

Lestari Lakhsmi Widowati

By Diah Ayu Satyari Utami

1
**KELIMPAHAN DAN JENIS BAKTERI *Vibrio* PADA AIR DAN SEDIMEN
TAMBAK UDANG VANAME SISTEM MONOKULTUR DAN
POLIKULTUR DENGAN *Gracilaria* sp. DI
KABUPATEN BREBES**

ABSTRAK

Infeksi bakteri *Vibrio* merupakan salah satu masalah yang banyak dihadapi pada budidaya udang vaname. Serangan vibriosis disebabkan oleh tingginya limbah organik di perairan. Rumput laut jenis *Gracilaria* sp. memiliki senyawa aktif dan kemampuan memperbaiki kualitas air sehingga dapat mereduksi kelimpahan bakteri *Vibrio*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kelimpahan dan jenis bakteri *Vibrio* pada budidaya udang vaname secara monokultur dan polikultur dengan *Gracilaria* sp. Sampel air dan sedimen diambil dari lima tambak monokultur dan lima tambak polikultur di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Bakteri *Vibrio* dihitung kelimpahannya dengan metode *total plate count* dan diidentifikasi secara morfologi, mikroskopis, dan uji biokimia. Kelimpahan bakteri *Vibrio* air di tambak polikultur lebih rendah ($3,46 \times 10^4$ CFU mL⁻¹) dibanding tambak monokultur ($2,18 \times 10^5$ CFU mL⁻¹). Bakteri *V. alginolyticus* terdapat pada substrat dan air di tambak monokultur, namun pada tambak polikultur hanya terdapat di air. Hal ini diduga karena *Gracilaria* sp. memiliki kandungan senyawa bioaktif (alkaloid, flavonoid, steroid, dan fenolik) yang berperan sebagai antibakteri alami. Lebih lanjut, kandungan nitrat dan fosfat di tambak polikultur (0,3-0,5 ppm dan 1,3-1,4 ppm) lebih rendah dibanding tambak monokultur (2,2-2,4 ppm dan 2,5-2,1 ppm). Kondisi ini menyebabkan Bakteri *Vibrio fluvialis* dan *Vibrio vulnificus* terdapat pada tambak monokultur yang memiliki nitrat dan fosfat yang lebih tinggi dari tambak polikultur. Hal ini menunjukkan bahwa *Gracilaria* sp. memiliki kemampuan dalam mereduksi nutrisi melalui thallusnya, sehingga menciptakan lingkungan perairan yang lebih baik untuk mereduksi kelimpahan bakteri *Vibrio*.

KATA KUNCI: *Gracilaria* sp.; monokultur; polikultur; udang vaname; *Vibrio*

6
ABSTRACT: *The Abundance and Types of Vibrio in Water and Sediment of Monoculture and Polyculture Ponds of Pacific White Leg Shrimp with Gracilaria sp. in Brebes*

Vibrio bacterial infection is one of the problems often faced in Pacific white leg shrimp cultivation. Vibriosis attacks are caused by high levels of organic waste in waters. *Gracilaria* sp. has active compounds and the ability to improve water quality so that it can reduce the abundance of *Vibrio* bacteria. The aim of this study was to determine the abundance and types of *Vibrio* bacteria in cultivation of Pacific white leg shrimp in monoculture and polyculture with *Gracilaria* sp. Water and sediment samples were taken from five monoculture ponds and five polyculture ponds in Brebes, Central Java. The abundance of *Vibrio* bacteria was calculated using the total plate count method and identified morphologically, microscopically, and biochemically. The abundance of *Vibrio* bacteria in water of polyculture ponds

was lower (3.46×10^4 CFU mL⁻¹) than in monoculture ponds (2.18×10^5 CFU mL⁻¹). *Vibrio alginolyticus* is found in the substrate and water of monoculture ponds, but in polyculture ponds it was only found in water. This was thought to be because *Gracilaria* sp. contains bioactive compounds (alkaloids, flavonoids, steroids, and phenolics) which act as natural antibacterials. Furthermore, the nitrate and phosphate content in polyculture ponds (0.3-0.5 ppm and 1.3-1.4 ppm) was lower than in monoculture ponds (2.2-2.4 ppm and 2.5-2.1 ppm). This condition caused *Vibrio fluvialis* and *Vibrio vulnificus* found in monoculture ponds which had higher nitrate and phosphate than polyculture ponds. This showed that *Gracilaria* sp. has the ability to reduce nutrients through its thallus, thus creating a better aquatic environment to reduce the abundance of *Vibrio* bacteria.

KEYWORDS: *Gracilaria* sp.; monoculture; Pacific white leg shrimp; polyculture; *Vibrio*

PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan spesies *penaeid* yang paling umum dibudidayakan secara global, mencakup 83% dari seluruh budidaya udang *penaeid* (FAO, 2020). Sebagian besar produksinya dipusatkan di beberapa negara di Amerika Latin dan Asia Tenggara, termasuk Ekuador, Thailand, Vietnam, India, dan Tiongkok. Total produksi udang di Indonesia sebesar 409.590 ton pada tahun 2008, menurun menjadi 338.060 ton pada tahun 2009 dan meningkat menjadi 893.258 ton pada tahun 2022 (KKP, 2024). Penurunan produksi udang tersebut dapat disebabkan oleh adanya kegagalan panen akibat serangan penyakit pada udang. Penyakit yang sering menyerang kegiatan budidaya udang berasal dari bakteri Vibrionaceae (Sarjito *et al.*, 2015). Kepadatan bakteri *Vibrio* dalam tambak yang melampaui batas maksimum, yaitu 10⁶ CFU mL⁻¹ dapat mengakibatkan penyakit hingga kematian pada udang budidaya (Taslihan *et al.*, 2004). Air dan sedimen merupakan komponen dalam tambak yang menjadi media pertumbuhan bakteri. Bakteri *Vibrio* penting diteliti kelimpahannya untuk mencegah kematian massal udang.

Kegiatan budidaya udang terdapat dua sistem budidaya, yaitu monokultur dan polikultur dan keduanya tergolong dalam budidaya secara tradisional (Cahya *et al.*, 2021). Kabupaten Brebes merupakan wilayah yang banyak menerapkan teknologi budidaya sistem monokultur dan polikultur.

