

INFEKSI *Aeromonas hydrophila* MELALUI JALUR YANG BERBEDA PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DI LOA KULU KUTAI KARTANEGARA KALIMANTAN TIMUR

Pathogenicity of Aeromonas hydrophila via Some Port Entry in Cultured Nila Tilapia (Oreochromis niloticus) from Loa Kulu Kutai Kartanegara Kalimantan Timur

Esti Handayani Hardi¹, Catur Agus Pebrianto¹, Triesna Hidayanti², dan Rizki Tri Handayani²

¹Laboratorium Mikrobiologi Perairan Universitas Mulawarman, Samarinda

²Jurusan Budidaya Perairan Universitas Mulawarman, Samarinda

E-mail: estie_hardie@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui patogenisitas bakteri *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) yang diinfeksi dengan jalur yang berbeda yaitu melalui perendaman, pakan, injeksi intraperitoneum dan intramuskular. Kepadatan bakteri 10^{10} cfu/ml bakteri *A. hydrophila* diinfeksi pada ikan nila berukuran 15 g melalui empat jalur infeksi yang berbeda. Dari hasil pengamatan diketahui bahwa infeksi melalui perendaman, pakan, injeksi intraperitoneum, dan injeksi intramuskular merupakan *port entry* atau jalan masuk bakteri *A. hydrophila* terhadap ikan nila yang bermakna bakteri mampu menyebarkan virulensi (menyebabkan ikan sakit dan atau mati) melalui air (media hidup), saluran pencernaan melalui rongga perut, dan melalui pembuluh darah. Kondisi ini dapat dilihat dari perubahan pada pola renang, penurunan nafsu makan, patologi anatomis organ dalam dan luar serta perubahan gambaran darah. Infeksi bakteri *A. hydrophila* melalui penyuntikan merupakan jalur infeksi yang menyebabkan ikan nila mengalami kematian lebih cepat dan lebih banyak dibandingkan dengan jalur infeksi melalui pakan dan perendaman. Namun injeksi melalui muscular merupakan jalur infeksi yang menyebabkan kematian lebih cepat. Infeksi melalui injeksi merupakan infeksi yang juga menyebabkan perubahan pada pola renang, patologi anatomi lebih cepat dibandingkan dengan jalur infeksi yang lain.

Kata kunci: *A. hydrophila*, perendaman, pakan, injeksi

ABSTRACT

This research target was to know the pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) bacteria infected through different port entry (immersion, feed, intraperitoneum and intramuscular injection). Bacterium density of *A. hydrophila* was 10^{10} cfu/ml then infected to Nile tilapia (size 15 g) through four different port entries. The result showed that the infection by immersion, feed, intraperitoneum and intramuscular injection were the port entries of *A. hydrophila* on Nile tilapia indicating that the *A. hydrophila* infected the fish (causing ill on fish and or die) through the water (PM), digestion (PK), and capillary injection. *Aeromonas hydrophila* infection through injection is a bacteria port entry causes tilapia die faster than the other infection port entry. However, muscular injected was the port entry of *A. hydrophila* causing early death. Infection through injection of an infection that also causes changes in the swimming pattern, anatomic pathology faster than other port entry of infection.

Key words: *A. hydrophila*, immersion, feed, injection

PENDAHULUAN

Budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) telah lama berkembang di Kalimantan Timur. Pusat pengembangan budidaya dilakukan di Kutai Kartanegara khususnya daerah Loa Kulu. Budidaya dilakukan dalam karamba jaring apung dengan memanfaatkan aliran Sungai Mahakam. Hasil produksi dari daerah ini mampu memenuhi kebutuhan ikan nila di daerah Kutai Kartanegara, Samarinda, Balikpapan hingga daerah lain di Kalimantan Timur. Kendala yang ditemukan pada budidaya ikan nila di Loa Kulu adalah serangan bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* (*A. hydrophila*) dan *Pseudomonas* sp. yang menyebabkan kematian mencapai 60%. Hasil pengamatan Hardi dan Pebrianto (2012) menunjukkan bahwa infeksi *Aeromonas* sp. pada ikan nila menyebabkan perubahan pada organ luar ikan yaitu eksophtalmia, pendarahan, dan luka pada permukaan tubuh dan sirip.

