

**UJI KONSENTRASI PENGHAMBATAN MINIMAL, RESISTENSI
DAN PENGGUNAAN ANTIBIOTIK UNTUK MENANGGULANGI
PENYAKIT MOTIL AEROMONAS SEPTISEMIA (MAS)
PADA LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)**

**MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION (MIC) AND RESISTENCY TEST,
AND ANTIBIOTICS MEDICATION AGAINST MOTIL AEROMONAS
SEPTICEMIA IN AFRICAN CAT FISH (*Clarias gariepinus*)**

Kamiso, H.N., Triyanto, Sri Hartati*

Abstract

Five isolates of *A. hydrophila* were used for MIC, and resistency tests to rifampicin, kanamycin, chloramphenicol, erythromycin and oxytetracyclin by dilution method with TSB medium. The results indicated that the bacteria had various degree of sensitivity to these antibiotics. Resistency of bacteria isolates increased 1.3 to 62 times after they were passaged three times to MIC of the drugs or antibiotics by dilution method.

Other test was kanamycin medication conducted by i.p. injection, immersion and oral methods. The results showed that all kanamycin medication methods were effective to decrease mortality rates caused by *A. hydrophila* infection. Oral medication method was the most effective compared to other methods because this method could minimize stress during handling. However, oral medication took much longer time (15 days) than immersion and injection methods (few minutes).

Pengantar

Penanggulangan hama dan penyakit ikan selama ini tertumpu pada penggunaan antibiotik dan disinfektan. Hal ini dapat dimengerti karena antibiotik mudah didapat, praktis dan apabila tepat penggunaannya cukup efektif. Sehingga pada saat yang mendesak dan ada epizootik pengobatan sering tidak dapat dihindarkan. Tetapi penggunaan antibiotik secara terus menerus akan menimbulkan masalah, yaitu timbulnya patogen yang resisten, penimbunan residu antibiotik di dalam tubuh ikan, maupun pencemaran lingkungan yang

akhirnya dapat mempengaruhi organisme perairan yang berguna (Wu dkk., 1981). Apabila telah timbul patogen yang resisten maka dosis antibiotik harus ditingkatkan. Hal ini berarti menambah biaya, dan meningkatkan pengaruh sampingan.

Bahan dan Metode

1. Pengujian respon bakteri terhadap antibiotik
 - a. Penentuan konsentrasi penghambatan minimal (MIC)
Untuk mengetahui MIC dari masing-masing isolat bakteri yang dipilih, dilaku-

*) Staf Pengajar Jurusan Perikanan, Fak. Pertanian UGM

kan uji terhadap oxytetracyclin, chloramphenicol, erythromycin, kanamycin dan rifampicin. Untuk pengujian ini digunakan metode dilution (Washington dan Sutter, 1980).

b. Resistensi bakteri terhadap antibiotik Masing-masing isolat bakteri tersebut, dalam uji 1.a. digunakan untuk uji resistensi terhadap antibiotik yang sama. Masing-masing isolat bakteri ditumbuhkan pada medium TSB yang telah diberi antibiotik pada dosis MIC selama 24 jam. Perlakuan diulangi sebanyak 3 kali. Kemudian dari masing-masing isolat bakteri tersebut ditentukan nilai MIC yang baru, caranya seperti pada pengujian 1.a., (Washington dan Sutter, 1980).

c. Uji pengobatan ikan

Dalam percobaan ini dilakukan tiga cara pengobatan yaitu suntikan intraperitoneal, oral dan rendaman dengan kanamycin terhadap 200 ekor lele dumbo ukuran 5-7 cm untuk masing-masing cara pengobatan.

Dosis yang digunakan untuk suntikan 20 mg/kg berat ikan, oral 100 mg/kg pelet dengan pemberian selama 15 hari dan rendaman 0,05mg/l selama 15 menit. Setelah pengobatan, tepatnya pada hari ke-1 dan ke-7, ikan uji untuk perlakuan suntikan dan rendaman, hari ke 15 dan 22 untuk oral, ikan diujiantang. Ujiantang dilakukan dengan isolat Magelang (PA01) dengan dosis LD50 (105) secara rendaman selama 30 menit. Pengamatan yang meliputi gejala penyakit yang timbul dan mortalitas ikan uji diamati setiap hari selama 15 hari.

