

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

TEKNIK PENENTUAN ISOLAT KANDIDAT VAKSIN BAKTERI *Edwardsiella ichtaluri* PADA IKAN PATIN (*Pangasius* sp.) MELALUI UJI PATOGENITAS

Setiadi dan Edi Farid Wadjdy

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan

Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154

E-mail: pelnisbpbpat@yahoo.com

ABSTRAK

Enteric Septicemia of Catfish (ESC) yang disebabkan oleh bakteri patogen *Edwardsiella ichtaluri* merupakan salah satu kendala serius dalam budidaya ikan patin (*Pangasius* sp.) baik pada skala pembenihan maupun pembesaran. Upaya pengendalian penyakit ESC yang telah dilakukan selama ini melalui penggunaan antibiotik memberikan hasil yang belum optimal. Keterbatasan jenis antibiotik yang boleh diaplikasikan untuk pengobatan dalam budidaya menjadi hambatan dalam keberhasilan pengendalian penyakit ini. Oleh karena itu, perlu dicari solusi yang efektif dan aplikatif untuk mengendalikan penyakit ESC, salah satunya melalui vaksinasi. Kegiatan penelitian vaksin diawali dengan tahap penentuan isolat kandidat vaksin melalui uji patogenitas. Tujuan kegiatan ini adalah untuk menentukan isolat bakteri *E. ichtaluri* yang potensial sebagai isolat kandidat vaksin. Tahapan kegiatan terdiri atas penyiapan media, penyiapan isolat bakteri *E. ichtaluri* dan uji patogenitas. Dari kegiatan yang dilakukan diperoleh hasil bahwa isolat asal Jatiluhur memiliki tingkat patogenitas lebih tinggi dibandingkan dengan isolat asal Sukabumi.

KATA KUNCI: *Edwardsiella ichtaluri*; ikan patin; patogenitas

PENDAHULUAN

Budidaya perikanan mempunyai peranan yang penting dan strategis dalam pembangunan perekonomian nasional dalam meningkatkan perluasan kesempatan kerja dan peningkatan taraf hidup pada umumnya. Pemerintah dalam hal ini Kementerian Kelautan dan Perikanan, serta pihak-pihak yang berkompeten yaitu para petani ikan, pembudidaya, dan pelaku-pelaku usaha bersinergi untuk mencapai tujuan tersebut (Supriadi *et al.*, 2014). Dalam dunia perikanan budidaya, khususnya budidaya perikanan air tawar ikan patin merupakan jenis ikan kelompok *catfish* yang mulai populer dibudidayakan di Indonesia. Ikan patin memiliki berbagai kelebihan yaitu pertumbuhannya cepat, memiliki kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan yang tinggi, rasanya enak, dan kandungan gizinya cukup tinggi (Dewita *et al.*, 2011).

Pertumbuhan ikan patin jambal di alam mencapai panjang 90 cm dengan bobot 20 kg (Handayani *et al.*, 2014). Ikan patin merupakan jenis ikan konsumsi air tawar, berbadan panjang, dan berwarna putih perak dengan punggung berwarna kebiru-biruan. Ikan patin dikenal sebagai komoditas yang prospektif karena memiliki nilai jual yang tinggi. Hal inilah yang

menyebabkan ikan patin mendapat perhatian dan diminati oleh para pengusaha untuk membudidayakannya. Ikan patin merupakan salah satu komoditas ekspor perikanan yang bernilai ekonomis tinggi, baik dalam segmen usaha pembenihan maupun usaha pembesaran di pasaran dalam negeri maupun luar negeri.

Kendala yang menyebabkan pengembangan budidayanya masih terbatas baik benih maupun ukuran konsumsi adalah karena adanya serangan penyakit yang disebabkan oleh bakteri, salah satunya adalah bakteri *Edwardsiella ichtaluri*. Oleh karena itu, perlu dicari solusi yang efektif dan aplikatif untuk mengendalikan penyakit ESC, salah satunya melalui vaksinasi. Tujuan kegiatan ini adalah untuk menentukan isolat bakteri *E. ichtaluri* yang potensial sebagai isolat kandidat vaksin.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Kegiatan ini dilakukan pada bulan Mei-Juni 2015 di Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan (IP4I) Depok, yang merupakan unit Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Tawar, Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah ikan patin, bakteri *Edwardsiella ichtaluri*, media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA), media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB), dan alkohol 70%. Sedangkan alat yang digunakan dalam kegiatan ini adalah *laminar flow*, ose, bunsen, bak plastik volume 60 L, *blower*, serokan, dan *sprit* 1 mL.

