

Uji Keganasan Bakteri *Vibrio* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Desrina^{1*}, Arief Taslihan², Ambariyanto³, Susiani Suryaningrum¹

¹⁾ Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang

²⁾ Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau, (BBPBAP) Jepara.

³⁾ Program Studi Ilmu Kelautan, Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang

Abstrak

Tiga belas isolat bakteri *Vibrio* yang terdiri atas 6 spesies diuji keganasannya pada ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) sehat yang berukuran panjang 9 - 13 cm dan berat 20 - 30 g. Ke enam spesies bakteri *Vibrio* yang diuji adalah *Vibrio alginolyticus* (6 isolat), *V. vulnificus* (2 isolat), *V. ordalii* (2 isolat) *V. fluvialis*, *V. anguillarum* dan *V. mectnikovii* masing masing 1 isolat. Bakteri *Vibrio* ini berasal dari ikan Kerapu sakit dan air tambak dari berbagai tempat di Indonesia. Uji keganasan dilakukan dengan menyuntikkan suspensi bakteri sebanyak 0,5 ml x 10⁹ CFU/ml secara intramuskular di bagian dorsolateral. Jumlah ikan yang disuntik adalah 5 ekor/isolat. Ikan kontrol (5 ekor) disuntik dengan 0,5 ml PBS steril. Ikan dipelihara selama 2 minggu didalam akuarium (vol air 40 L) yang dilengkapi dengan aerator. Jumlah ikan yang mati, waktu kematian serta gejala klinis yang terlihat dicatat. Untuk memastikan sebab kematian dan mengkonfirmasi keberadaan bakteri *vibrio* yang disuntikkan, ikan yang mati dibedah dan bakteri diisolasi dari ginjal dan luka pada tubuh. Pada akhir penelitian semua ikan yang masih hidup dibunuh dan bakteri diisolasi dari ginjal. Bakteri hasil uji keganasan diidentifikasi dengan metoda biokimia. Semua isolat menyebabkan kematian pada ikan uji kecuali *V. mectnikovii* dan tidak ada ikan kontrol yang mati. Kultur murni isolat yang disuntikkan direisolasi dari semua ikan yang mati. Berdasarkan jumlah ikan uji yang mati dan waktu kematian isolat terdapat 4 isolat yang ganas yaitu *V. anguillarum*, *V. ordalii* (S) dan *V. fluvialis* (S) dan *V. alginolyticus* 8 (J). Gejala klinis ikan yang sakit sama yaitu nafsu makan berkurang, berenang miring dan lemah, ginjal pucat warna tubuh gelap. Beberapa isolat menyebabkan luka di punggung yang berkembang jadi borok.

Kata kunci: keganasan, *Vibrio*, Kerapu, ikan, penyakit.

Abstract

Thirteen isolates of *Vibrio* which consists of 6 spesies were tested its virulency on healthy fishes, Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) with size 9 - 13 cm (total length) and 20 - 30 g (weight). Those six spesies of *Vibrio* were *Vibrio alginolyticus* (6 isolate), *V. vulnificus* (2 isolate), *V. ordalii* (2 isolate) *V. fluvialis* (1 isolate), *V. anguillarum* (1 isolate) and *V. mectnikovii* (1 isolate). These *Vibrio* were isolated from sick Kerapu and water pond from various places in Indonesia. The test was done by intramuscular injection of bacteria suspension i.e. 0,5 ml x 10⁹ CFU/ml on the dorsolateral of the fish. The number of injected fish were 5 fish/isolate, while control fishes were injected with 0,5 ml of sterile PBS. The fishes were grown for 2 weeks on 40 L aerated aquariums. Mortality of the fish, time as well as clinical symptoms were recorded. The occurrence of injected bacteria was confirmed by isolating the bacteria from the kidney and wound of the dead fishes. At the end of the experiment all the live fishes were killed and bacteria on its kidney were isolated. All the bacteria were identified by using biochemical method. The results showed that all isolates have caused mortality on the fish except *V. mectnikovii* as well as control fishes. Four other isolates were found to be virulence. Clinical symptoms of sick fishes were the same i.e. lack of feeding activity, abnormal swimming activity and weak, pale kidney, and dark colouration of the skin. Several isolates have caused wound on the back of the fish as well.

