

KORESPONDENSI PAPER

JUDUL : Selektif Bakteri yang Berasosiasi dengan Kematian Ikan Nila (*O. niloticus*) di Kabupaten Magelang

JURNAL : Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)
Vol. 17 No.1: 15-24, April 2021

No.	Aktifitas	Tanggal	Deskripsi	Halaman
1	Submission Acknowledgement	27 September 2020	Email dari Editor Saintek Perikanan: Submission Acknowledgement • Initial manuscript	2 3-18
2	Hasil Review Artikel	14 Oktober 2020	Email dari Editor Saintek Perikanan • 37430-113884-1-RV • 37430-113841-1-RV	19 20-29 30-39
3	Revised Version Acknowledgement	30 November 2020	Email dari Editor Saintek Perikanan: • Manuskip Revisi 1	40 41-54
4			Artikel Terpublish	55-65



Undip Mail on Google
@live.undip.ac.id

Sarjito Sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

[IJFST] Submission Acknowledgement

1 message

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science <saintekjurnal@gmail.com>

Sun, Sep 27, 2020 at 3:51 PM

Reply-To: sarjito - sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

To: sarjito - sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

sarjito - sarjito:

Thank you for submitting the manuscript, "SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (O. niloticus) DI KABUPATEN MAGELANG" to Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/saintek/author/submission/37430>

Username: sarjito

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology

**SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*O. niloticus*)
DI KABUPATEN MAGELANG**

*Bacterial Selective associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Mortality in Magelang Regency*

**Sarjito¹, Monica Ananda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Harjuno Condro Haditomo¹, Desrina¹,
Slamet Budi Prayitno¹**

¹Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

Email: sarjito@live.undip.ac.id

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila tersebut. Metode studi kasus konfirmatori dengan purposive sampling diaplikasikan. Duapuluhan tiga ikan nila sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari keduapuluhan tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, *exophthalmia* dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci : *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, Kematian, Ikan Nila

ABSTRACT

Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out

pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, exophthalmia and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.

Keyword : *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, Mortality, Tilapia ,

*)Corresponding author

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96% (Dinas Pertanian, Peternakan dan Perikanan, 2020) Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, apabila penerapan teknologi intensif yang tidak tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito *et al.*, 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2017; Hardi *et al.*, 2018). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020 (Dinas Pertanian, Peternakan dan Perikanan, 2020) . Penurunan produksi ini dapat berkaitan dengan adanya serangan penyakit penyakit, terutama akibat serangan bakteri pathogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha *et al.*, 2016, Agustina *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa *et al.*, 2010; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Amanu *et al.*, 2015). Agensi penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran *et al.*, 2019; Monir *et al.*, 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa *et al.*, 2010; Zahran *et al.*, 2019), , *Streptococcus* sp. (Ashari *et al.*, 2014; Zahran *et al.*, 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique *et al.*, 2019; Zahran *et al.*, 2019; Elbahnaswy dan Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj *et al.* 2014; Doan *et al.*, 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi *et al.*, 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura *et al.*, 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan Kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala

klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesign cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

MATERI DAN METODE

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm yang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pemberian Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30$ cm³ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Stratch Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus konfirmatori dan *purposive sampling* digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahran *et al* (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode *streak* pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al.*, 2014^b, Anupama *et al* 2015; Amal *et al* 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51 , SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji

selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur bakteri keenam isolat terseleksi dilakukan dengan cara menginokulasib isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan spectrophotometer. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksikan keenam isolat terseleksi ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intraperitoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah dinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke 7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi

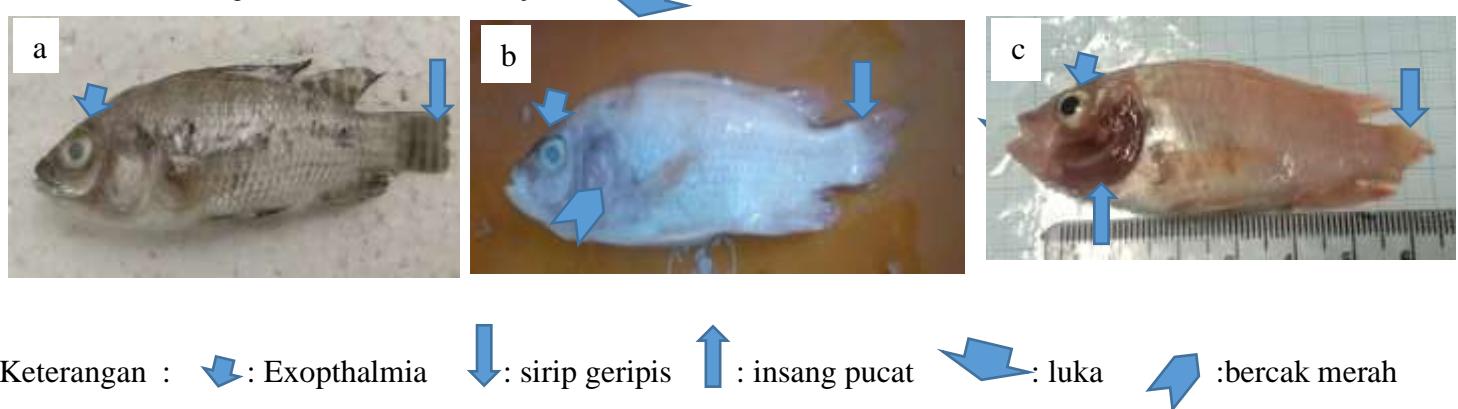
bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat, exophthalmia dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat (Gambar 1).



Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Uji yang Diinfeksi dengan Selektif Bakteri yang Berasosiasi dengan kematian ikan nila

- a. diskolorisasi, exophthalmia, sirip geripis
- b. diskolorisasi, bercak merah dan luka
- c. exophthalmia, insang pucat , sirip geripis dan produksi lender berlebihan

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat bakteri, tersaji pada Tabel 1 .

Tabel.1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang
25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang

35	SN77	Iregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka
36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Crcular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Dari ke empat puluh empat isolat (Tabel 2) , kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta asal isolat diperoleh 6 isolat

(Tabel 3) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi

Tabel 3 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	media	organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Iregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

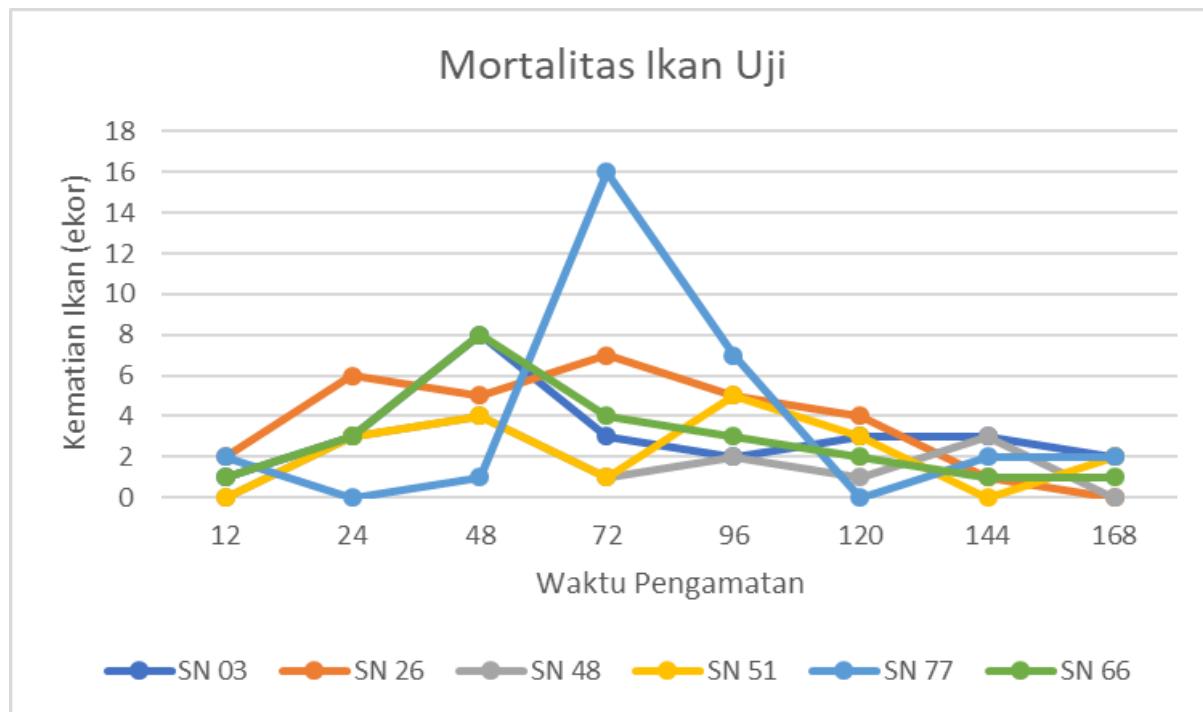
Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lender berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menujukkan bahwa pola kematian ikan uji yang

dinjeksi keenam isolat terseleksi memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitech 2. Compact

Hasil karaterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3



Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch.

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang

No	Karakteristik	SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)	-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrroludonyl Arylamidase (PyrA)	-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabinol (IARL)	-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)	-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)	+	-	+	-	-	+
7.	H2S Production (H2S)	-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)	+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLtp)	-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)	+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)	+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)	-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)	+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)	+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dMNE)	+	-	+	+	-	-

17.	Beta-Xylosidase (BXYL)	-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BAlap)	-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)	+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)	+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)	-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)	+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)	+	-	-	-	-	-
24.	D-Sorbitol (dSOR)	+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose (SAC)	+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose (dTAG)	-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose (dTRE)	+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium) (CIT)	-	-	+	+	+	-
29.	Malonate (MNT)	-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate (5KG)	-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalization (ILATk)	-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase (AGLU)	-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalization (SUCT)	+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase (NAGA)	-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase (AGAL)	-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase (PHOS)	-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase (GlyA)	-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase (ODC)	-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase (LDC)	-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine (IHISa)	-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate (CMT)	+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucuronidase (BGUR)	-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance (O129R)	-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase (GGAA)	+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation (IMLTa)	-	-	+	+	+	-
46.	Ellman (ELLM)	+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate (ILATA)	-	-	-	+	-	-
	Hasil identifikasi (%) kesesuaian dengan spesies)	<i>Aeromonas hydrophila</i> (97%)	<i>Streptococcus agalactiae</i> (98%)	<i>Aeromonas sobria</i> (96%)	<i>Pseudomonas putida</i> (96%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (96%)	<i>Aeromonas caviae</i> (98%)

Tabel 3 memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri terseleksi yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus*

agalactiae (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96 %); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) dan *Aeromonas caviae* (98%).

Kualitas Air

Hasil peneraan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama

pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Kolam									Kisaran Optimum
	Keji	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77	
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	≥ 3 ^{a)}
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25- 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009

b) SNI7550:2009

PEMBAHASAN

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercak merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al* (2020) dan Doan *et al* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasomboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila uji menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksikan pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morphologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteria (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 – 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat “true pathogen”. Lima isolat

(SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katogeri pathogenesitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 – 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katagori pathogeneitas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang dinjeksikan. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldissera *et al.*, 2018; Hardi *et al.*, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *A.*

hydropilla, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat *true pathogen*. *A. hydropilla* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldissera *et al.*, 2018). *A. hydropilla* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 – 7 hari (Naby *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2019; Kuebutornye *et al.*, 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa dan Yaoma, 2015, Abolghai *et al.* 2016), fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Dar *et al.*, 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. cavie* juga menyerang ikan

Menurut Thomas *et al.* (2013) dan Anandan *et al.* (2017), *A. cavia* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh Peepim *et al* (2016); Souza *et al* (2019) dan Mzula *et al* (2019). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian mencapai 90% (.....)

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococcosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee *et al* 2020; Wang *et al* 2019 Zamri *et al*, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di

Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan nila oleh Sirimanapong *et al.*(2018); Doan *et al.* (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez *et al.*, 2012; Hardi, 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa* menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Mesir (Eissa *et al.* (2010), ikan rainbow Trout (Altinok *et al.*, 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksoptalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok *et al.*, 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen opurtunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf *et al.*, 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf *et al.*, 2016) dan 75% (Thomas *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari Magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteria yang berassosiasi dengan penyakit bakteri yang terseleksi pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydropilla* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat *true pathogen* dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

KESIMPULAN

Berdasarkan kemiripan gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji yaitu sirip geripis, mata menonjol, produksi lendir berlebih, insang pucat., diskolorisasi/warna tubuh pudar, produksi lendir berlebih dan pendarahan di tubuh

dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam seltif bakteria assosiasi mengakibatkan ikan saki dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat *True pathogen*. Berdasarkan hasil

karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77).

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang uji pathogenitas dan identifikasi secara molekuler

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian didanai dari dana Kerjasama Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dengan Dinas Peternakan Kabupaten No.Terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringa DIY, Ketua Laboratorium Deartemen Akuakultur UNDP, . Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memerikan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozaambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Altinok, I., S. Kayis and E. Capkin. 2006. *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. *Aquaculture*, 261(3): 850-855. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.009>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifli, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2018. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supranianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. DOI: [10.1111/are.12180](https://doi.org/10.1111/are.12180)
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181- Mediated Carbepenem Resistnce in *Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. DOI: [10.1016/j.jgar.2017.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006)
- Anupama, K. P.,K. Deeksha., A. Deeksha., I. Karunasagar., I. Karunasagar dan B. Maiti. 2019. Comparative Performance of TCBS and TSA for the Enumeration of *trh+* *Vibrio parahaemolyticus* by Direct Colony Hybridization. Journal of Microbiological Methods, 157: 37-42. DOI: [10.1016/j.mimet.2018.12.020](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.020)
- Anupama, M. K. A. Kumar and J. N. L. Latha. 2015. Isolation and Characterization of Strontium Resistant Mutant of *Neurospora crassa*. Asian Journal of Biochemistry, 10(4): 156-164. DOI: [10.3923/ajb.2015.156.164](https://doi.org/10.3923/ajb.2015.156.164)
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa Penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidaya pada Jaring Tancap di Danau Tondano. Budidaya Perairan, (3): 24-30. <https://doi.org/10.35800/bdp.2.3.2014.5700>
- Ashraf, A. A. E. T., A. A. A. Maarouf, Nesma, and M. G. Ahmed. 2016. Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* species isolatd from fresh water fish by PCR. Benha Veterinary Medical Journal, 30(1): 199-207. DOI: [10.21608/BVMJ.2016.31364](https://doi.org/10.21608/BVMJ.2016.31364)
- Awan, F., Y. Dong., J. Liu., N. Wang., Mushtaq, M.H., Lu, C., Liu, Y., 2018. Comparative genome analysis provides deep insights into *Aeromonas hydrophila* taxonomy and virulence-related factors. BMC Genomics 19, 712. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5100-4>

- Baldissera, M. D., C. F. Souza., B. Parmeggiani., G. Leipnitz., C. M. Verdi., R. C. V., Santos., L. M. Stefani dan B. Baldisserotto. 2018. The Disturbance of Antioxidant/oxidant Balance with Disease Pathophysiology. *Microbial Pathogenis*, 122: 53-57. DOI: [10.1016/j.micpath.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.06.011).
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S. Moreira., M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldisserotto. 2018. Cholinergic and adenosinergic systems exert a pro-inflammatory profile in peripheric and splenic lymphocytes of *Rhamdia quelen* experimentally infected by *Aeromonas caviae*.
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., S. N. Descovi., C. M. Verdi., C. C. Zeppenfeld., L. de. L. Silva., A. L. Gindri., M. A. Cunha., R. C. V. Santos., B. Baldisserotto dan A. S. da. Silva. 2019. Effects of Dietary Grape Pomace Flour on The Purinergic Signaling and Inflammatory Response of Grass Carp Experimentally Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. *Aquaculture*, 503: 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.015>.
- Bijanti, R., M. G. A. Yuliani., W. Tyasningsih. 2013. Antignesity Protein of *Aeromonas hydrophila* caused Ulcer Disease on Goldfish (*Cyprinus carpio*) using Indirect ELISA Technique. *Asosiasi Farmakologi dan Farmasi Veteriner Indonesia*: 1-6. DOI: [10.1577/H08-042.1](https://doi.org/10.1577/H08-042.1)
- Brock, T. D. and Madigan, M.T. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed. Prentice hall, New Jersey.
- Dar, G. H., S. A. Dard., A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and characterization of potentially pathogenic Aeromonas sobria isolated from fish Hypophthalmichthys molitrix (Cypriniformes: Cyprinidae). *Microbial Pathogenesis*, 91: 136-140. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Dawood, M. A. O., M. Zommara., N. M. Eweedah dan A. I. Helal. 2018. The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid bacteria. *Aquaculture*, 515: 734571. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734571>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringeram., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Immunity and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.07.077](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077)
- Dong, H. T. S. Senapin., B. LaFrentz dan C. Rodkhum. 2016. Virulence Assay of Rhizoid and non Rhizoid Morphotypes of *Flavobacterium columnare* in Red Tilapia, *Oreochromis niloticus* sp., fry. *Journal of Fish Disease*, 39: 649-655. Doi:10.1111/jfd.12385
- Dong, H. T., V. V. Nguyen, H. D. Le, P. Sangsuriya, S. Jitrakorn, V. Saksmerprome, S. Senapin and C. Rodkhum. 2015. Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. *Aquaculture*, 448: 427-435. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.027>
- Eissa, M. N E., E. N. A. El-Ghiet, A. A. Shaheen and A. Abbass. 2010. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayyan Lakes, Egypt. *Global Veterinaria*, 5(2): 116-121. DOI:[10.13140/2.1.5002.4961](https://doi.org/10.13140/2.1.5002.4961)
- Elbahnaswy, S. and E. E. Gehad. 2020. Differential gene expression and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged intraperitoneally with *Photobacterium damsela* and *Aeromonas hydrophila* demonstrating immunosuppression. *Aquaculture* 526, 735364. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735364>
- Eugenin, F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. *Journal Application Microbiology*, 121:883–891. doi: 10.1111/jam.13210.
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile

- tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture, 229(4): 79-87.
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture. 229(4): 79-87. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00357-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00357-0)
- Giri, S. S., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim., K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 514: 734489. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Han, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, J., Luo, Y. & Zhong, H. 2020. Ghrelin modulates the immune response and increases resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in hybrid tilapia. *Fish & shellfish immunology*. 98: 100-108. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.006>
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo dan A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. Nusantara Bioscience. 9(2): 220-228.
- Hardi, E.H., R. A. Nugroho, I. W. Kusuma, W. Suwinarti, A. Sudaryono, dan R. Rostika. 2019. Borneo herbal plant extracts as a natural medication for prophylaxis and treatment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [version 2; peer review: 2 approved, 1 approved with reservations]. F1000Research. 7:1847. 1-18. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16902.2>
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini dan M. Mawardhi. 2018^b. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batrachus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas. 19(2): 480-488.
- DOI <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190215>
- Kacaniova, M., A. Kluga., A. Kantor., J. Medo., J. Ziarovska., C. Puchaski dan M. Terentjeva. 2019. Comparison of MALDI-TOF MS Biotyper and 16S rDNA Sequencing for the Identification of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbial Pathogenesis 132: 313-318. DOI: [10.1016/J.Micpath.2019.04.024](https://doi.org/10.1016/J.Micpath.2019.04.024)
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Genes in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet Microbio, 172: 586-594. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.04.013
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2014. Data Produksi Triwulan 3 Tahun 2014. Oline. Diakses tanggal: 02 Juni 2020. 1 hlm
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa, Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiya., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Kuebutornye, F. K. A., Z. Wang., Y. Lu., E. D. Abarike., M. E. Sakyi., Y. Li., C. X. Xie dan V. Hlordzi. 2020. Effects of Three Host Associated Bacillus Species on Mucosal Immunity and Gut Health of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* and Its Resistance Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Fish and Shellfish Immunology, 97: 83-95. doi: [10.1016/j.fsi.2019.12.046](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046)
- Lean, J. E., M.W. Pabsta., C. D. Miller., C. O. Dimkpa dan A. J. Anderson. 2013. Effect of complexing ligands on the surface adsorption, internalization, and bioresponse of copper and cadmium in a soil bacterium, *Pseudomonas putida*. Chemosphere, 91(3): 374-382.
- Lee, P. T., C. M. Wen., F. H. Nan., H. Y. Yeh dan M. C. Lee. 2020. Immunostimulatory Effects of *Sarcodina suiae*

- Water Extracts on Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* and Its Resistance Against *Streptococcus agalactiae*. Fish and Shellfish Immunology, 103: 159-168. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.017>
- Li, J., G. Liu., C. Li., Y. Deng., M. A. Tadda., L. Lan., S. Zhu dan D. Liu. 2018. Effect of Different Solid Carbon Sources on Water Quality, Biofloc Quality and gut Microbiota of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Larvae. Aquaculture, 495: 919-931. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano, Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization, Aquaculture 324–325 (2012) 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano. 2012. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization, Aquaculture 324–325: 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Manrique, W. G., M. A. P. Figueiredo, I. Charlie-Silva, M. A. A. Belo and C. C. Dib. 2019. Spleen melanomacrophage centers response of Nile tilapia during *Aeromonas hydrophila* and *Mycobacterium marinum* infections. Journal Pre-proof, 95: 514-518. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.071>
- Martins, G. B., F. Tarouco., C. E. Rosa dan R. B. Robaldo. 2017. The Utilization of Sodium Bicarbonate, Calcium Carbonate or Hydroxide in Biofloc System: Water Quality, Growth Performance and Oxidative Stress of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 468: 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Mena, K. D., C.P. 2009. Gerba, Risk Assesment of *Pseudomonas aeruginosa* in water, Rev. Environ. Contam. Toxicol. 201:71–115. doi: 10.1007/978-1-4419-0032-6_3.
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegraate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infecton by *Aromonas hydrophila*. Microbial Pathogenesis, 145: 104202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Morinaga, Y., K. Yanagihara., F. L. L. Eugenin., R. B. Hidalgo., S. Kohno., M. J. F. salvat. 2013. Identification Error of *Aeromonas aquariorum*: A Causative Agent of Septicemia. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 76: 106-109. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.01.019>
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias* sp.). Jurnal Biologi. 5(4): 1-7.
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgela., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Deection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. *Heliyon*, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naby, A. S. A. E., A. El. R. A. Khattaby., F. Samir., S. M. M. Awad., M. A. Tawwab. 2019. Stimulatory Effect of Dietary Butyrate on Growth, Immune Response and Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Animal Feed Science and Technology, 254: 114212. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114212>
- Naiel, M. A. E., N. E. M. Ismael., S. S. Negm., M. S. Ayyat dan A. A.Al-Sagheer. 2020. Rosemary leafpowder-supplemented diet enhances performance, antioxidant properties, immune status, and resistance against bacterial diseases in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Preproof: 1-39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735370>
- Nayak, S. K. 2020. Current prospects and challenges in fish vaccine development in India with special reference to *Aeromonas hydrophila* vaccine. Fish

- and Shellfish Immunology, 100: 283-299.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.064>
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., Heinemann, A., Frey, J., Wieland, B., Jores, J., 2017. Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. J. Fish Dis. 40, 1925–1928. <https://doi.org/10.1111/jfd.12650>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarojpong. 2016. Epr3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Species and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. Aquaculture, 464: 399-409.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Piasamboon, P., K. Thanaksiri., A. Muakami., K. Fukuda., R. Takano., S. Jantrakajorn dan J. Wongtavatchai. 2020. Streptococcis in Freshwater Farmed Seabass Lates calcarifer and its Virulence in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 523: 735189.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735189>
- Pinho, S. M., D. Molinari., G. L. De Mello., K. M. Fitzsimmons dan M. G. C. Emerenciano. 2017. Effluent from a Biofloc Technology (BFT) Tilapia Culture on the Aquaponics Production of Different Lettuce Varieties. Ecological Engineering, 103: 146-153. DOI: [10.1016/j.ecoleng.2017.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009)
- Rahman, M. A. A., S. El-Din. Hassan., El. S. Mansour., S. M. M. Awad dan W. Monier. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-Based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia *Aeromonas hydrophila*. <https://doi.org/10.5897/IJFA2016.0570>
- Sabrina, P., B. M. del Rosario., A. D. Fernando., A. G. Ines dan Lucchesi. 2016. Biosorption of aluminum through the use of non-viable biomass of *Pseudomonas putida*. Journal of Biotechnology, 236: 57-63.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.026>
- Sarjito, O. K. Radjasa, S. Hutabarat, and S. B. Prayitno. 2007. Causitive Agent Vibriosis dari Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Bermulut Merah: 1. Patogenitas pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Indonesian Journal of Marine Sciences, 12(3): 173-180.
<https://doi.org/10.14710/ik.ijms.12.3.173-180>
- Sarjito, Radjasa, O.K., Haditomo, A.H.C., Prayitno , S.B., 2014. Insidensi Bakteri Genus Vibrio Pada Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Dari Sentral Produksi Provinsi Jawa Tengah. Proseding Semnaskan FPIK Tahun 2013.
- Sarjito., A. H. C. Haditomo., R. W. Ariyati., A. Sabdaningsih., Desrina and S. B. Prayitno. 2019. Screening of potential isolate candidates probiotic against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1217: 1-7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012147>
- Shameenaa, S. S., K. K. Sanath., K. Saura dan K. G. Rathore. 2020. Virulence characteristics of *Aeromonas veronii* biovars isolated from infected freshwater goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 518: 1-10.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734819>
- Sheehan, B., Labrie L., Lee Y. S., Wong F. S., Chan J., Komar C., Wendover N., Grisez L. 2009. Streptococcosis in Tilapia - Vaccination Effective Against Main Strep Species. Global Aquaculture Advocate, 5:72-74.
https://www.researchgate.net/publication/220038542_Streptococcosis_in_Tilapia_Oreochromis_niloticus_A_Review
- Sirimanapong, W., K. D. Thompson., A. P. Shinn., A. Adams dan B. Withyachumnamkul. 2018. Streptococcus agalactiae infection kills red tilapia with chronic *Francisella noatunensis* infection more rapidly than the fish without the infection. Fish and Shellfish Immunology. 81:221-232.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.022>
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Induk ikan Nila Hitam. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. SNI 6139 – 2009.
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta. SNI 7550 – 2009.
- Song, L., W. Wang., G. Conrads., A. Rheinberg., H. Sztajer., M. Reck., I. W. Dobler dan A. P. Zeng. 2013. Genetic Variability of Mutans Streptococci Revealed by Wide Whole Genome Sequencing. Research Article BMC

- Genomics, 14: 1-24. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-14-811>.
- Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi., R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. Microbial Pathogenesis, 129: 271-276.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Thomas, J., S. Thanigaivel., S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenecity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116: 372-377.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Thomas. J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, 2013. Studies on ulcerative disease caused by Aeromonas caviae-like bacterium in Indian catfish, Clarias batrachus (Linn). 2013. 146–150. Aquaculture 376-379.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>
- Valdes, E. G dan J. Lalucaf. 2016. *Pseudomonas*: Molecular Phylogeny and Current Taxonomy, *Pseudomonas*. Journal Molecular and Applied Biology Springer: 1-23. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-31198-2_1
- Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena leucocephala pod seed protein as an alternate to animal protein in fish feed and evaluation of its role to fight against infection caused by Vibrio harveyi and *Pseudomonas aeruginosa*. Fish and Shellfish Immunology, 1-29. doi: 10.1016/j.fsi.2018.03.01
- Wang, F., X. R. Xian., W. L. Guo., Z. H. Zhong., S. F. Wang., Y. Cai., Y. Sun., X. F. Chen., Y. Q. Wang and Y. C. Zhou. 2019. Baicalin Attenuates *Streptococcus agalactiae* Virulence and Protects Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquacultue 516, 734645. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734645>
- Yadav, S.K., P. Dash., P. K. Sahoo., L. C. Garg dan Dixit, A., 2018. Modulation of immune response and protective efficacy of recombinant outer-membrane protein F (rOmpF) of *Aeromonas hydrophila* in Labeo rohita. Fish Shellfish Immunology, 80, 563–572. doi: 10.1016/j.fsi.2018.06.041
- Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnaswy., S. Mahgoub., AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. Aquaculture 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>
- Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkafli, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. Pertanika J. Trop. Agri. Sci. 37, 389–410.
https://www.researchgate.net/publication/269991589_Control_and_Prevention_of_Streptococcosis_in_Cultured_Tilapia_in_Malaysia_A_Review
- Zhang, D., Gao, Y., Li, Q., Ke, X., Liu, Z., Lu, M., and Shi, C. 2020. An effective live attenuated vaccine against *Streptococcus agalactiae* infection in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & shellfish immunology. 98: 853-859. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.044>
- Zhang, L., C. Wang., H. Liu dan P. Fu. 2019. The Important Role of Phagocytosis and Interleukins for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to Defense Infection *Aeromonas hydrophila* Based on Transcriptome Analysis. Fish and Shellfish Immunology, 92: 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.041>
- Zhang, Z., Z. Gong., S. Liu dan J. Ni. 2016. Extracellular Polymeric Substances Extraction Induced The Increased Purification Performance of Percoll Density Gradient Centrifugation for Bacteria. 287: 529-536. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.084>



Undip Mail on Google
@live.undip.ac.id

Sarjito Sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

Fw: Hasil Review Artikel

2 messages

Sarjito Sarjito < sarjito_msdp@yahoo.com>
To: Sarjito Sarjito < sarjito@live.undip.ac.id >

Sat, Dec 31, 2022 at 4:37 AM

----- Forwarded Message -----

From: Saintek jurnal < saintekjurnal@gmail.com >
To: Sarjito Sarjito < sarjito_msdp@yahoo.com >
Sent: Wednesday, October 14, 2020 at 04:31:29 PM
GMT+7 **Subject:** Hasil Review Artikel

Yth. Dr. Ir. Sarjito, MAppSc.
di tempat

Berikut ini kami kirimkan hasil review artikel Bapak, mohon berkenan untuk memperbaiki sesuai hasil review dan mengirimkanya kembali ke Redaksi Saintek. Terima kasih

--

Saintek Perikanan: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang

Telp/hp: (024) 76480685/ 085536649493

2 attachments

37430-113884-1-RV.docx
318K

37430-113841-1-RV.docx
685K

Available online at Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)
Website: <http://ejurnal.undip.ac.id/index.php/saintek>
Saintek Perikanan

**SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*O. niloticus*)
DI KABUPATEN MAGELANG**

*Bacterial Selective associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Mortality in Magelang Regency*

Commented [TE1]: Mortality (kurang m)

Sarjito¹, Monica Ananda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Herjuno Condro Haditomo¹, Desrina¹,
Slamet Budi Prayitno¹

¹Departemen Akuakultur,Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

Email: sarjito@live.undip.ac.id

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila tersebut. Metode studi kasus konfirmatory dengan purposive sampling diaplikasikan. Duapuluh tiga ikan nila sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, kecamatan Muntilan dan desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari keduapuluh tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51 , SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang putus, bercak merah pada tubuh, *exophthalmia* dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci : *Aeromonas, Pseudomonas, Streptococcus, Kematian, Ikan Nila*

ABSTRACT

Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, exophthalmia and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%), *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%), *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.

Keyword : *Aeromonas, Pseudomonas, Streptococcus, Mortality, Tilapia*,

*)Corresponding author

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96%. Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, penerapan teknologi intensif yang kurang tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito *et al.*, 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2018^o). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020. Penurunan produksi ini berkaitan dengan adanya serangan penyakit penyakit, terutama akibat serangan bakteri pathogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha *et al.*, 2016; Agustina *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa *et al.*, 2010; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Amanu *et al.*, 2015). Agensi penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran *et al.*, 2019; Monir *et al.*, 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa *et al.*, 2010; Zahran *et al.*, 2019), *Streptococcus* sp. (Ashari *et al.*, 2014; Zahran *et al.*, 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique *et al.*, 2019; Zahran *et al.*, 2019; Elbahnaawy dan Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj *et al.* 2014; Doan *et al.*, 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi *et al.*, 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura *et al.*, 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesain cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Lautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

MATERI DAN METODE

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm seyang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji

berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pemberian Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Strach Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus konfirmatory dan *purposive sampling* digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahpran *et al* (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode *streak* pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al.*, 2013^b; Anupama *et al* 2015; Amal *et al* 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutriem Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51 , SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur bakteri keenam isolat terseleksi dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan spectrophotometer. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksi keenam isolat terseleksi ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intraperitoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah diinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke 7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat,

exophthalmia dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat.



Keterangan : ↓ : Exophthalmia ↓ : sirip geripis ↑ : insang pucat ←↓ : luka ↗ : bercak merah

Gambar 1. Gejala Klinis Ikan nila Setelah Infeksi selektif Bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila
 a. diskolorasi, exophthalmia, sirip geripis
 b. diskolorasi, bercak merah dan luka
 c. exophthalmia, insang pucat , sirip geripis dan produksi lender berlebihan

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat bakteri, tersaji pada Tabel 1 .

Tabel.1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang

© Copyright by Saintek Perikanan (Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology), ISSN : 1858 - 4748

Commented [TE2]: Ini anak panah mestinya dimana ya?

25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang
35	SN77	Irregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka
36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Circular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Dari keempat puluh empat isolat (Tabel 2), kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta asal isolat diperoleh 6 isolat

(Tabel 3) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi

Tabel 3 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	media	organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Irregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

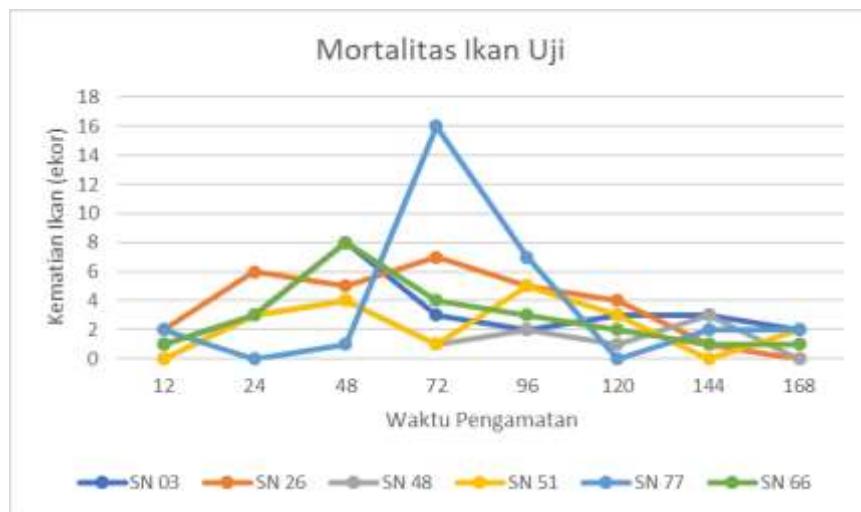
Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lendir berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menunjukkan bahwa pola kematian ikan uji yang

dinjeksi keenam isolat tersebut memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitech 2. Compact

Hasil karakterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3



Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch.

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri yang berdasarkan dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang

No	Karakteristik	SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)	-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrrolidonyl Arylamidase (PyrA)	-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabitol (IARL)	-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)	-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)	+	-	+	-	-	+
7.	H2S Production (H2S)	-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)	+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp)	-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)	+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)	+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)	-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)	+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)	+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dMNE)	+	-	+	+	-	-
17.	Beta-Xylosidase (BXYL)	-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BAlap)	-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)	+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)	+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)	-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)	+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)	+	-	-	-	-	-

© Copyright by Saintek Perikanan (Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology), ISSN : 1858 - 4748

24.	D-Sorbitol	(dSOR)	+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose	(SAC)	+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose	(dTAG)	-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose	(dTRE)	+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium)	(CIT)	-	-	+	+	+	-
29.	Malonate	(MNT)	-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate	(5KG)	-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalization	(ILATk)	-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase	(AGLU)	-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalization	(SUCT)	+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase	(NAGA)	-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase	(AGAL)	-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase	(PHOS)	-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase	(GlyA)	-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase	(ODC)	-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase	(LDC)	-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine	(IHISa)	-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate	(CMT)	+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucoronidase	(BGUR)	-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance	(O129R)	-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase	(GGAA)	+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation	(IMLTa)	-	-	+	+	+	-
46.	Ellman	(ELLM)	+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate	(ILATA)	-	-	-	+	-	-
	Hasil identifikasi (%) kesesuaian dengan spesies)	Aeromonas hydrophila (97%)	Streptococcus agalactiae (98%)	Aeromonas sobria (96%)	Pseudomonas putida (96%)	Pseudomonas aeruginosa (96%)	Aeromonas caviae (98%)	

Tabel 3 memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri tersebut yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%); *Pseudomonas putida* (96%); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) dan *Aeromonas caviae* (98%).

