

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penyebab Penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Desa Tatelu Kecamatan Dimembe Kabupaten Minahasa Utara

Isolation and Identification of Disease-Causing Bacteria in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Tatelu Village, Dimembe District, North Minahasa Regency

Gerfindo Y G Watugigir¹, Debby J J Rayer², Helen J Lawalata³, Fernando A Watung⁴
Mercy M F Rampengan⁵

ABSTRACT

¹Universitas Negeri Manado,
Jurusan Biologi, Fakultas
MIPA
Jl. Kampus Unima, Minahasa,
Jurusan Biologi, Fakultas
MIPA, Indonesia
gefindowatugigir@gmail.com

²Universitas Negeri Manado,
Jurusan Biologi, Fakultas
MIPA
Jl. Kampus Unima, Minahasa,
Indonesia
debbyjochebed@gmail.com

³Universitas Negeri Manado,
Jurusan Biologi, Fakultas
MIPA
Jl. Kampus Unima, Minahasa,
Indonesia
lawalata_helen@yahoo.com

*Tilapia is a freshwater animal that is always in contact with the aquatic environment so that it is easily infected by bacteria through water. This study aims to identify the types of bacteria that cause diseases that attack Tilapia (*Oreochromis niloticus*) kept in Dimembe District, North Minahasa Regency. This study uses a descriptive exploratory research method. The results of the study found sixteen isolates and identified them as bacteria that cause Tilapia disease in North Minahasa Regency, including *Aeromonas* sp. (4 isolates), *Plesiomonas* sp. (5 isolates), and *Enterobacter* sp. (1 isolate). based on morphological characteristics (colonies and bacterial cells) and biochemical (catalase, oxidase and motility tests). It was found that periodic and continuous fish disease surveillance is needed to monitor the spread of fish diseases, especially Tilapia disease in North Minahasa*

Kata Kunci : *Tilapia, Pathogenic Bacteria, Aeromonas, Plesiomonas*

1. PENDAHULUAN

Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu spesies ikan yang mempunyai nilai ekonomi tinggi sehingga banyak dibudidayakan. Konsumsi ikan nila ini mengalami peningkatan yang signifikan dari tahun ke tahun. Data *Food and Agriculture Organization*^[1] melaporkan bahwa produksi Ikan Nila dunia terus mengalami peningkatan, tahun 2007 sekitar 769.936 Ton dan pada tahun meningkat menjadi 2,3 juta ton ,selanjutnya padaTahun 2010 diperkirakan mencapai 2,5 juta ton.^[1] Penyakit ikan merupakan salah satu kendala dalam budidaya ikan yang dapat menyebabkan penurunan tingkat produksi ikan. Perkembangan suatu penyakit dalam akuakultur meliputi suatu interaksi yang kompleks antara tingkat virulensi patogen, derajat imunitas inang, kondisi fisiologis dan genetik hewan, stress dan padat tebaran.^[2] Gangguan penyakit pada budi daya ikan merupakan resiko biologis yang harus selalu diantisipasi. Serangan penyakit pada ikan dapat timbul sewaktu-waktu, bersifat meluas, penyebarannya cepat dan seringkali menimbulkan kematian yang cepat pula.

Penyakit pada ikan juga disebabkan oleh parasit, bakteri, jamur, virus, faktor lingkungan dan nutrisi atau makanan.^[3]

Berdasarkan uraian diatas tujuan dari penelitian ini, mengidentifikasi dan mengisolasi bakteri penyebab penyakit pada Ikan Nila di Desa Tatelu Kecamatan Deimembe Kabupaten Minahasa Utara

