

## Pengujian bakteri patogen pada ikan hias di Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Palembang

## Testing of pathogenic bacteria in decorative fish at the Fish Quarantine Station Quality Control and Fishery Products Safety of Palembang

Arief Sulistiyono<sup>1</sup>, Eka Mutiara<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan

<sup>2</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Jalan Raya Palembang-Prabumulih km 32, Indralaya, Indonesia.

\*Corresponding author

E-mail address: [ekamutiara@gmail.com](mailto:ekamutiara@gmail.com)

Peer review di bawah tanggung jawab Departemen Biologi Universitas Sriwijaya

### Abstract (English):

The Quality Control and Safety Quarantine Agency is the result and service of two institutions, namely the Fish Quarantine and the Fisheries Quality Development and Testing Laboratory. Fish quarantine is responsible for preventing the entry and spread of Quarantine Fish Disease Pests (HPIK) in Indonesia and preventing the release of Fish Pests and Diseases (HPI) from within the territory of the Republic of Indonesia. Diseases that attack fish usually arise due to interference with pathogenic organisms in the form of parasites, fungi, bacteria, and viruses. Fish diseases caused by bacteria that greatly affect the results of aquaculture because these diseases can reduce aquaculture yields, therefore it is necessary to diagnose fish diseases before being traded in the territory of the Republic of Indonesia. The purpose of this study was to provide information on how to test for pathogenic bacteria in fish and to identify pathogenic bacteria found in fish. This research was conducted from June to July 2022. This research uses conventional methods ranging from instrument sterilization, isolation, purification, gram staining to biochemical tests on bacteria using test samples of the ornamental fish *Botia macracantha*. The results showed that the pathogenic bacteria, namely *Plesiomonas shigelloides*, had the characteristics of being gram-negative and rod-shaped and these bacteria were motile, fermentative, could produce catalase, indol enzymes, and could decarboxylase the amino acids lysine and ornithine. The results of acid production from the sugar fermentation process can be obtained from the types of sugars glucose, inositol, and trehalose.

Keywords: bacteria, testing, pathogenic, decorative fish

### Abstrak (Indonesia):

Badan Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan merupakan birokrasi dan orientasi pelayanan dari dua institusi yaitu Karantina Ikan dan Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan. Karantina ikan bertanggung jawab terhadap pencegahan masuk dan tersebarnya Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) di Indonesia serta mencegah keluarnya Hama dan Penyakit Ikan (HPI) dari dalam wilayah Republik Indonesia. Penyakit yang menyerang ikan biasanya timbul karena gangguan organisme patogen berupa parasit, jamur, bakteri, dan virus. Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan hasil ikan budidaya oleh karena itu perlu dilakukan diagnosis penyakit ikan sebelum di perdagangkan dalam wilayah Republik Indonesia. Tujuan penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi mengenai cara pengujian bakteri patogen pada ikan dan mengetahui bakteri patogen yang terdapat pada ikan. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juni sampai Juli 2022. Penelitian ini menggunakan metode konvensional mulai dari sterilisasi alat, isolasi, pemurnian, pewarnaan gram hingga uji biokimia pada bakteri dengan menggunakan sampel uji ikan hias *Botia macracantha*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ditemukan bakteri patogen yaitu *Plesiomonas shigelloides* yang memiliki karakteristik antara lain bersifat gram negatif dan berbentuk batang serta bakteri ini bersifat motil, fermentatif, dapat memproduksi enzim katalase, indol, dan dapat mendekarboksilase asam amino lisin maupun ornithin. Adapun hasil produksi asam dari proses fermentasi gula bisa didapat dari jenis gula glukosa, inositol, dan trehalosa.

Kata Kunci : pengujian, bakteri patogen, ikan hias

Diterima: 17 Februari 2022, Disetujui: 01 November 2022

## 1. Pendahuluan

Potensi terbesar yang dimiliki Indonesia dari sektor non migas salah satunya adalah pengembangan sumber daya perairan. Indonesia yang sekitar 75% wilayah teritorialnya merupakan perairan dengan berbagai kekayaan yang sudah maupun belum dikelola dengan optimal. Berkaitan dengan potensi perairan, maka sektor perikanan dan kelautan adalah salah satu stakeholders yang bertanggung jawab di dalam pengelolaannya. Subsektor kelautan, perikanan tangkap, budidaya perairan tawar, laut, dan payau, pengolahan, hingga pemasaran memegang peranan penting di dalam siklus bioindustri perikanan dan kelautan, mulai dari hulu hingga hilir (Kurniawan, 2012).

Keberadaan penyakit di dalam lingkungan perairan merupakan salah satu kendala di dalam pengembangan subsektor budidaya perikanan. Penyebab penyakit tersebut dapat berupa faktor fisika dan kimia lingkungan, pakan dan metabolisme, stress sebagai bagian reaksi psikologis ikan. Serangan penyakit tersebut dapat berakibat pada terganggunya produktivitas budidaya bahkan dapat menyebabkan kegagalan hingga menimbulkan kerugian. Selain itu kenaikan atau penurunan suhu secara mendadak dapat menyebabkan stres pada ikan. Kepadatan ikan yang tinggi akan menyebabkan ikan mudah stress sehingga lebih mudah terserang penyakit dan perubahan iklim merupakan faktor penyebab timbulnya penyakit (Azmi et al., 2013).