Kualitas Air

Hasil peneraan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama

pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Uji Postulat Koch								Kisaran Optimum	
	Keki	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77	
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	≥ 3 ^{a)}
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25 - 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009

b) SNI7550:2009

PEMBAHASAN

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercak merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah

dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al* (2020) dan Doan *et al* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan

gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasomboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksi pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morfologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteria (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 – 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat "true pathogen". Lima isolat (SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katogeri pathogenesitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 – 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katogeri pathogenesitas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang dinjeksi. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldissera *et al.*, 2018; Hardi, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *A. hydrophilla*, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat true pathogen. *A. hydrophilla* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldissera *et al.*, 2018). *A. hydrophilla* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 – 7 hari (Naby *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2019; Kuebutorney *et al.*, 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa *et al.*, 2015; Abolghai *et al.* 2016), fish Hypophthalmichthys molitrix (Dar *et al.*, 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. caviae* juga dilaporkan menyerang ikan |

Menurut Thomas *et al.* (2013); Anandan *et al.* (2017), *A. caviae* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di kabupaten magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh (Peepim *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2019; Mzula *et al.*, 2019), *Rhamdia quelen* (Baldissera, et al, 2018). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian hingga mencapai 90% .

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococcosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee *et al.* 2020; Wang *et al* 2019 Zamri *et al.*, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan ... oleh Sirimanapong *et al.* (2018); Doan *et al.* (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* Sp merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez *et al.*, 2012; Hardi, 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa* menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Egypt (Eissa *et al.* (2010), ikan rainbow Trout (Altinok *et al.*, 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksoptalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok *et al.*, 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf *et al.*, 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf *et al.*, 2016) dan 75% (Thomas *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteria yang berasosiasi dengan penyakit bakteri yang terselkci pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

Commented [TE4]: Ikan apa? Kalimat belum lengkap

Commented [TE5]: ? gunakan kata baku

Commented [TE6]: Ge la? Atau gejala ya?

Commented [TE7]: Kata asing ditulis italic

Commented [TE3]: Mengapa ditulis italic? Apakah ada alasan khusus?

KESIMPULAN

Berdasarkan kemiripan gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji yaitu sirip geripis, mata menonjol, produksi lendir berlebih, insang pucat., diskolorasi/warna tubuh pudar, produksi lendir berlebih dan pendarahan di tubuh dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam seltif bakteria assosiasi mengakibatkan ikan sakit dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat [True pathogen]. Berdasarkan hasil karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berassosiasi dengan kematian ikan niña adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77).

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang uji pathogenitas dan identifikasi secara molekuler

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian didanai dari dana Kerjasama Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dengan Dinas Peternakan Kabupaten No. Terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringan DIY, Ketua Laboratorium Deartemen Akuakultur UNDP, . Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memerlukan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. moçambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifi, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2008. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supranianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. DOI: [10.1111/are.12180](https://doi.org/10.1111/are.12180)
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181- Mediated Carbepenem Resistnce in *Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. DOI: [10.1016/j.jgar.2017.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006)
- Anupama, K. P.K. Deeksha., A. Deeksha., I. Karunasagar., I. Karunasagar dan B. Maiti. 2019. Comparative Performance of TCBS and TSA for the Enumeration of *trh+* *Vibrio parahaemolyticus* by Direct Colony Hybridization. Journal of Microbiological Methods, 157: 37-42. DOI: [10.1016/j.mimet.2018.12.020](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.020)
- Ashraf, A., E.I. Tawab, A. Ahmed, A.A. Maarouf, NeSNa, M.G. Ahmed, Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* species isolatd from fresh water fish by PCR. Journal Benha a Veteriner, 30(1): 199-207. DOI: [10.21608/bvmj.2016.31364](https://doi.org/10.21608/bvmj.2016.31364)
- Awan, F., Y. Dong., J. Liu., N. Wang., Mushtaq, M.H., Lu, C., Liu, Y., 2018. Comparative genome analysis provides deep insights into *Aeromonas hydrophila* taxonomy and virulence-related factors. BMC Genomics 19, 712. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5100-4>
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., B.Parmeggiani., G. Leipnitz., C. M. Verdi., R. C. V., Santos, L. M. Stefan and B. Baldisserto. 2018. The Disturbance of Antioxidant/oxidant Balance with Disease Pasthophysiology. Microbial Pathogenis, 122: 53-57. DOI: [10.1016/j.micpath.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.06.011)
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S. Moreira, M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldisserto. 2018. Cholinergic and adenosinergic systems exert a pro-inflammatory profile in peripheral and splenic lymphocytes of *Rhamdia quelen* experimentally infected by *Aeromonas caviae*.
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., S. N. Descovi., C. M. Verdi., C. C. Zeppenfeld., L. de. L. Silva., A. L. Gindri., M. A. Cunha., R. C. V. Santos., B. Baldisserto dan A. S. da Silva. 2019. Effects of Dietary Grape Pomace Flour on The Purinergic Signaling and Inflammatory Response of Grass Carp Experimentally Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Aquaculture, 503: 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.015>
- Bijanti, R., M. G. A. Yuliani., W. Tyasningsih. 2013. Antigenes Protein of *Aeromonas hydrophila* caused Ulcer Disease on Goldfish (*Cyprinus carpio*) using Indirect ELISA Technique. Asosiasi Farmakologi dan Farmasi Veteriner Indonesia: 1-6. DOI: [10.1577/H08-042_1](https://doi.org/10.1577/H08-042_1)
- Dar, G. H., S. A. Dard., A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and characterization of potentially pathogenic *Aeromonas* *sobria* isolated from fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae). Microbial Pathogenesis, 91: 136-140. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Dawood, M. A. O., M. Zommara., N. M. Eweedah dan A. I. Helal. 2018. The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid

Commented [TE8]: italic

Commented [TE9]: Nomor dilengkapi

Commented [TE10]: Mungkin yang dimaksud Cangkringan ya?

- bacteria. Aquaculture, 515: 734571. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734571>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringarm., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Urea and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.07.077](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077)
- Dong, H. T. S. Senapin., B. LaFrentz dan C. Rodkhum. 2016. Virulence Assay of Rhizoid and non Rhizoid Morphotypes of Flavobacterium columnare in Red Tilapia, *Oreochromis niloticus* sp., fry. Journal of Fish Disease, 39: 649-655. Doi:[10.1111/jfd.12385](https://doi.org/10.1111/jfd.12385)
- Eugenin, F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. Journal Application Microbiology, 121:883-891. doi:[10.1111/jam.13210](https://doi.org/10.1111/jam.13210).
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture, 229(4): 79-87.
- Giri, S. S., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim., K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 514: 734489. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Kacaniova, M., A. Kluga., A. Kantor., J. Medo., J. Ziarovska., C. Puchaski dan M. Terentjeva. 2019. Comparison of MALDI-TOF MS Biotyper and 16S rDNA Sequencing for the Identification of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbial Pathogenesis 132: 313-318. DOI: [10.1016/J.Micpath.2019.04.024](https://doi.org/10.1016/J.Micpath.2019.04.024)
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Gens in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet Microbio,172: 586-594. doi: [10.1016/j.vetmic.2014.04.013](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.013)
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2014. Data Produksi Triwulan 3 Tahun 2014. Oline. Diakses tanggal: 02 Juni 2020. 1 hlm
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa,Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiya., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Lean, J. E., M.W. Pabsta., C. D. Miller., C. O. Dimkpa dan A. J. Anderson. 2013. Effect of complexing ligands on the surface adsorption, internalization, and bioreponse of copper and cadmium in a soil bacterium, *Pseudomonas putida*. Chemosphere, 91(3): 374-382.
- Li, J., G. Liu., C. Li., Y. Deng., M. A. Tadda., L. Lan.,S. Zhu dan D. Liu. 2018. Effect of Different Solid Carbon Sources on Water Quality, Biofloc Quality and gut Microbiota of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Larvae. Aquaculture, 495: 919-931. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization, Aquaculture 324–325 (2012) 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Mena, K. D., C.P. 2009. Gerba, Risk Assesment of *Pseudomonas aeruginosa* in water, Rev. Environ. Contam. Toxicol. 201:71–115. doi: 10.1007/978-1-4419-0032-6_3.
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infection by *Aeromonas hydrophila*. Microbial Pathogenesis, 145: 104202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Morinaga, Y., K. Yanagihara., F. L. L. Eugenin., R. B. Hidalgo., S. Kohno., M. J. F. salvat. 2013. Identification Error of *Aeromonas aquariorum*: A Causative Agent of Septicemia. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 76: 106-109. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.01.019>
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgela., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Deection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. Heliyon, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naiel, M. A. E., N. E. M. Ismael., S. S. Negm., M. S. Ayyat dan A. A.Al-Sagheer. 2020. Rosemary leafpowder-supplemented diet enhances performance, antioxidant properties, immune status, and resistance against bacterial diseases in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Preproof: 1-39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735370>
- Nayak, S. K. 2020. Current prospects and challenges in fish vaccine development in India with special reference to *Aeromonas hydrophila* vaccine. Fish and Shellfish Immunology, 100: 283-299. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.064>
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., Heinemann, A., Frey, J., Wieland, B., Jores, J., 2017. Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. J. Fish Dis. 40, 1925–1928. <https://doi.org/10.1111/jfd.12650>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarojpong. 2016. Epf3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Spesies and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. Aquaculture, 464: 399-409. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Pinho, S. M., D. Molinari., G. L. De Mello., K. M. Fitzsimmons dan M. G. C. Emerenciano. 2017. Effluent from a

- Biofloc Technology (BFT) Tilapia Culture on the Aquaponics Production of Different Lettuce Varieties. Ecological Engineering, 103: 146-153. DOI: [10.1016/j.ecoleng.2017.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009)
- Rahman, M. A. A., S. El-Din. Hassan., El. S. Mansour., S. M. M. Awad dan W. Monier. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-Based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia *Aeromonas hydrophila*. <https://doi.org/10.5897/IJFA2016.0570>
- Sabrina, P., B. M. del Rosario., A. D. Fernando., A. G. Ines dan Lucchesi. 2016. Biosorption of aluminum through the use of non-viable biomass of *Pseudomonas putida*. Journal of Biotechnology, 236: 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.026>
- Shameenaa, S. S., K. K. Sanath., K. Saura dan K. G. Rathore. 2020. Virulence characteristics of *Aeromonas veronii* biovars isolated from infected freshwater goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 518: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734819>
- Sheehan, B., Labrie L., Lee Y. S., Wong F. S., Chan J., Komar C., Wendover N., Grisez L. 2009. Streptococcosis in Tilapia - Vaccination Effective Against Main Strep Species. Global Aquaculture Advocate 5:72-74. https://www.researchgate.net/publication/220038542_Streptococcosis_in_Tilapia_Oreochromis_niloticus_A_Review
- Song, L., W. Wang., G. Conrads., A. Rheinberg., H. Sztajer., M. Reck., I. W. Dobler dan A. P. Zeng. 2013. Genetic Variability of Mutans Streptococci Revealed by Wide Whole Genome Sequencing. Research Article BMC Genomics, 14: 1-24. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-14-811>.
- Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi., R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. Microbial Pathogenesis, 129: 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Thomas, J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, Studies on ulcerative disease caused by *Aeromonas caviae*-like bacterium in Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn) (2013) 146–150. Aquaculture 376-379. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>
- Thomas, J., S. Thanigaivel., S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116: 372-377. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Valdes, E. G dan J. Lalucat. 2016. *Pseudomonas*: Molecular Phylogeny and Current Taxonomy, *Pseudomonas*. Journal Molecular and Applied Biology Springer: 1-23. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-31198-2_1
- Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena leucocephala pod seed protein as an alternate to animal protein in fish feed and evaluation of its role to fight against infection caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. Fish and Shellfish Immunology, 1-29. doi: 10.1016/j.fsi.2018.03.01
- Yadav, S.K., P. Dash., P. K. Sahoo., L. C. Garg dan Dixit, A., 2018. Modulation of immune response and protective efficacy of recombinant outer-membrane protein F (rOmpF) of *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita*. Fish Shellfish Immunology, 80, 563–572. doi: 10.1016/j.fsi.2018.06.041
- Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnsawy., S. Mahgoub, AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. Aquaculture 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>
- Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkafi, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. Pertanika J. Trop. Agri. Sci. 37, 389-410. https://www.researchgate.net/publication/269991589_Control_and_Prevention_of_Streptococcosis_in_Cultured_Tilapia_in_Malaysia_A_Review
- Zhang, L., C. Wang., H. Liu dan P. Fu. 2019. The Important Role of Phagocytosis and Interleukins for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to Defense Infection *Aeromonas hydrophila* Based on Transcriptome Analysis. Fish and Shellfish Immunology, 92: 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.041>
- Zhang, Z., Z. Gong., S. Liu dan J. Ni. 2016. Extracellular Polymeric Substances Extraction Induced The Increased Purification Performance of Percoll Density Gradient Centrifugation for Bacteria. 287: 529-536. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.084>

1-8.

Commented [TE11]: ?

Available online at Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)
Website: <http://ejurnal.undip.ac.id/index.php/saintek>
Saintek Perikanan

**SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*O. niloticus*)
DI KABUPATEN MAGELANG**

*Bacterial Selective associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) mortality in Magelang Regency*

Sarjito¹, Monica Ananda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Herjuno Condro Haditomo¹, Desrina¹,
Slamet Budi Prayitno¹

¹Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

Email: sarjito@live.undip.ac.id

Commented [A1]: Harjuno

Commented [A2]: spasi

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila tersebut. Metode studi kasus konfirmatory dengan purposive sampling diaplikasikan. Duapuluhan tiga ikan nila sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, kecamatan Muntilan dan desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari keduapuluhan tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51 , SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang putus, bercak merah pada tubuh, exophthalmia dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci : *Aeromonas, Pseudomonas, Streptococcus, Kematian, Ikan Nila*

ABSTRACT

Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, exophthalmia and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%), *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%), *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.

Keyword : *Aeromonas, Pseudomonas, Streptococcus, Mortality, Tilapia*,

*)Corresponding author

Commented [A3]: konfirmatori

Commented [A4]: typo

Commented [A5]: Kecamatan

Commented [A6]: Desa

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96%. Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, penerapan teknologi intensif yang kurang tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito *et al.*, 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2018%). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020. Penurunan produksi ini berkaitan dengan adanya serangan penyakit penyakit, terutama akibat serangan bakteri pathogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha *et al.*, 2016; Agustina *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa *et al.*, 2010; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Amanu *et al.*, 2015). Agensi penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran *et al.*, 2019; Monir *et al.*, 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa *et al.*, 2010; Zahran *et al.*, 2019), *Streptococcus* sp. (Ashari *et al.*, 2014; Zahran *et al.*, 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique *et al.*, 2019; Zahran *et al.*, 2019; Elbahnaawy and Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj *et al.*, 2014; Doan *et al.*, 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi *et al.*, 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura *et al.*, 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesain cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Lautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

MATERI DAN METODE

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm seyang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji

berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pemberian Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30$ cm³ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Stratch Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus *konfirmatory* dan *purposive sampling* digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahpran *et al* (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode *streak* pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al.*, 2013^b; Anupama *et al* 2015; Amal *et al* 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutri Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51 , SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur bakteri keenam isolat terseleksi dilakukan dengan cara menginokulasib isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan spectrophotometer. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksi keenam isolat tersebut ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intraperitoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah diinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke 7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL

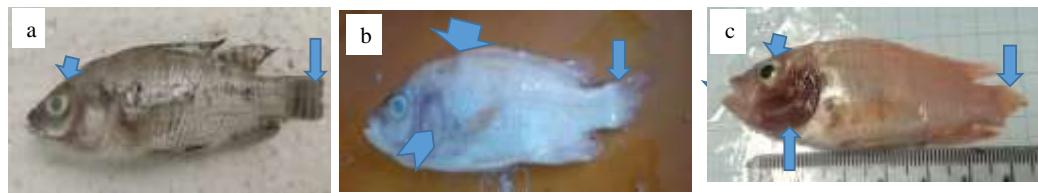
Gejala Klinis

- Commented [A25]: konfirmatori dan *purposive*
- Commented [A7]: Referensi?
- Commented [A26]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A8]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A27]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A9]: typo
- Commented [A28]: Di daftpus 2019
- Commented [A29]: di daftpus 2008
- Commented [A30]: Empatpuluhan tiga
- Commented [A10]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A11]: Referensi?
- Commented [A12]: ?
- Commented [A13]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A14]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A31]: ?
- Commented [A15]: italic
- Commented [A16]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A17]: delete
- Commented [A18]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A19]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A20]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A32]: italic
- Commented [A21]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A22]: italic
- Commented [A23]: sistem
- Commented [A33]: ke-7

- Commented [A24]: ?

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat,

exophthalmia dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat.



Keterangan : ↓ : Exophthalmia ↓ : sirip geripis ↑ : insang pucat ←↓ : luka ←↑ : bercak merah

Gambar 1. Gejala Klinis Ikan nila Setelah Infeksi selektif Bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila
 a. diskolorasi, exophthalmia, sirip geripis
 b. diskolorasi, bercak merah dan luka
 c. exophthalmia, insang pucat , sirip geripis dan produksi lender berlebihan

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat bakteri, tersaji pada Tabel 1 .

Commented [A34]: tanda ini ?

