

## TEKNIK ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PADA IKAN GABUS (*Channa striata*)

Setiadi dan Edy Farid Wadjdy

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan  
Jl. Sempur No. 1, Bogor 16154  
E-mail: [pelnisbpbpat@yahoo.com](mailto:pelnisbpbpat@yahoo.com)

### ABSTRAK

Penyakit ikan yang disebabkan oleh parasit, jamur, bakteri maupun virus merupakan salah satu kendala serius dalam budidaya ikan baik pada skala pembenihan maupun pembesaran. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kematian 50%-100%, serta dapat menurunkan mutu daging ikan yang terinfeksi bakteri sampai menimbulkan borok atau luka. Teknik isolasi karakterisasi dan identifikasi merupakan salah satu cara untuk menentukan jenis bakteri yang menginfeksi. Tujuan dari kegiatan ini adalah isolasi bakteri patogen pada ikan gabus (*Channa striata*). Metode yang dilakukan adalah pembuatan media, isolasi bakteri, karakterisasi, dan identifikasi menggunakan API 20E. Hasil bakteri yang diisolasi dari ikan gabus adalah *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila*.

**KATA KUNCI:** gabus (*Channa striata*); isolasi; identifikasi bakteri

### PENDAHULUAN

Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan ikan air tawar yang dapat ditemukan di seluruh perairan Indonesia. Menurut Alfariy (2014), ikan gabus merupakan jenis air tawar yang dapat hidup di sungai, danau, kolam, bendungan, rawa, banjir, sawah, bahkan parit, dan air payau. Ikan gabus juga dikenal mengandung albumin, kepopuleran ikan gabus mulai meluas semenjak ada beberapa rumah sakit yang memanfaatkan ikan gabus sebagai sumber albumin bagi pasien yang kekurangan albumin (hipoalbumin), serta untuk terapi pengobatan, mempercepat penyembuhan luka bakar, luka biasa maupun luka pasca-operasi (Maulana & Fajar, 2015). Menurut Kusmini *et al.* (2003), ikan gabus memiliki kepala berukuran besar dan agak gepeng mirip kepala ular sehingga dinamai *snakehead*.

Sampai saat ini ikan gabus belum banyak dibudidayakan oleh para pembudidaya ikan, hal ini menyebabkan ikan gabus banyak dieksploitasi dari alam, sehingga ketersediaan ikan gabus di alam mulai menurun karena banyaknya penangkapan dari alam untuk kebutuhan konsumsi dan medis. Selain penangkapan oleh masyarakat juga disebabkan oleh penyakit seperti parasit, jamur, bakteri, dan virus. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan kematian 50%-100%; serta dapat menurunkan mutu daging ikan yang terinfeksi bakteri sampai menimbulkan borok atau luka (Supriyadi &

Rukyani, 1990). Tujuan dari kegiatan ini adalah isolasi dan identifikasi bakteri pada ikan gabus.

### BAHAN DAN METODE

#### Waktu dan Tempat

Kegiatan ini dilakukan pada bulan April-Mei 2018 di Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan, Depok; yang berada di bawah Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP), Bogor.

#### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah: ikan gabus (*Channa striata*), media *tryptic soy agar* (TSA), *tryptic soy brot* (TSB), *brain heart infusion agar* (BHIA), *brain heart infusion brot* (BHIB), *tryptic soy yon agar* (TSIA), *shauten agar*, *rhimler shott* (RS), O/F, salin, satu set kit API 20E, dan alkohol 70%. Sedangkan alat yang digunakan dalam kegiatan ini terdiri atas: pinset, ose, bunsen, korek api, *biosafety cabinet*, inkubator, cawan petri steril, botol erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, timbangan, *hot plate*, dan autoklaf.

#### Metode

#### Penyiapan media

Media 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. Dalam kegiatan ini media yang digunakan antara lain: TSA, TSB, BHIA, BHIB, TSIA, *shauten agar*, RS, O/F, dan salin. Pembuatan media dilakukan dengan cara menimbang bahan sesuai dengan takaran yang akan digunakan (Gambar 1). Kemudian masing-masing bahan dilarutkan dengan akuades yang sudah ditakar pada tabung erlenmeyer. Semua bahan yang sudah dilarutkan dipanaskan sambil di-*stirer* di atas *hotplate*. Media TSB, BHIB, dan media Uji O/F, TSIA dituang ke dalam tabung reaksi kemudian pada ujung tabung ditutup dengan kapas.