Penyakit yang menyerang ikan ada yang merupakan penyakit noninfeksi dan infeksi. Penyakit noninfeksi adalah penyakit yang timbul akibat adanya gangguan faktor selain patogen, misalnya karena faktor lingkungan, kualitas pakan yang kurang baik, dan penyakit karena turunan. Sedangkan penyakit infeksi biasanya timbul karena gangguan organisme patogen berupa parasit, jamur, bakteri, dan virus. Penyakit ikan yang disebabkan oleh bakteri sangat mempengaruhi hasil budidaya karena penyakit tersebut dapat menurunkan hasil ikan budidaya. Penyebab penyakit disebabkan oleh bakteri salah satunya adalah melalui luka ikan (Ritonga et al., 2017).

Karantina ikan bertanggung jawab terhadap pencegahan masuk dan tersebarnya Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) di Indonesia serta mencegah keluarnya Hama dan Penyakit Ikan (HPI) dari dalam wilayah Republik Indonesia. Tindakan karantina

bertujuan untuk membebaskan komoditas perikanan tersebut dari keberadaan HPIK yang mungkin terbawa dalam proses lalu lintas ikan. Oleh karena itu perlu dilakukan diagnosa penyakit sebelum di perdagangkan dalam wilayah Republik Indonesia.

Bakteri adalah mikroorganisme dengan struktur intraselluler yang sederhana, bentuknya berbeda menurut genusnya. Jenis bakteri tertentu biasanya menunjukkan bentuk dan ukuran sesuai dengan keadaan lingkungan. ciri-ciri bakteri itu sendiri adalah dapat tumbuh dan bertambah banyak dalam kelompok, berbentuk rantai atau benang, memiliki koloni yang berwarna dan berkilau atau tidak, halus atau kasar, metabolisme aerob atau anaerob, membutuhkan medium tertentu untuk mengkultur disertai dengan menghasilkan asam dan gas, sifat-sifat ini berguna untuk mengidentifikasi bakteri. Penyakit akibat infeksi bakteri di Indonesia dapat menyebabkan kematian sekitar 50-100% pada populasi ikan (Handayani, 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai cara pengujian bakteri patogen pada ikan serta mengetahui bakteri patogen apa saja yang terdapat pada ikan karantina sebagai bentuk tindakan sanitary dalam mencegah penyebaran penyakit ikan di dalam wilayah Republik Indonesia.

## 2. Bahan dan Metode

**Waktu dan Tempat** Penelitian ini berlokasi di Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kota Palembang, Kecamatan Sukarami, Kebun Bunga, Jl. Akses Bandara Internasional SMB 2. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni-Juli 2022.

**Alat yang digunakan** pada penelitian ini alat yang digunakan adalah alat-alat bedah, alat tulis. alumunium foil, autoklaf, baki bedah, bunsen, cawan petri, Erlenmeyer, gelas beaker, hand spray, hot plate, inku-

bator. jarum ose, kaca objek, kapas, kertas label kertas saring, laminar air flow, magnetic stirrer, masker, mikroskop, oven, pipet tetes, sarung tangan, tabung reaksi, timbangan analitik, dan tissue.

**bahan yang digunakan** Bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah: sampel uji ikan hias, uquades, medium Tryptone Soya Agar (TSA), medium Triple Sugar Iron Agar (TSIA), medium Lysine Iron Agar (LIA), medium Oksidatif/Fermentatif (O/E), medium Citrate, medium MIO (Motility Indole Ornithine), medium MRVP (Methyl Red Voges Proskauer), medium gelatin, medium pepton, medium gula-gula (adonitol, aesculin, arabinosa, dulcitol, fruktosa, galaktosa, glukosa, inositol, laktosa, maltose, mannitol, raffinosa, sorbitol, sukrosa, trehalosa, xylosa), NaCl 4%. larutan N,N,N,N-tetramethyl-p-phenylenediamine, alkohol 70%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3%, parafin, dan kovac's.

**Prosedur kerja** Penelitian ini dikerjakan menggunakan metode konvensional. Pemeriksaan bakteri dimulai dari sterilisasi alat, isolasi, pemurnian, pewarnaan gram hingga uji biokimia.

#### **Pembuatan Medium dan Sterilisasi**

Medium TSA, O/F, LIA, TSIA, MIO, MRVP, pepton, citrate, urea, gelatin, dan NaCl 4% dibuat dalam erlenmeyer dengan cara masing - masing medium dilarutkan dalam akuades dengan takaran per liter yang sesuai. Kemudian masing- masing medium ditutup dengan aluminium foil lalu dihomogenkan di atas hot plate yang dilengkapi magnetic stirrer. Setelah itu medium disterilisasi bersama dengan alat-alat lain di dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit yang bertujuan untuk membersihkan atau membebaskan alat dan bahan dari semua mikroorganisme. Untuk medium gula-gula sterilisasi dilakukan pada suhu 101 °C selama 1 menit supaya gula-gula dalam medium tersebut tidak rusak. Setelah selesai sterilisasi, medium didinginkan kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri atau tabung reaksi.

