

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/ma>

IDENTIFIKASI BAKTERI PATOGEN DAN PARASIT PENYEBAB PENYAKIT PADA IKAN TOMAN (*Channa micropeltes*)

Septyan Andriyanto[#], Hesy Novita, Angela Mariana Lusiastuti, dan Taukhid

Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Sempur No.1, Bogor, Jawa Barat 16129

(Naskah diterima: 30 September 2019; Revisi final: 21 Mei 2020; Disetujui publikasi: 21 Mei 2020)

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis patogen dan tingkat virulensi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan toman, *Channa micropeltes*. Penentuan jenis patogen dilakukan dengan identifikasi bakteri secara kimiawi dan menggunakan PCR. Hasil identifikasi bakteri pada ikan toman dengan uji biokimia mengarah pada *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Myroides* sp., dan *Edwardsiella* sp. Begitupula hasil uji molekuler menggunakan PCR 16S rRNA seluruh isolat teridentifikasi sebagai bakteri. Spesies parasit yang teridentifikasi menginfeksi ikan toman dari golongan protozoa yaitu *Trichodina* sp., *Vorticella* sp., *Henneyguya* sp., *Oodinium* sp., dan *Ichthyophthirius multifiliis*, parasit golongan trematoda yaitu *Dactylogyrus* sp. dan golongan acanthocephala yaitu spesies *Acanthocephalus* sp. Hasil uji virulensi melalui infeksi buatan menunjukkan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat virulen terhadap ikan toman, *Channa micropeltes* dengan tingkat kematian mencapai 100% dalam waktu 24 jam.

KATA KUNCI: bakteri; parasit; toman; 16S rRNA; virulensi

ABSTRACT: *Identification of pathogenic bacteria and parasites on Snakehead, Channa micropeltes. By: Septyan Andriyanto, Hesy Novita, Angela Mariana Lusiastuti, and Taukhid*

The purpose of this study was to identify the pathogenicity and virulence of Aeromonas hydrophila in toman fish. General bacterial identification was carried out using biochemical analyzes and followed by PCR tests. Several pathogenic bacterial were found in the fish samples consisting of Aeromonas hydrophila, Aeromonas salmonicida, Myroides sp., and Edwardsiella sp. The PCR 16S rRNA test confirmed that all of the isolates were all bacteria. Parasites species identified in the samples of toman fish were Trichodina sp., Vorticella sp., Henneyguya sp., Oodinium sp., Ichthyophthirius multifiliis, Dactylogyrus sp. and Acanthocephalus sp. The artificial infection treatment showed that toman fish was highly vulnerable to Aeromonas hydrophila, with 100% mortality within 24 hours.

KEYWORDS: bacteria; parasite; toman; 16S rRNA; virulence

PENDAHULUAN

Penyakit merupakan salah satu faktor utama penyebab kematian ikan, terutama pada saat stadia benih. Penyakit juga bisa disebabkan oleh patogen yang terbawa oleh ikan *carrier* sehingga menginfeksi ikan yang sehat. Patogen yang dapat menyebabkan penyakit ikan terdiri atas virus, bakteri, parasit dan jamur (Sharma *et al.*, 2012). *Channa*, atau lebih dikenal sebagai *snakeheads*, memiliki kepala yang mencolok mirip dengan ular, membuat spesies ini sangat berbeda dari yang lain. *Channa* adalah kelompok ikan air tawar dari keluarga Channidae dan sebanyak 30 spesies

teridentifikasi di seluruh dunia dan salah satunya adalah ikan toman (Nguai *et al.*, 2017). Ikan toman (*Channa micropeltes*) merupakan salah satu jenis ikan air tawar yang digemari baik sebagai ikan hias maupun ikan konsumsi. Ikan toman tergolong ikan karnivora yang belum populer untuk dibudidayakan (Ediwarman *et al.*, 2008).

Ikan toman (*Channa micropeltes*) memiliki kandungan albumin yang berguna untuk kesehatan manusia dan penyembuhan luka. Ikan toman memiliki kandungan albumin sebesar 8,26% dalam filtrat dan 3,50 dalam daging dan kandungan Zn sebesar 2,59%. Sumber albumin yang tinggi bermanfaat sebagai pengganti albumin serum manusia (HSA) yang saat ini relatif mahal. Secara keseluruhan ada 14 asam amino yang didistribusikan di antara anggota keluarga

[#] Korespondensi: Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan. Jl. Sempur No.1, Bogor 16129, Indonesia
Tel.: +62 251 8313200
E-mail: septian08@yahoo.com

channidae, di mana setiap spesies snakehead memiliki potensi dalam proses metabolisme dan dapat dikembangkan sebagai pengobatan tradisional (Firlianty *et al.*, 2013).

Terbatasnya informasi mengenai penyakit yang menginfeksi ikan toman dapat menjadi permasalahan dalam pengendalian penyakit kedepannya. Identifikasi merupakan salah satu upaya untuk mengetahui jenis patogen penyebab penyakit yang diperlukan untuk penentuan metode yang tepat dalam rangka penanggulangan penyakit potensial pada ikan toman. Penelitian bertujuan untuk mengetahui jenis patogen dan tingkat virulensi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan toman, *Channa micropeltes*.

