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

TEKNIK ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PADA IKAN TOMAN (*Channa micropeltes*)

Edy Farid Wadjdjy dan Setiadi

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No. 1 Bogor 16154
E-mail: *pelnisbppbat@yahoo.com*

ABSTRAK

Kegiatan bertujuan untuk mendapatkan informasi mengenai bakteri yang menginfeksi ikan toman melalui isolasi, karakterisasi, dan identifikasi. Isolasi dilakukan pada bagian organ dalam seperti hati, ginjal, limpa, dan mata. Tahapan karakterisasi menggunakan metode konvensional dengan tujuh parameter uji biokimia dan dilanjutkan dengan uji API KIT 20 NE. Hasil yang diperoleh dari kegiatan ini menunjukkan bahwa bakteri yang menginfeksi ikan toman yaitu *Aeromonas* sp., *Moraxella lacunata*, *Vibrio vulfinicus*, dan *Brevundimonas vesicularis*.

KATA KUNCI: ikan toman; identifikasi; bakteri

PENDAHULUAN

Ikan toman (*Channa micropeltes*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang digemari baik sebagai ikan hias maupun ikan konsumsi. Ikan toman atau disebut *red snakehead*, *redline snakehead* merujuk pada warna badannya ketika muda, atau Malabar *snakehead*. Ikan toman juga memangsa serangga dan kodok. Ikan toman belum popular untuk dibudidayakan, meskipun saat ini sudah ada beberapa pembudidaya ikan toman (Ediwarman *et al*., 2008).

Penyakit adalah suatu kondisi yang terjadi pada organisme hidup yang mengalami gangguan fungsi fisiologis akibat perubahan pada sistem tubuh dan biasanya muncul tanda-tanda dan gejala. Penyakit muncul akibat adanya faktor patologis berupa patogen di lingkungan budidaya, kekebalan tubuh ikan yang rendah dan media budidaya yang tidak menguntungkan (Idowu *et al*., 2017).

Kebanyakan bakteri patogen termasuk golongan Gram negatif, seperti *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. Bakteri tersebut sering ditemukan dan hidup di air kolam, di permukaan tubuh ikan dan pada organ tubuh bagian dalam. Pencegahan infeksi bakteri tersebut terletak pada pengelolaan kualitas air yang baik sehingga ikan terhindar dari stres (Sari *et al*., 2013).

Identifikasi merupakan salah satu upaya untuk mengetahui jenis bakteri yang menginfeksi ikan toman. Proses Identifikasi maupun isolasi dan karakterisasi. Identifikasi penting dilakukan karena berkaitan dengan metode penanggulangan penyakit untuk meminimalisir terjadinya kematian pada ikan tersebut. Tujuan kegiatan untuk mengetahui bakteri yang menginfeksi pada ikan toman (*Channa micropeltes*).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan (ikan uji) yang digunakan yaitu ikan toman berukuran rata-rata panjang 12,84 cm; bobot 10,75 g; sebanyak lima ekor. Bahan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah yaitu TSA, TSB, *oksidase kit*, reagen katalase (H_2O_2), pewarnaan Gram (*safranin*, *lugol*, alkohol, *giemsa*), API KIT 20 NE, media O/F, dan parafin cair.

Sedangkan alat yang digunakan meliputi *autoclave*, *laminar flow*, jarum *ose*, Inkubator, *refrigerator*, *slide glass*, cawan petri, tabung *glass,* mikroskop, *bunsen,* gunting dan pisau bedah.

Metode

Langkah-langkah dalam Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi bakteri pada ikan toman adalah sebagai berikut:

Pengambilan Sampel

Sebanyak lima ekor sampel ikan toman diambil untuk diisolasi yang merupakan suatu langkah awal

Copyright @ 2019, Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, p-ISSN 1412-9574; e-ISSN 2541-2442

dalam proses mengidentifikasi jenis bakteri penyebab penyakit.

