



**PEMBENTUKAN BIOFILM PATOGEN *Mycobacterium fortuitum*
PADA PERMUKAAN SISIK IKAN DAN PLASTIK PVC
DI PERAIRAN TAWAR**

***FORMATION OF PATHOGENIC BIOFILM *Mycobacterium fortuitum*
ON FISH SCALES AND PVC PLASTICS SURFACE
IN FRESHWATER***

Dewi Rulia Br Sitepu

STKIP Budidaya, Binjai

Email : dewiruliasitepu@gmail.com,

Jalan Nenas 1 No 5A Binjai, 20717

ABSTRACT

M. fortuitum is a cause of *Mycobacteriosis* in freshwater. This study aims to determine the ability of *M. fortuitum* to form biofilms on fish scales and PVC plastic surface . The formation of *M. fortuitum* biofilm was cultured for 1 day, 3 days, and 5 days on Nutrient Broth (NB) and then calculated the number of cells using Plate Count Agar (PCA) using the Total Plate Count (TPC) method. The results of this study showed that the highest number of biofilm cells on day 3 was 7 log CFU / fish scales plate and 5 log CFU / polyvinyl Chloride (PVC) plastic plates.

Keywords : *M. fortuitum*, biofilm, fish scale, PVC plastic

ABSTRAK

M. fortuitum merupakan penyebab penyakit *Mycobacteriosis* pada ikan perairan tawar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *M. fortuitum* membentuk biofilm pada permukaan sisik ikan dan plastik PVC. Pembentukan biofilm *M. fortuitum* dikultur selama 1 hari, 3 hari, dan 5 hari pada media *Nutrient Broth* (NB) kemudian dilakukan perhitungan jumlah sel dengan menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa Jumlah sel biofilm tertinggi pada hari ke-3 yaitu 7 log CFU/lempeng sisik ikan dan 5 log CFU/lempeng plastik *Polyvinyl Chloride* (PVC).

Kata Kunci: *M. fortuitum*, biofilm, sisik ikan, plastik PVC

PENDAHULUAN

Mycobacteriosis ialah penyakit yang paling signifikan sebagai pembunuh utama ikan dalam perairan tawar dan ikan yang terinfeksi memungkinkan menularkannya kepada manusia (Irianto, 2005). *Mycobacteriosis* adalah salah satu penyakit yang ditimbulkan oleh *Mycobacterium fortuitum*. Gejala klinis yang ditimbulkan pada ikan antara lain ialah mata menonjol (*exophthalmia* atau *pop eye*), pembengkakan vena dan luka pada tubuh, dan pada ikan dewasa terjadi hambatan seksual, penurunan fekunditas, pertumbuhan terhambat, warna pucat, lordosis, skoliosis, dan sirip rusak. Pada organ dalam terjadi bintil (*nodular*) atau tuberkel berwarna putih keabu-abuan antara lain pada hati, ginjal, dan limpa (Purwaningsih, 2010). *M. fortuitum* merupakan jenis patogen oportunistik,



saprofit, resisten terhadap antibiotik dan disinfektan (Brooks *et al.* 1984) serta tumbuh dalam waktu yang sangat cepat.

Biofilm terbentuk dari sel bakteri planktonik yang berakumulasi pada permukaan. Perlekatan beberapa sel bakteri membentuk mikrokoloni. Mikrokoloni adalah kumpulan kecil dari beberapa sel bakteri yang akan membentuk biofilm. Polisakarida dari setiap sel melekat pada seluruh permukaan dan menghasilkan sinyal- sinyal komunikasi antar setiap sel untuk memperluas bidang penempelannya. Komponen polisakarida menjadikan permukaan tersebut menjadi polar. Dan kepolaran tersebut menjadikan biofilm sulit untuk dilepaskan (Barnes and Caskey, 2002)

Mikroorganisme dapat terakumulasi di permukaan padat menempel, berkembang, dan membentuk biofilm pada areal akuakultur sehingga dapat merugikan budidaya perikanan disamping itu dapat menjadi sumber utama kontaminasi, terlebih dengan meningkatnya sifat resistensi sel biofilm terhadap senyawa-senyawa pembersih dan sanitizer (Dewanti dan Hariyadi, 1997). Sumber utama penyakit ini ialah mikroorganisme yang pada akuakultur berupa sel planktonik (sel yang melayang bebas pada lingkungan air) dan sel biofilm yang menempel pada permukaan serta membentuk lapisan padat (Flemming, 2008). Sel biofilm bakteri dapat menempel pada berbagai permukaan padat baik biotik maupun abiotik (Characklis & Marshall, 1990) sehingga dapat menimbulkan penyakit pada ikan.