BAHAN DAN METODE

Ikan Uji

Sampel ikan untuk identifikasi patogen dan uji virulensi menggunakan ikan toman (*Channa micropeltes*) hasil tangkapan dari perairan umum di daerah Kalimantan Tengah. Sebanyak 30 ekor sampel ikan toman dengan ukuran panjang $7,91 \pm 0,47$ cm dan bobot $3,21 \pm 0,53$ g digunakan untuk identifikasi bakteri dan parasit, sedangkan untuk uji virulensi menggunakan ikan toman dengan panjang $14,59 \pm 0,69$ cm dan bobot $16,24 \pm 2,58$ g. Ikan toman diaklimatisasi kemudian dipelihara di dalam bak fiber volume 1.000 L selama 30 hari.

Sampling

Selama penelitian dilakukan pengambilan sampel secara selektif terhadap individu ikan yang menunjukkan gejala klinis spesifik untuk diidentifikasi patogen yang menginfeksi. Pengamatan terhadap mortalitas ikan uji dilakukan setiap hari selama periode uji virulensi.

Identifikasi Bakteri

Organ yang digunakan untuk isolasi bakteri yaitu: hati, limpa, otak, otot, usus dan ginjal. Organ tersebut diambil dari setiap sampel ikan, selanjutnya dilakukan isolasi bakteri dari setiap organ tersebut pada media TSA dan BHIA. Isolasi dilakukan dalam keadaan aseptis dan steril, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 28°C. Pengamatan morfologi koloni bakteri yang dimurnikan dan tumbuh pada media biakan secara makroskopis. Tahapan selanjutnya pengujian biokimia bakteri yang terdiri atas pewarnaan gram, motilitas, oksidase, katalase, oksidatif fermentatif (O/F), uji media selektif, dan pengujian menggunakan KIT API 20 E.

Konfirmasi molekuler hasil pengujian bakteri dilanjutkan menggunakan metode *Polymerase Chain*

Reaction (PCR). DNA isolat bakteri terpilih diisolasi dengan metode perebusan. Koloni tunggal dimasukkan ke dalam tabung mikro berisi akuades steril sebanyak 500 μ L dan dipanaskan pada suhu 98°C selama 10 menit. Setelah diperoleh supernatan yang berisi suspensi bakteri, kemudian dipanaskan dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian diambil sebanyak 300 μ L untuk diukur kosentrasi dan kemurniannya menggunakan nanodrop (Suwanto *et al.*, 2000). DNA hasil ekstraksi kemudian diamplifikasi dengan penambahan larutan mastermix dengan komposisi: mastermix 12,5 μ L; akuades 8,5 μ L; dan primer F/R 2 μ L dan DNA bakteri 2 μ L. Amplifikasi menggunakan mesin *thermocycler* dengan program 95°C selama 2 menit, 95°C selama 1 menit, 55°C selama 1 menit, 72°C selama 1 menit, 72°C selama 5 menit. Primer yang digunakan adalah primer universal untuk domain bacteria berupa Forward primer 63f (5'- CAGGCCTAACACATGCAAGTA-3') dan reverse primer 1387r (GGGCGWGTGGTACAAGGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998). Hasil amplifikasi kemudian dielektroforesis dan pembacaan hasil PCR dengan menggunakan *geldoc*.

Identifikasi Parasit

Pemeriksaan parasit yang menginfeksi ikan toman dilakukan tiap minggu dengan mengecek bagian atau organ tubuh seperti *mucus*, sirip, dan insang. Pemeriksaan ektoparasit mengikuti prosedur pengujian di Laboratorium Kesehatan Ikan, Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP). Pemeriksaan endoparasit pada organ bagian dalam dilakukan dengan melakukan pembedahan untuk mengamati parasit yang menginfeksi saluran pencernaan khususnya usus. Pemeriksaan parasit dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan metode preparat ulas (*smear method*). Usus yang telah dikeluarkan dipotong secara vertikal, kemudian isi usus ikan dikeluarkan menggunakan ujung gunting. Selanjutnya usus diletakkan di atas kaca preparat dan kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis (Maulana *et al.*, 2017). Pengamatan ektoparasit dilakukan di bawah mikroskop cahaya pada perbesaran 4x, 10x, 20x, dan 40x.

Uji Virulensi Bakteri

Pengujian virulensi bakteri dilakukan melalui infeksi buatan pada sampel ikan toman. Persiapan suspensi bakteri patogen *Aeromonas hydrophila* dikultur pada media TSA dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Suspensi bakteri dibuat melalui metode pengenceran dengan kepadatan 10^6 CFU mL⁻¹ dalam garam fisiologis steril (0,85% NaCl). Sebanyak 15 ekor

ikan uji disuntik dengan 0,1 mL suspensi bakteri secara *intramuscular* dan pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari periode percobaan terhadap gejala klinis dan mortalitas. Tingkat virulensi diperoleh berdasarkan tingkat kematian ikan uji dan konfirmasi patogenitas melalui reisolasi patogen target dari sampel ikan toman yang diuji.

