

ANTAGONISME BAKTERI *BACILLUS* SP DAN *PSEUDOMONAS* SP TERHADAP BAKTERI *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* PATOGEN PADA UDANG WINDU (*PENAEUS MONODON* FAB).

Ramses

Dosen Tetap Prodi Pendidikan Biologi UNRIKA Batam

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui antagonism bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap *Vibrio Parahaemolyticus* secara in vitro. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen. Uji antagonism dilakukan dengan dua metode yaitu uji gores silang (streaking method) dan uji dalam mikrokosom.

Bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp diisolasi dari produk Super NB (produksi Marindo Lab, Surabaya) sedangkan *Vibrio Parahaemolyticus* diperoleh dalam bentuk isolate murni yang didatangkan dari Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Jepara yang diisolasi dari udang windu yang terserang penyakit vibriosis. Perlakuan yang diberikan dalam mikrokosom adalah *Bacillus* sp (kontrol), sedangkan konsentrasi awal *V. Parahaemolyticus* pada masing-masing perlakuan adalah 10^4 sel/ml. hal yang sama juga dilakukan pada *Pseudomonas* sp.

Hasil uji antagonis *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp pada gores silang tidak memberikan hambatan yang berarti terhadap pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* (tidak terlihat zona hambat yang jelas). Pada antagonism dalam mikrokosom *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp mampu menghambat *V. Parahaemolyticus* secara nyata. Dari hasil uji signifikan (uji-t) semua perlakuan pada antagonism *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap *V. Parahaemolyticus* menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan control. Pada penelitian ini perlakuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp 10^6 sel/ml memberikan daya hambat paling besar terhadap *V. parahaemolyticus* (berbeda sangat nyata dengan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp 10^2 dan 10^4 sel/ml) pada tingkat kepercayaan 99% ($\alpha = 0,01$).

Kata kunci: Antagonisme, Bakteri, Patogen, Mikrokosom

1. Pendahuluan

Penyakit vibriosis pada udang sering menyebabkan mortalitas massal dan kegagalan panen pada pertambangan udang di Indonesia dan negara penghasil udang lainnya.

Penyakit vibriosis yang sering menyerang udang pada stadia larva, pasca larva dan udang muda disebabkan oleh beberapa spesies bakteri *Vibrio* antara lain: *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus* dan *V. fluvialis* (LIGHTNER, 1988). Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* adalah bakteri gram negative yang dikenal sebagai penyakit yang sangat akut dan ganas. Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* merupakan bakteri laut asli yang dapat diisolasi dari biota laut, rumput laut, air laut dan air payau.

Penerapan teknologi dalam upaya penanggulangan penyakit bacterial telah banyak dilakukan, mulai dari pencegahan sampai tindakan pengobatan dengan menggunakan berbagai antibiotic. Kebiasaan menggunakan antibiotic ini menimbulkan dampak negative, tidak hanya mengakibatkan bakteri pathogen menjadi resisten, tetapi juga berdampak buruk terhadap lingkungan dan masyarakat sekitar.

Pengendalian secara biologis merupakan teknik alternative untuk mengendalikan serangan penyakit bakteri pada udang. Penggunaan bakteri seperti super NB sebagai pengendalian secara biologis dalam budidaya udang. Seperti yang telah banyak digunakan pada tambak-tambak pembesaran dengan fungsi lain menekan pertumbuhan bakteri yang

merugikan, dan mengurangi resiko timbulnya penyakit. Disamping itu bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* sebagai bakteri yang mempunyai kemampuan untuk menghambat dan memproduksi antibiotik terhadap *Vibrio cholera*. Adanya sifat antagonisme dari suatu bakteri terhadap bakteri lain dapat dikembangkan menjadi suatu teknologi di dalam penganggulangan penyakit vibriosis pada udang. Dalam penelitian ini, peneliti coba menguji kemampuan *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* menghambat bakteri pathogen khususnya *Vibrio Parahaemolyticus* secara *in vitro*.

2. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui adanya respon antagonisme bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* terhadap bakteri patogen *Vibrio Parahaemolyticus* secara *in vitro*.

Hipotesis

Untuk menduga adanya respon antagonisme pada penelitian ini dinyatakan dengan adanya penekanan pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* pada biakan campuran yang diinokulasikan bakteri penghambat (*Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp*) dibanding dengan control yang dinyatakan dengan hipotesis: tidak adanya efek antagonisme dengan pamanbahan bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* pada konsentrasi 10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml terhadap *Vibrio parahaemolyticus*.

3. Metode Penelitian

3.1. Bahan dan alat

Isolasi bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* diperoleh dari balai Budidaya air Payau (BBAP) Jepara dan merupakan isolasi murni. Isolat ini diisolasi dari udang windu yang terserang penyakit vibriosis. Sedangkan bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* diisolasi dari produk Super NB produksi dari Marindo Lab, Surabaya.

Bahan yang digunakan antara lain: Trypticase Soy Agar (TSA), Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) Agar, Nutrien Agar (NA), Nutrien Broth (NB), Triple Sugar Iron Agar (TSIA), Glucose Motility Deep (GMD), Simmon's Citrat Agar, Salt Broth, Nitrat Broth, MR-VP broth, larutan Kristal Violet, Iodin, Aseton, Safranin, Vasline, Hidrogen Peroksida 3%, Tetrametil-p-penildiamin Hidroklorida 1%, Vibriostat (O/129 10 ug), Decarboxylase Møller base Media (L-Arginine 1%, L-Lysine 1%, L-Ornithine 1%), Reagen Nitrat, Methyl Red, Reagen Barrait, α -naftol, KOH, seng (Zn), Parafin cair, NaCl, alcohol, aquades dan air laut steril.

Peralatan yang digunakan antara lain: cawan petri, kawat oce, elenmeyer 100 ml, tabung reaksi, lampu Bunsen, pipet tetes, gelas ukur, autoklaf, pengaduk bermagnet yang dilengkapi pemanas, kapas, kertas aluminium, gelas objek, batang kaca penyebar, incubator, pinset, mikroskop, tissue, rak tabung, minyak imersi, water bath, kulkas (refrigerator), dan koloni counter.

