

Full Paper

**ISOLASI, KARAKTERISASI, DAN PATOGENITAS BAKTERI
PENYEBAB PENYAKIT PADA GURAMI (*Osphronemus goramy*)
DI KABUPATEN BANTUL****ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND PATHOGENICITY OF
PATHOGENIC BACTERIA ON GOURAMY (*Osphronemus goramy*)
FROM BANTUL REGENCY****Murwantoko*, Rozi, Indah Istiqomah dan Kamiso H. Nitimulyo**Laboratorium Hama Penyakit Ikan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian UGM
Jl. Flora, Gedung A4 Bulaksumur Yogyakarta

*Penulis untuk korespondensi, E-mail: murwantoko@yahoo.com

Abstrak

Gurami (*Osphronemus goramy*) merupakan komoditas unggulan dan digemari oleh masyarakat. Salah satu faktor pembatas dalam budidaya air tawar adalah infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis bakteri penyebab penyakit gurami di Bantul dan mengetahui tingkat patogenisitasnya. Sebanyak 18 ekor sampel gurami diambil dari tujuh lokasi yang berbeda. Bakteri diisolasi dari ginjal dan dilakukan purnian. Karakterisasi bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi koloni, sel bakteri dan sifat biokimianya. Uji Postulat Koch dilakukan untuk mengkonfirmasi sifat sebagai agen penyebab penyakit. Uji patogenisitas dilakukan dengan menyuntikkan berbagai dosis bakteri pada ikan dan menghitung nilai *Lethal Dosage* 50 (LD_{50}). Sebanyak 20 isolat *Aeromonas hydrophila*, 5 isolat *A. salmonicida* dan masing-masing satu isolat *Vibrio cholerae*, *V. anguillarum* dan *Pseudomonas fluorescens* telah diisolasi dan terkonfirmasi sebagai penyebab penyakit pada gurami. Terdapat keragaman tingkat keganasan bakteri terhadap gurami, dengan bakteri yang bersifat virulen, berupa *A. hydrophila* isolate GBNB, GGRB, dan GCMA3 dengan LD_{50} sebesar $6,28 \times 10^5$; $2,09 \times 10^5$ dan $5,37 \times 10^5$ CFU/ekor, dan yang bersifat tidak virulen berupa *A. hydrophila* isolate GKRA dan *Vibrio cholerae* isolate GPDA dengan LD_{50} $7,14 \times 10^7$ dan $3,45 \times 10^7$ CFU/ekor.

Kata kunci: bakteri patogen, isolasi, gurami (*Osphronemus goramy*), karakterisasi, patogenisitas**Abstract**

Gouramy (*Osphronemus goramy*) is an important fish commodity and preferred to be consumed by people. One of the limiting factor in freshwater aquaculture is bacterial infections. The objective of this research was to identify the species of pathogenic bacteria on gourami from Bantul Regency and to determine their pathogenicity. Eighteen diseased gourami were collected from seven different fish farms. Bacteria were isolated from kidney and purified on TSA medium. Characterization was conducted on the morphology of bacterial colonies and cells, biochemical tests. Koch Postulate Test was done to confirm pathogenic properties of the isolated bacteria. Pathogenicity test was performed by intraperitoneal injection of serial doses of bacteria into gourami and the *Lethal Dosage* 50 (LD_{50}) was calculated. Twenty isolates of *Aeromonas hydrophila*, 5 isolates of *Aeromonas salmonicida* and one isolate of *Vibrio cholerae*, *Vibrio anguillarum* and *Pseudomonas fluorescens* respectively were isolated from and confirmed as pathogen on gourami. Pathogenic diversity was found among isolated bacteria, which a group of virulent bacteria as *Aeromonas hydrophila* GBNB, GGRB, and GCMA3 with LD_{50} values of 6.28×10^5 , 2.09×10^5 and 5.37×10^5 CFU /fish; and a group of non virulent bacteria as *A. hydrophila* GKRA isolate and *Vibrio cholerae* GPDA isolate with LD_{50} value of 7.14×10^7 and 3.45×10^7 CFU/fish respectively.

Key words: characterization, gourami (*Osphronemus goramy*), identification, Koch's postulate, pathogenic bacteria

Pengantar

Gurami (*Osphronemus goramy*) merupakan salah satu ikan ekonomis penting yang disukai masyarakat Indonesia. Komoditas unggulan dan mempunyai nilai ekonomis yang relatif tinggi dan stabil. Kelebihan gurami dibandingkan ikan air tawar lainnya yaitu memiliki tekstur daging yang baik, rasa dagingnya yang gurih serta duri dan tulang yang sedikit dan mampu hidup pada kadar oksigen yang rendah (Sitanggung & Sarwono, 2007, Hardaningsih *et al.*, 2012). Gurami telah banyak di budidayakan di seluruh daerah dipulau Jawa, dan Sumatra, khususnya di Lampung, Sumatra Barat, Sumatra Selatan dan Riau (Hardaningsih *et al.*, 2012).