Metode

Penyiapan Media

Media yang digunakan untuk kultur bakteri *Edwardsiella ichtaluri* adalah campuran bahan-bahan dalam bentuk cairan atau padatan yang mengandung nutrisi seperti protein, karbohidrat, lemak, mineral, dan sumber nutrisi lain yang dibutuhkan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Adapun langkah-langkah penyiapan media yang digunakan dalam kegiatan ini sebagai berikut: a) pembuatan media BHIB, yaitu menimbang BHIB sebanyak 37 g (Gambar 1) kemudian dilarutkan dalam akuades hingga volumenya menjadi 1.000 mL dengan menggunakan wadah gelas erlenmeyer. Setelah itu, dipanaskan di atas *hotplate* sambil di-*stirrer* sampai mendidih. Selanjutnya media tersebut dituangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 mL dan ujung tabung ditutup dengan menggunakan kapas; b) pembuatan media BHIA, sebanyak 47 g BHIA ditimbang dan dilarutkan dalam 1.000 mL akuades di wadah gelas erlenmeyer lalu dipanaskan di atas *hotplate* sambil di-*stirrer* sampai mendidih. Setelah proses pemanasan selesai selanjutnya media tersebut disterilisasi dengan cara di-*autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Gambar 2), kemudian dibiarkan sampai suhu turun $\pm 50^\circ\text{C}$ dan dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing sebanyak 15 mL secara aseptik (Gambar 3) kemudian dibiarkan sampai dingin dan padat dalam kondisi cawan petri diposisikan terbalik untuk mencegah terjadinya tetesan air pada permukaan media, selanjutnya disimpan media dalam *refrigerator* -4°C (Gambar 4) dan siap digunakan.



Gambar 1. Proses penimbangan.



Gambar 2. Proses sterilisasi.



Gambar 3. Proses penuangan media.

Penyiapan Isolat Bakteri

Bakteri yang digunakan adalah isolat bakteri *Edwardsiella ichtaluri* kode A-1 asal Jatiluhur, isolat kode B-1, C-1, dan D-1 asal Sukabumi. Isolat bakteri tersebut merupakan koleksi Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan, Depok. Isolat bakteri hasil uji postulat Koch yang dikultur pada sediaan BHIA agar miring yang disimpan dalam inkubator, dikultur kembali dengan cara diambil masing-masing sebanyak satu ose lalu ditanam ke media BHIB masing-masing 10 mL diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 28,5°C; dilakukan penanaman sebanyak dua kali yaitu bakteri yang telah tumbuh dikultur kembali dengan cara diambil masing-masing sebanyak 1 mL lalu ditanam ke media BHIB 9 mL diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada



Gambar 4. Alat penyimpanan media.

suhu 28,5°C selanjutnya isolat siap digunakan untuk uji patogenitas.

Uji Patogenitas

Ikan patin yang digunakan berukuran 11-12 cm. Ikan patin uji diinjeksi secara intramuskular (IM) sebanyak 0,1 mL/ekor (Gambar 5). Setiap isolat bakteri *Edwardsiella ichtaluri* yang diinjeksikan menggunakan perlakuan dosis tanpa pengenceran, pengenceran ke-1, dan pengenceran ke-2. Setelah itu, ikan patin uji diletakkan pada bak pemeliharaan dan dilakukan pengamatan selama 14 hari terhadap kematian yang terjadi (Gambar 6).

Pada hari ke-15 ikan uji yang masih hidup dari masing-masing isolat dilakukan re-isolasi; re-isolasi dilakukan untuk membuktikan bahwa ikan uji tersebut benar-benar terinfeksi bakteri *Edwardsiella ichtaluri*. Sebelum melakukan isolasi bakteri, ikan terlebih dahulu dibersihkan dengan menggunakan kertas tisu yang telah dibasahi alkohol teknis 70%, kemudian dimatikan dengan cara ditusuk pada bagian otak dan dinekropsi untuk diisolasi bakterinya pada bagian organ targetnya yaitu hati dan ginjal (Gambar 7).

Setelah diperoleh bakteri hasil re-isolasi, selanjutnya dilakukan pemurnian dan karakterisasi bakteri yang mengacu pada SNI 7545.1:2009 dengan tahapan pengujian meliputi: pewarnaan gram, motilitas 28°C, motilitas 37°C, tetes bergantung,

oksidase, oksidatif/fermentatif, indol, H₂S, dan malonat (Gambar 8).