Analisis Data

Data jenis bakteri, parasit, gejala klinis serta mortalitas dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN BAHASAN

Identifikasi Bakteri

Pengambilan sampel ikan toman dilakukan dengan melihat gejala klinis seperti pergerakannya pasif, terdapat luka di permukaan tubuh ikan, nafsu makan menurun, dan *mucus* berlebih pada permukaan tubuh. Sebanyak 11 ekor sampel ikan toman diisolasi hati, limpa, otak, otot, usus, dan ginjal. Setelah dilakukan pengamatan morfologi terhadap isolat-isolat yang diperoleh, sebanyak 10 isolat bakteri diklasifikasikan berdasarkan bentuk dan warna koloni yang sama. Setiap isolat dilakukan pengujian biokimia dan uji lanjut menggunakan media spesifik *Rhimler Shotts* (RS) dan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) hingga diperoleh lima isolat yang memiliki karakter dan tingkat keragaman yang berbeda. Seluruh isolat merupakan kelompok bakteri gram negatif, berbentuk batang (*rod*), bersifat motil dan nonmotil untuk selanjutnya dikarakterisasi menggunakan KIT API 20 E (Tabel 1). Hasil identifikasi terhadap lima isolat bakteri melalui pengamatan morfologi dan pengujian biokimia mengarah pada empat jenis bakteri yaitu *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Myroides* sp., dan *Edwardsiella* sp.

Uji biokimia menunjukkan isolat 1 bersifat oksidase positif, katalase positif, gram negatif, positif O/F, motil, positif RS dan mampu memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa. Hasil uji lanjutan menggunakan KIT API 20E teridentifikasi sebagai bakteri *Aeromonas hydrophila*. Isonhood & Drake (2002) melaporkan bahwa *Aeromonas hydrophila* bersifat gram negatif, oksidasi positif dan katalase positif. Bakteri ini juga mampu memfermentasikan beberapa gula seperti glukosa, fruktosa, maltose dan trehalosa. Hasil fermentasi dapat berupa senyawa asam atau senyawa asam dengan gas. Pada nutrient agar, setelah 24 jam dapat diamati koloni bakteri dengan diameter 1-3 mm yang berbentuk cembung, halus dan terang. Begitupula pernyataan Wahjuningrum *et al.* (2013) bahwa morfologi koloni dari *Aeromonas*

hydrophila yaitu berwarna krem, elevasi cembung, dan tepiannya halus, sedangkan morfologi selnya berbentuk batang dan bersifat gram negatif.

Infeksi *Aeromonas hydrophila* menyebabkan penyakit bakterial yang bersifat akut biasa disebut "Penyakit Merah" yang menginfeksi semua umur dan jenis ikan air tawar bahkan dapat mengakibatkan kematian mencapai 100% (Kamelia & Laila, 2009; Tauhid *et al.*, 2015). Hasil penelitian Dhanaraj *et al.* (2008) dan Samayanpaulraj *et al.* (2020) melaporkan bahwa penyakit bakterial yang ditemukan pada *Channa striatus* umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri gram negatif seperti *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* dan *Aeromonas* sp. dengan organ target yaitu hati, insang, usus, dan otot.

Gejala klinis ikan yang terserang *Aeromonas hydrophila* antara lain adanya luka kemerahan pada tubuh, kerusakan dan pembusukan di sirip (luka kemerahan pada sirip dubur, sirip punggung, geripis pada sirip punggung, dan sirip ekor), mata menonjol, insang berwarna keputihan, dan perut berisi cairan (Pramudita *et al.*, 2013). Selama proses infeksi, bakteri *Aeromonas hydrophila* menghasilkan enzim yang mendegradasi lapisan chitin ikan yang terinfeksi, sehingga bakteri dapat dengan mudah masuk ke dalam tubuh ikan. *Aeromonas hydrophila* juga mengeluarkan enzim seperti lesitinase yang masuk ke aliran darah dan langsung mengalir ke ginjal untuk berkembang biak (Kusdarwati *et al.*, 2017).

Uji biokimia yang dilanjutkan dengan uji API 20 E terhadap isolat 2 dan 3 berhasil teridentifikasi sebagai *Aeromonas salmonicida*. Hasil uji biokimia dari kedua isolat ini menunjukkan bahwa isolat bersifat positif oksidase, positif katalase, positif O/F, non-motil, dan positif RS. Sesuai dengan Prayogo *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa *Aeromonas salmonicida* merupakan bakteri bersifat gram negatif, sel berbentuk batang pendek, berukuran 1-2 μm , non-motil, anaerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan kapsul.