#### **Preparasi Sampel dan Nekropsi**

Sampel diambil dari ikan yang masih hidup atau dalam keadaan segar. Proses nekropsi menggunakan alat bedah (gunting bedah, pinset, jarum dissecting net) dan nampan bedah. Ikan ditusuk dengan jarum dissecting net di bagian kepala ikan hingga tembus mengenai medulla oblongata. Ditunggu beberapa menit hingga ikan benar - benar mati. Diamati kelainan patologis pada kedua sisi ikan setelah mati.

Kemudian permukaan tubuh ikan disterilisasi dengan menggunakan alkohol 70% sebelum dilakukan proses nekropsi untuk menghilangkan bakteri kontaminan. Proses nekropsi untuk ikan berukuran kecil, tubuh ikan dipotong menjadi 2 bagian secara vertical dengan menggunakan gunting bedah, sedangkan untuk ikan berukuran besar dilakukan pembedahan dengan cara menggantung otot daging mulai dari anus kearah dorsal sampai sedikit di atas garis sisi, kemudian diteruskan kearah anterior sampai di batas tubuh dan kepala. Pemotongan diteruskan ke arah ventral ikan, sehingga semua organ dalam terlihat. Sisihkan organ dalam dan gelembung renang sehingga ginjal terlihat dan bakteri dapat diisolasi.

#### **Isolasi/Inokulasi Bakteri**

Isolasi bakteri dari ikan berukuran kecil dilakukan dengan menginokulasikan penampang potongan ke medium TSA dan disebar dengan jarum ose melalui goresan, sedangkan untuk ikan besar bakteri dapat disolasi dari ginjal, otak, dan jaringan otot. Hasil isolasi kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C selama 24-48 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dibedakan berdasarkan karakteristik dasar (warna, bentuk, tipe, dan ukuran koloni). Koloni yang tumbuh dominan dimurnikan pada medium TSA miring untuk diidentifikasi selanjutnya.

#### **Uji Dasar dan Uji Biokimia**

Koloni bakteri yang tumbuh dilakukan pengamatan struktur makroskopis dengan mengamati bentuk koloni, warna koloni, dan bentuk tepi koloni. Selanjutnya dilakukan Uji Dasar (gram, oksidase, katalase) dan Uji Biokimia.

Uji gram KOH 3%. Larutan KOH 3% diteteskan pada gelas objek kemudian bakteri diambil menggunakan ose dan diletakkan pada gelas objek. Selanjutnya pada bakteri diamati perubahan yang terjadi. Bakteri bersifat gram negatif jika terbentuk lendir saat dicampur dengan KOH 3%, sedangkan bakteri bersifat gram positif ikan tidak terbentuk lendir.

Uji Oksidase. Kertas saring dibasahi dengan pereaksi oksidasi N,N,N,N.- tetramethyl-p- phenylenediamine, kemudian saku ose isolat bakteri digoreskan pada kertas saring yang telah diberi larutan N.N.N.N.- tetramethyl-p-phenylenediamine. Diamati reaksi oksidasi pada goresan di kertas saring. Bakteri bersifat oksidase positif jika kertas saring berubah warna menjadi biru, sedangkan oksidase negatif tidak terjadi perubahan warna.

Uji Katalase. Gelas objek ditetesi larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% sebanyak 1-2 tetes. Kemudian satu ose isolat bakteri

dimasukkan pada genangan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Diamati reaksi katalase pada gelas objek. Bakteri bersifat katalase positif jika terbentuk buih pada gelas objek, sedangkan bakteri bersifat katalase negatif jika tidak terbentuk buih.

Uji O/F. Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium O/F dengan cara ditusukkan. Satu tabung diisi dengan parafin cair steril setinggi 1 cm di atas permukaan medium O/F (Fermentatif), sedang tabung lainnya tanpa parafin cair (Oksidatif). Kemudian inkubasi pada suhu 27 °C. Diamati perubahan warna yang terjadi pada tabung yang diisi parafin cair. Jika pada medium Oksidatif dan Fermentatif berubah menjadi kuning maka bakteri bersifat Fermentatif, namun jika hanya medium oksidasi yang berubah warna menjadi kuning maka bakteri bersifat Oksidatif.

Uji Motilitas dan Indol. Isolat bakteri diinokulasi ke dalam medium pepton pada tabung reaksi secara aseptik, diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam. Amati reaksi yang terjadi. Bakteri bersifat motil jika terlihat bergerak-gerak di bawah mikroskop, sedangkan bakteri non motil akan terlihat diam atau tidak bergerak. Pengamatan motilitas bakteri dapat dilihat melalui mikroskop dengan cara mengambil satu tetes medium pada kaca objek yang terdapat cekungan dan ditutup dengan kaca penutup. Apabila bakteri terlihat bergerak-gerak di bawah mikroskop maka bakteri bersifat motil. Untuk pengujian indol medium ditetesi dengan 10 tetes reagen kovac's. Bakteri bersifat indol positif jika terbentuk cincin merah pada medium pepton, sedangkan bakteri bersifat indol negatif jika tidak terbentuk cincin merah.

Uji TSIA. Isolat bakteri diinokulasi ke dalam medium TSIA dengan cara menusuk ke bagian dasar medium dan kemudian melakukan streak keatas di daerah slant (miring). Proses inokulasi harus dilakukan secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam dan diamati perubahan yang terjadi pada medium. Reaksi asam apabila medium berubah warna dari merah menjadi kuning dan bila tetap berwarna merah maka reaksi bersifat alkaline. Pembacaan warna media dilakukan pada bagian butt dan slant. Pembentukan gas ditandai dengan naiknya dasar medium (medium terpecah-pecah) atau terdapat rongga pada medium. Sedangkan adanya pembentukan H<sub>2</sub>S ditandai adanya warna hitam pada medium.