3.2. Metode

Metode yang digunakan untuk mengevaluasi antagonisme dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Respon awal antagonisme bakteri *Bacillus sp* dan *Pseudomonas sp* terhadap *Vibrio Parahaemolyticus* dilihat pada metode Gores (Streaking Method) Silang dan dilanjutkan dengan metode Mikrokosom.

Pada uji antagonisme dengan gores silang masing-masing bakteri dibiakkan pada media agar (TSA+NaCl 1%) dalam cawan petri dengan goresan yang berpotongan satu sama lain (*Bacillus sp* vs *Vibrio Parahaemolyticus* dan *Pseudomonas sp* vs *Vibrio parahaemolyticus*). Sedangkan pada metode mikrokosom *Basilus sp* diberi perlakuan dengan kepadatan berturut-turut 10^2 , 10^4 , 10^6 sel/ml (mikrokosom Bc2, Bc4 dan Bc6) diinkubasikan bakteri *Vibrio*

Parahaemolyticus 10^4 sel/ml dalam 100 ml air laut steril. Sebagai control (mikrokosom Bc0) diinkubasikan *Vibrio Parahaemolyticus* 10^4 sel/ml tanpa bakteri penghambat (*Bacillus* sp). Hal yang sama juga dilakukan pada bakteri *Pseudomonas* sp (mikrokosom Ps2, Ps4, Ps6 dan kontrol Ps0) dan dilakukan tiga kali ulangan. Pengamatan dilakukan pada 0, 6, 12, 24, 36, 48, dan 72 jam inkubasi pada suhu 27-30°C.

Respon yang diukur pada metode gores silang adalah adanya interupsi atau gangguan oleh *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* yang diukur setelah 48 jam inkubasi. Sedangkan pada metode mikrokosom respon yang diukur adalah perbedaan pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* pada control dan perlakuan yang diberikan. Dari masing-masing mikrokosom diambil 1 ml dan diencerkan 10^{-2} hingga 10^{-8} . Dari pengenceran ini diambil 0,1 ml dan ditebarkan pada media TSA dan diinkubasi pada suhu 27-30°C selama 24 jam. Jumlah sel bakteri dihitung dengan metode TPC (*Total Plate Count*). Adanya respon antagonism dilihat dari pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* pada control dan perlakuan. Apabila populasi *V. Parahaemolyticus* pada control lebih tinggi dibanding dengan biakan campuran yang diinkubasi bakteri penghambat, berarti bakteri *Bacillus* sp atau *Pseudomonas* sp memberikan respon antagonism terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*.

3.3. Analisa Data

Data yang diperoleh dari uji antagonisme pada metode mikrokosom disajikan dalam bentuk Tabel dan Grafik dan dianalisis secara statistic. Untuk menguji hipotesis yang diajukan maka ditentukan nilai t dengan menggunakan uji dua rata-rata uji dua arah menurut SUDJANA (1986) dan STEEL dan TORRIE (1993).

Apabila $t_{hit.} > t_{tab.}$ Pada tingkat kepercayaan ($\alpha=0,05$) pada masing-masing perlakuan yang diuji, maka hipotesa H_0 ditolak (ada antagonisme). Selanjutnya ditentukan pada konsentrasi awal berapa *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp memberikan hambatan paling besar (berbeda nyata terhadap semua perlakuan).

4. Hasil dan Pembahasan

4.1. Isolasi dan identifikasi

Setelah dilakukan serangkaian uji terhadap sifat-sifat biokimia, diperoleh hasil identifikasi sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp

Uji	Hasil		
	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>Bacillus</i> sp	<i>Pseudomonas</i> sp
Pewarnaan Gram	-	+	-
Motilitas	+	+	+
Bentuk sel	Batang, pendek	Batang, panjang	Batang, panjang
Oksidase	+	+	+
Katalase	+	+	+
Indol	-	+	-
TSI	K/A	K/A	K/A
H ₂ S	-	-	-
Reduksi Nitrat	+	+	-
Sitrat	+	-	-
Methyl Red	-	+	-
Voges proskauer	-	+	-
Arginine dihydrolase	-	+	Tidak ada reaksi
Lysin decarboxylase	+	-	Tidak ada reaksi

Ornithine decarboxylase	+	-	Tidak ada reaksi
Oksidase-Fermentase	OF	OF	O
NaCl 0%	-	Tidak di uji	Tidak di uji
NaCl 3 %	+	Tidak di uji	Tidak di uji
NaCl 7 %	+	Tidak di uji	Tidak di uji
NaCl 10%	-	Tidak di uji	Tidak di uji
Sensitifitas O/129 10 ug	+	Tidak di uji	Tidak di uji
Warna koloni pada TCBS	Hijau	Tidak di uji	Tidak di uji

Dari hasil identifikasi yang dilakukan, *Vibrio Parahaemolyticus* memberikan reaksi positif terhadap uji citochrom oksidase, motilitas, katalase, membentuk asam/basa pada medium TSI, reduksi nitrat, sitrat, sentifitas O/129 10ug, tumbuh pada NaCl 3% dan 7%, batang pendek, lysine decarboxylase, ornithin decarboxylase dan memanfaatkan glukosa melalui proses oksidasi-fermentasi (OF) pada GMD dan koloni berwarna hijau pada TCBS agar. *Vibrio Parahaemolyticus* memberikan reaksi negative terhadap pengwarnaan Gram, indol, H₂S, methyl red, voges proskauer, tidak tumbuh pada NaCl 0% dan 10% dan arginine dihdrolase. Hasil identifikasi terhadap bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* ini tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh WEST dan CORWELL (1984) dan BARRAW dan FELTHAM (1993) kecuali terhadap uji indol yang memberikan hasil positif. Hal ini diduga terjadi karena perbedaan zat kimia yang digunakan dan tidak tertutup kemungkinan disebabkan oleh perbedaan asal isolate.

Vibrio Parahaemolyticus diklasifikasikan ke dalam Diviso Protophyta, Kelas Schizomycetes, Ordo Pseudomonadales, Famili Vibrionaceae dan Genus *Vibrio* (BUCHANAN dan GIBBSON, 1994).

