

Characteristics of *Aeromonas hydrophila* isolated from tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Karakteristik *Aeromonas hydrophila* yang di isolasi dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

M. Arwin¹, Frans G. Ijong², and Reiny Tumbol^{2*}

¹ Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

² Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi. Jl. Kampus Unsrat Bahu, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

* E-mail: reinytumbol@yahoo.com

Abstract: Information related to bacteria *Aeromonas hydrophila* that infects almost all freshwater fish and brackish water fish with low salinity that causes significant losses to fish farmers is highly needed. Thus this study aimed to characterize some isolates of *A. hydrophila* from several farms. The method used in this research was the exploratory-description method. The isolates used in this study were from Denpasar, Luwuk and Manado. The isolates were then identified using a series of microbiological test which included test motility, gram test, haemolysis test and a series of biochemical tests. The results showed that haemolysis test of isolates of *A. hydrophila* in hemolysis from Manado was α type whereas Denpasar and Luwuk were β -type. Catalase test and oxidase test were positive all isolates. TSI test showed Acid-Alkaline for Manado and Luwuk isolates but Acid-acid for Denpasar isolates. Indol and MR test were positive for Manado and Denpasar isolates, whereas Luwuk was negative. Vp, Citrate and Urea tests were negative for all isolates and OF test was fermentative. Gelatinase and DNase test were positive for all isolates. Test NaCl 4% for isolates Manado and Denpasar Positive, negative Luwuk. 6% NaCl third test negative isolates. The incubation temperature at 37% was positive for Manado isolates, Denpasar and Luwuk were negative. The motility test was positive for Manado and Denpasar isolates, whereas Luwuk isolate was negative. The gas glucose test was negative for Manado isolates, Denpasar and Luwuk isolates were positive. Sugars test on Glucose was positive for all isolates, lactose-negative, Sucrose was negative Manado but positive for Denpasar Luwuk; whereas in Inositol and Raffinosa tests, all isolates were negative and KCN test was positive for all. From the results of this study it can be concluded that *A. hydrophila* isolated from some areas have slightly different characteristics from one another.

Keywords: Fish diseases; *Aeromonas Hydrophila*

Abstrak: Informasi yang berhubungan dengan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang hampir semua ikan air tawar dan ikan yang dipelihara di tambak dengan salinitas rendah dan menyebabkan kerugian yang cukup berarti bagi pembudidaya ikan sangat dibutuhkan. Untuk itu tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengikarakterisasi beberapa isolat *A. hydrophila* yang berasal dari beberapa lokasi budidaya. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda eksploratif-deskripsi. Isolat yang digunakan berasal dari Denpasar, Luwuk dan Manado. Isolat yang ada selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan serangkaian test mikrobiologi yang meliputi test motilitas, uji gram, uji hemolisis dan serangkaian uji biokimia. Hasil menunjukkan bahwa isolat *A. hydrophila* pada uji hemolisis bertipe α (Manado), bertipe β (Denpasar, Luwuk), Uji Katalase dan oksidase ketiga isolat positif, Uji TSIA untuk Manado dan Luwuk Asam-Alkali tetapi untuk Denpasar Asam-Asam. Uji Indol dan MR Untuk Manado dan Denpasar Positif sedangkan Luwuk negatif. Uji Vp, Citrat dan Urea Ketiga isolat negatif; dan Uji OF ketiganya Fermentatif. Uji Gelatinase dan DNase ketiganya positif. Uji NaCl 4% untuk isolat Manado dan Denpasar Positif, Luwuk negatif. Uji NaCl 6% ketiga isolat negatif. Suhu inkubasi pada 37% Manado positif, Denpasar dan Luwuk negatif. Untuk Uji Motilitas, isolat Manado dan Denpasar positif, sedangkan isolat Luwuk negatif. Uji Gas glukosa, isolat Manado negatif, isolat Denpasar dan Luwuk positif. Uji gula-gula pada Glukosa ketiganya positif, laktosa Negatif, pada Sukrosa Manado negatif Denpasar dan Luwuk positif, sedangkan pada Inositol dan Raffinosa ketiganya negatif dan Uji KCN ketiganya positif. Dari hasil penelitian ini disimpulkan bahwa Isolat *A. hydrophila* yang diisolasi dari beberapa lokasi ini memiliki karakteristik yang sedikit berbeda satu dengan yang lainnya.