Budidaya gurami di tingkat petani dibudidayakan dari yang jumlahnya sedikit sampai banyak, dan umumnya pada kolam ukuran kecil tapi dengan kepadatan yang tinggi. Kepadatan yang tinggi dapat memicu terjadinya stress pada ikan dan rentan terhadap penyakit (Hardaningsih *et al.*, 2012). Menurut Kamiso (1986) bahwa tiga hambatan utama dalam budidaya ikan di Indonesia adalah persediaan benih yang tidak unggul, persediaan pakan yang mahal dan masalah penyakit.

Beberapa penyakit yang sering menyerang gurami antara lain disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. dan *Flexibacter columnaris*. Serangan penyakit ini dapat menyebabkan kematian ikan antara 30-80% (Puspowardoyo & Djarijah, 1992, Khairuman & Amri, 2003; Rukmana, 2005). Sedangkan menurut Hardaningsih *et al.* (2012), penyakit bakterial yang mungkin menyerang gurami antara lain : *Aeromonas hydrophila*, *Mycobacterium* sp dan *Streptococcus* sp.

A. hydrophila merupakan bakteri Gram negatif, berbentuk batang, ukuran (0,8-1,0) x (1,0-3,5) µm, bergerak (motil) tidak membentuk spora, bersifat fakultatif anaerobik, fermentatif, sitokrom oksidase positif, katalase positif, menghasilkan H₂S, dan resisten terhadap agen *vibriostatic* O/129, serta bereaksi positif pada uji *Voges Proskauer*, indole, hidrolisis gelatin dan *arginine dehydrolase*, dan beraksi negatif pada *ornitin dekarboksilase*. *A. hydrophila* mampu memfermentasi (glukosa, galaktosa, maltosa, mannitol, dan sukrosa), namun tidak mampu memfermentasikan (xylosa, inositol, sorbitol, raffinosa, dulcitol), dan hasil yang bervariasi pada laktosa (Macfaddin, 1980; Holt *et al.*, 1994; Noga, 2000; Austin & Austin, 2007).

A. salmonicida merupakan bakteri bersifat Gram negatif, sel berbentuk batang pendek, berukuran 1-2

µm, non-motif, anaerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan kapsul, tumbuh pada konsentrasi NaCl 0-2%, namun tidak tumbuh pada konsentrasi 4% NaCl, bereaksi positif pada uji katalase, oksidase dan *arginin dehydrosilase*, bereaksi negatif pada *ujilisin dekarboksilase*, dan *onitin dekarboksilase*, dan sedikit menghasilkan asam pada glukosa, maltosa manosa, galaktosa (Macfaddin, 1980; Holt *et al.*, 1994; Noga, 2000; Austin & Austin, 2007). Bakteri ini menyebabkan penyakit furunkulosis yang menyerupai bisul menjadi luka terbuka berisi nanah, darah dan jaringan yang rusak ditengah luka, sirip putus/patah, lendir berdarah pada rectum, pembentukan cairan berdarah, nekrosis (Kamiso *et al.*, 1993, Austin & Austin 2007). *A. Salmonicida* juga menyerang ikan sidat, cyprinidae. Pada ikan non salmon penyakitnya bersifat atypical dengan gejalanya kerusakan pada kulit, hemoragik pada organ (Austin & Austin 2007).

Penyakit yang ditimbulkan oleh genus *Vibrio* disebut sebagai *vibriosis* dengan gejala umum berupa hemoragik pada seluruh tubuh, nekrosis pada jaringan maupun eritema. *Vibriosis* merupakan penyakit bakterial yang terdapat diseluruh dunia pada usaha budidaya ikan laut dan air payau dan menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan (Kamiso, 1996). Selain di air laut dan payau, *Vibriosis* juga terjadi dilingkungan air tawar (Noga, 2000, Austin & Austin 2007). Beberapa spesies *Vibrio* patogen pada ikan antara lain *V. alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. charcariae*, *V. cholerae*, *V. damsela*, *V. ordalii*, *V. vulnificus* (Austin & Austin, 2007), *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. holisae*, *V. fluvialis*, *V. metchnikovii*, dan *V. furnisii* (Rollins & Joseph, 2000).

Pada penelitian ini bakteri diisolasi dari ikan gurami yang sakit, dikarakterisasi diuji sifat patogennya dan beberapa isolat terpilih dihitung tingkat patogenitasnya terhadap benih gurami.

