebesar 40% dan berlanjut hingga 62% pada 24 jam perendaman. Hal ini berbeda bila dibandingkan dengan sintasan benih yang direndam dalam *V. harveyi* selama 20 jam dan 24 jam terhadap benih yang dipelihara dengan inokulasi probiotik sel segar, masing-masing sebesar 55% hingga 78%.

Hal ini mungkin diduga adanya imunitas yang terbentuk oleh benih udang akibat perlakuan inokulasi probiotik. Rengpipat *et al.* (2000) menyatakan bahwa

penambahan probiotik dalam pakan untuk budi daya udang di tambak berpengaruh positif terhadap tingkat kekebalan udang terhadap serangan penyakit.

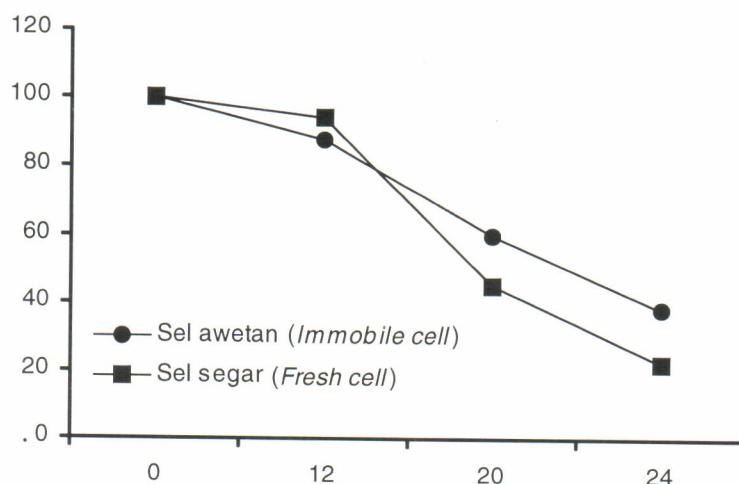
#### Produk Ekstra Seluler dan DNA Polimorfisme

Hasil analisis luaran sel produk tertera pada Tabel 2, sedangkan DNA polymorphism dari sel probiotik awetan dan sel segar disajikan pada Gambar 6.

Nampak bahwa produk luaran sel probiotik awetan dan segar tidak berbeda. Demikian pula keragaan fragmen polimorfisme DNA setelah dipotong dengan beberapa enzim restriksi (*Mbo*I, *Hae*III, *Hha*I, *Sau*3

Tabel 1. Vitalitas benih udang setelah diuji dengan larutan formalin dan pengeringan  
Table 1. Vitality of shrimp fry after treated by formaldehyde and drying test

Perlakuan <i>Treatments</i>	Larutan formalin <i>Formaldehyde</i> 100 mg/L	Larutan formalin <i>Formaldehyde</i> 150 mg/L	Larutan formalin <i>Formaldehyde</i> 200 mg/L	Pengeringan <i>Dried</i> 5 minutes	Pengeringan <i>Dried</i> 10 minutes
<b>Awetan (Immobil)</b>					
Stres (Stress) (%)	13	37	53	27	30
Sehat (Healthy) (%)	84	60	44	66	60
Mati (Mortality) (%)	3	3	3	7	10
Hidup (Survival) (%)	97	97	97	93	90
<b>Sel segar (Fresh cells)</b>					
Stres (Stress) (%)	10	27	47	27	37
Sehat (Healthy) (%)	90	73	46	70	50
Mati (Mortality) (%)	0	0	7	3	13
Hidup (Survival) (%)	100	100	93	97	87