Uji LIA. Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium LIA dengan cara menusuk ke bagian dasar medium dan kemudian melakukan streak keatas di dae-

rah slant (miring). Proses inokulasi harus dilakukan secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam, kemudian diamati perubahan yang terjadi pada medium. Lisin decarboxylase positif jika pada daerah tusukan dan goresan berwarna kuning atau pada daerah tusuk dan goresan berubah menjadi ungu. Lisin decarboxylase negatif jika daerah tusukan kuning dan goresan ungu. Lisin diaminease positif jika daerah tusukan dan goresan berwarna merah.

Uji MIO (Ornithin). Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium dengan cara ditusukkan. Proses inokulasi harus dilakukan secara aseptis. Medium yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam. Terjadinya reaksi ornithine decarboxylase positif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi lebih ungu atau ungu muda (seperti abu-abu). Sedangkan ornithin decarboxylase negatif ditandai dengan berubahnya warna medium menjadi kuning pada daerah tusukan.

Uji Citrat. Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium LIA dengan cara menusuk ke bagian dasar medium dan kemudian melakukan streak keatas di daerah slant (miring). Proses inokulasi harus dilakukan secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam, kemudian diamati dan diamati perubahan yang terjadi pada medium. Reaksi citrate positif jika medium berubah warna menjadi biru dan akan menghasilkan reaksi alkaline. Sedangkan reaksi citrate negatif jika tidak terjadi perubahan warna pada medium.

Uji Urea. Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium LIA dengan cara menusuk ke bagian dasar medium dan kemudian melakukan streak keatas di daerah slant (miring). Proses inokulasi harus dilakukan secara aseptis. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam, kemudian diamati perubahan yang terjadi pada medium. Bakteri menghasilkan enzim urea (urea positif) jika medium berubah warna menjadi merah, sedangkan urea negatif jika medium tidak berubah warna.

Uji MR-VP. Isolat bakteri diinokulasi ke dalam medium MRVP pada tabung reaksi secara aseptik dengan cara dicelupkan, diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam. Selanjutnya medium dibagi menjadi 2 tabung, satu tabung untuk pengujian MR dan tabung lainnya untuk pengujian VP. Metode untuk uji MR adalah dengan meneteskan reagent MR sebanyak 3 tetes ke dalam tabung dan diamati perubahan warna. Sedangkan metode untuk uji VP adalah dengan menambahkan reagent VP sebanyak setengah dari medium

dan dihomogenkan sampai berwarna coklat susu dan terasa hangat. Kemudian ditambahkan KOH 40% sebanyak setengah dari banyaknya reagent VP dan dihomogenkan kembali. Diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil MR positif jika medium MR berubah warna menjadi merah dan MR negatif jika medium MR tetap berwarna kuning (tidak berubah warna). Hasil VP positif jika medium VP berubah warna menjadi merah setelah 10-15 menit, sedangkan VP negatif jika pada medium VP tetap berwarna kuning (tidak berubah warna).

Uji Gelatin. Isolat murni bakteri diinokulasikan ke medium gelatin dengan cara ditusukkan. Diinkubasi pada suhu 27 °C selama 24 jam. Hasil gelatin positif ditunjukkan jika terbentuk cairan pada medium. Sedangkan hasil negatif ditunjukkan jika tidak terdapat bakteri yang tumbuh pada medium.

Uji TSA NaCl 4%. Isolat bakteri diinokulasikan pada medium TSA NaCl 4% dengan cara gores. Diinkubasi pada suhu 25 °C selama 24 jam. Hasil positif jika bakteri mampu tumbuh pada medium, sedangkan hasil negatif ditunjukkan jika tidak terdapat bakteri yang tumbuh pada medium.

Uji Gula-gula Isolat bakteri diinokulasikan pada medium gula-gula dengan cara dicelupkan. Medium gula-gula terdiri dari adonitol, aesculin, arabinose, dulcitol, fruktosa, galaktosa, glukosa, inositol, laktosa, maltose, mannitol, raffinosa, sorbitol, sukrosa, trehalosa, xylosa, dan malonate. Medium kemudian diinkubasi pada suhu 25 °C selama 24 jam. Diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif ditunjukkan jika medium berubah warna menjadi kuning pada setiap medium gula-gula, sedangkan hasil negatif ditunjukkan jika warna medium berubah menjadi merah. Untuk medium malonate, hasil positif ditunjukkan jika medium berubah warna menjadi biru, dan hasil negatif ditunjukkan jika medium tetap berwarna hijau.

#### **Identifikasi Bakteri**

Karakter bakteri berdasarkan pengamatan morfologi koloni, pengujian sifat fisiologis maupun sifat biokimia disusun dalam bentuk tabel Lembar Hasil Uji Sementara, kemudian diidentifikasi dengan mencocokkan karakter bakteri yang berada di buku panduan.

#### **Metode Pengumpulan Data**

Data yang diambil dalam kerja praktek ini yaitu berupa data primer dan data sekunder yang diperoleh melalui beberapa metode atau cara pengambilan sampel.

