

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

ISOLASI, IDENTIFIKASI MORFOLOGI, DAN PATOGENISITAS BAKTERI DARI FESES IKAN KERAPU HIBRIDA CANTANG

Sri Suratmi¹⁾, Adinda Eka Fadillah²⁾, dan Slamet Haryanto³⁾

¹⁾ Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan
Banjar Dinas Gondol, Ds. Penyabangan, Kec. Gerokgak, Kab. Buleleng - Bali
E-mail: denmasharyoslamet@gmail.com

²⁾ Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudarto No.13, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

ABSTRAK

Bakteri dalam usus ikan kerapu dapat bersifat sebagai flora normal maupun bersifat patogen penyebab penyakit infeksi. Tujuan dari kegiatan ini untuk mengetahui jenis bakteri yang berasal dari feses ikan kerapu hibrida cantang berdasarkan identifikasi morfologi dan patogenitasnya. Bakteri diperoleh dari hasil pembedahan usus ikan kerapu hibrida cantang yang berasal dari hatcheri swasta di sentra pembenihan ikan kerapu di Kecamatan Gerokgak, Buleleng-Bali. Bakteri tersebut ditanam dalam media TSA, TCBSA, dan Mac Conkey. Koloni yang memiliki bentuk, tepi, elevasi, dan tekstur berbeda di-*screening* beberapa kali untuk mendapatkan isolat bakteri yang benar-benar berbeda. Isolat-isolat bakteri tersebut selanjutnya dilakukan uji biokimia seperti uji katalase dan oksidase serta pewarnaan Gram. Hasil percobaan menunjukkan bahwa isolat bakteri dari feses ikan kerapu hibrida cantang merupakan bakteri Gram negatif. Dari keenam isolat bakteri yang diperoleh, hanya satu isolat yang bersifat patogen terhadap ikan kerapu hibrida cantang dengan mortalitas 66,7% yang diduga termasuk dalam *Vibrio* spp.

KATA KUNCI: bakteri; feses; ikan kerapu hibrida cantang

PENDAHULUAN

Infeksi mikroorganisme seperti: parasit, jamur, bakteri, maupun virus dapat menimbulkan kematian ikan budidaya pada skala pembenihan maupun pembesaran. Infeksi mikroorganisme yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kematian hingga 50%-100% (Setiadi & Wadjdy, 2019). Bakteri yang dapat menyebabkan luka borok maupun kematian pada ikan kerapu yaitu *Vibrio* spp. (Zafran *et al.*, 1998). Selain itu, ada beberapa jenis bakteri yang dilaporkan dapat menimbulkan masalah kesehatan ikan seperti *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* dan *Shigella*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* sp., *Pasteurella* sp., dan *Staphylococcus* sp. (Hatmanti *et al.*, 2009).

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang yang bersifat anaerob fakultatif. Kelompok besar bakteri ini terdiri atas bakteri non-patogen (yang ditemukan di tubuh dan lingkungan) dan bakteri patogen. Bakteri yang bersifat patogen adalah *Salmonella* dan *Shigella*, sedangkan non-patogen seperti *Klebsiella* dan *Proteus*. Walaupun bakteri non-patogen tidak menimbulkan penyakit, tetapi dapat bersifat patogen apabila terjadi luka dalam jaringan tubuh manusia atau hewan sebagai hospesnya,

sehingga bakteri dapat menyebar ke seluruh tubuh melalui pembuluh darah (Kunarmo, 1987).

Keberadaan bakteri coliform (family *Enterobacteriaceae*) dapat dijadikan salah satu indikator pencemaran mikrobial pada lingkungan perairan pantai. Bakteri coliform yang ada dalam air dibedakan ke dalam dua kelompok yaitu kelompok fecal (*E. coli*) dan non fecal (*Enterobacter aerogenus*). Bakteri coliform merupakan indikator kontaminasi lingkungan atau sanitasi yang kurang baik sedangkan *E. coli* sebagai indikator kontaminasi tinja dari manusia dan hewan berdarah panas (Tururaja & Moge, 2010).