METODE PENELITIAN

Isolasi bakteri patogen *Mycobacterium fortuitum*. Isolat *M. fortuitum* MF-18 diperoleh dari Balai Riset Perikanan Air Tawar Sempur, Bogor. Pada tahapan ini *M. fortuitum* dilakukan peremajaan isolat dengan metode Schved (1993) yaitu diawali dengan penyegaran isolat *M. fortuitum* yang diinokulasikan pada media NB kemudian diinkubasi pada suhu 28 °C selama 24 jam. Sebanyak 25 µL bakteri tersebut diinokulasikan pada media padat MHA sambil dikocok merata hingga bercampur. Dituangkan dalam cawan petri kemudian disebar menggunakan *cotton bath*. Sebanyak 30 µL kultur BAL dispotkan dalam kertas cakram dalam satu cawan dilakukan inkubasi pada suhu 28 °C selama 24 jam.



Pembentukan Sel Biofilm *M. fortuitum*. Sisik ikan dipilih dengan luas permukaan yang mendekati luas 1cm^2 dan plastik jenis PVC dipotong seluas 1cm^2 , dicuci dengan larutan deterjen pada bak sonikator selama 15 menit, kemudian disterilkan dengan otoklaf selama 15 menit, tekanan 1 atm pada suhu $121\text{ }^\circ\text{C}$. Sisik ikan dan plastik PVC digunakan sebagai analogi permukaan padat di kolam ikan. Isolat murni *M. fortuitum* ditumbuhkan pada media NB dengan konsentrasi sel 10^8 CFU/mL dengan memperhatikan nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer dalam labu Erlenmeyer 250 mL setelah itu masing-masing lempeng sisik ikan dan plastik PVC dimasukkan ke dalam media pengkulturan tersebut kemudian diaerasi setiap 15 menit sekali pada suhu $28\text{ }^\circ\text{C}$ selama 1 hari, 3 hari, dan 5 hari.

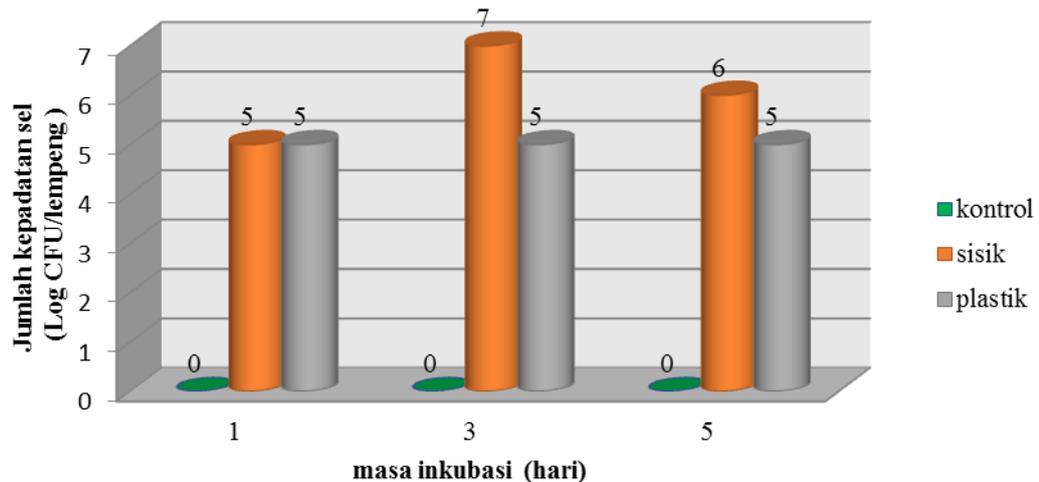
Perhitungan Sel Biofilm *M. fortuitum*. Sisik ikan dan plastik PVC diangkat dari kultur, dibilas sebanyak 3 kali dengan 10 mL akuades steril kemudian dimasukkan ke 9 mL larutan garam fisiologis (NaCl 0.85%) yang ditambah dengan 0.5 gr manik-manik kaca (*glass bead*), dan divortek untuk melepas sel biofilm. Sebanyak 1 mL kultur dituang pada media PCA secara aerobik, diinkubasi pada suhu ruang $28\text{ }^\circ\text{C}$ selama 24 jam. Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah sel. Perlakuan diulang sebanyak 2 kali (Jamilah & Priyani, 2012). Kontrol berupa media NB yang berisi masing-masing lempeng tanpa penambahan senyawa antibakteri ekstrak kasar BAL.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembentukan Biofilm *M. fortuitum* pada permukaan sisik ikan dan plastik PVC. Tipe bentuk sisik pada ikan yang digunakan adalah tipe stenoid yang memiliki sisi permukaan pinggiran kasar. Bentuk sisik ikan dan plastik PVC (gambar 1) dengan luas permukaan $\pm 1\text{cm}^2$. Sisik dan plastik ditumbuhkan secara terpisah untuk kontrol, hari ke-1, hari ke-3, dan hari ke-5 dalam media cair NB.



Gambar 1. Sisik ikan (kiri) dan plastik PVC (kanan)



Gambar 2. Jumlah sel biofilm *M. fortuitum* yang dibentuk pada berbagai waktu inkubasi di permukaan sisik dan plastik.