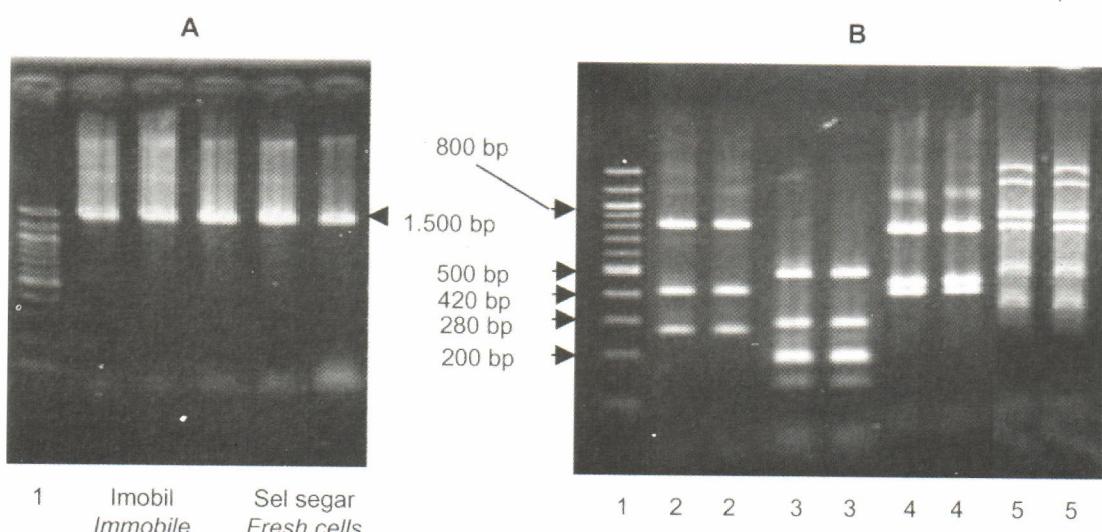


Gambar 5. Sintasan larva udang setelah diuji dengan *V. harveyi*  
Figure 5. Survival rate of shrimp larvae after challenge with *V. harveyi*

Tabel 2. Produk luaran sel dari bakteri *Alteromonas* sp. BY-9 dalam kondisi imobil dan sel segar  
Table 2. Extra cellular product of immobile cells and fresh cell of *Alteromonas* sp. BY-9

Perlakuan (Treatments)	Sel imobil (Immobile cells)	Sel segar (Fresh cells)
Gelatinase	+	+
Amylase	+	+
Casease	++	++
Lipase	+	+
Lecithinase	-	-
Chitinase	-	-
Urease	-	-

Keterangan: + = menghasilkan ekstra seluler (produce of extra cellular)  
- = tidak menghasilkan ekstra seluler (not produce of extra cellular)



Gambar 6. Amplifikasi DNA (A) dan (B) Polimorfisme DNA dari sel awetan dan sel segar bakteri *Alteromonas* sp.BY-9 yang dipotong dengan enzim restriksi (1: marker DNA ladder 100 bp, 2: *Mbo* I, 3: *Hae* III, 4: *Hha* I, 5: *Sau* 3 Al)

Figure 6. DNA Amplification (A) and (B) DNA polymorphism of immobile cells and fresh cells *Alteromonas* sp. BY-9 after digested by restriction enzyme (1: marker DNA ladder 100 bp, 2: *Mbo* I, 3: *Hae* III, 4: *Hha* I, 5: *Sau* 3 Al)

Al) Hal ini berarti tidak ada penurunan atau perubahan secara molekuler terhadap sel probiotik setelah mendapat perlakuan, sehingga disinyalir juga tidak ada perubahan kemampuan perannya sebagai probiotik atau kontrol biologi dalam pemeliharaan larva udang.

### Mutu Air

Dari hasil pemantauan selama pemeliharaan larva tidak ada perbedaan efek perlakuan terhadap mutu air. Kisaran nilai mutu air menunjukkan kisaran yang bervariasi, yaitu pH 8,0--8,13 (pagi) dan 8,0--8,20 (sore); suhu air 27,1°C--28,4°C (pagi) dan 27,8°C--29,1°C (sore); serta salinitas air 34 ppt. Hal ini dipertimbangkan bahwa kisaran mutu air tersebut masih memadai bagi kehidupan larva udang.

### KESIMPULAN DAN SARAN.

#### Kesimpulan

Penggunaan probiotik awetan dalam bentuk sel awetan tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan sel segar dalam hal kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (*luminescent vibriosis*), menstimulasi pertumbuhan, meningkatkan sintasan dan vitalitas benih udang windu.

#### Saran

Perlu dikembangkan teknik imobilisasi bakteri probiotik dalam skala yang besar dan komersial *Alteromonas* sp. BY-9.

