

Kepadatan *Yersinia* Sp. Yang Diisolasi Dari Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*, L)

Faiza A. Dali

Teknologi Hasil Perikanan,
Fakultas Ilmu-Ilmu Pertanian, Universitas Negeri Gorontalo

ABSTRAK: Penelitian ini bertujuan menemukan jumlah kepadatan bakteri, mengidentifikasi dan mengkarakterisasi bakteri *Yersinia* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*, L) melalui serangkaian analisis. Parameter analisis yang dilakukan yakni *total plate count* (TPC) bakteri, pengujian fisiologis dan morfologis bakteri. Hasil TPC diperoleh dari 3 kali sampling ikan mas hidup berkisar $1,4 \times 10^5$ sampai $2,1 \times 10^5$ Cfu/g, sedangkan rata-rata nilai total *Yersinia* $1,3 \times 10^4$ TVC/g pada insang, $1,6 \times 10^4$ pada lendir dan $1,8 \times 10^4$ pada isi perut. Galur yang teridentifikasi terdiri dari *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* dan *Y. rohdei* pada insang, *Y. frederiksenii*, *Y. enterocoliti* dan *Y. intermedia* pada lendir, *Y. frederiksenii* dan *Y. enterocolitica* pada isi perut.

Kata kunci: kepadatan, bakteri, ikan mas, *Yersinia* sp.

ABSTRACT: This research aims to find density of bacteria, identify and characterize the bacteria *Yersinia* in carp (*Cyprinus carpio*, L) through a series of analysis. Parameter analysis performed were total plate count (TPC), physiology and morphology test of bacteria. Total Plate Count results obtained from three times sampling of a living carp ranges $1,4 \times 10^5$ to $2,1 \times 10^5$ Cfu/g, while the average total value of *Yersinia* in the gill $1,3 \times 10^4$ TVC/g, $1,6 \times 10^4$ on mucus and $1,8 \times 10^4$ of stomach content. The identified strains consisted of the gill *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* and *Y. rohdei*, on mucus *Y. frederiksenii*, *Y. enterocoliti* and *Y. intermedia*, in intestine *Y. frederiksenii* dan *Y. enterocolitica*.

Keywords : density, bacteria, carp, *Yernisia* sp.

PENDAHULUAN

Ikan mengandung protein yang cukup tinggi dan komposisi asam aminonya tidak sama dengan hewan-hewan darat. Ikan mas (*Cyprinus carpio*, L) merupakan salah satu hasil perairan yang memiliki kandungan gizi tinggi dan bernilai ekonomis penting, sehingga sepatasnya mendapat penanganan yang cukup serius. Penerapan teknik penanganan yang baik dapat mempertahankan mutu ikan. Kemunduran mutu ikan setelah mati disebabkan diantaranya oleh aktifitas mikrobiologis yang sudah ada secara alami pada tubuh ikan ketika hidup.

Keberadaan mikroba pada ikan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu lingkungan air, spesies ikan, habitat, cuaca dan cara penangkapan. Kepadatan bakteri pada insang berkisar 10^3 - 10^5 Cfu/g, usus berkisar 10^3 - 10^7 Cfu/g dan pada kulit berkisar 10^2 - 10^6 Cfu/g. Perbedaan kepadatan bakteri pada insang, dalam organ tubuh, permukaan tubuh, ataupun dalam perairan bervariasi tergantung dari jenis flora normal yang dominan dalam tubuh ikan dan faktor lingkungan. Menurut Khairina dan Khotimah (2006), beberapa genus *Enterobacteriaceae* penting bagi kesehatan masyarakat karena menimbulkan wabah

keracunan pangan dan penyakit infeksi yang ditularkan melalui bahan pangan segar.