Kata-kata kunci: Penyakit ikan; *Aeromonas hydrophila*

PENDAHULUAN

Keberadaan penyakit ikan berhubungan erat dengan lingkungan di mana ikan berada. Oleh karena itu, dalam upaya pencegahan dan pengobatan penyakit ikan, selain dilakukan pengendalian terhadap lingkungan, perlu juga diketahui hal-hal yang berkaitan dengan timbulnya penyakit ikan itu sendiri (Anonymous, 2008). Menurut Irianto (2005), penyakit, meliputi penyakit infeksi dan bukan infeksi. Penyakit infeksi merupakan masalah utama, yang meliputi penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, fungi, dan parasit. Sakit dapat pula sebagai akibat dari keadaan defisiensi atau malnutrisi, atau sebab-sebab lain.

Penyakit bakterial pada ikan dapat disebabkan oleh beberapa jenis bakteri, seperti *Streptococcus* sp., *Vibrio* sp., *Pseudomonas* sp. *Aeromonas* sp. (Post, 1987). Jenis penyakit bakteri ini dapat menyebabkan penyakit sistematik yang menimbulkan kematian ikan yang tinggi. Bakteri *Aeromonas hydrophila* merupakan salah satu contoh bakteri, yang umum menyerang ikan air tawar seperti ikan nila dan dapat menyebabkan penyakit, yang dikenal dengan nama *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS) (Roberts, 2000).

Aeromonas hydrophila mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 1980; bakteri ini menyebabkan wabah penyakit pada ikan karper di Jawa Barat dan berakibat pada kematian ikan sebanyak 125 ton (Triyanto, 1990). Di tahun yang sama, kejadian serupa juga terjadi di mana dikenal dengan nama penyakit borok/penyakit merah, yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih 173 ton ikan mas, termasuk di dalamnya 30% ikan-ikan kecil/benih. Kematian ini disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp.

Bakteri *A. hydrophila* menyebabkan infeksi keseluruhan tubuh ikan, yang disertai dengan pendarahan pada organ dalam tubuh. Bakteri ini dapat menyebar secara cepat pada padat penyebaran yang tinggi, sehingga dapat menyebabkan kematian benih sampai 90% (Kabata, 1985). Penyakit yang dapat timbul oleh serangan *A. hydrophila* adalah penyakit bercak merah pada permukaan tubuh, kulit meradang yang diakhiri dengan luka yang seperti bisul. Ikan yang terinfeksi ini biasanya akan mati dalam waktu satu minggu (Dana & Angka, 1990). Hal yang sama juga dinyatakan oleh Austin et al. (1996), bahwa penyakit yang ditimbulkan oleh *A. hydrophila* adalah busuknya sirip dan ekor, *haemorrhagic septicaemia*, pengelupasan sisik dan pendarahan pada bagian insang dan anus, mata menonjol, dan pembengkakan pada *abdomen*.

Surat Keputusan Menteri Kelautan Dan Perikanan Nomor KEP.17/MEN/2006 tentang penetapan Jenis-jenis Hama dan Penyakit Ikan Karantina, Golongan Media Pembawa dan sebarannya menyebutkan, bahwa *A. hydrophila* dan *A. salmonicida* merupakan jenis-jenis bakteri yang termasuk salah satu Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) Golongan II, yang diartikan sebagai HPIK yang dapat disucihamakan atau disembuhkan, karena teknologi perlakuannya sudah dikuasai (Anonymous, 1993).

Usaha penanggulangan penyakit ikan terutama penyakit bakterial dapat dilakukan dengan menggunakan obat-obatan, seperti antibiotik, atau dengan cara pencegahan dengan vaksinasi dan dengan memberlakukan cara-cara budidaya yang baik. Penggunaan vaksin memberi harapan cukup baik, tetapi untuk pengembangannya masih mengalami hambatan, karena karakteristik bakteri ini belum banyak diketahui, dan adanya heterogenesitas antigenik.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik *A. hydrophila*, yang diisolasi dari ikan nila, dan mengukur tingkat sensitifitas ikan nila terhadap beberapa jenis antibiotik dan resistensi bakteri.

MATERIAL DAN METODE

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metoda eksploratif-deskripsi, yaitu suatu penelitian untuk mengungkapkan keterangan dari suatu fakta tertentu secara terperinci dan sistematik melalui serangkaian uji mikrobiologi dalam laboratorium.