Tabel.1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang

25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang
35	SN77	Irregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka
36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Circular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Dari keempat puluh empat isolat (Tabel 2), kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta asal isolat diperoleh 6 isolat

(Tabel 3) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi

Tabel 3 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	media	organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Irregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

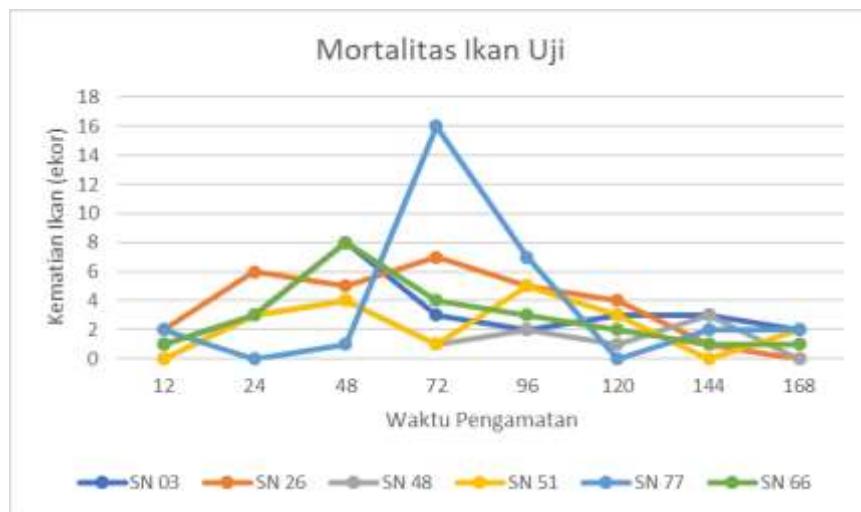
Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lendir berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menunjukkan bahwa pola kematian ikan uji yang

dinjeksi keenam isolat tersebut memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitech 2. Compact

Hasil karakterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3



Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch.

Commented [A35]: Pada sumbu x: Waktu Pengamatan (Jam ? Hari?)

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri yang berdasarkan dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang

No	Karakteristik	SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)	-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrrolidonyl Arylamidase (PyrA)	-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabitol (IARL)	-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)	-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)	+	-	+	-	-	+
7.	H2S Production (H2S)	-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)	+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp)	-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)	+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)	+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)	-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)	+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)	+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dMNE)	+	-	+	+	-	-
17.	Beta-Xylosidase (BXYL)	-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BAlap)	-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)	+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)	+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)	-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)	+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)	+	-	-	-	-	-

24.	D-Sorbitol	(dSOR)	+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose	(SAC)	+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose	(dTAG)	-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose	(dTRE)	+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium)	(CIT)	-	-	+	+	+	-
29.	Malonate	(MNT)	-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate	(5KG)	-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalization	(ILATk)	-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase	(AGLU)	-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalization	(SUCL)	+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase	(NAGA)	-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase	(AGAL)	-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase	(PHOS)	-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase	(GlyA)	-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase	(ODC)	-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase	(LDC)	-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine	(IHISa)	-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate	(CMT)	+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucoronidase	(BGUR)	-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance	(O129R)	-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase	(GGAA)	+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation	(IMLTa)	-	-	+	+	+	-
46.	Ellman	(ELLM)	+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate	(ILATA)	-	-	-	+	-	-
	Hasil identifikasi (%) kesesuaian dengan spesies)	Aeromonas hydrophila (97%)	Streptococcus agalactiae (98%)	Aeromonas sobria (96%)	Pseudomonas putida (96%)	Pseudomonas aeruginosa (96%)	Aeromonas caviae (98%)	

Tabel 3 memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri tersebut yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus Kualitas Air*

Hasil peneraan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama

agalactiae (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96 %); *Pseudomonas aeruginosa* (96 %) dan *Aeromonas caviae* (98%).

pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Kolam								Kisaran Optimum	
	Keji	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77	
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	≥ 3 ^{a)}
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25 - 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009

b) SNI7550:2009

Commented [A36]: Tidak ada di daftpus

PEMBAHASAN

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercah merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah

dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al* (2020) dan Doan *et al* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan

gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasomboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila uji menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksi pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morphologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteria (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 – 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat "true pathogen". Lima isolat (SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katogori pathogenitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 – 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katogori pathogenetas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang dinjeksi. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi enam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldisserra *et al.*, 2018; Hardi, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *A. hydrophilla*, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat true pathogen. *A. hydrophilla* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldisserra *et al.*, 2018). *A. hydrophilla* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 – 7 hari (Naby *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2019; Kuebutorney *et al.*, 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa *et al.*, 2015; Abolghai *et al.*, 2016), fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Dar *et al.*, 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. caviae* juga dilaporkan menyerang ikan

Menurut Thomas *et al.* (2013), Anandan *et al.* (2017), *A. caviae* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di kabupaten magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh Peepim *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2019; Mzula *et al.*, 2019, *Rhamdia quelen* (Baldisserra, *et al.*, 2018). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian hingga mencapai 90% .

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococcosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee *et al.* 2020; Wang *et al.* 2019; Zamri *et al.*, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan ... oleh Sirimanapong *et al.* (2018); Doan *et al.* (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* Sp merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez *et al.*, 2012; Hardi, 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa* menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Egypt (Eissa *et al.* (2010), ikan rainbow Trout (Altinok *et al.*, 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksopalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok *et al.*, 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf *et al.*, 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf *et al.*, 2016) dan 75% (Thomas *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteria yang berasosiasi dengan penyakit bakteri yang terseleksi pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

- Commented [A37]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A54]: dan
- Commented [A38]: Di daftpus 2019 dan 2016, yang mana?
- Commented [A55]: Kabupaten Magelang
- Commented [A56]: dilaporkan pada studi-studi sebelumnya
- Commented [A39]: Di daftpus 2016
- Commented [A57]: maksudnya?
- Commented [A58]: Baldisserra *et al.*, 2018 di daftpus ada 2, yang mana? (perlu dibedakan a dan b)
- Commented [A40]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A59]: ;
- Commented [A60]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A41]: typho
- Commented [A61]: ?
- Commented [A62]: dan
- Commented [A63]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A42]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A64]: sp.
- Commented [A65]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A66]: Mesir
- Commented [A67]: Delete ganti koma
- Commented [A68]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A69]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A70]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A43]: Baldisserra *et al.*, 2018 di daftpus ada 2, yang mana? (perlu dibedakan a dan b)
- Commented [A44]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A45]: non italic
- Commented [A46]: non italic
- Commented [A47]: non italic
- Commented [A48]: non italic
- Commented [A71]: M
- Commented [A49]: Baldisserra *et al.*, 2018 di daftpus ada 2, yang mana? (perlu dibedakan a dan b)
- Commented [A50]: Tidak ada di daftpus
- Commented [A51]: Di daftpus: Fa dan Yaoma
- Commented [A52]: italic
- Commented [A53]: non italic

KESIMPULAN

Berdasarkan kemiripan gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji yaitu sirip geripis, mata menonjol, produksi lendir berlebih, insang pucat,, diskolorasi/warna tubuh pudar, produksi lendir berlebih dan pendarahan di tubuh dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam seltif bakteria assosiasi mengakibatkan ikan sakit dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat True pathogen. Berdasarkan hasil karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berassosiasi dengan kematian ikan niña adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77).

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang uji pathogenitas dan identifikasi secara molekuler

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini sebagian didanai dari dana Kerjasama Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dengan Dinas Peternakan Kabupaten No.Terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringa DIY, Ketua Laboratorium Deartemen Akuakultur UNDP, Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memerlukan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. moçambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifi, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2008. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supranianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. DOI: [10.1111/are.12180](https://doi.org/10.1111/are.12180)
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nilai (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181- Mediated Carbepenem Resistnce in
- Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. DOI: [10.1016/j.jgar.2017.07.006](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006)
- Anupama, K. P.K. Deeksha., A. Deeksha., I. Karunasagar., I. Karunasagar dan B. Maiti. 2019. Comparative Performance of TCBS and TSA for the Enumeration of *trh+* *Vibrio parahaemolyticus* by Direct Colony Hybridization. Journal of Microbiological Methods, 157: 37-42. DOI: [10.1016/j.mimet.2018.12.020](https://doi.org/10.1016/j.mimet.2018.12.020)
- Ashraf, A., E.I. Tawab, A. Ahmed, A.A. Maarouf, NeSNa, M.G. Ahmed, Detection of Virulence factors of Pseudomonas species isolatd from fresh water fish by PCR. Journal Benha a Veteriner, 30(1): 199-207. DOI: [10.21608/bvmj.2016.31364](https://doi.org/10.21608/bvmj.2016.31364)
- Awan, F., Y. Dong., J. Liu., N. Wang., Mushtaq, M.H., Lu, C., Liu, Y., 2018. Comparative genome analysis provides deep insights into *Aeromonas hydrophila* taxonomy and virulence-related factors. BMC Genomics 19, 712. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5100-4>
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., B.Parmeggiani., G. Leipnitz., C. M. Verdi., R. C. V., Santos., L. M. Stefaní dan B. Baldisserto. 2018. The Disturbance of Antioxidant/oxidant Balance with Disease Pasthophysiology. Microbial Pathogenesis, 122: 53-57. DOI: [10.1016/j.micpath.2018.06.011](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.06.011).
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S. Moreira, M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldisserto. 2018. Cholinergic and adenosinergic systems exert a pro-inflammatory profile in peripheral and splenic lymphocytes of *Rhamdia quelen* experimentally infected by *Aeromonas caviae*.
- Baldissera, M. D., C. F. Souza., S. N. Descovi., C. M. Verdi., C. C. Zeppenfeld., L. de. L. Silva., A. L. Gindri., M. A. Cunha., R. C. V. Santos., B. Baldisserto dan A. S. da Silva. 2019. Effects of Dietary Grape Pomace Flour on The Purinergic Signaling and Inflammatory Response of Grass Carp Experimentally Infected with *Pseudomonas aeruginosa*. Aquaculture, 503: 217-224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.015>
- Bijanti, R., M. G. A. Yuliani., W. Tyasningsih. 2013. Antigenity Protein of *Aeromonas hydrophila* caused Ulcer Disease on Goldfish (*Cyprinus carpio*) using Indirect ELISA Technique. Asosiasi Farmakologi dan Farmasi Veteriner Indonesia: 1-6. DOI: [10.1577/H08-042.1](https://doi.org/10.1577/H08-042.1)
- Dar, G. H., S. A. Dard., A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and characterization of potentially pathogenic *Aeromonas* *sobria* isolated from fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae). Microbial Pathogenesis, 91: 136-140. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Dawood, M. A. O., M. Zommara., N. M. Eweedah dan A. I. Helal. 2018. The evaluation of growth performance, blood health, oxidative status and immune-related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed dietary nanoselenium spheres produced by lactic acid

Commented [A76]: Di teks 2015

Commented [A77]: Tahun?

Commented [A78]: Tidak ada di teks

Commented [A72]: No berapa?

Commented [A73]: Terimakasih

Commented [A79]: 2018 a atau b? ada 2

Commented [A80]: 2018 a atau b? ada 2

Rata ki-ka

Commented [A74]: Rata ki-ka

Commented [A81]: Tidak ada Baldissera et al., 2019 di teks

Commented [A75]: Di teks 2018

Commented [A82]: Tidak ada di teks

Commented [A83]: Tidak ada di teks

- bacteria. Aquaculture, 515: 734571. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734571>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringarm., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Immunity and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. DOI: [10.1016/j.fsi.2019.07.077](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077)
- Dong, H. T. S. Senapin., B. LaFrentz dan C. Rodkhum. 2016. Virulence Assay of Rhizoid and non Rhizoid Morphotypes of Flavobacterium columnare in Red Tilapia, *Oreochromis niloticus* sp., fry. Journal of Fish Disease, 39: 649-655. Doi:[10.1111/jfd.12385](https://doi.org/10.1111/jfd.12385)
- Eugenin, F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. Journal Application Microbiology, 121:883-891. doi: [10.1111/jam.13210](https://doi.org/10.1111/jam.13210).
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture, 229(4): 79-87.
- Giri, S. J., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim., K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 514: 734489. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Kacaniova, M., A. Kluga., A. Kantor., J. Medo., J. Ziarovska., C. Puchaski dan M. Terentjeva. 2019. Comparison of MALDI-TOF MS Biotype and 16S rDNA Sequencing for the Identification of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbial Pathogenesis 132: 313-318. DOI: [10.1016/J.Micpath.2019.04.024](https://doi.org/10.1016/J.Micpath.2019.04.024)
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Gens in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet Microbio,172: 586-594. doi: [10.1016/j.vetmic.2014.04.013](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.013)
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2014. Data Produksi Triwulan 3 Tahun 2014. Oline. Diakses tanggal: 02 Juni 2020. 1 hlm
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa,Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiya., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. 143-153. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Lean, J. E., M.W. Pabsta., C. D. Miller., C. O. Dimkpa dan A. J. Anderson. 2013. Effect of complexing ligands on the surface adsorption, internalization, and bioreponse of copper and cadmium in a soil bacterium, *Pseudomonas putida*. Chemosphere, 91(3): 374-382.
- Li, J., G. Liu., C. Li., Y. Deng., M. A. Tadda., L. Lan.,S. Zhu dan D. Liu. 2018. Effect of Different Solid Carbon Sources on Water Quality, Biofloc Quality and gut Microbiota of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Larvae. Aquaculture, 495: 919-931. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.078>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano, Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization, Aquaculture 324–325 (2012) 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Mena, K. D., C.P. 2009. Gerba, Risk Assesment of *Pseudomonas aeruginosa* in water, Rev. Environ. Contam. Toxicol. 201:71–115. doi: [10.1007/978-1-4419-0032-6_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0032-6_3).
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infection by *Aeromonas hydrophila*. Microbial Pathogenesis, 145: 104202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Morinaga, Y., K. Yanagihara., F. L. L. Eugenin., R. B. Hidalgo., S. Kohno., M. J. F. salvat. 2013. Identification Error of *Aeromonas aquariorum*: A Causative Agent of Septicemia. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 76: 106-109. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.01.019>
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgela., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Deection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. Heliyon, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naiel, M. A. E., N. E. M. Ismael., S. S. Negm., M. S. Ayyat dan A. A.Al-Sagheer. 2020. Rosemary leafpowder-supplemented diet enhances performance, antioxidant properties, immune status, and resistance against bacterial diseases in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal Preproof: 1-39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735370>
- Nayak, S. K. 2020. Current prospects and challenges in fish vaccine development in India with special reference to *Aeromonas hydrophila* vaccine. Fish and Shellfish Immunology, 100: 283-299. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.064>
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., Heinimann, A., Frey, J., Wieland, B., Jores, J., 2017. Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. J. Fish Dis. 40, 1925–1928. <https://doi.org/10.1111/jfd.12650>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarajpong. 2016. Epf3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Spesies and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. Aquaculture, 464: 399-409. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Pinho, S. M., D. Molinari., G. L. De Mello., K. M. Fitzsimmons dan M. G. C. Emerenciano. 2017. Effluent from a

Commented [A89]: Tidak ada di teks**Commented [A90]:** Tidak ada di teks**Commented [A84]:** Di teks 2015**Commented [A91]:** Tidak ada di teks**Commented [A85]:** Di teks: Fa et al.**Commented [A92]:** Tidak ada di teks**Commented [A86]:** Tidak ada di teks**Commented [A93]:** Tidak ada di teks**Commented [A94]:** Tidak ada di teks**Commented [A87]:** Tidak ada di teks**Commented [A95]:** Tidak ada di teks**Commented [A88]:** Tidak ada di teks**Commented [A96]:** Tidak ada di teks

Biofloc Technology (BFT) Tilapia Culture on the Aquaponics Production of Different Lettuce Varieties. Ecological Engineering, 103: 146-153. doi: [10.1016/j.ecoleng.2017.03.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.03.009)

Rahman, M. A. A., S. El-Din. Hassan., El. S. Mansour., S. M. M. Awad dan W. Monier. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-Based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia *Aeromonas hydrophila*. <https://doi.org/10.5897/IJFA2016.0570>

Sabrina, P., B. M. del Rosario., A. D. Fernando., A. G. Ines dan Lucchesi. 2016. Biosorption of aluminum through the use of non-viable biomass of *Pseudomonas putida*. Journal of Biotechnology, 236: 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.026>

Shameena, S. S., K. K. Sanath., K. Saura dan K. G. Rathore. 2020. Virulence characteristics of *Aeromonas veronii* biovars isolated from infected freshwater goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 518: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734819>

Sheehan, B., Labrie L., Lee Y. S., Wong F. S., Chan J., Komar C., Wendover N., Grisez L. 2009. Streptococcosis in Tilapia - Vaccination Effective Against Main Strep Species. Global Aquaculture Advocate 5:72-74. <https://www.researchgate.net/publication/220038542> *Streptococcosis in Tilapia Oreochromis niloticus* _A Review

Song, L., W. Wang., G. Conrads., A. Rheinberg., H. Sztajer., M. Reck., I. W. Dobler dan A. P. Zeng. 2013. Genetic Variability of Mutans Streptococci Revealed by Wide Whole Genome Sequencing. Research Article BMC Genomics, 14: 1-24. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-14-811>.

Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi., R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. Microbial Pathogenesis, 129: 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>

Thomas, J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, Studies on ulcerative disease caused by *Aeromonas caviae*-like bacterium in Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn) (2013) 146–150. Aquaculture 376-379. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>

Thomas, J., S. Thanigaivel, S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116: 372-377. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>

Valdes, E. G dan J. Lalucaf. 2016. *Pseudomonas*: Molecular Phylogeny and Current Taxonomy, *Pseudomonas*. Journal Molecular and Applied Biology Springer: 1-23. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-31198-2_1

Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena leucocephala pod seed protein as an alternate to animal protein in fish feed and evaluation

of its role to fight against infection caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. Fish and Shellfish Immunology, 1-29. doi: 10.1016/j.fsi.2018.03.01

Yadav, S.K., P. Dash., P. K. Sahoo., L. C. Garg dan Dixit, A., 2018. Modulation of immune response and protective efficacy of recombinant outer-membrane protein F (rOmpF) of *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita*. Fish Shellfish Immunology, 80, 563–572. doi: 10.1016/j.fsi.2018.06.041

Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnsawy., S. Mahgoub, AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. Aquaculture 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>

Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkafi, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. Pertanika J. Trop. Agri. Sci. 37, 389-410. <https://www.researchgate.net/publication/269911589> *Control and Prevention of Streptococcosis in Cultured Tilapia in Malaysia A Review*

Zhang, L., C. Wang., H. Liu dan P. Fu. 2019. The Important Role of Phagocytosis and Interleukins for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) to Defense Infection *Aeromonas hydrophila* Based on Transcriptome Analysis. Fish and Shellfish Immunology, 92: 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.05.041>

Zhang, Z., Z. Gong., S. Liu dan J. Ni. 2016. Extracellular Polymeric Substances Extraction Induced The Increased Purification Performance of Percoll Density Gradient Centrifugation for Bacteria. 287: 529-536. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.11.084>

Commented [A97]: Tidak ada di teks

Commented [A104]: Tidak ada di teks

Commented [A98]: Tidak ada di teks

Commented [A99]: Tidak ada di teks

Commented [A100]: Tidak ada di teks

Commented [A105]: Di teks 2020 (?)

