

Full Paper

EFEKTIVITAS KANAMYCIN TERHADAP FURUNCULOSIS PADA KARPER, *Cyprinus carpio*

THE EFFECTIVENESS OF KANAMYCIN AGAINST FURUNCULOSIS DISEASE TO CARP, *Cyprinus carpio*

Sri Retnoningsih^{1*}, Kamiso H. Nitimulyo², Kardiman Lanadimulya¹, Suprayogi¹, Supardi¹, Djoko Darmantani¹, Intan P. Panca¹, Hasnah¹, Soefaad¹ dan Milis¹

¹Balai Karantina Ikan (BKI) Kelas 1 Selaparang – Mataram
Jl. Adisucipto Mataram NTB-83124

²Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

*Penulis untuk korespondensi, E-mail: ret_xay@yahoo.co.id

Abstract

The aim of experiment was to determine the appropriate and effective dosis of kanamycin antibiotic in order to recover and clean the *Aeromonas salmonicida* which caused furunculosis in carp, *Cyprinus carpio*. The experiment consisted of the preliminary test [revirulence of *A. salmonicida*, sensitivity, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration test (MBC), lethal concentration-50 (LC₅₀) of *A. salmonicida* to carp] and the effectiveness antibiotic kanamycin test. The water quality was analyzed at the beginning and the end of the experiment, while histopathology was analyzed at the end of the experiment. The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) continued by least significant different and regression tests.

Based on the in vitro test, the value of MIC was 4 ppm and the value of MBC was 8 ppm, while the result of lethal concentration-50 (LC₅₀) *A. salmonicida* to carp was 1.07×10^5 cell/ml. Survival rate of carp at the end of experiment were 20% (treatment 0 ppm); 73.3% (treatment 16 ppm); 86.7% (treatment 32 ppm); 93.3% (treatment 48 ppm); 96.7% (treatment 64 ppm); and 100% (treatment 80 ppm). The survival rates were very significance difference ($P < 0.01$) among treatments and the treatments of kanamycin were very significant difference ($P < 0.01$) from positif control. The regression showed that there was correlation between the concentration of kanamycin and survival rates of carp by coefficient of correlation (R^2) at 0.9382.

Key words: *Aeromonas salmonicida*, carp, effectiveness, kanamycin

Pengantar

Aeromonas salmonicida merupakan penyebab penyakit furunculosis dan dapat menimbulkan kerugian ekonomi. Bakteri ini ditetapkan sebagai hama penyakit ikan karantina jenis bakteri golongan II berdasarkan Keputusan Menteri No.03/MEN/2010 dan karper yang termasuk dalam Famili Cyprinidae menjadi salah satu inang dari bakteri *A. salmonicida*.

Menurut Cipriano (2001), furunculosis merupakan penyebab beberapa septisemia dan kematian akut. Penyakit ini ditemukan pada salmon, tetapi bisa terjadi pada ikan mas, dan Genus *Cyprinus* lainnya salah satunya karper (*Cyprinus carpio*). Karper menguntungkan untuk dibudidayakan karena mudah berkembang biak, pertumbuhan cepat, mudah beradaptasi dengan lingkungan dan disukai masyarakat (Susanto, 1997). Tetapi dalam pengembangannya masih di jumpai kendala bukan saja dari segi teknis tetapi juga serangan penyakit (Hasan, 2000).

Upaya pencegahan penyakit dengan menggunakan bahan-bahan antibiotik telah banyak dilakukan terutama karena sifat antibiotik yang secara selektif menghambat dan membunuh organisme patogen tanpa merusak inang yang diobati sejauh dosisnya tepat (Herwig, 1979). Salah satu antibiotik yang banyak ditemukan di pasaran adalah kanamycin. Kanamycin merupakan antibiotik yang dapat digunakan untuk mengobati beberapa bakteri seperti *Mycobacterium sp*, *Edwardsiella tarda* (Herwig, 1979) dan termasuk *Aeromonas salmonicida* penyebab furunculosis (Post, 1989). Informasi tentang penggunaan kanamycin tersebut masih kurang dan masih belum memberikan gambaran yang jelas tentang dosis yang aman dalam penggunaannya.

Kamiso (1985) menyatakan apabila penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan galur baru yang resisten dan pencemaran lingkungan, tetapi apabila tepat dalam penggunaannya akan cukup efektif untuk pengobatan. Menurut Tjitro (1991), penggunaan antibiotik perlu perhitungan dosis

yang cukup selama periode waktu tertentu dengan mempertimbangkan secara teliti yang berkaitan dari segi efektivitas, keamanan dan ekonomis. Tujuan uji coba ini adalah untuk mengetahui dosis antibiotik kanamycin yang tepat dan efektif dalam rangka penyembuhan dan pembersihan *A. salmonicida* yang menginfeksi karper.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan dalam uji coba ini adalah karper ukuran panjang total rata-rata 14 cm dengan berat rata-rata 45 g, sebelum digunakan, ikan uji diberok dan diadaptasikan selama 1 (satu) minggu. Kultur murni *A. salmonicida* berasal dari Fakultas Kedokteran Hewan UGM, pakan ikan berupa pellet, antibiotik kanamycin cair, kanamycin *disk*, larutan standar Mc. Farland, larutan PBS (*Phosphat Buffer Saline*), *Triphic Soy Agar* (TSA), *Triphic Soy Broth* (TSB), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Plate Count Agar* (PCA) dan media untuk uji biokimia.