Key words : virulency, *Vibrio*, Kerapu, fish, diseases.

Pendahuluan

Bakteri vibrio adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang bengkok, oksidase dan katalase positif, memfermentasikan glukosa tanpa menghasilkan gas dan mempunyai flagel polar (Bauman *et al.*, 1994; Barrow dan Feltham, 1993). Bakteri ini sangat umum dijumpai di air payau dan laut. Sebagian bersifat saproba namun ada beberapa spesies yang menyebabkan penyakit vibriosis pada hewan akuatik termasuk ikan.

Ikan Kerapu adalah ikan budidaya laut unggulan di Indonesia. Jenis yang banyak dikembangkan saat ini adalah ikan Kerapu Tikus, Kerapu Macan, Kerapu Sunu dan Kerapu Lumpur. Salah satu kendala dalam budidaya Kerapu adalah serangan penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio*. Penyakit ini merupakan penyakit bakterial utama terutama pada benih yang dapat menimbulkan kematian sampai 100 % dalam waktu 2 minggu. Beberapa spesies bakteri vibrio yang sering diisolasi dari ikan Kerapu yang sakit adalah *Vibrio alginolyticus*, *V. anguillarum*, *V. vulnificus* (Kanchanahan, 1996; Nitimulyo *et al.*, 2005). Taslihan *et al.* (2000) mengemukakan bahwa *V. alginolyticus* merupakan bakteri patogen utama pada budidaya ikan Kerapu Tikus.

Uji keganasan beberapa bakteri vibrio pada ikan Kerapu Tikus telah dilakukan oleh Taslihan *et al.* (2000) dan Nitimulyo *et al.* (2005). Informasi tentang keganasan vibrio pada ikan Kerapu Macan masih sangat terbatas. Uji keganasan penting karena informasi ini bisa berguna dalam menghasilkan vaksin yang berspektrum luas yang efektif (mampu melindungi terhadap semua jenis vibrio). Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan keganasan bakteri vibrio yang diisolasi dari ikan Kerapu yang terserang vibriosis dari berbagai daerah di Indonesia pada ikan Kerapu Macan.

Materi dan Metode

Bakteri *Vibrio*

Isolat *Vibrio* yang digunakan dalam penelitian ini diisolasi dari ikan Kerapu yang terserang vibriosis dari berbagai daerah di Indonesia. Isolat bakteri *Vibrio*, sumber dan daerah asal isolat yang digunakan dalam penelitian ini tercantum dalam Tabel 1.

Semua bakteri yang digunakan dalam penelitian ini di kultur di media Trypticase Soy Agar (TSA, Toxoid) yang telah ditambahkan 2 % NaCl dan kemudian disimpan pada agar miring TSA. Semua media yang digunakan untuk mengkultur ataupun identifikasi bakteri *Vibrio* yang digunakan ditambah dengan NaCl 2 % (Lightner, 1998).

Tabel 1. Isolat vibrio, sumber dan daerah asal isolat yang digunakan dalam penelitian ini

Kode isolat	Sumber isolat	Daerah asal
<i>V. alginolyticus</i> 1	Ikan Kerapu Macan	Gondol
<i>V. alginolyticus</i> 7	Ikan Kerapu Macan	Jepara
<i>V. alginolyticus</i> 8	Ikan Kerapu Macan	Jepara
<i>V. alginolyticus</i> 9	Ikan Kerapu Macan	Jepara
<i>V. alginolyticus</i> 17	Ikan Kerapu Tikus	Gondol
<i>V. alginolyticus</i> M	Air tambak	Maros
<i>V. fluvialis</i> L	Ikan Kerapu Tikus	Lampung
<i>V. fluvialis</i> S	Ikan Kerapu Tikus	Situbondo
<i>V. anguillarum</i>	Ikan Kerapu Tikus	Lampung
<i>V. vulnificus</i>	Ikan Kerapu Tikus	Gondol
<i>V. ordalii</i> S	Ikan Kerapu Tikus	Situbondo
<i>V. ordalii</i> J	Ikan Kerapu Tikus	Jepara
<i>V. metchnikovii</i>	Ikan Kerapu Tikus	Lampung