Commented [A101]: Tidak ada di teks

Commented [A106]: Di teks 2020 (?)

Commented [A107]: ?

Commented [A102]: Tanpa tanda kurung

Commented [A103]: Tidak ada di teks



Sarjito Sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

[IJFST] [ID-37430] Revised Version Acknowledgement

1 message

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science <saintekjurnal@gmail.com>

Mon, Nov, 30, 2020 at 12:14 PM

Reply-To: sarjito - sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

To: sarjito - sarjito <sarjito@live.undip.ac.id>

sarjito - sarjito:

Thank you for submitting the revision of manuscript, "SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (O. niloticus) DI KABUPATEN MAGELANG" to Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL: <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/saintek/author/submission/37430>

Username: sarjito

Editor: SAINTEK PERIKANAN Saintek

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science

Saintek Perikanan : Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology

Available online at Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology (IJFST)
Website: <http://ejurnal.undip.ac.id/index.php/saintek>
Saintek Perikanan

**SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*O. niloticus*)
DI KABUPATEN MAGELANG**

*Bacterial Selective associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Mortality in Magelang Regency*

Sarjito¹, Monica Ananda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Harjuno Condro Haditomo¹, Desrina¹,
Slamet Budi Prayitno¹

¹Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

Email: sarjito@live.undip.ac.id

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila tersebut. Metode studi kasus konfirmatori dengan purposive sampling diaplikasikan. Duapuluhan tiga ikan nila sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari keduapuluhan tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, *exophthalmia* dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci : *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, Kematian, Ikan Nila

ABSTRACT

Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out

Sarjito, M. Ananda, Sulisyaningrum, A.H.C. Haditomo, Desrina, S.B.Prayitno

pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, exophthalmia and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.

Keyword : *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, Mortality, Tilapia ,

*)Corresponding author

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96% (Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021). Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, apabila penerapan teknologi intensif yang tidak tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito et al., 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi et al., 2017; Hardi et al., 2018). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020 (Dinas Peternakan dan Perikanan, 2020). Penurunan produksi ini dapat berkaitan dengan adanya serangan penyakit penyakit, terutama akibat serangan bakteri pathogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha et al., 2016, Agustina et al., 2018).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa et al., 2010; Kayansamruaj et al., 2014; Amanu et al., 2015). Agensi penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran et al., 2019; Monir et al., 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa et al., 2010; Zahran et al., 2019), *Streptococcus* sp. (Ashari et al., 2014; Zahran et al., 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique et al., 2019; Zahran et al., 2019; Elbahnaisy dan Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj et al. 2014; Doan et al., 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi et al., 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura et al., 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan Kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk

ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesain cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

MATERI DAN METODE

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm yang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pembenihan Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30$ cm³ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Strach Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus konfirmatori dan purposive sampling digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahran et al (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode streak pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito et al., 2007; Sarjito et al, 2014^b; Anupama et al 2015; Amal et al 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51 , SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan

Commented [A13]: Referensi?
Commented [A14R13]: done
Commented [A15]: Tidak ada di daftpus
Commented [A16R15]: done
Commented [A17]: typo
Commented [A18]: Tidak ada di daftpus
Commented [A19R18]: done
Commented [A44]: ?
Commented [A20]: Referensi?
Commented [A21R20]: done
Commented [A22]: ?
Commented [A23R22]: done
Commented [A24]: Tidak ada di daftpus
Commented [A25R24]: done
Commented [A26]: Tidak ada di daftpus
Commented [A27R26]: done
Commented [A28]: done
Commented [A29]: Tidak ada di daftpus
Commented [A30R29]: done
Commented [A45]: konfirmatori dan purposive
Commented [A46R45]: done
Commented [A31]:
Commented [A32R31]: done
Commented [A33]: Tidak ada di daftpus
Commented [A34R33]: done
Commented [A35]: Tidak ada di daftpus
Commented [A36R35]: done
Commented [A47]: Tidak ada di daftpus
Commented [A48R47]: done
Commented [A37]: Tidak ada di daftpus
Commented [A38R37]: done
Commented [A49]: Tidak ada di daftpus
Commented [A50R49]: done
Commented [A39]: Tidak ada di daftpus
Commented [A40R39]: done
Commented [A41]: italic
Commented [A42R41]: done
Commented [A51]: Di daftpus 2019
Commented [A52R51]: done
Commented [A53]: di daftppus 2008
Commented [A54R53]: done
Commented [A55]: Empatpuluhan tiga
Commented [A43]: system

karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur keenam isolat bakteri tersebut dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan *spectrophotometer*. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksikan keenam isolat tersebut ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intraperitoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah dinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke-7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi

bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

Commented [A56]: ?
done

Commented [A57]: italic
done

HASIL

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat, exophthalmia dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat (Gambar 1).

Commented [A58]: ke-7
done



Keterangan : ↴ : Exophthalmia ↴ : sirip geripis ↑ : insang pucat ↘ : luka ↗ : bercak merah

Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Uji yang Diinfeksi dengan Selektif Bakteri yang Berasosiasi dengan kematian ikan nila

- diskolorisasi, exophthalmia, sirip geripis
- diskolorisasi, bercak merah dan luka
- exophthalmia, insang pucat, sirip geripis dan produksi lendir berlebihan

Commented [A59]: tanda ini ?
Commented [A60R59]: done

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat bakteri, tersaji pada Tabel 1 .

Tabel.1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Cirrcular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Cirrcular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Cirrcular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circrcular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang
25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang
35	SN77	Irregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka

36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Crcular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Circrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Dari ke empatpuluhan empat isolat (Tabel 2) , kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta asal isolat diperoleh 6 isolat

(Tabel 3) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi

Tabel 3 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	media	organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Iregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

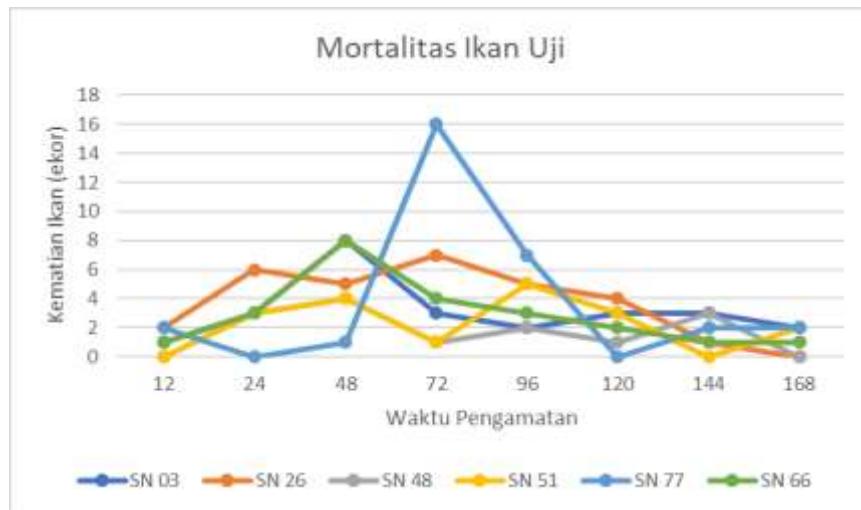
Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lendir berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menunjukkan bahwa pola kematian ikan uji yang

dinjeksi keenam isolat terseleksi memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitech 2. Compact

Hasil karakterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3



I

Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch.

Commented [A61]: Pada sumbu x: Waktu Pengamatan (Jam ? Hari?)

Commented [A62R61]: done

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri yang berdasarkan dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang

No	Karakteristik	SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)	-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrrolidonyl Arylamidase (PyrA)	-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabinol (IARL)	-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)	-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)	+	-	+	-	-	+
7.	H2S Production (H2S)	-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)	+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp)	-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)	+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)	+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)	-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)	+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)	+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dMNE)	+	-	+	+	-	-

17.	Beta-Xylosidase (BXYL)	-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BAlap)	-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)	+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)	+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)	-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)	+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)	+	-	-	-	-	-
24.	D-Sorbitol (dSOR)	+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose (SAC)	+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose (dTAG)	-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose (dTRE)	+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium) (CIT)	-	-	+	+	+	-
29.	Malonate (MNT)	-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate (5KG)	-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalization (ILATk)	-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase (AGLU)	-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalization (SUCT)	+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase (NAGA)	-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase (AGAL)	-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase (PHOS)	-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase (GlyA)	-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase (ODC)	-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase (LDC)	-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine (IHISa)	-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate (CMT)	+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucoronidase (BGUR)	-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance (O129R)	-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase (GGAA)	+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation (IMLTa)	-	-	+	+	+	-
46.	Ellman (ELLM)	+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate (ILATA)	-	-	-	+	-	-
Hasil identifikasi (%) kesesuaian dengan spesies)		<i>Aeromonas hydrophila</i> (97%)	<i>Streptococcus agalactiae</i> (98%)	<i>Aeromonas sobria</i> (96%)	<i>Pseudomonas putida</i> (96%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (96%)	<i>Aeromonas caviae</i> (98%)

Tabel 3 memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri terseleksi yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus*

agalactiae (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96 %); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) dan *Aeromonas caviae* (98%).

Kualitas Air

Hasil peneraan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama

pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Kolam		Uji Postulat Koch						Kisaran Optimum	
	Keji	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77	
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	$\geq 3^{\text{a})}$
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25- 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009

b) SNI7550:2009

Commented [A63]: Tidak ada di daftpus
Done

PEMBAHASAN

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercak merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al.* (2020) dan Doan *et al.* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasamboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila uji menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksikan pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morphologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).]

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteria (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 – 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat “true pathogen”. Lima isolat

(SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katogeri pathogenesitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 – 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katogori pathogenesitas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang dinjeksikan. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi enam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldissera *et al.*, 2018; Hardi *et al.*, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah A.

Commented [A68]: typho
Commented [A69R68]: done

Commented [A64]: Tidak ada di daftpus
done

Commented [A65]: Di daftpus 2019 dan 2016, yang mana? 2020

Commented [A70]: Tidak ada di daftpus
done

Commented [A66]: Di daftpus 2016
2015 done

Commented [A67]: Tidak ada di daftpus
done

Commented [A71]: Baldissera *et al.*, 2018 di daftpus ada 2, yang mana? (perlu dibedakan a dan b)
done

Commented [A72]: Tidak ada di daftpus

Commented [A73]: non italic

Commented [A74R73]: done

hydropilla, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat true pathogen. *A. hydropilla* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldissera et al., 2018). *A. hydropilla* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 – 7 hari (Naby et al., 2019; Han et al., 2020; Kuebutorne et al., 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa dan Yaoma, 2015; Abolghai et al. 2016), fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Dar et al., 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. cavie* juga menyerang ikan

Menurut Thomas et al. (2013) dan Anandan et al. (2017), *A. caviae* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh Peepim et al (2016); Souza et al (2019) dan Mzula et al (2019). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian mencapai 90%.

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococciosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee et al 2020; Wang et al 2019; Zamri et al, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di

Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan nila oleh Sirimanapong et al.(2018) dan Doan et al. (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez et al., 2012; Hardi et al., 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa* menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Mesir (Eissa et al. (2010)), ikan rainbow trout (Altinok et al., 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksoptalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok et al., 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen oportunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf et al., 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf et al., 2016) dan 75% (Thomas et al., 2014; Verma et al., 2018; Giri et al., 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari Magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteria yang berassosiasi dengan penyakit bakteri yang terseleksi pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam seltif bakteria assosiasi mengakibatkan ikan sakit dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat True pathogen. Berdasarkan hasil

Commented [A75]: non it
Commented [A76R75]: done
Commented [A77]: non italic
Commented [A78R77]: done
Commented [A79]: non italic
Commented [A80R79]: done
Commented [A97]: ? done
Commented [A98R97]: done
Commented [A99]: dan done
Commented [A100R99]:
Commented [A101]: Tidak ada di daftpus
Commented [A81]: Baldissera et al., 2018 di daftpus ada 2, yang mana? (perlu dibedakan a dan b) done
Commented [A82R81]: don
Commented [A102]: sp. done
Commented [A83]: Tidak ada di daftpus
Commented [A84R83]: done
Commented [A85]: Di daftpus: Fa dan Yaoma
Commented [A86R85]: done
Commented [A103]: Tidak ada di daftpus
Commented [A104R103]: done
Commented [A87]: italic
Commented [A105]: Delete ganti koma
Commented [A106R105]: done
Commented [A107]: Tidak ada di daftpus
Commented [A108R107]: Done
Commented [A109]: Tidak ada di daftpus
Commented [A110R109]: done
Commented [A88]: non italic
Commented [A89]: dan
Commented [A90R89]: done
Commented [A111]: Tidak ada di daftpus
Commented [A91]: Kabupaten Magelang
Commented [A92R91]: done
Commented [A93]: dilaporkan pada studi-studi
Commented [A94R93]:
Commented [A95]: ;
Commented [A96]: Tidak ada di daftpus

karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77).

SARAN

Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang uji pathogenitas dan identifikasi secara molekuler.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringan, Daerah Istimewa Yogyakarta, Ketua Laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dan Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memberikan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>
- Agustina, S. S., Y. Mutalib dan A. A. Bakri. 2018. Uji Daya Antiparasit Konsentrasi Ekstrak *Piper betle* L. Terhadap Parasit *Trichodina* sp. Yang Menginfeksi Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Seminar Nasional Kelautan XIII FPIK Universitas Hang Tuah. Tahun 2018.
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozaambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Altinok, I., E. Capkin dan S. Kayis. 2008. Development of Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detections of Five Bacterial Fish Pathogens. Journal of Veterinary Microbiology, 131: 332-338. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.04.014>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifli, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2018. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supranianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.12180>
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. Doi: <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181-Mediated Carbepenem Resistnce in *Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006>
- Anupama, M. K. A. Kumar and J. N. L. Latha. 2015. Isolation and Characterization of Strontium Resistant Mutant of *Neurospora crassa*. Asian Journal of Biochemistry, 10(4): 156-164. Doi: <https://doi.org/10.3923/ajb.2015.156.164>
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa Penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidaya pada Jaring Tancap di Danau Tondano. Budidaya Perairan, (3): 24-30. Doi: <https://doi.org/10.35800/bdp.2.3.2014.5700>
- Ashraf, A. A. E. T., A. A. A. Maarouf, Nesma, and M. G. Ahmed. 2016. Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* species isolatd from fresh water fish by PCR. Benha Veterinary Medical Journal, 30(1): 199-207. Doi: <https://doi.org/10.21608/BVMJ.2016.31364>
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021. Kapupaten Magelang Dalam Angka. Tahun 2021.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang. Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S.

Commented [A114]: Di teks 2018

Commented [A115R114]: done

Commented [A112]: Rata ki-ka

Commented [A113R112]: done

Commented [A116]: Tahun?

Commented [A117R116]: done

- Moreira., M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldissertto. 2018. Cholinergic and adenosinergic systems exert a pro-inflammatory profile in peripheral and splenic lymphocytes of *Rhamdia quelen* experimentally infected by *Aeromonas caviae*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.049>
- Brock, T. D. and Madigan, M.T. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed. Prentice hall, New Jersey.
- Dar, G. H., S. A. Dard, A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and characterization of potentially pathogenic *Aeromonas sobria* isolated from fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae). Microbial Pathogenesis, 91: 136-140. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringsarm., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Immunity and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077>
- Dong, H. T., V. V. Nguyen, H. D. Le, P. Sangsuriya, S. Jitrakorn, V. Saksmerprome, S. Senapin and C. Rodkhum. 2015. Naturally concurrent infections of bacterial and viral pathogens in disease outbreaks in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. Aquaculture, 448: 427-435. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.027>
- Eissa, M. N E., E. N. A. El-Ghiet, A. A. Shaheen and A. Abbass. 2010. Characterization of *Pseudomonas* Species Isolated from Tilapia "*Oreochromis niloticus*" in Qaroun and Wadi-El-Rayyan Lakes, Egypt. Global Veterinaria, 5(2): 116-121. Doi: <https://doi.org/10.13140/2.1.5002.4961>
- Elbahnaowsy, S. and E. E. Gehad. 2020. Differential gene expression and immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged intraperitoneally with *Photobacterium damsela* and *Aeromonas hydrophila* demonstrating immunosuppression. Aquaculture 526, 735364. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735364>
- Eugenin, F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. Journal Application Microbiology, 121:883–891. Doi: <https://doi.org/10.1111/jam.13210>
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), blue tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture. 229(4): 79-87. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00357-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00357-0)
- Giri, S. S., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim., K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 514: 734489. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Han, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, J., Luo, Y. & Zhong, H. 2020. Ghrelin modulates the immune response and increases resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in hybrid tilapia. Fish & shellfish immunology. 98: 100-108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.006>
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo dan A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. Nusantara Bioscience. 9(2): 220-228.
- DOI** <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090219>
- Hardi, E.H., R. A. Nugroho, I. W. Kusuma, W. Suwinarti, A. Sudaryono, dan R. Rostika. 2019. Borneo herbal plant extracts as a natural medication for prophylaxis and treatment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [version 2; 2019].