Menurut THAYIB (1997) dan BAUMANN *et al.*, (1984) ciri-ciri *Vibrio* sp yaitu gram negatif, berbentuk koma atau batang pendek yang bengkok/lurus, sel tunggal, mempunyai flagella di salah satu kutubnya, motil, panjang 2-3 mikron dan diameter 0,5 - 0,8 mikron, tidak membentuk spora, oksidase positif, aerob fakultatif, kemoorganotrop, fermentasi terhadap karbohidrat, sensitive terhadap uji O/129, dapat tumbuh pada media yang mengandung D-Glukosa dan NH₄Cl, membutuhkan Na untuk merangsang pertumbuhan, katalase positif, dan ditemukan di habitat akuatik dengan rentang salinitas besar. Menurut PRAJITNO (1995) *Vibrio* sp adalah jenis bakteri halofilik yaitu bakteri yang dapat hidup pada salinitas tinggi.

Selanjutnya sifat-sifat biokimia, morfologi dan biakan *Vibrio Parahaemolyticus* telah banyak dipelajari oleh beberapa penyelidik. THAYIB dan SUHADI (1974) melaporkan hasil 11 strain *Vibrio Parahaemolyticus* bereaksi positif terhadap uji sifat-sifat biokimia adalah kemampuan melakukan hidrolisa pati, pertumbuhan pada medium Salt Trypticase Broth pada konsentrasi 3% dan 7% garam NaCl, pembentukan asam/basa medium TSIA, reaksi indol, pencairan gelatin, reduksi nitrat, sifat motil dan kemampuan melakukan fermentasi terhadap galaktosa, glukosa dan monitol. Sedangkan 11 strain *Vibrio Parahaemolyticus* tersebut menunjukkan hasil negatif terhadap uji pewarnaan Gram, pertumbuhan pada medium Salt Trypticase Broth pada konsentrasi 0% dan 10% garam NaCl, Voges-Proskouer, dan kemampuan melakukan fermentasi terhadap selabiosa, inositol, rafinosa, rhamnosa dan sukrosa. Selanjutnya BAUMANN *et al.* (1984) menjelaskan bahwa *Vibrio Parahaemolyticus* setelah diinkubasi pada suhu 37^oC selama 18-24 jam koloni berwarna hijau atau biru (tidak memfermentasikan sukrosa dan diameter koloni 2-5 ml) pada TCBS.

Bakteri *Bacillus* sp pada penelitian ini memberikan reaksi positif terhadap pengwarnaan Gram, motilitas, oksidase, katalase, produksi indol, reduksi nitrat, methyl red,

voges-proskauer, arginine dihydrolase, pembentukan asam/basa pada medium TSI, memanfaatkan glukosa melalui proses oksidasi dan fermentasi (OF) pada GMD, batang panjang dan memberikan reaksi negatif terhadap produksi H₂S, sitrat, lysine decarboxylase. Hal yang sama juga dilaporkan oleh BARRAW dan FELTHAM (1993).

Menurut BUCHANAN dan GIBBONS (1994) *Bacillus* sp termasuk ke dalam Divisi Protophyta, Kelas Schizomycetes, Ordo Eubacterials, Famili Bacillaceae dan Genus *Bacillus*. Selanjutnya SWART (1980) mengatakan genus *Bacillus* merupakan bakteri batang Gram positif yang dapat membentuk spora dan tumbuh dengan baik pada kondisi aerobik.

Ciri-ciri bakteri genus *Bacillus* adalah Gram positif, sel berbentuk batang lurus, ukuran panjang 1,2-7,0 mikron dan lebar 0,3-2,2 mikron. Sebagian besar motil dengan flagella lateral, tahan terhadap panas dengan membentuk spora, kemoorganotrop, fermentasi atau keduanya. Metabolisme memanfaatkan substrat yang bervariasi. Sejumlah besar spesies menghasilkan katalase. Aerob sempurna atau anaerob fakultatif (GIBSON dan GORDON, 1974). EFENDI dan ERYANHURI (1996) juga menerangkan bersifat *Bacillus* sp seperti Gram positif, oksidase positif, katalase positif, tipe pengendalian sel diplo/strepto, tumbuh pada suhu 5°C, 20-3°C dan 33-35°C, tumbuh pada McConkey agar dan tidak membentuk pigmen, motilitas kuat dan berbentuk batang.

Hasil identifikasi *Pseudomonas* sp menunjukkan reaksi positif terhadap uji motilitas, oksidase, batang panjang, membentuk asam-basa pada TSI, menggunakan glukosa secara oksidasi (O) pada medium GMD dan bereaksi negatif terhadap pengwarnaan Gram, indol, H₂S, reduksi nitrat, sitrat, methyl red dan voges proskauer. Data identifikasi *Pseudomonas* sp pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh LAY dan HASTOWO (1992) yang mengatakan *Pseudomonas* sp bersifat Gram negatif, batang, aerobik, bergerak, katalase positif, penguraian karbohidrat melalui proses oksidase, beberapa spesies menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Pendapat yang sama juga dikatakan oleh DUODOROF dan PALLERONI (1974) yang member ciri-ciri genus *Pseudomonas* Gram negatif, sel tunggal berbentuk batang lurus/bengkok, motil. Ukuran lebar 0,5-1 mikron, panjang 1,5-4 mikron. Tidak mempunyai masa istirahat (resting stage), kemoorganotrop. Beberapa diantaranya adalah fakultatif kemolitotrop dan dapat menguraikan H₂ atau CO sebagai sumber energy. Beberapa *Pseudomonas* dapat melakukan denitrifikasi menggunakan nitrat sebagai akseptor pengganti. Aerob sempurna kecuali pada spesies yang dapat menggunakan proses denitrifikasi sebagai respirasi anaerob, serta katalase positif.

4.2. Antagonisme dengan metode Gores Silang (Streaking Method)

Setelah inkubasi selama 48 jam pada suhu 27-30°C pada media TSA + NaCl 1%, Bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp tidak memberikan gangguan pertumbuhan yang jelas terhadap bakteri *V. parahaemolyticus*. Akan tetapi pada garis perpotongan antara Bakteri *Bacillus* sp maupun *Pseudomonas* sp dengan *V. Parahaemolyticus* hanya ditumbuhi oleh *Bacillus* sp atau *Pseudomonas* sp saja, sedangkan *V. Parahaemolyticus* tidak mampu tumbuh pada garis perpotongan tersebut.