Kultur isolat dan identifikasi bakteri *Vibrio*

Bakteri vibrio yang berasal dari berbagai daerah ketika sampai di lab langsung di subkultur di media Tryptic Soy Agar (TSA, Toxoid) yang telah ditambahkan 2 % NaCl dan Thiosulfate Citrate Bile - salt Sucrose Agar (TCBSA, Toxoid) untuk langkah awal memastikan bahwa bakteri yang diterima adalah vibrio. Kultur stok disimpan pada agar miring TSA yang ditutupi minyak mineral steril. Kultur bekerja sehari hari (working culture) disimpan pada TSA miring dan disubkultur secara periodik tiap bulan. Identifikasi dilakukan dengan metode biokimia menurut Austin (1984), Robert dan Feltham (1994), dan Lightner (1998).

Kultur bakteri *Vibrio* yang digunakan dalam identifikasi berumur 18 - 24 jam dan diinkubasi pada suhu 30 °C kecuali jika prosedur menyebutkan lain. Identifikasi dimulai dari pengamatan morfologi koloni pada media TSA dan TCBSA (Oxoid), morfologi sel (dengan pewarnaan Gram) dan kemudian dilanjutkan dengan berbagai uji biokimia mengikuti prosedur yang dikemukakan oleh Barrow dan Feltham (1993). Karakter biokimia yang diuji adalah : katalase, oksidase, OF fermentasi Glukosa, kebutuhan terhadap NaCl (0 - 3%), reduksi nitrat, dekarboksilase asam amino (Møller), sensitifitas terhadap O/129 (*Vibriostat*), MR-VP, Fermentasi karbohidrat menjadi asam (L-arabinosa, Sukrosa, Xylose), motilitas, produksi H₂S, hidrolisa pati dan urea dan produksi indol. Uji dilaksanakan menurut Barrow dan Feltham (1993).

Ikan uji

Ikan Kerapu Macan yang digunakan (panjang 10 - 13 cm dan berat 19 - 25 g) berasal dari BBPBAP Jepara dan dipelihara dalam bak fiberglass yang dilengkapi dengan aerasi. Dua minggu sebelum percobaan ikan diadaptasikan dengan kondisi

penelitian. Ikan ditempatkan dalam akuarium (50X30X40 cm, volume air 40 l) dengan kepadatan ikan 5 ekor/akuarium yang dilengkapi dengan aerasi dan diberi makan cincangan ikan tongkol sebanyak 3 % dari berat total ikan. Kotoran disifon dan air diganti sebanyak 10 % dua kali sehari setelah ikan makan. Seminggu sebelum dilakukan uji virulensi ikan didisinfeksi dengan merendam dalam larutan $KMnO_4$ 1 ppm selama 15 - 30 menit. Untuk memastikan bahwa ikan tidak terinfeksi parasit dan bakteri vibrio dilakukan pemeriksaan parasit dan bakteri. Ikan yang digunakan dalam penelitian ini tidak terinfeksi bakteri vibrio maupun parasit dan dalam keadaan sehat.

Semua bakteri yang akan digunakan dalam uji virulensi terlebih dahulu dipasasakan pada ikan Kerapu Macan yang sehat sebanyak 3 kali yang bertujuan untuk mengembalikan virulensi dari bakteri karena bakteri telah disubkultur berulang-ulang.

Uji keganasan

Dosis bakteri yang digunakan dalam uji keganasan adalah 10^9 sel/ml (sesuai dengan tabung McFarland no 8-10 yang telah ditentukan berdasarkan uji dari masing masing isolat). Kultur murni (umur 18 -24 jam) dari media NA dipanen dan disuspensikan dalam PBS (pH 8) steril dan kekeruhannya disesuaikan dengan tabung Mc Farland yang sudah ditentukan. Ikan dipingsankan dengan menggunakan minyak cengkeh dan suspensi bakteri disuntikkan sebanyak 0,5 ml sebanyak 5 ekor per isolat. Selanjutnya ikan dikembalikan ke akuarium yang sudah ditentukan dan dipelihara selama 14 hari. Gejala klinis yang terlihat, jumlah dan waktu kematian ikan dicatat setiap hari. Selanjutnya untuk mengkonfirmasi sebab kematian dilakukan reisolasi bakteri ke media NA dari ginjal dan hati ikan yang baru saja mati atau moribound. Isolat bakteri yang diperoleh diidentifikasi seperti yang telah dijelaskan di atas. Kultur murni hasil reisolasi disimpan pada agar NA miring yang dilapisi minyak mineral steril (working culture). Rata rata waktu Kematian (RWK) ikan dihitung berdasarkan rumus:

$$RWK = \frac{\sum_{i=1}^n a_i b_i}{\sum_{i=1}^n b_i}$$

RWK = Rata rata Waktu Kematian

a= waktu kematian (jam)

b= Jumlah ikan yang mati (ekor)

Kualitas air selama penelitian optimum untuk ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*).