Commented [A118]: 2018 a atau b? ada 2

Rata ki-ka

Commented [A119R118]: done

- peer review: 2 approved, 1 approved with reservations]. F1000 Research. 7:1847. 1-18. Doi: <https://doi.org/10.12688/f1000research.16902.2>
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini and M. Mawardi., 2018. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batrachus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas. 19(2): 480-488. Doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190215>
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Gens in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet Microbio,172: 586-594. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.013>
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa,Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiya., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. 143-153. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Kuebutornye, F. K. A., Z. Wang., Y. Lu., E. D. Abarike., M. E. Sakyi., Y. Li., C. X. Xie dan V. Hlordzi. 2020. Effects of Three Host Asociated Bacillus Species on Mucosal Immunity and Gut Health of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* and Its Resistance Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Fish and Shellfish Immunology, 97: 83-95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046>
- Lee, P. T., C. M. Wen., F. H. Nan., H. Y. Yeh dan M. C. Lee. 2020. Immunostimulatory Effects of Sarcodina suiae Water Extracts on Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Its Resistance Against *Streptococcus agalactiae*. Fish and Shellfish Immunology, 103: 159-168. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.017>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano. 2012. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera *Tenacibaculum*, *Vibrio*, *Photobacterium* and *Pseudomonas* by reverse line blot hybridization. Aquaculture 324-325: 33-38. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Manrique, W. G., M. A. P. Figueiredo, I. Charlie-Silva, M. A. A. Belo and C. C. Dib. 2019. Spleen melanomacrophage centers response of Nile tilapia during *Aeromonas hydrophila* and *Mycobacterium marinum* infections. Journal Pre-proof, 95: 514-518. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.071>
- Martins, G. B., F. Tarouco., C. E. Rosa dan R. B. Robaldo. 2017. The Utilization of Sodium Bicarbonate, Calcium Carbonate or Hydroxide in Biofloc System: Water Quality, Growth Performance and Oxidative Stress of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 468: 10-17. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegranate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infecton by *Aromonas hydrophila*. Microbial Pathogenesis, 145: 104202. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit Motile *Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias sp.*). Jurnal Biologi. 5(4): 1-7.
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgela., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Dection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. Heliyon, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naby, A. S. A. E., A. El. R. A. Khattaby., F. Samir., S. M. M. Awad., M. A. Tawwab. 2019. Stimulatory Effect of Dietary Butyrate on Growth, Immune Response and Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Animal

- Feed Science and Technology, 254: 114212. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114212>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarojpong. 2016. Epr3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Species and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. Aquaculture, 464: 399-409. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Piasamboon, P., K. Thanasaksiri., A. Muakami., K. Fukuda., R. Takano., S. Jantrakajorn dan J. Wongtavatchai. 2020. Streptococcis in Freshwater Farmed Seabass Lates calcarifer and its Virulence in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 523: 735189. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735189>
- Pincus, S. H. 1978. Production of Eosinophil-rich Guinea Pig Peritoneal Exudates. Blood, 52(1): 127-134. DOI:[10.1182/BLOOD.V52.1.127.BLOODJOURNAL521_127](https://doi.org/10.1182/BLOOD.V52.1.127.BLOODJOURNAL521_127)
- Sarjito. 2010. Aplikasi Biomolekuler untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosis pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sarjito, O. K. Radjasa, S. Hutabarat, and S. B. Prayitno. 2007. Causitive Agent Vibriosis dari Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptes altivelis*) Bermulut Merah: 1. Patogenitas pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Indonesian Journal of Marine Sciences, 12(3): 173-180. Doi: <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.12.3.173-180>
- Sarjito, Radjasa, O.K., Haditomo, A.H.C., Prayitno , S.B., 2014. Insidensi Bakteri Genus Vibrio Pada Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Dari Sentral Produksi Provinsi Jawa Tengah. Proseding Seminaskan FPIK Tahun 2013.
- Sarjito., A. H. C. Haditomo., R. W. Ariyati., A. Sabdaningsih., Desrina and S. B. Prayitno. 2019. Screening of potential isolate candidates probiotic against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1217: 1-7. Doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012147>
- Sirimanapong, W., K. D. Thompson., A. P. Shinn., A. Adams dan B. Withyachumnamkul. 2018. *Streptococcus agalactiae* infection kills red tilapia with chronic *Francisella noatunensis* infection more rapidly than the fish without the infection. Fish and Shellfish Immunology, 81:221-232. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.022>
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Induk ikan Nila Hitam. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. SNI 6139 – 2009.
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta. SNI 7550 – 2009.
- Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi, R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. Microbial Pathogenesis, 129: 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Thomas, J., S. Thanigaivel, S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenicity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116: 372-377. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Thomas. J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, 2013. Studies on ulcerative disease caused by *Aeromonas caviae*-like bacterium in Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn). 2013. 146–150. Aquaculture 376-379. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>
- Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena leucocephala pod seed protein as an alternate to animal protein in fish feed and evaluation of its role to fight against infection caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. Fish and

Commented [A120]: Tanpa tanda kurung

Commented [A121R120]: done

SELEKTIF BAKTERI YANG BERASOSIASI DENGAN KEMATIAN IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DI KABUPATEN MAGELANG

Bacterial Selective Associated with Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Mortality in Magelang Regency

Sarjito¹, Monica Nanda¹, Sulisyaningrum², Alfabetian Harjuno Condro Haditomo³, Desrina¹,
Slamet Budi Prayitno¹

¹Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Dinas Peternakan dan Perikanan Kabupaten Magelang

³Division of Marine Life Science, Graduate School of Fisheries Science, Hokkaido University

Email: sarjito@live.undip.ac.id

Diserahkan tanggal 27 September 2020, Diterima tanggal 20 Desember 2020

ABSTRAK

Kematian ikan nila yang terjadi karena wabah penyakit di Kabupaten Magelang mencapai kisaran 40 - 75 % pada bulan Juni – September 2019, mengakibatkan kerugian ekonomi bagi pembudidaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis, dan bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan tersebut. Metode studi kasus konfirmatori dengan *purposive sampling* diaplikasikan. Duapuluhan tiga ikan sakit panjang $8,87 \pm 0,61$ cm diperoleh dari kolam pembesaran di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang, sebagai sampel. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan GSP. Hasil isolasi dari keduapuluhan tiga ikan sampel diperoleh 43 isolat bakteri murni. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna dan karakter serta asal koloni, dari 44 isolat bakteri tersebut terseleksi 6 isolat (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77) untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan API KIT Vitek 2 Compact. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji adalah pergerakan ikan pasif dan berenang di permukaan air, sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, *exophthalmia* dan produksi lendir berlebih serta organ dalam yang memucat. Uji postulat Koch diperoleh bahwa keenam isolat bakteri menyebabkan ikan uji sakit dengan mortalitas berkisar antara 46,6 - 96,6%. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa keenam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77).

Kata kunci: : aeromonas; pseudomonas; streptococcus; kematian; ikan nila

ABSTRACT

*Mortality of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) due to disease outbreaks in Magelang Regency reached 40 - 75% from June - November 2019, resulting in economic losses of farmer. This study aims were to determine the clinical symptoms and bacteria associated with tilapia mortality. A confirmatory case study method with purposive sampling was applied. Twenty-three sick tilapia fish with a length of 8.87 ± 0.61 cm were obtained from grow out pond in Keji Village, Muntilan District and Pabelan Village, Mungkid District, Magelang District, as samples. Bacteria isolation was carried out by scratch method on TSA and GSP media. The isolation from twenty-three fish samples resulted on 43 bacterial isolates. Based on morphological characters, isolation media, shape and color as well as sources and character colony of 44 isolates, they were selected into 6 isolates (SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77) for further testing, i.e: the Koch postulate test and biochemical characterization using Vitek 2 Compact. API KIT. The clinical symptoms detected in the samples and test fish were fish that moved passively and swam on the surface of the water, wrinkled fins, wounds on the body, pale gills, red spots on the body, exophthalmia and excess mucus production and pale internal organs. The Koch postulate test result showed that the six selected bacterial caused the test fish to be sick with a mortality ranging from 46.6-96.6%. The characterization of the selective bacteria associated with tilapia mortality in Magelang Regency, namely: SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 and SN77 were *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96%); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) and *Aeromonas caviae* (98%) respectively.*

Keywords: aeromonas; pseudomonas; streptococcus; mortality; tilapia

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu ikan air tawar ekonomis penting dan menjadi salah satu komoditas ikan unggulan di provinsi Jawa Tengah. Oleh karena itu, budidaya ikan ini juga sudah berkembang di hampir seluruh wilayah Jawa Tengah, termasuk pula di

Kabupaten Magelang. Produksi ikan nila di kabupaten Magelang mencapai kenaikan secara tajam dari 4.811,36 ton pada tahun 2016 menjadi 7.022,57 ton tahun 2019 atau mengalami peningkatan sebesar 45,96% (Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021). Peningkatan produksi ikan ini dikarenakan adanya ekstensifikasi lahan dan penerapan teknologi intensif. Akan tetapi, apabila penerapan

teknologi intensif yang tidak tepat, akan dapat berdampak pada penurunan kualitas air (Sarjito *et al.*, 2019), meningkatkan stress pada ikan yang dipelihara, sehingga organisme budidaya mudah terserang penyakit (Hardi *et al.*, 2017; Hardi *et al.*, 2018). Hal ini dibuktikan pula dengan penurunan produksi ikan ini di wilayah ini menjadi 5.601,21 ton atau sekitar 20,23 % di tahun 2020 (Dinas Peternakan dan Perikanan, 2020) . Penurunan produksi ini dapat berkaitan dengan adanya serangan penyakit penyakit, terutama akibat serangan bakteri pathogen, sehingga mengakibatkan kerugian secara ekonomi (Muslikha *et al.*, 2016, Agustina *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian telah dilakukan berkaitan dengan penyakit bakteri pada ikan nila (Eissa *et al.*, 2010; Kayansamruaj *et al.*, 2014; Amanu *et al.*, 2015). Agensi penyebab penyakit yang berasosiasi dengan penyakit bakteri pada ikan nila adalah *Aeromonas hydrophila* (Zahran *et al.*, 2019; Monir *et al.*, 2020), *Pseudomonas* sp. (Eissa *et al.*, 2010; Zahran *et al.*, 2019), , *Streptococcus* sp. (Ashari *et al.*, 2014; Zahran *et al.*, 2019), *Alteromonas shigelloides* dan *Mycobacterium* sp. (Manrique *et al.*, 2019; Zahran *et al.*, 2019; Elbahnaawy dan Gehad 2020); *S. agalactiae* (Kayansamruaj *et al.* 2014; Doan *et al.*, 2019), *P. putida* dan *P. aerogenosa* (Hardi *et al.*, 2019). Out break dari penyakit bakteri pada sistem budidaya akan dapat mengakibatkan kematian 50 - 100% pada ikan nila (Kimura *et al.*, 2017).

Adanya kasus kematian 40 -75% ikan nila secara terus menerus pada kolam pembesaran di Desa Keji dan Pabelan Kabupaten Magelang selama bulan Juni – September 2019 (Sulistyaningrum, 2021, Komunikasi Pribadi) dengan gejala klinis adanya serangan penyakit bakteri, sangat menarik untuk ditelaah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji gejala klinis dan bakteri yang berasosiasi dengan out break penyakit dan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang, Provinsi Jawa Tengah. Kepastian akan bakteri penyebab kematian ikan yang merupakan hasil penelitian ini akan dapat dijadikan dasar untuk mendesain cara pencegahan dan pengendalian penyakit bakteri pada ikan nila di wilayah ini secara lebih tepat pada masa yang akan datang Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – Desember 2019 di Laboratorium BPTPB Cangkringan, Yogyakarta, laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro dan Loka Hama Penyakit, Serang, Banten.

METODE PENELITIAN

Ikan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 23 ekor ikan nila sakit dengan ukuran panjang $8,87 \pm 0,62$ cm yang berasal dari kolam pembudidaya ikan di Desa Keji, Kecamatan Muntilan dan Desa Pabelan, Kecamatan Mungkid, Kabupaten Magelang. Sedangkan 210 ekor ikan nila uji berukuran $8,94 \pm 0,56$ cm diperoleh dari unit pembenihan Rakyat di Kabupaten Semarang.

Wadah uji yang digunakan uji postulat Koch adalah akuarium berukuran $40 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ yang dilengkapi dengan sistem aerasi. Media bakteri yang digunakan adalah TSA (*Trypticase Soy Agar*) dan GSP (*Glutamate Stratch Phenile*) sebagai media padat serta TSB (*Trypticase Soy Broth*) sebagai media cair.

Metode studi kasus konfirmatori dan *purposive sampling* digunakan pada penelitian ini. Ikan nila sampel dipilih secara selektif berdasarkan kriteria dari Zahran *et al* (2019). Isolasi dan purifikasi bakteri dilakukan dengan metode

streak pada media NA (merk) dan GSP (Brock dan Madigan, 1991; Sarjito *et al.*, 2007; Sarjito *et al*, 2014^b, Anupama *et al* 2015; Amal *et al* 2018) Empat puluh tiga isolat murni (SN 01 – SN 77) diperoleh dari ginjal, hati dan luka ikan sampel, kemudian disimpan pada media Nutrien Agar Trisalt (NA, Merck) miring. Berdasarkan karakter morfologi, media isolasi, bentuk dan warna, karakter dan asal koloni, dari 43 isolat bakteri tersebut dipilih 6 isolat terseleksi yaitu SN 03, SN 26, SN 48, SN 51 , SN 66 dan SN 77 untuk dilakukan uji selanjutnya. Uji selanjutnya yaitu uji postulat Koch dan karakterisasi secara biokimia dengan menggunakan Vitek 2 compact.

Kultur keenam isolat bakteri terseleksi dilakukan dengan cara menginokulasi isolat bakteri tersebut dari media TSA miring ke dalam media cair TSB, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex* dan diinkubasi selama 24 jam pada *water bath shaker*. Metode kultur bakteri ini mengacu pada Sarjito (2010). Selanjutnya, untuk menghitung kepadatan bakteri menggunakan *spectrophotometer*. Pada penelitian ini uji postulat Koch dilakukan dengan menginjeksikan keenam isolat terseleksi ke ikan uji sebanyak 0,1 ml dengan kepadatan 10^5 CFU/ secara *intraperitoneal*. Ikan yang digunakan sebanyak 180 ekor. Selain itu, sebagai kontrol ikan uji juga diinjeksi dengan 0,1 ml *Phosphate Buffer Saline* (PBS). Selanjutnya, ikan uji yang sudah dinjeksi dengan keenam bakteri dan PBS dilakukan pengamatan berkaitan gejala klinis sebagai indikasi ikan uji sakit dan kematian ikan uji sampai hari ke-7 paska injeksi.

Parameter yang diamati meliputi gejala klinis pada ikan sampel maupun ikan uji dan mortalitas selama berlangsungnya uji postulat Koch, dan karakterisasi keenam selektif bakteria yang berasosiasi dengan kematian ikan nila. Gejala klinis diamati secara visual meliputi tingkah laku dan morfologi ikan. Identifikasi bakteri dilakukan dengan menggunakan Vitek 2 compact. Vitek 2 compact merupakan alat sejenis kit API yang terdiri dari 47 slot reagen biokimia. Prosedur kerja identifikasi bakteri menggunakan vitek 2 compact, mengacu pada Biomerieux (2016); Pincus (1978) yang dimulai dari sterilisasi, inokulasi inkubasi, test reaksi dan analisis hasil kesesuaian isolate. Parameter kualitas air yang diukur, meliputi kadar oksigen terlarut (DO), tingkat keasaman air (pH) dan suhu dilakukan saat pengambilan ikan sampel dan pelaksanaan uji postulat Koch.

Data berupa gejala klinis, jenis bakteri, mortalitas ikan uji dan kualitas air (DO, pH dan suhu) dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Gejala Klinis

Gejala klinis yang ditunjukkan ikan nila sampel berupa perubahan tingkah laku dan morfologi ikan. Tingkah laku ikan sampel adalah tidak normal, pergerakan ikan terlihat lebih pasif dan cenderung berenang di permukaan air. Perubahan morfologi ikan sampel adalah sirip geripis, luka pada tubuh, insang pucat, bercak merah pada tubuh, insang pucat, exophthalmia dan produksi lendir pada tubuh ikan berlebih serta organ dalam yang memucat (Gambar 1).

Isolat Bakteri

Hasil isolasi yang dilakukan pada ginjal, hati, insang maupun luka dari 23 ikan nila sampel diperoleh 44 isolat

bakteri, tersaji pada Tabel 1. Dari ke empat puluh empat isolat (Tabel 2) , kemudian diseleksi berdasarkan media yang digunakan, bentuk, warna maupun karakteristik koloni serta

asal isolat diperoleh 6 isolat (Tabel 2) untuk dilakukan uji postulat Koch dan identifikasi.

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Bakteri

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	Organ
1	SN01	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
2	SN02	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
3	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
4	SN04	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
5	SN05	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
6	SN06	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
7	SN07	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
8	SN08	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
9	SN09	Irregular	Putih	Convex	Lobate	TSA	insang
10	SN15	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
11	SN16	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
12	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
13	SN27	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
14	SN28	Circrcular	Putih	convex	Entire	TSA	insang
15	SN29	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	luka
16	SN30	Cirrcular	Putih	convex	Entire	TSA	hati
17	SN31	Circrcular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
19	SN41	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
20	SN42	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	luka
21	SN43	Irregular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
22	SN44	Circular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
23	SN45	Irregular	Putih	convex	Entire	TSA	ginjal
24	SN46	Circular	Putih	convex	Lobate	TSA	insang
25	SN47	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	hati
26	SN48	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	ginjal
27	SN49	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	insang
28	SN50	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
29	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
30	SN63	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	ginjal
31	SN64	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
32	SN74	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
33	SN75	Circular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
34	SN76	Circular	Kuning	convex	Lobate	GSP	insang
35	SN77	Irregular	Kuning	convex	Entire	GSP	Luka
36	SN65	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka
37	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
38	SN67	Crcular	Kuning	Convex	Lobate	GSP	ginjal
39	SN68	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
40	SN78	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	hati
41	SN79	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	ginjal
42	SN80	Cirrcular	Kuning	convex	Entire	GSP	insang
43	SN81	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	insang
44	SN82	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	luka

Tabel 2 . Selektif Isolat Bakteri Berdasarkan Karakteristik Morphologi

No.	Kode Koloni	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian	Media	Organ
1.	SN03	Circular	Putih	Convex	Entire	TSA	insang
2.	SN26	Iregular	Putih	Convex	Entire	TSA	Hati
3.	SN48	Circular	Kuning	Convex	Entire	GSP	ginjal
4.	SN51	Irregular	Pink	Convex	Entire	GSP	Luka
5.	SN66	Circular	Pink	Convex	Entire	GSP	Hati
6.	SN77	Irregular	Kuning	Convex	Entire	GSP	Luka

Uji Postulat Koch

Hasil uji postulat Koch menunjukkan bahwa keenam isolat terseleksi (SN03, SN26, SN48, SN51, SN77 dan SN66) mengakibatkan ikan uji sakit dan mati berkisar antara 46,6 - 96,6%. Gejala klinis ikan uji yang sakit adalah mirip dengan gejala klinis pada ikan sampel. Gejala klinis tersebut adalah exophthalmia, produksi lender berlebihan, bercak merah, luka warna merah - hitam pada bekas injeksi, dan sirip geripis. Gambar 2 menunjukkan bahwa pola kematian ikan uji yang dinjeksi keenam isolat terseleksi memiliki puncak kematian ikan uji yang berbeda. Namun, isolat SN77 memperlihatkan tingkat kematian paling tinggi (99,6%) dibandingkan dengan isolat lainnya.

