

## STUDI TENTANG PENYAKIT BAKTERIAL PADA IKAN KERAPU

Isti Koesharyani<sup>\*)</sup> dan Zafran<sup>\*)</sup>

### ABSTRAK

Upaya perbenihan ikan kerapu yang dilakukan di Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol Bali, dihadapkan pada masalah pemeliharaan induk yang rentan terhadap penyakit, antara lain adanya infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri penyebab penyakit pada induk ikan kerapu. Satu isolat bakteri telah berhasil diisolasi dari organ ginjal ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides* sakit. Isolat tersebut dapat tumbuh baik pada media *Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) dengan warna koloni kuning dan bakteri tersebut sensitif terhadap antibiotik klorampenikol dan oksitetrasiklin, tetapi kebal terhadap ampicilin dan eritromisin. Bakteri ini dapat diklasifikasikan ke dalam genus *Vibrio* sp. Hasil uji patogenisitas terhadap ikan kerapu batu, *E. bontoides* sehat menunjukkan bahwa kepadatan  $10^7$  cfu/mL ternyata dapat menyebabkan kematian total dalam waktu 24 jam.

**ABSTRACT:** *Study on bacterial diseases of grouper fishes. By: Isti Koesharyani and Zafran*

*A crucial problem faced by Gondol Research Station for Coastal Fisheries-Bali in the breeding of grouper fish is the susceptibility of the broodstock against bacterial diseases. The study was aimed to isolate and characterize bacteria from infected grouper. Bacteria isolated from the kidney of diseased fish, Epinephelus coioides grew well at Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar (TCBSA) giving yellow colony, the bacteria was sensitive to antibiotics such as chloramphenicol and oxytetracycline, but resistance to ampiciline and erythromicine. The bacteria was identified as Vibrio sp. Pathogenicity test by intramuscular injection at density of  $10^7$  cfu/mL into healthy fish E. bontoides resulted in total mortality within 24 hours.*

**KEYWORDS:** *Bacterial diseases, grouper.*

### PENDAHULUAN

Ikan kerapu merupakan komoditas yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, dan akhir-akhir ini permintaan kerapu hidup untuk konsumsi semakin meningkat.

Sejalan dengan permintaan pasar yang cukup tinggi, di Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol Bali sedang dikembangkan usaha perbenihan ikan kerapu seperti kerapu tikus *Cromileptes altivelis*, kerapu lumpur *Epinephelus coioides* dan kerapu sunu *Plectropoma* sp. Tetapi dalam pembenihan ikan kerapu masih dihadapi berbagai masalah, di antaranya adalah penyakit yang menyerang/menginfeksi induk kerapu di dalam wadah budidaya. Masalah ini harus segera diatasi karena kesehatan induk merupakan hal yang sangat penting agar dapat menghasilkan benih yang berkualitas.

Mikroorganisme seperti virus, bakteri atau parasit merupakan penyebab penyakit yang sering ditemukan dalam pembenihan atau budidaya ikan (Leong, 1994; Bessie, 1988; Chua *et al.*, 1994; Saeed, 1995). Kasus penyakit bakterial pada ikan kerapu *E. salmoides* disebabkan oleh adanya infeksi bakteri *Vibrio* sp. dan dapat bersifat patogen ataupun hanya penyebab sekunder (Bessie, 1988 dan Wong *et al.* dalam Wong *et al.*, 1990). Sedangkan pada kerapu *E. tauvina* kasus penyakit dapat disebabkan oleh bakteri *Vibrio harveyi* (Saeed, 1995) atau *Pseudomonas* sp. berupa peradangan pada kulit (Nash *et al.*, 1987).

Berdasarkan referensi tersebut di atas maka dilakukan penelitian tentang penyakit bakterial pada ikan kerapu lainnya dengan tujuan mengetahui penyebab penyakit dan mengidentifikasi serta menguji kepekaannya terhadap antibiotik.

<sup>\*)</sup> Peneliti pada Loka Penelitian Perikanan Pantai Gondol - Bali

## BAHAN DAN METODE

### Pembuatan dan Karakterisasi Isolat Bakteri

Dari bagian internal organ ginjal dan hati ikan kerapu lumpur *E. coioides* yang sakit dilakukan isolasi bakteri dengan menggunakan media *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan *Thio-sulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBSA) kemudian diinkubasikan pada suhu 26-30<sup>o</sup> C selama 24-48 jam. Pemurnian terhadap bakteri yang tumbuh dominan pada setiap jenis media dilakukan dengan menggunakan media *Marine Agar* (MA). Hasil pemurnian bakteri ini selanjutnya digunakan sebagai bahan uji. Identifikasi isolat bakteri dilakukan berdasarkan acuan Lee & Donovan (1985); Holt *et al.* (1994) dan Cowan & Steel's (1993).