#### **Data Primer**

Data primer merupakan sumber data yang diperoleh secara langsung dari sumber asli (tidak melalui perantara). Data primer dapat berupa opini subyek (orang) secara individu maupun kelompok, hasil observasi terhadap satu benda (fisisik), kejadian atau kegiatan, dan hasil pengujian. Ada dua metode yang dapat digunakan dalam pengumpulan data primer, yaitu metode survei dan metode observasi.

#### **Data Sekunder**

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari semua literatur (bukan dari responden) serta dokumen-dokumen yang mempunyai relevansi dengan tujuan studi. Data sekunder dapat berupa data internal dan data eksternal. Data internal adalah data yang berisi dokumen-dokumen akuntansi dan operasi yang dikumpulkan, dicatat, dan disimpan dalam suatu organisasi. Sementara data eksternal adalah data yang umumnya disusun oleh suatu entitas selain subyek dari organisasi yang bersangkutan. Data sekunder ini diperoleh dari laporan-laporan, data dokumentasi, pustaka yang menunjang, dan data lembaga penelitian yang berhubungan dengan pemantauan dan pemeriksaan penyakit.

### **3. Hasil dan Pembahasan**

Berdasarkan hasil pengujian bakteri yang telah dilakukan selama kerja praktek di Laboratorium Pengujian Bakteri Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Palembang, maka didapatkan hasil sebagai berikut yang disajikan dalam bentuk Tabel 4.1.

Hasil pengujian bakteri pada Tabel 4.1, maka dapat diketahui bahwa dari ikan botia yang diujikan terdapat sampel ikan yang terinfeksi bakteri patogen, yaitu ditemukan jenis bakteri *Plesiomonas shigelloides*. Jenis bakteri tersebut ditemukan berdasarkan hasil identifikasi dari buku *Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish* (Austin dan Dawn, 2007).

Proses isolasi bakteri dari sampel ikan diambil dari organ seluruh tubuh karena ukuran ikan yang sangat kecil sehingga menggunakan mortar dengan cara digerus. Bakteri yang diambil dengan menggunakan ose steril kemudian diinokulasikan ke dalam media TSA (Tryptone Soya Agar) dalam cawan

petri dengan cara digoreskan. TSA merupakan media umum (non selektif) yang dapat digunakan sebagai media pertumbuhan dengan tujuan mengamati morfologi koloni bakteri, mengembangkan kultur murni, dan pertumbuhan untuk uji biokimia. TSA juga biasa digunakan untuk perhitungan jumlah bakteri. Media TSA memiliki keunggulan yaitu dapat digunakan untuk menumbuhkan berbagai macam jenis bakteri dikarenakan nutrisinya yang lebih banyak dibandingkan media lain.

Jika pada media TSA tidak terdapat Koloni bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi, maka hasil pengujian dikatakan nihil dan jika pada media tumbuh koloni bakteri setelah diinkubasi, maka hasil pengujian dikatakan positif. Koloni bakteri yang ada

tasi karbohidrat yang disertai produksi asam. tumbuh pada media TSA plate, selanjutnya akan di murnikan pada media TSA miring. Jika pada media TSA tidak terdapat Koloni bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi, maka hasil pengujian dikatakan nihil dan jika pada media tumbuh koloni bakteri setelah diinkubasi, maka hasil pengujian dikatakan positif. Koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA plate, selanjutnya akan dimurnikan pada media TSA miring. Menurut Napit-upulu et al. (2017), tujuan dari permurnian adalah untuk memisahkan bakteri yang satu dengan yang lainnya sehingga didapatkan koloni yang seragam (sejenis). Koloni bakteri yang ingin dimurnikan dapat diambil dari koloni yang memiliki karakteristik koloni bakteri target. Dari pemeriksaan morfologi, bentuk koloni bakteri *Plesiomonas shigelloides* dari ikan botia adalah bulat dan berwarna putih.

Tabel 4.1. Hasil Pengujian Bakteri pada Sampel Ikan

Waktu Pengujian	Kode Sampel	Nama Ikan	Organ Target	Jenis Bakteri yg ditemukan	Keterangan
06 – 10 Juli 2022	PL/06/07/22/1446	<i>Botia macracantha</i>	Seluruh Tubuh	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	HPI

Keterangan :

HPI = Hama dan Penyakit Ikan

Kultur murni yang tumbuh pada media TSA miring, selanjutnya akan dilakukan uji dasar dan uji biokimia untuk mengetahui karakteristik dan sifat-sifat biokimia dari bakteri. Uji dasar terdiri dari 3 pengujian. yaitu uji gram, uji katalase, dan uji oksidase, sedangkan uji biokimia terdiri dari uji TSIA, uji gula-gula, uji O/F, uji motilitas dan indol, uji MIO (ornithin), uji LIA, uji citrate, uji urea, uji MRVP, uji gelatin, dan uji TSA NaCl 4%. Isolat bakteri untuk uji dasar diambil dari kultur murni dalam TSA miring, sedangkan isolat bakteri untuk uji biokimia diambil dari kultur di media TSIA. Jadi, sebelum melakukan uji biokimia, kultur murni bakteri dalam TSA miring diinokulasikan ke dalam media TSIA dan diinkubasi.