2. KAJIAN PUSTAKA

Ikan Nila merupakan hewan air yang selalu bersentuhan dengan lingkungan perairan sehingga mudah terinfeksi patogen melalui air. Organisme penyebab penyakit yang biasa menyerang ikan umumnya berasal dari bakteri seperti *Aeromonas* sp. Cara penularan penyakit pada ikan adalah sebagai berikut. Melalui air, apabila kita menggunakan air yang telah tercemar oleh organisme patogen, maka biasanya ikan yang dipelihara akan segera terserang penyakit tersebut. Melalui kontak atau gesekan dengan ikan yang terserang penyakit. Melalui alat-alat yang telah digunakan untuk menangani atau mengangkat ikan-ikan yang terserang penyakit. Terbawa oleh ikan, makanan atau tumbuhan dari daerah asalnya yang berkembang biak di kolam yang baru.^[4] Hal ini diduga karena individu tersebut di daerah asalnya tidak dapat berkembang sedangkan di daerah baru dengan kondisi yang sesuai mereka dapat tumbuh dengan pesat. Untuk itu penting untuk melakukan identifikasi jenis-jenis patogen terutama bakteri pada ikan budidaya dengan berbagai metode yang tersedia. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri yang ada di ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang di budidayakan di kabupaten Minahasa Utara. Penelitian ini dilaksanakan di bulan Mei sampai dengan Juli 2024, Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium.

3. METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif eksploratif untuk mengisolasi dan identifikasi bakteri penyebab penyakit pada ikan Nila. Data penelitian diperoleh melalui laboratorium.

Lokasi dan Waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada Bulan Maret – Juni 2024 di laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumihan Universitas Negeri Manado di Tondano, Sulawesi Utara. Ikan Nila diperoleh dari tempat budidaya Ikan Nila Di Tatelu yang ada di Desa Tatelu Kec. Dimembe. Ikan yang akan diambil adalah 1 Ikan Nila yang terkena penyakit dan 1 Ikan Nila sehat.

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah stuart agar, aquades, Tryptic soya broth (TSB) sebagai media selektif pewarna Gram, Tryptic soya Agar (TSA), media Sulphide Indol Motility (SIM), H₂O₂ (3%), alkohol 70%, mikro tube, cotton swab (menggunakan kapas steril yang dililitkan pada bamboo bentuk batang kecil dan cotton butt), cawan petri, hot plate, steering hot plate untuk pembuatan media, incubator, autoclave, ose, needle, Bunsen, steering magnet, gelas beker, tabung Erlenmeyer, tabungreaksi, objek glass, mikroskop, kertas label, coolbox, timbangan elektrik, aluminium foil, laminar flow, organ dalam ikan (Insang Sakit dan Sehat, Ginjal Sehat dan Ginjal Sakit) ikan Nila luka 1 ekor dan 1 ekor Ikan Nila tidak luka yang berasal dari kolam pembudidayaan ikan Nila oleh masyarakat.

Pengambilan sampel

Ikan diamati terlebih dahulu tingkah laku dan gejala klinis yang terlihat terutama jika terjadi gejala-gejala yang diduga ikan terserang bakteri. Ikan yang memenuhi kriteria tersebut dibawa ke laboratorium. Sampel ikan yang akan dibedah, diusap terlebih dahulu permukaan tubuhnya dengan kapas yang telah dibasahi alkohol 70%. Ikan kemudian dibedah menggunakan peralatan bedah steril,

kemudian organ target (insang dan ginjal) diambil dan disterilkan kemudian dilakukan isolasi. Isolat diperoleh dari ISS (Insang Sehat) ISK (Insang Sakit) GSS (Ginjal Sehat) dan GSK (Ginjal Sakit).

Isolasi bakteri

Sebelum memulai isolasi bakteri, permukaan meja kerja dibersihkan dengan alkohol 70%. Kemudian organ target ditusuk dengan jarum ose steril secara aseptis dan digoreskan ke media agar. Untuk sampel berukuran kecil, sampel digerus secara aseptis, kemudian ambil hasil gerusan dengan jarum ose steril dan digoreskan ke media agar. Media yang telah diinokulasi awal kemudian diinkubasikan pada suhu 25 °C selama 18 jam - 24 jam.