Teknik isolasi, karakterisasi, dan identifikasi merupakan salah satu cara untuk menentukan jenis bakteri yang menginfeksi ikan. Tujuan dari kegiatan ini untuk mengetahui jenis bakteri dari feses ikan kerapu hibrida cantang berdasarkan identifikasi morfologi dan patogenitasnya.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam kegiatan ini meliputi: alat tulis, nampan, cawan petri, *microtube*

1,5 mL, jarum ose, cool box, objek glass, Erlenmeyer, gelas ukur, timbangan analitik, magnetis stirer, mikroskop, kertas label, kapas, tisu, aluminum foil, sectio set, spuit suntik, spatula, bunsen, oven, autoclave, laminar air flow, inkubator, dan refrigerator.

Bahan yang digunakan meliputi: ikan kerapu hibrida cantang, TSA (*Tryptic Soy Agar*), TSB (*Trypticase Soy Broth*), TCBSA (*Thiosulfate Citrate Bile Salt*), dan Mac Conkey. Bahan lainnya yang digunakan dalam isolasi bakteri yaitu air laut yang telah disterilisasi. Bahan yang digunakan dalam uji oksidase yaitu kertas oksidase. Uji katalase pada bakteri dilakukan menggunakan bahan H₂O₂ (*Hydrogen peroxide*). Bahan pewarnaan Gram pada bakteri yaitu kristal violet, lugol, alkohol, safranin, dan akuades.

Metode

Pengambilan sampel ikan

Sampel ikan kerapu hibrida cantang merupakan hasil sampling dari kegiatan penelitian Mahardika *et al.* (2019) yaitu diperoleh dari hatcheri swasta di Desa Gerokgak dan Penyabangan Kecamatan Gerokgak, Buleleng-Bali. Kondisi ikan dalam keadaan sehat dan sakit. Kondisi sehat ditandai dengan pergerakan lincah dan nafsu makan tinggi, dan kondisi sakit dengan gejala diam di dasar bak dan berwarna lebih gelap (hitam). Sampel ikan dibedah bagian perut hingga ke dada. Usus ikan dibedah dengan gunting steril dan feses diambil dan ditimbang sebanyak 0,1 mL secara aseptis, serta dimasukkan ke dalam *microtube* (1,5 mL). Selanjutnya feses tersebut ditambahkan air laut steril sebanyak 0,9 mL dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex.

Isolasi dan screening bakteri

Larutan feses yang telah homogen diencerkan hingga 10⁻²-10⁻⁴ kali dan ditanam dalam media TSA, TCBSA, dan Mac Conkey. Sampel disebar pada media menggunakan *spreader* hingga merata ke seluruh permukaan media. Agar kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 30°C. Koloni yang tumbuh dilakukan *screening* dengan re-isolasi masing-masing koloni dengan bentuk dan elevasi berbeda pada media agar yang sama. *Screening* dilakukan beberapa kali (3-5 kali) dalam media yang sama agar diperoleh koloni dengan bentuk dan elevasi yang sama. Koloni yang tumbuh selanjutnya ditanam kembali pada media TSB untuk uji patogenisitas.

Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan dengan pewarnaan Gram, uji oksidase, dan uji katalase. Pewarnaan Gram pada

bakteri dilakukan dengan mewarnai bakteri menggunakan kristal violet. Apabila isolat bakteri menunjukkan warna ungu maka bersifat Gram positif. Apabila isolat bakteri setelah diwarnai menunjukkan warna merah maka bersifat Gram negatif.

Pengujian oksidase dilakukan dengan menggoreskan isolat bakteri pada kertas oksidase. Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru maka isolat bakteri tersebut menunjukkan hasil positif. Sebaliknya apabila tidak terjadi perubahan warna pada paper oksidase maka pengujian bersifat negatif.