Revirulensi *A. salmonicida* pada Karper

Kultur murni *A. salmonicida* sebelum digunakan sebagai materi uji, bakteri diinfeksi pada karper yang sehat sebanyak 10 ekor ikan secara intraperitoneal 0,1 cc dengan konsentrasi bakteri $2,1 \times 10^9$ cfu/ml sesuai standar Mc. Farland (Faddin, 1980) untuk mengembalikan virulensinya. Gejala klinis penyakit mulai timbul (24 jam) setelah ikan diinfeksi, kemudian bakteri diisolasi dari organ internal ikan yang memperlihatkan gejala klinis. Isolasi dilakukan pada media TSA (diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam) dan dilanjutkan dengan uji biokimia, kemudian hasil dari uji biokimia dicocokkan dengan karakteristik bakteri awal, jika gejala klinis/penyakit yang timbul sama maka bakteri tersebut adalah sebagai penyakit (patogen).

Uji Sensitivitas *A. Salmonicida* terhadap Kanamycin

Uji sensitivitas bertujuan untuk mengetahui daya sensitif (zona hambat) kanamycin terhadap *A. salmonicida*. Uji sensitivitas ini menggunakan Mueller Hinton Agar (MHA) *double layer* dengan metode "Kirby-Bauer". Kultur *A. salmonicida* cair umur 24 jam dimasukkan dalam MHA 0,7% yang telah didinginkan sampai sekitar suhu 60°C , dihomogenkan sampai merata kemudian dituangkan pada MHA *plate* didiamkan hingga beku. Antibiotik diletakkan di atas permukaan MHA *double layer* tersebut (inkubasi pada suhu 28°C) setelah 24 jam dilakukan pengamatan dan pengukuran zona terang di sekeliling *disk* antibiotik

kemudian diinterpretasikan sesuai dengan tabel zona hambatan standar Kirby-Bauer (Jang *et al.*, 1980).

Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimum Bactericidal Concentration (M-BC)

Uji MIC dengan menggunakan metode *Tube Dilution Test* bertujuan untuk menentukan dosis terendah suatu antibiotik yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan uji MBC bertujuan untuk menentukan dosis terendah suatu antibiotik yang dapat membunuh bakteri. Metode *Tube Dillution Test* yaitu dengan membuat serial konsentrasi obat pada media cair. Media yang telah diisi dengan konsentrasi obat tersebut diinokulasi *A. salmonicida* dengan konsentrasi $2,1 \times 10^9$ cfu/ml dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam kemudian di amati media yang berisi konsentrasi antibiotik yang tetap bening (tidak ada pertumbuhan bakteri). Media yang tetap bening tersebut dimasukkan dalam MHA *plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 28°C lalu dilakukan pengamatan. Konsentrasi antibiotik terendah yang terdapat pertumbuhan bakteri sebagai hasil MIC sedangkan konsentrasi antibiotik terendah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri sebagai hasil MBC.

Uji Lethal Concentration 50 (LC_{50}) *A. salmonicida* pada Karper

Uji LC_{50} dengan metode *Dragstedt Behrens*, bertujuan untuk mengetahui konsentrasi *A. salmonicida* yang dapat menyebabkan 50% kematian ikan uji. Perlakuan pada uji LC_{50} berupa perendaman ikan pada *A. salmonicida* selama 24 jam dengan konsentrasi bakteri bertingkat, yaitu 10^1 , 10^3 , 10^5 , dan 10^7 cfu/ml (konsentrasi awal $2,1 \times 10^9$ cfu/ml sesuai standar Mc. Farland). Uji ini dilakukan pada akuarium berukuran 60 cm x 30 cm x 35 cm berisi 20 liter air dengan kepadatan 10 ekor ikan per akuarium yang dilengkapi dengan aerator, masing-masing perlakuan dilakukan dengan 3 (tiga) ulangan. Selama pemeliharaan dilakukan pengamatan gejala penyakit, meliputi perubahan perilaku, gejala eksternal, gejala internal, dan dilakukan perhitungan jumlah rerata kematian ikan serta rerata waktu kematian (MTD).

Penghitungan Jumlah Bakteri

Penghitungan bakteri bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang masih tumbuh pada organ ikan. Organ ikan dikarenakan dan diencerkan secara bertingkat, kemudian masing-masing ditabur di atas *plate* agar, diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam kemudian dihitung kepadatannya.

Pengobatan Ikan dengan Menggunakan Kanamycin
Ikan uji diinfeksi terlebih dahulu dengan *A. salmonicida* dengan cara perendaman selama 24 jam kemudian dilakukan perlakuan pengobatan dengan menggunakan kanamycin. Pemeliharaan ikan uji dilakukan selama 14 hari (5 hari pertama masa pengobatan dan 9 hari berikutnya masa pemeliharaan) dan diberi pakan 1 kali/hari. Pengobatan dengan kanamycin dilakukan secara rendaman 3 jam/hari selama 5 hari berturut-turut. Hari ke- 2, ke- 6, dan ke-14 dilakukan penghitungan kandungan bakteri sampel ikan dari semua perlakuan. Pengamatan kualitas air meliputi suhu, derajat keasaman (pH), oksigen terlarut (DO), dan kesadahan. Organ yang dibuat jaringan adalah organ yang menjadi target infeksi *A. salmonicida*, yaitu: ginjal, insang, otot, dan kulit. Preparat jaringan organ dianalisis perubahannya dengan membandingkan organ karper yang terinfeksi *A. salmonicida* dengan karper yang telah dilakukan pengobatan. Perlakuan pengobatan sebagai berikut:

- K (-) : karper tanpa diinfeksi *A. salmonicida* dan tanpa diberi kanamycin (kontrol negatif).
K (+) : karper diinfeksi *A. salmonicida* tanpa diberi pengobatan (0x MBC).
A : karper diinfeksi *A. salmonicida* dan diberi kanamycin 2x MBC.
B : karper diinfeksi *A. salmonicida* dan diberi kanamycin 4x MBC.
C : karper diinfeksi *A. salmonicida* dan diberi kanamycin 6x MBC.
D : karper diinfeksi *A. salmonicida* dan diberi kanamycin 8x MBC.
E : karper diinfeksi *A. salmonicida* dan diberi kanamycin 10x MBC.