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi dan karakterisasi isolat

Semua isolat yang diamati adalah gram negatif yang berbentuk batang sedikit bengkok yang pendek berdasarkan uji biokimia terdiri atas 6 spesies *Vibrio*. Secara umum, bentuk sel isolat cenderung menjadi lebih pendek hampir sferis pada kultur yang lebih tua. Hasil pengamatan morfologi sel dan koloni ke 13 isolat tercantum dalam Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa karakteristik koloni isolat berbeda pada media TCBSA dan media NA. Semua isolat mempunyai warna yang sama pada media TCBSA yaitu kuning dengan ukuran koloni yang bervariasi. Hal yang sama juga terlihat pada media NA kecuali isolat spesies *V. alginolyticus* yang bersifat mengeriyp (*swarming*). Selama pengamatan pada media cair TSB tidak ditemukan perubahan warna.

Hasil uji biokimia bakteri *Vibrio* yang digunakan dalam penelitian ini tercantum dalam Tabel 3.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa semua isolat menunjukkan karakter dasar yang khas untuk genus *Vibrio* yang memisahkan genus ini dari genera lainnya dalam famili Vibrionaceae. Karakter tersebut adalah membutuhkan NaCl dalam media tumbuhnya dan tidak dapat tumbuh pada media yang mengandung NaCl 0%, bersifat oksidase dan katalase positif, mereduksi nitrat, resisten terhadap O/129 $150 \mu g$ dan fermentasi glukosa tanpa menghasilkan gas. Uji biokimia yang lain bertujuan untuk memisahkan spesies dalam genus *Vibrio* dan reaksi isolat terhadap uji uji tersebut bervariasi. Ada isolat yang menghasilkan hasil uji tertentu yang tidak biasa dan berbeda dengan buku acuan. Contohnya adalah isolat *V. alginolyticus* 17 (G) memberikan hasil negatif pada uji indol sedangkan 5 isolat lainnya positif pada uji indol. Beberapa isolat spesies yang berbeda memberikan hasil uji biokimia yang mirip seperti *V. anguillarum* dan *V. ordalii*.

Uji Keganasan

Semua isolat yang disuntikkan secara intramuskular pada uji virulensi menyebabkan kematian pada juvenil ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) kecuali *V. metchnikovii*. Selama penelitian tidak ada ikan kontrol yang mati. Ikan mulai menunjukkan gejala klinis 36 jam pasca infeksi. Jumlah ikan uji yang mati, waktu kematian dan waktu gejala klinis mulai terlihat tercantum dalam Tabel 4.

Berdasarkan persentase kematian kumulatif dan waktu kematian ke 13 isolat yang diuji terdapat 4 isolat yang relatif lebih ganas dari isolat lainnya yang terlihat dari kematian kumulatif yaitu 80-100% dengan rata

Tabel 2. Morfologi sel dan koloni bakteri *Vibrio* yang digunakan dalam penelitian ini.

Bakteri	Media						
	Bentuk	TCBS			N A		
		Warna	Ukuran	Bentuk	Warna	Ukuran	
<i>V. alginolyticus</i> M	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,5-2,9 mm	Swarming	Krim	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. alginolyticus</i> 17 G	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,55-3,0 mm	Swarming	Krem	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. alginolyticus</i> 1	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,5-2,9 mm	Swarming	Krem	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. alginolyticus</i> 7	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,56-2,95 mm	Swarming	Krem	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. alginolyticus</i> 8	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,56-2,9 mm	Swarming	Krem	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. alginolyticus</i> 9	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	1,5-2,9 mm	Swarming	Krem	Tidak jelas karena swarming	
<i>V. anguillarum</i> L	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,5-3,0 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,5 - 3,0 mm	
<i>V. fluvialis</i> L	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,9-3,0 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,9 - 3,0 mm	
<i>V. fluvialis</i> S	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,95-3,1 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,95 - 3,1 mm	
<i>V. ordalii</i> J	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,8-3,0 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,8 - 3,0 mm	
<i>V. ordalii</i> S	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,85-3,0 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,85 - 3,0 mm	
<i>V. metchnikovii</i>	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,7-3,0 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,7 - 3,0 mm	
<i>V. vulnificus</i> G	Koloni bundar, cembung, tepi rata	Kuning	0,8-2,9 mm	Koloni bundar, tepi rata	Krem	0,8 - 2,9 mm	