Yersinia adalah salah satu genus *Enterobacteriaceae* yang mengkontaminasi bahan pangan yang hidup di perairan dan dapat menimbulkan infeksi pada manusia. Menurut Mair (1973), *Y. enterocolitica* menyebabkan infeksi pada usus manusia dan hewan (mengganggu sistem pencernaan); *Y. pestis* merupakan galur yang ditakuti sejak dahulu karena menyebabkan penyakit pes; *Y. pseudotuberculosis* menginfeksi limfa pada hewan dan menyebabkan penyakit seperti tuberculosis, penularannya ke manusia kemungkinan dari daging yang terinfeksi dan kurang dimasak. Dilaporkan bahwa terdapat satu spesies dari genus ini yang merupakan bakteri patogen atau penyebab penyakit *Enteric Red Mouth* (ERM) dan *exophtalamia* pada ikan yaitu *Yersinia ruckeri*. Spesies ini dapat menimbulkan penyakit pada ikan-ikan jenis salmonid dan non-salmonid (EFSA, 2008). Terbatasnya informasi tentang perkembangan *Yersinia* dalam kaitannya dengan hasil perairan khususnya ikan mas menjadi alasan dilakukannya penelitian ini. Tujuan penelitian adalah untuk menemukan jumlah kepadatan bakteri serta mengidentifikasi bakteri *Yersinia* pada ikan mas (*Cyprinus carpio*, L).

METODE

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan yaitu autoclave, inkubator, *water bath*, erlenmeyer, cawan petri, oven, blender, pipet volumetri dan pipet tetes, timbangan analitik, vorteks, gelas ukur, magnetik stirer, mikroskop dan kaca objek, jarum ose, pH meter, tabung Hach, tabung Durham, rak tabung, spatula, L-glass (*Conrad's rod*),

termometer air raksa, korek api, kompor, panci, lampu spritus, pinset, talenan, pisau, gunting, alat tulis menulis dan kamera digital. Bahan yang digunakan meliputi sampel ikan mas, aquades, NaCl (0,9%), alkohol 95%, NaOH, HCl, media Nutrien Agar (NA), Mac-Conkey Agar, Nutrien Broth (NB), Mac-Conkey Broth, minyak imersi, larutan kristal violet, alkohol 70%, larutan safranin, larutan lugol, larutan H₂O₂, kaldu karbohidrat (glukosa, maltosa, laktosa dan sukrosa), Motility Test Medium, Simmon Citrate Agar, Reagen MR-VP, Reagen Tetramethyl, dan Reagen Kovac's.

Pengambilan Sampel dan Pengamatan

Sampel yang digunakan diperoleh dari karamba di Daerah Aliran Sungai (DAS) Tondano dalam keadaan hidup dan dimasukkan ke dalam wadah untuk dibawa ke laboratorium. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 (tiga) kali dengan setiap kali pengambilan sebanyak 2 ekor sampel yang masing-masing memiliki berat berkisar 300-400 g. Waktu antara pengambilan pertama dan pengambilan berikutnya berkisar selama seminggu. Tahapan pengujian dilakukan pada masing-masing pengambilan sampel serta terhadap bagian tubuh ikan (lendir, insang dan isi perut) dan sampel air yang digunakan.

Pengamatan dilakukan terhadap bahan baku yaitu analisis total bakteri, total *Yersinia* dan tahap *enrichment*. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada media NA dan *Mac-Conkey Agar* (dimodifikasi dari Fardiaz 1993). *Enrichment* yang menunjukkan hasil positif pada *Mac-Conkey Broth* diinokulasi pada *Mac-Conkey Agar*, kemudian diinokulasi pada NA miring untuk dijadikan sebagai kultur sediaan (stok). Selanjutnya dilakukan

serangkaian uji fisiologis, morfologis dan biokimia mengacu pada metode Cappucino dan Sherman (1992) dan diidentifikasi berpedoman pada *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *et al.* 1994)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisa Total Plate Count dan Analisa Total *Yersinia*