Analisis Data

Penghitungan prosentase tingkat kelangsungan hidup (*survival rate*) uji coba menggunakan rumus sebagai berikut (Effendie, 1979):

$$DKH = \frac{Nt}{No} \times 100\%$$

Keterangan :

- DKH : tingkat / daya kelangsungan hidup (%)
Nt : jumlah ikan uji yang hidup pada akhir uji coba (ekor)
No : jumlah ikan uji yang hidup pada awal uji coba (ekor)

Analisa hasil yang digunakan adalah analisis sidik ragam (ANOVA), uji beda nyata terkecil (BNT) dengan

tingkat kepercayaan (LSD) 95% dan 99%, serta uji regresi.

Hasil dan Pembahasan

Revirulensi A. salmonicida pada Ikan Karper
Aeromonas salmonicida dalam uji coba ini berasal dari isolat Fakultas Kedokteran Hewan UGM yang telah direinfeksi pada karper untuk meningkatkan virulensinya. Setelah karper menunjukkan gejala klinis maka dilakukan isolasi untuk melihat karakteristik bakteri, hasil uji biokimia bakteri dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil identifikasi isolat bakteri dapat disimpulkan bahwa bakteri yang direinfeksi adalah *A. salmonicida* sesuai dengan karakteristik *A. Salmonicida* standar Austin & Austin (2007) dan Bergey's (Holt *et al.*, 1994).

Menurut Indarjulianto (1989), bakteri yang di isolasi dari ikan yang sakit pada umumnya memiliki tingkat virulensi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan bakteri yang di isolasi dari lingkungan air. Hasil pemurnian *A. salmonicida* digunakan untuk menginfeksi ikan uji.

Antibiotik yang digunakan untuk perlakuan pengobatan adalah kanamycin. Kanamycin sangat efektif untuk pengobatan penyakit yang salah satunya disebabkan oleh *A. salmonicida* (Post, 1989), selain itu kanamycin merupakan antibiotik yang mudah didapat dengan harga terjangkau. Seperti yang dikemukakan oleh Tjitro (1991), pemilihan antibiotik harus mempertimbangkan faktor efektivitas (dosis yang aman untuk pemakaian) dan segi ekonomis (harga terjangkau dan mudah didapat).

Berdasarkan uji sensitifitas didapatkan zona hambat kanamycin dengan diameter 28 mm. Menurut Jang *et al.* (1980), kanamycin dengan zona hambat ≥ 18 mm berarti sensitif, sehingga dapat disimpulkan kanamycin sensitif terhadap *A. Salmonicida*. Kanamycin bersifat bakterisidal yang berarti antibiotik yang mampu membunuh bakteri (Herwig, 1979). Untuk mendapatkan konsentrasi pengobatan maka dilakukan uji MIC dan uji MBC dengan menggunakan metode *Tube Dilution Test*, dimana nilai MIC-nya 4 ppm dan nilai MBC-nya 8 ppm. Nilai MBC ini diharapkan dapat mengurangi kemungkinan terjadinya resistensi akibat pemakaian antibiotik dengan dosis yang tepat tanpa merusak inang (Herwig, 1979). Sebelum digunakan untuk penginfeksian karper, dilakukan uji LC_{50} , hasil penghitungan nilai LC_{50} *A. salmonicida* pada karper dengan panjang total rata-rata ikan 14 cm, didapatkan hasil $1,07 \times 10^5$ cfu/ml dengan rata-rata waktu kematian ± 7 hari. Seperti dikemukakan

Tabel 1. Karakteristik dan uji biokimia *A. salmonicida*.

Uji/ Test	<i>A. salmonicida</i> standar */ Standard of <i>A.</i> <i>salmonicida</i>	Hasil/ Result
OF	F	F
Motility	-	-
Katalase	+	+
Oksidase	+	+
Aesculine	+	+
Indol	-	-
Methyl red (MR)	+	+
Voges proskauer (VP)	-	-
Simmon citrat	-	-
Urea hydrolysis	-	-
Arginin dihidrolase	+	+
Lysin decarboxylase	v	+
Nitrat reduction	+	+
Ornithin decarboxylase	-	-
Phenylalanin deaminase	-	-
Gelatin	+	+
ONPG	v	-
Glukosa Acid	+	+
Glukosa Gas	gas	gas
Laktosa	-	-
Sukrosa	-	-
Maltosa	+	+
Manitol	+	+
Dulcitol	-	-
Inositol	-	-
Xylose	-	-
Sorbitol	-	-
Adonitol	-	-
Arabinosa	-	-
Raffinosa	-	-
Rhamnosa	-	-
Salicin	v	+
Trehalose	+	+

Ket:

+ = positif - = negatif v = variabel

F = fermentative

*) Sumber: Holt *et al.* (Bergey's, 1994)

oleh Saroni *et al.* (1993), keadaan ikan yang sakit ditentukan oleh 3 (tiga) unsur, yaitu virulensi patogen, jumlah patogen dan ketahanan inang.

