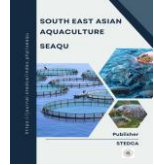




## South East Asian Aquaculture (SEAQU)

<https://journal.stedca.com/index.php/seaqu/>



### Teknik Isolasi dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung

Reski Ramanda<sup>1\*</sup>, Okta Rizal Karsih<sup>1</sup>, Fharisa Nabila Rizvi<sup>1</sup>, Annisa Meliana<sup>1</sup>, Ronal Kurniawan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Kelautan,  
Universitas Riau, Pekanbaru 28293 Indonesia

**Corresponding Author:** reski.ramanda@student.unri.ac.id

Info Artikel	Abstrak
Kata Kunci: <i>Trachinotus blochii</i> , <i>Vibrio</i> , Isolasi bakteri, Budidaya laut	Ikan bawal bintang ( <i>Trachinotus blochii</i> ) merupakan komoditas budidaya laut bernilai ekonomis tinggi yang rentan terhadap infeksi bakterial, khususnya dari genus <i>Vibrio</i> . Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri patogen pada ikan bawal bintang yang dibudidayakan di Keramba Jaring Apung (KJA) Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Sampel penelitian terdiri dari tiga ekor ikan bawal bintang yang menunjukkan gejala klinis infeksi bakteri. Isolasi bakteri dilakukan dari organ target (hati, ginjal, dan limpa) menggunakan media Tryptic Soy Agar (TSA) dan Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS). Identifikasi bakteri dilakukan melalui uji morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan uji biokimia meliputi uji oksidase, katalase, motilitas, serta identifikasi menggunakan <i>Microbact Kit</i> 2000. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel BB1 terinfeksi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (98,78%) pada organ hati, sedangkan sampel BB2 dan BB3 terinfeksi <i>V. alginolyticus</i> (98,95% dan 97,12%) pada organ ginjal. Tidak ditemukan pertumbuhan bakteri pada organ limpa. Gejala klinis yang teramati meliputi penurunan nafsu makan, pergerakan lamban, mata dan tubuh luka, serta pembengkakan organ internal. Simpulan dari kegiatan ini menunjukkan bahwa vibriosis merupakan ancaman signifikan dalam budidaya ikan bawal bintang dan memerlukan strategi pengendalian yang komprehensif.
Diterima: 12 Desember 2025	
Disetujui: 17 Januari 2026	

#### 1. Pendahuluan

Ikan bawal bintang (*Trachinotus blochii*) merupakan salah satu komoditas unggulan dalam sektor perikanan budidaya laut Indonesia. Spesies ini memiliki nilai ekonomis tinggi dengan prospek pasar domestik maupun internasional yang menjanjikan (Anikuttan *et al.*, 2021). Keunggulan ikan bawal bintang terletak pada laju pertumbuhannya yang relatif cepat, adaptabilitasnya terhadap sistem budidaya intensif, serta kualitas daging yang baik untuk konsumsi. Namun, intensifikasi budidaya ikan bawal bintang menghadapi berbagai tantangan, khususnya terkait kesehatan ikan dan manajemen penyakit.

Penyakit infeksius, terutama yang disebabkan oleh bakteri patogen, merupakan salah satu faktor pembatas utama dalam keberhasilan budidaya ikan bawal bintang. Kelangsungan hidup ikan pada stadia benih masih relatif rendah akibat serangan penyakit yang dapat mengganggu produktivitas budidaya secara signifikan (Panduheriana, 2019). Infeksi bakterial dapat menyebabkan mortalitas massal, penurunan kualitas produk, dan kerugian ekonomi yang substansial bagi pembudidaya.

Bakteri dari genus *Vibrio* merupakan patogen yang paling umum menginfeksi organisme laut, termasuk ikan bawal bintang. *Vibrio alginolyticus* dan *V. parahaemolyticus* telah dilaporkan sebagai agen

penyebab vibriosis yang dapat mengakibatkan kematian massal pada ikan laut (Minjoyo *et al.*, 2021). Kedua spesies ini bersifat halofilik dan flora normal di lingkungan perairan laut, namun dapat menjadi patogen oportunistik ketika kondisi lingkungan suboptimal atau ketika sistem imun ikan mengalami depresi.

Gejala klinis vibriosis pada ikan bawal bintang meliputi perubahan perilaku seperti penurunan nafsu makan, pergerakan lamban, dan kecenderungan untuk menyendiri. Secara fisik, ikan yang terinfeksi menunjukkan manifestasi berupa kehitaman pada punggung, pendarahan pada insang dan tubuh, pengelupasan kulit, peradangan, serta dalam kasus yang parah dapat mengalami kematian (Ananda, 2019). Pemahaman yang komprehensif mengenai karakteristik patogen dan teknik deteksi yang akurat menjadi krusial untuk pengembangan strategi pengendalian penyakit yang efektif.