Prosedur Penelitian

Isolat *A. hydrophila* yang diisolasi dari ikan nila, yang telah dikarakterisasi berdasarkan sifat, morfologi, serta biokemismya, diperoleh dari Bagian Laboratorium Balai KIPM Kelas II Manado, Laboratorium Balai KIPM Kelas I Denpasar, dan Stasiun KIPM Kelas II Luwuk Banggai. Karakteristik *A. hydrophila* tersebut adalah sebagai berikut: pengecekan Gram (-), *katalase* (+), *oksidase* (+), *motility* (+), *indol* (+), H₂S pada TSIA (+), MR (v), Vp (v), *Simon sitrat* (v), *hidrolisis urea* (-), *lysine decarboxylase* (-), OF (v), *hidrolisis gelatin* (+), *Dnase* (+), KCN (+), 4% NaCl Agar, *nitrat* (+), *malonat* (-), gas dari glukosa (+), tumbuh pada suhu 37⁰C (+), *acid* dari: *glukosa* (+), *laktosa* (v), *sukrosa* (+), *inositol* (-), *raffinosa* (-) (Holt et al., 1994; Austin and Austin, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji bakteri *Aeromonas hydrophila* disajikan dalam Tabel 1. Nampak, bahwa isolat *A. hydrophila* Manado mempunyai tipe hemolisis alfa (α); isolat Denpasar dan Luwuk bertipe hemolisis beta (β). Isolat *A. hydrophila* bersifat gram (-), berbentuk batang, koloni bulat, berwarna merah dan kuning. Warna koloni, yang keputihan, sesuai dengan Roberts (1989), yang mengatakan, bahwa morfologi koloni bakteri *A. hydrophila* berwarna putih sampai kuning tua.

Austin and Austin (1987) mengatakan, bahwa *A. hydrophila* merupakan bakteri yang bersifat gram (-), mempunyai morfologi batang pendek dengan ukuran bervariasi (lebar: 0,8-1,0 mikron; panjang: 1,0-3,5 mikron), tidak memiliki spora; bakteri bersifat motil, karena mempunyai satu flagel (*monotrichous flagela*), yang keluar dari salah satu kutubnya. Morfologi koloni permukaannya agak menonjol, berbentuk bulat, mengkilat, krim dengan tepi koloni entire, dan diameter 2-3 mm.

Menurut Lay (1994), penentuan adanya katalase diuji dengan larutan H_2O_2 3% pada koloni terpisah. Uji katalase menunjukkan hasil positif dan terlihat dari adanya pembentukan gelembung udara. Uji H_2S juga menunjukkan hasil positif, yang diperlihatkan dengan adanya warna hitam dari sampel.

Uji indol bertujuan untuk mengetahui produksi indol dari asam amino *tryptophane* melalui enzim *tryptophanase*. Hasil uji positif dapat dilihat dari adanya warna merah pada permukaan media setelah ditambahkan *reagent kovac*.

Uji lainnya, yaitu *methyl-red* (MR), *Voges Proskauer* (Vp), dan Sitrait. Pada uji MR, hasil yang didapat adalah media tidak berubah warna menjadi merah. Demikian juga pada uji Vp dan uji Citrat, di mana pada uji Vp media tidak berubah warna menjadi merah dan keruh, melainkan

berwarna kuning; pada uji Citrat media tetap berwarna hijau. Hal ini bermakna, bahwa bakteri tidak mampu membentuk *acetyl-methyl-carbinol* dari glukosa dan tidak mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Dalam Uji Urase, yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan ezim urase, reaksi positif terjadi, jika warna media menjadi pink; dan reaksi negatif terjadi, jika warna media tetap kuning. Hasil penelitian yang dilakukan ini menunjukkan hasil yang negatif. Sedangkan, Uji Gelatinase, yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim gelatinase dalam menghidrolisis gelatin menjadi asam amino, menunjukkan hasil yang positif, jika medium tetap cair; negatif, jika medium membeku. Hasil penelitian ini menunjukkan, medium membeku sehingga dapat disimpulkan bahwa uji gelatinase bersifat negatif.

Uji OF (Oksidatif/Fermentatif) adalah uji untuk mengetahui suatu bakteri dalam kemampuannya mengurai karbohidrat (glukosa) menjadi oksidasi dan fermentatif. Fermentatif, jika medium yang ditutup parafin cair steril berubah warna dari hijau menjadi kuning; Oksidatif, jika medium yang tidak ditutup parafin cair steril saja yang berubah dari hijau tua menjadi kuning. Sedangkan negatif, jika terjadi pertumbuhan bakteri, tapi tidak ada perubahan warna media OF. Hasil penelitian ini memperlihatkan hasil uji OF, yang menunjukkan perubahan fermentatif.