Uji efektifitas kanamycin terdiri dari 6 (enam) perlakuan pengobatan dengan cara perendaman. Menurut Gan (1980), bahwa kanamycin merupakan senyawa polikation yang bersifat basa kuat dan sangat polar, baik dalam bentuk basa atau garam dan bersifat mudah larut dalam air. Hasil pengamatan daya kelangsungan hidup (DKH) ikan pada uji utama tersaji

pada Tabel 2, yaitu 20% (perlakuan kontrol positif tanpa pengobatan); 73,3% (perlakuan A (2x MBC) = 16 ppm); 86,7% (perlakuan B (4x MBC) = 32 ppm); 93,3% (perlakuan C (6x MBC) = 48 ppm); 96,7% (perlakuan D (8x MBC) = 64 ppm); dan 100% (perlakuan E (10x MBC) = 80 ppm). Hubungan konsentrasi kanamycin dengan daya kelangsungan hidup (DKH) karper diilustrasikan pada Gambar 1, dimana semakin tinggi konsentrasi kanamycin semakin tinggi pula daya atau tingkat kelangsungan hidupnya.

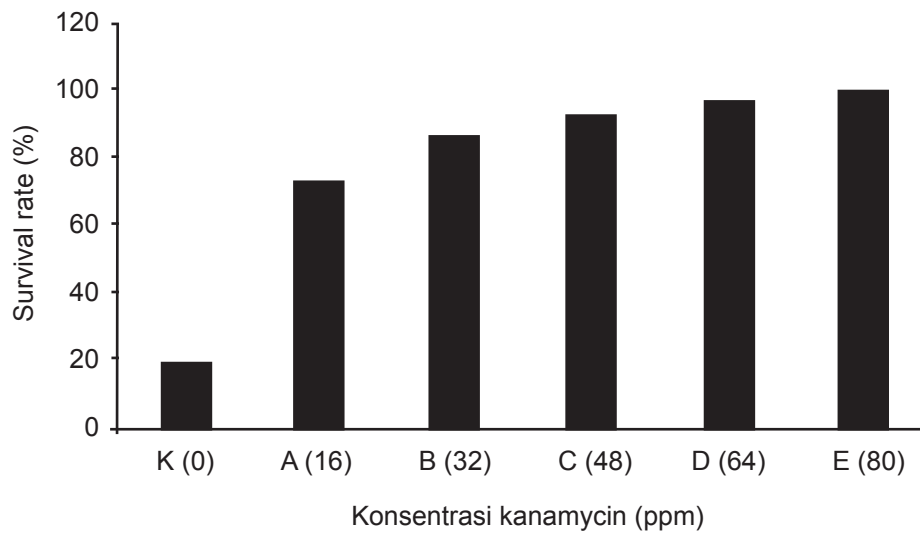
Konsentrasi kanamycin 80 ppm masih cukup aman untuk karper karena menurut Gan (1980), batas kontrol yang didapat pada kanamycin sebesar 100 ppm selama 5-10 hari pengobatan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kusmayadi (2004), kanamycin dapat mengobati furunculosis pada ikan lele, *Clarias gariepinus* dengan dosis 100 ppm. Pemberian kanamycin memberikan pengaruh nyata terhadap kelangsungan hidup karper yang terinfeksi *A. salmonicida*, seperti yang dikemukakan oleh Post (1989) bahwa kanamycin efektif untuk *A. salmonicida*. Daya kelangsungan hidup (DKH) mencapai 100% pada perlakuan pengobatan kanamycin dengan konsentrasi 80 ppm (perlakuan E = 10x MBC) selama 5 hari berturut-turut.

Hubungan antara konsentrasi pengobatan dengan tingkat/daya kelangsungan hidup ikan di analisa dengan analisa *Rational Function Regression* dan didapatkan persamaan regresi, yaitu $y = -0,0202x^2 + 2,4697x + 27,014$ dengan koefisien korelasi sebesar $R^2 = 0,9382$, dimana pada grafik (Gambar 2) diperoleh diagram pencaran yang ditunjukkan oleh garis yang biasa disebut sebagai garis best fit, berdasarkan Hadi (2000), bahwa garis best fit merupakan garis yang mewakili semua titik yang terpecah-pecah. Titik-titik yang merupakan nilai variabel x (konsentrasi antibiotik) dan variabel y (daya kelangsungan hidup ikan) menyebar di sekitar garis, berarti terdapat hubungan yang kuat di antara kedua variabel tersebut dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,9382. Berdasarkan hasil koefisien korelasi menunjukkan bahwa 93,82% daya kelangsungan hidup (DKH) karper dipengaruhi oleh konsentrasi kanamycin sebagai pengobatan. Koefisien korelasi menunjukkan besarnya variabel y dipengaruhi oleh variabel x (Sulaiman, 2003).

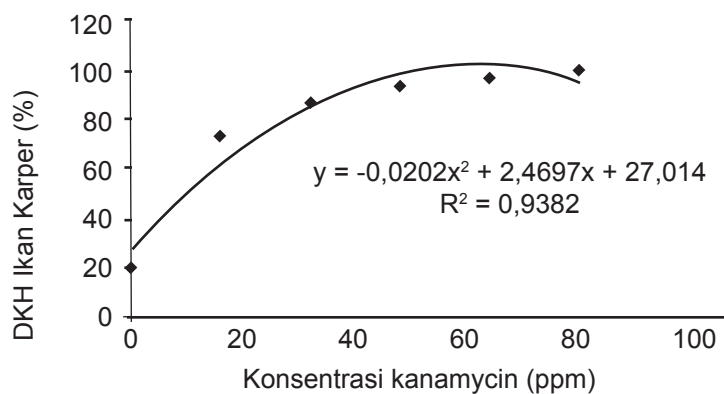
Berdasarkan analisa sidik ragam (ANOVA) ikan yang hidup dengan tingkat kepercayaan 95% dan 99%, F Hitung (69,835) lebih besar dari F Tabel 0,05 (3,11) dan F Tabel 0,01 (5,06), menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan, sedangkan dari hasil

Tabel 2. Daya kelangsungan hidup (DKH) dan *mean time to death* (MTD) karper, *Cyprinus carpio*.