Hasil dari uji antagonism bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap *Vibrio Parahaemolyticus* dengan metoda gores silang tidak menunjukkan adanya zona hambat dan reaksi antagonism yang jelas. Lemahnya daya hambat pada metode ini diduga karena kondisi lingkungan dalam hal ini media biakan (TSA + 1% NaCl) tidak optimum bagi *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp untuk menghasilkan suatu zat yang mampu menghambat pertumbuhan *V. Parahaemolyticus*. Disamping itu pada media padat penyebaran zat yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp atau *Pseudomonas* sp relative lebih lambat dari pada media cair (mikrokosom) sehingga efek antagonism yang dihasilkan tidak jelas.

Kurangnya hambatan terhadap pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* pada metode gores silang dapat juga terjadi karena zat yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp ataupun *Pseudomonas* sp tidak cukup banyak untuk mampu menghambat *V. Parahaemolyticus*, sehingga daya kerjanya tidak menunjukkan hasil yang jelas. Walaupun demikian, adanya perpotongan pada goresan *V. Parahaemolyticus* diduga *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dapat berantagonis (menghambat) pada kondisi lain (media cair) seperti pada metode mikrokosom. Menurut EFENDI dan ERYANHURI (1996) antaonisme di alam akan meliputi persaingan spasi habitat, oksigen, nutrient, penghambat oleh metabolit penghambat, produksi antibiotic dan predasi.

4.3. Antagonisme pada Mikrokosom

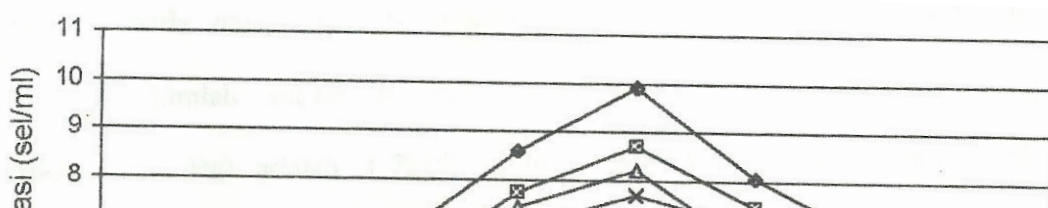
Pada penelitian ini populasi bakteri yang diukur pada masing-masing perlakuan adalah populasi *Vibrio parahaemolyticus*. Dari hasil pengamatan, data pertumbuhan rata-rata populasi *Vibrio Parahaemolyticus* dari 0 jam hingga 72 jam inkubasi pada uji antagonisme dengan *Bacillus* sp dalam mikrokosom disajikan pada table 2. Dari Tabel 2. Dapat dilihat jumlah sel/ml *V. Parahaemolyticus* saat puncak populasi pada mikrokosom Bc0 adalah 8.0×10^9 sel/ml, mikrokosom Bc2 (5.2×10^8 sel/ml) dan mikrokosom Bc4 (1.7×10^7 sel/ml) dan mikrokosom Bc6 (5.2×10^7 sel/ml).

Tabel 2. Perkembangan rata-rata populasi *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonism dengan *Bacillus* sp pada 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60 dan 72 jam inkubasi.

INKUBAS I (Jam)	PERLAKUAN			
	Bc0	Bc2	Bc4	Bc6
sel/ml.....			
			
0	2.0×10^4	3.0×10^4	4.0×10^4	1.3×10^4
6	1.3×10^5	5.8×10^4	1.0×10^5	1.9×10^5
12	6.3×10^6	1.1×10^6	2.5×10^6	1.2×10^6
24	4.0×10^8	5.7×10^7	2.8×10^7	1.0×10^7
36	8.0×10^9	5.2×10^8	1.7×10^8	5.2×10^7
48	1.2×10^8	3.0×10^7	4.0×10^6	1.1×10^7
60	6.9×10^6	3.6×10^6	1.1×10^6	1.7×10^6
72	4.3×10^5	6.9×10^5	3.0×10^5	1.2×10^5

Keterangan Bc0 = *V. Parahaemolyticus* 10^4 (kontrol)
 Bc2 = *V. Parahaemolyticus* 10^4 vs *Bacillus* sp 10^2
 Bc4 = *V. Parahaemolyticus* 10^4 vs *Bacillus* sp 10^4
 Bc6 = *V. Parahaemolyticus* 10^4 vs *Bacillus* sp 10^6

Puncak populasi pada masing-masing perlakuan terjadi pada waktu yang bersamaan yaitu inkubasi 36 jam. Pertumbuhan rata-rata populasi *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonisme dengan *Bacillus* sp dalam mikrokosom dengan jelas dilukiskan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pola pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonism dengan *Bacillus* sp dalam mikrosom dari 0 jam sampai 72 jam inkubasi.

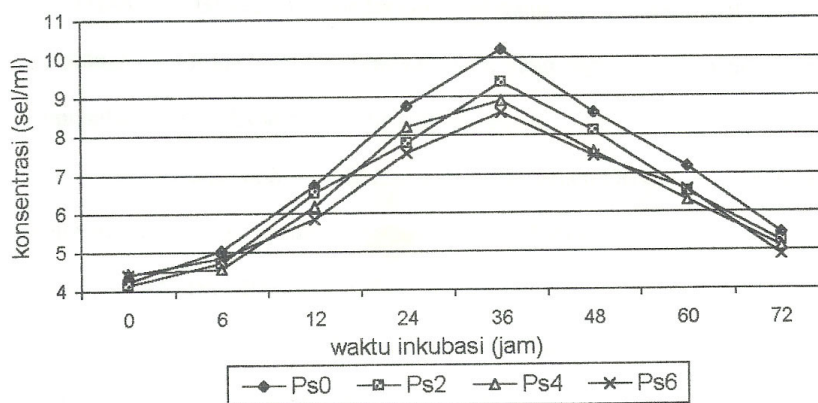
Data pertumbuhan populasi *Vibrio Parahaemolyticus* dalam mikrosom dari 0 jam sampai 72 jam inkubasi pada uji antagonism dengan *Pseudomonas* sp secara lengkap disajikan pada Table 3.

Table 3. Rata-rata perkembangan populasi *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonism dengan *Pseudomonas* sp pada 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam inkubasi.