Bahan dan Metode

Koleksi Ikan Sakit

Sampel yang digunakan berupa gurami yang diduga terinfeksi oleh bakteri dengan ciri adanya hemoragik dan atau luka. Sebanyak 18 ekor gurami ukuran 50-135 gram atau (9-20 cm) dari tujuh lokasi Bantul telah dikoleksi bulan Juli 2010. Sampel ikan tersebut sebanyak empat ekor dari di Plurugan (Titornirmolo, Kasihan), dua ekor dari Ceme (Srigading, Sanden), tiga ekor dari Pandansari (Bantul), dua ekor dari Grojokan (Wirokerten), dua ekor dari Jlamprang

(Jambi dan, Kretek), dua ekor dari Banguntapan (Banguntapan), dan tiga ekor dari Pandak (Kadisoro, Gilang harjo). Pengamatan gejala penyakit dilakukan dengan pengamatan tingkah laku ikan di kolam dan dibawa ke laboratorium. Di laboratorium, ikan diamati gejala eksternalnya. Selanjutnya ikan dibedah untuk diamati gejala-gejala ketidakknormalan yang ada pada jaringan dan organ internalnya.

Isolasi bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil inokulan dari ginjal secara aseptis dan ditumbuhkan pada medium TSA. Bakteri diinkubasi pada suhu 30° C selama 24 jam. Untuk mendapatkan isolat yang murni, koloni yang tumbuh diinokulasikan secara goresan pada medium TSA dan ditumbuhkan. Isolat yang sudah murni diamati morfologi koloninya yang meliputi bentuk, permukaan, tepi, elevasi, ukuran, dan warna koloni.

Uji Postulat Koch

Uji Postulat Koch dilakukan untuk mengetahui sifat patogen dari isolat. Benih gurami dengan rerata panjang 12 cm yang sehat dan telah diaklimatisasikan selama hari-hari, disuntik dengan kultur bakteri uji dalam TSB berumur semalam sebanyak 0,1 ml secara intraperitoneal. Ikan kontrol berupa benih gurami yang disuntik dengan PBS sebanyak 0,1 ml. Masing-masing isolat bakteri disuntikkan pada 10 ekor ikan. Selanjutnya ikan diperlihara dan dilakukan pengamatan terhadap gejala eksternal dan internal serta kematiannya. Bakteri diisolasi lagi dari ginjal ikan yang mati dan atau bergejala sakit pada medium TSA, GSP dan TCBS dan dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Mortalitas dan rerata waktu kematian dihitung dari masing-masing isolat bakteri.

Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan Gram, pengamatan motilitas secara langsung, uji oksidase, uji katalase. Pengujian sifat biokimia berdasarkan pada Macfaddin (1980). Bahan uji biokimia berupa media O/F (Merck), *Methyl Red* (MR) (Merck), gelatin (Difco), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Oxoid), uji *Simmon citrate* (Merck), D-mannose (Difco), D-manitol, sukrosa (Merck), D-Glukosa (Merck), D-galaktosa (Merck), atau D-sorbitol (Merck), Dulcitol, D-Lactosa, D-Maltosa, Raffinose, D-Xylose, Inositol, Inulin, Medium uji *arginine dehydrolase*, *lysine dekarboksilase*, *ornitin dekarboksilase* (ALO), (L-*arginine* (Merck), L-*ornithin monohydrochloride* (Merck); atau L-*lysine dihydrochloride* (Merck), *novobiocin* 30 µg (Oxoid)

dan O/129 10µg (Oxoid). Identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt et al. 1994), *Biochemical test for Identification of Medical Bacteria* (Macfaddin 1980), kemudian dilengkapi dengan *Bacterial Fish Patogens: Disease in Farmed and Wild Fish* (Austin & Austin 2007).

Uji Patogenitas

Beberapa bakteri terpilih diuji patogenitasnya. Bakteri diuji dikultur pada media TSB dan dihitung kepadatan bakteri yang hidup metode *Total Plate Count* (TPC) sesuai acuan Jutono et al. (1973). Bakteri diinfeksi pada benih gurami sebanyak 0.1 mL dengan dosis penyuntikan 10⁴, 10⁵, 10⁶, 10⁷, dan 10⁸ CFU/ikan. Untuk kontrol benih gurami disuntik dengan 0,1 mL PBS. Pengamatan dilakukan terhadap kematian ikan dan kualitas air. Kualitas air yang diamati meliputi suhu air, pH, kadar oksigen terlarut, kadar CO₂ dan alkalinitas. Perhitungan LD₅₀ dilakukan dengan Metode *Dragstet and Behrens* (Hubert, 1980).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan Pembuktian Sifat Patogen

Sampel gurami sakit dari berbagai lokasi memiliki gejala-gejala hampir sama antara sampel yang satu dengan yang lainnya. Ikan gurami memperlihatkan adanya gelembung udara yang dikeluarkan melalui operculum, bergerombol di permukaan air, hemoragik pada beberapa bagian tubuh terutama dipangkal sirip. Rongga mulut kemerah-merahan, salah satu mata atau keduanya menonjol (*exophthalmia*) serta beberapa sampel ikan terlihat sisik rontok. Sedangkan gejala internal terlihat adanya perubahan warna ginjal dan cenderung membengkak.