Hasil dan Pembahasan

a. Konsentrasi penghambatan minimal (MIC)

Hasil pengujian konsentrasi penghambatan minimal (MIC) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1
Konsentrasi penghambatan minimal (MIC) beberapa isolat *Aeromonas hydrophila* (mg/l)

| Antibiotik | Isolat bakteri | | | | |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|
| | Mage- lang (PA01) | Purwo- rejo (PA05) | Kebu- men (PA06) | Ban- tul (PA07) | Bo- gor (PA02) |
| 1. Rifampicin | 40 | 30 | 20 | 30 | 30 |
| 2. Kanamycin | 60 | 100 | 70 | 80 | 100 |
| 3. Chloramphenicol | 15 | 3,5 | 100 | 2,5 | 10 |
| 4. Erythromycin | 60 | 100 | 80 | 20 | 100 |
| 5. Oxytetracyclin | 30 | 150 | 70 | 30 | 10 |

Tabel 1 di atas menunjukkan bahwa lima isolat yang berasal dari berbagai daerah ternyata semua sensitif terhadap rifampicin, empat isolat sensitif terhadap chloramphenicol, satu isolat sensitif terhadap erythromycin, tiga isolat sensitif terhadap oxytetracycline, dan semua isolat mempunyai sensitivitas relatif sama terhadap kanamycin.

b. Resistensi bakteri terhadap antibiotik

Selain uji MIC, juga dilakukan uji resistensi yang dengan cara menginokulasikan isolat pada TSB yang diberi antibiotik dengan dosis MIC sebanyak tiga kali. Hasil uji resistensi dapat dilihat pada tabel 2.

Table 2
Resistensi beberapa isolat *Aeromonas hydrophila* terhadap beberapa antibiotik (mg/l)

| Antibiotik | Isolat bakteri | | | | |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-----------------------|----------------------|
| | Mage- lang (PA01) | Purwo- rejo (PA05) | Kebu- men (PA06) | Ban- tul (PA07) | Bo- gor (PA02) |
| 1. Rifampicin | 115 | 200 | 200 | 150 | 200 |
| 2. Kanamycin | 100 | 130 | 100 | 110 | 200 |
| 3. Chloramphenicol | 120 | 130 | 150 | 130 | 100 |
| 4. Erythromycin | >200 | >200 | >200 | >200 | >200 |
| 5. Oxytetracyclin | 100 | 200 | 200 | 90 | 150 |

Pada tabel 2 terlihat bahwa resistensi semua isolat uji terhadap semua antibiotik meningkat. Peningkatan resistensi sangat bervariasi, yang terendah adalah isolat Purworejo (PA 05) terhadap kanamycin (1,3 kali) dan tertinggi pada isolat Bantul (PA 07) terhadap chloramphenicol (62 kali).

c. Uji pengobatan ikan

Hasil uji pengobatan lele dumbo (tabel 3) menunjukkan bahwa semua cara pengobatan dengan kanamycin dapat menekan mortalitas ikan oleh infeksi *A. hydrophila*. Mortalitas pada pengobatan dengan berbagai cara berkisar antara 1,7-60,0%, sedangkan mortalitas kontrol berkisar antara 35-65%. Mortalitas terendah ternyata diperoleh dari cara pengobatan oral sedang tertinggi cara rendaman (pada hari ke 1) dan cara suntikan (pada hari ke 7).

Tabel 3
Mortalitas lele dumbo (*Clarias gariepinus*) setelah pengobatan dengan kanamycin

| Cara pengobatan | Infeksi ke-1 (hari ke-1) | Infeksi ke-2 (hari ke-7) |
|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1. Rendaman | 60,0% | 22,5% |
| 2. Suntikan | 48,3% | 25,0% |
| 3. Kontrol | 65,0% | 35,5% |
| Cara pengobatan | (hari ke-15) | (hari ke-22) |
| 4. Oral | 1,7% | 1,7% |

*) Pada infeksi pertama untuk rendaman, suntikan dan kontrol ikan berumur 35 hari dan untuk oral 50 hari. Pada infeksi kedua ikan berumur 42 hari dan 57 hari.

Tabel 3 menunjukkan bahwa sensitivitas berbagai isolasi *Aeromonas hydrophila* bervariasi. Variasi sensitivitas bakteri terhadap antibiotik dapat terjadi baik oleh sifat genetik maupun oleh pengaruh lingkungan dan kebiasaan petani dalam menggunakan antibiotik. Hasil

penelitian Aoki dan Kitao (1981) terhadap *Edwardsella tarda* juga menunjukkan adanya variasi sensitivitas dari 168 isolat yang diuji terhadap delapan macam antibiotik.

Pada uji resistensi, juga terlihat peningkatan resistensi pada semua isolat bakteri *A. hydrophila*. Besarnya peningkatan resistensi ini juga bervariasi antar isolat. Dalam penelitian ini resistensi bakteri terhadap antibiotik meningkat antara 1,3 sampai 62 kali setelah dilakukan isolasi sebanyak tiga kali pada MIC masing-masing antibiotik. Salah satu sebab peningkatan resistensi adalah R-plasmid (Aoki dan Kitao, 1981; Austin dan Austin, 1987). Kemungkinan lain peningkatan resistensi adalah oleh adanya peningkatan pembuatan enzim tertentu atau oleh adanya mutasi sehingga terjadi perubahan reseptor dan tingkat permeabilitas terhadap antibiotik (Davis, 1980). Namun dalam penelitian ini tidak dilakukan uji untuk menentukan mekanisme peningkatan resistensi. Pada *V. anguillarum* plasmid membawa *genetic determinant* yang merupakan salah satu faktor yang menentukan keganasan dan resistensi terhadap antibiotik. Jenis plasmid yang dimiliki suatu strain dapat berbeda dengan strain yang lain.

