

TEKNIK PENCEGAHAN DAN PENGOBATAN PENYAKIT BERCAK MERAH PADA IKAN AIR TAWAR YANG DISEBABKAN OLEH BAKTERI *Aeromonas hydrophila*

Mariyono dan Agus Sundana¹

Subsektor perikanan memegang peranan penting dalam penyediaan protein hewani bagi rakyat Indonesia. Produksi ikan mencapai kurang lebih 2 juta ton per tahun, sebagian besar (74%) berasal dari laut dan sisanya (26%) dari air tawar (Pasaribu, 1980).

Untuk memenuhi permintaan produk perikanan yang terus meningkat, penerapan intensifikasi budi daya tidak dapat dihindarkan. Namun, intensifikasi budi daya dapat menimbulkan berbagai dampak negatif antara lain penyakit.

Hingga kini, metode yang banyak digunakan untuk menanggulangi penyakit pada ikan budi daya adalah pengobatan dengan zat kimia atau antibiotik. Cara ini sangat berisiko karena dapat menimbulkan resistansi terhadap bakteri, memerlukan biaya yang cukup mahal, serta dapat mencemari lingkungan. Antibiotik biasanya diberikan melalui makanan, perendaman, atau penyuntikan, sehingga residu antibiotik dapat terakumulasi pada ikan.

Untuk menghindari dampak negatif penggunaan antibiotik, penanggulangan penyakit ikan diupayakan melalui peningkatan kekebalan dengan vaksinasi. Vaksin *Aeromonas hydrophila* telah dicoba oleh beberapa instansi terkait untuk menanggulangi penyakit pada ikan. Namun, pemakaian vaksin tersebut masih belum memasyarakat di kalangan pembenih ikan.

Song *et al.* (1984) telah berhasil mengebalkan ikan *Japanese eel (Anguilla japonica)* dengan vaksin monovalen *A. hydrophila*. Daya kandung vaksin tersebut pada ikan sekitar 87%. Selanjutnya, Aquagroup (1980) menguji antigen monovalen *A. hydrophila* secara intraperitoneal dan penyemprotan pada ikan salmon. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan di antara dua cara pemberian tersebut, namun keduanya dapat memberikan kekebalan pada ikan yang diuji. Thune (1980) melakukan vaksinasi ikan lele dengan cara merendam dan mencelupnya dalam antigen *A.*

hydrophila, kemudian melakukan uji tantang dengan bakteri yang sama. Pada ikan yang tidak divaksin, jumlah ikan yang mati mencapai 45%, sedangkan pada vaksinasi dengan pencelupan dan perendaman, ikan yang mati masing-masing mencapai 13% dan 7,10%.

Pembuatan vaksin *A. hydrophila* perlu mempertimbangkan berbagai hal, antara lain antigen yang heterogen, imunitas yang relatif rendah, dan aplikasinya di lapangan. Ada dua jenis vaksin *A. hydrophila*, yaitu yang berupa vaksin hidup atau bakteri yang dilemahkan dan vaksin mati yaitu seluruh sel atau bagian tertentu saja yang dilemahkan (Ward, 1987).

Vaksinasi dapat dilakukan secara intraperitoneal, intramuskular, peroral, pencelupan, perendaman, dan penyemprotan. Menurut Anderson (1974), cara intraperitoneal lebih disukai karena antigen cepat diserap, namun perlu dilakukan secara cermat agar tidak mengenai usus karena dapat menimbulkan pendarahan dan kehilangan antigen. Penyuntikan secara intramuskular sering menyebabkan kerusakan pada daerah otot tempat suntikan, tetapi teknik ini dapat menstimulasi antibodi lebih konstan. Teknik peroral dinilai lebih menguntungkan karena dapat memvaksin ikan dalam jumlah banyak, namun perlu dicari cara yang aman untuk mencegah kerusakan antigen serta distribusi vaksin harus merata. Gould *et al.* (1976) mencoba vaksinasi dengan cara pencelupan secara langsung. Dengan cara ini, bakteri dapat diserap dalam jumlah banyak oleh insang, tetapi ikan dapat mengalami stres karena waktu pencelupan relatif singkat. Lamers *et al.* (1985) mencoba metode perendaman menurut Thune (1980). Metode tersebut efektif menimbulkan imunitas karena antigen lebih lama kontak dengan ikan. Modifikasi dari metode pencelupan adalah penyemprotan, yaitu ikan ditaruh dalam wadah dan diberi air setengah badan ikan agar ikan mudah digeser pada waktu disemprot dengan vaksin (Ward, 1982).

Percobaan ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai cara penanggulangan, pencegahan, dan pengobatan ikan air tawar yang terserang wabah penyakit *A. hydrophila*. Informasi tersebut diharapkan dapat bermanfaat bagi petani ikan dan para penyuluh di lapang.