Budidaya monokultur merupakan sistem budidaya dengan satu kultivan dalam satu wadah (Huniyah, 2015), sedangkan budidaya polikultur adalah sistem budidaya yang menggabungkan beberapa kultivan dalam satu wadah dengan tingkat trofik yang berbeda (Cahya, 2021). Budidaya polikultur dengan komoditas utama berupa udang vaname umumnya diintegrasikan dengan rumput laut jenis *Gracilaria* sp. sebagai komoditas penunjang. Selama pertumbuhannya, *Gracilaria* sp. menggunakan thallusnya untuk menyerap kandungan zat organik seperti amoniak, nitrat, dan nitrit sebagai nutrisinya, sehingga *Gracilaria* sp. dapat berperan sebagai *biofilter*. *Gracilaria* sp. memiliki kemampuan untuk menyerap nitrogen dalam air sebanyak 0,4 g nitrogen m⁻² hari⁻¹ (Komarawidjaja, 2005). Bakteri *Vibrio* pada tambak udang sering muncul karena rendahnya kualitas air tambak, terutama dengan tingginya konsentrasi amoniak dan total amoniak nitrogen (TAN). Keberadaan *Gracilaria* sp. dalam budidaya polikultur dapat menekan keberadaan bakteri *Vibrio*. *Gracilaria* sp. memiliki aktivitas antibakteri yang dapat melindungi udang *penaeid* (Mad & Ramadani, 2022).

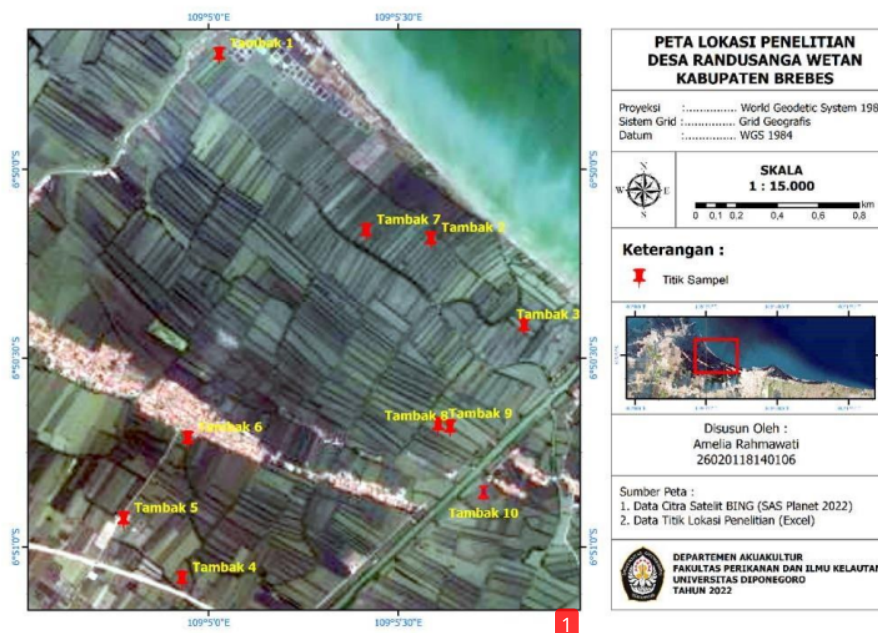
Budidaya polikultur antara udang vaname dan *Gracilaria* sp. akan berdampak positif, karena *Gracilaria* sp. mempunyai kemampuan mereduksi bahan organik berupa nitrogen total (N-total) dari 1,2 mg L⁻¹ menjadi 0,4 mg L⁻¹ dalam waktu kurang dari 10 jam (Komarawijaya, 2005), sehingga kualitas air budidaya udang

terjaga. Kualitas air yang baik akan menurunkan kelimpahan bakteri *Vibrio* di perairan. Lebih lanjut, *Gracilaria* sp. menjadi faktor penyebab kelimpahan bakteri *Vibrio* sp. menjadi lebih rendah. Penelitian Harsono *et al.* (2020) melaporkan bahwa keberadaan rumput laut dalam perairan tambak memberikan pengaruh terhadap keberadaan *Vibrio* sp. Uji tantang pada penelitian tersebut menunjukkan populasi bakteri di air yang terdapat rumput laut di dalamnya, lebih rendah dan terus menurun selama pemeliharaan dibandingkan dengan tanpa rumput laut (kontrol) yang terus naik selama pemeliharaan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kelimpahan dan jenis bakteri *Vibrio* di air serta sedimen pada sistem budidaya monokultur dan polikultur. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan manfaat berupa informasi berupa sistem budidaya yang dapat mengurangi serangan penyakit vibriosis pada budidaya udang.

5 BAHAN DAN METODE

Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel sedimen dan air diambil dari lima tambak monokultur udang vaname (tambak 1, 2, 3, 4, dan 5) serta lima tambak polikultur udang vaname dan rumput laut jenis *Gracilaria* sp. (tambak 6, 7, 8, 9, dan 10) yang terletak di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah dengan peta lokasi yang tersaji pada Gambar 1. Titik koordinat dari tambak-tambak yang menjadi lokasi pengambilan sampel dicatat menggunakan alat *global positioning system* (GPS) yang diuraikan pada Tabel 1.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel air dan sedimen dari tambak monokultur dan polikultur pada Kabupaten Brebes, Jawa Tengah untuk evaluasi kelimpahan dan jenis bakteri *Vibrio*

Figure 1. Map of water and sediment sampling locations of monoculture and polyculture ponds in Brebes, Central Java for the evaluation of the abundance and types of *Vibrio*

Penentuan lokasi sampel dilakukan berdasarkan beberapa kriteria meliputi keaktifan penggunaan tambak, luas lahan, pada tebar udang, dan umur pemeliharaan udang. Tambak yang digunakan sebagai lokasi pengambilan sampel merupakan tambak yang masih aktif melakukan budidaya udang secara monokultur dan polikultur dengan rumput laut. Luas setiap tambak kurang lebih 1 ha dengan padat penebaran udang vaname 10 ekor m^{-2} yang dibudidayakan minimal selama 60 hari.