Hasil Pengujian TSIA semua isolat dari sampel ikan botia menunjukkan reaksi asam pada bagian butt dan alkaline pada bagian slant. Hal ini menandakan bahwa bakteri mampu memfermentasikan glukosa pada bagian butt, namun tidak dapat memfermentasikan laktosa dan sukrosa pada bagian slant. Menurut pendapat Anggraini et al. (2016), bakteri memiliki kemampuan dalam men- degradasi dan memfermen-

Berdasarkan hasil pengujian gram, menunjukkan bahwa isolat bakteri dari sampel ikan botia memiliki sifat gram negatif ditandai dengan timbulnya lendir pada bakteri saat diberi reagen KOH 3%. Ada tidaknya lendir ini berdasarkan sifat dari dinding sel bakteri dimana bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tersusun atas banyak lapisan lipid, berbeda dengan bakteri gram positif dimana dinding selnya memiliki lapisan lipid yang tipis dan pada dinding sel bakteri negatif akan rusak dan sel bakteri pun akan pecah dan mengeluarkan DNA bakteri. Hal ini sesuai dengan Anggraini et al. (2016) yang menyatakan bahwa bakteri gram negatif memiliki komponen peptidoglikan yang tipis, sehingga memudahkan sel bakteri pecah.

Hasil uji oksidase terhadap isolat dari sampel ikan botia menghasilkan positif yang berarti bakteri memiliki enzim sitokrom oksidase dibuktikan dengan berubahnya warna kertas saring yang digoreskan dengan bakteri menjadi warna biru keunguan. Menurut pendapat Purnamawati (2016), enzim oksidase berfungsi mempercepat penggabungan O<sub>2</sub>,

dengan suatu substrat yang pada saat bersamaan juga mereduksikan O<sub>2</sub>, sehingga bias terbentuk H<sub>2</sub>O.

**Tabel 4.2.** Hasil Pengujian Karakterisasi dan Uji Biokimia pada Sampel Ikan

No	Pengujian	Keterangan
1.	TSA	+
2.	Bentuk Koloni	Bulat
3.	Warna Koloni	Putih
4.	Gram	-
5.	Katalase	+
6.	Oksidase	+
7.	TSIA	K/M, gas (-), H <sub>2</sub> S (-)
8.	Motilitas	+
9.	Indol	+
10.	O/F	Fermentatif
11.	Citrate	-
12.	MR	+
13.	VP	-
14.	TSA NaCl 4%	-
15.	Urea	-
16.	Gelatin Hydrolysis	-
17.	Ornithine Decarboxylase	+
18.	Lysine Decarboxylase	+
19.	Adonitol	-
20.	Arabinosa	-
21.	Cellobiosa	-
22.	Dulcitol	-
23.	Esculin	+
24.	Fruktosa	+
25.	Galaktosa	+
26.	Glukosa	+
27.	Inositol	+
28.	Laktosa	+
29.	Maltosa	+
30.	Mannitol	-
31.	Mannosa	-
32.	Melibiosa	+
33.	Raffinosa	-
34.	Rhamnosa	-
35.	Saccarosa	-
36.	Salicin	-
37.	Sorbitol	-
38.	Trehalosa	+
39.	Xylosa	-
Hasil Identifikasi		<i>Plesiomonas shigelloides</i>

Dari hasil pemeriksaan katalase yang dilakukan, semua isolat pada uji katalase bernilai positif, ditandai dengan terbentuknya gelembung udara pada saat campuran H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dengan isolat bakteri. Menurut Mac Faddin (1980), hidrogen peroksida dibentuk sebagai produk akhir oksidatif dari pemecahan gula secara aerob. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jika dibiarkan terakumulasi bersifat toksik bagi bakteri yang dapat menyebabkan kematian. Katalase memanfaatkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, untuk mengoksidasi substrat lain (fenol, asam format, formaldehida, dan alkohol).

Uji gula-gula yang dilakukan untuk uji bio-

kimia menggunakan 20 jenis gula yaitu adonitol, aesculin, arabinosa, celobiosa, dulcitol, fruktosa, galaktosa, selukosa, inositol, laktosa, maltose, mannitol, melibiosa, raffinosa, rhamnosa, saccarosa, salicin, sorbitol, trehalosa, dan xylosa. Berdasarkan Tabel 4.1. hasil pengujian gula-gula positif menandakan bahwa bakteri dapat mendegradasi jenis gula tersebut dan menghasilkan reaksi asam, sedangkan hasil negatif menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mendegradasi jenis gula tersebut sehingga menghasilkan reaksi alkaline. Uji malonate sendiri dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan sodium malonate sebagai sumber karbon dengan menghasilkan reaksi alkaline. Indikasi adanya penguraian malonate ditandai dengan berubahnya warna media menjadi biru.

Uji O/F terhadap semua isolat pada sampel ikan botia menunjukkan sifat fermentatif. Hal ini dikarenakan media yang tidak ditutup dan ditutup paraffin berubah warna dari hijau menjadi kuning, maka bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi. Menurut Anggraini *et al.* (2016), beberapa bakteri tidak dapat tumbuh tanpa adanya oksigen dan ada bakteri yang tetap tumbuh dengan adanya oksigen.