INKUBAS I (Jam)	PERLAKUAN			
	Ps0	Ps2	Ps4	Ps6
sel/ml.....			
0	1.7x10 ⁴	1.4x10 ⁴	2.9x10 ⁴	2.6x10 ⁴
6	1.1x10 ⁵	5.1x10 ⁴	3.7x10 ⁴	7.0x10 ⁴
12	5.5x10 ⁶	3.4x10 ⁶	1.5x10 ⁶	6.8x10 ⁵
24	5.9x10 ⁸	6.6x10 ⁷	1.7x10 ⁸	3.5x10 ⁷
36	1.7x10 ¹⁰	2.4x10 ⁹	7.9x10 ⁸	3.9x10 ⁸
48	3.9x10 ⁸	1.3x10 ⁸	3.8x10 ⁷	3.0x10 ⁷
60	1.5x10 ⁷	3.5x10 ⁶	2.0x10 ⁶	4.0x10 ⁶
72	2.8x10 ⁵	1.7x10 ⁵	1.3x10 ⁵	7.7x10 ⁴

Keterangan Ps0 = *V. Parahaemolyticus* 10⁴ (kontrol)
 Ps2 = *V. Parahaemolyticus* 10⁴ vs *Pseudomonas* sp 10²
 Ps4 = *V. Parahaemolyticus* 10⁴ vs *Pseudomonas* sp 10⁴
 Ps6 = *V. Parahaemolyticus* 10⁴ vs *Pseudomonas* sp 10⁶

Pada antagonism *Pseudomonas* sp dengan *Vibrio Parahaemolyticus* puncak populasi pada masing-masing mikrokosom juga terjadi pada waktu inkubasi 36 jam. Jumlah sel/ml *V. Parahaemolyticus* saat puncak populasi pada mikrokosom Ps0 adalah 1.7x10¹⁰ sel/ml, mikrokosom Ps2 (2.5x10⁹ sel/ml), mikrokosom Ps4 (7.9x10⁸ sel/ml) dan mikrokosom Ps6 (3.9x10⁸ sel/ml). Grafik pertumbuhan populasi *V. Parahaemolyticus* selama percobaan antagonisme dengan *Pseudomonas* sp dalam mikrokosom dilukiskan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pola pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonism dengan *Pseudomonas* sp dalam mikrokosom dari 0 jam sampai 72 jam inkubasi.

Dari hasil pengamatan, pertambahan jumlah sel/ml bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* pada antagonisme dengan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp tidak konstan dan stabil. Pada Gambar 1 dan 2 terlihat bahwa pada perkembangan populasi *V. Parahaemolyticus* dari 0 jam sampai 72 jam normal mengikuti fase-fase pertumbuhan bakteri secara umum. Pertumbuhan

bakteri pada lingkungan terbatas secara umum mengikuti beberapa fase yaitu : fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase mati. Namun pada penelitian ini puncak populasi *V. Parahaemolyticus* pada masing-masing mikrokosom terjadi pada waktu yang bersamaan yaitu waktu inkubasi 36 jam dan selanjutnya populasi turun sampai akhir pengamatan (inkubasi 72 jam). Kenaikan jumlah sel yang terjadi dari 0 jam inkubasi sampai puncak populasi terjadi karena nutrisi yang terkandung di dalam media biakan (mikrokosom) masih cukup untuk mendukung pertumbuhan bakteri sampai waktu inkubasi 36 jam (puncak populasi). Setelah inkubasi 36 jam nutrisi yang tersedia mulai berkurang dan sisa metabolisme serta bahan beracun mulai banyak sehingga pertumbuhan bakteri *V. Parahaemolyticus* menjadi terganggu dan menurun.

Pada mikrokosom yang diberi perlakuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dengan konsentrasi awal 10^2 , 10^4 , dan 10^6 sel/ml terlihat kepadatan selnya pada puncak populasi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Secara umum dapat dikatakan semakin tinggi konsentrasi inkubasi awal bakteri *Bacillus* sp atau *Pseudomonas* sp, semakin besar pula kemampuan untuk menekan pertumbuhan (daya hambat) terhadap *Vibrio Parahaemolyticus*, walaupun keadaan ini tidak konstan terjadi pada setiap pengamatan. Kemampuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* mengikuti pola pertumbuhan bakteri *V. Parahaemolyticus*.

Pada penelitian ini (Gambar 1) daya hambat terhadap pertumbuhan *Vibrio Parahaemolyticus* oleh *Bacillus* sp mulai terjadi pada waktu inkubasi 12 jam dibandingkan kontrol. Namun perbedaan jumlah sel *V. Parahaemolyticus* pada masing-masing konsentrasi *Bacillus* sp (10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml) baru terlihat pada waktu inkubasi 24 jam, dan penekanan pertumbuhan paling besar terjadi pada saat puncak populasi (waktu inkubasi 36 jam).

Keadaan yang sama juga sama terjadi pada antagonisme dengan *Pseudomonas* sp (Gambar 2) akan tetapi hambatan terjadi lebih lambat dibandingkan *Bacillus* sp. Daya hambat terhadap pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* oleh *Pseudomonas* sp terjadi setelah waktu inkubasi 24 jam dibandingkan kontrol. Perbedaan populasi *V. Parahaemolyticus* akibat penekanan *Pseudomonas* sp pada konsentrasi 10^2 , 10^4 , dan 10^6 sel/ml baru terlihat setelah 36 jam dan penekanan ini mencapai puncaknya pada waktu inkubasi 36 jam. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh lambatnya pertumbuhan *Pseudomonas* sp. Hal ini dapat dilihat pertumbuhan *Pseudomonas* sp pada media padat (TSA+1% NaCl) dalam penelitian ini. Lambatnya pertumbuhan *Pseudomonas* ini diduga baru bias menghambat pada rentang waktu yang lebih lama dibandingkan *Bacillus* sp dan menghambat pada rentang waktu yang lebih lama dibandingkan *Bacillus* sp dan menghambat setelah konsentrasi tinggi (puncak populasi). Pertumbuhan yang lebih cepat dapat memberikan hambatan lebih awal. Hal ini dijelaskan oleh UMBREIT (dalam TJAHYADI, 1994) bahwa kemampuan organisme dalam menghambat pertumbuhan organisme lain dapat disebabkan oleh faktor pertumbuhan yang lebih cepat, sehingga menggunakan semua bahan organik yang tersedia atau juga dimungkinkan oleh produksi suatu zat dari organisme penghambat yang menekan pertumbuhan organisme lain.