Revirulensi Bakteri *A. hydrophila*

Isolasi awal pada media *MacConkey*, yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu $28^{\circ}C$ (suhu kamar), koloni transparan diisolasi kembali pada media agar miring untuk uji katalase dan oksidase, dan TSIA, dilanjutkan uji biokimia. Hasil yang didapat, yaitu katalase positif dan oksidase negatif; TSIA menunjukkan bagian tegak kuning, bagian

Tabel 1. Sifat Morfologi dan Biokimia *Aeromonas hydrophila* hasil pemeriksaan

No./Kode/Asal Sampel	Hem.	Katalase	Oxidase	TSIA		Indol	MR	Vp	Citrat	Urea	OF	Gel.	DNase	NaCl		37°C	Mot	Gas	Acid					KCN
				Butt	Slant									4%	6%				Gluc	Gluc	Lac	Suc	Inositol	
A MDO α Manado	α	+	+	As	Alk	-	+	+	-	-	-	F	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-
B DPS β Denpasar	β	+	+	As	As	-	+	+	-	-	-	F	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-
C LB β Luwuk	β	+	+	As	Alk	-	-	-	-	-	-	F	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-

Keterangan:

Isolat A, B, C: *A. hydrophila*

miring merah dan adanya H₂S. Hasil uji biokimia, yang diperoleh, cocok dengan karakteristik awal bakteri tersebut; dengan demikian, maka dari hasil reinfeksi didapat bahwa bakteri tersebut adalah penyebab penyakit pada ikan uji.

KESIMPULAN

Ikan nila secara positif terinfeksi *A. hydrophila*, yang ditunjukkan melalui serangkaian ciri umum, seperti gram negatif, berbentuk batang, koloni bulat, berwarna merah dan kuning, dan beberapa ciri umum lainnya.

Ucapan terima kasih. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pimpinan dan Staf Balai KIPM Kelas II Manado, khususnya di bagian laboratorium, dan Balai KIPM Kelas II Manado, yang telah memberikan dukungan dan fasilitas selama penelitian berlangsung.

REFERENSI

- ANONYMOUS (1993) *Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri*. Pusat Karantina Pertanian, Jurusan Perikanan. Yogyakarta: Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada.
- ANONYMOUS (2008) *Penyakit Ikan*. [http://pusat.jakarta.go.id/Ternak/Penyakit% 20 ikan.htm](http://pusat.jakarta.go.id/Ternak/Penyakit%20ikan.htm). Diakses tanggal 6 Februari 2015.
- AUSTIN, B. and AUSTIN, D.A. (1996) *Bacterial Fish Pathogens, Disease of Farmed and Wild Fish*. Edisi Kelima. London: Springer.
- AUSTIN, B. and AUSTIN, D.A. (1987) *Bacterial Fish Pathogen : Disease in Farmed And Wild Fish*. Ellis. Horwood Ltd., Chichester: John Wiley & Sons.
- DANA, D. and ANGKA, S. (1990) *Masalah Penyakit dan Bakteri pada ikan Air Tawar serta Penanggulangannya*. Proceeding Seminar Nasional II. Penyakit Ikan dan Udang, Balai Perikanan Air Tawar, pp.10-23.
- HOLT, et al. (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*. USA: Williams and Wilkins Baltimore
- IRIANTO, A. (2005) *Patologi Ikan Teleostei*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- KABATA, Z. (1985) *Parasites and Diseases of Fish Culture in the Tropics*. Pasific Biological.
- LAY, B. (1994) *Analisa Mikrobiologi di Laboratorium*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada.
- POST, G. (1987) *Texbook of Fish Health*. USA: T.F.H. Publications Inc. for Revised and Expanded Edition.
- ROBERTS, R.J. (2000) *Fish Pathology, Fourth edition*. Iowa: Wiley-Blacwell.
- ROBERTS, R.J. (1989) *Field and Laboratory Investigations into Ulcerative Fish Disease in the Asia-Pasific Region*. Bangkok: FAO Project.
- TRIYANTO (1990) *Patogenitas beberapa isolat Aeromonas hydrophila terhadap ikan lele (Clarias batrachus L)*. Proceeding Seminar Nasional II. Penyakit Ikan dan Udang, Balai Perikanan Air Tawar, pp. 116-121.

Diterima: 22 Mei 2015
Disetujui: 20 Juni 2015