Bakteri *A. hydrophila* merupakan bakteri septisemia sehingga penyebaran bakteri di dalam tubuh inang terjadi sangat cepat. Menurut Angka (2005), ikan lele yang diinjeksi dengan *A. hydrophila* kepadatan 10^6 cfu/ml mengalami peradangan dan kematian mencapai 60% selama 12-24 jam pasca-injeksi. Penyakit ini biasanya menjadi wabah pada saat kondisi ikan lemah dan kualitas air yang buruk (Noga, 2000). Angka (2005) berhasil mengisolasi 18 isolat *A. hydrophila* pada ikan sehat dan ikan sakit di daerah Depok, Sukabumi, Cibalgung, Cicurug, dan Bekasi. Bakteri-bakteri tersebut memiliki karakteristik dan virulensi yang berbeda. Untuk itu perlu dilakukan penelitian mengenai uji patogenisitas bakteri *A. hydrophila* asal Kutai Kartanegara pada ikan nila dengan tujuan mengetahui tingkat patogenisitas bakteri *A. hydrophila* pada ikan nila yang diinfeksi melalui jalur yang berbeda.

MATERI DAN METODE

Ikan Uji dan Bakteri *A. hydrophila*

Ikan uji yang digunakan adalah ikan nila berukuran ±10 cm. Bakteri *A. hydrophila* berasal dari ikan nila asal Loa Kulu Kutai Kartanegara Samarinda yang telah diidentifikasi dan ditingkatkan virulensinya melalui postulat Koch (Hardi dan Pebrianto, 2012).

Uji LD₅₀

Tujuan uji ini adalah mendapatkan letal dosis yang dapat mematikan 50% ikan uji yang akan digunakan pada uji selanjutnya. Ikan nila diinjeksi *A. hydrophila* dengan kepadatan 10³, 10⁵, 10⁷, 10⁹, 10¹¹ cfu/ml secara intraperitoneum. Jumlah ikan mati setiap 12 jam selama 120 jam dihitung dan LD₅₀ dianalisis menggunakan rumus Reed dan Muench (1938).

Uji Patogenisitas

Uji patogenisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat patogenisitas bakteri *A. hydrophila* yang diinfeksi dengan empat jalur yang berbeda yaitu melalui perendaman (PM), pemberian pakan (PK), injeksi intraperitoneum (IP), dan injeksi intramuskular (IM). Kepadatan bakteri yang diinfeksi pada masing-masing perlakuan merupakan kepadatan hasil LD₅₀ yaitu 10¹⁰ cfu/ml. Ikan dipelihara dan pengamatan dilakukan selama 168 jam.

Perendaman menggunakan metode Kamiso *et al.* (1994). Untuk memperoleh larutan bakteri, *Aeromonas* ditumbuhkan pada media *Trypticase Soya Broth* (TSB) 100 ml selama 24 jam pada suhu 30° C, kemudian diencerkan dengan 0,85% natrium klorida (NaCl) steril sebanyak 900 ml. Ikan nila direndam selama 30 menit dalam larutan bakteri, kemudian dipindahkan ke dalam akuarium uji. Selama pengujian berlangsung ikan uji diberi pakan dan dilakukan pergantian air selama pemeliharaan.

Metode pemberian pakan (PK) mengikuti metode Kabata (1985) yang disitasi Gardenia *et al.* (2010). Persiapan suspensi bakteri dilakukan dengan penumbuhan *A. hydrophila* dalam media TSB, kemudian disentrifus pada 6.500 g selama 10 menit. Supernatan dibuang dan pelet dicuci dengan NaCl sebanyak 2 kali. Selanjutnya NaCl steril ditambahkan sebanyak volume awal. Untuk melekatkan bakteri pada pakan ikan, ditambahkan 1 ml kuning telur ke dalam suspensi bakteri dan dicampurkan ke dalam pakan, dan dikeringanginkan. Setelah pakan kering, pelet yang telah tercampur dengan *A. hydrophila* kemudian diberikan pada ikan uji sampai kenyang dengan frekuensi pemberian 3 kali sehari selama 3 hari. Pada hari ke-4 mulai dilakukan pengamatan hingga hari ke-7.

