

PERBANDINGAN PATOGENESITAS, *Edwardsiella tarda* PADA IKAN MAS KOKI (*Charassius auratus*) DAN IKAN CELEBES RAINBOW (*Telmatherina celebensis*)

Siti Narwiyani^{*)} dan Kurniasih^{**)}

^{*)} Balai Besar Karantina Ikan Hasanuddin, Makassar
Jl. Dakota No. 24, Makassar 90242
E-mail: stnarwiyani@gmail.com

^{**)} Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
Jl. Farmako Sekip, Jogjakarta 55281

(Naskah diterima: 21 Juni 2011; Disetujui publikasi: 13 September 2011)

ABSTRAK

Edwardsiella tarda adalah salah satu jenis bakteri yang masuk dalam daftar Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) yang harus dicegah penyebarannya. Infeksi *E. tarda* terdapat pada berbagai jenis ikan budidaya maupun pada ikan yang hidup di perairan bebas. *E. tarda* juga menginfeksi vertebrata tingkat tinggi (burung dan reptil), mamalia, dan termasuk juga manusia. Pada manusia, dikenal sebagai penyebab penyakit gastrointestinal dan ekstraintestinal. *Edwardsiella tarda* sudah tersebar di beberapa negara di antaranya adalah Jepang, Taiwan, Thailand, Amerika Serikat, Singapura, dan Malaysia. Di Indonesia, *E. tarda* ditemukan di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan. *E. tarda* dapat diidentifikasi melalui gejala klinis, identifikasi secara morfologi, fisik, dan biokimia, serta molekuler DNA. Bakteri ini menyerang mekanisme pertahanan tubuh inang, karena itu, proses proliferasi bakteri ini sangat cepat di dalam inang dan menyebabkan kematian. Tingkat patogenitas *E. tarda* dapat ditentukan berdasarkan kemampuan bakteri tersebut untuk menginfeksi kekebalan non spesifik pada ikan. Perbedaan patogenitas *E. tarda* pada berbagai ikan air tawar di Indonesia belum pernah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan patogenitas dan LC_{50} *E. tarda* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*) dan ikan Celebes rainbow (*Telmatherina celebensis*). Untuk uji LC_{50} ikan uji disuntik dengan penyuntikan intraperitoneal dengan konsentrasi bakteri 0, 10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 , dan 10^{10} cfu/mL, ikan dipelihara dalam akuarium selama 48 jam dan dihitung jumlah kematiannya setiap 12 jam. Nilai LC_{50} untuk ikan mas koki dan ikan Celebes Rainbow adalah $1,8 \times 10^5$ cfu/mL dan $2,3 \times 10^7$ cfu/mL. Uji patogenitas dilakukan dengan melakukan perendaman ikan uji dalam akuarium berukuran 30 cm x 30 cm x 50 cm dengan kepadatan 10 ekor/akuarium dan volume 20 air liter selama seminggu; dan kepadatan bakteri menggunakan nilai LC_{50} masing-masing ikan. Perubahan makroskopik patologik anatomik menunjukkan adanya lesi kemerahan pada ekor dan sirip, pembengkakan perut dan tubuh, insang pucat, lesi pada pangkal sirip dan ekor, dan pembengkakan pada hati dan ginjal pada ikan mas koki dan ikan Celebes rainbow.

KATA KUNCI: *Edwardsiella tarda*, patogenesitas, LC_{50} , *Carassius auratus*, *Telmatherina celebensis*

ABSTRACT: *Pathogenicity comparison of Edwardsiella tarda infection in goldfish (Charassius auratus) and celebes rainbow (Telmatherina celebensis). By: Siti Narwiyani and Kurniasih*

Edwardsiella tarda is one species of bacteria that is listed in the list of Fish Disease Quarantine (HPIK) that should be prevented from spreading. Infections of *E. tarda* were found in farmed fish and wild fish. *E. tarda* also infected higher vertebrates (such as birds and reptiles), mammals, and including humans. The infection in humans, known to cause gastrointestinal and extraintestinal diseases. The most susceptible species of fish to the infection by *E. tarda* were catfish and eels. *Edwardsiella tarda* was spread across several countries including Japan, Taiwan, Thailand, the United States, Singapore, and Malaysia. In Indonesia, *E. tarda* was found in Java, Sumatra, and Kalimantan. *E. tarda* could be identified through its clinical symptoms; identification by morphological, physical, and biochemical as well as DNA molecular. These bacteria attack the body's host defense mechanisms; therefore the proliferation process of bacteria within the host is extremely rapid, and caused the death. The level of pathogenicity of *E. tarda* can be determined based on the ability of the bacteria to infect non-specific immunity in fish. Differences pathogenicity of *E. tarda* in a variety of freshwater fish species in Indonesia has not been done. The purpose of this study was to compare the pathogenicity and LC_{50} of *E. tarda* in Koki carp (*Carassius auratus*) and Celebes rainbow fish (*Telmatherina celebensis*). LC_{50} values were obtained by injecting the fish intra peritoneal with bacteria and the concentration of bacteria were 0 (control), 10^2 , 10^4 , 10^6 , 10^8 , and 10^{10} cfu/mL. Fish were kept in the aquarium for 48 hours and the number of died fish were counted every 12 hours. LC_{50} values for Koki carp and Celebes rainbow were 1.8×10^5 cfu/mL and 2.3×10^7 cfu/mL, respectively. Pathogenicity test were performed by rearing the fish for a week in the 30 cm x 30 cm x 50 cm aquarium filled with 20 liters of water. The fish density was 10 ind./aquaria and the density of bacteria used LC_{50} values for each fish. Macroscopic pathological anatomy changes appeared on both fish species which are swelling of the stomach and body, pale gills, lesions at the base of the fins, and swelling of the liver and kidney.

