

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI *AEROMONAS HYDROPHILA* PADA IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF AEROMONAS HYDROPHILA BACTERIA IN DUMBO CATFISH (*Clarias gariepinus*)

Melly Triana Eryesma Anwar¹, Tugiyono

Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung

ABSTRACT

This research is to isolate, identify and know the pathogenicity of Aeromonas sp. originating from African catfish in Ngawi Regency. Fish that had symptoms of illness and were 20 - 25 cm in size obtained from rearing ponds in 3 sub-districts were used as research samples. Fish kidneys were used for bacterial isolation and inoculated using GSP medium. Furthermore, the characterization and identification of bacteria was carried out by observing the colony morphology, cells, and biochemical properties. Furthermore, Koch's Postulate test was carried out which aims to prove the nature of the pathogen. Furthermore, catfish seeds measuring 7 - 9 cm were measured with a Lethal Dosage of 50 to determine their level of pathogenicity. The results showed that fish were infected with bacteria, where symptoms appeared, namely the skin had ulcers, damage to the kidneys and swelling of the stomach. A total of 15 bacterial isolates obtained consisted of six from Geneng District, five from Karang Jati District and four isolates from Paron District. The identification results showed that Aeromonas hydrophila was identified from 12 isolates, A. salmonicida was identified from three isolates. Isolates A. hydrophila GKJ1, GKJ4, GGN2, GGN5, GPR2 and GPR4 were virulent against these fish.

Keywords: Aeromonas, identification, African catfish, pathogenicity

INTISARI

Penelitian ini untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan mengetahui patogenitas bakteri *Aeromonas sp.* yang berasal dari lele dumbo di Kabupaten Ngawi. Ikan yang memiliki gejala sakit dan berukuran 20 - 25 cm yang diperoleh dari kolam pembesaran di 3 kecamatan digunakan untuk sampel penelitian. Ginjal ikan digunakan untuk isolasi bakteri dan diinokulasikan menggunakan medium GSP. Selanjutnya dilakukan karakterisasi dan identifikasi bakteri dengan mengamati morfologi koloni, sel, dan sifat biokimia. Selanjutnya dilakukan uji Postulat Koch yang bertujuan untuk membuktikan sifat patogen. Selanjutnya benih lele yang berukuran 7 - 9 cm diukur nilai Lethal Dosage 50 untuk mengetahui tingkat patogenitasnya. Hasil menunjukkan ikan terinfeksi bakteri, dimana munculnya gejala yaitu bagian kulit terdapat luka borok, kerusakan pada ginjal dan perut mengalami pembekakan. Total isolasi bakteri yang didapat sebanyak 15 yang terdiri dari enam berasal dari Kecamatan Geneng, lima berasal dari Kecamatan Karang Jati dan empat isolate berasal dari Kecamatan Paron. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* teridentifikasi dari 12 isolat, bakteri *A. salmonicida* teridentifikasi dari tiga isolate. Isolat *A. hydrophila* GKJ1, GKJ4, GGN2, GGN5, GPR2 dan GPR4 bersifat virulen terhadap ikan tersebut.

Kata kunci : *Aeromonas*, identifikasi, lele dumbo, patogenisitas

PENDAHULUAN

Ikan yang hidup di air tawar yang sering dikonsumsi oleh masyarakat salah satunya adalah lele dumbo. Hal tersebut disebabkan ikan tersebut mempunyai gizi yang tinggi. Santoso

¹ Alamat penulis untuk korespondensi: Melly Triana Eryesma Anwar. Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas. Email: melly trianaeryesmaanwar25@gmail.com

(1994) menjelaskan bahwa ikan lele dumbo mampu hidup dan beradaptasi pada suhu air yang tinggi berkisar 25-32 °C. Ikan ini mempunyai arborescent yang menjadi alat tambahan untuk pernafasan. Arborescent adalah kulit tipis mirip spon yang memiliki fungsi membantu proses pernafasan. Irianto (2004) menjelaskan bahwa faktor yang menjadi permasalahan pada budidaya adalah serangan penyakit bacterial.

Sering kali terdapat patogen di dalam proses budidaya yang menyebabkan ikan terkena penyakit. Selain jamur, parasit, dan virus, bakteri patogen merupakan organisme yang dapat menimbulkan permasalahan pada proses budidaya.

Aeromonas hydrophila dapat menimbulkan penyakit Motile. Bakteri ini memiliki sifat gram negatif, berbentuk batang dan memiliki ukuran yang pendek. Pada kurun waktu 1 bulan tahun 2001 di Jawa Barat telah terjadi wabah penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini, menyebabkan ikan mas yang dibudidayakan mengalami kematian hingga mencapai 80 ton (Angka, 2001).