Injeksi IP dan IM menggunakan metode Hardi *et al.* (2011). Persiapan suspensi bakteri sama dengan metode pemberian pakan. Masing-masing ikan uji diinjeksi dengan 0,2 ml/ekor melalui IP dan IM dan diamati hingga hari ke-7. Parameter pengamatan, metoda pemeriksaan, dan analisis data yang diperoleh disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter penelitian, metode, dan analisis data yang digunakan dalam penelitian

No	Parameter	Metode	Analisis
1	Tingkah laku berenang	Perubahan gerakan pada kolom air selama 5 menit	Deskriptif
2	Tingkah laku makan	Respons ikan terhadap pakan yang diberikan	Deskriptif
3	Perubahan anatomi organ luar dan organ dalam	Patologi pada mata, warna tubuh, pendarahan juga perubahan warna, bentuk dan konsistensi organ otak dan ginjal ikan.	Deskriptif
4	Pengamatan gambaran darah	Hemoglobin (Wedemeyer dan Yasutake, 1977), hematokrit (Anderson dan Siwicki, 1995), diferensial leukosit dan pengamatan total leukosit serta total eritrosit (Blaxhall dan Daisley, 1973).	Menggunakan SPSS 16.0.
5	Kematian kumulatif	Ellis (1988)	Deskriptif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah kepadatan bakteri *A. hydrophila* yang ditumbuhkan pada media cair TSB yang diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 28-30° C adalah 1,91x10¹¹ cfu/ml sedangkan kepadatan bakteri yang menyebabkan 50% ikan uji mati (LD₅₀) adalah 2,032x10¹⁰ cfu/ml. Hasil pengujian Mangunwardoyo *et al.* (2010), diketahui kepadatan *A. hydrophila* yang menyebabkan kematian 50% ikan nila adalah 10⁶ cfu/ml dan menurut Angka (2005), LD₅₀ bakteri *A. hydrophila* pada ikan lele adalah 10^{5,4-5,5} cfu/ml. Perbedaan hasil pengujian dan perhitungan LD₅₀ tersebut diduga disebabkan karena inang dan lingkungan yang berbeda.

Perubahan gejala tingkah laku ikan nila yang diinfeksi dengan *A. hydrophila* melalui jalur infeksi yang berbeda umumnya sama namun waktu munculnya gejala yang berbeda seperti yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perubahan tingkah laku berenang dan nafsu makan ikan nila yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila* (jam)

Parameter yang diamati	Waktu awal terjadinya perubahan (jam)			
	PM	PK	IP	IM
Berenang gasping (berenang tegak di bawah permukaan air)	48	96	72	48
Berenang di dasar akuarium	72	96	48	24
Gerak reflek lambat	96	120	120	96
Gerakan operkulum cepat	24	24	24	24
Nafsu makan menurun	24	168	48	24

PM= perendaman; PK= pakan; IP= injeksi intraperitoneum; IM= injeksi intramuskular

Infeksi melalui IM lebih cepat menyebabkan perubahan pada pola berenang dibandingkan dengan ketiga cara penginfeksian yang lain. Pada ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* melalui IM pada jam ke-24 pasca-infeksi berenang lemah, gerakan operkulum melemah, dan nafsu makan berkurang. Hal ini disebabkan karena bakteri ini bersifat septisemia yang berkembang di dalam darah sehingga penyebaran bakteri lebih cepat terjadi melalui IM yang ditandai dengan munculnya gejala abnormalitas pada pola renang dan penurunan nafsu makan yang lebih cepat dibandingkan dengan jalur penginfeksian yang lain. Penginfeksian melalui pakan menyebabkan abnormalitas yang paling lambat. Ikan nila berenang gasping (ikan berenang tegak dengan posisi mulut tepat di bawah permukaan air) dan diam di dasar akuarium baru muncul pada jam ke-96 sedangkan jalur infeksi yang lain gejala tersebut sudah muncul pada jam ke 48-72 jam. Hal ini disebabkan karena perkembangan dan penyebaran bakteri dalam tubuh inang terhambat oleh adanya enzim dalam saluran pencernaan.