### Patogenisitas Bakteri

Isolat bakteri uji dibiakkan dalam media MA yang diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 26<sup>o</sup>C, kemudian dipanen menggunakan air laut steril. Kepadatan bakteri 10<sup>8</sup> cfu/mL ditentukan berdasarkan McFarland *equivalence turbidity standard* 1.0 setara dengan kepadatan bakteri 10<sup>8</sup> cfu/mL. Selanjutnya isolat bakteri tersebut diencerkan secara bertingkat sehingga didapat kepadatan bakteri berbeda (10<sup>8</sup>; 10<sup>7</sup>; 10<sup>6</sup> dan 10<sup>5</sup> cfu/mL) kemudian digunakan sebagai bahan infeksi, yaitu dengan cara menyuntikkan intramuskular sebanyak 0,05 mL/individu. Ikan kontrol disuntik dengan air laut steril dengan jumlah yang sama. Rancangan perlakuan uji patogenisitas bakteri adalah diskriptif. Ikan uji yang digunakan adalah kerapu batu, *Epinephelus bontoides* yang mempunyai bobot antara 10-20 gram, masing-masing sebanyak 10 ekor untuk setiap tingkat kepadatan bakteri. Pengamatan dilakukan terhadap mortalitas ikan uji setiap 12 jam selama empat hari dan melakukan reisolasi bakteri pada bagian ginjal dan luka bekas suntikan dari ikan uji yang lemah atau mati.

### Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik

Pengujian sensitivitas isolat bakteri terhadap antibiotik dilakukan secara *in-vitro*. Bakteri uji dioleskan secara merata pada lempengan media

agar, lalu pada bagian permukaannya diletakkan lempeng antibiotik yang sudah mengandung antibiotik yang akan diuji yaitu oksitetrasiklin (30 µg), klorampenikol (30 µg), ampicilin (10 µg) dan eritromisin (15 µg), diproduksi oleh Oxoid, Unipath Limited, Besingstoke, Hampshire, UK., kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 26<sup>o</sup>C, dosis antibiotik yang digunakan disesuaikan dengan ketersediaan di pasaran. Tingkat sensitivitas ditentukan melalui pengukuran zona penghambatan yang diakibatkan oleh masing-masing antibiotik uji.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Identifikasi Isolat Bakteri

Isolat bakteri dominan diisolasi dari organ ginjal ikan kerapu lumpur *E. coioides* seberat 800 gram yang sakit, yang berasal dari penampungan ikan yang berlokasi di Gondol, Bali. Umumnya bakteri yang ditemukan pada internal organ tidak terlalu banyak jenis atau variasinya, sehingga bila memang terdapat infeksi cenderung membentuk satu jenis bakteri dominan, lain dengan bakteri yang diisolasi dari bagian eksternal yang banyak dipengaruhi oleh bakteri lainnya. Selanjutnya isolat tersebut diberi kode GRS-9601 dan digunakan dalam penelitian ini (Tabel 1).

Dari hasil identifikasi bakteri GRS-9601 yang berpedoman pada Lee & Donovan (1985), Holt *et al.* (1994) dan Cowan & Steel's (1993) ternyata bakteri ini termasuk ke dalam genus *Vibrio*, ini dapat dilihat dari beberapa kesamaan karakter antara lain gram negatif, Cytochrome Oxidase positif dan sensitivitas terhadap *Vibrio Static agent* 0/129 150 mg (Tabel 2). Bakteri vibrio dapat bersifat patogen terhadap ikan, seperti bakteri *V. harveyi* yang ditemukan sebagai penyebab penyakit mata ikan bandeng di Filipina (Muroga *et al.*, 1984), begitu juga pada kasus infeksi mata pada ikan *common snook*, *Centroponus undecimalis* yang disebabkan oleh infeksi bakteri *V. harveyi* (Kraxberger *et al.*, 1990). Sedangkan kasus pada ikan kerapu menunjukkan bahwa bakteri dari genus *Vibrio* sp. hanya berperan dalam '*secondary infection*' yang dapat timbul setiap waktu tergantung dari faktor lingkungan serta faktor lainnya (Saeed, 1995 dan Leong, 1994).

Tabel 1. Pertumbuhan bakteri yang diisolasi dari ginjal dan hati pada media bakteri yang berbeda.  
 Table 1. Growth of bacteria isolated from kidney and liver on different bacterial media.

Organ dalam <i>Internal organ</i>	Media tumbuh bakteri <i>Bacterial Medium</i>	Hasil <i>Result</i>
Ginjal ( <i>Kidney</i> )	TCBSA	+
	TSA	+
Hati ( <i>Liver</i> )	TCBSA	-
	TSA	-

Tabel 2. Karakteristik bakteri GRS-9601 yang diisolasi dari ginjal ikan kerapu lumpur, *E. coioides*, dibandingkan dengan karakter bakteri *Vibrio* spp. dari Holt *et al.*, 1994; Lee & Donovan, 1985 dan Cowan & Steel's, 1993.