KEYWORDS: *Edwardsiella tarda, pathogenicity, LC_{50} , Carassius auratus, Telmatherina celebensis*

PENDAHULUAN

E. tarda adalah salah satu jenis bakteri yang masuk dalam daftar Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) yang harus dicegah penyebarannya. *E. tarda* telah ditemukan pada ikan nila dari Jogja, ikan mas dari Pontianak, ikan lele dari Sumatera, dan Lumajang, serta kura-kura Brasil yang diimpor ke Indonesia. Sesuai dengan Surat Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor: KEP.03/MEN/2010 tentang Jenis Hama dan Penyakit Ikan Karantina, Media Pembawa dan Sebarannya disebutkan bahwa *Edwardsiella tarda* merupakan jenis bakteri yang termasuk salah satu Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) golongan II yang diartikan sebagai jenis penyakit yang sudah ada di wilayah Indonesia akan tetapi belum ada teknologi untuk penanggulangannya. Sehingga, apabila media pembawa dapat dibebaskan dari HPIK, komoditi

tersebut dapat dilalulintaskan atau dapat dimasukkan ke wilayah Indonesia; tetapi apabila tidak dapat dibebaskan dari penyakit tersebut maka dilakukan penolakan/re-impor ke negara asal atau pemusnahan (Anonim, 1993).

Edwardsiellosis atau *Emphisemathous Putrevactive Disease of Catfish* (EPDC) yang disebabkan oleh *E. tarda* merupakan penyakit yang sudah dikenal sebagai penyakit utama pada budidaya *catfish* di Amerika. Perkembangan *E. tarda* umumnya sangat lambat. Salah satu faktor penyebab terjadinya infeksi *E. tarda* adalah karena ikan stres, terutama akibat tingginya padat tebar menjelang panen, kondisi kualitas air yang jelek, dan tingginya kandungan bahan organik. *E. tarda* merupakan agen penyebab *Edwardsiellosis*, yang dapat menyebabkan kematian pada ikan habitat air tawar maupun air laut (Thune *et al.*, 1993).

Infeksi *E. tarda* pada berbagai jenis ikan budidaya maupun pada ikan yang hidup di perairan bebas telah dilaporkan seperti: *channel catfish, eels, mullet, chinook salmon, flounder, carp, tilapia*, dan *striped bass* (Thune *et al.*, 1993). *Edwardsiella tarda* menginfeksi vertebrata tingkat tinggi (burung dan reptil), mamalia (Rao *et al.*, 2001), termasuk juga manusia (Plumb, 1999); pada manusia dikenal sebagai penyebab penyakit gastrointestinal dan ekstraintestinal (Janda & Abbot, 1993). Spesies yang paling banyak terinfeksi oleh *E. tarda* adalah *catfish* dan *eels* (Meyer & Bullock, 1973).

Infeksi *Edwardsiellosis* dapat menyebabkan mortalitas sampai 80% pada ikan sidat (*Anguilla anguilla*) di alam. Infeksi secara intraperitoneal dari *E. tarda* sebanyak $8,0 \times 10^7$ cfu/mL terhadap 5 ekor ikan *catfish* ukuran 5–10 cm, pada suhu 27°C, dapat membunuh 4 ekor ikan dalam waktu 10 hari. Ikan yang mati menunjukkan hemoragi (perdarahan) di sekitar kepala, operkulum, dan organ dalam (Meyer & Bullock, 1973).

Edwardsiella tarda sudah tersebar di beberapa negara di antaranya adalah Eropa, Jepang, Taiwan, Thailand, Amerika Serikat, Singapura, dan Malaysia. Di Indonesia, *E. tarda* sudah pernah ditemukan di Jawa, Sumatera, dan Kalimantan. *E. tarda* dapat diidentifikasi melalui gejala klinis, isolasi dan identifikasi secara morfologi dan molekuler DNA. *Edwardsiella tarda* merupakan penyebab *septicemia* dengan luka serius pada kulit, menyerang organ dalam seperti: hati, ginjal, limpa, dan otot. Bakteri ini menyerang mekanisme pertahanan tubuh inang, karena itu proses proliferasi bakteri ini sangat cepat di dalam inang dan menyebabkan kematian (Rao *et al.*, 2001).