Pengujian katalase dilakukan dengan menambahkan H₂O₂ pada isolat bakteri. Apabila menunjukkan hasil positif maka isolat bakteri menghasilkan gelembung. Jika pengujiannya negatif maka isolat bakteri tidak menghasilkan gelembung.

Uji patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan dengan menyuntikkan masing-masing isolat bakteri secara intramuskular dengan volume 0,1 mL/ekor. Konsentrasi bakteri yang disuntikkan sebesar 1,5-3,7 x 10⁸ cfu/mL. Masing-masing isolat bakteri disuntikkan ke masing-masing tiga ekor ikan kerapu cantang ukuran 5-7 cm dan dipelihara dalam bak plastik ukuran 10 L dengan sistem air diam yang dilengkapi dengan aerasi. Pengamatan dilakukan terhadap gejala klinis dan mortalitas ikan selama satu minggu.

HASIL DAN BAHASAN

Isolasi bakteri dari feses ikan kerapu hibrida cantang dilakukan dengan metode *spread plate*. Prinsip dari metode ini yaitu menumbuhkan bakteri dari suatu larutan ke permukaan media padat menggunakan *spreader*. Koloni diharapkan tumbuh di permukaan agar dengan memperoleh nutrisi dari media tumbuhnya. Kelebihan metode ini yaitu bakteri tidak terpapar pada suhu seperti halnya agar cair. Metode isolasi *spread plate* ini dipilih karena akan memudahkan dalam pengamatan morfologi koloni bakteri. Menurut Alhabsyi *et al.* (2016), pengkulturan bakteri dengan metode sebar (*spread plate*) digunakan untuk penghitungan jumlah koloni bakteri pada suatu media atau organisme.

Isolasi bakteri dari bagian feses ikan didasarkan adanya gejala ikan kerapu hibrida cantang sakit menunjukkan nafsu makan menurun (anoreksia) dan warna feses yang keluar dari dubur terlihat putih bening jika diurut di perutnya. Menurut Diniarti *et al.* (2019), bahwa gejala ikan setelah diinfeksi bakteri yaitu berkurangnya nafsu makan, warna kulit pucat, terjadi pembengkakan, serta gerakan operkulum lambat.

Hasil isolasi dan *screening* bakteri pada media TSA, TCBSA, dan Mac Conkey diperoleh enam isolat yang memiliki bentuk, tepi, elevasi, dan tekstur yang berbeda. Enam isolat bakteri tersebut diberi kode 1, 3, 14, GRK, PYB, dan Kuning (Tabel 1). Hasil kultur keenam isolat bakteri pada pengenceran 10^{-4} kali memperlihatkan jumlah koloni berkisar antara 310-508.

Uji pewarnaan Gram menunjukkan semua isolat bakteri merupakan Gram negatif (Gambar 1). Bakteri berwarna merah karena lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga menyebabkan kristal violet terbuang setelah pemberian alkohol. Tahap selanjutnya pemberian safranin memberikan warna merah pada bakteri Gram negatif. Menurut Yulvizar (2013), bakteri Gram negatif