Ikan nila yang terinfeksi *A. hydrophila* mengalami pendarahan pada organ yang terinfeksi. Injeksi melalui IM dan IP menyebabkan ikan nila mengalami luka/borok pada organ yang terinfeksi, namun gejala lebih cepat muncul pada jalur IM. Kondisi ini disebabkan karena cepatnya penyebaran bakteri pada inang melalui injeksi IM. Gejala klinis ikan nila yang terinfeksi sama dengan gejala pada ikan lele yang diinjeksi dengan *A. hydrophila* yaitu adanya pendarahan pada organ yang terinfeksi (Angka, 2005). Patologi anatomi organ luar ikan yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* antara lain sisik lepas, sirip gripis yang umumnya lebih cepat terjadi pada infeksi melalui PM dan PK. Namun luka/borok di tubuh hanya ditemukan pada ikan yang diinjeksi melalui IP dan IM walaupun IM lebih cepat terjadi yaitu 24 jam pasca injeksi. Begitu pula atologi anatomi organ dalam ikan nila lebih cepat terjadi pada ikan yang diinjeksi dengan cara IP dan IM dibandingkan melalui PM dan PK. Menurut Sutrisno dan Yuli (2004) perubahan yang cepat tersebut disebabkan karena penyuntikkan IP langsung menyebabkan kerusakan organ-organ dalam ikan seperti hati dan ginjal. Di dalam rongga *viseral* terdapat banyak pembuluh darah sehingga bakteri cepat menyebar melalui pembuluh darah. Perubahan pada mata seperti eksoptalmia, opacity dan purulens ditemukan pada ikan yang diinfeksi melalui PM, IP dan IM, meskipun melalui PM ikan lebih cepat terjadi. Menurut Hardi *et al.* (2011) perubahan tersebut disebabkan karena adanya kerusakan sel berupa hipertropi dan hiperplasi pada bagian *choroid* menyebabkan ikan mengalami eksoptalmia dan *hemorrhage* bisa tampak secara makroskopis pada mata ikan. Masih menurut hasil penelitian Hardi *et al.* (2011), ikan nia yang terinfeksi oleh *Streptococcus agalactiae* juga ditemukan mengalami eksoptalmia pada jam ke-96 pasca infeksi

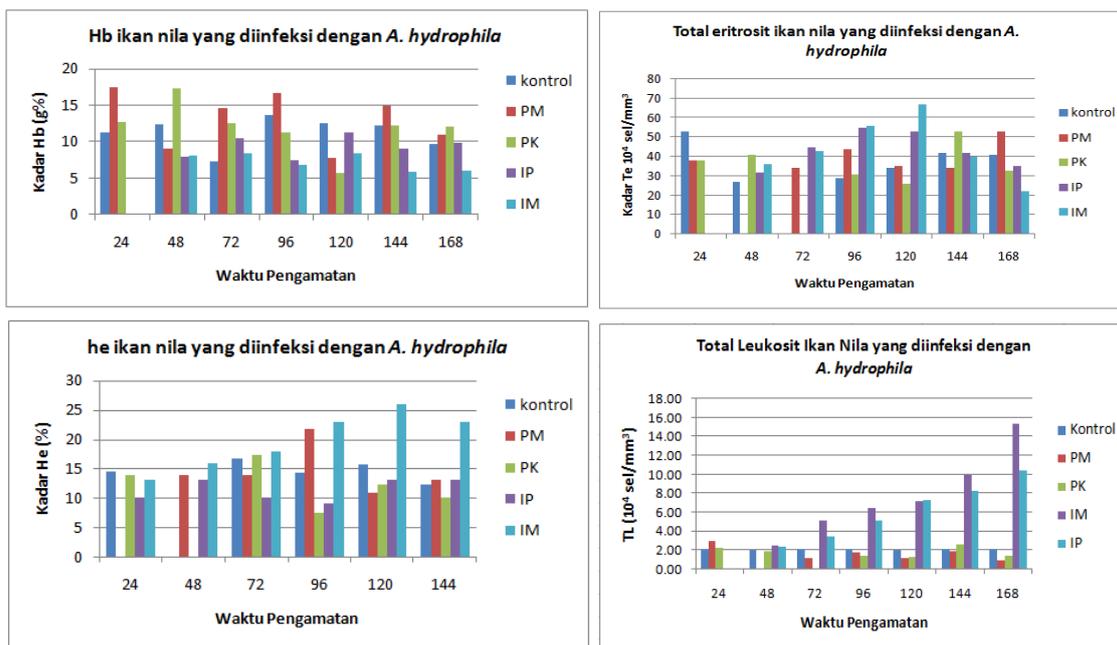
Beberapa perubahan pada organ luar dan organ dalam ikan yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila* melalui beberapa jalur infeksi yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Pengamatan patologi anatomi organ luar dan organ dalam ikan nila yang diinfeksi dengan *A. hydrophila* melalui jalur infeksi yang berbeda