Tabel 1. Titik koordinat lokasi pengambilan sampel air dan sedimen dari tambak monokultur dan polikultur di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah untuk evaluasi kelimpahan dan jenis bakteri *Vibrio*

Table 2. Coordinates of water and sediment sampling locations of monoculture and polyculture ponds in Brebes, Central Java for the evaluation of abundance and types of *Vibrio*

Lokasi Locations	Tambak monokultur Monoculture ponds	
	Bujur Longitudes	Lintang Latitudes
Tambak 1 Pond 1	109.0838056	-6.828361112
Tambak 2 Pond 2	109.0931111	-6.836499999
Tambak 3 Pond 3	109.0971944	-6.840333332
Tambak 4 Pond 4	109.0821737	-6.851494777
Tambak 5 Pond 5	109.0796069	-6.84886705
Lokasi Locations	Tambak polikultur Polyculture ponds	
	Bujur Longitudes	Lintang Latitudes
Tambak 6 Pond 6	109.0824299	-6.845308597
Tambak 7 Pond 7	109.0902694	-6.836150356
Tambak 8 Pond 8	109.0939485	-6.844810421
Tambak 9 Pond 9	109.0934255	-6.844711433
Tambak 10 Pond 10	109.0791667	-6.857166666

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada bulan April dan Mei 2023. Pengambilan sampel dilakukan pada lima tambak monokultur dan lima tambak polikultur. Air dan sedimen diambil pada dua titik setiap tambak yaitu *inlet* dan *outlet*, sehingga total sampel adalah 20 buah sampel air dan 20 buah sampel sedimen. Botol untuk tempat sampel dicuci dan disterilisasi menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 20 menit. Sampel air (volume 250 mL) diambil pada bagian kolom air (20 cm dari permukaan air) dan dimasukkan ke dalam botol sampel steril. Sampel sedimen diambil dengan memasukkan pipa paralon 4 inci ke dalam sedimen

sedalam 10 cm dan kemudian dimasukkan ke dalam botol sampel steril. Sampel yang telah diambil dimasukkan ke dalam cool box sebelum diamati di laboratorium.

Penghitungan Kelimpahan Bakteri *Vibrio*

Media yang digunakan adalah media yang selektif terhadap *Vibrio* sp. yaitu media *thiosulfate citrate bile salt sucrose* (TCBS). Selanjutnya dilakukan penanaman bakteri dengan metode *spread plate* untuk sampel air dan metode *pour plate* untuk sampel sedimen pada media TCBS dan diinkubasi dalam inkubator selama 2 x 24 jam. Koloni bakteri yang memenuhi syarat untuk dihitung yaitu 30-300 koloni pada satu sampel dalam satu cawan petri (Sukmawati, 2018). Penghitungan koloni dengan metode *total plate count* (TPC) dilakukan pada bakteri yang telah tumbuh dengan rumus:

$$\text{Kelimpahan bakteri (CFU/ml)} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{Faktor pengenceran}} + \frac{1}{\text{Faktor pengenceran!}}$$

Kelimpahan ini dihitung pada seluruh sampel air (10 sampel) dan sedimen (10 sampel) dari tambak monokultur dan polikultur

Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Vibrio*

Pemurnian bakteri dilakukan untuk mendapatkan isolat tunggal. Pemurnian dilakukan dengan mengambil koloni bakteri hasil isolasi dengan metode *spread plate* untuk sampel air dan *pour plate* untuk sampel sedimen, kemudian dilakukan *streak plate* pada media TCBS yang baru, dan diinkubasi selama 24-48 jam.

Pemurnian bakteri dilakukan dengan beberapa kali pengulangan (3-5 kali) hingga didapatkan bakteri yang seragam dari warna, bentuk, tepi, dan elevasinya.

¹⁹ Identifikasi bakteri dilakukan melalui beberapa pengamatan meliputi pengamatan morfologi, pengamatan mikroskopis, dan uji biokimia. Pengamatan morfologi dilakukan dengan cara mengamati ¹² koloni yang tumbuh pada media. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan terhadap warna, bentuk, tepi, dan elevasi koloni bakteri (Holderman *et al.*, 2017). Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan ²⁰ untuk mengetahui sifat bakteri gram positif atau negatif dari bakteri (Wulandari & Purwaningsih, 2019). Uji biokimia yang dilakukan melalui beberapa jenis uji meliputi ² uji triple sugar iron agar (TSIA), uji lysin iron agar (LIA), uji sulfur indole motility (SIM), uji oksidatif/fermentatif (O/F), uji pepton, uji motile indole ornithine (MIO), uji methyl red-voges prokauer (MRVP) serta uji gula-gula yang terdiri atas uji glukosa, sukrosa, laktosa, dan laktosa. Hasil ³⁰ identifikasi bakteri dicocokkan dengan karakter bakteri yang mengacu pada buku ² *Fish Patogen Disease in Farmed and Wild Fish* (Austin & Austin, 2007) dan *Cowan and Steel's* (1993).

²² Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap 2 minggu sekali selama pelaksanaan penelitian (2 bulan). Parameter kualitas air yang diamati secara langsung di lapangan meliputi pH, suhu, salinitas, dan oksigen terlarut. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan *digital pH meter* PH – 009(I)A, sedangkan pengukuran suhu menggunakan *digital thermometer*. Salinitas diukur dengan

menggunakan *hand refractometer* ATC 0-100% dan oksigen terlarut diukur menggunakan DO meter Hanna HI 9146.

Parameter kualitas air yang diukur di laboratorium terdiri atas amoniak, nitrat, dan fosfat. Pengukuran amoniak mengacu pada SNI 06-6989.30-2005, nitrat (SNI 062480-1991), dan fosfat (SNI 06-6989.31-2005). Pengukuran amoniak, nitrat, dan fosfat dilakukan dengan mengambil sampel dan melakukan analisis di laboratorium.