Identifikasi yang tepat terhadap agen penyebab penyakit merupakan langkah fundamental dalam pengelolaan kesehatan ikan. Teknik isolasi dan identifikasi bakteri secara konvensional, yang meliputi kultivasi pada media selektif, karakterisasi morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan serangkaian uji biokimia, masih menjadi metode standar yang reliabel dalam diagnostik penyakit ikan (Setiadi & Wajdy, 2020). Penelitian ini dilaksanakan untuk mengkaji teknik isolasi dan identifikasi bakteri patogen pada ikan bawal bintang yang dibudidayakan di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung, dengan harapan dapat memberikan kontribusi terhadap upaya pencegahan dan pengendalian penyakit bakterial dalam budidaya ikan bawal bintang.

## **2. Metode Penelitian**

### **Waktu dan Tempat**

Kegiatan ini telah dilaksanakan pada periode 9 Januari s.d. 12 Februari 2024 di Laboratorium Kesehatan Ikan, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung, yang berlokasi di Jalan Yos Sudarso, Desa Hanura, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Provinsi Lampung (posisi geografis 105° 14'55.8"BT dan 5° 31'39.1"LS).

### **Prosedur Penelitian**

#### **Sterilisasi Peralatan**

Seluruh peralatan gelas dan instrumen yang digunakan dicuci bersih menggunakan detergen, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Peralatan kemudian dibungkus dengan kertas atau aluminium foil dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Peralatan yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan metode alternatif seperti pemanasan kering dalam oven pada suhu 160-170°C selama 2 jam (Astuty & Angejaya, 2022).

#### **Penebaran Benih Ikan**

Ukuran benih ikan bawal bintang yang ditebar pada KJA yaitu 12-13 cm dengan bobot tubuh 60-100 g dan padat tebar 500 ekor. Ukuran benih harus seragam dan kualitas yang baik dengan tidak adanya cacat apapun. Seleksi benih dilakukan untuk mendapatkan hasil yang unggul, sehat, dan tidak cacat. Penebaran benih ikan bawal bintang dilakukan pada pagi atau sore karena pada waktu tersebut suhu perairan cenderung lebih normal. Benih yang akan ditebar diaklimatisasi terlebih dahulu. Sebelum di tebarkan ikan dipuasakan terlebih dahulu selama 1 hari.

#### **Preparasi Media Kultivasi**

Media TSA (*Tryptic Soy Agar*): Sebanyak 20 g serbuk TSA dan 10 g NaCl dilarutkan dalam 500 ml akuades dalam erlenmeyer. Penambahan NaCl bertujuan untuk menciptakan kondisi halofilik yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri ikan laut. Larutan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* pada *hot plate* hingga tidak terdapat gumpalan. Suspensi kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Media didinginkan menggunakan *water bath* hingga suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  sebelum dituang ke dalam cawan petri steril di dalam *laminar air flow*. Setelah media mengeras, cawan disimpan dalam *refrigerator* pada posisi terbalik untuk mencegah kondensasi pada permukaan agar.

Media TCBS (*Thiosulfate Citrate Bile Sucrose*): Sebanyak 44 g serbuk TCBS dan 7,5 g NaCl dilarutkan dalam 500 ml akuades. Media dihomogenkan, disterilisasi, dan dituang mengikuti prosedur yang sama dengan media TSA. Media TCBS merupakan media selektif-diferensial untuk isolasi bakteri genus *Vibrio*, dimana koloni bakteri yang mampu memfermentasi sukrosa berwarna kuning, sedangkan yang tidak dapat memfermentasi sukrosa akan berwarna hijau (Suriyanto & Mulyani, 2023).

### **Isolasi dan Purifikasi Bakteri**

Nekropsi dilakukan secara aseptik menggunakan instrumen steril. Organ target (hati, ginjal, dan limpa) diambil secara hati-hati untuk meminimalkan kontaminasi dari bakteri permukaan. Sampel jaringan dari masing-masing organ diambil menggunakan jarum ose steril yang telah dipijarkan, kemudian diinokulasikan pada media TSA dan TCBS dengan metode goresan kuadran (*quadrant streaking*) untuk memperoleh koloni terpisah. Prosedur inokulasi dilakukan di dalam *laminar air flow* untuk mempertahankan kondisi aseptik. Cawan inokulasi diinkubasi pada suhu 30°C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh diamati untuk karakteristik morfologi (bentuk, ukuran, warna, elevasi, dan margin) dan dipilih untuk purifikasi lebih lanjut (Pratama *et al.*, 2023).