Nilai TPC pada sampel utuh dari ketiga sampling dengan rata-rata untuk masing-masing, yaitu pada sampling 1 nilainya $1,8 \times 10^5$ Cfu/g, sampling 2 diperoleh $1,4 \times 10^5$ Cfu/g dan sampling 3 sebesar $2,1 \times 10^5$ Cfu/g. Rataan nilai TPC pada bagian insang, lendir dan isi perut menunjukkan perbedaan dengan kepadatan tertinggi pada bagian usus (Tabel 1). Ikan yang baru ditangkap dapat bersifat steril, tetapi bagian lainnya seperti insang dan isi perut banyak mengandung bakteri. Dilaporkan dari penelitian lain bahwa kepadatan bakteri pada isi perut 10^3 - 10^8 /ml, atau TPC pada ikan segar dibagian insang $5,10 \times 10^4$ dan isi perut $6,30 \times 10^4$ (Thayib dan Suhadi 1981; Adji 2008). Jumlah bakteri maksimum ikan segar yang dipersyaratkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2729-1992) sebesar 5×10^5 koloni/g (Badan Standardisasi Nasional 1992). Nilai ini jika dibandingkan dengan nilai TPC sampel, maka ikan mas masih tergolong aman dan layak untuk dikonsumsi. Bakteri yang terdapat pada ikan sebagian besar berasal dari lingkungan sekelilingnya yaitu air sungai atau air tambak tempat ikan hidup atau dari air yang digunakan untuk mencuci ikan dan bahan hasil buangan kegiatan manusia. Hasil analisis air sungai tempat pengambilan sampel memperkuat tingginya bakteri yaitu $3,6 \times 10^5$ /ml. Sofia *et al* (2010) menyatakan

bahwa air sungai yang keluar dari mata air biasanya mempunyai kualitas yang sangat baik, tetapi dalam proses pengalirannya air tersebut menerima berbagai macam bahan pencemar.

Hasil yang diperoleh nilai *Yersinia* (Tabel 1) tertinggi pada bagian isi perut $1,8 \times 10^4$ Tvc/g. Adanya *Yersinia* pada ikan mas disebabkan oleh aktivitas perairan berupa penggunaan air sungai untuk MCK (Mandi Cuci Kakus), adanya pembuangan limbah rumah tangga dan sampah organik di sungai. Hasil uji terhadap air diperoleh nilai $4,1 \times 10^4$ /ml sangat mendukung keberadaan bakteri pada ikan. Darmayati *et al* (2009) melaporkan bahwa *Yersinia sp.* termasuk bakteri indikator pencemaran perairan yang kepadatannya meningkat seiring dengan dekatnya jarak dari darat yang mengandung pencemaran limbah domestik. Menurut Hatmanti (2003), *Yersinia spp.* merupakan salah satu bakteri yang awalnya bukan termasuk patogen, namun pada suatu saat apabila kondisi lingkungan memungkinkan dapat pula menyebabkan penyakit (bersifat oportunist).

Tabel 1. Hasil analisa TPC dan total

Sampel	Rata-Rata Nilai TPC (CFU/g)	Rata-Rata Nilai <i>Yersinia</i> (TVC/g)
Ikan utuh	$1,8 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$
	$1,4 \times 10^5$	$1,5 \times 10^4$
	$2,1 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$
Insang	$1,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$
Lendir	$1,6 \times 10^5$	$1,6 \times 10^4$
Isi Perut	$2,3 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$

Yersinia pada ikan mas (*Cyprinus carpio*, L)

Keterangan: CFU= *Coloni Forming Unit*,
TVC= *Total Viable Count*

Isolasi dan Identifikasi *Yersinia*

Pertumbuhan koloni pada media *Mac-Conkey Agar* yang diduga sebagai *Yersinia* yaitu berbentuk bulat dengan tepian yang licin tanpa lekukan (*entire*) dan elevasinya agak datar (*raised*), berwarna (transparan lama kelamaan menjadi kuning). Hasil pengujian terhadap pergerakan bakteri bervariasi yakni 51 galur bersifat positif dan 9 galur lainnya negatif. Pewarnaan Gram terhadap 60 galur diperoleh 55 galur bersifat Gram-negatif berbentuk batang, 2 galur Gram-negatif berbentuk bulat telur atau batang (Sattar *et al.* 2006). Pengujian fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, maltosa dan sukrosa) memberikan hasil bervariasi (positif dan negatif), katalasenya 59 galur positif dan oksidase 54 galur reaksinya negatif. Hasil uji Indol diperoleh 23 galur bersifat negatif, *methyl red* 41 galur hasilnya positif, *Voges Proskauer* dan sitrat diperoleh masing-masing 47 galur positif. Ciri *Yersinia* sp. Gram negatif batang, koloninya berwarna kuning, motil, *methyl red* dan katalase positif (Feliatra 2001).