Isolasi dan Pemurnian

Isolasi bakteri dilakukan secara aseptik dari organ hati, limpa, dan ginjal menggunakan jarum ose kemudian digoreskan pada media TSA lalu ditutup dengan *parafilm*. Media diberi kode untuk disimpan diinkubator pada suhu 28°C selama 24-48 jam. Setelah inkubasi 24 jam didapatkan koloni-koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA dan biasanya masih menumpuk, sehingga dilakukan pemisahan koloni tunggal (pemurnian) dengan cara diisolasi kembali pada media TSA(Gambar 1).

Karakterisasi dan Identifikasi

Proses karakterisasi dengan melakukan pengamatan morfologi bakteri yang meliputi bentuk koloni, warna, dan dilanjutkan dengan pewarnaan Gram untuk menentukan bentuk dan warna (Gram positif atau negatif) dengan cara membuat preparat ulas (Gambar 2). Sebanyak satu tetes akuades diletakkan pada objek *glass*, kemudian diambil satu koloni bakteri menggunakan *ose* untuk dihomogenkan dan diratakan lalu dikeringanginkan. Kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan Gram mengikuti prosedur SNI 7303 Tahun 2009 yaitu dengan meneteskan larutan kristal violet pada preparat selama 1-2 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringanginkan lalu diteteskan alkohol aseton. Selanjutnya diwarnai dengan safranin selama dua menit lalu dibilas dengan air mengalir. Preparat diamati di bawah mikroskop dengan menambahkan larutan *imersion oil* untuk memperjelas warna dan bentuk koloni. Apabila hasil pewarnaan berwarna violet (ungu) maka bakteri tersebut merupakan Gram positif (+) dan apabila berwarna merah muda maka bakteri Gram negatif (-).

Uji Biokimia

Uji biokimia yang dilakukan adalah sebagai berikut:

Uji katalase

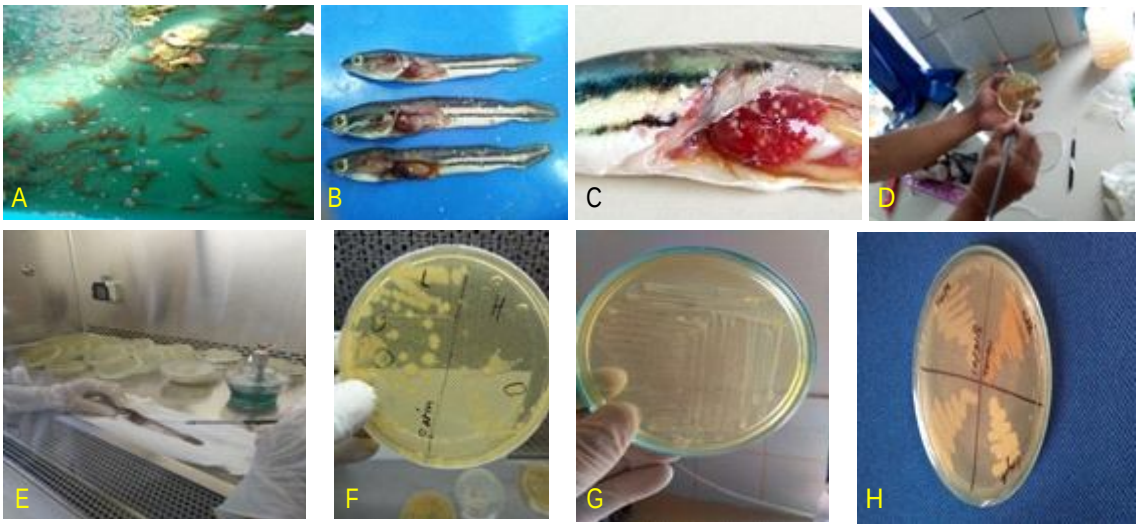
Uji katalase bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase. Dilakukan dengan menggunakan larutan H_2O_2 3% diteteskan pada objek *glass* kemudian diambil bakteri satu ose dan dicelupkan pada objek *glass*. Apabila bakteri mengeluarkan gelembung udara berarti bakteri tersebut positif (+) katalase, jika tidak mengeluarkan gelembung udara termasuk negatif (-) katalase.

