

## Isolasi, Identifikasi dan Uji Patogenisitas *Edwardsiella tarda* Penyebab Penyakit pada Ikan Air Tawar di Yogyakarta

### Isolation, Characterization and Pathogenicity of *Edwardsiella tarda* a Causative Disease on Freshwater Fish in Yogyakarta

Eka Diniarti, Triyanto & Murwantoko\*

Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Corresponding author, email : murwantoko@ugm.ac.id

Submitted 22 October 2018 Revised 18 January 2019 Accepted 01 June 2019

**Abstrak** *Edwardsiella tarda* merupakan bakteri kosmopolitan dan menjadi penyebab Edwardsiellosis pada berbagai spesies ikan. Infeksi bakteri ini menyebabkan kerugian besar pada beberapa budidaya ikan di Asia terutama Jepang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi *E. tarda* penyebab penyakit pada ikan air tawar, serta mengetahui patogenisitasnya terhadap ikan patin (*Pangasius* sp.). Bakteri diisolasi dari bagian ginjal ikan yang menunjukkan gejala penyakit pada medium *Tryptone Soya Agar*. Identifikasi dilakukan dengan pengamatan karakter morfologi koloni, morfologi sel dan sifat biokimianya. Pemenuhan *Postulat Koch* untuk pembuktian penyebab penyakit dilakukan dengan penyuntikan ikan berukuran 7-9 cm secara *intra-peritoneal* dengan bakteri pada dosis  $10^7$  cfu/ikan. Uji patogenisitas dengan penyuntikan bakteri secara *intra-peritoneal* pada ikan patin ukuran 7-9 cm dengan dosis  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ , dan  $10^7$  cfu/ikan, dilanjutkan pengamatan gejala dan kematian setiap enam jam. Penentuan patogenisitas berdasarkan nilai  $LD_{50}$  dihitung menggunakan metode *Dragstedt Behrens*. Penelitian ini mendapatkan tiga isolat *E. tarda* penyebab penyakit pada ikan nila dan lele dumbo. Gejala penyakitnya berupa kulit ikan mengalami kehilangan pigmen warna, pucat dan mengelupas, lambung membengkak, luka haemoragik pada anus, lesi kecil putih pada tubuh dan terjadi nekrosis pada sirip. Nilai  $LD_{50}$  *E. tarda* isolat L2, L3, dan N3 terhadap ikan patin masing-masing sebesar  $4,64 \pm 0,35 \times 10^5$ ,  $1,54 \pm 0,07 \times 10^5$ , dan  $1,13 \pm 0,13 \times 10^6$  cfu/ikan.

**Kata kunci** *Edwardsiella tarda*;  $LD_{50}$ ; lele; nila; patin

**Abstract** *Edwardsiella tarda* is a cosmopolitan bacterium and is a cause of Edwardsiellosis in various fish species. The bacterial infection causes large losses on aquaculture in Asia, especially Japan. This study was conducted to isolate and characterize *E. tarda* as causative disease in freshwater fishes, and to determine its pathogenicity to catfish (*Pangasius* sp.). Bacteria were isolated from kidney of diseased fishes on *Tryptone Soya Agar* medium. Identification was conducted based on morphological colonies, morphological cells and biochemical tests. Fulfillment of Koch Postulates was done by injecting bacteria intraperitoneally on 7-9 cm fishes at dose of  $10^7$  cfu/fish. Pathogenicity test was carried out by *intra-peritoneal* injection at  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$ , and  $10^7$  cfu/fish to 7-9 cm-catfish (*Pangasius* sp.) and followed by observation of disease signs and mortality every six hours for 7 days. Pathogenicity was determined as Lethal Dosage ( $LD_{50}$ ) using *Dragstedt Behrens* method. In this research we have isolated three isolates *E. tarda* causing disease in fishes. The clinical signs of this disease were lose of pigmentation over the lesion, swollen of stomach, haemorrhage on fins, small cutaneous lesions, and necrotic on fins area. The  $LD_{50}$  of *E. tarda* isolate L2, L3, and N3 were  $4.64 \pm 0.35 \times 10^5$ ,  $1.54 \pm 0.07 \times 10^5$ , and  $1.13 \pm 0.13 \times 10^6$  cfu/fish, respectively.