Perbedaan patogenitas *E. tarda* pada berbagai jenis ikan terutama ikan air tawar di Indonesia belum pernah dilaporkan secara rinci. Di Indonesia *E. tarda* telah ditemukan pada ikan nila dari Jogja, ikan mas dari Pontianak dan Pangkal Pinang Sumatera, ikan lele dari Semarang dan Lumajang, serta kura-kura Brasil yang diimpor ke Indonesia. *Edwardsiellosis* dapat ditularkan secara horizontal antara ikan sakit dan ikan sehat (Post, 1987). Patogenesis *E. tarda* yang menginfeksi berbagai ikan telah dilaporkan seperti pada ikan *Chinook Salmon* (Amandi *et al.*, 1982), ikan belut rawa liar di Asia (Lee *et al.*, 2006), pada

ikan *Anabas Terstudineus* atau ikan koi (Sahoo *et al.*, 2000), dan pada mamalia laut seperti singa laut (*Eumetopias jubata*) (Coles *et al.*, 1978).

Pengujian *E. tarda* dilakukan berdasarkan tingkat patogenitasnya, hal ini disebabkan patogenitas *E. tarda* yang terdapat pada satu spesies ikan dengan spesies yang lain berbeda, begitu pula untuk daerah sebaran yang satu dengan daerah sebaran lainnya berbeda (Frerichs & Millar, 1993). Patogenitas bakteri dapat ditunjukkan dari aktivitas hemolitik pada darah dan organ internal ikan (Zhang & Austin, 2000). Patogenitas *E. tarda* dipengaruhi oleh banyak faktor, dan kemungkinan pula penyebaran penyakit ini sudah terjadi, seperti *antiphagocyte killing* (Ainsworth & Chen, 1983), *hemolysin* (Hirono *et al.*, 1997), *serum resistance*, dan kemampuan sel *epithelial* (Janda *et al.*, 1991; Ling *et al.*, 2000). Walaupun masing-masing *virulent* dan *virulent strain* mampu menyerang sel-sel yang dikultur *invitro*, hanya *virulent strain* yang dapat masuk ke ikan dalam jumlah besar lewat mukus, insang dan gastrointestinal (Ling *et al.*, 2000) dan organ-organ internal lainnya dan dapat menyebabkan kematian. Janda *et al.* (1991) menemukan bahwa patogenitas pada *E. tarda* tidak berhubungan dengan kandungan plasma, *chemotactic motility*, *serum resistance*, dan pengaruh pada aktivitas enzim yang dipilih. Sangat sedikit yang telah diketahui tentang faktor-faktor penyebab terjadinya penyakit tersebut.

Serum dan *phagocyte-mediated killing* merupakan 2 sistem pertahanan utama pada kekebalan non spesifik di ikan (Blazer, 1991; Dalmo *et al.*, 1997 dalam Rao *et al.*, 2001). Sistem pertahanan utama ini berfungsi menahan patogen yang dapat menginfeksi ikan. Tingkat patogenitas *E. tarda* dapat ditentukan berdasarkan kemampuan bakteri tersebut untuk menginfeksi kekebalan non spesifik pada ikan. Selain itu, patogenitas bakteri juga sangat banyak bergantung pada kecocokan inang (*susceptible host*). Pada inang yang tidak cocok, walaupun bakteri tersebut patogenik untuk jenis ikan tertentu, maka tidak akan menimbulkan efek yang sama dengan inang yang cocok. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan patogenitas dan LC₅₀ *E. tarda* pada ikan mas koki (*Carassius auratus*) dan ikan *Celebes rainbow* (*Telmatherina celebensis*).

METODE PENELITIAN

Populasi dan Sampel

Isolat *E. tarda* diambil dari sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dari Jogjakarta, dan kura-kura impor dari Brazil (*Trachemys script*). Media isolasi yang digunakan adalah media darah yang diambil secara langsung dari darah kambing *Blood Agar Plate*, dan *Trypticase Soy Agar* (TSA).

Penelitian dilakukan mulai Maret 2010 sampai dengan Desember 2010. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajah Mada Jogjakarta dan Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan Hasanuddin Makassar.

Uji Lethal Concentration 50 (LC₅₀)

Uji LC₅₀ dilakukan untuk mengetahui level konsentrasi infeksi *E. tarda* pada ikan uji. Pengembalian virulensi *E. tarda* dilakukan dengan menyuntikkan bakteri ke ikan nila dan kura-kura Brazil sehat. Setelah muncul tanda-tanda infeksi, kemudian isolat murni *E. tarda* ditumbuhkan pada media BHIB 10 mL, diinkubasi selama 24 jam-48 jam pada suhu 25°C-30°C. Bakteri kemudian dipanen 1 mL lalu ditambahkan larutan *buffer saline solution* sebanyak 9 mL. Suspensi diencerkan secara bertingkat (10⁻¹, sampai dengan konsentrasi 10⁻¹²). Hasil pengenceran *E. tarda* tersebut diinfeksi ke ikan uji, masing-masing 10 ekor sebanyak 0,1 mL dengan cara penyuntikan secara intraperitoneal dengan konsentrasi bakteri 0(kontrol), 10², 10⁴, 10⁶, 10⁸, 10¹⁰ cfu/mL. Ikan yang telah diinfeksi kemudian dipelihara dalam akuarium berukuran 30 cm x 30 cm x 50 cm, volume air 20 liter. Selama pemeliharaan ikan diamati perkembangan, gejala klinis dan dihitung jumlah kematiannya setiap 12 jam. Selama pemeliharaan diberi aerasi dan kualitas air diamati. Data sintasan ikan dianalisis dengan metode *Dragsted Behrens* (Hubert, 1980 dalam Anonim, 2007).