rata waktu kematian 4 - 8 hari (36 - 78 jam). Isolat tersebut adalah *V. ordalii*, *V. fluvialis* dan *V. anguillarum*. *V. alginolyticus* 8. Ikan mulai menunjukkan gejala klinis 36 jam pasca infeksi yang terjadi pada ikan yang disuntik dengan *V. ordalii*. Pada ikan yang disuntik isolat yang lain gejala klinis terlihat dalam jangka waktu yang lebih lama dan jumlah ikan yang mati juga lebih rendah (20 -60 %).

Gejala klinis awal yang terlihat adalah nafsu makan berkurang, lesu, berenang miring, ginjal pucat. Ikan yang sakit dan mati menunjukkan gejala ginjal pucat, borok pada tubuh, dan mulut merah. Luka pada tubuh terlihat setelah 6 hari pasca infeksi, yang makin lama makin besar dan menjadi borok berdiameter 2 cm. Sebagian ikan uji mati tanpa adanya gejala klinis eksternal.

Identifikasi dengan uji biokimia dan pengamatan morfologi adalah untuk memastikan spesies dari isolat *Vibrio* pada penelitian ini. Dari karakterisasi yang dilakukan telah diketahui spesies dari masing masing isolat yaitu *V. anguillarum*, *V. ordalii*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. fluvialis* dan *V. metchnikovii*. Semua spesies bakteri yang diidentifikasi dalam penelitian ini kecuali *V. metchnikovii* telah dilaporkan sebagai patogen pada udang (Lightner, 1994), berbagai ikan laut (Austin dan Austin 1987; Bauman et al., 1984;

Amaro et al., 1997) khususnya Kerapu di Asia Tenggara (Kanchanahan, 1996; Bondad-Reantaso et al., 2000) dan di Indonesia (Taslihan et al., 2000; Nitimulyo et al., 2005).

Semua isolat *Vibrio* yang digunakan dalam penelitian ini termasuk fermenter sukrosa yang terlihat dari warna kuning pada media TCBSA yang merupakan media selektif untuk *vibrio*. Barrow dan Feltham (1993) mengemukakan *vibrio* yang bersifat enteropatogenik termasuk kedalam fermenter sukrosa yang ditunjukkan oleh koloni berwarna kuning sedangkan koloni bakteri nonfermenter sukrosa berwarna hijau.

Bakteri *V. alginolyticus* dapat dengan mudah dibedakan dari spesies *vibrio* lain yang diuji dalam penelitian ini karena bersifat mengeriyap (swarming). Menurut Barrow dan Feltham (1993) dan Bauman et al. (1984) sifat mengeriyap adalah khas untuk bakteri *V. alginolyticus*, karena pada media padat bakteri ini mensintesa flagela lateral yang banyak.

Umumnya karakter biokimia yang ditunjukkan oleh isolat isolat *vibrio* yang diuji dalam penelitian ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Barrow dan Feltham (1993) dan Bauman et al. (1984). Beberapa isolat spesies yang berbeda memberikan hasil uji biokimia

Tabel 3. Hasil uji biokimia bakteri *Vibrio* yang digunakan dalam penelitian ini

Uji Biokimia	Isolat bakteri <i>Vibrio</i>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Indole	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Reduksi nitrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dekarboksilase (Moeller)													
- Arginin	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
- Lysin	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
- Ornithine	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Tumbuh pada NaCl													
0 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Resisten thd :													
0/129 10 µg	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
0/129 150 µg	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hidrolisa :													
- Pati	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
- Urea	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Asam dari :													
- Arabinosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- Sukrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