**Keywords** *Edwardsiella tarda*;  $LD_{50}$ ; catfish; *Pangasius*; tilapia

## PENDAHULUAN

Akuakultur adalah industri penghasil pangan yang cepat berkembang di dunia dan pengembangan akuakultur dilakukan dengan peningkatan intensifikasi dan komersialisasi produksi akuatik. Perkembangan ini membawa konsekuensi pada ancaman terjadinya penyakit. Penyakit sekarang menjadi kendala utama di akuakultur, menghambat perkembangan ekonomi dan sosial di banyak negara. Kerugian ekonomi tahunan untuk industri akuakultur akibat penyakit diperkirakan miliaran dolar AS di seluruh dunia. Patogen utama yang mempengaruhi industri akuakultur meliputi: bakteri, jamur, virus dan parasit (Bondad-Reantaso *et al.*, 2005;

Pridgeon & Kesius, 2012). Mengingat bahwa bakteri dapat bertahan hidup dengan baik di lingkungan perairan, penyakit bakterial telah menjadi hambatan utama untuk budidaya, terutama di perairan tropis (Pridgeon & Kesius, 2012).

Bakteri *Edwardsiella tarda* yang merupakan bakteri kosmopolitan yang ditemukan di Amerika utara, Amerika tengah, Karibia, Eropa, Asia, Australia, Afrika dan Timur Tengah (Plumb & Hanson, 2011). Bakteri ini menyebabkan penyakit Edwardsiellosis dan menyebabkan kerugian besar pada budidaya catfish di Amerika dan sidat di Jepang. Penyakit ini juga telah dilaporkan menyerang ikan belanak, flounder, seabream, nila (Robert, 2012), turbot, karper di musim

panas (Pridgeon & Klessius, 2012). Angka kematian pada channel catfish di kolam rendah sekitar 5%, namun jika ikan dipindahkan ke kolam penampungan bisa mencapai 50% (Roberts, 2012). Di Amerika Serikat. *E. tarda* telah berhasil diisolasi dari 80% catfish yang berasal dari perikanan dalam negeri (Wyatt *et al.*, 1979). Bakteri ini dapat ditemukan secara luas di lumpur kolam (Roberts, 2012), dan sebagai mikroflora normal dalam usus pada burung pemakan ikan, reptil, katak maupun mamalia laut (Plumb & Hanson, 2011).

*Edwardsiella tarda* yang menginfeksi pada sidat menyebar pada luka organ-organ dalam ke daging, kulit terjadi nekrosis, kemudian luka tersebut berkembang dalam daging dan dermis menyebabkan kulit melepuh dan kehilangan pigmen warna. Ketika luka bertambah parah, akan menimbulkan bau busuk dan menyebar ke seluruh tubuh. Luka yang sudah parah tersebut menyebabkan ikan kehilangan keseimbangan gerak. Pada kejadian penyakit pada ikan tilapia menunjukkan gejala antara lain kehilangan pigmen, luka pada abdomen, rongga perut membengkak berisi cairan asites, anus menonjol dan haemoragik, mata menjadi buram. Gejala internal biasanya terdapat benjolan kecil berwarna putih pada insang, ginjal dan limpa, kadang-kadang terdapat juga pada usus (Austin & Austin, 1993). Organ internal ikan hati, ginjal dan spleen/limfa berwarna cerah dan mungkin akan mengalami pembengkakan (Plumb & Hanson, 2011), nekrosis jaringan hati dan ginjal. ginjal dan hati mudah rusak dan tertutup dengan fibrinous exudate (Roberts, 2012).

*Edwardsiella tarda* termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri golongan Gram negatif dan bersifat motil karena memiliki *peritrichous flagella* (Austin & Austin, 2007). Morfologi bakteri tersebut berukuran 1 µm x 2-3 µm, berbentuk batang pendek, non *acid fast*, tidak berspora dan tidak berkapsul. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob, fermentasi glukosa, tetapi negatif pada fermentasi laktosa, oksidase-negatif dan katalase-positif (Holts, 1994). Kultur pada media umum pada suhu 26-30°C selama 24-48 jam akan menghasilkan koloni bulat dengan permukaan rata/halus, sedikit cembung, tepi entire, transparan dengan ukuran sekitar 0,5 mm (Plumb & Hanson, 2011).