HASIL DAN BAHASAN

Kematian ikan patin pada uji patogenitas terjadi pada hari ke-1 sampai hari ke-10. Persentase kematian tertinggi terjadi pada ikan patin yang diinjeksi dengan isolat asal Jatiluhur dengan dosis tanpa pengenceran yaitu sebesar 47,22%. Sedangkan untuk isolat asal Sukabumi persentase kematiannya adalah 16,67%-38,89% pada dosis tanpa pengenceran, hal tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

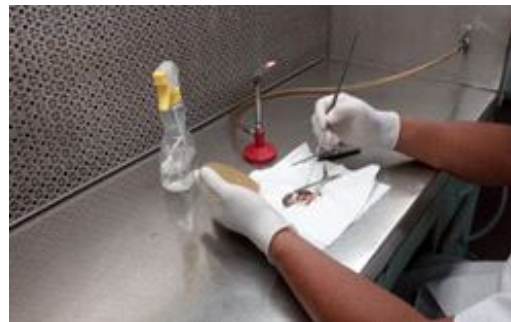
Hasil re-isolasi ikan hasil uji patogenitas pada hari ke-15 menunjukkan bahwa ikan uji positif terinfeksi *Edwardsiella ichtaluri*, dan dapat dilihat pada Tabel 2. Re-isolasi dari tiap perlakuan yang diinfeksi oleh bakteri *Edwardsiella ichtaluri* membuktikan bahwa ikan uji mengalami sakit dan mati karena *Edwardsiella ichtaluri* yang diinfeksi melalui injeksi secara intramuskular.

KESIMPULAN

Hasil uji patogenitas bakteri *Edwardsiella ichtaluri* isolat asal Jatiluhur memiliki tingkat patogenitas lebih tinggi yaitu 47,22%; dibandingkan dengan isolat bakteri *Edwardsiella ichtaluri* asal Sukabumi dengan kematian 16,67%-38,89%; sehingga dapat digunakan sebagai isolat kandidat vaksin.



Gambar 5. Proses penyuntikan.



Gambar 7. Proses isolasi.



Gambar 6. Bak pemeliharaan.



Gambar 8. Pengujian bakteri *Edwardsiella*.

Tabel 1. Data kematian ikan patin uji selama uji patogenitas

Kode	Hari														Persentase kematian
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
A1.1	1	0	2	1	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0	83,33
A1.2	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	41,67
A1.3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,67
A2.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A2.3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
A3.1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
A3.2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
A3.3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,67
B1.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B1.2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	16,67
B1.3	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	16,67
B2.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
B2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B3.2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
B3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C1.1	2	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	41,67
C1.2	1	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	41,67
C1.3	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33,33
C2.1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
C2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C2.3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
C3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C3.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
C3.3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
D1.1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16,67
D1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D1.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D2.1	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
D2.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D2.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D3.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	8,33
D3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
K2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,33
K3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Hasil uji karakterisasi bakteri *Edwardsiella ichtaluri* dari re-isolasi ikan uji

Karakteristik	Perlakuan				Kontrol
	A	B	C	D	
TSA	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	Tumbuh	-
Pewarnaan gram	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	-
Katalase	+	+	+	+	-
Oksidase	-	-	-	-	-
Motility	+	+	+	+	-
TSIA	Tumbuh <i>slowly</i>	Tumbuh <i>slowly</i>	Tumbuh <i>slowly</i>	Tumbuh <i>slowly</i>	-
O/F	+/+	+/+	+/+	+/+	-
Warna koloni	Transparan	Transparan	Transparan	Transparan	-
Motil 28°C	Bergerak lemah	Bergerak lemah	Bergerak lemah	Bergerak lemah	-
Motil 37°C	-	-	-	-	-
Indole	-	-	-	-	-
H2S	-	-	-	-	-
Malonate	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-
Sukroe	-	-	-	-	-
Threhalose	-	-	-	-	-

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Desy Sugiani, M.Si., selaku penanggung jawab Instalasi Penelitian dan Pengembangan Pengendalian Penyakit Ikan, Depok. Terima kasih juga disampaikan kepada drh. Uni Purwaningsih, M.Si. sebagai peneliti kegiatan pengembangan vaksin koktail *E. ichtaluri* dan *A. hydrophila*, serta teman-teman teknisi yang telah memberikan dukungan dalam penulisan ini.

DAFTAR ACUAN

Dewita, Syahrul, & Isnaini. (2011). Pemanfaatan konsentrat protein ikan patin (*Pangasius*

hypophthalmus) untuk pembuatan biskuit dan snack. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, XIV(1), 30-34.

Handayani, I., Nofyan, E., & Wijayanti, M. (2014). Optimasi tingkat pemberian pakan buatan terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan patin jambal (*Pangasius djambal*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(2), 175-187.

Supriadi, I., Santoso, J., & Adji, S. (2014). Viabilitas dan patogenitas *Edwardsiella tarda* pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang dibekukan pada suhu -200°C. *Jurnal Manajemen Perikanan dan Kelautan*.