$$m = X_1 + d \frac{50 - \% X_1}{\% X_{1+1} - \% X_1}$$

di mana:

m = Log LC₅₀

X₁ = Log dosis di bawah LC₅₀ (*Log of lower LC₅₀ dosage*)

d = Selisih log dosis di bawah LC₅₀ dan di atas LC₅₀ (*Log difference of lower LC₅₀ and upper LC₅₀ dosages*)

% X₁ = Persentase kematian kumulatif pada dosis di bawah LC₅₀ (*Percentage of cumulative mortality of lower LC₅₀ dosage*)

% X₁₊₁ = Persentase kematian kumulatif pada dosis di atas LC₅₀ (*Percentage of cumulative mortality of upper LC₅₀ dosage*)

LC₅₀ = Berada pada interval antilog (*Located at the intervals of antilog*)

Uji Patogenitas

Dari hasil uji LC₅₀, diseleksi isolat bakteri yang memiliki patogenitas tinggi. Bakteri tersebut kemudian diuji patogenitasnya terhadap dua jenis ikan yang berbeda, yaitu ikan mas koki berukuran 5-7 cm dan ikan *Celebes rainbow* berukuran 4-6 cm.

Wadah yang digunakan adalah akuarium berisi 20 liter air, dengan kepadatan 10 ekor per wadah.

Isolat murni *E. tarda* yang sudah diisolasi diinfeksi ke ikan uji yaitu ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow* dari Sulawesi masing-masing 10 ekor dengan cara perendaman selama kurang lebih 1 minggu dengan konsentrasi bakteri 1,8 x 10⁵ cfu/mL (untuk ikan mas koki) dan 2,3 x 10⁷ cfu/mL (untuk ikan *Celebes rainbow*). Selama masa perendaman atau perlakuan diamati gejala klinis, perubahan makroskopis dan mikroskopis dari ikan uji.

HASIL DAN BAHASAN

Isolasi dan Identifikasi

Isolat *E. tarda* berasal dari luka pada tubuh, hati, dan ginjal sampel ikan mas dari Pontianak dan kura-kura Brazil dari Jakarta. Dan kemudian ditanamkan pada media *Trypticase Soy Agar* (TSA). Bakteri yang tumbuh kemudian dimurnikan dan diidentifikasi dengan melihat morfologi (sifat gram, oksidase, catalase, motilitas) dan sifat-sifat kultural lainnya seperti: kemampuan fermentasi, fisika, dan biokimia. Uji karakter biokimia dan fisika dilakukan pada semua isolat termasuk isolat ATCC secara konvensional.

Hasil identifikasi biokimia dan biofisika dari sampel ikan yang diisolasi menunjukkan *Edwardsiella tarda* yang mempunyai karakteristik: gram negatif, batang pendek, non acid fast, motil, produksi H₂S, produksi gas pada fermentasi glukosa, sukrosa, laktosa positif (Tabel 1). Hal ini sesuai pendapat Plumb (1999), karakteristik utama dari *E. tarda* adalah pada *motility*, produksi indole dalam *tryptone broth*,

Tabel 1. Hasil identifikasi karakteristik 2 isolat *Edwardsiella tarda*

Table 1. The results of characteristic identification of 2 isolates of *Edwardsiella tarda*

Media Medium	Ikan mas Pontianak Common carp Pontianak	Kura-kura Brazilia Brazilian turtles
Gram test	-	-
Oxidase	+	+
Catalase	+	+
Motility	+	+
Indole	+	+
H ₂ S in TSIA	+	+
Voges-proskover	+	+
Urea hydrolysis	-	-
Lysine decarboxylase	+	+
Ornithine decarboxylase	-	-
Gelatine hydrolysis	+	+
Gas of glucose	+	+
Acid of Glucose	+	+
Lactose	+	+
Sucrose S	+	+

produksi H₂S pada agar miring TSI, produksi gas pada fermentasi glukosa, dapat mengubah nitrat menjadi nitrit, dan laktosa positif.

Uji Lethal Concentration 50 (LC₅₀)

Uji LC₅₀ dilakukan untuk mengetahui level konsentrasi infeksi *E. tarda* terhadap ikan uji. Berdasarkan hasil uji LC₅₀ dan data sintasan ikan yang dihitung dengan metode *Dragsted-Behrens*, tingkat kepadatan isolat atipikal *E. tarda* terendah yang menyebabkan jumlah kematian ikan uji yang tinggi serta waktu kematian semakin singkat adalah konsentrasi yang akan digunakan untuk uji patogenitas. Isolat atipikal *E. tarda* merupakan bakteri patogen yang sangat berbahaya bagi hewan akuatik.