Uji Karakterisasi menggunakan Vitech 2. Compact

Hasil karakterisasi 6 isolat bakteri terseleksi (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) dengan menggunakan

Vitek 2 Compact disajikan pada Tabel 3 yang memperlihatkan bahwa keenam isolat bakteri terseleksi yaitu isolat SN03, SN26, SN48, SN51, SN66 dan SN77 adalah *Aeromonas hydrophila* (97%); *Streptococcus agalactiae* (98%), *Aeromonas sobria* (96%) *Pseudomonas putida* (96 %); *Pseudomonas aeruginosa* (96%) dan *Aeromonas caviae* (98%).

Kualitas Air

Hasil pengetahuan beberapa parameter Kualitas air pada kolam pembesaran ikan nila di kabupaten Magelang dan selama pelaksanaan uji postulat Koch adalah layak untuk pemeliharaan ikan nila (Tabel 4).

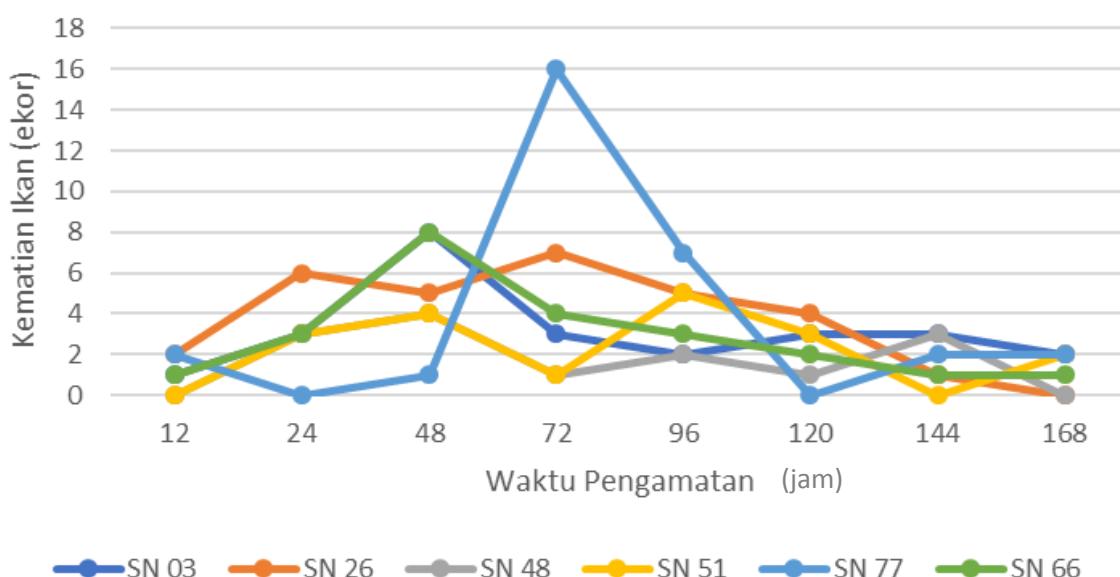


Gambar 1. Gejala Klinis Ikan Uji yang Diinfeksi dengan Selektif Bakteri yang Berasosiasi dengan Kematian Ikan Nila

Keterangan: ↓ = Exophthalmia; ↓ = Sirip Geripis; ↑ = Insang Pucat; ↘ = Luka; ↗ = Bercak Merah

a= diskolorasi, exophthalmia, sirip geripis; b= diskolorasi, bercak merah dan luka; c. =exophthalmia, insang pucat , sirip geripis dan produksi lender berlebihan

Mortalitas Ikan Uji



Gambar2. Pola kematian Ikan Uji Selama Uji Postulat Koch

Tabel 3. Hasil Identifikasi Bakteri yang Berasosiasi dengan Kematian Ikan Nila di Kabupaten Magelang

No	Karakteristik	SN 03	SN 16	SN 51	SN 48	SN 66	SN 77
1.	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE (APPA)	-	-	+	-	-	-
2.	Adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
3.	L-Pyrroludonyl Arylamidase (PyrA)	-	+	+	-	-	+
4.	L-Arabitol (IARL)	-	-	-	-	-	-
5.	D-CELLOBIOSE (dCEL)	-	-	-	-	-	+
6.	Beta-Galactosidase (BGAL)	+	-	+	-	-	+
7.	H2S Production (H2S)	-	-	-	-	-	-
8.	Beta-Acetyl-Glucosaminidase (BNAG)	+	-	+	-	-	+
9.	Glutamyl Arylamidase pNA (AGLTp)	-	+	+	-	-	-
10.	D-Glucose (dGLU)	+	+	+	+	+	+
11.	Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT)	+	+	-	+	+	-
12.	Fermentation/Glucose (OFF)	+	-	+	-	-	+
13.	Beta-Glucosidase (BGLU)	-	-	-	-	-	+
14.	D-Maltose (dMAL)	+	+	+	-	-	+
15.	D-Mannitol (dMAN)	+	-	+	-	-	+
16.	D-Mannose (dmNE)	+	-	+	+	-	-
17.	Beta-Xylosidase (BXYL)	-	+	-	-	+	-
18.	Beta-Alanine arylamidase pNA (BAlap)	-	-	-	-	-	-
19.	L-Proline Arylamidase (ProA)	+	-	+	+	+	+
20.	Lipase (LIP)	+	-	-	-	-	+
21.	Palatinose (PLE)	-	-	-	-	-	-
22.	Tyrosine Arylamidase (TyrA)	+	+	+	+	+	-
23.	Urease (URE)	+	-	-	-	-	-
24.	D-Sorbitol (dSOR)	+	+	-	-	-	+
25.	Saccharose/ucrose (SAC)	+	-	-	-	-	+
26.	D-Tagatose (dTAG)	-	+	+	-	-	-
27.	D-Trehalose (dTRE)	+	+	+	-	-	+
28.	Citrate (Sodium) (CIT)	-	-	+	+	+	-
29.	Malonate (MNT)	-	-	-	+	+	-
30.	5-Keto-D-Gluconate (5KG)	-	-	-	-	+	-
31.	L-Lactate Alkalization (ILATk)	-	+	+	+	-	+
32.	Alpha-Glucosidase (AGLU)	-	-	-	-	-	-
33.	Succinate Alkalization (SUCT)	+	+	+	+	+	+
34.	Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase (NAGA)	-	-	+	-	-	-
35.	Alpha-Galactosidase (AGAL)	-	-	-	-	-	-
36.	Phosphatase (PHOS)	-	-	-	-	-	-
37.	Glycine Arylamidase (GlyA)	-	+	+	-	-	-
38.	Ornithine Decarboxylase (ODC)	-	-	-	-	-	-
39.	Lysine Decarboxylase (LDC)	-	-	-	-	-	-
40.	L-Histidine (IHISa)	-	+	-	+	+	-
41.	Courmarate (CMT)	+	-	+	-	-	+
42.	Beta-Glucuronidase (BGUR)	-	-	-	-	-	-
43.	o/129 Resistance (O129R)	-	-	-	+	+	+
44.	Glu-GlyArg-Arylamidase (GGAA)	+	-	+	-	-	+
45.	L-Malate Assimilation (IMLTa)	-	-	+	+	+	-
46.	Ellman (ELLM)	+	+	+	-	-	+
47.	L-Lactate (ILATA)	-	-	+	-	-	-

Hasil identifikasi (%) kesesuaian dengan spesies

<i>Aeromonas hydrophila</i> (97%)	<i>Streptococcus agalactiae</i> (98%)	<i>Aeromonas sobria</i> (96%)	<i>Pseudomonas putida</i> (96%)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (96%)	<i>Aeromonas caviae</i> (98%)
-----------------------------------	---------------------------------------	-------------------------------	---------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------

Tabel 4. Nilai Beberapa Parameter Kualitas Air di Lokasi Sampling dan selama Uji Postulat Koch

Parameter	Uji Postulat Koch									Kisaran Optimum
	Kolam	Keji	Pabelan	PBS	SN03	SN26	SN48	SN51	SN66	SN77
DO (mg/L)	3,1-3,3	3,2-3,4	3,2-3,3	3,1-3,4	3,2-3,6	3,1-3,4	3,2-3,4	3,2-3,5	3,1-3,4	≥ 3 ^{a)}
Suhu (°C)	26-28	25 - 28	25- 28	25 - 28	26 - 28	26 - 28	25 - 28	26 - 28	25 - 28	25-32 ^{b)}
pH	7,1-7,6	7,1-7,8	7,2-7,6	7,2-7,7	7,2-7,8	7,3-7,6	7,0-7,8	7,4-7,7	7,3-7,9	6,5-8,5 ^{a)}

Keterangan: a) SNI6139:2009; b) SNI7550:2009

Pembahasan

Gejala klinis ikan sampel maupun ikan uji adalah sirip geripis, bercak merah pada tubuh, luka pada tubuh, insang pucat, produksi lendir berlebih, *exophthalmia* dan warna permukaan tubuh yang pudar. Gejala klinis tersebut pernah dilaporkan pada ikan nila yang terserang penyakit bakteri oleh Aksoy *et al.* (2020) dan Doan *et al.* (2019). Sedangkan, ikan juga terlihat pasif dan cenderung berenang di permukaan. Gejala klinis yang terdeteksi pada ikan nila tersebut, merupakan gejala spesifik adanya serangan penyakit bakteri. Gejala yang serupa pernah dilaporkan oleh Piasamboon *et al.* (2020) dan Zhang *et al.* (2020) dijelaskan bahwa gejala klinis tersebut berupa perubahan morfologi tubuh, *exophthalmia* dan siripnya terkelupas. Tingkah laku ikan uji setelah pasca penyuntikan bakteri ialah gerakan renang ikan nila uji menjadi pasif dan gerakan renang yang tidak terarah. Hal ini menunjukkan adanya reaksi pasca reinfeksi isolat bakteri yang diinjeksikan pada ikan nila uji. Selanjutnya, ikan nila yang terserang penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat menyebabkan adanya perubahan morphologi dan kematian (Dong *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2017).

Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam selektif bakteria (SN03, SN26, SN66, SN48, SN51 dan SN77) menyebabkan ikan uji sakit. Keenam selektif bakteri tersebut mengakibatkan hampir semua ikan uji sakit (96,6 - 100%) dan mati (40,6 – 96,6 %) ikan uji. Oleh karena itu, keenam bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan di kabupaten Magelang merupakan bakteri yang bersifat “true pathogen”. Lima isolat (SN 03, SN 26, SN77, dan SN 66) masuk dalam katogeri pathogenesitas tinggi, karena mengakibatkan kematian ikan uji antara 66,8 – 96,6 %. Hanya satu isolat (SN51) dalam katogori pathogenesitas sedang, karena isolat ini mengakibatkan ikan uji sakit dan mati sebesar 40,6 %. Hasil ini juga ditunjang dengan optimalnya kualitas air selama proses uji postulat Koch berlangsung, sehingga sakit dan matinya ikan uji bukan disebabkan oleh faktor kualitas air, tetapi disebabkan oleh infeksi bakteri yang dinjeksikan. Hasil ini membuktikan bahwa kematian ikan nila sampai dengan 75% pada kolam pembesaran di kabupaten Magelang disebabkan oleh infeksi bakteri. Hasil ini mirip dengan penelitian terdahulu oleh Wang *et al.* (2017); Thomas *et al.* (2013); Eugenin *et al.* (2016) yang melaporkan bahwa infeksi bakteri pathogen dapat mengakibatkan 100 % mortalitas pada ikan nila.

Berdasarkan hasil karakterisasi enam selektif bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang teridentifikasi sebagai *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berasosiasi dengan tiga

genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*. Ketiga genus tersebut sering dilaporkan sebagai agensia penyakit bakteri pada ikan (Baldissera *et al.*, 2018; Hardi *et al.*, 2019).

Tiga bakteri genus *Aeromonas* yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di kabupaten Magelang adalah *A. hydrophilla*, *A. sobria* dan *A. Caviae*. Ketiga bakteri tersebut bersifat *true pathogen*. *A. hydrophila* secara umum merupakan bakteri alami yang berada di perairan dan bersifat patogen oportunistik, sehingga pertumbuhannya akan meningkat secara pesat apabila kondisi lingkungan mengalami penurunan dan dapat mengakibatkan kematian ikan (Baldissera *et al.*, 2018). *A. hydrophila* pernah dilaporkan menginfeksi ikan nila dan mengakibatkan kematian dalam kurun waktu 3 – 7 hari (Naby *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2020; Kuebutornye *et al.*, 2020). *A. sobria* dilaporkan menyerang ikan nila (Fa dan Yaoma, 2015, Abolghai *et al.* 2016), fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Dar *et al.*, 2016) dengan gejala klinis antara lain: sirip geripis, dan tubuh sangat berlendir. *A. caviae* juga menyerang ikan

Menurut Thomas *et al.* (2013) dan Anandan *et al.* (2017), *A. caviae* bersifat patogen, menyebar secara cepat pada padat penebaran yang tinggi dan dapat mengakibatkan kematian benih sampai 100%. Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Oleh karena itu *A. caviae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila akibat infeksi *A. caviae* pernah pula dilaporkan oleh Peepim *et al* (2016); Souza *et al* (2019) dan Mzula *et al* (2019). *A. caviae* merupakan bakteri patogen yang dapat menginfeksi ikan sehingga menyebabkan kematian mencapai 90%.

S. agalactiae terdeteksi menjadi salah satu bakteri yang berasosiasi dengan kematian ikan nila di Kabupaten Magelang. *Streptococcus* sp. merupakan salah satu agensia penyebab *Streptococcosis* dengan gejala umum seperti: lemah, warna gelap, hilang nafsu makan, disorientasi atau hilang keseimbangan, uni/bilateral *exophthalmia* dengan kornea mata berwarna pucat, pendarahan dan luka pada bagian eksternal (Lee *et al* 2020; Wang *et al* 2019; Zamri *et al*, 2014). Gejala tersebut juga terdeteksi pada ikan sampel maupun ikan uji. Hasil ini membuktikan bahwa *S. agalactiae* merupakan salah satu agensia penyebab kematian ikan nila yang ada di Kabupaten Magelang. Kematian ikan nila secara massal sebagai akibat infeksi *S. agalactiae* pernah pula dilaporkan pada ikan nila oleh Sirimanapong *et al.*(2018) dan Doan *et al.* (2019).

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa bakteri genus *Pseudomonas* (*P. putida* dan *P. aeruginosa*) berasosiasi dengan kematian nila di kabupaten Magelang. *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri umum yang sering ditemukan di lingkungan perairan dan pathogen pada ikan (Lopez *et al.*, 2012; Hardi *et al.*, 2019). *P. putida* dan *P. aeruginosa*

menginfeksi ikan nila di danau Qaroun dan Wadi-El Rayan, Mesir (Eissa *et al.* (2010), ikan rainbow trout (Altinok *et al.*, 2008). *P. putida* merupakan pathogen terhadap ikan, dengan gejala ikan mengalami eksoptalmia, pigmentasi gelap pada kulit dan ulserasi terutama di sisi dorsal (Altinok *et al.*, 2008). Sedangkan *P. aeruginosa* merupakan patogen opurtunistik ikan air tawar dengan gejala klinis adalah pendarahan pada tubuh ikan sehingga organ di dalam tubuh ikan menjadi rusak (Ashraf *et al.*, 2016). Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa isolat *P. aeruginosa* (SN66) adalah menyebabkan ikan uji sakit (100%) dan mati (80%). Kematian ini lebih tinggi dibandingkan oleh penelitian terdahulu. *P. aeruginosa* mengakibatkan kematian 30 % dari ikan tawar (Ashraf *et al.*, 2016) dan 75% (Thomas *et al.*, 2014; Verma *et al.*, 2018; Giri *et al.*, 2020) dengan gejala mirip dengan ikan nila dari Magelang. Oleh karena itu, berdasarkan gejala klinis, hasil uji postulat diperoleh bahwa kematian ikan nila di kabupaten Magelang pada bulan Juni – September 2019 disebabkan oleh penyakit bakteri. Konsorsium bakteria yang berassosiasi dengan penyakit bakteri yang terseleksi pada penelitian ini adalah *Aeromonas hydrophila* (SN 03), *Streptococcus agalactiae* (SN 26), *Aeromonas sobria* (SN 48), *Pseudomonas putida* (SN 51), *Pseudomonas aeruginosa* (SN 66) dan *Aeromonas caviae* (SN 77). Keenam selektif bakteria bersifat true pathogen dan berassosiasi dengan tiga genus yaitu *Aeromonas*, *Streptococcus* dan *Pseudomonas*.