Uji oksidase

Uji oksidase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim oksidase dengan cara bakteri digoreskan pada oksidase strip. Apabila berubah warna menjadi biru berarti bakteri tersebut oksidase positif (+), dan jika tidak berubah warna maka negatif (-) oksidase.

Uji motilitas

Uji motilitas dilakukan untuk mengetahui motilitas penebaran bakteri yang tumbuh pada media SIM



Gambar 1. Pengambilan sampel ikan toman, isolasi, dan pemurnian bakteri dari hati, ginjal, dan limpa (A); koleksi ikan toman (B-C); pembedahan organ dalam (D-E); isolasi organ hati dan ginjal (F); bakteri hasil Isolasi (G-H); bakteri hasil pemurnian.

Copyright @ 2019, Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, p-ISSN 1412-9574; e-ISSN 2541-2442

dengan cara sebanyak satu ose bakteri ditusukkan ke media tabung SIM selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C dalam inkubator. Apabila bakteri tumbuh menyebar dari garis tusukan maka bakteri bersifat motil.

Uji O/F

Uji O/F untuk mengetahui sifat oksidatif dan fermentatif suatu bakteri terhadap glukosa. Bakteri diinokulasikan pada dua media tabung O/F, dan salah satu tabung diisi parafin cair lalu ditutup dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Jika terjadi perubahan warna pada kedua tabung media O/F dari hijau menjadi kuning maka bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya jika hanya yang ditutup parafin saja yang berubah warna menjadi kuning maka bakteri bersifat oksidatif.

Uji produksi H_2S dan gas

Uji bertujuan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menghasilkan H_2S dan gas menggunakan media TSIA. Bakteri diinokulasikan secara zig-zag kemudian ditusukkan ke media TSIA, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C. Indikasi H_2S positif (+) ditandai adanya warna hitam pada bekas tusukan dan adanya gelembung pada media TSIA yang menunjukkan gas positif (+). Hasil uji karakterisasi dan identifikasi kemudian dicocokkan sesuai dengan buku petunjuk identifikasi menurut Bergey & Cowan (1974).

Uji API KIT 20 NE

Pengujian dilakukan dengan cara menyiapkan sebanyak empat buah kit. Selanjutnya membuat larutan bakteri dari empat isolat hasil pemurnian dengan cara pengenceran berseri menggunakan PBS. Tahapan pengenceran yaitu dari satu koloni dimasukkan ke dalam 10 mL PBS dan diaduk menggunakan *vortex*, lalu diambil kembali sebanyak 1 mL menggunakan *spuit* dimasukkan kembali dalam 10 mL PBS dan seterusnya sampai pengenceran ke-4 atau menyamakan kekeruhan standar *Mc farland* yang ada pada kit tersebut. Larutan bakteri tersebut kemudian diteteskan sebanyak 1-2 tetes pada API KIT lalu ditutup dengan parafin untuk diinkubasi selama 24 jam dan ditambahkan reagen seperti TDA, James, NIT-1, dan NIT-2 yang tersedia pada KIT API 20 NE.

HASIL DAN BAHASAN

Berdasarkan hasil Isolasi, karakterisasi, dan identifikasi secara konvensional dan API KIT 20 NE dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2 Hasil Uji karakterisasi bakteri yang diisolasi dari ikan toman sebagai berikut:

Hasil uji biokimia pada bakteri yang diisolasi dari organ mata (TM1), hati (TH2 dan TH3), serta ginjal (TG1) termasuk pada golongan bakteri Gram negatif, pendugaan genus dicocokkan pada literatur Cowan (1974) dan ditambahkan dengan menggunakan media selektif RS untuk *Aeromonas* sp. kemudian dilanjutkan dengan uji gula-gula menggunakan metode API KIT 20 NE.