Adanya hambatan pertumbuhan atau perbedaan konsentrasi pada puncak populasi *V. Parahaemolyticus* yang terjadi dalam mikrokosom yang diberi perlakuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dengan inkubasi awal masing-masing 10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml, diduga oleh adanya antagonisme dari *Bacillus* sp maupun *Pseudomonas* sp. Hasil uji signifikan terhadap kemampuan *Bacillus* sp menghambat *V. Parahaemolyticus* dalam mikrokosom pada puncak populasi ternyata menunjukkan hasil berbeda nyata. Untuk melihat apakah perbedaan jumlah sel *V. Parahaemolyticus* pada puncak populasi merupakan antagonisme, maka hasil uji signifikan (uji-t) antagonisme dalam mikrokosom secara ringkas disajikan pada Table 4.

Tabel 4. Antagonisme *V. Parahaemolyticus* dengan *Bacillus* sp pada puncak populasi (waktu inkubasi 36 jam) dalam mikrokosom pada semua perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata sel/ml <i>V. Parahaemolyticus</i>
Bc0-Bc2	3,5327*
Bc0-Bc4	3,6960*
Bc0-Bc6	3,7510*
Bc0-Bc4	14,7029**
Bc0-Bc6	22,4217**
Bc0-Bc6	10,1308**

* = Berbeda nyata pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,05$

** = Berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,01$

Hasil uji antagonism *Bacillus* sp dengan *V. Parahaemolyticus* menunjukkan bahwa *Bacillus* sp mampu menekan perkembangan *V. Parahaemolyticus* pada semua inkubasi awal 10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml dibanding kontrol (tanpa pemberian *Bacillus* sp). Dalam hal ini seluruh perlakuan yang diberikan berbeda nyata dengan kontrol. Pada penelitian ini *Bacillus* sp 10^6 sel/ml memberikan hasil berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya (*Bacillus* 10^2 dan 10^4 sel/ml). ini berarti *Bacillus* sp 10^6 sel/ml memberikan penekanan paling besar terhadap *V. Parahaemolyticus* dibanding dengan *Bacillus* sp 10^2 dan 10^4 sel/ml.

Hasil uji signifikan terhadap kemampuan *Pseudomonas* sp menghambat *Vibrio Parahaemolyticus* dalam mikrokosom pada puncak populasi sama dengna kemampuan *Bacillus* sp yang menunjukkan hasil berbeda nyata (lampiran 11-16). Hasil uji-t antagonism *V. Parahaemolyticus* dengan *Pseudomonas* sp dalam mikrokosom dapat dilihat secara ringkas pada Tabel 5.

Tabel 5. Antagonisme *V. Parahaemolyticus* dengan *Pseudomonas* sp pada puncak populasi (waktu inkubat 36 jam) dalam mikrokosom pada semua perlakuan.

Perlakuan	Rata-rata sel/ml <i>V. Parahaemolyticus</i>
Pc0-Ps2	23,6326**
Pc0-Ps4	28,0931**
Pc0-Ps6	28,7679**
Pc0-Ps4	7,2462**
Pc0-Ps6	7,1395**
Pc0-Ps6	12,2474**

** = Berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,01$

Pada uji antagonism *Pseudomonas* sp dengan *V. Parahaemolyticus* dalam mikrokosom ini juga menunjukkan pola antagonism yang sama dengan *Bacillus* sp. Pada table 5 terlihat bahwa semua perlakuan (*Pseudomonas* sp 10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml) berbeda nyata dengan kontrol (tanpa pemberian *Pseudomonas*). Pada uji ini diperlakukan *Pseudomonas* 10^6 sel/ml juga memberikan daya hambat yang paling besar atau berbeda sangat nyata dengan perlakuan lainnya (*Pseudomonas* sp 10^2 dan 10^4 sel/ml).

Antagonisme yang terjadi antara *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dengan *V. Parahaemolyticus* pada penelitian ini diduga karena persaingan dalam makanan dan spasi habitat yang terbatas dalam mikrokosom. Menurut RAB (1984) antagonisme yang terjadi antara mikroorganisme dapat bersifat antagonisme sejati dan antagonism faktor. Antagonisme

sejati terjadi jika suatu jenis bakteri benar-benar menghambat (mematikan) bakteri lain. Sedangkan antagonism fektor terjadi jika suatu jenis bakteri menghambat bakteri lain secara aktif karena makanan dan kehidupan yang terbatas. Jadi dalam hal ini antagonisme *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap *V. Parahaemolyticus* adalah antagonisme fektor.

Terjadinya kompetisi antara *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dengan *V. Parahaemolyticus* pada penelitian ini, dijelaskan oleh FREDRICKSON dan STEPANOPOLOUS (dalam Mc INERNEY, 1986) bahwa kompetisi dapat terjadi diantara dua populasi. Ini terjadi jika kedua interaksi tersebut dapat hidup berdampingan. Namun kenyataan menunjukkan bahwa interaksi tersebut berjalan tidak stabil sehingga salah satu populasi tersingkir. Dalam hal ini populasi *V. Parahaemolyticus* tertekan oleh adanya populasi *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp.

Selain terbatasnya makanan dan ruang pada lingkungan (dalam mikrokosom), tertekannya populasi *V. Parahaemolyticus* dalam mikrokosom yang diinkubasikan *Bacillus* sp atau *Pseudomonas* sp juga diduga karena menumpuknya sisa metabolisme atau bahan-bahan beracun yang dapat menghambat perkembangan populasi *V. Parahaemolyticus*. SERMONTI (dalam SELWIN, 1982) menjelaskan zat penghambat (antibiotik) yang dihasilkan oleh mikroorganisme mungkin merupakan produk sekunder dari metabolisme yang memiliki fungsi metabolis dan fisiologis. Produk tersebut mungkin saja merupakan produk buangan yang bereaksi sebagai mekanisme detoksikasi. Selanjutnya NEIDHART *et al.*, (1990) mengatakan perkembangan populasi bakteri dapat terbatas oleh perubahan lingkungan hidupnya yang dikarenakan oleh perkembangannya sendiri atau perubahan dari luar baik kondisi fisika maupun kimia. Dan kondisi yang paling sering mengganggu ialah berkurangnya nutrien, sedikitnya ketersediaan oksigen dan menumpuknya asam dan produk metabolisme. Adanya hambatan pertumbuhan pada antagonism bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp pada penelitian ini menurut (BABE'S dalam SELWYN, 1982) dapat disebut sebagai kehilangan patogenesisitas temporer bakteri *V. Parahaemolyticus*.