Pembuatan Media Trypticase Soy Agar (TSA)

Untuk membuat media TSA diperlukan 40 gram media agar yang dilarutkan dengan 1000 mL akuades dalam tabung erlemayer, lalu dihomogenkan dengan magnetik stirer, sambil dipanaskan diatas hotplat sampai mendidih. Selanjutnya erlemayer ditutup dengan kapas dan alumunium foil untuk disterilisasi dengan autoclave dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu 6°C. Lalu dituangkan secara aseptik kedalam cawan petri steril dan ditutup rapat, setelah media membeku, cawan dibungkus dengan kertas dengan posisi terbalik.

Pembuatan Media Motility

Untuk media motility diperlukan 30 gram media SIM yang dilarutkan dengan 1000 mL akuades dalam tabung erlenmayer, lalu dihomogenkan dengan magnetik stirer, sambil dipanaskan didalam hotplate sampai mendidih. Selanjutnya erlemayer ditutup dengan kapas dan alumunium foil untuk disterilisasi dengan autoclave dengan tekanan 1 atm pada suhu 121C selama 15 menit. Apabila tidak langsung digunakan media dapat disimpan dalam refrigerator.

Inokulasi

Jarum ose yang sudah disterilkan dengan cara pemanasan di atas lampu bunsen ditusukan pada insang demikian juga dilakukan pada ginjal langsung diinokulasikan pada bagian permukaan media penumbuh TSA (Tryptone Soya Agar), dengan cara menggoreskan (streak plate) kemudian diinkubasi pada suhu 25-28 °C selama 24 jam. Setelah itu diinokulasi duplikatif pada cawan petri yang berbeda dan selanjutnya digunakan untuk proses identifikasi.

Uji Biokimia

Uji Gram

Tahap-tahap dalam penentuan Gram bakteri metode Hucker adalah sebagai berikut:

Ambil koloni bakteri yang telah ditumbuhkan dan di suspensikan pada cairan media KOH 3% yang disediakan pada preparat dengan menggunakan jarum ose dengan cara mencelupkan reagen yang telah diambil ke cairan media, apabila kelihatan berlendir maka bakteri gram negatif dan apabila tidak berarti bakteri gram positif.

Uji Oksidase

Prosedur kerja dari uji oksidase adalah sebagai berikut :

1. Kertas saring ditetesi dengan larutan kovac.

2. Setelah itu biakan bakteri pada kultur sediaan dioleskan pada kertas saring dengan menggunakan jarum ose.
3. Pengamatan dilakukan apabila warna kertas saring yang digoreskan bakteri berubah warna menjadi ungu, hasil (+) hal ini berarti bakteri yang ada mempunyai enzim oksidase sebaliknya jika tidak terjadi perubahan warna berarti bakteri yang ada tidak menghasilkan enzim oksidase atau hasil (-).

Uji katalase

Prosedur kerjanya yaitu: Larutan H₂O₂ 3% ditetaskan pada objek glass, kemudian suspensikan koloni bakteri dengan menggunakan jarum ose. Bila terjadi pembentukan gelembung pada objek glass. Bila terjadi pembentukan gelembung udara, maka uji bersifat positif dan apabila tidak terbentuk gelembung-gelembung udara maka uji bersifat negative.

Uji Motility

Cara kerja: Siapkan media SIM secukupnya Ambil koloni bakteri dengan menggunakan jarum ose dan tusukkan ke dalam media sampai tiga per empat media. Masukkan dalam inkubator dan inkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Hasil positif ditandai oleh adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar.