KESIMPULAN

Berdasarkan kemiripan gejala klinis yang terdeteksi pada ikan sampel dan ikan uji yaitu sirip geripis, mata menonjol, produksi lendir berlebih, insang pucat., diskolorisasi/warna tubuh pudar, produksi lendir berlebih dan pendarahan di tubuh dan organ dalam rusak, maka kematian ikan di kabupaten Magelang disebabkan oleh penyakit bakteri. Hasil postulat Koch menunjukkan bahwa keenam seltif bakteria assosiasi mengakibatkan ikan sakit dan mati ikan uji pada kisaran 40,6 – 99,6 %, sehingga bersifat True pathogen. Berdasarkan hasil karakterisasi disimpulkan bahwa selektif Bakteria yang berassosiasi dengan kematian ikan nila adalah *A. hydrophila* (SN03), *S. agalactiae* (SN26), *A. sobria* (SN48), *P. putida* (SN51), *P. aeruginosa* (S 66) dan *caviae* (SN 77)

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada kepala Laboratorium BPTP Cangkringan, Daerah Istimewa Yogyakarta, Ketua Laboratorium Departemen Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro dan Dinas Peternakan dan Perikanan yang telah memberikan bantuan dan fasilitas penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Abolghai, S. K., M. F. M. Salah., M. A. Aboubakar., M. Garbajb dan A. A. Moawad. 2016. Attenuated virulence of pigment-producing mutant of *Aeromonas veronii* bv. *sobria* in HeLa cells and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). International Journal of Veterinary Science and Medicine, 1(1): 43-47. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2013.05.004>

- Agustina, S. S., Y. Mutalib dan A. A. Bakri. 2018. Uji Daya Antiparasit Konsentrasi Ekstrak *Piper betle* L. Terhadap Parasit *Trichodina* sp. Yang Menginfeksi Benih Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Seminar Nasional Kelautan XIII FPIK Universitas Hang Tuah. Tahun 2018.
- Aksoy, M. Y., R. Eljack., C. Schrimsher dan B. H. Beck. 2020. Use of Dietary Frass from Black Soldier Fly Larvae, *Hermetia illucens*, in Hybrid Tilapia (Nile x Mozambique, *Oreochromis niloticus* x *O. mozaambique*) Diets Improves Growth and Resistance to Bacterial Disease. Aquaculture Reports, 17: 100373. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373>
- Altinok, I., E. Capkin dan S. Kayis. 2008. Development of Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detections of Five Bacterial Fish Pathogens. Journal of Veterinary Microbiology. 131: 332-338. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.04.014>
- Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkifli, R., Misri, S., Ramley, B., Zamri-Saad, M., 2018. The effect of water temperature on the incidence of *Streptococcus agalactiae* infection in cage-cultured tilapia. In: Supravianondo, K. (Ed.), Abstracts of the International Seminar on Management Strategies on Animal Health and Production in Anticipation of Global Warming. Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia, pp. 48. Doi: <https://doi.org/10.1111/are.12180>
- Amanu, S., T. Untari., M. H. Wibowo dan S. Artanto. 2015. Pengembangan Deteksi *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Metoda Agar Presipitasi di Yogyakarta. Jurnal Sain Veteriner, 33(2): 216-222. Doi: <https://doi.org/10.22146/jsv.17921>
- Anandan, S., R. Gopi., N. K. D. Ragupathi., D. P. M. Sethuvel., P. Gunasekaran dan K. Walia. 2017. First Report of blaxa-181-Mediated Carbepenem Resistnce in *Aeromonas caviae* in Association with *pKP3-A*: Threat for Rapid Dissemination. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 10: 310-314. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.07.006>
- Anupama, M. K. A. Kumar and J. N. L. Latha. 2015. Isolation and Characterization of Strontium Resistant Mutant of *Neurospora crassa*. Asian Journal of Biochemistry, 10(4): 156-164. Doi: <https://doi.org/10.3923/ajb.2015.156.164>
- Ashari, C., R. A. Tumbol dan M. E. F. Kolopita. 2014. Diagnosa Penyakit pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Dibudidaya pada Jaring Tancap di Danau Tondano. Budidaya Perairan, (3): 24-30. Doi: <https://doi.org/10.35800/bdp.2.3.2014.5700>
- Ashraf, A. A. E. T., A. A. A. Maarouf, Nesma, and M. G. Ahmed. 2016. Detection of Virulence factors of *Pseudomonas* Species Isolatd From Fresh Water fish by PCR. Benha Veterinary Medical Journal, 30(1): 199-207.Doi: <https://doi.org/10.21608/BVMJ.2016.31364>
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang, 2021. Kabupaten Magelang Dalam Angka. Tahun 2021.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Magelang. Baldissera, M. D., C. F. Souza., C. M. Verdi., P. H. Doleski., K. L.S.

- Moreira., M. I. U. M. DaRocha., M. L. daVeiga., B. S. Vizzotto., R. C. V. Santos dan B. Baldissertto. 2018. Cholinergic and Adenosinergic Systems Exert a Pro-Inflammatory Profile in Peripheric and Splenic Lymphocytes of *Rhamdia quelen* Experimentally Infected by *Aeromonas caviae* Doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.049>
- Brock, T. D. and Madigan, M.T. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed. Prentice hall, New Jersey.
- Dar, G. H., S. A. Dard., A. N. Kamili dan M. Z. Chisthi. 2016. Detection and Characterization of Potentially Pathogenic Aeromonas Sobria Isolated from Fish *Hypophthalmichthys molitrix* (Cypriniformes: Cyprinidae). Microbial Pathogenesis, 91: 136-140. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.10.017>
- Doan, H. V. S. H. Hoseinifar., K. Sringsarm., S. Jaturasitha., B. Yuangsoi., M. A. O. Dawood., M. A. Esteban., E. Ring dan C. Faggio. 2019. Effects of Assam Tea Extract on Growth, Skin Mucus, Serum Immunity and Disease Resistance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Against *Streptococcus agalactiae*. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.07.077>
- Dong, H. T., V. V. Nguyen, H. D. Le, P. Sangsuriya, S. Jitrakorn, V. Saksmerprome, S. Senapin and C. Rodkhum. 2015. Naturally Concurrent Infections of Bacterial and Viral Pathogens in Disease Outbreaks in Cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farms. Aquaculture, 448: 427-435. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.027>
- Eissa, M. N E., E. N. A. El-Ghiet, A. A. Shaheen and A. Abbass. 2010. Characterization of Pseudomonas Species Isolated from Tilapia "Oreochromis niloticus" in Qaroun and Wadi-El-Rayyan Lakes, Egypt. Global Veterinaria, 5(2): 116-121. Doi: <https://doi.org/10.13140/2.1.5002.4961>
- Elbahnsawy, S. and E. E. Gehad. 2020. Differential Gene Expression And Immune Response Of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*) Challenged Intraperitoneally with *Photobacterium damsela*e and *Aeromonas hydrophila* Demonstrating Immunosuppression. Aquaculture 526, 735364. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735364>
- Eugenin, F. L., R. Beaz-Hidalgo, M.J. Figueras. 2016. Evaluation of Different Conditions and Culture Media for the Recovery of *Aeromonas* spp. from Water and Shellfish samples. Journal Application Microbiology, 121:883–891. Doi: <https://doi.org/10.1111/jam.13210>
- Fa, W. Q. S dan L.L. Yaoma. 2015. Diseases resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), Blue Tilapia (*Oreochromis aureus*) and their hybrid (female Nile tilapia×male blue tilapia) to *Aeromonas sobria*. Aquaculture. 229(4): 79-87. Doi: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00357-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00357-0)
- Giri, S. S., J. W. Jun., S. Yun., H. J. Kim., S. G. Kim., s. W. Kim, K. J. Woo., S. J. Han., W. T. Oh., J. Kwon., V. Sukumaran dan S. C. Park. 2020. Effects of Dietary Heat-Killed *Pseudomonas aeruginosa* Strain VSG2 on Immune Functions, Antioxidant Efficacy and Disease Resistance in *Cyprinus carpio*. Aquaculture, 514: 734489. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734489>
- Han, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Yan, J., Xiao, J., Luo, Y. & Zhong, H. 2020. Ghrelin Modulates the Immune Response and Increases Resistance to *Aeromonas hydrophila* Infection in Hybrid Tilapia. *Fish & shellfish immunology*. 98: 100-108. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.01.006>
- Hardi, E.H., I.W. Kusuma, W. Sueinarti, G. Saptiani, Sumoharjo dan A.M. Lusiastuti. 2017. Utilization of Several Herbal Plant Extracts on Nile Tilapia in Preventing *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas* sp. Bacterial Infection. Nusantara Bioscience. 9(2): 220-228. Doi <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n090219>
- Hardi, E.H., R. A. Nugroho, I. W. Kusuma, W. Suwinarti, A. Sudaryono, dan R. Rostika. 2019. Borneo herbal plant extracts as a natural medication for prophylaxis and treatment of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [version 2; peer review: 2 approved, 1 approved with reservations]. F1000 Research. 7:1847. 1-18. Doi: <https://doi.org/10.12688/f1000research.16902.2>
- Hardi, E.H., R.A. Nugroho, G. Saptiani, R. Sabrinah, M. Agriandini and M. Mawardi., 2018. Identification of Potentially Pathogenic Bacteria from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Channel Catfish (*Clarias batracus*) Culture in Samarinda, East Kalimantan, Indonesia. Biodiversitas. 19(2): 480-488. Doi: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d190215>
- Kayansamruaj, P. P., N. Hirono dan I. Rodkhum. 2014. Increasing of Temperature Induces Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* and the Up-Regulation on Inflammatory Related Gens in Infected Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet Microbio,172: 586-594. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.04.013>
- Kimura, S. I., A. Gomyo., J. Hayakawa, Y. Akahoshi., N. Harada., T. Ugai., Y. Komiya., K. Kameda. H. Wada. Y. Ishihara., K. Kawamura. K. Sakamoto. M. Sato K. Terasako. 2017. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. Clinical characteristics and predictive factors for mortality in coryneform bacteria bloodstream infection in hematological patients. 143-153. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.11.007>
- Kuebutornye, F. K. A., Z. Wang., Y. Lu., E. D. Abarike., M. E. Sakyi., Y. Li., C. X. Xie dan V. Hlordzi. 2020. Effects of Three Host Associated Bacillus Species on Mucosal Immunity and Gut Health of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* and Its Resistance Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Fish and Shellfish Immunology, 97: 83-95. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.046>
- Lee, P. T., C. M. Wen., F. H. Nan., H. Y. Yeh dan M. C. Lee. 2020. Immunostimulatory Effects of *Sarcodina suiae* Water Extracts on Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Its Resistance Against *Streptococcus agalactiae*. Fish and Shellfish Immunology, 103: 159-168. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.017>
- López J. R, J.I. Navas, N. Thanantong, R. de la Herran, O.A.F. Sparagano. 2012. Simultaneous identification of five marine fish pathogens belonging to the genera

- Tenacibaculum, Vibrio, Photobacterium and Pseudomonas by Reverse Line Blot Hybridization, Aquaculture 324–325: 33–38. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.10.043>
- Manrique, W. G., M. A. P. Figueiredo, I. Charlie-Silva, M. A. A. Belo and C. C. Dib. 2019. Spleen Melanomacrophage Centers Response of Nile tilapia during *Aeromonas hydrophila* and *Mycobacterium marinum* infections. Journal Pre-proof, 95: 514-518. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.071>
- Martins, G. B., F. Tarouco., C. E. Rosa dan R. B. Robaldo. 2017. The Utilization of Sodium Bicarbonate, Calcium Carbonate or Hydroxide in Biofloc System: Water Quality, Growth Performance and Oxidative Stress of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 468: 10-17. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.046>
- Monir, W., M. A. A. Rahman., S. El-Din. Hassan., E. Mansour dan S. M. M. Awad. 2020. Pomegraate Peel and Moringa-based Diets Enhanced Biochemical and Immune Parameters of Nile Tilapia Against Bacterial Infecton by *Aeromonas hydrophila*. Microbial Pathogenesis, 145: 104202. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104202>
- Muslikha, S. Pujiyanto, S.N. Jannah dan H. Novita. 2016. Isolasi, Karakterisasi *Aeromonas hydrophila* dan Deteksi Gen Penyebab Penyakit Motile *Aeromonas Septicemia* (MAS) dengan 16S rRNA dan *Aerolysin* pada Ikan Lele (*Clarias sp.*). Jurnal Biologi. 5(4): 1-7.
- Mzula, A., P. N. Wambura., R. H.Mdgela., G. M. Shirima. 2019. Phenotypic and Molecular Deection of *Aeromonas* Infection in Farmed Nile Tilapia in Southern Highland and Northern Tanzania. *Heliyon*, 5: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02220>
- Naby, A. S. A. E., A. El. R. A. Khattaby., F. Samir., S. M. M. Awad., M. A. Tawwab. 2019. Stimulatory Effect of Dietary Butyrate on Growth, Immune Response and Resistance of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Against *Aeromonas hydrophila* Infection. Animal Feed Science and Technology, 254: 114212. Doi : <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114212>
- Peepim, T., H. T. Dong., S. Senapin., P. Khunrae dan T. Rattanarojpong. 2016. Epr3 is a Conserved Immunogenic Protein Among *Aeromonas* Spesies and Able to Induce Antibody Response in Nile Tilapia. Aquaculture, 464: 399-409. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.07.022>
- Piasamboon, P., K. Thanasaksiri, A. Muakami., K. Fukuda., R. Takano., S. Jantrakajorn dan J. Wongtavatchai. 2020. Streptococcis in Freshwater Farmed Seabass Lates calcarifer and its Virulence in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 523: 735189. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735189>
- Pincus, S. H. 1978. Production of Eosinophil-rich Guinea Pig Peritoneal Exudates. Blood. 52(1): 127-134. Doi:<https://doi.org/10.1182/BLOOD.V52.1.127.BLOODJOURNAL5211.27>
- Sarjito. 2010. Aplikasi Biomolekuler untuk Deteksi Agensia Penyebab Vibriosis pada Ikan Kerapu dan Potensi Bakteri Sponge Sebagai Anti Vibriosis. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Sarjito, O. K. Radjasa, S. Hutabarat, and S. B. Prayitno. 2007. Causitive Agent Vibriosis dari Ikan Kerapu Bebek (*Cromileptis altivelis*) Bermulut Merah: 1. Patogenitas pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Indonesian Journal of Marine Sciences, 12(3): 173-180. Doi: <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.12.3.173-180>
- Sarjito, Radjasa, O.K., Haditomo, A.H.C., Prayitno , S.B., 2014. Insidensi Bakteri Genus Vibrio Pada Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Dari Sentral Produksi Provinsi Jawa Tengah. Proseding Semnaskan FPIK Tahun 2013.
- Sarjito., A. H. C. Haditomo., R. W. Ariyati., A. Sabdaningsih., Desrina and S. B. Prayitno. 2019. Screening of potential isolate candidates probiotic against *Aeromonas hydrophila* from Boyolali, Indonesia. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1217: 1-7. Doi: <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1217/1/012147>
- Sirimananpong, W., K. D. Thompson., A. P. Shinn., A. Adams dan B. Withyachumnamkul. 2018. *Streptococcus agalactiae* Infection Kills Red Tilapia With Chronic *Francisella Noatunensis* Infection More Rapidly than the Fish Without The Infection. Fish and Shellfish Immunology. 81:221-232. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.07.022>
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Induk ikan Nila Hitam. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. SNI 6139 – 2009.
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2009. Produksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta. SNI 7550 – 2009.
- Souza, C. F., M. D. Baldissera., S. N. Descovi., C. C. Zeppenfeld., C. M. Verdi., R. C. V. Santos., A. S. da Silva dan B. Baldisserotto. 2019. Grape Pomace Flour Alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-Induced Hepatic Oxidative Stress in Grass carp by Improving Antioxidant Defense. Microbial Pathogenesis, 129: 271-276. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>
- Thomas, J., S. Thanigaivel., S. Vijayakumar., K. Acharya., D. Shinge., T. S. J. seelan., A. Mukherjee an N. Chandrasekaran. 2014. Pathogenecity of *Pseudomonas aeruginosa* in *Oreochromis mossambicus* and Treatment Using Lime Oil Nanoemulsion. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 116: 372-377. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.01.019>
- Thomas. J., N. Madan, K.S.N. Nambi, S. Abdul Majeed, A. Nazeer Basha, A.S. Sahul Hameed, 2013. Studies on ulcerative disease caused by *Aeromonas caviae*-like bacterium in Indian catfish, *Clarias batrachus* (Linn). 2013. 146–150. Aquaculture 376-379. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.11.015>
- Verma, V. K., K. V. Rani., S. R. Kumar dan O. Prakash. 2018. Leucaena Leucocephala Pod Seed Protein as an Alternate to Animal Protein in Fish Feed and Evaluation of its Role to Fight Against Infection

- Caused by *Vibrio harveyi* and *Pseudomonas aeruginosa*. Fish and Shellfish Immunology, 1-29. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.01>
- Wang, Y., H. Y. He., H. H. Li., W. W. Lu., T. T. Guo dan J. Kong. 2017. The Global Regulator CodY Responds to Oxidative Stress by The Regulation of Glutathione Biosynthesis in *Streptococcus thermophiles*. Journal of Dairy Science. 100(11): 8768-8775. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13007>
- Wang, F., X. R. Xian., W. L. Guo., Z. H. Zhong., S. F. Wang., Y. Cai., Y. Sun., X. F. Chen., Y. Q. Wang and Y. C. Zhou. 2019. Baicalin Attenuates *Streptococcus agalactiae* Virulence and Protects Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 516, 734645. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734645>
- Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnaawy., S. Mahgoub., AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. Aquaculture 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>
- Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkafli, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. Pertanika J. Trop. Agri. Sci. 37, 389–410.
- Zhang, D., Gao, Y., Li, Q., Ke, X., Liu, Z., Lu, M., and Shi, C. 2020. An Effective Live Attenuated Vaccine Against *Streptococcus Agalactiae* Infection in Farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & shellfish immunology. 98: 853-859. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.044>

Shellfish Immunology, 1-29. Doi:
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.01>

Wang, Y., H. Y. He., H. H. Li., W. W. Lu., T. T. Guo dan J. Kong. 2017. The Global Regulator CodY Responds to Oxidative Stress by The Regulation of Glutathione Biosynthesis in *Streptococcus thermophiles*. Journal of Dairy Science. 100(11): 8768-8775. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13007>

Wang, F., X. R. Xian., W. L. Guo., Z. H. Zhong., S. F. Wang., Y. Cai., Y. Sun., X. F. Chen., Y. Q. Wang and Y. C. Zhou. 2019. Baicalin Attenuates *Streptococcus agalactiae* Virulence and Protects Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 516, 734645. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734645>

Zahran, E., E. Risha., S. Elbahnaawy., S. Mahgoub., AA. H. A. El-Moaty. 2019. Tilapia Piscidin (TP4) Enhances Immune Response, Antioxidant Activity, Intestinal Health and Protection Against *Streptococcus iniae* Infection in Nile Tilapia. Aquaculture 513, 734451. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734451>

Zamri-Saad, M., Amal, M.N.A., Siti-Zahrah, A., Zulkafli, A.R., 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: a review. Pertanika J. Trop. Agri. Sci. 37, 389-410.

Zhang, D., Gao, Y., Li, Q., Ke, X., Liu, Z., Lu, M., and Shi, C. 2020. An effective live attenuated vaccine against *Streptococcus agalactiae* infection in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*. 98: 853-859. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.044>