Analisis Data

Data berupa kelimpahan bakteri *Vibrio* dan jenis bakteri *Vibrio* dari sampel air serta sedimen tambak monokultur dan polikultur ditabulasi dengan Microsoft Excel 2021. Data kualitas air juga ditabulasi menggunakan Microsoft Excel 2021. Data yang telah ditabulasi kemudian dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN BAHASAN

Kelimpahan Bakteri *Vibrio*

Bakteri *Vibrio* sp. pada air tambak monokultur ($2,18 \times 10^5$ CFU mL⁻¹) lebih tinggi dibandingkan dengan air pada tambak polikultur ($3,46 \times 10^4$ CFU mL⁻¹) (Tabel 1). Hal ini diduga karena pada tambak polikultur terdapat rumput laut *Gracilaria* sp. yang memiliki kandungan senyawa antibakteri. Rumput laut diketahui memiliki senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, steroid, dan senyawa fenolik yang berperan sebagai antibakteri alami (Siregar *et al.*, 2012). Gulluce *et al.* (2007) melaporkan bahwa flavonoid memiliki sifat antibakteri. Flavonoid merupakan senyawa yang disintesis oleh tumbuhan yang berfungsi

sebagai antibakteri terhadap patogen *Vibrio harveyi* (Munaeni *et al.* 2017).

Tabel 1. Kelimpahan bakteri *Vibrio* (CFU mL⁻¹) pada tambak monokultur dan polikultur di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah

Table 1. The abundance of *Vibrio* (CFU mL⁻¹) in monoculture and polyculture pond in Brebes, Central Java

	Monokultur <i>Monoculture</i>	Polikultur <i>Polyculture</i>
Air <i>Water</i>	2,18 x 10 ⁵	3,46 x 10 ⁴
Sedimen <i>Sediment</i>	1,59 x 10 ⁶	9,10 x 10 ⁶

Kelimpahan bakteri *Vibrio* sedimen tambak monokultur (1,59 x 10⁶ CFU mL⁻¹) lebih rendah daripada tambak polikultur (9,10 x 10⁶ CFU mL⁻¹) (Tabel 1). Sedimen memiliki jumlah bakteri lebih banyak dibandingkan air (Suwoyo *et al.*, 2015). Hal ini dikarenakan sedimen memiliki karakteristik yang menetap dibandingkan air. Bakteri *Vibrio* sp. dapat menginfeksi udang apabila telah melebihi batas maksimum kelimpahannya di tambak. Batas maksimum kelimpahan bakteri *Vibrio* pada pemeliharaan udang yaitu 10⁴ CFU mL⁻¹. Pada jumlah tersebut, udang akan rentan terserang penyakit vibriosis (Kharisma & Manan, 2012).

Jenis Bakteri *Vibrio* pada Tambak Monokultur dan Polikultur

Berdasarkan isolasi bakteri *Vibrio* sp. yang berasal dari air dan sedimen tambak monokultur dan polikultur diperoleh 35 isolat. Isolat tersebut kemudian dikelompokkan berdasarkan karakteristik morfologi seperti warna, bentuk, elevasi, dan tepian koloni, sehingga diperoleh lima isolat bakteri yang akan diidentifikasi jenis bakterinya melalui uji biokimia (Tabel 2).

Tabel 2. Karakteristik morfologi isolat bakteri *Vibrio* yang berasal dari air dan sedimen tambak monokultur dan polikultur di Kabupaten Brebes, Jawa

Tengah

Table 2. Morphological characteristics of *Vibrio* bacterial isolates originating from water and sediment of monoculture and polyculture ponds in Brebes, Central Java

No	Kode sampel Sample codes	Asal isolat Isolate origins	Warna koloni Colony colours	Bentuk koloni Colony shapes	Elevasi Elevations	Tepian Edges
1	M-T1-S2	Sedimen monokultur Monoculture sediment	Hijau Green	Circular	Convex	Entire
2	M-T1-S4	Sedimen monokultur Monoculture sediment	Kuning Yellow	Irregular	Convex	Entire
3	M-T2-A1	Air monokultur Monoculture water	Kuning Yellow	Circular	Convex	Entire
4	P-T7-S2	Sedimen polikultur Polyculture sediment	Hijau Green	Irregular	Raised	Undulate
5	P-T8-A1	Air polikultur Polyculture water	Hijau Green	Irregular	Raised	Undulate

Pada tambak polikultur dengan isolat yang berasal dari sedimen dan air memiliki karakteristik morfologi bakteri meliputi warna hijau, bentuk koloni *irregular*, elevasi *raised*, dan tepian *undulate*. Karakteristik bakteri pada tambak monokultur lebih bervariasi dibanding tambak polikultur. Tampak dari warna koloni yang memiliki warna kuning dan hijau, bentuk koloni *circular* dan *irregular*. Namun pada elevasi dan tepiannya memiliki karakteristik yang sama yaitu *convex* dan *entire*.

Hasil uji biokimia pada sampel sedimen tambak monokultur (M-T1-S2) didapatkan hasil uji presumtif, uji biokimia, dan uji TSIA bakteri seperti yang tersaji pada Tabel 3. Hasil uji tersebut dibandingkan dengan Cowan dan Steel (1993) memiliki kemiripan 93% dengan *Vibrio fulnivicus*, 83% dengan *Vibrio*

anguillarum, dan 85% *Vibrio hollisae*.

Tabel 3. Hasil uji biokimia isolat M-T1-S2
Table 3. The result of biochemical tests of M-T1-S2 isolate

Cowan dan Steel (1993) Cowan and Steel (1993)				
Uji Tests	M-T1-S2	<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>Vibrio anguillarum</i>	<i>Vibrio hollisae</i>
Uji presumtif <i>Presumptive tests</i>				
Bentuk koloni <i>Colony shapes</i>	Circular	ND	ND	ND
Warna <i>Colours</i>	Hijau Green	ND	ND	Kuning Yellow
Elevasi <i>Elevations</i>	Convex	ND	ND	ND
Tepian <i>Edges</i>	Entire	ND	ND	ND
Gram	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative
Katalase <i>Catalase</i>	+	+	+	+
Oksidase <i>Oxidase</i>	+	+	+	+
Tumbuh pada suhu 37°C <i>Grow in a temperature of 37°C</i>	+	+	+	+
Uji biokimia <i>Biochemical tests</i>				
MIO	+	+	-	-
Urea	-	-	-	-
Sitrat <i>Citrate</i>	-	ND	ND	ND
Uji lanjutan <i>Subsequent tests</i>				
TSIA	A/A, H2S -, G-	G-	G-	G-
O/F	F	F	F	F
LIA	-	+	-	-
Indol <i>Indole</i>	+	+	+	+
MR	+	+	ND	ND
VP	-	-	+	-
SIM	Motil Motile	Motil Motile	Motil Motile	Motil Motile
Sensitifitas Gula <i>Sugar sensitivities</i>				
Laktosa <i>Lactose</i>	+	+	ND	ND
Sukrosa <i>Sucrose</i>	+	D	+	-
Maltosa <i>Maltose</i>	+	ND	ND	ND
Glukosa <i>Glucose</i>	+	+	+	ND