Perubahan patologi anatomi yang terjadi	Waktu perubahan (Jam)			
	PM	PK	IP	IM
Pendarahan di tempat infeksi	24	48	48	48
Sisik lepas	24	24	72	72
Sirip gripis	24	24	-	-
Luka/borok di tempat infeksi	-	-	72	24
Eksoptalmia, opacity, purulens	24	-	72	72
Warna tubuh menghitam	72	120	-	96
Hati hancur dan warnanya kehitaman	96	120	24	48
Ginjal kekuningan	96	120	24	48

Hemoglobin (Hb) ikan nila yang diinfeksi melalui injeksi terlihat mengalami penurunan dari normal sejak jam ke 24-168 pada perlakuan IP dan IM seperti yang disajikan pada Gambar 1. Hal ini menandakan bahwa keberadaan bakteri yang kemungkinan menghasilkan eksotoksin maupun endotoksin menyebabkan penurunan Hb. Hal ini sejalan dengan hasil pengamatan total eritrosit, yang mengalami penurunan lebih cepat pada

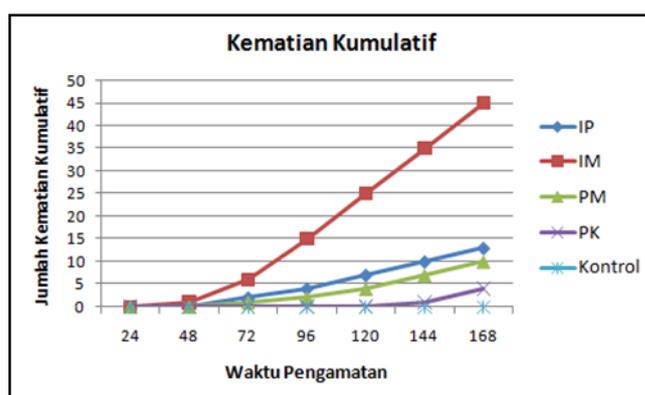
perlakuan IP dan IM yang diduga disebabkan oleh keberadaan toksin dari bakteri yang menyebabkan eritrosit mengalami lisis. Keberadaan *A. hydrophila* menyebabkan perubahan pada jumlah Hb ikan nila pada jam ke-120.



Gambar 1. Kadar hemoglobin (Hb), total eritrosit (TE), total leukosit (TL) dan hematokrit (He) ikan nila yang diinfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*

Kadar hematokrit (He) ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* mengalami penurunan dan berbeda nyata ($P>0,05$) pada jam ke-72 kedua perlakuan (PM dan IP). Keberadaan *A. hydrophila* menyebabkan perubahan secara nyata pada jumlah He ikan nila pada jam ke-72 dan jam ke-120. Total leukosit mengalami peningkatan pada jam ke-48 dan ke-120 dan berbeda nyata ($P<0,05$) pada perlakuan PM, PK, IM, dan IP. Rataan proporsi leukosit ikan nila tergolong normal yaitu limfosit (68-86%), monosit (3,9-5,9%), dan neutrofil (10-18,1%). Persentase limfosit pasca-infeksi perlakuan PM, PK, IM, dan IP berbeda nyata hingga akhir pengamatan ($P<0,05$). Rata-rata neutrofil ikan nila pada jam ke-24 pada semua perlakuan berbeda nyata dengan kontrol.