Analisis Data

diperoleh dari hasil identifikasi yang disajikan secara deskriptif kualitatif meliputi ciri morfologi dan biokimia masing-masing isolat bakteri penyebab penyakit yang diisolasi dari Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri penyebab penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dilakukan pada 2 bagian yaitu pada Insang Ikan (sehat dan sakit) dan Ginjal Ikan (sehat dan sakit). Isolasi bakteri yang dilakukan pada Insang Ikan yang sehat berhasil memperoleh satu isolat yaitu Isolat ISS 1 pada Insang Ikan yang sakit berhasil diperoleh empat isolat bakteri yaitu isolat ISK 1, isolat ISK 2, isolat ISK 3, isolat ISK 4. Selanjutnya isolasi bakteri dilakukan pada Ginjal ikan yang sehat dan berhasil memperoleh satu isolat bakteri yaitu isolat GSS 1 dan pada Ginjal yang sakit berhasil diperoleh empat isolat bakteri yaitu isolat GSK 1, isolat GSK 2, isolat GSK 3, dan isolat GSK 4. Total bakteri yang diperoleh pada Ikan Nila sehat (insang dan ginjal) yaitu 2 isolat dan pada Ikan Nila sakit (insang dan ginjal) yaitu delapan isolat.

Hasil uji lanjut telah dilakukan dengan menggolongkan ke 4 sampel tersebut ke dalam jenis *Aeromonas* sp., *Plesiomonas* sp., dan *Enterobacter* sp. Hasil uji mendapatkan uji gram negatif, bentuk morfologi batang pendek, motility positif, katalase positif, oksidasi positif. Dari hasil yang diperoleh selama pengamatan dimana dalam 1 kali pengamatan ada 2 sampel ikan dengan masing-masing organ target yang diambil adalah dari insang dan ginjal diuraikan sebagai berikut:

Hasil yang diperoleh adalah gram negatif (-) berbentuk batang pendek. Dari 4 sampel organ yang diamati selama penelitian ada 10 isolat yang menghasilkan gram negatif (-) batang pendek. Pada uji ini menentukan karakteristik bakteri yaitu sifat dan bentuknya. Morfologi koloni bakteri yang diperoleh memiliki perbedaan bentuk, warna, tepi dan permukaan koloni. Morfologi koloni bakteri disajikan pada Tabel 1. Karakterisasi berdasarkan karakter biokimia terhadap 10 isolat bakteri yang diperoleh dari ikan Nila sehat dan sakit disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Morfologi Koloni Bakteri yang diperoleh dari Ikan Nila yang Sehat dan Ikan Nila yang Sakit

Kode Isolat	Bentuk	Morfologi Koloni Bakteri		
		Tepi	Permukaan	Warna
ISS 5.1	Sirkuler	Rata	Datar	Putih
ISK 5.1	Sirkuler	Rata	Datar	Kuning
ISK 5.2	Sirkuler	Rata	Datar	Kuning
ISK 6.1	Sirkuler	Rata	Datar	Kuning
ISK 7.1	Sirkuler	Rata	Datar	Kuning
GSS 5.1	Sirkuler	Rata	Datar	Merah
GSK 5.1	Sirkuler	Rata	Datar	Putih
GSK 5.2	Sirkuler	Rata	Datar	Putih
GSK 6.1	Sirkuler	Rata	Datar	Putih
GSK 7.1	Sirkuler	Rata	Datar	Putih

Tabel 2. Karakterisasi Biokimia Isolat Bakteri Pada Ikan Nila Yang Sehat Dan Ikan Nila Yang Sakit

KODE SAMPEL	UJI BIOKIMIA			
	GRAM	MOTILITAS	KATALASE	Keterangan
ISS 5.1	-	+	+	<i>Plesiomonas</i> sp.
ISK 5.1	-	+	+	<i>Aeromonas</i> sp
ISK 5.2	-	+	+	<i>Aeromonas</i> sp
ISK 6.1	-	+	+	<i>Aeromonas</i> sp
ISK 7.1	-	+	+	<i>Aeromonas</i> sp
GSS 5.1	-	+	-	<i>Enterobacter</i> sp
GSK 5.1	-	+	+	<i>Plesiomonas</i> sp
GSK 5.2	-	+	+	<i>Plesiomonas</i> sp
GSK 6.1	-	+	+	<i>Plesiomonas</i> sp
GSK 7.1	-	+	+	<i>Plesiomonas</i> sp

Ket Tabel :

ISS = Insang Sehat

ISK = Insang Sakit

GSS = Ginjal Sehat

GSK = Ginjal sakit



(a)