Tabung reaksi yang berisi media dibungkus dengan kertas diikat dengan karet dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama  $\pm 60$  menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ ; 1 atm. Setelah proses sterilisasi selesai, media dikeluarkan dari autoklaf dan didinginkan. Tabung TSIA dimiringkan dengan tujuan agar media dalam tabung dalam kondisi miring. Sedangkan untuk media TSA dan BHIA dituang dalam cawan petri, setelah dingin, media disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu  $4^{\circ}\text{C}$ .

### Isolasi bakteri

Isolasi dilakukan pada ikan gabus yang diduga terinfeksi bakteri. Isolasi dilakukan pada organ target yaitu luka, ginjal, hati, dan otak (Gambar 2). Sebelum dilakukan pembedahan, ikan dianestesi dalam larutan minyak sirih konsentrasi 1 mL/L air selama  $\pm 20$  menit sampai respons dari ikan melemah, kemudian ikan dibersihkan dengan menggunakan kertas tisu yang telah dibasahi alkohol teknis 70%, ikan dimatikan dengan cara ditusuk pada bagian otak dan dinekropsi, selanjutnya diambil menggunakan ose steril, dikultur pada media TSA,

BHIA, *shauten agar*, dan *rhimler shott* (RS) lalu diberi label, diinkubasi dalam inkubator selama  $\pm 24$  jam pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$ .

Setelah inkubasi selama 24 jam; bakteri yang tumbuh dilakukan pemurnian yaitu dengan cara melihat bentuk, ukuran, dan warna koloni, dari yang tumbuh pada hasil goresan, ditanam kembali pada media TSA yang baru, diinkubasi kembali dalam inkubator selama  $\pm 24$  jam pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya dilakukan karakterisasi.

### Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri meliputi pengujian pewarnaan Gram, motilitas, oksidase, katalase, oksidatif-fermentatif, dan uji RS. Pembuatan preparat pewarnaan Gram dilakukan dengan cara meletakkan masing-masing isolat bakteri pada gelas objek yang sudah ditetesi dengan PBS steril kemudian diulas merata pada permukaannya dan dikeringanginkan (Gambar 3).

Setelah kering dilakukan pewarnaan Gram, dengan meneteskan empat reagen yang berbeda. Pertama ditetaskan larutan kristal violet pada preparat sampai merata, didiamkan selama satu menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Pewarnaan kedua, ditetaskan larutan lugol pada preparat sampai merata, didiamkan selama satu menit, lalu dibilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian yang ketiga, ditetaskan larutan alkohol aseton pada preparat sampai merata dan didiamkan selama 30 detik, lalu dibilas preparat menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian yang keempat, ditetaskan larutan safranin pada preparat sampai merata, didiamkan selama dua menit, lalu dibilas preparat menggunakan air mengalir dan dikeringkan.



Gambar 1. Proses pembuatan dan penyimpanan media.



Gambar 2. Proses isolasi bakteri dan penanaman pada media kultur.



Gambar 3. Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram.

Pengamatan karakteristik dengan menggunakan mikroskop untuk mengetahui jenis Gram dan morfologi bentuk sel dari bakteri (Gambar 4).

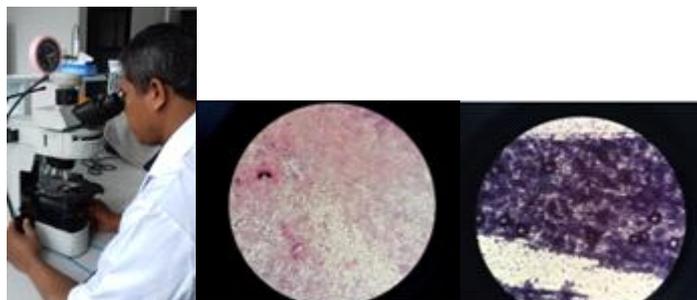
Uji selanjutnya adalah melakukan pengujian katalase, oksidase, dan dilakukan penanaman pada media RS, O/F, SIM, dan TSIA. Uji oksidase dilakukan dengan menggunakan kertas oksidase strips dengan cara masing-masing koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose steril lalu diletakkan di atas kertas oksidase strips dan diamati perubahannya. Jika bakteri di atas kertas oksidase strips berubah warna menjadi biru maka hasilnya positif (+), jika bakteri tidak berubah warna maka hasilnya negatif (-). Uji katalase dilakukan dengan menggunakan larutan  $H_2O_3$  yang ditetaskan di atas gelas objek, kemudian masing-masing koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose dan diletakkan dalam masing-masing tetesan larutan  $H_2O_3$  lalu diamati. Apabila dalam tetesan tersebut terdapat gelembung, maka hasil uji katalase (+), jika dalam tetesan tersebut tidak ada gelembung maka hasilnya (-) (Gambar 5).