Bakteri *Aeromonas salmonicida* diidentifikasi sebagai agen penyebab penyakit *Septicaemia*. Penyakit *Septicaemia* biasanya menyebabkan tingkat kematian yang tinggi pada ikan. Insang, sisik, dan luka cenderung menjadi rute masuk utama untuk *Aeromonas salmonicida*. Bakteri juga bisa masuk melalui sirip dan dapat melintasi lapisan *gastrointestinal*. Dalam jaringan yang tidak rusak, bakteri bisa melewati lapisan dengan rute *transeluler* atau *paraseluler*. Adanya infeksi dapat didiagnosis melalui identifikasi morfologis dan fisiologis (Arbaëiauskienė *et al.*, 2012).

Hasil uji biokimia isolat 4 menunjukkan bahwa isolat bersifat positif oksidase, positif katalase, negatif

Tabel 1. Karakterisasi bakteri menggunakan API 20 E
 Table 1. Bacterial characterization using API 20 E

Karakteristik (<i>Characteristics</i>)	Isolat (<i>Isolates</i>)				
	1	2	3	4	5
Morfologi koloni (<i>Colony morphology</i>)					
- Warna (<i>Color</i>)	Krem (<i>Cream</i>)	Krem (<i>Cream</i>)	Krem (<i>Cream</i>)	Krem (<i>Cream</i>)	Krem (<i>Cream</i>)
- Bentuk (<i>Shape</i>)	Sirkular <i>Circular</i>	Sirkular <i>Circular</i>	Sirkular <i>Circular</i>	Sirkular <i>Circular</i>	Sirkular <i>Circular</i>
- Elevasi (<i>Elevation</i>)	Cembung <i>Convex</i>	Cembung <i>Convex</i>	Cembung <i>Convex</i>	Cembung <i>Convex</i>	Cembung <i>Convex</i>
Pewarnaan gram (<i>Gram staining</i>)	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif
Bentuk sel (<i>Shaped cell</i>)	Batang (<i>Rod</i>)	Batang (<i>Rod</i>)	Batang (<i>Rod</i>)	Batang (<i>Rod</i>)	Batang (<i>Rod</i>)
Oksidase (<i>Oxidase</i>)	+	+	+	+	-
Katalase (<i>Catalase</i>)	+	+	+	+	+
Oxidative-Fermentative O/F	+ / +	+ / +	+ / +	- / -	+ / +
Motilitas (<i>Motility</i>)	Motil	Motil	Motil	Non-motil	Motil
R-S Medium	+	-	+	+	-
TSIA					
- Fermentasi Glukosa	-	-	+	+	-
- Fermentasi Laktosa/Sukrosa	+	-	-	-	-
- H ₂ S	-	+	-	-	-
- Gas	+	-	-	-	-
Uji API 20 E (<i>API 20 E Test</i>)					
2-nitrophenyl-βDgalactopyranoside	+	-	-	-	+
L-arginine	+	+	-	-	+
L-lysine	+	-	-	-	+
L-ornithine	-	+	-	-	+
trisodium citrate	-	-	-	-	-
sodium thiosulfate	-	+	-	-	-
Urea	-	-	-	-	-
L-tryptophane	+	-	-	-	+
L-tryptophane	+	-	-	-	+
sodium pyruvate	+	-	-	-	+
Gelatin	+	+	-	-	+
D-glucose	+	-	-	-	+
D-mannitol	+	-	-	-	+
Inositol	-	-	-	-	-
D-sorbitol	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-
D-sucrose	+	+	-	-	+
D-melibiose	-	-	-	-	-
Amygdalin	-	-	-	-	+
L-arabinose	+	-	-	-	+

+ : Positif (*positive*)
 - : Negatif (*negative*)
 Isolat 1 (*isolates 1*) : *Aeromonas hydrophila*
 Isolat 2&3 (*isolates 2&3*): *Aeromonas salmonicida*
 Isolat 4 (*isolates 4*) : *Myroides* sp.
 Isolat 5 (*isolates 5*) : *Edwardsiella* sp.

O/F, motil, dan positif RS serta mampu memfermentasi glukosa. Sesuai dengan laporan Jacobs & Chenia (2009) dan Chenia (2015) bahwa bakteri *Myroides* sp. bersifat aerobik dengan warna koloni kuning, termasuk golongan bakteri gram negatif, berbentuk batang dan non-fermentatif.

Bakteri dari genus *Myroides* spesiesnya banyak ditemukan di berbagai lingkungan darat dan perairan. Genus *Myroides* juga dikenal sebagai agen penyebab berbagai infeksi. *Myroides* terbagi menjadi dua spesies yang relevan yaitu *Myroides odoratus* dan *Myroides odoratimimus*. Sebagian besar strain *Myroides*

odoratimimus telah diisolasi dari spesimen klinis dan mempunyai kemampuan untuk mengembangkan resistensi terhadap antibiotik dan patogen oportunistik. Lebih lanjut, *Myroides* sp. juga telah dilaporkan terdapat di lingkungan akuatik, usus serangga dan air laut. Sebelumnya, *Myroides odoratus* juga sudah pernah diisolasi dari ikan nila. Namun, tidak ada satu laporan isolasi serta studi eksperimental pada infeksi *Myroides odoratimimus* dan patogenitasnya pada spesies ikan (Ravindran *et al.*, 2015).