Hasil perhitungan LC₅₀ *E. tarda* terhadap ikan uji dari tingkat kematian, dan rata-rata waktu kematian. Isolat *E. tarda* yang diisolasi dari ikan nila Jogjakarta diinfeksi ke ikan mas koki, isolat *E. tarda* dari kura-kura Brazil diinfeksi ke ikan *Celebes rainbow*. Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa konsentrasi yang dapat membunuh ikan *Celebes rainbow*: $2,3 \times 10^7$ cfu/mL, ikan mas koki: $2,2 \times 10^8$ cfu/mL, sehingga konsentrasi tersebut dipakai sebagai dosis infeksi pada

uji patogenesitas *E. tarda* (Tabel 2, 3, 4, 5, 6). Hasil tersebut menunjukkan bahwa tingkat kematian ikan uji berkorelasi dengan semakin meningkatnya konsentrasi bakteri yang diinfeksi.

Gejala Klinis yang Timbul

Gejala klinis ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow* yang diinfeksi dengan isolat *E. tarda* yang berbeda menunjukkan gejala klinis yang mirip pada hari keenam, yaitu menurunnya nafsu makan, reaksi terhadap rangsangan yang berkurang, cara berenang yang lamban, dan adanya lesi kemerahan pada ekor dan sirip (Tabel 7).

Gejala klinis yang terjadi pada ikan uji menunjukkan kemiripan dengan penelitian pada ikan *Anabas testudineus* yang diinfeksi dengan dosis dengan LC₅₀ secara intraperitoneal akan menunjukkan gejala klinis anoreksia, berenang lamban di dasar, perut bengkak, kulit berwarna kuning hingga kemerahan, hemoragi dan hiperemi pada ventral tubuh dan dasar sirip, sisik menjadi kasar, serta insang pucat sebelum mati (Sahoo *et al.*, 2000).

Perubahan makroskopik patologik anatomik menunjukkan adanya kebengkakan perut, tubuh, insang pucat, lesi pada pangkal

Tabel 2. Persentase mortalitas *Celebes rainbow* pada konsentrasi *E. tarda* yang berbeda
 Table 2. Mortality percentage of *Celebes rainbow* treated with different concentrations of *E. tarda*

Konsentrasi bakteri Concentration of bacteria	Ulangan Repetition	Waktu pengamatan (hari ke-) Observation time (day)						Jumlah (ekor) Amount (Ind.)	Persentase Percentage (%)
		I	II	III	IV	V	VI		
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ²	1	0	0	0	0	1	1	2	20
	2	0	0	0	0	1	1	2	20
	3	0	0	0	1	1	1	3	30
10 ⁴	1	0	1	1	2	1	1	6	60
	2	0	0	1	2	1	1	5	50
	3	0	0	1	1	1	2	5	50
10 ⁶	1	0	1	1	2	2	2	8	80
	2	0	1	3	2	2	1	9	90
	3	0	1	1	2	3	1	8	80
10 ⁸	1	0	1	3	4	2	0	10	100
	2	0	2	4	3	1	0	10	100
	3	0	2	3	4	1	0	10	100
10 ¹⁰	1	0	2	3	3	2	0	10	100
	2	0	1	4	3	2	0	10	100
	3	0	2	3	4	1	0	10	100

Tabel 3. Perhitungan uji LC₅₀ *E. tarda* terhadap *Celebes rainbow*
 Table 3. Calculation test of LC₅₀ *E. tarda* on *Celebes rainbow*

Kons. Cons.	Log kons. Log of cons.	n	r	n - r	Σr	Σ(n-r)	Total (T)	$\frac{\Sigma r \times 100\%}{T}$
10 ⁰	0	30	0	30	0	86	86	0
39 x 10 ²	3.6	30	4	26	4	60	64	6.25
39 x 10 ⁴	5.6	30	12	18	16	42	58	27.59
39 x 10 ⁶	7.6	30	18	12	34	30	64	53.13
39 x 10 ⁸	9.6	30	30	0	64	30	94	68.09
39 x 10 ¹⁰	11.6	30	30	0	94	30	124	75.81

Perhitungan uji LC₅₀ *E. tarda* terhadap *Celebes rainbow* sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Log LC}_{50} &= \left[\frac{50 - 27,59}{5,6 + 2} \right] && = 5,6 + 1,76 \\ & && = 7,36 \\ & && \text{LC}_{50} = \text{Antilog } 7,36 \\ & && = 22908676 \\ & = 5,6 + 2 \times (0,88) && \text{LC}_{50} = 2,3 \times 10^7 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

Tabel 4. Persentase mortalitas ikan mas koki pada konsentrasi *E. tarda* yang berbeda

Table 4. Mortality percentage of goldfish treated with different concentration of *E. tarda*