Dari 18 sampel ikan gurami yang digunakan dalam penelitian ini, telah berhasil diisolasi dan dimurnikan sebanyak 30 isolat bakteri. Semua isolat yang dihasilkan mempunyai karakteristik bentuk koloni circular, bentuk elevasi convex, bentuk tepi entire dan bentuk di agar miring echinulate. Warna koloni di TSA bervariasi sebagian besar berwarna krem, dan ada beberapa yang berwarna coklat dan kuning. Ukuran koloni juga bervariasi dengan diameter dari 1 mm sampai dengan 3 mm. Isolat-isolat bakteri ini digunakan untuk uji postulat Koch. Hasil uji ini menunjukkan terdapat 28 isolat yang menyebabkan kematian pada ikan gurami yang diinfeksi dengan tingkat mortalitas yang bervariasi dari 40% sampai dengan 100%. Rerata waktu kematian juga bervariasi dari 18,8 jam sampai dengan 135 jam. Hanya ada

dua isolat yang tidak menyebabkan kematian dan tidak memberikan gejala penyakit. Dua isolat tersebut adalah GKSD1 yang diisolasi dari Tirtonirmolo dan GPDC yang diisolasi dari Kadisoro (Tabel 1).

Gejala yang ditimbulkan selama uji Postulat Koch dilakukan sangat bervariasi antara isolat yang satu dengan isolat yang lain. Akan tetapi secara umum gejala yang terlihat mempunyai kemiripan dengan gejala yang teramati di lapangan. Gejala

Tabel 1. Uji postulat koch bakteri yang diisolasi dari ikan gurami di Bantul.

Asal Sampel	Kode Isolat	Mortalitas (%)	Rerata Waktu kematian (jam)
Plurugan, Titornirmolo, Kasihan	GKSA1	100	46,8
	GKSA2	40	45
	GKSB1	40	42
	GKSB2	80	73,5
	GKSC1	80	48
	GKSC2	80	48
	GKSD1	0	~
	GKSD2	100	16,8
Ceme, Srigading, Sanden	GCMA1	100	135,6
	GCMA2	60	122
	GCMA3	60	70
	GCMB1	60	100
	GCMB2	100	114
Banguntapan, Banguntapan	GBNA	100	118,8
	GBNB	100	26,4
	GBNC	60	74
	GBND	100	19,2
Grojokan, Wirokerten, Banguntapan	GGRA	40	129
	GGRB	100	90
Jlamprang, Jambidan, Kretek	GKRA	100	30
	GKRB	100	90
	GKRC	100	18
Kadisoro, Gilangharjo, Pandak	GPDA	40	132
	GPDB	80	108
	GPDC	0	~
Pandansari, Sanden	GPSA1	100	114
	GPSA2	80	52,5
	GPSB	40	129
	GPSC1	100	30
	GPSC2	80	52,5

tersebut adalah mengeluarkan gelembung udara dari operculum, sering berada dipermukaan air, perut kembung berisi cairan darah, bercak merah dirongga dan sekitar mulut, haemorrhagik pada pangkal sirip, terlihat pembengkakan, sirip geripis, mata menonjol keluar dan ginjal menjadi merah tua. Gejala di lapangan dan gejala hasil uji Postulat Koch tersebut mirip dengan gejala yang sudah dijelaskan oleh Dana & Angka (1990) dan Kamiso *et al.* (1993). Bakteri berhasil diisolasi dari ginjal ikan yang mati dan sakit. Hasil pengamatan koloni dan beberapa sifat sel menunjukkan karakter yang sama dengan yang diinfeksi. Dengan demikian dari penelitian ini telah mengisolasi 28 bakteri patogen pada ikan gurami dari daerah Bantul.