Hasil Uji karakterisasi gula-gula bakteri yang diisolasi dari ikan toman menggunakan KIT API 20 NE sebagai berikut:

Hasil identifikasi secara konvensional menggunakan kit API 20 NE bakteri yang ditemukan dari organ hati mengarah pada bakteri *Aeromonas hydrophila*. Bakteri tersebut merupakan bakteri patogen yang umum ditemukan dan hidup di air kolam, permukaan badan ikan, dan organ tubuh bagian dalam, serta termasuk golongan bakteri Gram negatif (Lusiastuti *et al*., 2018).

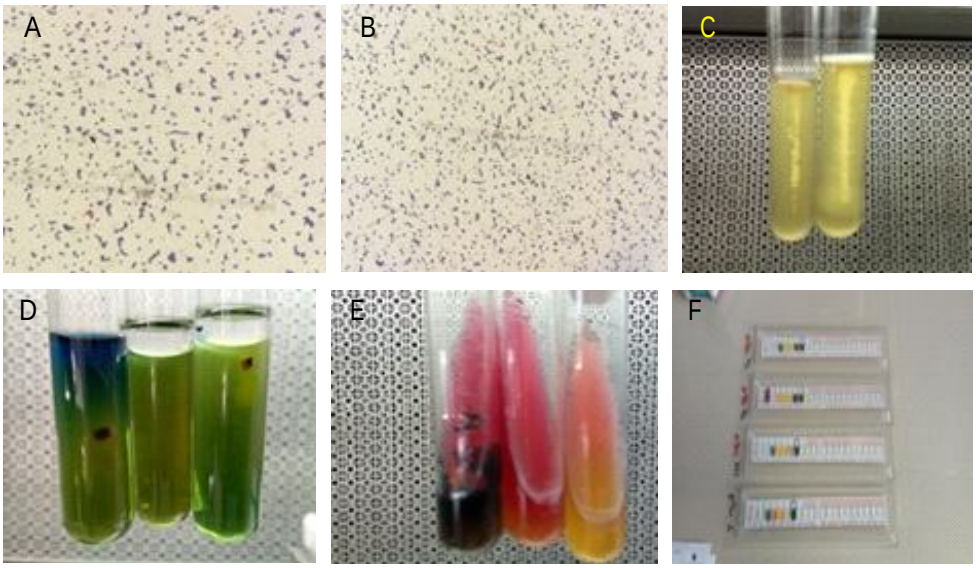
Isolasi dari organ ginjal ditemukan bakteri *Vibrio vulnificus*. Menurut Rengpipat *et al*. (2008), *Vibrio vulnificus* termasuk dalam famili *Vibrionaceae* adalah spesies bakteri Gram negatif yang dapat ditemukan di perairan payau dan hangat, berbentuk batang dengan motif melengkung dan memiliki flagelum polar bermotif tunggal.

Bakteri *Moraxella* juga ditemukan pada organ hati dan merupakan bakteri yang memiliki karakteristik batang pendek, Gram negatif, katalase, dan oksidase positif dengan warna koloni krem, serta tidak sensitif pada novobiocin (negatif pada media RS). Adam & Moss (2008) menyatakan bahwa bakteri yang ditemukan dalam proses pembusukan ikan yaitu *Moraxella* berasal dari lingkungan dan merupakan bakteri Gram negatif, batang pendek hampir bulat dengan ukuran 1,5-2,5 μm; serta bersifat *aerob*.

Sedangkan bakteri *Brevundimonas vesicularis* ditemukan pada mata, bakteri tersebut termasuk bakteri Gram negatif, katalase positif, oksidase positif dengan suhu pertumbuhan optimal antara 30°C-37°C. Soedjatmiko *et al*. (2011) menyatakan bakteri ini biasanya sering ditemukan pada tanah yang lembab dan air limbah yang memiliki kemiripan dengan *Pseudomonas* sp. yang dapat hidup dalam kondisi beragam jumlah nutrien yang sedikit maupun banyak (olgiotrofik).

KESIMPULAN

Bakteri yang ditemukan menginfeksi ikan toman berdasarkan hasil isolasi, karakterisasi, dan identifikasi yaitu *Aeromonas* sp., *Moraxella lacunata*, *Vibrio vulfinicus*, dan *Brevundimonas vesicularis*.