Bakteri ini memiliki sifat patogen oportunistik pada ikan yang mengalami stress dan menyebabkan penyakit bercak merah (Yogananth et al., 2009). Kusuma (2016) menjelaskan bahwa penyakit ini muncul jika pengolahan tidak baik, ketidaktepatan mutu dan jumlah pakan, banyak terinfeksi oleh parasit, dan air yang tercemar bahan organik dan lain-lain.

Ikan yang terinfeksi bakteri ini memiliki ciri-ciri perut membesar, insang dan anus mengalami pendarahan lokal, dan exophthalmia. Secara internal penyakit tersebut mungkin disebabkan karena adanya pengumpulan cairan asites, dan organ terutama hati dan ginjal mengalami kerusakan (Austin & Austin, 2007). Irianto (2004), menjelaskan limpa, hati, ginjal, jantung secara histopatologis terlihat adanya nekrosis.

Nitimulyo. (1993) menjelaskan bahwa

isolat *A. hydrophila* bersifat virulen apabila memiliki LD₅₀ sekitar 104 - 106 cfu/ml. Menurut Stevenson (1988), Isolat *A. hydrophila* yang bersifat virulen apabila LD₅₀ 104-105 cfu/ml. Sedangkan isolat yang bersifat non virulen apabila LD₅₀ 107 cfu/ml atau lebih.

Budidaya lele dumbo di berbagai daerah banyak terinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*, maka penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan mengetahui patogenitas bakteri *Aeromonas* sp yang berasal dari Kabupaten Ngawi

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel secara acak pada kolam-kolam lele dumbo di tiga kecamatan yang berbeda yaitu Kecamatan Karang Jati, Kecamatan Paron dan Kecamatan Geneng. Hadi (1986) menjelaskan bahwa metode pengambilan data dengan cara mencatat waktu dan tempat kejadian serta populasi.

Ikan yang digunakan untuk sampel diambil dari ikan yang menunjukkan gejala serangan bakteri seperti kulit yang mengalami luka borok, kemerahan pada mulut, mata menonjol dan perut mengalami pembengkakan.

Isolasi dan karakterisasi bakteri dilakukan dengan cara ginjal ikan yang terdapat bakteri diambil secara aseptis menggunakan bantuan peralatan jarum ose. Selanjutnya dilakukan inokulasi menggunakan media GSP dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C. Setelah bakteri tumbuh, kemudian dimurnikan kembali pada media GSP dan dicek morfologi koloni bakteri. Pengamatan mencakup bentuk, warna serta elevasi.

Karakterisasi sel dan sifat biokimia dicek menggunakan Uji Gram, Uji oksidase, Uji katalase, Uji oksidatif-fermentatif. Selanjutnya differensiasi dan Uji gula. Sedangkan uji sifat fisiologis dan uji sifat biokimia dilakukan sesuai *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria* (Macfaddin, 1980)

Pencocokkan karakter *Aeromonas* sp. sesuai dengan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, 1994) digunakan untuk identifikasi bakteri.

Patogenisitas bakteri dilakukan dengan cara mengkultur bakteri di suhu 30 °C pada medium TSB selama 24 jam. Selanjutnya diukur kepadatan bakteri menggunakan alat spektrofotometer.

Selanjutnya dilakukan pengenceran bakteri dalam berbagai tingkatan kosentrasi yaitu 2 x 10⁴ cfu/ml, 2 x 10⁶ cfu/ml dan 2 x 10⁸ cfu/ml. Pada setiap perlakuan menggunakan ikan uji sebanyak 10 ekor. Selanjutnya dilakukan penyuntikan bakteri secara intramuscular 0,1 ml pada ikan yang berukuran 7-9 cm. Selanjutnya ikan uji dipelihara selama 14 hari di dalam ember. Selanjutnya ikan yang terinfeksi diamati perkembangan gejala eksternal ikan secara periodik. Perhitungan LD₅₀ berdasarkan Dragstedt-Behrens (Hubert, 1980).

HASIL PENELITIAN

Isolasi Bakteri

Semua sampel berukuran 20-25 cm yang berasal dari tiga kecamatan yang berbeda diduga terserang *Aeromonas* sp karena menunjukkan gejala infeksi bakteri *Aeromonas* sp. Isolasi bakteri diambil dari bagian ginjal ikan, kemudian dimurnikan.

Hasil pemurnian sebanyak 15 isolat terdiri dari kecamatan Karang Jati berjumlah 5 isolat dengan kode isolat GKJ1, GKJ2, GKJ3, GKJ4 dan GKJ5, Kecamatan Geneng berjumlah 6 isolat dengan kode isolate GGN1, GGN2, GGN3, GGN4, GGN5 dan GGN6, serta Kecamatan Paron berjumlah 4 isolat dengan kode isolat GPR1, GPR2, GPR3 dan GPR4. Selanjutnya dilakukan uji postulat koch, patogenisitas, uji karakterisasi dan identifikasi.