Perlakuan/ Treatment	Konsentrasi/ Concentration (ppm)	Ulangan/repetition			Σ	Rerata/ Rates	DKH/ SR (%)	MTD (hari/ day)
		1	2	3				
K (0x MBC)	0	2	3	1	6	2	20	1,669
A (2x MBC)	16	7	7	8	22	7,33	73,3	3,167
B (4x MBC)	32	8	9	9	26	8,67	86,7	4,167
C (6x MBC)	48	9	9	10	28	9,33	93,3	4
D (8x MBC)	64	10	10	9	29	9,67	96,7	5
E (10x MBC)	80	10	10	10	30	10	100	0
Kontrol negatif	0	10	10	10	30	10	100	0



Gambar 1. Konsentrasi kanamycin dengan daya kelangsungan hidup (*survival rate*) karper.



Gambar 2. Hubungan antara konsentrasi kanamycin dengan daya kelangsungan hidup (*survival rate*) karper.

Uji Beda Nyata terkecil (BNT) perlakuan pada kontrol positif (K), yaitu perlakuan dengan penginfeksi dan tanpa pengobatan (0 x MBC) berbeda sangat nyata dengan perlakuan A (16 ppm), B (32 ppm), C (48 ppm), D (64 ppm), dan E (80 ppm); perlakuan A berbeda sangat nyata dengan perlakuan B, C, D, dan E; perlakuan B berbeda sangat nyata dengan

perlakuan E, berbeda nyata dengan perlakuan D, dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan C; perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan D dan E; sedangkan perlakuan D tidak berbeda nyata dengan perlakuan E.

Ikan uji yang sakit memperlihatkan tingkah laku, seperti gerakan renang yang lemah, memisahkan diri

dari kelompoknya, hilangnya keseimbangan, megap-megap di permukaan, reaksi terhadap rangsangan lambat, nafsu makan berkurang bila dibandingkan dengan ikan uji yang telah diobati tampak kembali normal. Hasil pengamatan terhadap gejala klinis ikan uji yang terinfeksi *A. salmonicida*, yaitu luka bengkak, sisik terlepas, terjadi *petikiae* (bintik perdarahan), sirip ekor putus, warna tubuh pucat, anus bengkak, terdapat memar seperti pada sirip dada, sirip perut serta di bawah mulut.

Menurut Nabib & Fachriyan (1989), gejala klinis atau tanda-tanda utama akibat serangan *A. salmonicida* adalah luka yang khas, yaitu nekrosis dalam otot berupa pembengkakan di bawah kulit (*furuncle*); pembengkakan biasanya menjadi luka berisi nanah, darah dan jaringan yang rusak di tengah luka tersebut terbentuk cekungan, pada serangan akut tanda-tanda yang menyeluruh mungkin tidak tampak, pendarahan dari luka jaringan pada pangkal sirip dada, sirip perut, insang, sirip geripis, sedangkan *petikiae* umumnya terjadi pada permukaan kulit dan sirip (Inglis *et al.*, 1993). Setelah dilakukan pengobatan dengan kanamycin terjadi perubahan yang cukup signifikan terhadap pemulihan ikan uji yang rata-rata menuju

normal, dimana prinsip kerja kanamycin menghambat sintesa protein dari bakteri (Herwig, 1979).

Untuk mengetahui karper yang diobati benar-benar bersih dari *A. salmonicida* maka dilakukan reisolasi dan penghitungan *Total Plate Count* (TPC) pada hari ke-2, ke-6, dan ke-14 (akhir pengamatan) yang berasal dari media air, kulit, insang, hati, ginjal, dan darah. Hasil isolasi hari ke-14 (akhir pengamatan) pada perlakuan E (10x MBC) dengan konsentrasi pengobatan 80 ppm kanamycin sudah tidak terjadi pertumbuhan bakteri baik pada media air, kulit, insang, hati, ginjal, dan darah (Tabel 3).

Reisolasi dari media air, kulit dan insang untuk perlakuan A masih tampak adanya pertumbuhan bakteri pada hari ke-14, sedangkan perlakuan B, perlakuan C, perlakuan D dan perlakuan E sudah tidak ada pertumbuhan bakteri. Reisolasi dari organ ginjal pada perlakuan A, perlakuan B dan perlakuan C masih terlihat adanya pertumbuhan bakteri di akhir pengamatan (hari ke-14), karena ginjal merupakan organ ekskresi yang mengekskresi sisa metabolisme sehingga masih dimungkinkan terjadinya pertumbuhan bakteri dari sisa-sisa ekskresi (Wakita *et al.*, 2007),

Tabel 3. Hasil perhitungan *total plate count* (TPC).