- | | |
|---------------------------|---------------------------------|
| 1. <i>V. anguillarum</i> | 8. <i>V. alginolyticus</i> 9 |
| 2. <i>V. metchnikovii</i> | 9. <i>V. alginolyticus</i> M |
| 3. <i>V. vulnificus</i> G | 10. <i>V. alginolyticus</i> 17G |
| 4. <i>V. ordalii</i> S | 11. <i>V. alginolyticus</i> 7 |
| 5. <i>V. fluvialis</i> L | 12. <i>V. alginolyticus</i> I |
| 6. <i>V. fluvialis</i> S | 13. <i>V. alginolyticus</i> 8 |
| 7. <i>V. ordalii</i> J | |

Tabel 4. Jumlah ikan uji yang mati, waktu kematian dan waktu gejala klinis pertama terlihat pada ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) dalam uji keganasan bakteri *Vibrio*.

Isolat bakteri <i>Vibrio</i>	Jumlah ikan mati (%)	Waktu kematian (hari)	Rata-rata waktu kematian (RWK) (Jam)	Waktu gejala klinis mulai terlihat (jam)
<i>V. ordalii</i> (S)	100	4	80,8	36
<i>V. fluvialis</i> (S)	80	4	100	48
<i>V. anguillarum</i>	80	4	84,25	48
<i>V. alginolyticus</i> (8)	100	8	187,6	72
<i>V. alginolyticus</i> (M)	80	11	236	78
<i>V. alginolyticus</i> 17	60	6	134,6	48
<i>V. fluvialis</i> (L)	60	7	158,6	70
<i>V. alginolyticus</i> 9	20	6	141	72
<i>V. alginolyticus</i> 7	20	4	95	70
<i>V. alginolyticus</i> 1	20	11	236	72
<i>V. vulnificus</i>	20	9	213	96
<i>V. ordalii</i> (J)	20	6	141	52
<i>V. metchnikovii</i>	0	0	0	96

yang mirip seperti *V. anguillarum* dan *V. ordalii* yang menunjukkan kedekatan ke dua spesies ini karena dulu *V. ordalii* dinamakan *V. anguillarum* serovar II (Bauman *et al.*, 1984). Walaupun menurut Barrow dan Feltham (1993) dan Bauman *et al.* (1984) *V. metchnikovii* dapat tumbuh pada media yang mengandung 0% NaCl, uji fisiologis yang dilakukan memberikan hasil yang berbeda. Hal ini mungkin karena bakteri ini pada awalnya diisolasi dari ikan Kerapu yang hidup di air payau. Pada beberapa spesies bakteri, uji indol mengindikasikan sifat fenotip yang khusus. Gulacker *et al.* (2003) mengemukakan bahwa *V. vulnificus* yang bersifat indol positif adalah patogen pada manusia dan bersifat serologik heterogen sedangkan yang indol negatif adalah patogen pada ikan sidat dan manusia dan serologik homogen. Dalam penelitian ini, ditemukan satu isolat yaitu *V. alginolyticus* 17 (G) yang berbeda dari sifat umum spesies ini yaitu bersifat indol negatif. Kaitannya dengan kepatogenan isolat ini perlu diteliti lebih lanjut.

Kepatogenan (patogenitas) adalah kapasitas mikroba untuk menyebabkan kerusakan dan virulensi (keganasan) adalah kapasitas relatif suatu mikroba untuk menyebabkan kerusakan dalam inang (Casadevall dan Pirofski, 1999). Virulensi bisa diukur dalam persentase kematian per infeksi (Ewald, 1993) dan dosis atau jumlah sel yang menghasilkan respon patologi dalam waktu tertentu (Brock dan Madigan, 1993).