Konsentrasi bakteri Concentration of bacteria	Ulangan Repitition	Waktu pengamatan (hari ke-) Observation time (day)						Jumlah (ekor) Amount (Ind.)	Persentase Percentage (%)
		I	II	III	IV	V	VI		
0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ²	1	0	0	0	0	1	1	2	20
	2	0	0	0	0	1	0	1	10
	3	0	0	0	0	1	1	2	20
10 ⁴	1	0	0	1	2	1	1	5	50
	2	0	0	0	1	1	2	4	40
	3	0	0	1	1	1	1	4	40
10 ⁶	1	0	0	2	3	2	2	9	90
	2	0	1	1	2	2	2	8	80
	3	0	0	1	1	2	3	7	70
10 ⁸	1	0	1	2	3	3	1	10	100
	2	0	3	2	3	2	0	10	100
	3	0	2	3	4	2	0	10	100
10 ¹⁰	1	0	3	2	3	2	0	10	100
	2	0	1	3	3	3	0	10	100

Tabel 5. Perhitungan uji LC₅₀ *E. Tarda* terhadap ikan mas koki

Table 5. Test calculation of LC₅₀ *E. tarda* on goldfish

Kons. Cons.	Log kons. Log of cons.	n	r	n - r	Σ r	Σ (n-r)	Total (T)	$\frac{\Sigma r \times 100\%}{T}$
10 ⁰	0	30	0	30	0	99	99	0
39 x 10 ²	3.6	30	2	28	1	71	73	2.74
39 x 10 ⁴	5.6	30	8	22	6	49	59	16.95
39 x 10 ⁶	7.6	30	14	16	15	33	57	42.11
39 x 10 ⁸	9.6	30	27	3	29	30	81	62.96
39 x 10 ¹⁰	11.6	30	30	0	54	30	111	72.97

Perhitungan uji LC₅₀ *E. Tarda* terhadap ikan mas koki sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Log LC}_{50} &= \left[\frac{50 - 42,11}{7,6 + 2} \right] \\ &= \frac{7,89}{9,6} \\ &= 0,821875 \\ &= 8,36 \end{aligned}$$

$\text{LC}_{50} = \text{Antilog } 8,36$
 $\text{LC}_{50} = 229086765$
 $\text{LC}_{50} = 2,2 \times 10^8 \text{ sel/mL}$

Tabel 6. Hasil uji *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) *E. tarda* yang diinfeksi pada ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow*

Table 6. Result of *Lethal Concentration 50* (LC_{50}) *E. tarda* infected to goldfish and *Celebes rainbow*

Asal isolat <i>Origin of Isolate</i>	Asal ikan <i>Origin of fish</i>	Ikan infeksi <i>Infected fish</i>	LC_{50} (sel/mL)	Lama (hari) <i>Period (days)</i>
Nila (<i>O. niloticus</i>)	Jogjakarta	Mas Koki	2.2×10^8	6
Kura-kura (<i>Turtles</i>)	Brazil	<i>C. rainbow</i>	2.3×10^7	6

Tabel 7. Gejala klinis ikan yang diinfeksi berbagai isolat *E. tarda*

Table 7. *Clinical symptoms of fish which infected by E. tarda*

Gejala klinis <i>Clinical symptoms</i>	Mas koki <i>Goldfish</i>	<i>C. rainbow</i>
Anoreksi	+	+
Lesi kulit & pangkal sirip <i>Lesion of scale & fin</i>	+	+
Rangsangan terhadap cahaya <i>Stimulus to the light</i>	+	+
Cara berenang <i>Swimming style</i>	+	+

sirip, ginjal, dan hati bengkak pada ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow* (Gambar 1 dan 2; Tabel 8).

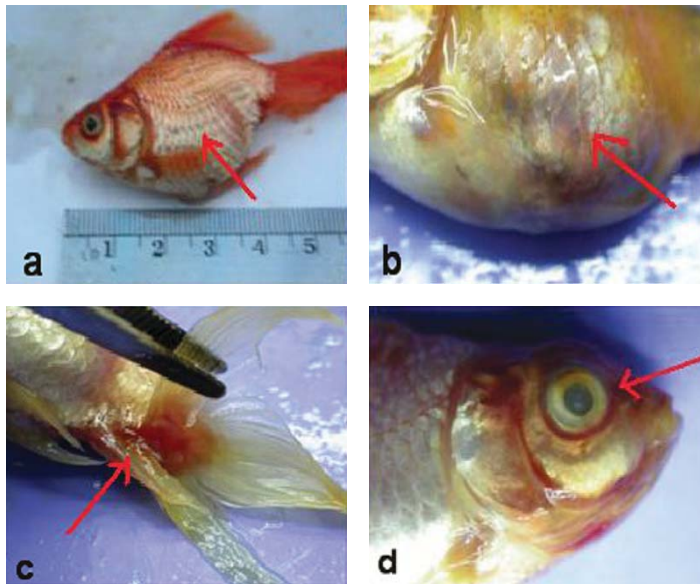
Hal ini sesuai pendapat Meyer & Bullock (1973) bahwa *E. tarda* yang diinfeksi pada *Channel Catfish* menunjukkan gejala luka-luka kecil yang berdiameter 3-5 cm. Luka tersebut terletak pada Postero-lateral. Pada permukaan kulit, luka terlihat seperti kekurangan pigmen, cembung, bengkak. (Austin & Austin, 1987). Kubota *et al.* (1981) meneliti dengan menggunakan ikan *Tilapia*, menunjukkan gejala antara lain: kehilangan pigmen, luka pada abdomen, perdarahan pada anus, dan mata keruh.