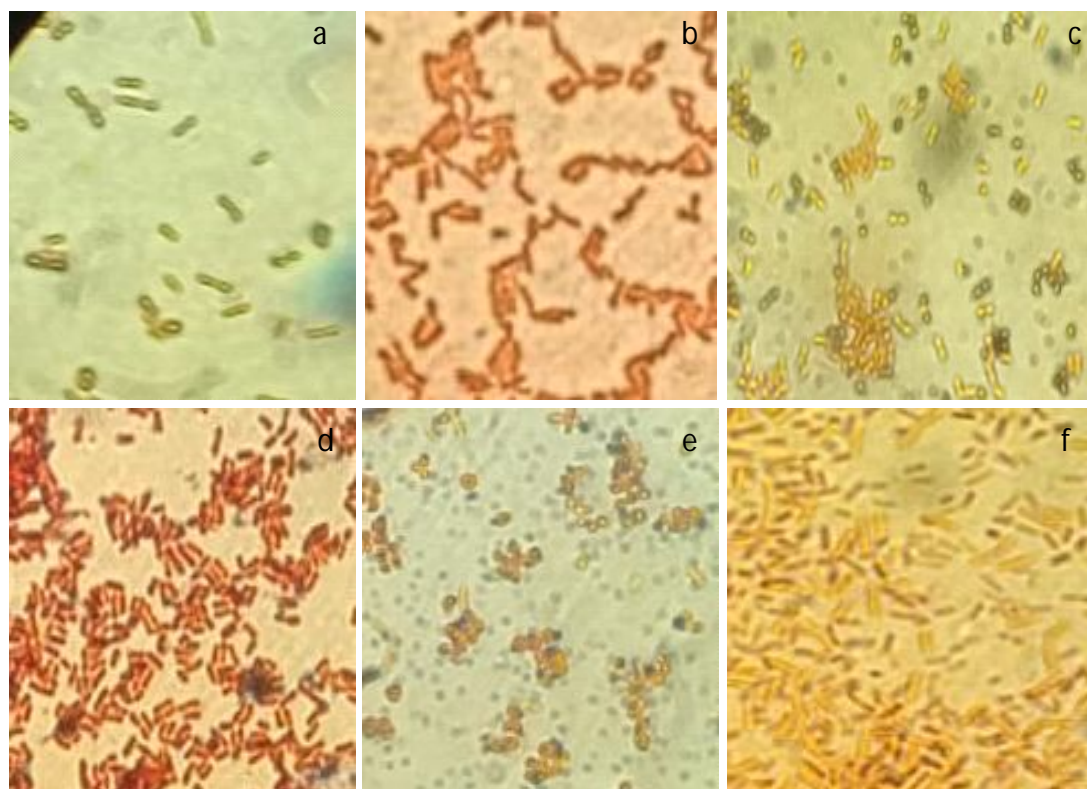
ditandai dengan warna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat warna kristal violet.

Pengujian oksidase pada isolat bakteri menunjukkan bahwa keenam isolat bakteri tidak menghasilkan enzim oksidase yang berarti bahwa pengujian bersifat negatif (Tabel 2). Menurut Rofiani *et al.* (2017), bahwa uji oksidase berperan dalam mendeteksi enzim oksidase pada bakteri.

Tabel 2 juga menunjukkan keenam isolat bakteri tersebut menghasilkan reaksi positif terhadap enzim katalase. Isolat bakteri yang ditambahkan H_2O_2 menunjukkan terbentuknya gelembung. Menurut Bawole *et al.* (2018), bahwa apabila pengujian positif

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopik koloni bakteri dari feses ikan kerapu hibrida cantang

Kode isolat	Makroskopik Koloni				
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Tekstur	Jumlah
1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	317
3	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	355
14	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	508
PYB	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	310
GRK	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Raised</i>	<i>Smooth</i>	424
Kuning	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	<i>Ubonate</i>	<i>Smooth</i>	485



Gambar 1. Enam isolat bakteri yang diamati. a. isolat bakteri 1, b. isolat bakteri 3, c. isolat bakteri 14, d. isolat bakteri PYB, e. isolat bakteri GRK, dan f. isolat bakteri Kuning.

Tabel 2. Hasil pengamatan uji oksidase dan katalase dari bakteri feses ikan kerapu hibrida cantang

Kode isolat	Bentuk	Mikroskopik		
		Gram	Uji	Uji
1	Diplococcus	-	-	+
3	Diplococcus	-	-	+
14	Diplococcus	-	-	+
PYB	Bacilococcus	-	-	+
GRK	Diplococcus	-	-	+
Kuning	Streptococcus	-	-	+

maka bakteri menghasilkan enzim katalase yang mengubah H₂O₂ menjadi air dan oksigen.