(b)

Gambar 1. Ikan Nila Dari Desa Tatelu (a.Ikan Nila Sehat) (b.Ikan Nila Sakit)



(a)



(b)

Gambar 2. Pengujian Motil (a. Isolat ISS 5.1) (b. Isolat ISK 5.1)

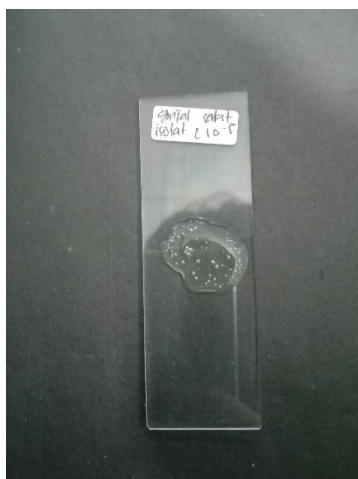


(a)

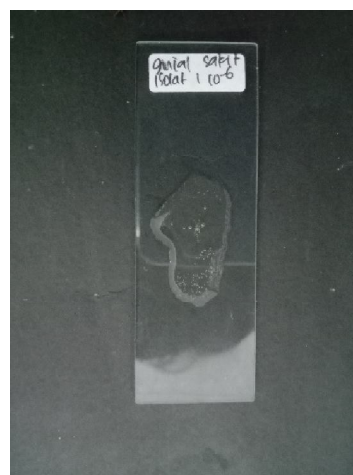


(b)

Gambar 3. Koloni bakteri dari Ikan Nila (a.Isolat ISK 5) (b.Isolat GSK 5)



(a)



(b)

Gambar 4. Pengujian Katalase (a.Isolat ISK 5.1) (b.Isolat GSK 5.1)

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang terdapat pada sampel Ikan Nila yang sakit dan Ikan Nila yang sehat (Insang dan ginjal) menunjukkan bahwa terdapat 3 jenis isolat bakteri yaitu *Plesiomonas* sp., *Aeromonas* sp. dan *Enterobacteria* sp. Ketiga jenis bakteri ini merupakan bakteri patogen (penyebab penyakit) yang menyerang ikan nila.

Isolasi bakteri dilakukan pada ginjal karena ginjal merupakan organ limfomieloid yang berperan dalam membentuk sel darah dan ginjal ikan memiliki sistem retikuloendotelial yaitu suatu sistem imun yang berkemampuan dalam menginduksi respon kekebalan tubuh Ikan. Pembentukan respons imun yang terjadi di ginjal berfungsi sebagai sistem pertahanan tubuh yang diperlukan untuk proteksi tubuh terhadap serangan patogen seperti bakteri. Dengan demikian kondisi patofisiologinya tetap seimbang dalam Barrow Gi^[5] Insang ikan seringkali dapat dijadikan indikator untuk menentukan status infeksi yang dipengaruhi oleh faktor eksternal dan terjadinya masalah yang diakibatkan oleh lingkungan yang buruk.

Deskripsi Bakteri yang ditemukan pada ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ditemukannya bakteri-bakteri pada Ikan Nila yang dibudidayakan di Desa Tatelu maka dapat menjadi dasar untuk mencegah dan menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri-bakteri yang ditemukan pada ikan Nila bersifat Gram Negatif yaitu diduga *Aeromonas* sp., *Plesiomonas* sp. dan *Enterobacteria* sp.

***Aeromonas* sp.**

Aeromonas sp. adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek beberapa spesies bersifat motil polar sedangkan spesies lainnya bersifat non motil bakteri ini oksidase positif, katalase positif, Bakteri ini umumnya hidup di air tawar. *Aeromonas* sp. bisa muncul setiap saat terutama kondisi lingkungan jelek. Penularan bakteri *Aeromonas* sp. dapat berlangsung melalui air, kontak badan, kontak dengan peralatan yang tercemar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kordi dan Ghufra^{[6][7][8]} bahwa penularan *Aeromonas* sp. dapat berlangsung melalui peralatan yang tercemar dan ikan yang terinfeksi *Aeromonas* sp. gerakannya menjadi lebih lambat, lemah dan mudah ditangkap. Serangan bakteri ini bersifat laten, jadi tidak memperlihatkan gejala penyakit meskipun telah dijumpai pada tubuh ikan. Serangan bakteri ini baru akan terlihat apabila sistem imun ikan menurun akibat ikan stres yang disebabkan oleh penurunan kualitas air. Bakteri ini ditemukan pada ikan nila yang menunjukkan gejala klinis antara lain terdapat luka pada kulit.