Berbagai penelitian isolasi dan identifikasi penyakit bakterial telah dilakukan diantaranya berbagai jenis *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas* dari ikan gurami (Murwantoko *et al.*, 2013), bakteri *Aeromonas* dari ikan lele (*Clarias* sp.) (Rejeki *et al.*, 2016). Tetapi sangat terbatas penelitian penyakit pada *E. tarda* di Indonesia. Beberapa penelitian *E. tarda* yang telah dilakukan berupa identifikasi atau deteksi (Firma *et al.*, 2012; Amanu, 2017), penentuan sub-spesies (Narwiyani & Kurniasih, 2011). Penelitian patogenisitas pada ikan mas koki dan ikan pelangi Sulawesi (Narwiyani *et al.*, 2011). Penelitian ini bertujuan melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri *Edwardsiella tarda* patogen dari beberapa spesies ikan air tawar dari Yogyakarta dan Magelang, konfirmasi sifat penyakit melalui Postulat Koch serta menguji patogenisitasnya terhadap ikan patin (*Pangasius* sp.).

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Sampel

Sebanyak 29 sampel ikan telah diambil dari petani dan pasar ikan di DIY selama bulan Januari-April 2013. Ikan yang diambil berupa ikan lele dumbo, nila, karper dengan ukuran rerata berat tubuh 84,4±69,4 g dan panjang 20,7±6,73 cm. Ikan diambil menunjukkan ciri-ciri serangan bakteri *E. tarda*. Pada infeksi ringan menampakkan luka-luka kecil, kemudian dapat Infeksi *E. tarda* terjadi nekrosis pada kulit, menyebar ke daging dan organ dalam, dan kehilangan pigmen warna (Austin & Austin, 1993).

### Isolasi dan Pemurnian

Isolasi dilakukan dengan menginokulasikan bakteri dari ginjal dan usus secara aseptis menggunakan jarum ose pada medium TSA (Oxoid), dan diinkubasi pada suhu 30°C selama semalam. Kultur secara berulang pada medium TSA dilakukan sampai memperoleh kultur murni. Pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi warna, bentuk, tepian koloni, elevasi atau permukaan koloni dan struktur dalam koloni dilakukan terhadap biakan murni yang diperoleh. Pengamatan ini.

### Karakterisasi Biokimia

Pengujian Gram dilakukan dengan pengecatan Gram dan uji KOH 3%. Pengamatan sifat biokimia dilakukan dengan melakukan pengujian katalase (menggunakan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%), uji oksidase, uji Oksidatif/Fermentatif (medium O/F), uji motility dan produksi indol dan ornitin (medium MIO), uji medium TSA (*Triple Sugar Iron Agar*), uji hidrolisis gelatin dan uji urease. Uji gula bertujuan untuk mendeterminasi kemampuan bakteri dalam mendegradasi gula dan menghasilkan asam organik yang berasal dari tiap-tiap jenis gula, yaitu glukosa, sukrosa, maltosa, arabinosa, manitol dan inositol (MacFaddin, 1980).

Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan pengamatan morfologi koloni, pengujian sifat fisiologis dan sifat biokimia disusun dalam bentuk tabel kemudian dicocokkan dengan karakter *Edwardsiella tarda* yang terdapat dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

### Reinfeksi untuk Postulat Koch

Reinfeksi untuk pemenuhan postulat Koch dilakukan dengan menyuntikkan bakteri hasil kultur pada ikan sehat. Uji infeksi ini dengan menyuntikkan dilakukan secara *intra-peritoneal* dengan dosis 10<sup>7</sup> cfu/ikan pada 10 ekor ikan nila, karper atau lele mengikuti asal isolasinya yang berukuran 7-9 cm. Ikan dipelihara selama 7 hari dan diamati gejala eksternal serta reaksi yang ditimbulkan dan mortalitas ikan akibat penyuntikan bakteri tersebut. Reisolasi bakteri dilakukan pada ikan yang telah terindikasi penyakit dan atau mati dilakukan secara aseptis dari organ ginjal dengan medium TSA.