Isolat	hari ke-	<i>Total Plate Count</i> (TPC) (cfu/ml)					
		Kontrol (0x MBC)	A (2x MBC)	B (4x MBC)	C (6x MBC)	D (8x MBC)	E (10x MBC)
Air	0	28,4 x 10 ⁶	28,4 x 10 ⁶	28,4 x 10 ⁶	28,4 x 10 ⁶	28,4 x 10 ⁶	28,4 x 10 ⁶
	2	27,0 x 10 ⁶	26 x 10 ⁶	11,42 x 10 ⁶	11,13 x 10 ⁶	0	0
	6	24,44 x 10 ⁶	19,2 x 10 ⁶	0	0	0	0
	14	21,82 x 10 ⁶	6 x 10 ⁶	0	0	0	0
Kulit	0	43,6 x 10 ⁶	43,6 x 10 ⁶	43,6 x 10 ⁶	43,6 x 10 ⁶	43,6 x 10 ⁶	43,6 x 10 ⁶
	2	40,72 x 10 ⁶	39,2 x 10 ⁶	16,84 x 10 ⁶	21,3 x 10 ⁶	0	0
	6	37,22 x 10 ⁶	20,5 x 10 ⁶	3,6 x 10 ⁶	0	0	0
	14	34,02 x 10 ⁶	6,72 x 10 ⁶	0	0	0	0
Insang	0	44,52 x 10 ⁶	44,52 x 10 ⁶	44,52 x 10 ⁶	44,52 x 10 ⁶	44,52 x 10 ⁶	44,52 x 10 ⁶
	2	42,8 x 10 ⁶	40,08 x 10 ⁶	28,22 x 10 ⁶	32,4 x 10 ⁶	0	0
	6	37,62 x 10 ⁶	17,24 x 10 ⁶	8,2 x 10 ⁶	0	0	0
	14	28,18 x 10 ⁶	4,92 x 10 ⁶	0	0	0	0
Hati	0	45,68 x 10 ⁶	45,68 x 10 ⁶	45,68 x 10 ⁶	45,68 x 10 ⁶	45,68 x 10 ⁶	45,68 x 10 ⁶
	2	43,42 x 10 ⁶	41,78 x 10 ⁶	40,62 x 10 ⁶	25,34 x 10 ⁶	0	0
	6	37,60 x 10 ⁶	32,58 x 10 ⁶	23,34 x 10 ⁶	0	0	0
	14	30,24 x 10 ⁶	7,68 x 10 ⁶	7 x 10 ⁶	0	0	0
Ginjal	0	40,82 x 10 ⁶	40,82 x 10 ⁶	40,82 x 10 ⁶	40,82 x 10 ⁶	40,82 x 10 ⁶	40,82 x 10 ⁶
	2	38,18 x 10 ⁶	36,9 x 10 ⁶	33,24 x 10 ⁶	27,62 x 10 ⁶	3,6 x 10 ⁶	2,08 x 10 ⁵
	6	31,42 x 10 ⁶	25,06 x 10 ⁶	19,64 x 10 ⁶	14,36 x 10 ⁶	1,6 x 10 ⁵	0
	14	21,22 x 10 ⁶	6,92 x 10 ⁶	5,68 x 10 ⁶	3,24 x 10 ⁶	0	0
Darah	0	34,78 x 10 ⁶	34,78 x 10 ⁶	34,78 x 10 ⁶	34,78 x 10 ⁶	34,78 x 10 ⁶	34,78 x 10 ⁶
	2	30,62 x 10 ⁶	29,76 x 10 ⁶	26,9 x 10 ⁶	26,28 x 10 ⁶	3,24 x 10 ⁶	3,56 x 10 ⁵
	6	24,82 x 10 ⁶	22,16 x 10 ⁶	13,34 x 10 ⁶	12,42 x 10 ⁶	2,44 x 10 ⁵	0
	14	19,82 x 10 ⁶	6,36 x 10 ⁶	4,32 x 10 ⁶	3,44 x 10 ⁶	1,56 x 10 ⁵	0

sedangkan pada perlakuan D dan perlakuan E sudah tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri. Reisolasi dari darah pada perlakuan D (64 ppm) masih tampak pertumbuhan bakteri di akhir pengamatan (hari ke-14), karena *A. salmonicida* merupakan bakteri septicemia, yaitu bakteri yang menginfeksi darah dan beredar dalam peredaran darah (English *et al.*, 1993), sedangkan pada perlakuan E (hari ke-14) sudah tidak tampak adanya pertumbuhan bakteri pada darah.

Pengobatan dengan kanamycin menunjukkan hasil yang signifikan terbukti dari konsentrasi bakteri yang semakin menurun pada setiap pengamatan (Tabel 3), tingkah laku ikan kembali normal, tidak tampak adanya gejala klinis pada ikan di akhir pengobatan. Berdasarkan perhitungan *total plate count* (Tabel 3) pada konsentrasi kanamycin 80 ppm (perlakuan E, 10x MBC) sudah tidak tampak pertumbuhan bakteri baik pada media air, kulit, insang, hati, ginjal, dan darah. Hal ini menunjukkan antibiotik kanamycin dengan konsentrasi 80 ppm sudah dapat mengobati dan membersihkan karper dari infeksi yang disebabkan oleh *A. salmonicida*.

Berdasarkan hasil uji histopatologi, organ kulit mengalami radang dapat dilihat pada Gambar 3 (pembesaran 400x), radang merupakan suatu reaksi vaskuler dan seluler jaringan hidup terhadap adanya iritasi (Kurniasih, 2002), setelah dilakukan pengobatan dengan kanamycin kulit tampak normal. Organ otot juga mengalami radang dapat dilihat pada Gambar 4 (pembesaran 400x), radang pada otot atau myositis (Wakita *et al.*, 2007) dimana bila kulit terbuka atau luka maka sangat mudah terjadi infeksi di dalam lapisan otot lateral, setelah dilakukan pengobatan maka jaringan otot tampak normal.

Organ ginjal terjadi hemoragi, hemoragi atau pendarahan adalah keluarnya darah dari pembuluh darah, baik keluar tubuh maupun ke dalam jaringan tubuh, secara mikroskopik terlihat eritrosit di luar pembuluh darah (Kurniasih, 2002). Karper yang telah dilakukan pengobatan tampak adanya melanomakrofag, yaitu sejenis makrofaga yang mempunyai banyak pigmen melanin di dalam sitoplasmanya (Wakita *et al.*, 2007). *A. salmonicida* menyebabkan monosit dalam pembuluh darah meningkat pada ginjal (Robert, 2001) dimana monosit sebagai benda asing digumpalkan oleh sel yang umumnya terdiri dari makrofag, sehingga terjadi penumpukan melanomakrofag pada jaringan interstisial di ginjal (Wakita *et al.*, 2007).