Uji Motilitas menunjukkan hasil bahwa pada isolat bersifat motil. dikarenakan pada saat bakteri dilihat melalui mikroskop bakteri terlihat bergerak-gerak. Hal ini menandakan adanya flagella yang berfungsi untuk melakukan pergerakan. Menurut Anggraini *et al.*, (2016), flagella merupakan salah satu struktur utama di luar sel bakteri yang menyebabkan terjadinya pergerakan (motilitas) pada sel bakteri. Pada uji indol sendiri isolat menunjukkan reaksi positif yang menandakan adanya produksi indol dari tryptophan. Produksi indol dapat terjadi dikarenakan bakteri mampu menghasilkan enzim triptophanase yang mendegradasi makromolekul asam amino tryptophan menjadi asam piruvat, ammonia dan indol.

Hasil uji MIO (Ornithin) terhadap semua isolat menunjukkan hasil positif yang menandakan bakteri mampu mengurai ornithin secara decarboxylase. Menurut Barow dan Feltham (1993), umumnya bakteri memiliki kemampuan dalam memecah berbagai protein dan memanfaatkannya untuk sintesis sel juga sebagai sumber energi. Dekarboksilase merupakan enzim yang berperan dalam pemisahan gugus karboksil untuk menghasilkan CO<sub>2</sub>.

Hasil uji LIA pada isolat sampel ikan botia menunjukkan hasil positif. Menurut Anggraini *et al.*

(2016), pemecahan lisin oleh enzim dekarboksilase akan menghasilkan karbondioksida yang berperan dalam pembentukan dinding sel dan proses metabolisme sel mikroorganisme.

Uji Citrate pada isolat sampel ikan botia menunjukkan hasil negatif. Menurut Sudarsono (2008), citrat dihasilkan pada proses kondensasi dari asetil aktif dengan asam oksalasetat. Citrat bertindak berdasarkan enzim Citrase, yang memproduksi asam oksalasetat dengan asan asetat. Produk ini kemudian diubah secara enzimatik menjadi asam piruvat dan karbondioksida. Bila mikroorganisme mampu menggunakan citrat, maka asam akan dihilangkan dari media biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru.

Pada uji Urea pada isolat sampel ikan botia menunjukkan hasil negatif. Menurut Sudarsono (2008), enzim urease merupakan enzim hidrolisis yang memecah ikatan nitrogen dan karbon pada komponen amida seperti urea dan membentuk amonia yang menciptakan suasana basa. Bakteri gram negatif berbentuk batang sebagian besar memiliki enzim urease.

Uji MRVP pada sampel ikan botia ke seluruh isolat yang telah diisolasi pada media MR bernilai positif. Hal ini menandakan bahwa pada isolat bakteri mampu mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya. Uji VP pada isolat dari sampel ikan botia menunjukkan hasil negatif. Menurut Anggraini et al. (2016). Uji VP mengidentifikasi mikroorganisme yang melakukan fermentasi karbohidrat menjadi 2,3 butanediol sebagai bahan utama, sehingga terjadi penumpukan bahan tersebut pada permukaan media pertumbuhan. Hasil Uji Gelatin pada isolat menunjukkan hasil negatif yang menandakan bakteri tidak memiliki enzim gelatinase. Hasil ini dapat dilihat dan media gelatin yang tetap padat setelah dimasukkan ke dalam refrigador selama 5 menit.

Uji gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis gelatin dengan menggunakan enzim gelatinase untuk menghasilkan asam amino. Dikarenakan gelatin telah dihidrolisis oleh bakteri, maka gelatin tidak lagi mampu membentuk gel melainkan cair (liquid).

Uji biokimia terakhir adalah uji TSA NaCl 4%, dimana uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri tumbuh pada media bersalinitas. Jika bakteri tumbuh pada media TSA NaCl 4% maka bak-

teri dapat dikatakan bersifat halofilik. Berdasarkan hasil pengujian, isolat pada sampel ikan botia menunjukkan hasil negatif.

Bakteri *Plesiomonas shigelloides* biasanya dapat ditemukan pada rongga mulut atau kulit pada ikan, memiliki karakteristik antara lain bersifat gram negatif dan berbentuk batang. Bakteri ini bersifat motil, fermentatif, dapat memproduksi enzim katalase, indol, dan dapat mendekarboksilase asam amino lisin maupun ornithin. Produksi asam dari proses fermentasi gula bisa didapat dari jenis gula glukosa, inositol, dan trehalosa. Menurut Quinn et al. (2011), patogenitas dari *Plesiomonas shigelloides* dapat menyebabkan diare pada manusia karena bakteri ini menghasilkan enterotoksin. Distribusi geografis organisme ini terbatas pada daerah tropis dan subtropis.

Kultur murni bakteri juga diinokulasikan dalam media semi solid yang akan digunakan untuk menyimpan isolat dalam waktu yang lama. Media kemudian diinkubasi untuk selanjutnya dapat disimpan dalam refrigador yang dapat dijadikan sebuah bukti kepada pihak pengirim sampel jika terdapat keluhan bahwa ikan yang dikirim terinfeksi penyakit oleh bakteri, sehingga dapat dilakukan pengujian ulang dari media solid tersebut. Kultur bakteri dalam media semi solid ini dapat bertahan kira-kira sampai 1 bulan.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan Penelitian pengujian bakteri yang telah dilakukan di Laboratorium Pengujian Bakteri Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Palembang, maka didapatkan kesimpulan, bahwa Pengujian bakteri pada sampel seluruh tubuh ikan botia yang dilakukan di BKIPM Palembang dengan menggunakan metode konvensional dan Jenis bakteri patogen yang berhasil didapat pada ikan botia di BKIPM Palembang yaitu *Plesiomonas shigelloides*.