Identifikasi Bakteri

Isolat-isolat bakteri diidentifikasi dengan pengamatan sel bakteri dan pengujian sifat biokimia. Dalam penelitian ini bakteri dikarakterisasi dengan 32 pengujian. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua bakteri yang teridentifikasi mempunyai sifat Gram negatif, berbentuk batang, katalase positif, oksidase positif, arginine dehidrolase negatif, tumbuh pada 30°C, tidak menghasilkan asam pada uji gula dulcitol dan D-mannose, tetapi tidak menghasilkan asam pada gula raffinose. Semua isolat bersifat fermentatif pada uji O/F; menghasilkan gelatinase dan menghasilkan asam pada uji gula D-glukosa dan manosa, kecuali isolat GBNA yang bersifat oksidatif pada uji O/F, tidak menghasilkan gelatinase dan tidak menghasilkan asam pada uji gula D-glukosa dan manosa. Semua isolat menghasilkan asam pada uji gula D-mannitol kecuali isolat GPSA2 dan GBNA. Semua isolat tidak menghasilkan asam pada uji gulasorbitol kecuali isolat GGRA yang mampu menghasilkan asam. Sifat biokimia lainnya terlihat dalam Tabel 2.

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat yang diuji masuk dalam anggota genus *Aeromonas* sebanyak 25 isolat (89,28%). Dari genus *Aeromonas* tersebut, sebagian besar (20 isolat) merupakan *A. hydrophila* dengan pemenuhan persentase karakter bervariasi dari 85% sampai 98%. Terdapat 5 isolat (GCMA1, GCMB1, GCMB2, GKSC1 dan GPDB bersifat tidak motil, tidak mampu memproduksi H₂S, voges proskaeur negatif, tidak sensitif terhadap novobiocin dan O/129, simmons sitrat negatif. Isolat-isolat tersebut diidentifikasi berdasarkan (Mac Faddin, 1980; Holt *et al.*, 1994; Austin & Austin, 2007) diperoleh kesesuaian karakter isolat terhadap *A. salmonicida*. Persentase kesesuaian karakter *A. salmonicida* bervariasi dari 88% sampai 98%.

Tabel 2. Identifikasi bakteri patogen pada gurami

No	Isolat	Moti- litas	Omitin dekarboksilase	TSIA	NaCl 6,5%	MR	VP	Novo- biocin	O/29	Citrate	Galak- tosa	Lac- tosa	Xylo- tosa	Sucrosa	Inositol	Inulin	Spesies	Kesesuaian karakter (%)
1	GKSA1	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>Aeromonas hydrophila</i>	98%
2	GGRB	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>A. hydrophila</i>	96%
3	GKRB	+	-	K/A, G, H ₂ S	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	96%
4	GBNC	+	-	K/A, G, H ₂ S	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	96%
5	GKSB1	+	-	K/A	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	<i>A. hydrophila</i>	93%
6	GPSC1	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>A. hydrophila</i>	93%
7	GPSC2	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>A. hydrophila</i>	93%
8	GKRC	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>A. hydrophila</i>	93%
9	GKRA	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	93%
10	GBNB	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	93%
11	GBND	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	96%
12	GCMA3	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	89%
13	GKSA2	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	93%
14	GKSC2	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	93%
15	GKSB2	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	93%
16	GKSD2	+	-	K/A, G	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	85%
17	GCMA2	+	-	K/A, G, H ₂ S	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	89%
18	GPSB	+	-	K/A, G, H ₂ S	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	89%
19	GPSA2	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	89%
20	GGRA	+	-	K/A, G	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>A. hydrophila</i>	89%
21	GCMA1	-	-	K/A, G	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	<i>A. hydrophila</i>	85%
22	GCMB1	-	-	K/A, G	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>A. salmonicida</i>	92%
23	GPDB	-	-	K/A, G	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>A. salmonicida</i>	96%
24	GCMB2	-	-	K/A, G	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>A. salmonicida</i>	98%
25	GKSC1	-	-	K/A, G	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>A. salmonicida</i>	88%
26	GBNA	-	+	K/K	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>Pseudomonas sp</i>	77%
27	GPDA	+	+	A/A, H ₂ S	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Vibrio cholerae</i>	80%
28	GPSA1	+	+	A/A, H ₂ S	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	<i>Vibrio anguillarum</i>	80%

Genus *Vibrio* yang ditemukan dalam penelitian ini sebanyak 2 isolat (7,14%) yaitu (GPSA1 dan GPDA) karena mampu tumbuh pada konsentrasi NaCl 6,5% dan sensitif terhadap novobiosin dan atau O/29. Isolat GPSA1 memiliki kesesuaian karakter sebesar 80% terhadap *V. anguillarum* dan isolat GPDA memiliki kesesuaian karakter sebesar 80% terhadap *V. cholerae*. Dalam penelitian ini terdapat isolat GBNA yang memiliki kesesuaian karakter sebesar 80% terhadap *Pseudomonas fluorescens*.