Postulat Koch

Uji ini untuk memperlihatkan bahwa

terdapat isolat bakteri penyebab penyakit pada ikan. Mortalitas ikan dan pengamatan eksternal dan internal didata. Selanjutnya bakteri yang terdapat pada ginjal ikan direisolasi selama 14 hari.

Hasil pengujian 15 isolat bakteri menyebabkan kematian ikan dengan tingkat mortalitas yang beragam antara 40 - 80%. Isolate GPR1 sebesar 40%, isolate GKJ5, GGN1, GGN3, GGN4 dan GPR3 sebesar 50%, isolat GKJ2, GKJ3 dan GGN6 sebesar 60%, isolat GGN5, GPR2 dan GPR4 sebesar 70%. Sedangkan isolat GKJ1, GKJ4 dan GGN2 menunjukkan mortalitas tertinggi sebesar 80%. Pada uji postulat Koch menunjukkan gejala eksternal penyakit secara umum hampir sama yaitu munculnya luka borok, sirip geripis, muncul luka kemerahan pada bagian mulut serta lele sering naik ke permukaan air. Sedangkan gejala internal yaitu ginjal mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap. Hasil menunjukkan secara umum terdapat kesamaan antara uji postulat Koch dan karakterisasi pada tahapan awal. Hal tersebut menunjukkan bahwa dugaan benar dikarenakan terdapat isolat penyebab penyakit bakteri. Gejala penyakit secara eksternal tersebut hampir sama dan sesuai dengan pustaka mengenai ikan yang terserang *Aeromonas* yang menunjukkan gejala seperti permukaan tubuh terdapat bercak merah, bagian mata mengalami kerusakan dan menonjol (Triyanto, 1991), bertambah cairan di bagian perut, perut membesar, dan kulit mengalami luka (Capriano, 2001).

Differensiasi Genus *Aeromonas*

Tahap awal dilakukan differensiasi genus bertujuan untuk menggolongkan genus *Aeromonas* pada semua sampel yang didapat. Isolat tersebut memiliki ciri-ciri memiliki bentuk koloni pipih, elevasi koloni berbentuk convex dan koloni bakteri berwarna krem. Perubahan warna koloni pada media GSP menunjukkan karbohidrat. Sifat fermentatif dan hasil uji O/F

menunjukkan adanya perbedaan antara genus *Aeromonas* dan genus *Pseudomonas* di media GSP. Selanjutnya dilakukan uji pengecatan Gram bakteri berwarna merah serta bentuk seperti batang hal tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut termasuk bakteri Gram Negatif. Sedangkan pada hasil uji KOH 3% bakteri termasuk ke dalam golongan bakteri Gram Negatif karena terbentuknya gel. Sedangkan uji katalase dan oksidase bakteri mampu menghasilkan enzim karalase dan oksidase diperoleh tanda positif yang karena bakteri mampu menghasilkan enzim katalase dan oksidase, sesuai dengan pernyataan Holt (1994), yang menjelaskan bahwa genus *Aeromonas* memiliki ciri-ciri gram negatif, bersifat fermentatif, oksidase positif dan katalase positif.

Differensiasi Spesies Genus *Aeromonas*

Hasil

Berdasarkan hasil tersebut dapat diidentifikasi isolate sebanyak 12 termasuk ke dalam kelompok spesies *Aaeromonas hydrophila*, *persentase sebesar 80%*. Persentase kisaran kesesuaian isolat terhadap bakteri *A. hydrophila* sebesar 86,67% - 96,67% dan 3 isolat sebesar 20% termasuk ke dalam golongan spesies *Aaeromonas salmonicida* dengan kisaran kesesuaian 83,33% -86,67%.

Persamaan sifat isolat *A. hydrophila* antara lain terdapat motil, maltose positif, lysine

dekarboksilase positif, methyl red positif, trehalosa positif, sucrose positif, glycerol, ornithin, positif, dekarboksilase negatif, simmon sitrat positif, D-mannosa positif mampu menghasilkan gelatin. Perbedaan tersebut disebabkan pada uji, produksi H₂S, arginin dihydrolase, produksi indol, voges proskaeur, dan pada semua uji gula yang telah dilakukan.

Patogenisitas *Aeromonas* spp.