Berdasarkan hasil uji terhadap masing-masing isolat bakteri teridentifikasi 13 galur sebagai *Yersinia*. Bagian insang 4 galur meliputi *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* dan *Y. rohdei*, lendir 6 galur yaitu *Y. frederiksenii*, *Y. enterocolitica* dan *Y. Intermedia*, dan isi perut 3 galur berupa *Y. frederiksenii* dan *Y. enterocolitica* (hasil identifikasi ditunjukkan pada Tabel 2).

Tabel 2. *Yersinia* sp. yang teridentifikasi berpedoman pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Uji	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. rohdei</i>
Gram	-	-	-	-
Motiliti	+	+	+	+
Glukosa /gas	+/-	-	+	+/-
Maltosa	+	+	+	-
Sukrosa	+	+	+	+
Laktosa	-	+	+	-
Katalase	+	+	+	+
Oksidase	-	-	-	-
Indol	+	+	+	-
MR	+	+	+	-
VP	+	+	+	-
Sitrat	-	-	+	-

SIMPULAN

Kepadatan bakteri pada ikan mas hidup di aliran sungai Tondano berkisar $1,4 \times 10^5$ sampai $2,1 \times 10^5$ Cfu/g, sedangkan rata-rata nilai total *Yersinia* $1,3 \times 10^4$ Tvc/g pada insang, $1,6 \times 10^4$ pada lendir dan $1,8 \times 10^4$ pada isi perut erat kaitannya dengan kondisi perairan atau buruknya sanitasi lingkungan. Tigabelas galur teridentifikasi terdiri dari *Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia* dan *Y. rohdei*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji K. 2008. Evaluasi Kontaminasi Bakteri Patogen di Perairan Teluk Semarang.[Tesis]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Cappucino JG dan Sherman. 1992. Microbiology, A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. New York.
- Darmayati Y, Kunarso DH, Ruyitno. 2009. Dinamika bakteri indikator pencemaran di perairan estuari Cisadane. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia* 35 (2): 273-290.
- EFSA (European Food Safety Authority). 2008. Food safety considerations of animal welfare aspects of husbandry systems for farmed fish. *J. EFSA* 867: 1-24
- Fardiaz S. 1993. Mikrobiologi Pangan. Penuntun praktek laboratorium. Teknologi Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Feliatra. 2001. Isolasi dan identifikasi bakteri heterotrof yang terdapat pada daun mangrove (*Avicenna sp.* dan *Sonneratia sp.*) dari kawasan stasiun kelautan Dumai. *J. Natur Indonesia* III(2): 104-112.
- Hatmanti A. 2003. Penyakit bakterial pada budidaya krustasea serta cara penanganannya. *J. Oseana* XXVIII(3): 1-10.
- Holt JG, Krieg NR, Sreath PHA, Staley JT, William CT. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition. Williams and Wilkins. Maryland. USA.
- Khairina R, Khotimah IK. 2006. Studi komposisi asam amino dan mikroflora pada ikan Betok. *J.Teknologi Pertanian* 7(2): 120-126.
- Mair NS. 1973. Yersiniosis in wildlife and its public health implications. *J of Wildlife Disease* 9: 1-8
- Sattar M, Paul DK, Arafat SMY, Khan MZH, Mia MC. 2006. Antibacterial activity of methanol extract of boal fish. *J CMU* 5 (3): 323-333.
- Standar Nasional Indonesia. 1992. SNI: 01-0729-1992. Ikan Segar. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Sofia Y, Tontowi, Rahayu S. 2010. Penelitian pengolahan air sungai yang tercemar oleh bahan organik. *J. Sumber Daya Air* 6(2): 1-10.
- Thayib SS, Suhadi F. 1981. Kumpulan Makalah Seminar Mikrobiologi II. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. LIPI Jakarta.