Perbedaan jenis plasmid dapat menyebabkan keganasan yang sangat berbeda (Crosa dkk., 1980). Untuk itu perlu mendapat pertimbangan dalam penggunaan antibiotik agar terjadinya strain resisten dapat dicegah.

Uji pengobatan dengan kanamycin menunjukkan bahwa mortalitas pada pemberian antibiotik secara oral 1,7%, rendaman 60,0% dan 22,5%, suntikan 48,3% dan 25,0%, sedang kontrol 65,0% dan 35,0%. Tingginya mortalitas ikan pada pengobatan secara rendaman dan suntikan mungkin karena stres. Pada

cara ini ikan harus dipegang dan dipindah ke tempat lain. Sehingga kondisi ikan relatif turun dibandingkan pada cara oral yang tidak dipegang dan dipindah. Untuk infeksi kedua (satu minggu setelah infeksi pertama) mortalitas ikan menurun karena stres pada ikan sudah berkurang.

Pengobatan cara oral ternyata lebih efektif dari cara suntikan maupun rendaman. Tetapi cara oral memerlukan waktu lebih lama dibanding kedua cara yang lain. Pada cara oral, antibiotik masuk ke dalam tubuh dan sampai di darah sedikit demi sedikit bersama pakan yang diberikan. Untuk penanggulangan penyakit bakterial dengan antibiotik memang ada dua hal yang harus diperhatikan. Pertama penanganan yang baik agar ikan tidak stres (Snieszko, 1978) dan jangan menggunakan dosis sub terapi dalam jangka waktu lama (berulang-ulang) agar tidak terjadi peningkatan resistensi bakteri (Hahnel dan Gould, 1982).

Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Beberapa kesimpulan yang dapat dikemukakan dari penelitian ini adalah :

- a. *Aeromonas hydrophila* ternyata sensitif terhadap beberapa jenis antibiotik. Sehingga penggunaan antibiotik dapat dilakukan untuk penanggulangan penyakit MAS.
- b. *Aeromonas hydrophila* mampu meningkatkan resistensi terhadap antibiotik.
- c. Kanamycin ternyata akan lebih baik apabila diberikan dengan cara oral dicampur dengan pakan. Tetapi diperlukan waktu pengobatan yang lebih lama (15 hari) daripada cara rendaman dan

suntikan (beberapa menit).

2. Saran

Penanggulangan *A. hydrophila* dengan antibiotik harus dilakukan dengan bijaksana karena dapat meningkatkan resistensi bakteri. Antibiotik sebaiknya digunakan pada saat ada wabah penyakit dengan dosis, cara dan waktu yang tepat. Residu antibiotik jangan sampai mencemari air kolam atau perairan umum terutama yang di dalamnya terdapat ikan atau akan dimanfaatkan untuk budidaya ikan. Gunakan air dan tempat yang terbatas pada saat pengobatan secara rendaman dan air yang tidak digunakan jangan dibuang ke perairan umum, tetapi buat lubang peresapan atau cara lain yang aman.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih disampaikan terutama kepada ARM Project, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Departemen Pertanian, Republik Indonesia, Jakarta. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Saudara Darodji Amredji dan Baharudin, A.Md. sebagai teknisi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Austin, B. dan D.A. Austin. 1987. Bacterial fish pathogens. Ellis Horwood. New York. 364 p.
- Crosa, J.H., L.L. Hodges dan M.H. Schiewe. 1980. Curing of plasmid is correlated with an attenuation of virulence in the marine fish pathogen *Vibrio anguillarum*. Infect. Immun., 27: 897-902.

Davis, B.D. 1980. The basic of chemo-therapy. in Microbiology, including immunology and molecular genetics. 3rd ed.

Davis B.D., Dulbeco R., Eisen H.N., Ginsberg H.S. (eds.) ;, 111-126., Harper and Row Publ. Philadelphia.

Hahnel, G.B. dan R.W. Ganed, 1982. Effects of temperature on biochemical reactions and drug resistance of virulent and avirulent *Aeromonas salmonicida*. J. Fish Dis. 5:329-337.

Snieszko, S.F. 1978. Control of fish disease. Mar. Fish Rev. 301: 65-68.

Washington, J.A. dan V.L. Sutter., 1980. Dilution susceptibility test; Agar and macro-broth dilution procedures. in Manual of clinical microbiology, 3rd ed., Lennete, E.H. et al., (eds.). Am. Mic. Washington.

Wu, J., H. Lin. L. Jan, Y. Hsu dan L., Chang 1981. Biological control of fish bacterial pathogen, *Aeromonas hydrophila* by bacteriophage AH 1. Fish Pathol. 15(3/4):271-276.