Gambar 2. Tahapan Identifikasi bakteri pada ikan toman. (a-b) Hasil pewarnaan gram (c) Uji motilitas bakteri dengan media SIM (d) Uji bakteri Oksidatif atau Fermentatif dengan media O/F, (e) Pengujian bakteri H2S dan Gas dengan media TSIA; (f) Uji gula-gula bakteri dengan API 20 NE.

Tabel 1. Hasil uji biokimia karakterisasi bakteri

Kode sampel	Warna koloni	Bentuk/ gram	Oksidase	Katalase	O/F	Motilitas	RS	TSIA		
								H2S	Gas	Acid
TM1	Transparan	Batang/negatif	+	+	-/+	+	-	+	-	-
TH2	Krem	Batang/negatif	+	+	-/+	+	+	-	-	+
TG1	Krem gelap	Batang/negatif	+	+	-/+	+	+	-	-	+
TH3	Putih	Batang/negatif	+	+	-/-	+	-	+	-	-

Tabel 2. Uji gula-gula menggunakan KIT API 20 NE

Karakteristik	Isolat			
	TM1	TH2	TG1	TH3
	Kit Api 20NE			
Nitrat	-/+	-	-/+	-/+
Tryptophan	-	+	-	-
Glucose	-	-	+	-
Arginine asidifikasi	-	+	-	+
Urea	-	-	-	-
Esculin	+	+	+	-
Gelatin	+	-	+	+
PNPG	+	-	+	-
Assimilasi Glucose	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-
Mannose	-	+	-	-
Mannitol	-	-	-	-
N-Acetyl glucosamine	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-
Gluconate	-	-	-	-
Caprate	-	-	-	-
Adipate	-	+	-	-
Malate	-	-	-	-
Citrate	-	-	-	-
Phenyl acetate	-	-	-	-
Oxidase	+	+	+	+
Jenis isolat	***Brevundimonas vesicularis***	***Aeromonas* sp.**	***Vibrio vulnificus***	***Moraxella lacunata***

Copyright @ 2019, Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, p-ISSN 1412-9574; e-ISSN 2541-2442

DAFTAR ACUAN

Adam, M.R. & Moss, O.M. (2008). Food microbiology. Third Edition. United Kingdom: The Royal Society of Chemistry, p. 139-145.

Cowan, S.J. (1974). Manual for the identification of medical bacteria. Third Edition. United Kingdom: Cambridge University Press.

Ediwarman, Hernawati, R., Adianto, W., & Moreau, Y. (2008). Penggunaan maggot sebagai substitusi ikan rucah dalam budidaya ikan toman (*Channa micropeltes* CV.). *Jurnal Riset Akuakultur*, **3**(3):395-400.

Idowu, T.A., Adedeji, H.A., & Sogbesan, O.A. (2017). Fish disease and health management in aquaculture production. *International Journal of Environment & Agricultural Science*, 1(1), 1-6.

Lusiastuti, A.M., Novita, H., & Andriyanto, S. (2018). Penyakit potensial pada ikan toman dan tapah. Laporan teknis.

Sari, D.S., Pangastuti, A., & Herawati, E. (2013). Pencegahan infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan pemberian ekstrak etil asetat rimpang temu ireng (*Curcuma aeruginosa*). *Biofarmasi*, 11(2), 31-35.

Standar Nasional Indonesia: 7303. (2009). Metode identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* secara biokimia.

Soedjamiko, K.P., & Ariesyadi, H.D. (2011). Identifikasi dan karakterisasi bakteri pada reaktor wetland.

Rengpipat, S., Pusiririt, S., & Rukpratanporn, S. (2008). Differentiating between isolates of *Vibrio vulnificus* with monoclonal antibodies. *Journal of Microbiological Methods*, p. 398-404.

Copyright @ 2019, Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, p-ISSN 1412-9574; e-ISSN 2541-2442