Uji ini menggunakan isolat GKJ1, GKJ4, GGN2, GGN5, GPR2 dan GPR4. Selanjutnya dilakukan seleksi dari jenis bakteri untuk mendapatkan bakteri *A. hydrophila*. Hasil uji ini menunjukkan nilai isolate LD₅₀ *A. hydrophila* sebesar 1,55.105 cfu/ikan pada GKJ1 dan *A. hydrophila* sebesar 3,89.105 cfu/ikan pada GKJ4. Nilai LD₅₀ isolat *A. hydrophila* sebesar 7,24.105 cfu/ikan pada GGN2 dan isolat *A. hydrophila* sebesar 2,39.104 cfu/ikan pada GGN5. Nilai LD₅₀ isolat *A. hydrophila* sebesar 6,61.104 cfu/ikan pada GPR2 dan *A. hydrophila* sebesar 1,95.105 cfu/ikan pada GPR4. Semua isolat yang telah diuji bersifat virulen sesuai dengan panduan.

Tabel 1 Tingkat keganasan Lele dumbo yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Isolat	LD ₅₀ (cfu/ml)	Tingkat keganasan
GKJ1	1,55.106	Virulen*
GKJ4	3,89.106	Virulen*
GGN2	7,24.106	Virulen*
GGN5	2,39.106	Virulen*
GPR2	6,61.105	Virulen*
GPR4	1,95.105	Virulen*

Keterangan : * = 104 – 106 cfu/ml (Nitimulyo et al., 1993).

KESIMPULAN

Aeromonas sp. berjumlah 15 isolat yang berasal dari Kabupaten Ngawi menjadi penyebab penyakit pada ikan berhasil diisolasi dari bagian ginjal lele dumbo yang terdiri dari bakteri *A. hydrophila* sebanyak dua belas isolat dan bakteri *A. salmonicida* sebanyak tiga isolat. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri *A. hydrophila* memiliki keragaman patogenitas serta memiliki sifat virulen.

DAFTAR PUSTAKA

- Austin, B. & D.A. Austin. 1987. *Bacteria Fish Pathology; Diseases in Farmed and Wild Fish*. Ellis Horwood Limited, England
- Angka SL. 2001. *Studi Karakterisasi dan Patologi Aeromonas hydrophila pada ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus)*. Makalah Falsafah Sains, Institut Pertanian Bogor.
- Esti Maret Rofiani, dkk. 2017. Identifikasi Keberadaan Bakteri *Aeromonas hydrophila* Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Kolam Balai Benih Ikan Karanganyar Kabupaten Pekalongan. *Pena Akuatika* Vol. 5 No. 1
- Hadi, Sutrisno. 1986. *Metodologi Research Jilid III*. Yogyakarta: Fakultas Psikologi, UGM.
- Hubert, J.J. 1980. *Biossay*. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, USA
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley & S.T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. William & Wilkins. Departement of Microbiology, Gltner Hall, Michigan State University, East lansing, MI, U. 2018. SA, 48824-1101.
- Ishaaq Saputra. 2018. Identifikasi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Komoditas Ikan yang Dilalulintaskan Menuju Pulau Sumatera Melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak – Banten. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, Vol 8, No 2.
- Irianto, A., 2004. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada Univesity Press, Yogyakarta.
- Kusuma, dkk. 2016. *Mengenal Bakteri Patogen Pada Ikan*. <https://ndkbluefin89.wordpress.com> Diakses 23 April 2023.
- Macfaddin, J.F. 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. 2nd ed. Williams & Wilkins, Waverly Press, Inc. Mt. Royal, and Guilferd Aves, Baltimore Md. 21202, USA
- Nitimulyo, K.H. 1996. Vibriosis pada ikan dan alternatif penanggulangannya. *Jurnal Perikanan I (I) : 78-86*.
- Olga, dkk. Isolasi, Karakterisasi Dan Identifikasi Bakteri *Aeromonas* Spp Pada Ikan Patin Siam (*Pangasius hypophthalmus*) Berpenyakit di Kabupaten Banjar. *Prosiding Seminar Nasional Perikanan dan Kelautan*.
- Sri Rejeki, dkk. 2018. Isolasi dan Identifikasi *Aeromonas* spp. dari Lele Dumbo (*Clarias* sp.) Sakit di Kabupaten Ngawi. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, Vol 18, No 2.
- Stevenson, R.M.W. 1988. *Vaccination againt Aeromonas hydrophila*. In: fish vaccination. A.E. Ellis. (Ed). Academic Press, London : 112-123.
- Triyanto. 1990. *Patogenesitas beberapa isolate Aeromonas hydrophila terhadap ikan lele (Clarias Batracus L)*. *Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang* 16-18 Januari. Badan Peneliti dan Pengembangan Pertanian : 116-121

Yogananth, N., R. Bhakayaraj, A. Chanthuru, T. Anbalagan, & M. Nila. 2009. Detection of Virulence gene in *Aeromonas hydrophila* isolates from fish samples using PCR technique. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*, Vol 4, No 1: 51-5