### Uji Patogenisitas Bakteri

Pengujian patogenisitas dilakukan pada ikan patin dengan panjang total 7-9 cm. Ikan dipelihara pada bak dengan air mengalir dan penyiponan setiap hari dan pemberian pakan setiap pagi dan sore selama 7 hari. Bakteri dikultur pada media TSB kemudian diinkubasi 24 jam kemudian dilakukan pengenceran pada berbagai kepadatan. Penyuntikkan bakteri dilakukan dengan metode *intra-peritoneal* sebanyak 6 x 10<sup>3</sup> CFU, 6 x 10<sup>4</sup> CFU, 6 x 10<sup>5</sup> CFU, 6 x 10<sup>6</sup> CFU, dan 6 x 10<sup>7</sup> CFU sebanyak 10 ekor untuk tiap dosis dan dipelihara dalam bak dengan kontrol

tanpa penyuntikan. Pengamatan kematian dan gejala ekstremitas dilakukan secara periodik setiap enam jam selama 7 hari. Penentuan tingkat patogensitas dengan mengetahui nilai LD<sub>50</sub> standar deviasinya dihitung dengan metode *Dragstedt-Behrens* (Hubert, 1980).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### Isolasi dan Identifikasi

Dalam penelitian ini sampel ikan yang diambil berupa ikan lele dumbo, nila, karper dengan ukuran rerata berat tubuh 84,4±69,4 g dan panjang 20,7±6,73 cm. Sampel ini menunjukkan gejala gerakan yang tidak setimbang pada perairan, ikan mengalami perdarahan pada bagian tubuh, mata menonjol keluar, terdapat lesi kecil, mengalami kerusakan pada bagian sirip, kulit pucat dan terkelupas.

Dari proses isolasi berhasil mendapatkan 33 isolat bakteri murni.

Bakteri *E. tarda* memiliki ciri-ciri koloni dengan permukaan rata atau halus, bundar dengan diameter 1 mm, sedikit cembung, tepi entire, perkembangan koloninya berwarna putih atau transparan. Isolat bakteri yang memiliki ciri-ciri koloni yang seperti diuji lanjut dengan uji Gram dan pengamatan morfologi sel, uji oksidase dan katalase. Dari pegujian tersebut diperoleh 8 isolat yang memiliki kriteria sesuai dengan *E. tarda* yaitu Gram negatif, berbentuk batang, oksidase negative dan katalase positif. Delapan isolat ini diuji sifat biokimia berupa uji pada medium TSIA, uji MIO, uji gelatin, uji simmon's sitrate, uji O/F, uji MR/VP, uji urease dan uji gula. Berdasarkan hasil pengujian secara keseluruhan diatas diperoleh tiga isolat (L2, L3, dan N3) yang merujuk pada karakteristik bakteri *Edwardsiella tarda* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil uji morfologi dan biokimia delapan isolat.

Karakter	L1	L2	L3	N1	N2	N3	LMNG5	LMNG9	<i>E. tarda</i> *
Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
Oksidase	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O/F	O	F	F	O	F	F	O	O	F
Uji indol :									
Motilitas	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil
Dekarboksilase ornitin	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Produksi indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Uji TSIA :									
Fermentasi karbohidrat	K/K	K/A	K/A	K/K	K/A	K/A	K/K	K/K	K/A
Pembentukan gas	-	+	+	-	+	+	-	-	+
Produksi H <sub>2</sub> S	-	+	+	-	-	+	-	-	+
Simmon's citrate	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Gelatin	-	-	+	-	-	-	-	-	-
MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urease	T	-	-	T	T	-	T	T	-
Uji gula :									
Glukosa	-	+	+	-	+	+	-	-	+
Laktosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KK	72,7%	100%	95,6%	77,2%	90,9%	100%	77,2 %	81,8 %	

#### Keterangan :

(-): Negatif, (+): Positif, (O): Oksidatif, (F): Fakultatif, (K/K) : Alkaline/alkaline, (K/A): Alkaline/ Acid, (T): Tanpa pengujian.