¹Berturut-turut adalah Asisten Teknisi Litkayasa Madya dan Asisten Litkayasa pada Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Jln. Raya Sukamandi, Subang 41255. Telp. (0264) 520500

BAHAN DAN METODE

Percobaan menggunakan 77 ekor ikan mas (*Cyprinus carpio*), dengan berat badan 35-50 g/ekor. Ikan dibagi dalam tujuh kelompok dan dipelihara dalam bak berukuran 30 cm x 40 cm x 60 cm dengan volume air 96 liter. Pakan diberikan 3-5% dari berat badan sebanyak dua kali sehari. Kelompok ikan yang tidak mendapatkan perlakuan digunakan sebagai kontrol. Sebelum perlakuan dimulai, ikan diaklimatisasi selama 1 minggu.

Bakteri yang digunakan adalah isolat *A. hydrophila*, yang telah diidentifikasi dan diuji patogenisitasnya. Untuk pengujian terhadap daya kerja antibiotik digunakan 10 isolat bakteri.

Pengujian Konsentrasi Daya Hambat Minimum

Pengujian konsentrasi daya hambat minimum menggunakan beberapa jenis antibiotik, yaitu streptomisin, kanamisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol. Pengujian dilakukan dengan cara membuat stok antibiotik masing-masing 100 ppm. Konsentrasi beberapa larutan stok antibiotik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Konsentrasi larutan stok beberapa antibiotik

Antibiotik	Konsentrasi larutan stok (mg/ml)	Pelarut
Ampisilin	50	H ₂ O
Karbenisilin	50	H ₂ O
Kloramfenikol	34	Etanol
Kanamisin	10	H ₂ O
Streptomisin	10	H ₂ O
Tetrasiklin	5	Etanol
Ritamisin	10	Etanol

Sumber Yayah Sukarya (1994)

Pembuatan konsentrasi masing-masing antibiotik dilakukan dengan cara melarutkan 1 mg antibiotik dalam 20 ml akuades steril sampai homogen sehingga larutan tersebut konsentrasinya menjadi 100 ppm. Selanjutnya, disiapkan 14 tabung reaksi steril yang berisi larutan *brown heart infusion* (BHI) steril. Larutan antibiotik yang tersedia didistribusikan ke dalam tabung reaksi steril dan diinokulasi biakan bakteri *A. hydrophila* dengan standar kekeruhan *Brown* 1.10⁶⁻⁸ sel/ml (Tabel 2). Setelah diinokulasi bakteri, larutan BHI yang mengandung antibiotik diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam.

Tabel 2. Cara pembuatan enceran antibiotik (masing-masing enceran 2 tabung)

Volume media BHI (ml)	Larutan antibiotik 100 ppm (ml)	Konsentrasi akhir (ppm)
9,50	0,50	5
9	1	10
8	2	20
7	3	30
6	4	40
5	5	50
10	0	Kontrol

Pengujian Biogram

Tujuan uji biogram adalah untuk mengetahui jenis antibiotik yang dapat digunakan untuk pengobatan secara cepat. Untuk uji biogram dipakai media *mueller hinton agar* (MHA) *plate*, dengan membiakkan 0,20 ml suspensi bakteri pada kekeruhan *Brown* 1. Caranya, pada permukaan media MHA *plate* dituangkan 0,20 ml suspensi bakteri yang mempunyai kekeruhan sama dengan opasik *Brown* nomor 1. Selanjutnya suspensi bakteri diratakan dengan tabung gelas steril berbentuk L (spatula), kemudian pada permukaan media diletakkan kertas (*disk*) yang mengandung antibiotik tetrasiklin 30 µg, kloramfenikol 30 µg, novobiosin 30 µg, eritrosin 30 µg, neomisin 30 µg, trimetipsinin 5 µg, kanamisin 30 µg, dan streptomisin 25 µg serta diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Vaksin

Vaksin dibuat dengan membiakkan *A. hydrophila* di dalam 200 ml media cair BHI Difco, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm. Sedimen dicuci satu kali dengan NaCl 0,10 M dan disuspensi dengan 0,10 M *phosphate buffer saline* (PBSL) pH 7,60. Selanjutnya, suspensi diinaktivasi dengan pemanasan 90°C selama 1 jam dalam pemanas atau dengan penambahan 0,50% formalin. Untuk membuktikan bahwa vaksin sudah dalam keadaan inaktif, vaksin dibiakkan pada media agar darah. Jika tidak ada pertumbuhan pada media agar darah, berarti vaksin sudah mati.

Vaksin inaktif yang digunakan mengandung 1,20 x 10⁸ sel/ml. Vaksin diberikan secara intraperitoneal dan intramuskular dengan dosis pertama 0,05 ml dalam seminggu. Vaksinasi dilakukan selama 3 minggu.