Koloni individual yang menunjukkan karakteristik khas bakteri *Vibrio* (koloni kuning atau hijau pada media TCBS) disubkultur pada media TSA segar menggunakan teknik goresan untuk memperoleh kultur murni. Proses purifikasi diulang hingga diperoleh koloni yang homogen tanpa kontaminan. Isolat murni kemudian ditransfer ke media agar miring untuk preservasi jangka pendek dan digunakan untuk karakterisasi lebih lanjut.

### **Identifikasi Bakteri**

#### **Karakterisasi Morfologi Koloni**

Morfologi koloni diamati secara makroskopis meliputi bentuk koloni (bulat, tidak beraturan), tepi koloni (rata, bergelombang), elevasi (datar, cembung, timbul), warna, ukuran, dan konsistensi. Karakteristik pertumbuhan pada media TCBS dicatat, khususnya kemampuan fermentasi sukrosa yang ditunjukkan oleh perubahan warna koloni.

#### **Pewarnaan Gram**

Pewarnaan Gram dilakukan mengikuti protokol standar. Kultur bakteri disuspensikan pada objek gelas steril, difiksasi dengan pemanasan lembut, kemudian diwarnai secara berurutan dengan kristal violet (1 menit), larutan lugol (1 menit), dekolorizer alkohol (30 detik), dan safranin (2 menit). Setiap tahap diikuti dengan pembilasan menggunakan akuades. Preparat kering diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000× menggunakan minyak emersi untuk menentukan reaksi Gram dan morfologi sel.

#### **Uji Oksidase dan Katalase**

Koloni bakteri diambil menggunakan jarum ose steril dan digoreskan pada *oxidase test strip*. Perubahan warna menjadi biru-ungu dalam waktu 10 detik mengindikasikan hasil positif, menunjukkan adanya enzim sitokrom oksidase (Pratama *et al.*, 2023). Beberapa tetes larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% ditetaskan pada objek gelas. Koloni bakteri disuspensikan ke dalam larutan tersebut menggunakan jarum ose steril. Pembentukan gelembung gas (O<sub>2</sub>) yang cepat ( $\pm 3$  detik) mengindikasikan hasil positif, menunjukkan kemampuan bakteri mendegradasi hidrogen peroksida melalui enzim katalase (Suriyanto & Mulyani, 2023).

#### **Uji Motilitas**

Uji motilitas dilakukan menggunakan metode tetes gantung (*hanging drop*) atau inokulasi tusuk pada media semi-solid. Untuk metode tetes gantung, suspensi bakteri dalam media cair ditempatkan pada *cover glass*, kemudian dibalik pada objek gelas dengan lekukan tengah yang dilapisi vaselin pada tepinya. Preparat diamati di bawah mikroskop untuk mengamati pergerakan bakteri. Bakteri motil

menunjukkan pergerakan progresif, sedangkan bakteri non-motil hanya menunjukkan gerakan Brown (Ayunindya *et al.*, 2021).

#### **Identifikasi Menggunakan Microbact Kit 2000:**

Kultur murni bakteri disuspensikan dalam 5 ml larutan NaCl fisiologis (0,85%) steril menggunakan jarum ose hingga terbentuk suspensi dengan turbiditas setara standar McFarland 0,5. Suspensi dihomogenkan menggunakan vortex. Sebanyak 2-3 tetes suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam setiap sumur pada panel *Microbact Kit 2000*. Sumur spesifik yang memerlukan kondisi anaerob (lysine, ornithine, H<sub>2</sub>S, arginine) ditutup dengan 2 tetes parafin cair. Reagen tambahan ditambahkan sesuai protokol: reagen TDA (2 tetes) untuk uji tryptophan deaminase, reagen indole (2 tetes) untuk uji indole, dan reagen VP1 dan VP2 (masing-masing 1 tetes) untuk uji Voges-Proskauer.

Panel diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pembacaan hasil dilakukan dengan membandingkan perubahan warna pada setiap sumur dengan standar warna pada *Oxoid colour chart*. Hasil positif pada setiap uji diberi nilai numerik sesuai dengan sistem oktal. Kode oktal yang dihasilkan dimasukkan ke dalam perangkat lunak *Microbact 2000* untuk identifikasi spesies bakteri berdasarkan database referensi yang tersimpan (Ayunindya *et al.*, 2021).