Nilai kesesuaian <i>Conformity values</i>	93%	83%	85%
--	-----	-----	-----

Keterangan: + = 85-100% strain positif, d = 16-84% strain positif, - = 85-100% strain negatif, dan ND = not determine.
Note: + = 85-100% positive strain, d = 16-84% positive strain, - = 85-100% negative strain, and ND = not determine.

Hasil uji biokimia pada sampel sedimen tambak monokultur dengan isolat kode M-T1-S4 dilakukan uji presumtif, uji biokimia, dan beberapa uji lanjutan seperti yang tersaji pada Tabel 4. Hasil uji dibandingkan dengan Austin dan Austin (2007) memiliki kemiripan sebesar 84% dengan *Vibrio alginolyticus*, 70% dengan *Vibrio cholerae*, dan 75% dengan *Vibrio ordalii*.

1
Tabel 4. Hasil uji biokimia isolat M-T1-S4
Table 4. The result of biochemical tests of M-T1-S4 isolate

		Austin dan Austin (2007) <i>Austin and Austin (2007)</i>		
	M-T1-S4	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio ordalii</i>
Uji presumtif <i>Presumptive tests</i>				
Bentuk koloni <i>Colony shapes</i>	Irregular		ND	ND
Warna <i>Colours</i>	Kuning Yellow	Kuning Yellow	ND	
Elevasi <i>Elevations</i>	Convex	ND	ND	Convex
Tepian <i>Edges</i>	Entire 3	ND	ND	ND
Gram	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative
Katalase <i>Catalase</i>	+	+	+	+
Oksidase <i>Oxidase</i>	+	+	+	+
Tumbuh pada suhu 37°C+ <i>Grow in a temperature of 37°C</i>		+	+	+
Uji biokimia <i>Biochemical tests</i>				
MIO	+	+	-	-
Urea	-	+	-	-
Sitrat <i>Citrate</i>	+	ND	+	ND

Uji lanjutan <i>Subsequent tests</i>				
TSIA G-	A/A, G-, H ₂ S -,	H ₂ S, G-	-	H ₂ S -
O/F	F	F	F	F
LIA	-	+	+	-
Indol	+	+	+	-
<i>Indole</i>				
MR	-	+	+	-
VP	-	+	+	-
SIM	Motil	Motil	Motil	Motil
	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>
Sensitifitas gula <i>Sugar sensitivities</i>				
Laktosa	-	-	-	+
<i>Lactose</i>				
Sukrosa	+	+	+	+
<i>Sucrose</i>				
Maltosa	+	+	+	+
<i>Maltose</i>				
Glukosa	+	+	+	+
<i>Glucose</i>				
Nilai kesesuaian <i>Conformity values</i>		84%	70%	75%

Keterangan: + = 85-100% *strain* positif, d = 16-84% *strain* positif, - = 85-100% *strain* negatif, dan ND = not determine.

Note: + = 85-100% positive strain, d = 16-84% positive strain, - = 85-100% negative strain, and ND = not determine.

Hasil uji biokimia pada sampel air tambak monokultur dengan isolat kode M-T2-A1 dilakukan uji presumtif, uji biokimia, dan uji lanjutan dengan hasil pada Tabel 5. Hasil uji dibandingkan dengan Cowan dan Steel (1993) menunjukkan kemiripan 92% dengan *Vibrio fluvialis*, 75% dengan *Vibrio furnissi*, dan 64% dengan *Vibrio damsela*.

Tabel 5. Hasil uji biokimia isolat M-T2-A1
Table 5. The result of biochemical tests of M-T2-A1 isolate

		Cowan dan Steel (1993) <i>Cowan and Steel (1993)</i>		
Uji <i>Tests</i>	M-T2-A1	<i>Vibrio fluvialis</i>	<i>Vibrio furnissii</i>	<i>Vibrio damsela</i>
Uji presumtif <i>Presumptive tests</i>				
Bentuk koloni <i>Colony shapes</i>	<i>Circular</i>	ND	ND	ND

Warna koloni	Kuning	ND	ND	ND
<i>Colony colours</i>	<i>Yellow</i>			
Elevasi	Convex	ND	ND	ND
<i>Elevations</i>				
Tepian	Raised	ND	ND	ND
<i>Edges</i>				
Gram	Gram negatif	3 Gram negatif	3 Gram negatif	Gram negatif
	<i>Gram negative</i>	<i>Gram negative</i>	<i>Gram negative</i>	<i>Gram negative</i>
Katalase	+	+	+	+
<i>Catalase</i>				
Oksidase	+	+	+	+
<i>Oxidase</i>				
Tumbuh pada suhu 37°C				
<i>Grow in a temperature of 37°C</i>	+	+	+	+
Uji biokimia				
Biochemical tests				
MIO	+	-	-	-
Urea	-	-	-	-
Sitrat	+	ND	ND	ND
<i>Citrate</i>				
Uji lanjutan				
Subsequent tests				
TSIA	A/A, H ₂ S -, G-	G-	G+	G-
O/F	F	F	F	F
LIA	-	-	-	D
Indol	+	D	-	-
<i>Indole</i>				
MR	-	ND	ND	ND
VP	-	-	-	+
SIM	Motil	Motil	Motil	Motil
	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>
Sensitifitas gula				
Sugar sensitivities				
Laktosa	+	ND	ND	+
<i>Lactose</i>				
Sukrosa	+	+	+	-
<i>Sucrose</i>				
Maltosa	+	29 ND	ND	ND
<i>Maltose</i>				
Glukosa	-	ND	ND	ND
<i>Glucose</i>				
Nilai kesesuaian		92%	75%	64%
Conformity values				

Keterangan: + = 85-100% strain positif, d = 16-84% strain positif, - = 85-100% strain negatif, dan ND = not determine.