Uji Patogenisitas

Uji Patogenisitas dilakukan terhadap 5 isolat GGRB (Grojogan), GKRA (Kretek), GBNB (Banguntapan), GCMA3 (Ceme), dan GPDA (Pandak) yang berupa isolat *A. hydrophila* dan *V. cholerae*. Hasil pemeriksaan parasit pada ikan gurami uji sebelum diperlakukan tidak ditemukan adanya jenis parasit sehingga sampel gurami benar-benar dalam kondisi yang sehat. Hasil pengamatan kualitas air menunjukkan suhu air pada rentang 26,1–27,6 °C, kadar oksigen terlarut 2,2–4.3 mg/L, pH 6,7–6,9, kadar CO₂ 9,8–13,0 mg/L dan alkalinitas 170,8–216,5 mg/L. Kualitas air tersebut masih dalam rentang yang baik untuk kehidupan gurami, apalagi gurami mempunyai alat bantu pernafasan berbentuk labirin yang mampu hidup pada kadar oksigen yang rendah (Hardaningsih *et al.*, 2012).

Tingkat patogenisitas suatu bakteri dapat diukur dengan *Lethal Dosis 50* (LD₅₀), yaitu dosis bakteri yang menyebabkan kematian 50 persen dari populasi ikan yang diinfeksi. Isolat *A. hydrophila* dengan LD₅₀ 10⁴–10⁵ CFU/ml digolongkan sebagai isolat yang virulen, sedangkan isolat yang memiliki LD₅₀ sebesar 10⁷ atau lebih dinyatakan non virulen (Stevenson, 1988). Nilai LD₅₀ yang dihitung dengan metode *Dragstedt Behrens* serta tingkat patogenisitas bisa dilihat dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai LD₅₀ dan tingkat keganasan isolat-isolat bakteri uji.

Isolat	Bakteri	LD ₅₀ (CFU/ekor)	Tingkat keganasan
GGRB	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2,09 x 10 ⁵	Virulen
GKRA	<i>A. hydrophila</i>	7,14 x 10 ⁷	Non Virulen
GBNB	<i>A. hydrophila</i>	6,28 x 10 ⁵	Virulen
GCMA3	<i>A. hydrophila</i>	5,37 x 10 ⁵	Virulen
GPDA	<i>Vibrio cholerae</i>	3,45 x 10 ⁷	Non Virulen

Pembahasan

Pada hasil penelitian ini didapatkan 5 spesies bakteri yang berbeda yaitu *A. hydrophila* 20 isolat (71,4%)

; *A. salmonicida* 5 isolat (17,8%), serta *P. fluorescens*, *V. cholerae*, dan *V. anguillarum* masing-masing satu isolat (3,5%). Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri yang paling banyak terisolasi dari ikan gurami. Bakteri ini merupakan agen penyakit utama pada budidaya air tawar yang juga telah diketahui menginfeksi berbagai jenis ikan tawar lainnya. Hal ini bisa dipahami, karena bakteri *A. hydrophila* bersifat oportunistik yang bisa hidup di air dan akan menyerang ikan, ketika keadaan ikan lemah (Kamisoet *al.*, 1993, Austin & Austin 2007). Citarasu (2001) juga mendapatkan *A. hydrophila* menempati 80% dari isolat bakteri yang didapatkan dari wabah penyakit pada ikan mas dan ikan mas koki.

Dalam penelitian ini juga ditemukan keragaman *A. hydrophila*. Keragaman ini bisa dilihat dari karakter biokimianya, dengan persen kesamaan karakter yang terendah 85% dan yang tertinggi 98% (Tabel 2). Keragaman juga bisa dilihat pada uji Postulat Koch dengan hasil mortalitas bervariasi dari pada 40% sampai 100% dan rerata waktu kematian 16,8 jam sampai 122 jam (Tabel 1). Hasil uji patogenisitas juga mendapatkan nilai LD₅₀ yang bervariasi sehingga ada yang termasuk bakteri virulen (GGRB, GBNB dan GCMA3) dan tidak virulen, GKRA (Tabel 3). Hsu (1985) menemukan variasi sifat biokimia yang sangat besar dari 164 isolat yang diteliti yang kemudian disebut dengan strain.

Terdapat lima isolat (GCMA1, GCMB1, GCMB2, GKSC1 dan GPDB) yang teridentifikasi sebagai *A. salmonicida* dengan kesesuaian persentase karakter bervariasi dari 88% sampai 98%. Uji Postulat Koch memberikan hasil mortalitas bervariasi dari 60% sampai 100% dan rerata waktu kematian 48 jam sampai 135 jam. Dalam penelitian sebelumnya jarang teridentifikasi adanya *A. salmonicida* pada ikan air tawar. Hasil penelitian ini menegaskan adanya penyakit bakteri pada air tawar. *A. salmonicida* juga dilaporkan menyerang ikan sidat, cyprinidae dan gejalanya berbeda dengan furunkulosis dengan menunjukkan kerusakan pada kulit, hemoragik pada organ (Austin & Austin 2007).