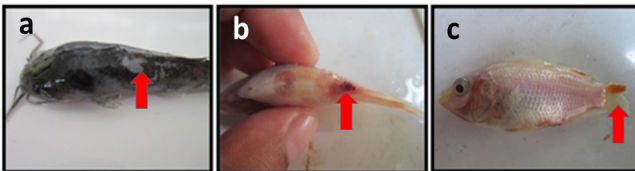
\*Holt et al., (1994); Austin (1987); Cowan (1974); MacFaddin; (1980).

Isolat L2 dan L3 merupakan isolat *E. tarda* yang diisolasi dari ikan lele Sedangkan isolat N3 diisolasi dari ikan nila dari Yogyakarta. Kesesuaian karakter L2, L3, dan N3 berturut-turut 100%, 95,6%, dan 100%. Karakter penting yang sangat menentukan bakteri *E. tarda* sudah sesuai yaitu adanya produksi H<sub>2</sub>S dan indol yang positif. Perbedaan hasil yang diperoleh antar isolat yaitu pada isolat L3 yaitu uji gelatinase dengan hasil positif.

#### Hasil Uji Postulat Koch

Uji infeksi terhadap ketiga isolat (L2, L3, dan N3) dilakukan untuk pembuktian pemenuhan Postulat Koch pada spesies ikan asal isolasi. Isolat L2 dan L3 disuntikkan pada ikan lele dan isolat N3 disuntikkan pada ikan nila dengan

konsentrasi bakteri 10<sup>6</sup> CFU/ikan dan satu bak sebagai kontrol tanpa penyuntikan. Hasil pengamatan menunjukkan gejala penyakit berupa warna atau kehilangan pigmentasi, kulit mengelupas, luka necrosis, pembengkakan, perut kembung. Gejala-gejala tersebut menyerupai dengan gejala awal yang ditimbulkan dari sampel ikan isolasi (Gambar 1 dan Tabel 2). Bakteri juga berhasil diisolasi dari ikan uji dan diperoleh bakteri dengan karakter koloni, Gram, uji katalase dan oksidase, uji TSIA, dan uji indol bakteri yang sama sebagaimana pada awal isolasi. Dengan demikian ketiga isolat tersebut merupakan bakteri penyebab penyakit karena memenuhi Postulat Koch.



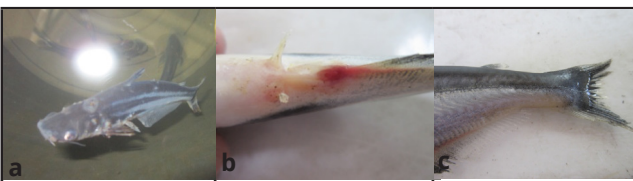
Gambar 1. Kondisi ikan pasca reinfeksi bakteri *E. tarda* pada uji Postulat Koch menunjukkan ikan terjadi perubahan pigmen warna dan kulit mengelupas (a); haemoragik pada bagian pangkal sirip dan anus (b); dan terjadi nekrosis pada sirip (c).

Tabel 2. Gejala di Lapangan dan Gejala Reinfeksi pasca Penyuntikan pada Uji Postulat Koch.

Isolat	Gejala awal	Gejala reinfeksi
L2	Warna kulit pucat dan terkelupas, mata keluar, terdapat luka abses, lesi kecil pada bagian tubuh, terjadi nekrosis pada sirip, mengalami bengkak pada bagian organ dalam (ginjal).	Warna kulit pucat, memudar, kehilangan pigmen warna, berenang di permukaan, pada bagian kepala luka borok berwarna putih, perut mengembung, bagian anal merah dan bengkak, sirip nekrosis.
L3	Warna kulit pucat dan terkelupas, terdapat luka bengkak pada bagian organ dalam (saluran pencernaan dan ginjal), gerakan berenang menggantung di permukaan.	Kulit mengalami kehilangan pigmen warna, pucat dan mengelupas, terdapat kantung-kantung gas menempel pada bagian tubuh, lambung membengkak, luka pada bagian anal memerah dan bengkak, pada bagian kepala lesi putih, sirip nekrosis.
N3	Warna kulit pucat dan terkelupas (melepuh), terdapat luka berdarah pada bagian sirip dan tubuh, tubuh terdapat luka perdarahan, lesi kecil pada bagian tubuh.	Nafsu makan berkurang, bagian anal terjadi pembengkakan dan berwarna merah. Gerakan operkulum lambat, insang berwarna merah gelap, sirip nekrosis.