Hasil uji biokimia dari isolat 5 teridentifikasi sebagai *Edwardsiella* sp. ditunjukkan dengan isolat yang bersifat negatif oksidase, positif katalase, positif O/F, motil, dan negatif RS serta tidak bisa memfermentasi karbohidrat. Sesuai laporan Park *et al.* (2012) bahwa *Edwardsiella* merupakan bakteri anaerob fakultatif dan termasuk bakteri gram negatif. Morfologi bakteri berupa batang pendek dengan panjang 2-3 μm , diameter 1 μm dan bersifat motil.

Edwardsiella menyebabkan penyakit yang dikenal dengan nama *Edwardsiosis* atau *Emphysematous Putrefactive Disease* (EPD). Ikan yang terserang tidak menunjukkan gejala klinis yang spesifik, hanya anoreksia yang bersifat umum. Gejala klinis lainnya yaitu pendarahan pada kulit, kehilangan warna tubuh, dan terjadi luka yang merata pada seluruh permukaan tubuh (Ratnawati *et al.*, 2013). Bakteri *Edwardsiella* sp. menghasilkan hemolisin yang mampu memecah sel darah merah, sehingga sel darah keluar dari pembuluh dan menimbulkan warna kemerahan pada permukaan kulit. Kerusakan makroskopis lain yaitu berupa depigmentasi kulit yang disebabkan oleh serangan bakteri pada bagian epidermis kulit ikan yang didalamnya terdapat sel pigmen *chromatophore* dan kolagen yang dapat memperkuat struktur kulit. Perkembangan selanjutnya menyerang hingga bagian epidermis dan otot yang menyebabkan kulit kehilangan pigmen warna (Meidiza *et al.*, 2017). Sebagaimana penelitian Chen *et al.* (2014) berhasil mengidentifikasi bakteri *Edwardsiella tarda* pada ikan toman hibrid hasil persilangan antara *Channa maculata* dengan *Channa argus* menggunakan uji biokimia dan molekuler.

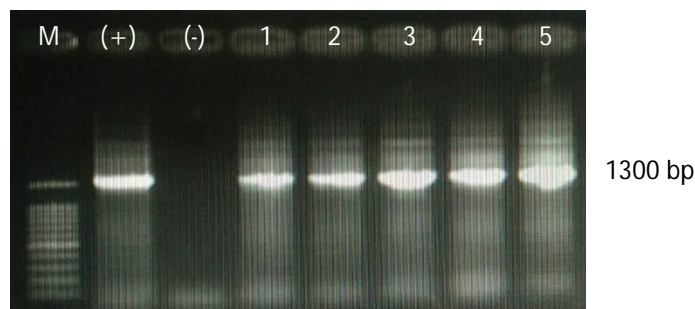
Konfirmasi lanjut dilakukan melalui uji PCR menggunakan 16S rRNA terhadap 5 isolat bakteri. Hasil uji molekuler menunjukkan munculnya band dengan ukuran 1300 bp pada seluruh isolat bakteri (Gambar 1). Gen 16S rRNA merupakan daerah yang lestari dan jarang mengalami mutasi sehingga lebih bersifat stabil. Sekuen gen 16S rRNA dapat ditemukan hampir pada seluruh jenis bakteri dan merupakan daerah lestari sehingga dapat digunakan sebagai sumber informasi bakteri (Janda & Abott, 2007).

Identifikasi Parasit

Pemeriksaan parasit yang menginfeksi ikan toman meliputi ektoparasit dan endoparasit. Sebanyak 27 sampel ikan toman diperiksa untuk mengetahui jenis parasit yang menginfeksi. Hasil inventarisasi dan indentifikasi parasit pada setiap sampel ikan uji memperlihatkan nilai prevalensi yang berbeda. Spesies ikan uji, jenis parasit, prevalensi, dan organ yang terinfeksi ditunjukkan pada Tabel 2. Tujuh spesies parasit protozoa yang menginfeksi ikan toman dan berhasil teridentifikasi yaitu *Trichodina* sp., *Vorticella* sp., *Henneguya* sp., *Oodinium* sp., dan *Ichthyophthirius multifiliis*, satu spesies trematoda *Dactylogyrus* sp. dan satu spesies acanthocephala yaitu *Acanthocephalus* sp.

Prevalensi parasit yang menginfeksi ikan toman berkisar antara 3,70% sampai 66,67%. Prevalensi parasit *Trichodina* sp. tertinggi dibanding jenis parasit lainnya dan terendah *Oodinium* sp. dan *Dactylogyrus* sp. Prevalensi parasit yang menginfeksi ikan toman tertinggi hingga terendah antara lain *Trichodina* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Vorticella* sp., *Acanthocephalus* sp., *Henneguya* sp., *Oodinium* sp., dan *Dactylogyrus* sp. Analisis dilakukan untuk mengetahui organ yang menjadi target infeksi dengan melihat dominansi parasit pada organ ikan yang paling sering ditemukan parasit. Hasil inventarisasi dan indentifikasi menunjukkan bahwa organ dan jenis parasit yang menginfeksi ikan toman meliputi insang (*Trichodina* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, dan *Dactylogyrus* sp.); sirip (*Trichodina* sp., *Vorticella* sp., *Henneguya* sp., dan *Ichthyophthirius multifiliis*); mucus (*Trichodina* sp., *Vorticella* sp., *Oodinium* sp., dan *Ichthyophthirius multifiliis*); dan usus (*Henneguya* sp. dan *Acanthocephalus* sp.).