Bakteri *Vibrio* selama ini jarang dilaporkan menyerang ikan air tawar. Dalam penelitian isolat GPDA dan GPSA1 teridentifikasi sebagai *V. cholerae* dan *V. anguillarum* meskipun dengan persen kesesuaian karakter yang rendah yaitu 80%. Sifat patogen kedua isolat tersebut terkonfirmasi dengan memberikan mortalitas 40% dan 100% pada uji Postulat Koch. Tingkat patogenisitas bakteri *V. cholerae* isolat GPDA memiliki nilai LD₅₀ sebesar 3,45 x 10⁷ CFU/ml dan tergolong tidak virulen. Austin & Austin

(2007) menyatakan bahwa *Vibrio* bersifat pathogen terhadap ikan ayu (*Plecoglossus altivelis*) dan ikan sidat (*Anguilla japonica*). Terisolasinya *Vibrio* sebagai penyakit pada ikan air tawar juga ditemukan oleh Citarasu (2001) juga mendapatkan *Vibrio* menempati 12% dari isolat bakteri yang didapatkan pada wabah penyakit pada ikan mas dan ikan mas koki.

Isolat GPSC1 yang berasal dari lokasi Pandansari teridentifikasi *P. fluorescens* dengan tingkat kesesuaian karakter cukup rendah hanya sebesar 77%. Pada uji postulat Koch menyebabkan kematian ikan uji 100% dan memberikan gejala yang mirip dengan yang dilaporkan berupa lendir berwarna putih dan menempel pada sirip dan luka, ada bercak merah atau hemoragik, tubuh kusam/gelap, perut menggelembung, dan borok, serta daging habis hingga terlihat tulangnya. *P. fluorescens* telah dilaporkan sebagai bakteri penyebab penyakit dengan gejala antara lain pendarahan dan pembengkakan yang terbatas pada daerah yang luka, kehilangan pigmen cahaya, kerusakan jaringan sampai ke otot-ototnya (Kamiso *et al.*, 1993; Roberts, 2001).

Dalam penelitian ini didapatkan kesesuaian karakter yang rendah. Isolat GPSC1, GPDA dan GBNA masing-masing memiliki kesesuaian karakter sebesar 80% terhadap *V. anguillarum*, *V. cholera* dan *Pseudomonas fluorescens*. Karakter-karakter pokok yang diperoleh mengarah pada spesies tersebut, tetapi beberapa hasil uji kimia yang lain menunjukkan karakter yang berbeda. Untuk lebih memastikan spesies isolat tersebut perlu dilakukan uji lain yang bisa lebih mengarahkan pada spesies, misalnya sequencing 16S rRNA.

Hasil penelitian mendapatkan nilai LD₅₀ yang tergolong isolat virulen berturut-turut yaitu GBNB, GGRB dan GCMA3 adalah $6,28 \times 10^5$, $2,09 \times 10^5$ dan $5,37 \times 10^5$ CFU/ml dan yang tergolong non virulen adalah isolat GKRA dengan nilai LD₅₀ sebesar $7,14 \times 10^7$. Tingkat keganasan bakteri ini memang bervariasi. Stevenson (1988) menyampaikan LD50 pada lele sebesar $6,4 \times 10^4$ cfu/ml. Mulia & Purbomartono (2007), memperlihatkan bahwa *A. hydrophila* memiliki dosis LD₅₀ sebesar $5,47 \times 10^6$ CFU/ml. Stevenson (1988) melaporkan bahwa terdapat perbedaan virulensi *A. hydrophila* antara isolat yang berasal dari lingkungan dan ikan yang sakit. Zhang *et al.*, (2000) menemukan perbedaan genetik antara isolat virulen dan avirulen *A. hydrophila* dengan analisis molekuler lima faktor *haemolysin* (*hlyA*), *protease* (oligopeptidase A), protein membran bagian luar (OMP), TB-*multidrug resistance protein* dan *histone* seperti histon (HU-2).