Pada penelitian ini ikan uji menunjukkan adanya gejala klinis pada hari kedua. Ikan yang diinfeksi mengalami penurunan nafsu makan, pergerakan lambat/berenang tidak aktif, dan kehilangan keseimbangan. Dari hasil isolasi dan identifikasi *E. tarda* pada target organ insang, hati, dan ginjal, didapatkan hasil positif *E. tarda* yang diinfeksi pada ikan uji. Hal ini menunjukkan bahwa *E. tarda* dengan konsentrasi tersebut bersifat patogen terhadap ikan uji.

Sistem metabolisme ikan terpengaruh, terjadi *hyperaemia* dan *septicemia* dengan membesarnya ginjal ikan. Pada infeksi yang berat berkembang menjadi *hyperaemia* yang parah akibat penyumbatan darah pada semua sirip ikan, berlanjut dengan *echymotik* atau *petechial haemorrhage* di berbagai permukaan tubuh. Anus membengkak dan hiperaemik. Peritoneum hiperemik, oedem, melanjutkan terjadi *abses*. Patogenitas *E. tarda* yang terdapat pada satu spesies ikan dengan spesies yang lain berbeda, begitu pula untuk daerah sebaran yang satu dengan daerah sebaran yang lainnya berbeda (Inggris *et al.*, 1993).

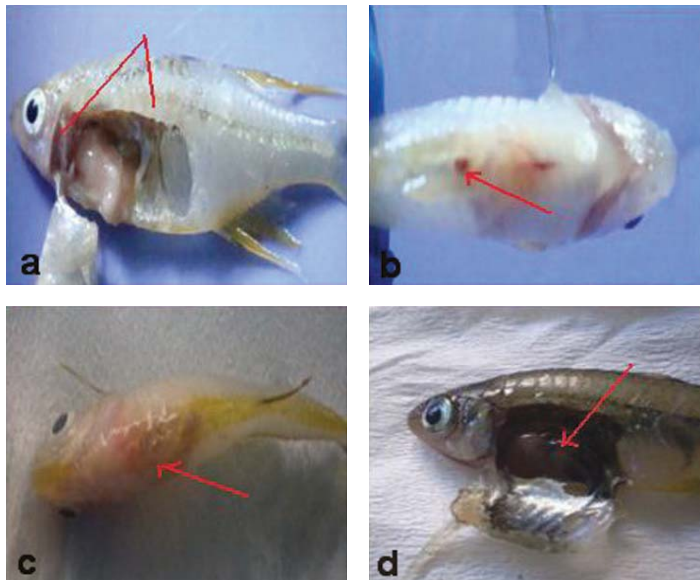
KESIMPULAN

1. Dari penelitian ditemukan adanya persamaan gejala klinis yang terjadi pada ikan mas koki dan *Celebes rainbow* yang diinfeksi dengan isolat *E. tarda* yang berbeda, yaitu terjadinya kebengkakan perut dan tubuh, insang pucat, lesi pada pangkal sirip, dan bengkak ginjal dan hati.



Keterangan: a dan b. perut bengkak; c. pangkal ekor haemorrhagic; d. mata buram
Note: a & b. abdominal swelling; c. haemorrhagic tale; d. blurry eyes

Gambar 1. Kondisi ikan mas koki (*C. auratus*) setelah diinfeksi dengan *E. tarda*
Figure 1. Goldfin (*C. auratus*) after infected by *E. tarda*



Keterangan: a. tubuh dan insang pucat, insang rusak; b. anus bengkak dan merah;
c. perut bengkak dan merah; d. ginjal dan hati bengkak, serta usus berwarna hitam
Note: a. body and gills were pale, damage gills; b. swelling and reddened anal organ;
c. swelling and reddened abdominal; d. swelling kidney and liver, intestine was black

Gambar 2. Ikan Celebes rainbow setelah diinfeksi *E. tarda*
Figure 2. Celebes rainbow infected by *E. tarda*

Tabel 8. Perubahan makroskopis setelah infeksi *E. tarda*
 Table 8. Macroscopic changes on fish after *E. tarda* infection

Organ	<i>C. rainbow</i>	Koki Goldfish
Kulit (Scale)	-	Lesi (Lesion), sisik rontok (fallen out scale)
Sirip (Fin)	-	Merah, geripis (Redden)
Abdomen	Bengkak (Swollen)	Hemoragi (Haemoraghic), bengkak (swollen)
Insang (Gill)	Pucat (Pale)	Pucat (Pale)
Hati (Liver)	Bengkak (Swollen)	Bengkak (Swollen)
Ginjal (Kidney)	Bengkak (Swollen)	Bengkak (Swollen)
Operkulum	-	Merah (Redden)
Usus (Intestine)	Rusak (Damaged)	Bengkak (Swollen)

- Nilai LC₅₀ *E. tarda* untuk ikan mas koki adalah 2,2x 10⁸ cfu/mL dan untuk ikan *Celebes rainbow* adalah 2,3 x 10⁷ cfu/mL.
- Patogenesitas akibat infeksi *E. tarda* terjadi pada hari ke-4 dan kerusakan organ pada terjadi pada hari ke-7 setelah infeksi.
- E. tarda* merupakan patogen pada ikan mas koki dan ikan *Celebes rainbow*.