#### Patogenisitas terhadap ikan patin

Ikan patin yang diinfeksi bakteri *E. tarda* menunjukkan terjadi perubahan gerakan renang dan morfologi tubuh ikan. Pada pengamatan jam ke-enam gerakan berenang mulai lamban, kemudian ikan berada di dasar bak. Pengamatan pada jam ke-12 sampai jam ke-24 gerakan berenang ikan menggantung di permukaan perairan. Kemudian lambat terhadap respon goncangan. Warna kulit ikan menjadi pucat dan pudar, terdapat lesi atau bintik pada bagian kepala, sirip punggung dan pada bagian tubuh ikan. Ikan mengalami luka borok atau haemoragik sampai pendarahan. Pada bagian lateral berwarna kekuningan, terjadi gripis pada bagian sirip kaudalis (ekor), dubur mengalami pembengkakan dan berwarna merah (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil uji patogenisitas *E. tarda* terhadap ikan patin menyebabkan ikan terjadi lesi kecil berwarna putih pada tubuh (a); terjadi pembengkakan pada bagian anus (haemoragik) (b); dan sirip ekor terjadi nekrosis (c).

Berdasarkan hasil pengamatan kematian ikan patin pada uji patogenisitas bakteri tersebut, diperoleh nilai  $LD_{50}$  *E. tarda* untuk isolat L2, L3 dan N3 masing-masing adalah  $4,64 \pm 0,35 \times 10^5$ ,  $1,54 \pm 0,07 \times 10^5$  dan  $1,13 \pm 0,13 \times 10^6$  cfu/ikan.

#### Pembahasan

*Edwardsiella tarda* adalah bakteri yang menyebabkan penyakit yang bersifat sistematik yang dapat menyerang ikan dalam berbagai tingkatan dan memiliki distribusi pada air tawar maupun air laut (Austin & Austin, 1999). Bakteri ini menyebabkan penyakit catfish, belanak, flounder, seabream, nila (Plumb, 1993; Robert, 2012), turbot, karper (Pridgeon & Klessius, 2012). Pada penelitian ini *E. tarda* telah dibuktikan sebagai bakteri pathogen pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dan nila merah (*Oreochromis* sp.).

Gejala yang muncul dari hasil uji postulat Koch berupa ikan berwarna cerah atau kehilangan pigmentasi, kulit mengelupas, luka nekrosis, pembengkakan, perut kembung. Gejala yang teramati pada uji patogenisitas berupa warna kulit ikan menjadi pucat dan pudar, terdapat lesi atau bintik pada bagian kepala, sirip punggung dan pada bagian tubuh ikan. Ikan mengalami luka borok atau haemoragik sampai pendarahan. Pada bagian lateral berwarna kekuningan, terjadi gripis pada bagian sirip kaudalis (ekor), dubur mengalami pembengkakan dan berwarna merah. Gejala-gejala yang teramati pada uji postulat koch dan patogenisitas tersebut mempunyai banyak persamaan dengan infeksi *E. tarda* pada ikan sidat deskripsi Austin & Austin (1999). Infeksi *E. tarda* pada sidat menyebar pada luka organ-organ dalam ke daging, kulit terjadi nekrosis, kemudian luka tersebut berkembang dalam daging dan dermis menyebabkan kulit melepuh dan kehilangan pigmen warna.