### **3. Hasil dan Pembahasan**

Hasil Kegiatan yang dilakukan selama kerja praktik di BBPBL Lampung yaitu dimulai dari sterilisasi alat, pembuatan media TSA dan TCBS, dan pengambilan sampel ikan bawal bintang di Keramba Jaring Apung (KJA) seminggu sekali. Ikan sampel yang didapat dibawa ke Laboratorium Kesehatan Ikan untuk dilakukan nekropsi dan inokulasi bakteri dari organ target yaitu hati, ginjal, dan limpa pada media TSA dan TCBS. Setelah isolasi dilanjutkan dengan pemurnain bakteri, pewarnaan Gram, uji biokimia, dan analisis data.

Kematian yang terjadi pada ikan dapat disebabkan oleh faktor-faktor tertentu. Sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara lingkungan, inang, dan patogen. Salah satu patogen yang sering menyerang ikan bawal bintang adalah bakteri. Bakteri pada ikan bawal bintang bisa disebabkan oleh adanya infeksi parasit terlebih dahulu yang biasanya berperan sebagai vektor bagi bakteri atau virus yang nantinya menimbulkan infeksi sekunder sehingga menyebabkan terjadinya penyakit pada ikan. Sampel ikan yang didapat tidak akan langsung dibedah melainkan diukur terlebih dahulu panjang dan bobotnya (Tabel 1).

**Tabel 1. Data ikan bawal bintang**

No.	Kode Sampel	Panjang (cm)	Bobot (g)
1.	BB1	30	348
2.	BB2	20	211
3.	BB3	32	246

Gejala klinis ikan bawal bintang yang terkena bakteri seperti ikan yang sakit pada umumnya seperti mata luka, sirip geripis, nafsu makan menurun, pergerakan renang ikan lambat, dan suka berenang sendiri. (Gambar 1).



**Gambar 1. Nekropsi ikan bawal bintang (1) Mata luka, (2) Organ limpa membengkak, (3) Organ ginjal membengkak.**

**Isolasi Bakteri****Karakteristik Sampel dan Gejala Klinis**

Sampel ikan bawal bintang yang digunakan dalam penelitian ini menunjukkan berbagai gejala klinis yang mengindikasikan infeksi bakterial sistemik. Observasi klinis mengungkapkan manifestasi patologi yang konsisten dengan infeksi vibriosis, termasuk perubahan perilaku dan abnormalitas fisik. Secara behavioral, ikan yang terinfeksi menunjukkan penurunan nafsu makan yang signifikan, pola renang yang lamban atau *lethargic*, dan kecenderungan untuk berenang menyendiri terpisah dari kelompok. Gejala fisik yang teramati meliputi kehitaman pada region dorsal, lesi atau ulserasi pada permukaan tubuh, mata menonjol dengan *hemoragi periorbital*, dan kerusakan pada sirip (*fin erosion*). Pemeriksaan nekropsi mengungkapkan perubahan patologi pada organ internal. Organ target yang dievaluasi (hati, ginjal, dan limpa) menunjukkan tanda-tanda patologi akut termasuk pembengkakan (*enlargement*), perubahan warna menjadi pucat, dan dalam beberapa kasus, nekrosis fokal. Temuan ini konsisten dengan septicemia bakterial yang dilaporkan pada kasus vibriosis pada ikan laut (Ananda, 2019).

**Isolasi dan Purifikasi Bakteri**

Ikan bawal bintang yang digunakan dalam kerja praktik ini diambil dari Keramba Jaring Apung (KJA) yang ada di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Sampel yang diambil ialah ikan bawal bintang yang menunjukkan gejala sakit seperti nafsu makan menurun, berenang lambat, menyendiri, siripnya geripis, dan terdapat luka atau borok pada tubuhnya. Isolasi dilakukan pada media TSA dan TCBS dengan organ target yaitu hati, ginjal, dan limpa. Pengambilan sampel merupakan langkah pertama yang harus dilakukan dan pengambilan sampel dilakukan secara hati-hati dan steril dengan menggunakan jarum ose. Sebelum ikan dibedah, ikan diukur panjang dan bobotnya terlebih dahulu. Selanjutnya jarum ose ditempelkan dan ditusukkan ke organ tubuh tersebut untuk mengambil organisme yang ada. Selanjutnya jarum ose digoreskan pada media TSA dan TCBS dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C untuk mendapatkan biakan murni. Koloni yang menciri dan terpisah, selanjutnya dilakukan pemeriksaan mikroskopis dengan metode pewarnaan Gram (Pratama *et al.*, 2023).