Hasil dari uji antagonism dengan metode mikrokosom menunjukkan efek antagonis yang lebih jelas dari metode gores silang oleh bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp terhadap *V. Parahaemolyticus*. Hal ini dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan yang berbeda antara kedua uji (gores silang dan mikrokosom).

Pada metode gores silang, media agar yang digunakan mengandung nutrien yang melimpah sehingga masing-masing bakteri dapat tumbuh dengan baik dalam kondisi maksimal. Sedangkan dalam mikrokosom keberadaan nutrien sangat terbatas dan dalam kondisi seperti ini *Bacillus* sp maupun *Pseudomonas* mampu mengganggu keberadaan *V. Parahaemolyticus* melalui kompetisi atau karena adanya produksi zat metabolit yang dapat merubah kondisi media hidupnya seperti pH, tekan osmotik, tegangan permukaan dan menciptakan lingkungan yang sulit di toleransi oleh organisme lain. Juga dapat memproduksi zat toksik khusus yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan organisme lain, zat ini disebut antibiotik. Produksi antibiotik oleh mikroorganisme merupakan salah satu mekanisme dari antagonisme (McINERNEY, 1986).

Perbedaan spesies dan asal isolate dari bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp yang digunakan pada penelitian ini juga dapat menjadi penyebab lemahnya produksi antibiotik terhadap spesies *V. Parahaemolyticus*. Keadaan ini juga bias terjadi karena antibiotik yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme bersifat spesifik. Jenis antibiotik yang dihasilkan mungkin hanya dapat menghambat satu atau beberapa jenis mikroba saja, tetapi tidak menghambat mikroba lain seperti *V. Parahaemolyticus*. Antibiotik seperti ini digolongkan antibiotik yang mempunyai spectrum sempit (DWIDJOSEPUTRO, 1981).

Kemampuan *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp dalam menghasilkan antibiotik telah dilaporkan oleh ROSENFELD dan ZOBEL (dalam RAHAYU, 1996) bahwa ada beberapa bakteri laut yang dapat menghasilkan antibiotik yang berasal dari genus *Bacillus* sp dan

Micrococcus. EFFENDI dan ERYANHURI (1996) melaporkan bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp mampu menghasilkan antibiotik yang dapat menghambat *Vibrio cholerae*. Data yang hampir sama juga dilaporkan oleh RAHAYU (1996) yang mengisolasi bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp sebagai bakteri perifiton yang menghasilkan antibiotik terhadap *Vibrio cholerae*. Selanjutnya Wratten dan koleganya menemukan bakteri penghasil antibiotik dengan ciri: Gram negatif, mempunyai filamen kuning, bergerak, berbentuk batang, produksi katalase, indol dan oksidase, memerlukan garam dan memberikan respon negatif terhadap *methyl red test* dan *voges proskauer*. Dari kriteria ini bakteri tersebut diperkirakan dari genus *Pseudomonas* namun tidak tertutup kemungkinan dari kelompok *Alteromonas*. Dari hasil separasi dengan kromatografi diketahui senyawa tersebut 2-n-phenyl-4-quinolinol dan 2-n-heptyl-4-quinol. Kedua antibiotik ini sangat ampuh melawan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Vibrio anguillarum*, *V. harveyi* dan fungsi *Candida albicans*.

5. Kesimpulan dan Saran

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp bersifat antagonis terhadap *Vibrio Parahaemolyticus*. Bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp tidak memberikan antagonism yang jelas (daya hambat lemah) terhadap bakteri *V. Parahaemolyticus* pada media padat (TSA+1% NaCl) dengan metode gores silang.

Pada uji antagonisme dalam mikrokosom bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp pada inkubasi awal 10^2 , 10^4 dan 10^6 sel/ml mampu menghambat pertumbuhan *V. Parahaemolyticus* pada konsentrasi 10^4 sel/ml. perlakuan terbaik adalah *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp 10^6 sel/ml.

5.2. Saran

Selanjutnya disarankan agar melakukan penelitian lanjutan untuk melihat antagonisme *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* sp secara in vivo dan in situ terhadap berbagai spesies *Vibrio* yang menjadi penyebab penyakit vibriosis pada udang.

DAFTAR PUSTAKA

- ATMOMARSONO, M.,M. I. MADEALI, MULIANI dan TOMPO. 1993. Penyakit Udang Windu di Kabupaten Pirang. Makalah pada Seminar Hasil Penelitian, Balai Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Maros, 8 hal.
- BARROW, G.I and R.K.A. FELTHAM. 1993. Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria. Third Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 989 pp.
- BAUMANN, P., A. L. FURNISS and J. U. LEE. 1984. Genus I. *Vibrio* pp 518-537. In N. R. KRIEG and J. G. HOLT (eds) Bergey's Manual of Systematic Bacteriologi, Vol I. William and Wilkins Co. Baltimore.
- BUCHANAN, R. E. and N. E. GIBBONS. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi, 9 th Edition. William and Wilkins Co. Baltimore. 789 pp.
- DUODOROFF, M. and N. J. PALLERONI. 1994. Genus I. *Pseudomonas* , pp 217-243. In R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS (eds). Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi, 9 th Edition. William and Wilkins Co. Baltimore.
- DWIJOSEPUTRO, D. 1981. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta. 168 hal.
- EFFENDI, I. 1997. Prospek Pengembangan Penelitian Bioteknologi Kelautan di Indonesia. Makalah pada Lakakarya Pengelolaan Laut Pesisir Lestari. Program Studi Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 11 hal.