Table 2. Characteristics of bacterium GRS-9601 isolated from kidney of brown-spotted grouper, *E. coioides*, compared to bacteria *Vibrio* spp. according to Holt *et al.*, 1994; Lee & Donovan, 1985 and Cowan & Steel's, 1993.

Karakteristik <i>Characteristics</i>	Isolat GRS-9601 <i>Isolate GRS-9601</i>	Holt <i>et al.</i> , 1994	Lee & Donovan, 1985	Cowan & Steel's, 1993	Diisolasi kembali dari <i>Reisolated from</i>	
					Ginjal <i>Kidney</i>	Luka <i>Lesion</i>
Pewarnaan gram ( <i>Gram stain</i> )	-	-	-	-	-	-
Sitokrom oksidase ( <i>Cytochrome oxidase</i> )	+	+	+	+	+	+
Katalase ( <i>Catalase</i> )	+	Nt	Nt	+	+	+
Cahaya ( <i>Luminescent</i> )	-	d	d	d	-	-
Gerakan ( <i>Swarming</i> )	d	d	d	d	d	d
Pertumbuhan pada TCBSA <i>Growth on TCBSA</i>	Y	Y/G	Y/G	d	Y	Y
Pertumbuhan pada NaCl <i>Growth in NaCl:</i>						
- 0%	-	-	-	-	-	-
- 3%	+	+	+	Nt	+	+
- 6%	+	+	d	+	+	+
- 10%	-	Nt	d	Nt	-	-
L-Arginin	-	d	-	-	-	-
L-Lysin	+	d	+	+	+	+
L-Ornithin	+	d	d	d	+	+
Hugh-Leifson (O-F)	F	F	F	F	F	F
Peka terhadap 150 mg vibriotic agent 0/129 ( <i>Sensitive to vibriotic agent 0/129. 150 mg</i> )	S	S	S	d	S	S

d: Karakter berbeda antar spesies (*Character differs from species to species*); S: Peka (*Sensitive*); F: Fermentatif (*Fermentative*); Y: Kuning (*Yellow*); G: Hijau (*Green*); Nt: Tidak diuji (*Not tested*)

### Patogenisitas Bakteri

Hasil uji patogenisitas bakteri yang diisolasi dari ikan kerapu lumpur, *E. coioides* terhadap ikan kerapu batu, *E. bontoides* sehat dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari hasil pengamatan (Tabel 3), ternyata bakteri GRS-9601 dengan jumlah kepadatan  $10^7$  dan  $10^8$  cfu/mL dapat mematikan seluruh hewan uji dalam waktu kurang dari 24 jam. Sebelum ikan uji mati terdapat tanda-tanda ikan menjadi lemas dan terdapat luka/iritasi pada bagian

tempat penyuntikan. Hasil isolasi ulang bakteri dari ginjal dan luka bekas suntikan ikan uji yang baru mati ternyata didapat bakteri jenis yang sama. Adanya bakteri yang sama pada ginjal membuktikan bahwa ginjal mempunyai fungsi *reticuloendothelial* yaitu kemampuan suatu organ untuk menyerap (*trapping*) bakterial dari darah, di mana akumulasi bakteri yang diinjeksikan secara intramuskular lebih banyak ditemukan pada organ limpa dan ginjal daripada dalam organ hati (Secombes & Manning dalam Saeed, 1995).

**Sensitivitas Bakteri terhadap Antibiotik**

Pengujian dilakukan dengan menggunakan lempeng antibiotik yaitu untuk mengetahui jenis antibiotik mana yang dapat digunakan dalam alternatif pengobatan atau penanggulangan baik melalui pakan maupun perendaman. Bakteri GRS-9601 ini sensitif terhadap antibiotik oksitetrasiklin (30 µg) dan klorampenikol (30 µg) dan

tahan terhadap antibiotik ampisilin (10 µg) dan eritromisin (15 µg) yaitu dengan melihat luasan zona penghambatannya (Tabel 4). Untuk itu perlu diuji lagi tingkat sensitivitas bakteri terhadap ampisilin dan eritromisin dengan menggunakan konsentrasi yang lebih tinggi.

Walaupun daya hambat antara oksitetrasiklin dan klorampenikol sama, tetapi dalam alternatif pengobatan klorampenikol tidak dapat diaplikasikan karena antibiotik tersebut berbahaya bagi individu serta dapat menimbulkan resistensi terhadap bakteri. Sedangkan pengobatan dengan menggunakan oksitetrasiklin (OTC) yang dicampurkan dalam pakan dengan dosis 0,5 gram/kg ikan dapat diaplikasikan dalam alternatif penyembuhan atau pengobatan adanya infeksi bakteri. Terapi dengan menggunakan OTC yang dicampurkan dalam pakan pernah diterapkan terhadap ikan kerapu *E. tauvina* yang terinfeksi oleh *V. harveyi* dan dapat menekan kematian (Saeed, 1995).