Kematian kumulatif ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* melalui keempat jalur infeksi disajikan dalam Gambar 2. Kematian paling tinggi terjadi pada ikan nila yang diinfeksi melalui IM. Kondisi ini menandakan bahwa bakteri septisemia lebih cepat menyebarkan virulensi melalui aliran darah dalam muskulus.



Gambar 2. Kematian kumulatif ikan nila yang diinfeksi *A. hydrophila* melalui PM, PK, IM, IP (PM= perendaman; PK= pakan; IP= injeksi intraperitoneum; IM= injeksi intramuskular)

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa bakteri *A. hydrophila* dapat menginfeksi ikan nila melalui keempat jalur infeksi yaitu melalui air (media hidup/PM), saluran pencernaan (PK) melalui rongga perut (IP), dan melalui pembuluh darah (IM).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Laboratorium Mikrobiologi Perairan, Laboratorium Lingkungan Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Mulawarman yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1995. Basic Haematology and Serology for Fish Health Programs. Paper Presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture **Aquatic Animal Health and the Environment**. 25-29th Oktober 1993. Phuket, Thailand:185-202.
- Angka, S.L. 2005. Kajian penyakit *Motile Aeromonad Septicemia* (MAS) pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.): patologi, pencegahan dan pengobatannya dengan fitofarmaka. Doctoral Disertasi. Program pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Blaxhall, K.W. Dasley, 1973. Routine Haematological Methods for Use With Fish Blood. *Jurnal Fish. Biology*, 5 : 577 – 581.
- Ellis AE. 1988. Fish vaccination. Academic Press Ltd. London: pp 255.
- Gardenia, L., I. Koesharyani, H. Supriyadi, dan T. Mufidah. 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin dengan Menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). **Prosiding Forum Inovasi Akuakultur**: 877-883.
- Hardi, E.H. dan C.B. Pebrianto. 2012. Isolasi dan uji postulat Koch *Aeromonas* sp. dan *Pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di Sentra Budidaya Loa Kulu Kabupaten Kutai Kartanegara. **J. Ilmu Perikanan Tropis**. 16(2):35-39.
- Hardi, E.H., Sukenda, E. Harris, dan A.M. Lusiastuti. 2011. Karakteristik dan patogenisitas *Streptococcus agalactiae* tipe β -hemolitik dan non-hemolitik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). **J. Vet.** 12(2):152-164.
- Kamiso, H.N., Triyanto, dan S. Hartati. 1994. Karakteristik *Aeromonas hydrophila* pada ikan lele (*Clarias* sp) di Daerah Istimewa Yogyakarta dan Jawa Tengah Selatan. **Ilmu Pertanian**. 4:741-750.
- Mangunwardoyo, W., I. Ratih, dan R. Ety. 2010. Uji patogenisitas dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stainer pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat Koch. **J. Ristek Akuakultur**. 5(2):245-255.
- Noga, J.E. 2000. Fish disease diagnosis and treatment. Iowa state Press. USA 366 p.
- Reed, M.J. and M. Muench. 1938. A simple method for estimating fifty percent endpoints. **Am. J. Hygiene**. 27:493-497.
- Sutrisno, B. dan K.P. Yuli. 2004. Lesi patologik organ dan jaringan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus* sp. **J. Sain Vet.** XXII(1):18-26.
- Wedemeyer, G.A. and W.T. Yasutake. 1977. **Clinical Methods for the Assesment of The Effect Environmental Stress on Fish Health**. Technical Papers of The U.S. Fish and Wildfield Service. Departement of the Interior Fish and Wildlife Service, USA.