Hasil uji patogenisitas terhadap keenam isolat bakteri tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri yang bersifat patogen terhadap ikan kerapu hibrida cantang adalah isolat bakteri kode 3 (Tabel 3). Ikan kerapu hibrida cantang yang telah disuntikkan dengan isolat bakteri tersebut mengalami mortalitas setelah tiga hari penyuntikan. Ikan yang mengalami mortalitas sebanyak dua ekor dari tiga ekor ikan yang disuntikkan bakteri isolat tiga (66,7%). Sementara ikan kerapu hibrida cantang yang telah disuntikkan dengan isolat bakteri lainnya tidak mengalami mortalitas setelah dilakukan pengamatan selama tujuh hari. Hal tersebut menunjukkan kelima bakteri lainnya tidak bersifat patogen terhadap ikan kerapu hibrida cantang. Menurut Diniarti *et al.* (2019), bahwa tidak seluruh bakteri pada tubuh ikan merupakan bakteri patogen yang dapat menyebabkan kematian. Bakteri pada usus ikan kerapu kemungkinan sebagai flora normal dan membantu mencerna makanan (Mahardika *et al.*, 2018; 2019). Bakteri kode 3 yang disuntikkan menyebabkan kulit ikan kehilangan pigmen warna, pucat dan mengelupas, lambung membengkak, luka haemoragik pada anus, serta nekrosis pada sirip. Bakteri yang disuntikkan ke dalam tubuh ikan dianggap sebagai antigen asing oleh ikan tersebut, sehingga akan terjadi perlawanan dari ikan sehingga menimbulkan efek pembengkakan secara lokal pada daerah penyuntikan atau mungkin efek lainnya ke organ dalam ikan atau bahkan kematian ikan jika bakteri tersebut bersifat patogen.

Isolat bakteri 3 mempunyai ciri morfologi koloni berbentuk *circular*, dengan tepian *entire*, elevasi *raised*, dan teksturnya *smooth*. Isolat bakteri 3 memiliki bentuk sel diplococcus. Bakteri isolat 3 merupakan bakteri Gram negatif, menghasilkan enzim katalase namun tidak enzim oksidase. Bakteri isolat 3 diduga merupakan jenis bakteri *Vibrio metchnikovii*. Hasil dugaan ini diperkuat berdasarkan penelitian yang

telah dilakukan oleh Nitimulyo *et al.* (2015), bahwa bakteri *V. metchnikovii* bersifat patogen terhadap ikan kerapu. Bakteri tersebut memiliki karakter yang khas yaitu tidak mampu menghasilkan enzim oksidase. Bakteri ini ditemukan banyak menyerang ikan laut.

Tabel 3. Mortalitas ikan kerapu hibrida cantang setelah diinjeksi dengan enam isolat bakteri dan diamati selama tujuh hari

Kode isolat	Jumlah ikan		
1	0	0	0
3	x	x	0
14	0	0	0
PYB	0	0	0
GRK	0	0	0
Kuning	0	0	0

Keterangan: 0= Hidup
x= Mati

Ikan kerapu cantang memiliki daya tahan tubuh yang lebih kuat dibandingkan induknya, yaitu ikan kerapu macan. Hal ini kemungkinan menyebabkan hanya isolat bakteri 3 yang patogen terhadap ikan kerapu cantang. Daya tahan tubuh yang lebih baik menyebabkan ikan kerapu cantang mampu melawan bakteri patogen pada tubuhnya. Hal ini didukung oleh pernyataan Sutarmat & Yuda (2013), bahwa sintasan ikan kerapu hibrida cantang yaitu 84,9% dan ikan kerapu macan sebesar 81,3% menunjukkan bahwa hasil hibridasi ikan kerapu macan menghasilkan keturunan yang lebih baik.

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa bakteri dari feses ikan kerapu hibrida cantang merupakan bakteri Gram negatif. Dari keenam isolat bakteri yang diperoleh, hanya satu isolat yang bersifat patogen terhadap ikan kerapu hibrida cantang dengan mortalitas 66,7%; dan isolat bakteri tersebut diduga termasuk *Vibrio* spp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan dan arahan dari peneliti Laboratorium Patologi BBRBLPP, Gondol-Bali. Kegiatan ini merupakan bagian dari riset yang dilakukan oleh Dr. drh. Ketut Mahardika, Indah Mastuti, S.Si., M.Si., dan Ir. Zafran, M.Sc.