Note: + = 85-100% positive strain, d = 16-84% positive strain, - = 85-100% negative strain, and ND = not determine.

Hasil uji biokimia pada sampel sedimen tambak polikultur dengan isolat kode

P-T7-S2 didapatkan hasil uji presumtif, uji biokimia, dan uji lanjut sesuai dengan data yang tersaji pada Tabel 6. Hasil uji dibandingkan dengan Cowan dan Steel (1993) menunjukkan kemiripan 92% dengan *Vibrio harveyi*, 82% dengan *V. alginolyticus*, dan 69% dengan *Vibrio pelagius*.

Tabel 6. Hasil uji biokimia isolat P-T7-S2

Table 6. The result of biochemical tests of P-T7-S2 isolate

Austin dan Austin (2007) Austin and Austin (2007)				
Uji Tests	P-T7-S2	<i>Vibrio harveyi</i>	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio pelagius</i>
Uji presumtif Presumptive tests				
Bentuk koloni Colony shapes	Irregular	ND	ND	ND
Warna koloni Colony colours	Hijau Green	ND	Kuning Yellow	ND
Elevasi Elevations	Raised	ND	ND	ND
Tepian Edges	Undulate	ND	ND	ND
Gram	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative	Gram negatif Gram negative
Katalase Catalase	+	+	+	+
Oksidase Oxidase	+	+	+	+
Tumbuh pada suhu 37°C Grow in a temperature of 37°C	+	+	+	+
Uji biokimia Biochemical tests				
MIO	+	+	+	-
Urea	-	ND	+	+
Sitrat Citrate	+	ND	ND	ND
Uji lanjutan Subsequent tests				
TSIA	A/A, G-, H2S -,	ND	H2S, G-	H2S-
O/F	F	F	F	F
LIA	+	+	+	-
Indol Indole	+	+	+	+
MR	+	ND	+	+
VP	-	-	+	D
SIM	Motil	Motil	Motil	Motil

	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>	<i>Motile</i>
Sensitifitas gula <i>Sugar sensitivities</i>				
Laktosa <i>Lactose</i>	+	-	-	-
Sukrosa <i>Sucrose</i>	+	+	+	+
Maltosa <i>Maltose</i>	+	ND	+	+
Glukosa <i>Glucose</i>	+	+	+	ND
Nilai kesesuaian <i>Conformity values</i>		92%	82%	69%

Keterangan: + = 85-100% *strain* positif, d : 16-84% *strain* positif, : 85-100% *strain* negatif, dan ND: *not determine*.

Note: + = 85-100% positive *strain*, d : 16-84% positive *strain*, : 85-100% negative *strain*, and ND: *not determine*.

Hasil uji biokimia pada sampel air tambak polikultur dengan isolat kode P-T8-A1 didapatkan hasil uji presumtif, uji biokimia, dan uji lanjutan seperti pada data yang tersaji pada Tabel 7. Hasil uji dibandingkan dengan Austin dan Austin (2007) menunjukkan kemiripan 93% dengan *V. fulnivicus*, 69% dengan *Vibrio splendidus*, dan 84% dengan *V. harveyi*.

Tabel 7. Hasil uji biokimia isolat P-T8-A1

Table 7. The result of biochemical tests of P-T8-A1 isolate

		Austin dan Austin (2007) <i>Austin and Austin (2007)</i>		
Uji <i>Tests</i>	P-T8-A1	<i>Vibrio alginolyticus</i>	<i>Vibrio splendidus</i>	<i>Vibrio harveyi</i>
Uji presumtif <i>Presumptive tests</i>				
Bentuk koloni <i>Colony shapes</i>	<i>Irregular</i>	18 ND	ND	ND
Warna koloni <i>Colony colours</i>	Hijau <i>Green</i>	ND	ND	ND
Elevasi <i>Elevations</i>	<i>Raised</i>	ND	ND	ND
Tepian <i>Edges</i>	<i>Undulate</i>	ND	ND	ND
Gram	Gram negatif <i>Gram negative</i>	Gram negatif <i>Gram negative</i>	31 Gram negatif <i>Gram negative</i>	Gram negatif <i>Gram negative</i>
Katalase <i>Catalase</i>	+	+	+	+
Oksidase	+	+	+	+

<i>Oxidase</i>				
Tumbuh pada suhu 37°C	+	+	+	+
<i>Grow in a temperature of 37°C</i>				
Uji biokimia				
<i>Biochemical tests</i>				
MIO	+	+	-	+
Urea	-	-	+	ND
Sitrat	-	ND	+	ND
<i>Citrate</i>				
Uji lanjutan				
<i>Subsequent tests</i>				
TSIA	A/A, H ₂ S -, G-	ND	H ₂ S-, G-	ND
O/F	F	F	F	F
LIA	+	+	+	+
Indol	+	+	+	+
<i>Indole</i>				
MR	+	ND	+	ND
VP	+	+	-	-
SIM	Motil <i>Motile</i>	Motil <i>Motile</i>	Motil <i>Motile</i>	Motil <i>Motile</i>
Sensitifitas gula				
<i>Sugar sensitivities</i>				
Laktosa	+	+	ND	-
<i>Lactose</i>				
Sukrosa	+	-	-	+
<i>Sucrose</i>				
Maltosa	+	+	+	ND
<i>Maltose</i>				
Glukosa	+	+	+	+
<i>Glucose</i>				
Nilai kesesuaian		93%	69%	84%
<i>Conformity values</i>				
Keterangan: + = 85-100% strain positif, d = 16-84% strain positif, - = 85-100% strain negatif, dan ND = not determine.				
Note: + = 85-100% positive strain, d = 16-84% positive strain, - = 85-100% negative strain, and ND = not determine.				