Berdasarkan pengujian diketahui parasit yang menginfeksi ikan toman berasal dari golongan protozoa, trematoda, dan acanthocephala. Parasit *Trichodina* sp. dari golongan protozoa memiliki prevalensi tertinggi dibanding jenis parasit lainnya. Miah *et al.* (2013) dalam penelitiannya berhasil mengidentifikasi parasit yang menginfeksi *Channa punctatus* berasal dari golongan protozoa, platyhelminthes, nematoda, acanthocephala, arthropoda, gastrotrics, dan rotifer. Spesies parasit dari golongan protozoa di antaranya *Trichodina* sp., *Chilodonella* sp., *Ichthyobodo* sp., dan *Actinophrys* sp.; golongan Platyhelminthes yaitu *Dactylogyrus* sp., *Gyrodactylus* sp., *Metacercariae hemiuridae*, *Allocreadium* sp., *Macrolecithus* sp., dan *Apophallus* sp.; sedangkan parasit golongan acanthocephalan di antaranya *Pallisentis* sp., *Leptorhynchoides* sp., dan *Acanthocephalus* sp. Chowdhury & Hossain (2015) melaporkan bahwa *Acanthocephalus* sp. dan *Pallisentis* sp. hidup sebagai endoparasit dan umumnya ditemukan dalam saluran



Gambar 1. Visualisasi hasil amplifikasi gen 16S rRNA. M: DNA marker, (+) Kontrol Positif, (-) Kontrol Negatif, 1: Isolat 1, 2: Isolat 2, 3: Isolat 3, 4: Isolat 4, dan 5: Isolat 5.

Figure 1. Gene amplification visualization results of 16S rRNA. M: DNA marker 100 bp, (+) Positive control, (-) Negative control, 1: Isolate 1, 2: Isolate 2, 3: Isolate 3, 4: Isolate 4, and 5: Isolate 5.

Tabel 2. Spesies dan prevalensi parasit yang menginfeksi ikan toman, *Channa micropeltes*
 Table 2. Species and prevalence of parasites infecting the snakehead *Channa micropeltes*

Spesies ikan Fish species	Parasit Parasites	Prevalensi Prevalence (%)	Organ yang Terinfeksi (Infected organ)				
			Insang (Gill)	Sirip (Fin)	Mucus	Usus (Intestine)	Otot (Muscle)
Toman <i>Channa</i>	Protozoa (Protozoan):						
	<i>Trichodina</i> sp.	66.67	+	+	+		
	<i>Vorticella</i> sp.	11.11		+	+		
	<i>Henneguya</i> sp.	11.11		+		+	
	<i>Oodinium</i> sp.	3.70			+		
	<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	25.93	+	+	+		
	Trematoda (Trematode):						
	<i>Dactylogyrus</i> sp.	3.70	+				
	Acanthocephala						
	Acanthocephalan:						
<i>Acanthocephalus</i> sp.	14.81				+	+	

pencernaan ikan karnivora yang bersifat predator seperti toman. Menurut Singkoh (2012), menyebutkan bahwa *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp., dan *Gyrodactylus* sp. lebih banyak ditemukan dikarenakan parasit-parasit tersebut lebih menyukai bagian eksternal tubuh ikan (ektoparasit) dibandingkan bagian internal (endoparasit). Sementara Handayani *et al.* (2014) bahwa *Trichodina* sp. memiliki siklus hidup yang langsung dan dapat melakukan reproduksi secara seksual maupun aseksual sehingga menyebabkan kemudahan dalam penyebarannya.

Virulensi Bakteri

Hasil pengujian menunjukkan bahwa bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat virulen pada ikan toman dengan tingkat kematian ikan uji 100% dalam waktu 24 jam. Gejala klinis yang muncul berupa perubahan tingkah laku, ikan menjadi lemah, tidak aktif, dan tidak responsif. Luka pada pangkal sirip punggung, pangkal

sirip ekor, dan tutup insang yang diikuti kematian ikan. Kematian mulai terjadi pada hari pertama setelah penyuntikan, hal tersebut dikarenakan kepadatan bakteri yang tinggi, dengan tanda-tanda luka pada bagian perut dekat sirip badan dan sirip ekor. Huys *et al.* (2002) menyatakan bahwa ikan yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* mengakibatkan pertahanan tubuh ikan toman melemah. Perlindungan tubuh dari infeksi bakteri, ikan akan mengeluarkan lendir terus-menerus sehingga mengakibatkan metabolisme tubuh meningkat dan pemakaian energi lebih banyak. Keadaan tersebut mempermudah bakteri untuk masuk dan menginfeksi dengan mengeluarkan toksin melalui tempat terbuka seperti insang, ekor, atau sirip. Sementara menurut Del Coral *et al.* (1990) bahwa *Aeromonas hydrophila* termasuk dalam kelompok bakteri patogen dengan virulensi yang tinggi. Tingkat virulensi bakteri tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim dan toksin