Tabel 3. Mortalitas ikan kerapu *E. bontoides* yang diinjeksi secara intramuskular dengan berbagai tingkat kepadatan bakteri GRS-9601.

Table 3. Mortality of *E. bontoides* fingerling intramuscularly injected with various densities of bacterium GRS-9601.

Konsentrasi bakteri ( <i>Bacteria concentration</i> )	Jml. ikan mati tiap 12 jam <i>No. of fish died every 12 h</i> (n=10)				Mortalitas total ( <i>Total mortality</i> ) (%)	Isolasi ulang <i>Reisolation</i>
	0-12	12-24	24-36	36-96		
10 <sup>8</sup>	10	-	-	-	100	+
10 <sup>7</sup>	6	4	-	-	100	+
10 <sup>6</sup>	1	5	0	0	60	+
10 <sup>5</sup>	0	1	0	0	10	+
Kontrol ( <i>Control</i> )	0	0	0	0	0	-

+ : ada bakteri (*bacteria present*)

Tabel 4. Kepekaan bakterial GRS-9601 terhadap beberapa antibiotik secara *in-vitro*.  
Table 4. *In-vitro* sensitivity test of bacterium GRS-9601 to several antibiotics.

Jenis lempeng antibiotik <i>Antibiotics disk</i>	Zona penghambatan <i>Inhibition zone</i> (mm)
Oksitetrasiklin ( <i>Oxytetracycline</i> ) (30 µg)	35
Klorampenikol ( <i>Chloramphenicol</i> ) (30 µg)	35
Ampisilin ( <i>Ampicyline</i> ) (10 µg)	0
Eritromisin ( <i>Erytromycine</i> ) (15 µg)	11

## KESIMPULAN

1. Bakteri yang ditemukan pada ginjal ikan kerapu lumpur *E. coioides* sakit adalah bakteri dari genus *Vibrio* sp.
2. Isolat bakteri tersebut bersifat patogen pada kepadatan  $10^7$ - $10^8$  cfu/mL, dapat menyebabkan kematian total benih ikan kerapu batu *E. bontoides* (ukuran 10-20 gram) dalam waktu kurang dari 24 jam.
3. Bakteri ini sensitif terhadap antibiotik oksitetrasiklin (30 µg) dan klorampenikol (30 µg), tetapi tahan terhadap ampicilin (10 µg) dan eritromisin (15 µg).

## DAFTAR PUSTAKA

- Bessie, O. 1988. Characteristic of bacteria isolated from diseased grouper, *Epinephelus salmoides*. Aquaculture, 73: 7-17.
- Cowan and Steel's. 1993. Manual for identification of medical bacteria (Third eds.) Cambridge University press. 386p.
- Chua, F.C.H., M.L. Ng., J.J. Loo and J.Y. Wee. 1994. Investigation of outbreak of novel diseases, 'Sleepy Grouper Diseases', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. Journal of Fish Diseases 17: 417-427.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, S.T. Williams. 1993. Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth Edition. Williams & Wilkins, Baltimore, USA.
- Kraxberger-Beatty, T., D.J. Mc. Garey, H.J. Grier and D.V. Lim. 1990. *Vibrio harveyi*, an opportunistic pathogen of common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), held in captivity. Journal Fish Diseases. 13: 557-560.
- Lee, J.V. and T.J. Donovan. 1985. *Vibrio*, *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In C.H. Collins and J.M. Grange (eds.). Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance. Academic Press (Harcourt Brace Jovanovich, Publishers). p.13-33
- Leong, T.S. 1994. Parasites and diseases of cultured marine finfish in South East Asia. School of Biological Science, University Sains Malaysia. 25 p.
- Muroga, K., Gilda Lio-Po, C. Pitogo and R. Imada. 1984. *Vibrio* sp. isolated from milkfish (*Chanos-chanos*) with opaque eyes. Fish Pathology. 19(2):81-87.
- Nash, G., I.G. Anderson, M. Shariff and M.N. Shamsudin. 1987. Bacteriosis associated with epizootic in the giant sea perch, *Lates calcalifer*, and the estuarine grouper, *Epinephelus tauvina*, cage cultured in Malaysia. Aquaculture 67:105-111.
- Saeed, O. 1955. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. Aquaculture. 136:21-29.
- Wong, S.Y., T.Y. Lee and T.S. Leong. 1990. Cross protection of *Vibrio* vaccines against various pathogenic *Vibrio* obtained from diseased grouper (*Epinephelus salmoides*). The second Asian Fisheries Forum. Manila Phillipines. p.683-687.