**Pemurnian Bakteri**

Setelah bakteri diisolasi selama 24 jam pada suhu 30°C maka akan didapatkan hasil biakan bakteri yang tumbuh pada media TSA dan TCBS. Tahap selanjutnya adalah melakukan pemurnian bakteri yang bertujuan untuk mendapatkan morfologi biakan murni atau koloni bakteri yang seragam tanpa adanya kontaminan dari mikroba lainnya. Pemurnian bakteri dilakukan dengan cara isolat bakteri diambil dari media TSA dengan jarum ose dan digoreskan media TSA lainnya dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah 24 jam diinkubasi maka akan didapatkan biakan murni yang diinginkan, lalu dilanjutkan dengan pemindahan biakan bakteri ke media miring. Caranya adalah dengan mengambil isolat bakteri dengan jarum ose dan kemudian digoreskan pada media TSA miring dan diinkubasi kembali pada suhu 30°C selama 24 jam.

**Identifikasi Bakteri**

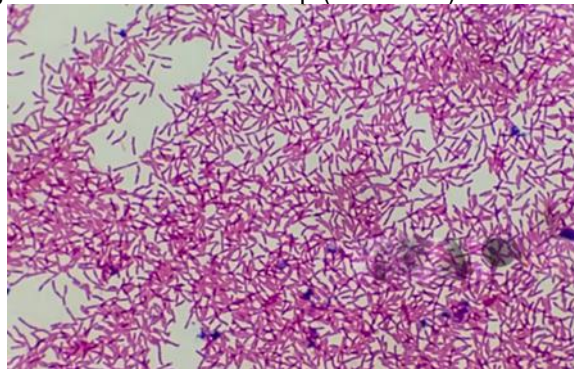
Morfologi koloni bakteri yang tumbuh pada media TCBS memiliki karakteristik berwarna hijau dan kuning. Menurut Ihsan & Retnaningrum (2017), warna koloni yang berwarna hijau pada bakteri *Vibrio* disebabkan karena sifatnya yang tidak mampu memfermentasi sukrosa sedangkan warna koloni yang berwarna kuning mampu memfermentasi sukrosa serta mampu menurunkan pH pada media TCBS. Koloni bakteri yang tumbuh berbentuk bulat dengan tepi yang halus dan sedikit cembung. Koloni *Vibrio* pada media TCBS biasanya memiliki permukaan yang halus dan cembung, meskipun tingkat kecembungan bisa bervariasi dari datar hingga sedikit cembung tergantung pada spesies dan kondisi pertumbuhan. Ukuran koloni bakteri ini juga bervariasi mulai dari kecil hingga sedang.

Uji biokimia merupakan suatu cara atau perlakuan yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi suatu biakan murni hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya dan pengamatan secara



makroskopis (Surianto & Mulyani, 2023). Pada pengujian biokimia koloni bakteri berasal dari bakteri yang telah dimurnikan. Pengujian biokimia meliputi uji pewarnaan gram, uji oksidase, uji katalase, uji *motility*, dan uji *microbact kit*.

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara meletakkan alkohol di atas objek glass. Selanjutnya ambil biakan bakteri dengan jarum ose dan diletakkan di atas objek glass secara merata kurang lebih 2 cm dan dikering anginkan di atas lampu bunsen. Fiksasi di atas lampu bunsen, sehingga sel-sel bakteri mati. Kemudian diberi 2-3 tetes larutan Gram A (*crystal violet*) dan tunggu selama 1 menit. Setelah 1 menit bilas dengan air mengalir dan kering anginkan di atas lampu bunsen. Kemudian diberi 2-3 tetes larutan Gram B (*lugol*) dan tunggu kembali 1 menit dan bilas dengan air mengalir dan dikering anginkan kembali. Selanjutnya lunturkan dengan Gram C (*alkohol*) sampai tampak pucat selama 30 detik. Kemudian diberi 2-3 tetes larutan Gram D (*safranin*) dan biarkan selama 2 menit, bilas dengan air mengalir dan di kering anginkan. Jika telah kering amati di bawah mikroskop (Gambar 2).



**Gambar 2.** Hasil pewarnaan Gram (-)

Tujuan dari pewarnaan Gram ini yaitu untuk mempermudah melihat bakteri secara mikroskopik, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, melihat struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, dan menghasilkan sifat-sifat fisik serta kimia khas dari bakteri dengan zat warna. Dalam pewarnaan, bakteri Gram positif berwarna ungu sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah. Bakteri memiliki beberapa bentuk yaitu *bacillus* (batang), *coccus* (bulat), dan *spirillum* (lengkung). Bakteri yang berbentuk *bacillus* dibagi atas *diplobacillus* dan *triplobacillus*. Pada bentuk *coccus* dibagi atas *monococcus*, *diplococcus*, sampai *staphylococcus* (bentuknya mirip buah anggur). Khusus pada *spirillum* hanya dibagi dua yaitu setengah melengkung dan tidak melengkung (Bulele *et al.*, 2019).

Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya enzim oksidase pada bakteri. Ujung jarum ose dibakar dengan lampu bunsen hingga steril. Koloni diambil dengan jarum ose steril lalu digoreskan pada oxidase strips. Apabila kertas berubah warna menjadi biru/ungu pekat berarti bakteri tersebut termasuk oksidase positif (+) dan jika tidak berubah warna maka termasuk oksidase negatif (-) (Pratama *et al.*, 2023).

Katalase adalah enzim yang mengkatalisasi penguraian hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Uji katalase ini bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri mendegradasi hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) melalui produksi enzim katalase (Surianto & Mulyani, 2023). Uji ini dilakukan dengan cara mengambil larutan  $H_2O_2$  3% beberapa tetes dan letakkan di atas objek glass. Kemudian ambil biakan bakteri dengan jarum ose yang sudah disterilkan dan suspensikan ke dalam larutan  $H_2O_2$  3% tersebut. Kemudian tutup objek glass tersebut dengan objek glass lainnya. Apabila terdapat gelembung setelah ditutup dengan objek glass maka uji katalase positif (+) dan apabila tidak terdapat gelembung maka uji katalase negatif (-).

Tujuan dari uji motilitas adalah untuk mengetahui pergerakan bakteri, apakah terjadi pergerakan atau tidak pada bakteri tersebut (Sinubu *et al.*, 2022). Flagella merupakan salah satu bagian struktur utama diluar sel bakteri yang menimbulkan adanya pergerakan (motilitas) pada bakteri. Apabila mengalami pergerakan berarti uji motility nya positif (+). Uji ini biasa disebut juga dengan uji gantung di bawah mikroskop. Caranya uji ini adalah dengan mengambil sampel dari tabung reaksi yang sudah ditumbuhi bakteri dan diletakkan di atas cover glass dengan menggunakan jarum ose yang sudah

disterilkan, kemudian tutup dengan objek glass yang bagian bawahnya cekung. Uji tetes gantung adalah uji untuk melihat pergerakan bakteri. Uji tetes gantung dilakukan dengan menggunakan kaca preparat cekung untuk mengamati pergerakan bakteri. Bakteri yang ada pada media TSA ditumbuhkan ke media Nutrient Broth lalu diinkubasi selama 24 jam. Media NB diambil 1 ose lalu letakkan pada kaca preparat biasa yang pada bagian tepinya diolesi dengan vaseline. Bakteri yang mengalami pergerakan disebut motil. Sedangkan bakteri yang tidak mengalami pergerakan disebut non motil (Ayunindya *et al.*, 2021).

### **Uji Microbact Kit 2000**

Identifikasi bakteri dengan menggunakan *Microbact Kit 2000* yang diawali dengan memasukkan 5 ml NaCl ke dalam tabung reaksi. Kemudian ambil 3-5 isolat bakteri dengan jarum ose dan dilarutkan dalam 5 ml larutan NaCl. Selanjutnya *vortex* hingga homogen sampai terbentuk suspensi bakteri. Kemudian masukkan suspensi bakteri tersebut ke dalam sumur-sumur *Microbact Kit* sebanyak 3 tetes. Untuk sumur *Lysine*, *Ornithine*,  $H_2S$ , dan *Arginin* diberi 2 tetes parafin cair. Untuk uji TDA ditambahkan 2 tetes reagen TDA. Uji Indole ditambahkan 2 tetes reagen indole. Kemudian untuk uji VP ditambahkan 1 tetes reagen VP1 dan VP2. Selanjutnya uji nitrae dilakukan pada sumur ONPG dengan menambahkan reagen 1 dan 2 sebanyak tetes dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37 °C. Setelah 24 jam, maka hasilnya dapat dibaca dengan *Colour card* pada buku panduan *Oxoid book* (Tabel 2).