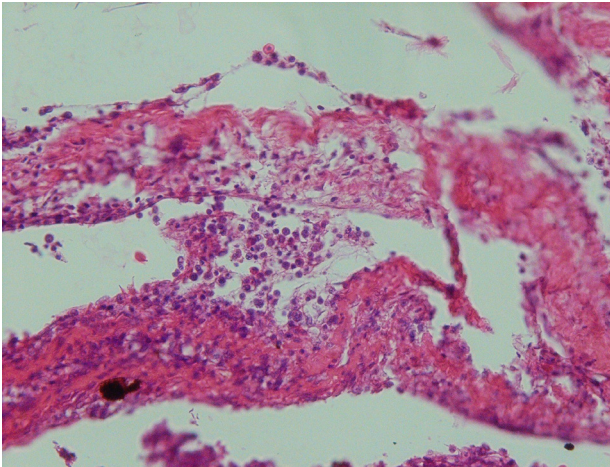
Organ insang terjadi hemoragi, dimana *A. salmonicida* umumnya menyebabkan hemoragi pada insang

(English *et al.*, 1993), selain itu pada terjadi pelekatan lamela insang sekunder atau adesi lamela insang sekunder. Adesi terjadi pada kondisi insang dengan ruang antara lamela insang sekunder (lamela dari selaput lendir yang berada sepanjang kedua sisi filamen insang dan terdapat pembuluh darah kapiler, struktur ini merupakan tempat pertukaran gas) dengan sel intermella saling berdekatan, jadi insang akan terlihat menyatu pada pengamatan histologi (Wakita *et al.*, 2007). Adesi ini menyebabkan ikan kesulitan bernafas karena lamela insang telah tertutup oleh sel-sel intermella, sel ini berada di antara lamella insang sekunder dan dapat mengganda dengan cepat serta merusak lamela insang sekunder. Karper yang telah diobati dengan kanamycin masih tampak adanya adesi, karena insang merupakan organ yang berhubungan secara langsung dengan air (lingkungan) yang dipengaruhi oleh perubahan fisika, kimia, dan biologi air sehingga diperlukan waktu untuk proses pemulihan lamela insang itu sendiri. Selain itu pada insang terjadi proliferasi (pertumbuhan atau pembelahan sel) pada jaringan kartilago hialin, di mana kartilago hialin merupakan jaringan ikat (Kurniasih, 1999).

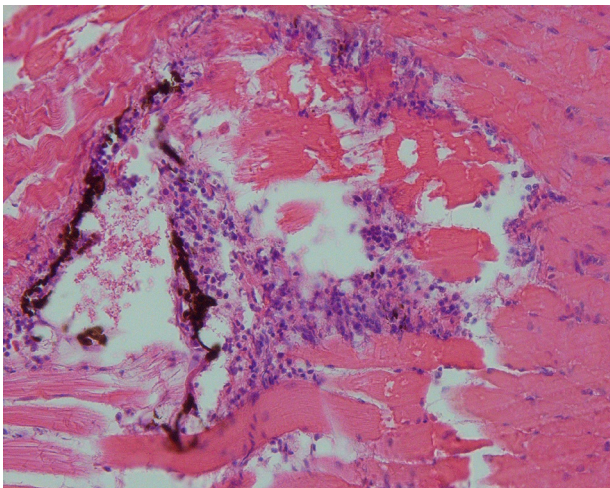
Kisaran pengamatan parameter kualitas air pada awal dan akhir uji coba. Suhu air awal perlakuan berkisar 26°C–27°C dan akhir perlakuan 26°C–27,5°C. Kisaran suhu masih dalam batas yang layak untuk pemeliharaan karper, yaitu 26°C–28°C (Bachtiar, 2002), sedangkan menurut Thurston (1979), persyaratan kualitas air untuk kehidupan ikan air tawar yang baik adalah antara 25°C–28°C. Pengukuran pH pada awal dan akhir perlakuan berkisar 7-8, kisaran ini masih cukup layak dimana menurut Bachtiar (2002), kisaran pH untuk karper berkisar 6,5–8,5. Menurut Afrianto & Liviawaty (1992), pH 6,5–9 baik untuk produksi. Pengukuran oksigen terlarut pada awal dan akhir uji berkisar 6 ppm–8 ppm, menurut Bachtiar (2002) kisaran yang layak untuk kehidupan ikan 4 ppm–10 ppm, sehingga kisaran oksigen terlarut pada media uji masih cukup layak. Pengukuran kesadahan pada awal dan akhir perlakuan berkisar 80 mg/l - 90 mg/l, menurut Cholik *et al.* (1986) bahwa kisaran yang layak untuk budidaya ikan berkisar 20 mg/l - 300 mg/l. Kisaran parameter kualitas air pada perlakuan pengobatan masih dalam batas wajar, sehingga kualitas air tidak begitu berpengaruh terhadap karper karena masih dalam kisaran yang layak.

Kesimpulan

Nilai MIC kanamycin terhadap *A. salmonicida* adalah 4 ppm sedangkan nilai MBC-nya 8 ppm. Perlakuan kanamycin memberi pengaruh yang sangat nyata



Gambar 3. Fotomikrograf kulit karper, *Cyprinus carpio* yang terinfeksi *A. salmonicida* menunjukkan peradangan, H & E. 400x.