***Enterobakter* sp.**

Enterobakter sp. merupakan bakteri gram negatif bersifat fakultatif anaerobik, berbentuk batang dan bisa bergerak (motil), alat gerak tersebut berupa flagella peritrik yaitu flagela yang secara merata tersebar di seluruh permukaan sel.^[9] mengungkapkan bahwa bakteri *Enterobacter* sp. juga merupakan penghasil enzim protease, amilase dan selulase. Selain itu, berpendapat bahwa bakteri *Enterobacter* sp. juga memiliki aktivitas antibakteri. Namun, bakteri *Enterobacter* sp. juga memiliki faktor-faktor patogenitas antara lain endotoksin dan enterotoksin seperti yang diungkap. Bakteri patogen dapat menyebabkan penyakit apabila memiliki kemampuan untuk merusak jaringan dan menghasilkan toksin.

***Plesiomonas* sp.**

Plesiomonas sp. merupakan bakteri anaerob fakultatif, Gram negatif, berbentuk batang, oksidase positif, non spora, motil dan memiliki lophotrichous dan peritrichous flagela, tumbuh pada suhu optimum 30 ° C dan memiliki kisaran 29-41°C. *Plesiomonas* sp. merupakan bakteri patogen oportunistik, dapat menyebabkan terjadinya petechial haemorrhagic pada usus ikan. Pada kondisi normal, bakteri ini dapat ditemukan pada ikan air tawar

5. KESIMPULAN

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri yang menyebabkan penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan di Desa Tatelu Kecamatan Dimembe Kabupaten Minahasa Utara ditemukan 10 isolat bakteri yang terdiri dari 3 jenis bakteri yaitu bakteri *Aeromonas* sp (4 isolat), bakteri *Plesiomonas* sp. (5 isolat) dan bakteri *Enterobacteria* sp. (1 isolat).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Universitas Negeri Manado dan seluruh pihak yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Fao . 2001. Budidaya Nila. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 51 halaman Using PCR Technique
- [2] Irianto, A., 2004. Patologi Ikan Teleostei. Gadjah Mada Univesity Press, Yogyakarta.
- [3] Cahyoino, J.E.P., E.C.Urbinati, D.M.Fracalossi & N.Castagnolli. 2004. To´picos Especiais em Piscicultura deA´ gua Doce Tropical Intensiva. So Paulo: TecArte. p. 533.
- [4] Lawalata HJ L Sembiring , dan ES Rahayu.2011. Molecular identifcation of lactic acid bacteria producing antimicrobial agents from bakasang, an Indonesian traditional fermented fish product. Indonesia Journal of Biotechnology.
- [5] Barrow GI dan, Feltham RKA. 1993. Cowan and Steel Manual for the Identification of Medical Bacteria. New York: Cambridge University Press
- [6] Kordi MGH. 2004. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Jakarta: PT Rineka Cipta.
- [7] Gufran Kordi MGH, Tancung AB. 2005. Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan. PT Rineka Cipta. Jakarta.
- [8] Gufran Kordi. 1997. *Budidaya ikan nila. Dahara Prize.*
- [9] Azhari C, Tumbol RA, Kolopita MEF. 2014. Diagnosa penyakit bakterial pada ikan Nila (*Oreocromis niloticus*) yang dibudidayakan pada jaring tancap di Danau Tondano. Jurnal Budidaya Perairan. Vol 2 No. 3: 24 – 30.