Pada penelitian ini telah diidentifikasi beberapa species *Vibrio* yang terdapat pada tambak monokultur maupun polikultur, yaitu *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis*, dan *V. harveyi*. Kelima jenis bakteri ini mengakibatkan penyakit berupa sirip ekor geripis, penyakit di karapas, pecah pembuluh darah, pengeroposan karapas, dan penyakit gangguan pencernaan. Pengeroposan karapas, penyakit gangguan pencernaan, dan pecahnya pembuluh darah menyebabkan kematian massal di tambak budidaya udang. Penyakit pengeroposan karapas erat dengan

keberadaan *V. anguillarum*. Penyakit ini diidentifikasi dengan adanya bintik hitam dan lesi pada exoskeleton. Penyakit dengan gejala berupa pecahnya pembuluh darah, gangguan pencernaan, dan pengeroposan karapas umumnya memiliki derajat kematian 80%, disebabkan oleh *V. alginoliticus* (Jayasreeet *et al.*, 2000).

Vibrio fluvialis dan *V. vulnificus* ditemukan di air pada tambak monokultur, namun tidak ada pada tambak polikultur. ⁸ Bakteri ini tumbuh di ekosistem perairan yang dipengaruhi oleh banyaknya ketersediaan nitrat dan berkembang optimal pada salinitas 20 ppt (Arisandi *et al.*, 2017). Tambak monokultur memiliki kandungan nitrat yang lebih tinggi (2,2 ppm) daripada tambak polikultur (0,3 ppm) dan dengan salinitas yang lebih tinggi (15 ppt) dibanding tambak polikultur (14 ppt).

Keragaman bakteri *Vibrio* sp. dilihat dari identifikasi morfologinya. Isolat bakteri banyak ditemukan di tambak monokultur dengan total 18 isolat yang terdiri atas tujuh isolat dari air dan 11 isolat dari sedimen, dibandingkan tambak polikultur dengan total isolat 17 isolat yang terdiri dari enam isolat dalam air dan 11 isolat dari sedimen. Keragaman dan kelimpahan bakteri *Vibrio* sp. dalam air maupun sedimen tambak dipengaruhi oleh beban limbah organik (Mangampa, 2015). Bakteri *Vibrio* umum hidup di air dan sedimen tambak (Gusman, 2019), sehingga keberadaan bakteri *Vibrio* tidak bergantung pada jenis tambak, namun kelimpahan dan keragamannya dapat mengindikasikan adanya pencemaran.

Penelitian Rudi dan Ramadhani (2022) melaporkan bahwa *G. verrucosa* mampu menghambat pertumbuhan *V. harveyi* di perairan. Rumput laut jenis *Gracilaria* memiliki thallus yang mampu menyerap nutrisi dalam perairan. Nitrogen disimpan di selnya dalam thallus untuk kemudian digunakan sebagai

sumber pertumbuhannya (Jones & Dennisen, 2003). Oleh karena itu *Gracilaria* berperan sebagai *biofilter*, bioakumulator, dan bioindikator. Penelitian Komarawidjaja (2005) menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi nitrogen dalam thallus *Gracilaria* sp. meningkat dari 1,3% menjadi 3,1% pada air pembuangan tambak, sehingga rumput laut jenis ini dapat disebut “*nitrogen starved Gracilaria*”.² *Nitrogen starved Gracilaria* berarti berapapun tersedia N dalam air akan terus diserap dan disimpan di dalam sel, sehingga konsentrasinya menjadi berlipat.

Kualitas Air

Nilai suhu, pH, salinitas, dan amoniak⁴ pada tambak monokultur dan polikultur memiliki rata-rata yang hampir sama. Nilai suhu (30°C) berada dalam kisaran aman dalam budidaya udang vaname (SNI nomor 7310, 2009). Nilai salinitas masih berada di rentang optimal dengan salinitas 15-17 ppt pada tambak monokultur dan tambak polikultur 14-17 ppt (Haliman & Adijaya, 2006). Nilai pH berada pada kisaran 7,5-8,2²⁷ yang masih berada pada kisaran optimal untuk budidaya⁴ udang (Kharisma & Manan, 2012). Nilai oksigen terlarut pada tambak monokultur dan polikultur tergolong optimal untuk budidaya udang vaname yaitu lebih dari 4 mg L⁻¹ (Badan Standarisasi Nasional, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa adanya rumput laut jenis *Gracilaria* tidak memberikan pengaruh pada beberapa parameter tersebut.

Tambak monokultur memiliki konsentrasi nitrat 2,2-2,4 ppm dan fosfat 2,5-2,1 ppm yang lebih tinggi daripada tambak polikultur dengan nilai secara berturut turut yaitu 0,3-0,5 dan 1,3-1,4 ppm. Udang dan ikan pada perairan payau dapat tumbuh dengan baik pada kadar nitrat 0,080-0,524 ppm (Mangampa &

Burhanuddin, 2014). Nilai nitrat pada tambak monokultur melebihi standar untuk kualitas media budidaya perairan yaitu kurang dari 2 ppm (Luo *et al.*, 2017). Nilai fosfat pada tambak polikultur dan monokultur berada pada kadar yang berlebih untuk budidaya udang yaitu 0,100 ppm. Terlebih lagi, nilai fosfat lebih dari 0,100 ppm dapat menyebabkan *blooming* fitoplankton (Bui *et al.*, 2012). Kondisi perairan dengan nutrien yang berlebih ini menyebabkan kelimpahan bakteri *V. alginolyticus* dan *V. fluvialis* di tambak polikultur yang kemudian dapat menyebabkan penyakit pecahnya pembuluh darah, gangguan pencernaan, dan abnormalitas pada karapas dengan tingkat kematian 80%.