Selanjutnya dilakukan penanaman pada media RS, O/F, SIM, dan TSIA (Gambar 6). Penanaman bakteri pada media RS menggunakan jarum ose steril dengan mengambil masing-masing isolat bakteri lalu ditanamkan pada media RS dan diberi label ditutup menggunakan parafilm. Penanaman pada media uji O/F ditanam pada dua media, yaitu media tanpa parafin

dan media yang diberi parafin, tujuannya untuk mencegah oksigen masuk ke dalam tabung. Penanaman pada media SIM dan TSIA agar miring dilakukan dengan menggunakan jarum ose lurus dengan cara mengambil masing-masing isolat kemudian ditusukkan pada media tersebut. Setelah selesai penanaman ujung tabung reaksi ditutup dengan parafilm supaya tidak ada bakteri kontaminan yang masuk, kemudian diberi label. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama  $\pm 24$  jam pada suhu  $28^\circ C$ , setelah 24 jam dilakukan pengamatan.

Pengamatan hasil identifikasi pada uji RS dilakukan dengan membaca hasil isolat bakteri yang tumbuh di media RS jika berwarna kuning maka hasilnya positif merupakan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jika isolat bakteri yang tumbuh selain warna kuning maka bukan merupakan bakteri *Aeromonas hydrophila* atau hasilnya negatif.

Hasil uji O/F yaitu dengan melihat perubahan warna pada media. Apabila media O/F yang tidak diberi parafin berubah warna menjadi kuning dan bagian permukaannya menjadi biru keunguan maka oksidatif positif (+), apabila media tidak berubah warna maka oksidatif negatif (-). Sedangkan apabila pada media O/F yang diberi parafin juga mengalami perubahan warna menjadi kuning maka hasilnya fermentatif positif (+), dan apabila media tidak berubah warna maka hasilnya fermentatif negatif (-).



Gambar 4. Pengamatan mikroskop untuk identifikasi bakteri Gram negatif dan positif.



Gambar 5. Identifikasi bakteri dengan uji oksidase dan katalase.



Gambar 6. Identifikasi bakteri dengan uji RS, O/F, SIM, dan TSIA.

Pada uji SIM hasil menunjukkan positif motil dengan perubahan pertumbuhan yang menyebar sehingga media tampak terlihat lebih keruh. Pada uji gula-gula yang ditanam pada media miring TSIA cara membaca hasilnya dengan melihat perubahan warna yang terjadi pada media TSIA tersebut. Apabila media berubah warna menjadi kuning maka bakteri mengandung alkali, jika berwarna merah maka bakteri mengandung acid atau bersifat asam, jika berwarna hitam maka bakteri mengandung  $H_2S$ , dan jika media terangkat seperti ada udara di bagian dasar tabung maka bakteri mengandung gas.

#### Uji API 20E

Sebelum dilakukan uji API 20E isolat dipasase terlebih dahulu karena untuk uji API 20E isolat harus umur  $\pm 24$  jam. Masing-masing isolat ditanam dalam media cair menggunakan jarum ose, isolat dimasukkan dan dilarutkan ke dalam larutan PBS kemudian di-*vortex* supaya larut merata. Selanjutnya wadah uji API 20E ditetaskan akuades steril guna untuk melembabkan, kemudian dilakukan preparasi dengan meneteskan larutan isolat bakteri yang sudah dilarutkan dengan PBS menggunakan jarum suntik ukuran 5 mL, ditetaskan dari samping preparat dengan hati-hati supaya tidak menimbulkan gelembung, ditetaskan hingga batas atas sumur dalam preparat API 20E (Gambar 7).