Berdasarkan persentase kematian dan waktu kematian terdapat 4 isolat yang relatif lebih ganas dari isolat lainnya yang terlihat dari kematian kumulatif yaitu 80-100% dengan rata-rata waktu kematian 4 - 8 hari (36 - 78 jam). Tiga isolat diantaranya (*V. ordalii*, *V. fluvialis* dan *V. anguillarum*) berasal dari ikan Kerapu Tikus (*C. altivelis*) dan satu (*V. alginolyticus* 8) berasal dari ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*). Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang berasal dari ikan Kerapu Tikus (*C. altivelis*) virulen pada ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) dan tidak semua isolat yang berasal dari ikan Kerapu Macan (*E. fuscoguttatus*) virulen pada ikan uji. Secara umum dapat dikatakan bahwa sumber isolat tidak mempengaruhi virulensi bakteri vibrio uji pada ikan Kerapu Macan. Hal ini berbeda dengan bakteri patogen ikan lain yang menunjukkan adanya hubungan antara sumber isolat dan virulensi pada ikan tertentu. Thomas-Jinu dan Goodwin (2004) melaporkan bahwa isolat *Flavobacterium columnare* yang berasal dari ikan channel catfish (*Ictalurus punctatus*) kurang virulen pada ikan golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*).

Keganasan menunjukkan tingkat kepatogenan dan bersifat relatif terhadap waktu dan dosis (Todar,

2005). Dalam penelitian ini terlihat, pada konsentrasi sel yang sama isolat yang ganas menimbulkan gejala klinis dan kematian dalam waktu yang lebih singkat dari isolat yang tidak ganas. Keganasan bakteri vibrio berkaitan dengan berbagai jenis protease (Chen *et al.*, 1999; Deane dan Woo, 2000), toksin (enterotoksin, cytotoxin, endotoksin), protein yang terikat dengan permukaan (surface-binding protein) seperti fimbriae dan kapsul, LPS, hemagglutinin, motilitas dengan menggunakan flagella, plasmid dan produksi siderofor (agen penyapit zat besi) yang berfungsi mengikat zat besi dari darah inang (Amaro *et al.*, 1997). Hasil penelitian O'Malley *et al.* (1999) menunjukkan bahwa sistem pemanfaatan zat besi darah (heme iron utilization system) pada beberapa vibrio patogen ikan *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* dan *V. fluvialis* serupa dengan *V. cholera*. Faktor keganasan ini menyebabkan timbulnya kematian dan gejala klinis seperti yang terlihat dalam penelitian ini seperti luka yang akhirnya menjadi borok di daerah dorsal dan mulut, warna tubuh gelap, hati pucat dan ginjal bengkak. Gejala klinis yang ditemukan sesuai dengan yang dideskripsikan Stoskopf (1993) dan Nitimulyo *et al.* (2005) pada ikan Kerapu yang terserang septisemia vibriosis.

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa isolat spesies bakteri yang sama dan berasal dari sumber yang kondisinya sama (ikan sakit) mempunyai tingkat keganasan yang berbeda. Ada beberapa kemungkinan penyebab perbedaan ini. Pertama, isolat yang digunakan mungkin sudah sering disubkultur sehingga sifat kepatogenan berubah. (Kuby, 1992). Walaupun sudah dilakukan pasase untuk meningkatkan virulensi, akan tetapi tiga kali pasase mungkin belum cukup untuk mengembalikan virulensi tersebut. Kedua, ikan Kerapu Macan relatif lebih tahan terhadap infeksi bakteri vibrio. Hal ini mengingat sebagian besar bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari ikan Kerapu Tikus yang sakit, bahkan ada yang telah dilakukan uji kepatogenan dan terbukti patogen pada ikan Kerapu Tikus (Nitimulyo, Laboratorium Kesehatan Ikan, Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, komunikasi pribadi).

Casadevall dan Pirofski (1999) berpendapat bahwa efek virulensi sangat tergantung pada interaksi antara patogen dan sistem kekebalan inang. Karena ikan Kerapu Macan yang digunakan dalam penelitian ini relatif homogen dalam umur, dipelihara dalam kondisi lingkungan yang baik dapat dikatakan bahwa kematian yang timbul selama uji virulensi mencerminkan tingkat virulensi ke 13 isolat bakteri yang diuji. Isolat yang ganas pada penelitian sebagian besar bukan *V.*

alginoliticus. Hasil ini agak berbeda dengan yang terjadi di lapangan dimana *V. alginolyticus* merupakan bakteri yang lebih sering diisolasi dari ikan Kerapu yang sakit vibriosis. Apa yang menyebabkan perbedaan ini belum kami ketahui.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan bagian dari Riset Unggulan Terpadu (RUT) XII yang dibiayai oleh Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Kementerian Negara Riset dan Teknologi. No. 20/Perj/Dep.III/RUT/PPKI/II/2005