tertentu yang berperan dalam proses invasi dan infeksi. Sebagai faktor-faktor virulensi, kitinase, lesitinase, dan hemolisin yang dihasilkan oleh *Aeromonas hydrophila* bekerja dengan mendegradasi jaringan dan menimbulkan luka serta pendarahan pada ikan inang. Begitupula Yuasa *et al.* (2003) melaporkan bahwa ikan yang terinfeksi oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* pada umumnya mengalami pendarahan yang meluas pada permukaan kulit (*haemorrhagic septicemia*), yang diikuti dengan timbulnya luka terbuka (*ulcer*) pada permukaan tubuh atau hingga ke dalam jaringan. Selain itu, pada beberapa jenis ikan lain sering ditemukan tanda klinis seperti sirip punggung dan sirip ekor rontok, serta pembengkakan pada perut dan berisi cairan (*dropsy*), yang diikuti dengan kematian.

KESIMPULAN

Bakteri yang teridentifikasi menginfeksi ikan toman yaitu *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Myroides* sp., dan *Edwardsiella* sp. Spesies parasit yang menginfeksi antara lain *Trichodina* sp., *Vorticella* sp., *Henneguya* sp., *Oodinium* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, *Dactylogyrus* sp., dan *Acanthocephalus* sp. Bakteri *Aeromonas hydrophila* sangat virulen terhadap ikan toman, *Channa micropeltes* dengan tingkat kematian mencapai 100% dalam waktu 24 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian dibiayai DIPA Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP, Bogor) tahun anggaran 2018. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala BRPBATPP, Tim Peneliti Kesehatan Ikan, Sdri. Dhea Safitri, Sdr. Edy Farid Wadjdy, Ahmad Wahyudi, Setiadi, dan Johan Afandi yang telah membantu selama proses penelitian.

DAFTAR ACUAN

- Arbačiauskienė, V.S., Kazlauskienė, N., Vosylienė, M.Z., & Virbickas, T. (2012). *Aeromonas salmonicida* infected fish transfer disease to healthy fish via water. *Central European Journal of Biology*, 7(5), 878-885.
- Chen, Y., Zhou, A., Chen, G., Chen, J., Zhang, J., & Zhang, H. (2014). Isolation of *Edwardsiella tarda* from cultured hybrid snakehead (*Channa maculata* f × *C. argus* m) and its identification. *South China Fisheries Science*, 10(5), 1-7.
- Chenia, H.Y. (2015). Antimicrobial activity of cinnamaldehyde, vanillin and *Kigelia Africana* fruit extracts against fish-associated *Chryseobacterium* and *Myroides* spp. isolates. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(3), 55-67.
- Chowdhury, S.Z. & Hossain, M.M. (2015). Isolation and characterization of internal parasites in snakehead. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2(4), 17-22.
- Del Coral, F., Shotts, E.B., & Brown, J. (1990). Adherence haemagglutination and cell surface characteristics of motile aeromonads virulent for fish. *Journal of Fish Diseases*, 13, 255-268.
- Dhanaraj, M., Haniffa, M.A.K., Ramakrishnan, C.M., & Singh, S.V.A. (2008). Microbial Flora from the Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS) Infected Murrel *Channa striatus* (Bloch, 1797) in Tirunelveli Region. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 32(3), 221-224.
- Ediwarman, R., Hernawati, Adianto, W., & Moreau, Y. (2008). Penggunaan maggot sebagai substitusi ikan rucah dalam budidaya ikan toman (*Channa micropeltes* CV). *Jurnal Riset Akuakultur*, 3(3), 395-400.
- Firlianty, E., Suprayitno, H., Nursyam, Hardoko, & Mustafa, A. (2013). Chemical composition and amino acid profile of Channidae collected from Central Kalimantan, Indonesia. *IEESE International Journal of Science and Technology (IJSTE)*, 2(4), 25-29.
- Handayani, R., Adiputra, Y.T., & Wardiyanto. (2014). Identifikasi dan keragaman parasit pada ikan mas koki (*Carrasius auratus*) dan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang berasal dari Lampung dan luar Lampung. *Jurnal Aquasains: Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 2(2), 149-155.
- Huys, G., Kampfner, P., Albert, M.J., Kuhn, I., Denys, R., & Swings, J. (2002). *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* subsp. nov., isolated from children with diarrhoea in Bangladesh, and extended description of *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* (Chester 1901) Stanier 1943 (Approved list 1980). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52, 705-712.
- Isonhood, J.H. & Drake, M. (2002). *Aeromonas* species in foods. *Journal of Food Protection*, 65(3), 575-582.
- Jacobs, A. & Chenia, H.Y. (2009). Biofilm-forming capacity, surface hydrophobicity and aggregation characteristics of *Myroides odoratus* isolated from South African *Oreochromis mossambicus* fish. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1957-1966.
- Janda, J.M. & Abbott, S.L. (2007). 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 2761-2764.
- Kamelia, M.O. & Laila, A.M. (2009). Trials for vaccination of tilapia fish against *Aeromonas* and