Setelah semua preparat terisi larutan bakteri uji, kemudian ditetaskan parafin pada bagian preparat reagen yaitu pada preparat reagen ADH, LDC, ODC,  $H_2S$ , dan URE. Pemberian parafin bertujuan untuk melindungi reagen dari udara agar tidak masuk, karena

pada reagen uji ini sifatnya anaerob atau tidak menggunakan oksigen. Parafin ini ditetaskan sebanyak 2-3 tetes hingga bagian atas tertutup. Setelah itu, preparat ditutup dengan pasangan penutup wadahnya, lalu diberi label dengan kode isolat dan tanggal pembuatan. Kemudian dimasukkan ke dalam inkubator diinkubasi pada suhu  $36^\circ C$  selama  $\pm 24$  jam (Gambar 8).

Setelah diinkubasi selama  $\pm 24$  jam; preparat uji API 20E dikeluarkan dari inkubator untuk pemberian reagen sesuai petunjuk penggunaan. Reagen yang ditambahkan yaitu reagen test TDA, JAMES, VP-I + VP-II, NIT-I + NIT-II (Gambar 9), kemudian ditetaskan masing-masing satu tetes; reagen TDA ditetaskan pada preparat TDA, reagen JAMES pada preparat IND, reagen VP-I + VP-II pada preparat VP, dan reagen NIT-I + NIT-II pada preparat GLU. Tunggu selama  $\pm 10$  menit, kemudian diamati hasilnya lalu dibandingkan dengan foto sebelum diberi reagen, dicocokkan pada tabel hasil uji yang ada pada prosedur. Kemudian dicatat hasilnya pada kertas form khusus uji Api 20E dan dijumlahkan hasil yang positif.

## HASIL DAN BAHASAN

### Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Bakteri hasil isolasi dari ikan gabus setelah dilakukan pemurnian, didapatkan dua isolat yang berbeda, kedua isolat tersebut dilakukan karakterisasi. Karakterisasi meliputi pewarnaan Gram, motilitas, oksidase, katalase, oksidatif-fermentatif, uji RS, dan glukosa (acid). Hasil karakterisasi disajikan pada Tabel 1.



Gambar 7. Prosedur uji API 20E.



Gambar 8. Uji API 20E dan proses inkubasi.



Gambar 9. Reagen untuk Uji Api 20E dan hasil Uji Api 20 E.

Tabel 1. Hasil identifikasi bakteri dari ikan gabus

<b>Morfologi koloni</b>	<b>Isolat 1</b>	<b>Isolat 2</b>
Bentuk koloni	Bulat	Bulat
Warna	Kuning	Krem
Elepasi	Cembung	Cekung
Tepian	Licin	Licin
<b>Morfologi sel</b>		
Warna sel	Pink	Pink
Bentuk sel	Batang	Batang
Gram	Negatif (-)	Negatif (-)
<b>Biokimia</b>		
Oksidase	Positif (+)	Positif (+)
Katalase	Positif (+)	Positif (+)
O/F	Oksidatif (-/-)	Permentatif (+/+)
Motil	Non motil	Motil
RS	Kuning	Kuning
Alkali	Positif (+)	Positif (+)
H <sub>2</sub> S	Positif (+)	Positif (+)
Asam	Negatif (-)	Positif (+)
Gas	Positif (+)	Positif (+)

Pada Tabel 1, isolat satu, bentuk koloni bulat, warna koloni kuning, elepasi cembung, tepian licin, warna sel pink, bentuk sel batang, Gram negatif. Hasil uji biokimia, oksidase positif, katalase positif, ditanam pada media O/F hasil oksidatif, SIM non-motil, RS kuning, alkali positif, H<sub>2</sub>S positif, asam negatif, gas positif. Sedangkan hasil karakterisasi pada isolat nomor dua sebagai berikut: bentuk koloni bulat, warna koloni kuning, elepasi cembung, tepian licin, warna sel pink, bentuk sel batang, Gram negatif. Hasil uji biokimia, oksidase positif, katalase positif, ditanam pada media O/F hasil fermentatif, SIM motil, RS kuning, alkali positif, H<sub>2</sub>S positif, asam positif, gas positif. Bakteri setelah dilakukan karakterisasi biokimia, selanjutnya dilakukan uji API 20E dan pembacaan dilakukan dengan menggunakan software apiweb™.

#### Uji API 20E

Hasil identifikasi oleh API 20E yang pembacaannya menggunakan software apiweb™ didapatkan signifikansi tinggi untuk jenis bakteri *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila* (Lampiran 1 dan 2).