Daftar Pustaka

- Amaro, C., B.Fouz, E.G. Biosca, E. Marco-Noates and R. Collado. 1997. The Lypopolysaccharide O Side Chain of *Vibrio vulnificus* Serogroup E is a virulence determinant for eels. *Infection and Immunity* 65: 2475-2479.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. Bacterial fish pathogens: diseases in farmed and wild fish. John Wiley and Sons. Chioester. 364 pp.
- Barrow, G.I., and R.K.A. Feltham. 1993. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press, Cambridge. 329 pp.
- Baumann, P., A.L. Furniss and J.V. Lee. 1984. Genus *Vibrio*. Page 528-550 in N.R. Krieg and J.G. Holt, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol. 1. William and Wilkins, Baltimore, Maryland.
- Bondad-Reantaso, M.G., S.Kanchanakhan and S. Chinabut. 2000. Review of Grouper Diseases and Health Management Strategies for Grouper and other Marine Finfish Diseases. Regional Workshop on Sustainable Seafarming and Grouper Aquaculture. Collaborate APEC Grouper Research and Development Network. FWG 01/99. 17 -20 April 2000. Medan, Indonesia.
- Brock, T.D., and M.T. Madigan. 1993. *Biology of Microorganisms*. Sixth Edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. 874 pp.
- Casadevall, A., and L. Pirofski. 1999. Host-pathogen Interaction: Redefining the basic Concepts of Virulence and Pathogenicity. *Infection and Immunity* 67 (8): 3703 -3713.
- Chen, F.R., P.C. Liu and k.K. Iee. 1999. An evaluation of chromogenic substrates for characterization of serine protease produced by pathogenic *Vibrio alginolyticus*. *Micrbios* 98 (389): 27 - 34. (Abstract)
- Deane E. E., and N. Y. Woo. Modulated heat shock protein expression during pathogenic *Vibrio alginolyticus* stress of sea bream. *Diseases of Aquatic Organisms* 62 (3) : 205 -215.
- Deitsch, K.W., Moxon, E.R., and Wellens, T.E. 1997. Shared themes of antigenic variation and virulence in bacterial, protozoal and fungal infections. *Microbiology and Molecular Biology Review* 3: 281-293.
- Ewald, P.W.1993. The Evolution of virulence. *Science America* 268: 86-93.
- Finlay, B. B., and S. Falkow. 1997. Common themes in microbial pathogenicity, revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61 (2): 136 - 169.
- Kanchanakhan, S. 1996. Diseases of Cultured Grouper. *AAHRI Newsletter Article* 5 (2)
- Kuby, J. 1992. *Immunology*. W.H Freeman and Company, New York.
- Lightner, D.V. 1994. A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of culture penaeid shrimp. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, Loisiaana.
- Nitimulyo, K.H., A. Isnanstyo, Triyanto, I. Istiqmah dan M. Murdjani. 2005. Isolasi , identifikasi dan karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen penyebab Vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan* VII (2): 80 - 94.
- O'Malley S.M., S.L. Mouton, D.A. Occhino, M.T. Deanda, J.R. Rashidi, K.L. Fuson, C.E. Rashidi, M.Y. Mora, S.M. Payne and D.P. Henderson. 1999. Comparison of the heme iron utilization system of pathogenic Vibrios. *Journal of Bacteriology* 181 (11): 3594 - 3598.
- Stoskopf, M.K. 1993. Bacterial Diseases of Marine Tropical Fish. Page 635- 639 In: *Fish Medicine*. M.K. Stoskopf (Editor). W.B. Saunders Company, Philadelphia, Pencilvania.
- Taslihan, A., M. Murdjani, C. Purbomartono dan E. Kusnendar. 2000. Bakteri patogen penyebab penyakit mulut merah pada ikan Kerapu Tikus (*Chamileptes altivelis*). *Jurnal Perikanan* II (2): 57-62.
- Thomas-Jinu, S., and Goodwin A.E. 2004. Morphological and genetic characteristics of *Flavobacterium columare* isolates: Correlation with virulence in fish. *Journal of Fish Diseases* 27: 29-35.
- Todar, K. 2002. *Text book of bacteriology*. University of Wisconsin. Wisconsin.