Potensi Vaksin

Sebelum dilakukan vaksinasi, darah ikan diambil dan serumnya dipisahkan, kemudian diuji secara kualitatif. Hasil pemeriksaan secara acak dari sampel ikan yang diambil darahnya ternyata tidak ada reaksi aglutinasi dengan antigen *A. hydrophila*. Setelah mendapatkan perlakuan vaksinasi, selama 4 bulan dilakukan pemeriksaan darah untuk mengetahui kenaikan titer antibodi terhadap antigen tersebut dengan uji *slide agglutination*. Keamanan vaksin ditentukan dengan melakukan ujiantang terhadap ikan yang telah mendapatkan vaksinasi. Ujiantang dilakukan dengan dosis 10^6 sel/ml untuk 10 ekor ikan secara injeksi intramuscular dan intraperitoneal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran zona hambatan yang ditimbulkan oleh antibiotik terhadap *A. hydrophila* menunjukkan bahwa kloramfenikol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik, sedangkan tetrasiklin, novobiosin, trimetipsinin, dan eritrosin bersifat resistan terhadap *A. hydrophila* (Tabel 3). Namun demikian, pemakaian kloramfenikol harus hati-hati, karena antibiotik yang ampuh mempunyai efek samping terhadap organ tubuh seperti ginjal. Selain itu, penyalahgunaan atau penggunaan dosis yang tidak tepat dapat menimbulkan resistansi terhadap antibiotik tersebut.

Tabel 3. Uji beberapa antibiotik pada media MHA memakai kertas cakram yang ditumbuhkan *Aeromonas hydrophila* dengan kepadatan 10^{6-8} sel/ml selama 24 jam

Jenis antibiotik	Diameter hambatan (mm)	Keterangan
Tetrasiklin 30 µg	2	Resistan
Kloramfenikol 30 µg	20	Peka
Novobiosin 30 µg	10	Resistan
Eritrosin 30 µg	15	Agak peka
Neomisin 30 µg	15	Agak peka
Trimetipsinin 5 µg	5	Resistan
Eritrosin 30 µg	10	Resistan
Streptomisin 30 µg	15	Agak peka

Uji kekeruhan pada media yang telah berisi berbagai kepekaan antibiotik dapat menunjukkan daya hambat minimum yang dimiliki antibiotik tersebut. Berdasarkan hasil percobaan, kloramfenikol dengan konsentrasi 5 ppm bisa menghambat pertumbuhan *A. hydrophila* (Tabel 4). Proteksi dari setiap vaksin terhadap *A. hydrophila* sangat baik, rata-rata mencapai 90%.

Tabel 4. Efektivitas antibiotik streptomisin, kanamisin, tetrasiklin, dan kloramfenikol yang ditumbuhkan bakteri *Aeromonas hydrophila* selama 24 jam

Jenis antibiotik	Konsentrasi (ppm)						
	Kontrol	5	10	20	30	40	50
Streptomisin	+++	++	+	+	-	-	-
Kanamisin	+++	+	+	+	+	+	+
Tetrasiklin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kloramfenikol	+++	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

+++ = tumbuh subur; + = tumbuh kurang subur; - = tidak tumbuh

KESIMPULAN

Penggunaan antibiotika untuk penanggulangan penyakit ikan atau tujuan lain hendaknya memperhatikan akibat samping yang ditimbulkan, seperti resistansi dan residu pada ikan. Sebaiknya sebelum dilakukan pengobatan dengan antibiotik, dilakukan dulu uji antibiogram untuk mengetahui antibiotik yang cocok dan aman.

Vaksinasi mampu menimbulkan antibodi karena ikan mempunyai daya lindung yang baik. Dalam usaha pencegahan penyakit, vaksinasi juga menguntungkan karena tidak menimbulkan residu dan pencemaran lingkungan. Oleh karena itu, vaksinasi perlu digalakkan dengan metode yang tepat guna dan praktis di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. 1974. Fish immunology. In S.F. Snieszko and H.R. Axelrod (Ed.). Diseases of Fish. TFH Publications, Hongkong.
- Aquagroup. 1980. Trial vaccination of rainbow trout against *A. liquefaciens*. In W. Alien (Ed.). Fish Diseases. Third Ed. Qoprad-Session, Spring-Verlag, Berlin. p. 206-211.
- Bauer, M.D., M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. J. Pathol. 45-439.
- Gould, R., W.R. Antipa, and D.F. Amed, 1979. Immersion vaccination of sock eye salmon (*Onchorhynchus nerca*) with two pathogenic strains of *Vibrio anguillarum*. In R.J. Robert (Ed.). Microbial Diseases of Fishes. Acad. Press, London.
- Oxoid. 1982. Oxoid Manual Fish Edition. Oxoid K. Ltd., Wade Road, Basing Stoke Hampshire R624 OPW.
- Pasaribu, F., H. Dalimurte, dan M. Poeloengan. 1980. Pencegahan dan Pengobatan Penyakit Ikan Bercak Merah. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Song, Y., S.N. Chen, and G.H. Kon. 1976. Agglutinating antibodies production in eel (*Anguilla japonica*) inoculated with

Aeromonas hydrophila antigen. Paper presented in the Symposium of Fish Vaccination. OIE Fish Diseases Commission Paris Thesis, Auburn University.

Thune, R.L. 1980. Immunization of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) via hyperosmotic in filtrati. MSc. thesis, Auburn University.

Ward, P.D. 1982. The development of bacterial vaccines for fish. In R.J. Robert (Ed.) Microbial Diseases of Fish. Acad. Press, London.