DAFTAR ACUAN

- Alhabsyi, N., Mantiri, F.R., & Kandou, F.E.F. (2016). Perhitungan angka kuman dan identifikasi bakteri dari alat makan pada restoran, warung makan permanen sederhana dan pedagang makanan kaki lima di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(2), 322-330.
- Bawole, K.V.S., Umboh, D., & Tallei, T.E. (2018). Uji ketahanan bakteri asam laktat hasil fermentasi kubis merah (*Brassica oleracea* L.) pada pH 3. *Jurnal MIPA*, 7(2), 20-23.
- Diniarti, E., Triyanto, & Murwantoko (2019). Isolasi, identifikasi dan uji patogenisitas *Edwardsiella tarda* penyebab penyakit pada ikan air tawar di Yogyakarta. *Jurnal Perikanan*, 21(1), 41-45.
- Hatmanti A, Ruyitno, N., & Julinasari, D. (2009). *Screening* Bakteri Penghambat Untuk Bakteri Penyebab Penyakit Pada Budidaya Ikan Kerapu Dari Perairan Banten dan Lampung. *J. Ilmu Kelautan dan Perikanan*, 13, 81-86.
- Kunarso, D.H. (1987). Beberapa catatan tentang bakteri Salmonella. *Oseana*, XII (4), 79-90.
- Mahardika, K., Zafran, Roza, D., Mastuti, I., Syahidah, D., Nasukha, A., Septory, R., Sudewi, Astuti, N.W.W., Ismi, S., & Setiadi, A. (2018). Pemantauan lingkungan dan kejadian penyakit di kawasan budidaya laut, Bali Utara. *Laporan Teknis Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan, Gondol, Bali*, 39 hlm.
- Mahardika, K., Zafran, Septori, R., Nasukha, A., Mastuti, I., Syahidah, D., Ismi, S., Supii, A.I., Setiadi, A., & Sudewi (2019). Aplikasi vaksin polivalen pada ikan kerapu di keramba jaring apung dan pemantauan vertikal kualitas air lingkungan perairan dan kejadian penyakit di kawasan budidaya laut di Bali Utara. *Laporan Teknis Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan, Gondol, Bali*, 43 hlm.
- Nitimulyo, K.H., Isnansetyo, A., Triyanto, Istiqomah, I., & Murdani, M. (2015). Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen Penyebab Vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan*, 7(2), 80-94.
- Rofiani, E.M, Madusari, B.D., & Soeprapto, H. (2017). Identifikasi keberadaan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di kolam Balai Benih Ikan Karanganyar Kabupaten Pekalongan. *Pena Akuakultur*, 15(1), 61-71.
- Setiadi & Wadjdy, E.F. (2019). Teknik isolasi dan identifikasi bakteri pada ikan gabus (*Channa striata*). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(1), 69-75.
- Sutarmat, T. & Yudha, H.T. (2013). Analisis keragaan pertumbuhan benih kerapu hibrida hasil hibridisasi kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dengan kerapu kertang (*Epinephelus lanceolatus*) dan kerapu batik (*Epinephelus microdon*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(3), 363-372.
- Tururaja, T. & Moge, R. (2010). Bakteri coliform di perairan Teluk Doreri, Manokwari, aspek pencemaran laut dan identifikasi species. *Ilmu Kelautan*, 15(1), 47-52.
- Yulvizar, C. (2013). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik pada *Rastrelliger* sp. *Biospecies: Jurnal Biologi UNJA*, 6(2), 1-7.
- Zafran, Roza, D., Koesharyani, I., Johnny, F., & Yuasa, K. (1998). Manual for fish diseases diagnosis. *Gondol Research Station for Coastal Fisheries, Central Research Institute for Fisheries, Agency for Agricultural Research and Development and Japan International Cooperation Agency*, p. 1-44.