**Tabel 2. Hasil pembacaan Colour card pada buku panduan Oxoid book**

No.	Sumur	BB1	BB2	BB3
1.	Oksidase	+	+	+
2.	Motility	+	+	+
3.	Nitrae	+	+	+
4.	Lysine	+	-	-
5.	Ornithine	-	-	-
6.	$H_2S$	-	-	+
7.	Glucose	+	-	-
8.	Mannitol	-	+	+
9.	Xylose	+	+	-
10.	ONPG	+	+	-
11.	Indole	+	-	+
12.	Urease	-	+	-
13.	V-P	-	+	-
14.	Citrae	-	-	-
15.	TDA	-	-	-
16.	Gelatin	-	-	-
17.	Malonate	-	-	-
18.	Inositol	-	-	-
19.	Sorbitol	-	-	-
20.	Rhamnose	+	-	+
21.	Sucrose	+	-	+
22.	Lactose	-	-	-
23.	Arabinose	+	+	-
24.	Adonitol	-	-	-
25.	Raffinose	-	-	-
26.	Salicin	+	-	-
27.	Arginin	-	-	-

Hasil yang didapat dari baki inkubasi terlihat positif atau negatif berdasarkan buku panduan *Oxoid book: Microbact Gram-Negative Identification System*, dengan cara membandingkan dengan tabel warna

dan hasilnya ditulis dengan formulir *Microbact form*. Setiap hasil positif yang didapat akan dinilai dan dijumlahkan sehingga didapatkan angka oktal. Angka tersebut nantinya akan diinput ke *software Microbact 2000* sehingga akan dapat mendeteksi jenis bakteri uji dari baki inkubasi (Ayunindya *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil dari pembacaan dengan aplikasi tersebut didapatkan dua jenis bakteri yang menyerang ikan sampel yaitu pada sampel BB1 teridentifikasi bakteri *Vibrio alginolyticus*, sampel BB2 teridentifikasi bakteri *V. parahaemolyticus*, dan pada sampel BB3 teridentifikasi bakteri *V. alginolyticus* (Tabel 3).

**Tabel 3. Jenis bakteri yang teridentifikasi pada ikan bawal bintang**

No.	Kode Sampel	Organ	Jenis Bakteri	Persentase (%)
1.	BB1	Hati	<i>V. parahaemolyticus</i>	98,78
2.	BB2	Ginjal	<i>V. alginolyticus</i>	98,95
3.	BB3	Ginjal	<i>V. alginolyticus</i>	97,12

*Vibrio parahaemolyticus* merupakan salah satu bakteri gram positif yang menjadi penyebab utama penyakit vibrosis. *Vibrio parahaemolyticus* merupakan bakteri alami di lingkungan perairan payau dan pantai dan menjadi salah satu spesies *Vibrio* sp. yang bersifat patogen terhadap komoditas udang maupun manusia (Alfirah *et al.*, 2023). Bakteri *V. parahaemolyticus* yang menyebabkan keracunan makanan khususnya ikan, dapat hidup pada suhu di atas 8°C, tetapi pertumbuhan optimumnya pada suhu 37°C, dapat berlipat ganda dengan cepat di bawah kondisi suhu tropik dan cukup sensitif pada suhu 0-8°C. *V. parahaemolyticus* adalah bakteri Gram negatif dan halofilik yang ada secara alami di lingkungan laut dan seringkali terisolasi dari makanan laut. *V. parahaemolyticus* menyebabkan kerusakan akut pada organ *hepatopancreas*, menyerang perut udang, dan melepaskan toksin pada industri akuakultur (Subagiyo *et al.*, 2022).

Bakteri *V. alginolyticus* merupakan bakteri Gram negatif yang banyak ditemukan di lingkungan perairan laut karena bersifat halofilik. Bakteri *V. alginolyticus* memiliki ciri-ciri pertumbuhan yang bersifat *swarm* pada media padat non selektif. Karakteristik penyakit yang disebabkan terdapat septisemik, dapat menginfeksi ikan/udang yang lemah, berkulit gelap atau pada saat bertukar kulit. *Vibrio alginolyticus* berwarna kuning muda transparan atau kuning keruh pada medium TSA maupun TCBS, ada beberapa yang tumbuh *swarming* (tumbuh menutupi seluruh permukaan agar) dan menghasilkan asam, tidak bercahaya, bentuk permukaan koloni datar (*flat*). Diameter koloni lebih besar bila dibandingkan dengan koloni bakteri lain, tumbuh bagus pada medium TCBS pada suhu 30°C. Ciri lainnya adalah Gram negatif, motil, berbentuk batang, fermentasi glukosa, laktosa, maltosa dan sukrosa (Sugianto *et al.*, 2017). Berdasarkan dari pengamatan yang dilakukan selama kerja praktik, ikan bawal bintang yang terserang bakteri *V. parahaemolyticus* dan *V. alginolyticus* memiliki gejala klinis seperti nafsu makan yang menurun, pergerakan renang yang lambat dan suka menyendiri, sirip geripis, mata bengkak dan luka serta sirip geripis. Selain itu organ ikan bawal bintang yang terserang *V. parahaemolyticus* seperti hati, limpa, dan ginjal terkadang berwarna pucat, bengkak, dan bahkan terjadinya nekrosis.