Kesimpulan

1. Dua puluh isolat *Aeromonas hydrophila*, 5 isolat *A. salmonicida* dan masing-masing satu isolat *Vibrio cholerae*, *V. anguillarum* dan *Pseudomonas fluorescens* telah diisolasi dari dan penyebab penyakit pada gurami (*Osphronemus goramy*).
2. Terdapat keragaman tingkat keganasan bakteri terhadap gurami, dengan bakteri yang bersifat virulen berupa *A. hydrophila* isolat GBNB, GGRB, dan GCMA3 bersifat patogen dengan LD₅₀ sebesar $6,28 \times 10^5$; $2,09 \times 10^5$ dan $5,37 \times 10^5$ CFU/ekor, dan yang bersifat tidak virulen berupa *A. hydrophila* isolat GKRA dan *Vibrio cholera* isolat GPDA dengan LD₅₀ $7,14 \times 10^7$ dan $3,45 \times 10^7$ CFU/ekor.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan Dana Pengembangan Laboratorium Hama Penyakit Ikan. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada komunitas Laboratorium Penyakit Ikan dan pihak lain yang telah menyukseskan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Austin, B. & D.A. Austin. 2007. Bacterial fish Pathogens: diseases of farmed and wild Fish. 4th edition. Praxis Publishing.
- Cipriano, R.C., G.L. Bullock & S.W. Pyle. 1984. *Aeromonas hydrophila* and motile aeromonad septicemias of fish. U.S. Fish & Wildlife Publication Paper 134.
- Citarasu, T., A.K. Dhas, S. Velmurugan, V.T. Thanga, T. Kumaran, M.M. Babu & T. Selvaraj. 2011. Isolation of *Aeromonas hydrophila* from infected ornamental fish hatchery during massive disease outbreak. Int. J. Curr. Res., 2:37-41.
- Dana, D. & S.L. Angka. 1990. Masalah penyakit parasit dan bakteri pada ikan air tawar serta cara penanggulangannya. Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Bogor, 16-19 Januari 1990
- Hardaningsih, I., Murwantoko & S. Helmiati. 2012. Tujuh rezeki budidaya gurami. Kanisius. Yogyakarta. 95 p.
- Holt, J.G., N.R. Kreig, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, & S.T. Williams. 1994. Bergey's manual of determinative microbiology. 9thed. The Williams & Wilkins Co, Baltimore.

- Hsu, T.C., E. B. Shotts, & W.D. Waltman. 1985. Action of *Aeromonas hydrophila* complex on carbohydrate substrates. *Fish Pathology*. 20: 23 - 35.
- Hubert, J.J. 1980. Bioassay. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, USA.
- Jutono, J., S. Soedarsono, S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi, & D. Soesanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi (umum untuk Perguruan Tinggi)*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Kamiso, H.N. 1986. Fish Disease as a problem in intensive aquaculture. Proceeding seminar multy disciplinary studies on fisheries and inshore coastal Soedarsono (Ed.) Semarang, 21-26 juli 1986: 416-438.
- Kamiso, H.N., A. Saroni, I.Y.B. Lelana, N. Widodo, E. B. Thaib, S. Haryani, Haryanto, Triyanto, Ustadi, A. N. Kusumahati, W. Novianti, S. Wardani, & Setianingsih. 1993. Hama dan penyakit ikan golongan bakteri: buku 2. Pusat Karantina Pertanian dan Jurusan Perikanan. Fakultas Pertanian. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Kamiso, H. N., 1996. *Vibriosis* pada ikan dan alternatif penanggulangannya. *Jurnal Perikanan I* (1): 78-86.
- Khairuman & K. Amri. 2003. Pembenuhan dan pembesaran gurami secara intensif. PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Macfaddin, J.F. 1980. Biochemical test for identification of medical bacteria. 2nd ed. Williams & Wilkins, Waverly Press, Inc. Mt. Royal, and Guilford Aves, Baltimore Md. 21202, USA.
- Mulia, D.S. & Purbomartono. 2007. Perbandingan efikasi vaksin produk intra dan ekstraseluler *Aeromonas hydrophila* untuk menanggulangi penyakit motile aeromonas septicemia (MAS) pada lele dumbo (*Clarias* sp.). *Jurnal Perikanan* 2: 173-181.
- Noga, E.J. 2000. Fish disease diagnosis and treatment. Iowa State Press, Nort Carolina.
- Puspowardoyo, H. & A.B. Djarijah. 1992. Membudidayakan gurami secara intensif. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Roberts, R.J. 2001. Fish pathology. W. B. Saunders, Edinburgh. 472 p.
- Rollins, D.M.&S.W. Joseph. 2000. List of bacterial pathogen. BSCL 424 Pathogenic Microbiology. University of Maryland. <[http://www.Life.Umd.Edu/classroom/bci434/index. Html.](http://www.Life.Umd.Edu/classroom/bci434/index.Html)> Diakses tanggal 17 september 2010.
- Rukmana, R. 2005. Pembenuhan dan pembesaran gurami. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Sitanggang, M. & B. Sarwono. 2007. Budidaya gurami. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Stevenson, R.M.W. 1998. Vaccination againt *Aeromonas hydrophila*. In; Fish Vaccination. A.E. Ellis. (Ed). Academic Press, London p:112-123.
- Zhang, Y. L., C.T. Ong, & K.Y. Leung. 2000. Molecular analysis of genetic differences between virulent and avirulent strains of *Aeromonas hydrophila* isolat from diseased fish. *Microbiology*. 146: 999 – 1009.