- Pseudomonas infections using monovalent, bivalent and polyvalent vaccines. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(4), 297-304.
- Kusdarwati, R., Kismiyati, Sudarno, Kurniawan, H., & Prayogi, Y.T. (2017). Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* and *Saprolegnia* sp. on Catfish (*Clarias gariepinus*) in floating cages in Bozem Moro Krembangan Surabaya. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55, 1-7.
- Maulana, D.M., Muchlisin, Z.A., & Sugito, S. (2017). Intensitas dan prevalensi parasit pada ikan betok (*Anabas testudineus*) dari perairan umum daratan Aceh bagian utara. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 2(1), 1-11.
- Marchesi, J.R., Sato, T., Weightman, A.J., Martin, T.A., Fry, J.C., Hiom, S.J., & Wade, W.G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium specific PCR primer that amplify genes coding for bacterial 16S-rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 795-799.
- Meidiza, R., Arimbi, & Hastutie, P. (2017). Gambaran patologi hepar ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi bakteri *Edwardsiella tarda*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 9(1), 47-56.
- Miah, Md.F., Deb, M., Ali, H., Ouddus, M.M.A., & Ahmed, K. (2013). Comparative surveillance of parasitic infestation in *Channa punctatus* (Osteichthys: Channidae) collected from open and closed water in Sylhet, Bangladesh. *Advances in Zoology and Botany*, 1(1), 17-23.
- Ngui, W.S.Y., Hassan, N.H., Ramlan, N., & Zubairi, S.I. (2017). Malaysia snakehead *Channa Striatus* and *Micropeltes*: physico-chemical properties of fillet fish oil and water-soluble extract. *Chemical Engineering Transactions*, 56, 61-66.
- Park, S.B., Aoki, T., & Jung, T.S. (2012). Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research*, 43(67), 1-11.
- Pramudita, Sarjito, & Prayitno, S.B. (2013). Identifikasi bakteri agensia penyebab motile aeromonas pada ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari Kecamatan Rowosari, Kabupaten Kendal. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 2(2), 1-9.
- Prayogo, B., Rahardja, S., & Putri, R.W. (2011). Uji potensi sari buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas salmonicida* smithia secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 3(2), 165-168.
- Ratnawati, A., Purwaningsih, U., & Kurniasih. (2013). Histopatologis dugaan *Edwardsiella tarda* sebagai penyebab kematian ikan maskoki (*Carassius auratus*): Postulat Koch. *Jurnal Sain Veteriner*, 31(1), 55-65.
- Ravindran, C., Varatharajan, G.R., Raju, R., Vasudevan, L., & Anantha, S.R. (2015). Infection and pathogenicity of *Myroides odoratimimus* (NIOCR-12) isolated from the gut of grey mullet (*Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758)). *Microbial Pathogenesis*, 2(6), 1-24.
- Samayanpaulraj, V., Sivaramapillai, M., Palani, S.N., Govindaraj, K., Velu, V., & Uthandakalaipandian, R. (2020). Identification and characterization of virulent *Aeromonas hydrophila* Ah17 from infected *Channa striata* in River Cauvery and *in vitro* evaluation of shrimp chitosan. *Food Science and Nutrition*, 8(2), 1272-1283.
- Sharma, M., Shrivastav, A.B., Sahni, Y.P., & Pandey, G. (2012). Overviews of the treatment and control of common fish diseases. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(7), 123-127.
- Singkoh, M.F.O. (2012). Tingkat kesukaan parasit pada ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang dipelihara dalam wadah jaring apung di Desa Eris, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Bioslogos*, 2(2), 63-69.
- Suwanto, A., Yogiara, Suryanto, D., Tan, I., & Puspitasari, E. (2000). Selected protocols. Training Course on Advances in Molecular Biology Techniques to Assess Microbial Diversity. Bogor, 28 pp.
- Taukhid, Purwaningsih, U., Sugiani, D., Sumiati, T., & Lusiasuti, A.M. (2015). Efikasi vaksin in-aktif bakteri *Aeromonas hydrophila*-AHL0905-2 (hydrovac) dan *Streptococcus agalactiae*-N14G (streptovac) untuk pencegahan penyakit bakterial pada budidaya ikan air tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*, 10(4), 541-551.
- Wahjuningrum, D., Astrini, R., & Setiawati, M., (2013). Pencegahan infeksi *Aeromonas hydrophila* pada benih ikan lele *Clarias* sp. yang berumur 11 hari menggunakan bawang putih *Allium sativum* dan meniran *Phyllanthus niruri*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 12(1), 94-104.
- Yuasa, K.N., Panigoro, M.B., & Kholidin. (2003). Panduan Diagnosa Penyakit Ikan: Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar di Indonesia. Balai Budidaya Air Tawar Jambi & Jakarta. International Cooperation Agency: iv + 75 pp.