#### Referensi

- [1]. Suharto, Anggraini, R., Dwinna A., dan Siska M. 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas Anhydrophila* dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele yang Dibudidayakan di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. Jurnal Imiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan



- Unsyiah. 1(2): 271-286.
- [2]. Austin, B., dan Dawn Austin. 2007. *Bacterial Fish Pathogens Diseases of Farmed and Wild Fish*. Germany: Praxis Publishing.
- [3]. Badan Karantina Ikan (BKIPM). 2022. <http://www.bkipm.kkp.go.id>. Internet. Diakses tanggal 10 juni 2022.
- [4]. Barrow, G. I., dan Feltham, R. K. A. 1993. *Cowan and Steels 's Manual for The Identification of Medical Bacteria*. Cambridge: Cambridge University Press.
- [5]. Dewi, T. C., Kurniasih, Surya A., dan vuli P.K. 2015. Deteksi Bakteri *Streptococcus Iniae* Pada Ikan Nila (*Oreochromys niloticus*) Berasal dari Papua Dengan Metode AGP (Agar Gel Presipitation). *Prosiding Inovasi Veteriner dalam Riset dan Industri untuk Menjawab Tantangan Pasar*. 181-185.
- [6]. Effendie MI. 2002. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama: Yogyakarta. 1-151 hal.
- [7]. Handayani, E. 2012. *Prevalensi Infeksi Bakteri Patogen pada Ikan Patin (Pangasius hypophthalmus) di Kawasan Minapolitan Kabupaten Banjar*. Tesis. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- [8]. Lestari. P.D., dan T.W. Hartati. 2017. *Mikrobiologi Berbasis Inkury*. Malang (ID) : Gunung Samudera
- [9]. Lukistyowati, I dan Feliatra. 2019. *Teknik Isolasi dan Identifikasi Escherichia coli dan Bakteri Patogen pada Ikan*. Unri Press: Pekanbaru. 61 hlm.
- [10]. Mac Faddin, Jean F. 1980. *Bichemical Tests For Identification of Medical Bacteria Second Edition*. USA: Waverly Press.
- [11]. Mulia, D.S., W. Apriyanti, H. Maryanto, dan C. Purbomartono. 2012. Imunogenisitas Antigen Whole Cell Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Sains Akuatik*, 14(1): 25-32.
- [12]. Naibaho, F.F., D. Suryanto, dan R. Leidonal. 2017. Jenis-jenis Bakteri Potensial pada Ikan Patin di Kolam Budidaya Ikan Air Tawar Kota Beling Tanah Air Kecamatan Tanjung Anom, *Jurnal Manajemen Perikanan*.
- [13]. Napitupulu, R. A., Dwi S., dan Desrita. 2017. Isoasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Kolam Budidaya Patumbak. *Jurnal Aquacoastmarine*. 15(1): 1-10.
- [14]. Narwiyani, dan S. Kurniasih. 2011. *Phylogenetic Tree dari Empat Isolat Edwardsiella Tarda di Indonesia*. *Biot* 16 (2) : 348-353.
- [15]. Novriadi, R., Rini P., Dodi Y., dan Joko S. 2014. *Penyakit Ikan Air Laut di Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan.
- [16]. Pelczar MJ, Chan ECS. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- [17]. Purnamawati, R. 2016. *Metode Pemeriksaan Penyakit Ikan di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Surabaya I*. Laporan PKL. Surabaya: Universitas Airlangga.
- [18]. Quinn P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Fitzpatrick, E. S. Fanning, S., dan Hartigan
- [19]. F. J. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease Second Edition*. USA: Blackwell Publishing.
- [20]. Ridwan, M. 2011. *Pedoman Penetapan Hama dan Pemyakit Ikan Karantina*. Jakarta: Pusat Karantina Ikan.
- [21]. Rionga M. Dwi S. dan Yunasfi. 2017. Jenis-Jenis Bakteri Potensial Patogen yang Menginfeksi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) di Kolam Patumbak Kabupaten Deli Serdang. *Jurnal Aquacoastmarine*. 15(1): 1-10.
- [22]. Sudarsono, A. 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut Dalam Spesies Ikan Gindara (Lepidocibium flavobronneum)*. Skripsi. Bogor Institut Pertanian Bogor.
- [23]. Supian, E. 2013. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Pada Ikan*. Pustaka Baru Press: Yogyakarta 10-15.
- [24]. Suryadi. Y., Tri P. P., I Made S. Dwi N. S., Patricia, dan Wahyu 1. 2013. *Karakterisasi dan Identifikasi Isolat Bakteri Endofitik Penghanbat Jamur Patogen Padi*. *Buletin Plasma Nutfah*. 19(1): 25-32.
- [25]. Tito. L. M. 2014. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Kitinolitik yang Terdapat Pada Cangkang Lobster Air Tawar (Cherax quadricarinatus)*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- [26]. Wiklund, Tom. 2016. *Pseudomonas anguilliseptica infection as a threat to wild and farmed fish in the Baltic Sea*. *Microbiology Australia*. 136-136