Tabel 8 Kualitas air di tambak monokultur dan polikultur di Kabupaten Brebes, Jawa Tengah

Table 8. Water quality in monoculture and polyculture ponds in Brebes, Central Java

Parameter Parameters	Monokultur Monoculture	Polikultur Polyculture	Nilai optimal Optimum ranges
Suhu (°C) Temperature (°C)	29-30	28-30	29-32 (SNI, 2009)
Salinitas (ppt) Salinity (ppt)	15-17	14-17	5-30 ppt (Haliman & Adijaya, 2006)
pH	7,5 – 8,2	7,8- 8,2	7,5-8,5 (Kharisma & Manan, 2012)
Oksigen terlarut (ppm) Dissolved oxygen (ppm)	3,5-5,4	4,2-6,3	>4,0 ppm (SNI, 2014)
Nitrat (ppm) Nitrate (ppm)	2,2-2,4	0,3-0,5	0,01-1,0 ppm (SNI, 2004)
Fosfat (ppm) Phosphate (ppm)	2,5-2,1	1,3-1,4	0-1,0 (SNI, 2005)
Amoniak (mg L ⁻¹) Ammonia (mg L ⁻¹)	0,42-0,45	0,41-0,43	<0.01 ppm (Kharisma & Manan, 2012)

KESIMPULAN

Tambak polikultur memiliki kelimpahan *Vibrio* yang lebih rendah dibanding tambak monokultur. Hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa jenis bakteri

yang ditemukan ¹ pada tambak monokultur meliputi *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, dan *V. fluvialis*, sedangkan pada tambak polikultur yaitu *V. alginolyticus* dan *V. harveyi*.

Bakteri *V. alginolyticus* terdapat pada substrat dan air di tambak monokultur, namun pada tambak polikultur hanya terdapat di air. Hal ini diduga karena peran *Gracilaria* sp. yang mempunyai senyawa bioaktif (alkaloid, flavonoid, steroid, dan fenolik) yang berperan sebagai antibakteri alami.

Bakteri *V. fluvialis* dan *V. vulnificus* terdapat pada tambak monokultur yang memiliki kondisi nitrat dan fosfat yang lebih tinggi dari tambak polikultur. Hal ini menunjukkan bahwa menunjukkan *Gracilaria* sp. memiliki kemampuan mereduksi nutrisi melalui thallusnya. Kondisi ini menciptakan lingkungan yang tidak sesuai untuk media hidup bakteri *Vibrio*.

¹⁴ UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada tim penelitian, bapak dan ibu dosen, dan teknisi pada ¹⁷ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro yang terlibat dalam penelitian ini. Terima kasih juga kami ucapkan kepada reviewer dan Dewan Redaksi Jurnal Riset Akuakultur. Penelitian ini dibiayai melalui ⁹ Hibah Penelitian Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro. Sumber dana selain APBN Universitas Diponegoro No. 92/UN7.5.10.2/PP/2021.

14%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	eprints2.undip.ac.id Internet	198 words — 4%
2	media.neliti.com Internet	80 words — 2%
3	ejournal-balitbang.kkp.go.id Internet	40 words — 1%
4	repository.ub.ac.id Internet	28 words — 1%
5	idoc.pub Internet	26 words — 1%
6	Ramli Ramli, Khusnul Yaqin, Nita Rukminasari. "Microplastics contamination in green mussels <i>Perna viridis</i> in Pangkajene Kepulauan Waters, South Sulawesi, Indonesia", <i>Akuatikisile: Jurnal Akuakultur, Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil</i> , 2021 Crossref	22 words — < 1%
7	docobook.com Internet	21 words — < 1%
8	garuda.ristekbrin.go.id Internet	21 words — < 1%

9	ejournal2.undip.ac.id Internet	20 words — < 1%
10	Khairul Syahputra, Iman Rusmana, Utut Widyastuti. "ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI DENITRIFIKASI SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI NITROGEN ANORGANIK", Jurnal Riset Akuakultur, 2011 Crossref	16 words — < 1%
11	agris.fao.org Internet	13 words — < 1%
12	repository.radenintan.ac.id Internet	13 words — < 1%
13	text-id.123dok.com Internet	13 words — < 1%
14	Libra Hari Inagurasi. "Komoditas Perdagangan di Pelabuhan Internasional Samudra Pasai pada Masa Dulu dan Masa Kini", Kapata Arkeologi, 2017 Crossref	11 words — < 1%
15	ejournal.unibabwi.ac.id Internet	11 words — < 1%
16	repository.lppm.unila.ac.id Internet	11 words — < 1%
17	www.grafiati.com Internet	11 words — < 1%
18	Hannah M. Wexler, Sydney M. Finegold. "Impact of imipenem/cilastatin therapy on normal fecal flora", The American Journal of Medicine, 1985 Crossref	10 words — < 1%

19 Harlis Harlis, Retni S Budiarti, Hari Kapli, M Erick Sanjaya. "Produksi Pupuk Cair dari Isolat Bakteri Limbah Sayur Pasar Angso Duo Jambi dalam Meningkatkan Perekonomian dan Kesehatan Lingkungan Masyarakat Jambi", Biospecies, 2019
Crossref 10 words — < 1%

20 Darmansyah Darmansyah, Yefriwati Yefriwati. "Identifikasi Sifat Morfologi dan Fisiologi Isolat Bakteri Blood Disease Bacteria (BDB) Pada Bibit Pisang (Musa SP) Ambon Hijau", LUMBUNG, 2018
Crossref 9 words — < 1%

21 akademik.unsoed.ac.id
Internet 9 words — < 1%

22 tricahyoachiriyantodotorg.wordpress.com
Internet 9 words — < 1%

23 www.forestpeoples.org
Internet 9 words — < 1%

24 www.polymer.fudan.edu.cn
Internet 9 words — < 1%

25 Ida Ayu Purba Riani. "ANALISA PUBLIC FINANCE MANAGEMENT KABUPATEN MERAUKE", KEUDA (Jurnal Kajian Ekonomi dan Keuangan Daerah), 2016
Crossref 8 words — < 1%

26 core.ac.uk
Internet 8 words — < 1%

27 id.123dok.com
Internet 8 words — < 1%

28 repository.unair.ac.id

8 words — < 1%

29 The Prokaryotes, 2014.

Crossref

7 words — < 1%

30 www.neliti.com

Internet

7 words — < 1%

31 Kjell Kett, Kåre Baklien, Arne Bakken, John G. Kral, Olav Fausa, Per Brandtzaeg. "Intestinal B-cell isotype response in relation to local bacterial load: Evidence for immunoglobulin A subclass adaptation", Gastroenterology, 1995

Crossref

6 words — < 1%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES

OFF

EXCLUDE MATCHES

OFF