#### KESIMPULAN

Bakteri hasil isolasi dari ikan gabus (*Channa striata*) adalah *Pasteurella pneumotropica* dan *Aeromonas hydrophila*.

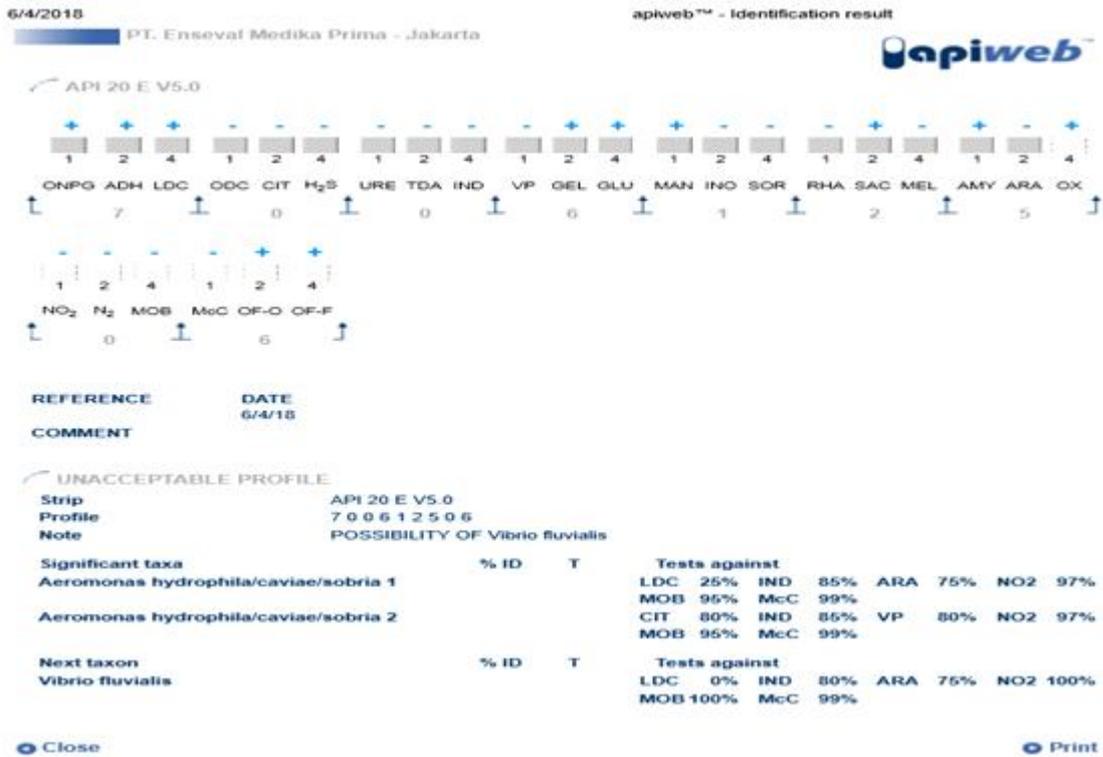
#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Desy Sugiani, M.Si., selaku kepala Instalasi Riset Pengendalian Penyakit Ikan, Depok dan sebagai ketua peneliti kegiatan isolasi bakteri, serta teman-teman teknisi yang telah memberikan dukungan dalam penulisan ini.

#### DAFTAR ACUAN

- Alfarisy, M.U. (2014). *Pengaruh jenis kelamin dan ukuran terhadap kadar albumin pada ikan gabus (Channa striata)*. Tesis. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya.
- Kusmini, I., Gustiano, R., Prakoso, A., & Ath-thar, M.H.F. (2003). *Budidaya ikan gabus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Maulana, M.R. & Fajar, S. (2015). Pendederan ikan gabus (*Channa striata*) dengan menggunakan teknik lama penyinaran lampu. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 13(1), 79-81.
- Supriyadi, H. & Rukyani, A. (1990). Immunoprofilaksis dengan cara vaksinasi pada usaha budidaya ikan. *Seminar Nasional ke-II, Penyakit Ikan dan Udang*. Bogor, 16-18 Januari 1990, hlm. 64-69.

Lampiran 1. Karakteristik bakteri *Aeromonas hydrophila* hasil dari pembacaan hasil uji API 20E menggunakan software apiweb™



Lampiran 2. Karakteristik bakteri *Pasteurella pneumotropica* hasil dari pembacaan hasil uji API 20E menggunakan software apiweb™