DAFTAR ACUAN

Ainsworth, A.J., Capley, G., Waterstreet, P., & Munson, D. 1986. Use of Monoclonal Antibodies In The Indirect Fluorescent Antibody Technique (IFA) For The Diagnosis of *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Fish Diseases*, 9: 439-444.

Amandi, A., Hiu, S.F., Ronovec, J.S., & Fryer, J.L. 1982. Isolation and Characterizations of *Edwardsiella tarda* From Fall Chinook Salmon (*Oncorhynchus tsawytscha*). *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 1380-1384.

Anonim. 1993. *Diskripsi Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri*. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta, hlm. 7-12.

Anonim. 2007. Petunjuk Praktikum Penyakit Ikan Bakterial. Laboratorium Hama dan Penyakit Ikan Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.

Austin, B. & Austin, D.A. 1987. *Bacterial Fish Pathogen: Disease In Farmed And Wild Fish*. Ellis, Horwood Ltd., Chichaster. John Wiley & Sons. New York, p. 109-195.

Blazer, V.S. 1991. Piscine macrophage function and nutritional influences: a review. *J. Aquat. Anim. Health*, 3: 77-86.

Coles, B.M., Stroud, R.K., & Sheggeby, S. 1978. Isolation of *Edwardsiella tarda* From Three Oregon Sea Mammals. *Journal Of Wild Diseases*.

Frerichs, G.N. & Millar, S.D. 1993. *Manual for the Isolation and Identification of Fish Bacterial Pathogens*. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Scotland.

Hirono, I., Tange, N., & Aoki, T. 1997. Iron-regulated haemolysin gene from *Edwardsiella tarda*. *Molekuler Microbiology*, 24: 851-856.

Inglis, V., Robert, R.J., & Bromage, N.R. 1993. *Bacterial Disease of Fish*. Blackweell Scientific Publication. Oxford, p. 61-75.

Janda, J. & Abbott, S. 1993. Expression of an iron-regulated hemolysin by *Edwardsiella tarda* in human disease. *Clinical Infection Disease*, 48: 742-748.

Janda, J.M., Abbott., S.L., Kroske-Bystrom, S., Cheung, W.K.W., Powers, C., Kokka, R.P., & Tamura, K. 1991. Pathogenic Properties of *Edwardsiella* species. *J. Clin. Microbial.*, 29: 1997-2001.

Kubota, S.S., Kaige, N., Miyazaki, T., & Miyashita, T. 1981. Histopathological studies on edwardsiellosis of tilapia. I. Natural infection. *Bull. Fac. Fish Mie. Univ.*, 9: 155-165.

Lee, S.W., Najlah, M., & Lee, K.L. 2006. Phenotypic Characterization and Numerical Analysis of *Edwardsiella tarda* In Wild Asia Swap Eels, *Monopterus albus* in Terengganu. *Journal of Sustainability Science ang Management*, 1: 85-91.

Ling, S.H.M., Wang, X.H., Xie, L., Lim, T.M., & Leung, K.Y. 2000. Use of Green Fluorescent Protein (GFP) to Study The Invasion

- Pathways of *Edwardsiella tarda* In Vivo and In Vitro Fish Models. *Journal of Microbiology*, 146: 7-19.
- Meyer, F.P. & Bullock, G.L. 1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Appl. Microbiology*, 25: 155-156.
- Plumb, J.A. 1999. *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes*. Iowa State University, Ames.
- Post, G. 1987. *Textbook of Fish Health*. T.F.H. Publications Inc., hlm. :31-37.
- Rao, Putanae, S. Srinivasa, Lim, Tit Meng, & Leung, Ka Yin. 2001. Oposonized Virulent *Edwardsiella tarda* Strains Are Able To Adhere to and Survive and Replicate Within Fish Phagocytes but Fail To Stimulate Reactive Oxygen Intermediates. *American Society For Microbiology*. USA.
- Rao, Putanae, S. Srinivasa, Lim, Tit Meng, & Leung, Ka Yin. 2002. Functional Genomics Approach to The Identification of Virulence Genes Involved In *Edwardsiella tarda* Pathogenesis. *American Society For Microbiolog*, 34: 235-241.
- Sahoo, P.K., Swain, P., Sahoo, S.K., Mukherjee, & Sahu, A.K. 2000. Pathology Caused by the Bacterium *Edwardsiella tarda* in *Anabas testudineus* (Bloch). *J. Asian Fisheries*, 13: 357-362.
- Thune, R.L., Stanley, L.A., & Couper, R.K. 1993. Pathogenesis of Gram-negative Bacterial Infection In Warm Water Fish. *Annu. Rev. Fish. Dis.*, 3: 37-68.
- Zhang, X.H. & Austin, B. 2000. Pathogenicity of *Vibrio Harveyi* to Salmonids. *Journal of Fish Diseases*, 23: 93-102.