#### 4. Kesimpulan

Ikan bawal bintang yang terinfeksi bakteri menunjukkan gejala klinis seperti nafsu makan yang menurun, pergerakan renangnya pasif, suka menyendiri, dan warna tubuhnya pucat. Tahapan teknik isolasi dan identifikasi bakteri meliputi sterilisasi alat, pembuatan media untuk isolasi bakteri, uji morfologi, dan uji biokimia seperti pewarnaan Gram, uji oksidase, uji katalase, uji *motility*, dan uji *Microbact Kit*. Melalui uji ini didapatkan dua jenis bakteri yang menginfeksi ikan bawal bintang yang ada di KJA BBPBL Lampung yaitu pada sampel BB1 teridentifikasi jenis bakteri *V. parahaemolyticus* pada organ hati dan pada sampel BB2 dan BB3 ditemukan jenis bakteri *V. alginolyticus* yang ditemukan pada organ ginjal, sedangkan pada organ limpa tidak teridentifikasi bakteri.



**Daftar Pustaka**

- Alfirah, A., Harlina, H., & Rosmiati, R. (2023). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Hasil Partisi Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) terhadap Pertumbuhan *Vibrio parahaemolyticus*. *Jurnal Akuakultur Nusantara*, 1(1): 20-31.
- Ananda, N.L. (2019). *Pengaruh Pemberian Vaksin Bivalen Vibrio parahaemolyticus dan Vibrio fulnivicus untuk Pengendalian Vibriosis pada Bawal Bintang (Trachinotus blochii Lacepede, 1801) dengan Metode Injeksi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Anikuttan, K.K., Jayakumar, R., Suresh-Babu, P.P., Abdul Nazar, A.K., Tamilmani, G., Sakthivel, M., & Joseph, I. (2021). Assessment of Compensatory Growth in Stunted Fingerlings of Snubnose Pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801), in Marine Conditions. *Aquaculture Research*, 52(1).
- Astuty, E., & Angkejaya, O.W. (2022). Pelatihan Sterilisasi Alat dan Bahan Medis pada Anggota Tim Bantuan Medis Vertebrae Fakultas Kedokteran Universitas Pattimura. *Society: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(5): 284-290.
- Ayunindya, A., Hendri, M., Putri, W.A., & Hadi, R. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* yang Terkena Penyakit Ice-Ice di Teluk Lampung. *Maspari Journal: Marine Science Research*, 13(2): 73-82.
- Bulele, T., Rares, F.E., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *eBiomedik*, 7(1).
- Minjoyo, H., Prihaningrum, A., Rivaie, A.R., & Dharmawanti, V. (2021). Growth Performance and Immune Response of Silver Pompano Seeds (*Trachinotus blochii*) Fed with Feed Containing Immunostimulant Supplements. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 9(2): 1117-1130.
- Pandueriana, U.Y., & Abdillah, A.A. (2019). Studi Kejadian Ektoparasit pada Pembesaran Ikan Bawal Bintang (*Trachinotus blochii*) di Balai Layanan Usaha Produksi Perikanan Budidaya (BLUPPB) Karang, Jawa Barat. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 46: 54.
- Pratama, R.A., Djauhari, R., Monalisa, S.S., & Susanti, W. (2023). Identifikasi Bakteri pada Beberapa Jenis Ikan Air Tawar. *Journal of Tropical Fisheries*, 18(2): 31-41.
- Setiadi, S., & Wadjdy, E.F. (2020). Teknik Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Ikan Gabus (*Channa striata*). *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(1): 69-75.
- Subagiyo, A., Rezaldi, F., Ma'ruf, A., Pertiwi, F.D., & Safitri, A. (2022). Antibakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan *Klebsiella pneumoniae* pada Sediaan Sabun Mandi Probiotik Fermentasi Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Sebagai Produk Bioteknologi Farmasi. *Journal of Biotechnology and Conservation in Wallacea*, 2(2): 89-98.
- Sugianto, S., Masfiah, I., Fairwandari, I., & Hidayati, S.N. (2017). Identifikasi Bakteri pada Ikan Air Laut di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Ngurah Rai Denpasar, Bali. *Bali. Journal of Aquaculture and Fish Health*, 6(3).
- Surianto, T., & Mulyani, U.S. (2023). Identifikasi Bakteri *Vibrio* sp pada Korean Food yang Belum Diolah Menggunakan Metode Kultur dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Jurnal MediLab Mandala Waluya*, 7(1): 22-33.