Infeksi *E. tarda* bersifat ganas terhadap ikan patin, dimana kematian ikan uji 50% ( $LD_{50}$ ) isolat L2, L3, dan N3 terjadi pada dosis infeksi berturut-turut  $(4,64 \pm 0,35) \times 10^5$ ,  $(1,54 \pm 0,07) \times 10^5$ ,  $(1,13 \pm 0,13) \times 10^6$  cfu/ikan. Besarnya  $LD_{50}$  ini tidak terlalu berbeda dengan hasil pengujian yang lain yaitu pada hasil Amandi *et al.* (1982) menunjukkan nilai  $LD_{50}$  pada ikan salmon dan steelhead trout sebesar  $4,1 \times 10^6$  dan  $5,6 \times 10^6$  sel berturut-turut. Hasil penelitian Narwiyani (2010) mendapatkan nilai  $LC_{50}$  *E. tarda* pada ikan nila sebesar  $1,8 \times 10^5$  cfu/ikan, dan terhadap patin sebesar  $2,6 \times 10^8$  sel/mL. Narwiyani *et al.* (2011) mendapatkan nilai  $LC_{50}$  *E. tarda* terhadap *Carassius auratus* dan *Telmatherina celebensis* masing-masing sebesar  $1,8 \times 10^5$  dan  $2,3 \times 10^7$  cfu/ikan. Sedangkan Mekuchi *et al.* (1995) melaporkan bahwa  $LD_{50}$  *E. tarda* dengan infeksi secara intraperitoneal pada ikan sebelah *Paralichthys olivaceus* sebesar  $1,2 \times 10^2$  cfu/ikan. Dalam penelitian ini mendapatkan nilai  $LD_{50}$  dari isolat-isolat yang diperoleh lebih besar dibandingkan dengan penelitian di atas mengindikasikan bahwa ikan sebelah *P. olivaceus* rentan terhadap infeksi *E. tarda*.

#### KESIMPULAN

Bakteri *Edwardsiella tarda* isolat L2, L3, dan N3 merupakan bakteri patogen pada ikan. Tingkat patogenisitas dengan nilai  $LD_{50}$  pada ikan patin (*Pangasius* sp.) dari *E. tarda* isolat L2, L3, dan N3 masing-masing sebesar  $4,64 \pm 0,35 \times 10^5$ ,  $1,54 \pm 0,07 \times 10^5$ , dan  $1,13 \pm 0,13 \times 10^6$  CFU/ikan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai dari Hibah Penelitian Fakultas Pertanian UGM.

## DAFTAR PUSTAKA

- Austin, B & D.A. Austi. 1987. Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish. John Wiley and Sons. Chichester.
- Bondad-Reantaso, M.G., R.P. Subasinghe., J.R. Arthur., K. Ogawa., S. Chinabut., R. Adlard., Z. Tan & M. Shariff. 2015. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet Parasitol.* 132 (3-4): 249-72.
- Cowan, S.T. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Second edition. Cambridge University. Cambridge. 130p.
- Holt, J.G., P.H.A. Sneath., J.T. Stanley., & S.T Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th Ed. Williams & Wilkins. Baltimore
- MacFaddin, J.F. 1980. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. Second Ed. Williams & Wilkins. Baltimore.
- Murwantoko., Rozi., I. Istiqomah & K.H. Nitimulyo. 2013. Isolasi, Karakterisasi, dan Patogenitas Bakteri Penyebab Penyakit pada Gurami (*Osphronemus goramy*) di Kabupaten Bantul. *Jurnal Perikanan XV* (2): 83-90
- Rejeki, S., Triyanto & Murwantoko. 2016. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Aeromonas* sp. dari Lele Dumbo (*Clarias* sp.) di Kabupaten Ngawi. *Jurnal Perikanan 18* (2): 55-60.
- Narwiyani, S. 2011. Lethal Concentration 50% (LC<sub>50</sub>) Empat Isolat *Edwardsiella tarda* pada Ikan Ari Tawar di Indonesia. *Jurnal Sain Veteriner*. 28 (2): 51-54.
- Narwiyani, S. & Kurniasih. 2011<sup>a</sup>. *Phylogenetic Tree* dari Empat Isolat *Edwardsiella tarda* di Indonesia. 16 (2): 348-353.
- Narwiyani, S. & Kurniasih. 2011<sup>b</sup>. Perbandingan Patogenesitas, *Edwardsiella tarda* Pada Ikan Mas Koki (*Carassius auratus*) Dan Ikan Celebes Rainbow (*Telmatherina celebensis*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 6 (2): 291-301
- Plumb, J.A. 1993. *Edwardsiella Septicaemia dalam Bacterial Diseases of Fish*. V. English R. J. Robert and N. R. Bromage. Blackwell Scientific Publication. London. 61-79.
- Plumb, J.A & L.A Hanson. 2011. *Health Maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes*. Wiley-Blackwell. Iowa
- Pridgeon, J.W & P.H. Klesius. 2012. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Reviews* 7: 048