- _____ dan ERYANHURI. 1996. Produksi Antibiotik oleh Bakteri Laut dari Perairan Sekitar Dumai. Laporan Penelitian. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 51 hal. (tidak diterbitkan)
- GIBSON, T. and R. E. GORDON, 1994. Genus I. *Bacillus* . pp 529-550. In R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS (eds). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9 th Edition. William and Wilkins Co. Baltimore.
- JUWANA, S. 1990. Tinjauan tentang Kebiasaan Menggunakan Antibiotik dalam Dosis Pencegahan pada Bakteri. *Oseana* (XV) 3:93-105.
- LARKINS, P. E. 1993. Shrimp Disease and Shrimp Farm Management on the Malacca Straits Coast of North Sumatera Propinse. North East Sumatera Prawn Project/Overseas Development Administration Repot. Dinas Perikanan Sumatera Utara, Medan. 107 hal.
- LAY, B. W. 1994. Analisis Mikroba di Laboratorium. Rajawali Prees, Jakarta. 167 hal.
- _____ dan S. HASTOWO. 1992. Mikrobiologi. Rajawali Prees, Jakarta 376 hal.
- LIGHTNER, D. V. 1983. Disease of Cultured Shrimp. pp 289-32. In J. P. Mc VEY (ed) CRC Handbbok of Mariculture. Vol I Crustacean Aquaculture. CRC Prees Inc. Boca Raton.
- _____.1988. Vibrio Disease of Penaeid Shrimp. pp 42-47. In J. SINDERMAN and D. V.LIGHTNER (eds) Disease and Control in North American Marine Aquaculture. Elsevier Scientific Publication, Amsterdam.
- McINERNEY, M. J. 1986. Transient and Persient Assosiation Among Prokaryotes, pp 239-338. In J. S. POINTDEXTER and E. R. LEADBETTER (eds) Bacteria In Nature. Vol 2. Methods and Spesial Application in Bacterial Ecology. Plenum Press, New York and London.
- MURACHMAN. 1995. Peranan Pengelolaan Air dalam Menanggulangi Kegagalan Panen Akibat Vibrio pada Tambak Udang Intensif. Makalah pada Pelatihan Nasional Keterampilan dan Bina Usaha Mandiri Bidang Budidaya Air Tawar dan Payau. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, Malang. 8 hal.
- _____, WIJARNI dan D. ARFIATI. 1995. Identifikasi Pengaruh Faktor Lingkungan terhadap Pelimpahan Mikroorganisme Patogen pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab) Selama Pemeliharaan di Tambak di Pantai Selat Madura Propinsi Jawa Timur. hal 273-289. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Perguruan Tinggi di Sawangan – Bogor. Buku VI Bidang Pertanian. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Jakarta.
- NEIDHART F. C., J. L. INGRAHAM dan M. SCHACHTER, 1990. Physiologi of the Bacterial Cell. A Molecular Approach Sinauer Accociates, Inc. Publisher Sunderland, Massachussets. 506 pp.
- NOEROELLAH, M. A. 1990. Penggunaan Prepuran dalam Upaya Penyakit Udang Menyala (*Vibrio* sp) pada Larva Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab). Skripsi, Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor, Bogor. 85 hal (tidak diterbitkan).
- PRAJITNO, A. 1990. Vibrio spp dan MBV Primadona Penyakit Udang Windu di Tambak. Makalah pada Pelatihan Nasional Keterampilan dan Bina Usaha Mandiri Bidang Budidaya Air Tawar dan Payau. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, Malang. 17 hal.
- RAB, T. 1981. Prinsip Mikrobiologi Perikanan. Pustaka Syena, Pekanbaru. 99 hal
- RAHAYU, S. 1996. Isolasi Bakteri Perifiton Penghasil Antibiotik dari Perairan Sekitar Kota Dumai. Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 59 hal. (tidak diterbitkan).
- RAMSES. 1996. Keadan Pertambakan Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab) pada PT. Suryawindu Pertiwi Desa Jabungsisir Kecamatan Paiton Kabupaten Probolinggo Propinsi Jawa Timur. Laporan Praktek Lapangan. Fakultas Perikanan Universitas Riau, Pekanbaru. 94 hal (tidak diterbitkan).

- SELWYN, S. 1982. Interference and Antagonism Between Skin Microorganism. pp 73-90 *In* R. ALY and H. R. SHINEFIELD (eds) Bacteriology interferens. CRC Prees Inc. Boca Raton.
- SONNENWIRTH, A. C. 1980. *Pseudomonas* and Other Non Fermenting Bacill. pp 673-677 *In* B. D. DAVIS, R. DULBECCO, H. N. ELSEN AND H. S. GINSBERG (eds) Microbiology 3 rd Edition. Harpers and Pows Publisher, New York.
- STEEL, R. G. D. dan J. H. TORRIE. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Suatu Pendekatan Biometrik. Diterjemahkan oleh B. Sumantri. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 772.
- SUDJANA. 1986. Metoda Statistika. Edisi ke-IV. Tarsito, Jakarta. 485 hal.
- AWART, M. N. 1980. Aerobic Spore Forming Bacilli. pp 703-710 *In* B. D. DAVIS, R. DULBECCO, H. N. ELSEN and H. S. GINSBERG (eds) Microbiology 3 rd Edition. Harpers and pows Publisher, New York.
- THAYIB, S. S. 1977. *Vibrio* Laut yang Mengganggu Kehidupan Manusia dan Ikan. *Pewarta Oseana*. 384:1-6.
- _____ dan F. SUHADI. 1974. Suatu Usaha Isolasi *Vibrio Parahaemolyticus* dari Lumpur dan Beberapa Macam Hasil Laut yang Berasal dari Perairan Teluk Jakarta. *Oseonologi di Indonesia*. 2:41-55.
- TJAHJADI, M. R. 1994. Bakteri Pengambat *Vibrio harveyi* untuk Menanggulangi Penyakit Berpendar pada Larva Udang Windu. Skripsi, Fakultas Perikanan Institut Pertanian Bogor, Bogor. 77 hal (tidak diterbitkan).
- WEST, R. A. and R. R. COWELL. 1984. Identification and Clasification Of Vibrionaceae, an Overview. pp 285-361. *In* R. R. COWELL (ed). *Vibrio in the Environment*. John Wiley And Sons, New York.
- WIADNYA, D. G. R. 1995. Manajemen Kualitas Air pada Tambak Air Payau. Makalah pada Pelatihan Nasional Keterampilan dan Bina Usaha Mandiri Bidang Budidaya Air Tawar dan Payau. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, Malang. 10 hal.