Gambar 4. Fotomikrograf otot karper, *Cyprinus carpio* yang terinfeksi *A. salmonicida* menunjukkan peradangan, H & E. 400x.

terhadap infeksi *A. salmonicida* pada karper. Dosis kanamycin 80 ppm merupakan dosis yang efektif untuk penyembuhan dan pembersihan *A. Salmonicida* yang menginfeksi karper dalam jangka waktu 14 hari dengan tingkat kelangsungan hidup mencapai 100%.

Saran

1. Perlu dilakukan ujicoba dengan konsentrasi kanamycin yang dapat menyembuhkan dan membersihkan bakteri kurang dari 14 hari.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas kanamycin baik secara akut maupun kronis terhadap karper, hal ini penting untuk mengetahui dampak kanamycin terhadap kehidupan ikan.

3. Perlu analisis residu kanamycin pada ikan diberbagai organ, hal ini penting untuk mengetahui tingkat keamanan pada ikan yang diobati untuk konsumsi (*food safety*)

Daftar Pustaka

- Afrianto, E. & E. Liviawaty. 1992. Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan. Kanisius. Yogyakarta. 56 hal.
- Austin, B. & D.A. Austin. 2007. Bacterial Fish Pathogen: Disease in Farmed and Wild Fish. John Willey and Sons Ltd, England. 90 p.
- Bachtiar, Y. 2002. Pembesaran ikan mas di kolam pekarangan. Agromedia Pustaka. Jakarta. 55 hal.
- Cholik, F. Artati & R. Arifudin. 1986. Pengelolaan kualitas air kolam. Direktorat Jenderal Perikanan Departemen Pertanian. Jakarta. 48 hal.
- Cipriano, R.C. 2001. Furunculosis and other diseases caused by *aeromonas salmonicida*. <http://www.lsc.usgs.gov/fhb/leaflets/FHB66.pdf>. diakses tanggal 2 Juni 2010.
- Effendi, N.I. 1979. Metode biologi perikanan. Yayasan Dewi Sri. Bogor. 91 hal.
- Faddin, J.F. 1980. Biochemical test for identification of medical bacteria. Second Edition, Williams & Willkins, Baltimore. London. 527 p.
- Sulistia, G.1980. Farmakologi dan Terapi Edisi 2. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 125 hal.
- Hadi, S. 2000. Statistik 2. Andy Offset. Yogyakarta. 87 hal.
- Hasan, B. 2000. Laporan tahunan tahun anggaran 2000. Dinas Perikanan dan Kelautan Propinsi Nusa Tenggara Barat. Mataram. 59 hal.
- Herwig, N. 1979. Hand book of drugs and chemical used in the treatment of fish disease. Charles C. Thomas Publiser Illionis. USA. 127 p.
- Holt G.J., R.N. Krieg, A.H.P. Sneath, T.J. Staley & T.A. Williams. 1994. Bergeys's Manual of Determinative Bacteriology Ninth edition. Williams and Wilkins Awaverly Company. USA. 787 p.
- Indarjulianto, S. 1989. Penyakit Bakterial Ikan. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 72 hal.
- Inglish, V., R.J. Roberts & N.R. Bromage. 1993. Bacterial Diseases of Fish. Institute of Aquaculture. Blackwell Scientific Publications. London. 135 p.

- Jang, S.S., E.L. Biberstein & D.C. Hirsh. 1980. A. Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology. UNESCO/CIDA Regional Training Course in Veterinary Diagnostic Microbiology. Peradeniya. 86 p.
- Kamiso, H.N. 1985. Patogenitas dan Patologi *Vibrio* sp. pada Salmon. Jurusan Perikanan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 65 hal.
- Kurniasih. 1999. Penentuan Proses Jaringan dan Atlas Histologi Ikan. Pusat Karantina Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta. 49 hal.
- Kurniasih. 2000. Histopatologi dari Beberapa Penyakit Ikan. Pusat Karantina Pertanian. Departemen Pertanian. Jakarta. 68 hal.
- Kusmayadi. 2004. Patogenitas dan Efektifitas Beberapa Jenis Antibiotik terhadap Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang diinfeksi *Aeromonas salmonicida* Isolat Strain E.51. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 89 hal.
- Nabib, R. & H.P. Fachriyan. 1989. Patologi dan Penyakit Ikan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor. 60 hal.
- Post, G. 1989. Text Book of Fish Health. TFH Publication, Inc. 105 p.
- Robert, R.J. 2001. Fish Pathology Third Edition. W.B. Saunders. London. 69 p.
- Sarono, A., Widodo, N. Thalib & E.B.S. Haryani 1993. Deskripsi Hama dan Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri. Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 79 hal.
- Sarono. 1993. Tindakan Karantina terhadap Media Pembawa Hama dan Penyakit Ikan Karantina (Parasit, Mikotik, dan Bakteri). Pusat Karantina Pertanian. Jakarta. 80 hal.
- Sulaiman, W. 2003. Statistik Non Parametrik Contoh Kasus dan Pemecahannya dengan SPSS. Andy Offset. Yogyakarta. 96 hal.
- Susanto, H. 1997. Budidaya Ikan Pekarangan. Penerbit Swadaya. Jakarta. 58 hal.
- Thurston, R.V. 1979. Quality Criteria for Water Quality Section. American Fisheries Society Bethesda. 106 p.
- Tjitro, H. 1991. Gambaran Darah dan Histopatologi Sumsum Tulang, Hati, Ginjal dan Limfa yang Diberi Kloramfenicol dan Vitamin B₁₂. Tesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 92 hal.
- Wakita, K., N. Panigoro, I. Astuti, M. Bahnan & P. Salfira. 2007. Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-Dasar Histopatologi Ikan. Balai Budidaya Air Tawar. Jambi. 69 hal.