### DAFTAR PUSTAKA

- Fukami, K., A. Yuzawa, T. Nishijima, and Y. Hata. 1992. Isolation and properties of bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagaasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(6), p. 1.073-1.077.
- Fuller, R. 1986. Probiotics. *J. Appl. Bacteriol. Suppl.* p. 5-75.
- Gomez-Gil, B. A. Roque, and J.F. Turnbull. 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture*, 191: 259-270.
- Giri, N.A., M. Marzuqi, Jufri, and C. Kuma. 1992. Studi pendahuluan pengaruh beberapa sumber protein terhadap perkembangan dan sintasan larva udang windu *Penaeus monodon*. *J. Pen. Budidaya Pantai*, 8 (3): 57--66.
- Haryanti. 1997. Preliminary study on the use of bacteria as biocontrol for culture of microalgae *Chaetoceros ceratosporum*. In Darussamin A., I.P. Kompiang, S. Moeljopawiro (eds.). Current Status of Agricultural Biotechnology in Indonesia. *Proceeding second Conference on Agricultural Biotechnology*, Jakarta, 13-15 June 1995. p. 563--569.
- Haryanti, S. Lante, and S. Tsumura. 1997<sup>a</sup>. Studi pendahuluan penggunaan bakteri BY-9 sebagai probiotik dalam pemeliharaan larva udang windu *Penaeus monodon*. *J. Pen. Perikanan Indonesia* III (1): 44--52.
- Haryanti, K. Sugama, S. Lante, and S. Tsumura. 1997<sup>b</sup>. Teknik biokontrol dalam pemberian udang *Penaeus monodon*. Seminar Hasil-Hasil Penelitian Berbasis Perikanan, Peternakan, Sistem Usaha Tani di Kawasan Timur Indonesia, Kupang 28--30 Juli 1997.
- Haryanti and K. Sugama. 1998. Diseases problem and use of bacteria as biocontrol agent for larval rearing of *Penaeus monodon* in Indonesia. In Huai-Shu Xu (ed.). *Proceeding of the Regional Workshop on Diseases Problems of Shrimp Culture Industry in the Asian Region and Technology of Shrimp Disease Control, October 9--14, 1998 Qingdao, China*. p. 1--9.
- Haryanti, K. Sugama, and S. Tsumura. 1998. Use of BY-9 as a probiotic agent in the larval rearing of *Penaeus monodon*. In T.W. Flegel (ed.). Advances in shrimp biotechnology. *Proceeding to the Special Session on Shrimp Biotechnology, 5<sup>th</sup> Asian Fisheries Forum, 11-14 November 1998, Chiangmai, Thailand*. p. 183--185.
- Haryanti, K. Sugama, S. Tsumura, and T. Nishijima. 2000<sup>b</sup>. Vibriostatic bacterium isolated from seawater. Potentiality as probiotic agent in the rearing of *Penaeus monodon* larvae. *Indon. Fish. Res. J.* 6(1): 26--32.
- Haryanti, K. Sugama, S. Tsumura, and T. Nishijima. 2000<sup>c</sup>. Potentiality of bacteria isolated from seawater as biological control agent for vibriosis in black tiger shrimp *Penaeus monodon* larvae. *International Symposium on Marine Biotechnology*. Ancol Jakarta 29--31 May 2000.
- Nogami, K. and M. Maeda. 1992. Bacteria as biocontrol agent for rearing larva of the crab, *Portunus trituberculatus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 49 (11): 2.373--2.376.
- Rengipat, S., W. Phianphak, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 1998. Effect of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. *Aquaculture*, 167: 310--313.
- Rengipat, S., S. Rukpratanporn, S. Piyatiratitivorakul, and P. Menasveta. 2000. Immunity enhancement of in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiotic bacterium (*Bacillus S-11*). *Aquaculture*, 191: 271--288.
- Requelm, C.E., K. Fukami, and Y. Ishida. 1988. Effect of bacteria on the growth of marine diatom, *Asterionella glacialis*. *Bull. Japan. Soc. Microbiol. Ecol.*, 3: 29-34.
- Peranginangin, R., A. Poernomo, S. Amini, and N. Retnowati. 1998. Penelitian sistem reaktor untuk aplikasi sel imobil penghasil protease. *Laporan Teknis Penelitian Teknik Mikroba Imobil Penghasil Protease dari Hasil Limbah Industri Perikanan*. Bagian Proyek Penelitian dan Pengembangan Perikanan Slipi, Balitkanlut, Jakarta. p. 1--14.

- Sukoso, K. Iwamoto, T. Sakata, and T. Yoshikawa. 1998. Characteristic of filamentous bacteria co-existing with some marine microalgae. *Fish. Sci.*, 64(1): 65--70.
- Uma, A. 1999. *Feed Probiotics for Sustainable Aquaculture*. Asian Aquaculture, Aquaculture Department, SEAFDEC, Philippines, XXI (2): 13--15.