Dari gambar di atas dapat dilihat bahwa bakteri patogen *M. fortuitum* memiliki kemampuan menempel lebih tinggi pada permukaan sisik dibandingkan permukaan plastik PVC. Penambahan jumlah sel biofilm tersebut diduga akibat dari ikatan antara bakteri dengan permukaan lempeng. Bertambahnya waktu inkubasi juga mempengaruhi jumlah sel yang telah bereproduksi dan menempel serta memproduksi EPS pada lapisan permukaan lempeng.

Kemungkinan terjadinya penurunan jumlah sel pada hari ke-5 juga dapat disebabkan oleh adanya produksi metabolit sekunder bakteri *M. fortuitum* yang diduga menyebabkan kematian pada selnya sendiri. Hal ini dapat disebabkan terlepasnya sel ke fase cair dan sel tidak mampu membentuk biofilm lagi. Data ini didukung berdasarkan penelitian Hall-Stoodley (1998) pada masa inkubasi 2 jam, *M. fortuitum* sudah mampu membentuk biofilm pada permukaan padat dengan jumlah sel 10^6 CFU/ml dan menurun jumlah kepadatannya pada jam ke-48.



Senjani (2002) menyatakan bahwa pertumbuhan biofilm akan meningkat searah dengan penambahan waktu inkubasi, tetapi bila jumlah maksimum sudah tercapai maka jumlah sel pun akan menurun. Penyebab lainnya diduga terlepasnya sel anakan hasil pembelahan sel biofilm dari komunitas biofilm karena EPS tidak mampu mempertahankan ikatan antara sel bakteri dengan substrat. Yunus (2000) menyatakan adanya interaksi lemah yang tidak spesifik antara bakteri dengan permukaan juga akan menyebabkan lepasnya sel dari substrat.

Perhitungan Sel Biofilm *M. fortuitum*.

Menurut Characklis (1990) adsorpsi mikroorganisme pada permukaan kasar lebih tinggi bila dibandingkan dengan adsorpsi pada permukaan yang lebih halus. Hal ini dapat disebabkan karena berkurangnya pelepasan karena melemahnya laju aliran dari suspensi cairan dan semakin luasnya tempat dipermukaan benda padat untuk terjadinya proses adsorpsi. Kekasaran yang lebih tinggi pada permukaan *stainless steel* dengan perlakuan basa kuat ternyata dapat meningkatkan densitas penempelan *Salmonella blockey* daripada biofilm dari bakteri yang sama pada *stainless steel* yang tidak diberi perlakuan (Dewanti dan Hariyandi, 1997).

Tabel Penghitungan jumlah koloni biofilm *M. fortuitum* pada permukaan sisik ikan dan plastik PVC

Lempeng	Jumlah rata-rata sel biofilm (CFU/lempeng)				
	Permukaan Padat	Kontrol	Hari 1	Hari 3	Hari 5
Sisik		0	$2,47 \times 10^5$	$2,16 \times 10^7$	$2,04 \times 10^6$
Plastik		0	$2,77 \times 10^5$	$7,1 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa jumlah koloni pada permukaan sisik lebih tinggi dibandingkan dengan plastik. Hal ini dikaitkan pada sifat hidrofobitasnya terhadap jenis permukaan lempeng. Permukaan sisik lebih kasar dan memiliki bentuk yang berbeda pada setiap sisinya yang mengakibatkan adanya akumulasi penempelan sel pada bidang permukaan tersebut. Bagian posterior dari sisik ikan memiliki banyak lekukan melingkar dan bergerigi. Tipe sisik ikan tersebut ialah stenoid. Berbeda dengan plastik PVC, bentuk



permukaannya lebih halus dibandingkan sisik ikan, sehingga areal penempelan tidak banyak terakumulasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan ditemukan bahwa pembentukan biofilm patogen *M. fortuitum* lebih tinggi terakumulasi pada permukaan sisik ikan daripada plastik PVC yang cenderung menjadi salah satu faktor penyebaran penyakit *Mycobacteriosis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Barnes,R.,L, and Caskey,D. Kevin. 2002. Using Ozone in the Prevention of Bacterial Biofilm Formation and Scaling. *Water Conditioning and Purification*.
- Brooks, et al. Recovery and survival of nontuberculous mycobacteria under various growth and decontamination conditions. *USA Can J Microbiol* 1984a;30: 1112-7.
- Characklis, W.G. dan K.C. Marshall. 1990. Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. New York. In W.G. Characklis and K.C. Marshall (eds) *Biofilms*. John Wiley.
- Dewanti,R. dan Hariyadi. 1997. Pembentukan Biofilm Bakteri Pada Permukaan Padat. IPB. *Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fateta*. Vol 8 No.1. Hal 70-71.
- Flemming,Curt., and Hans. 2008. Why Microorganisms live in Biofilms and The Problem of Biofouling. Biofilm Centre , University of Duisburg-Essen , Geibelstrasse 41,47057. Duisburg. Germany. *J.Springer-Verlag Berlin Heidelberg* : 10.1007/7142_2008_13
- Hall-Stoodley L, Lappin-Scott H. Biofilm formation by the rapidly growing mycobacterial species *Mycobacterium fortuitum*. UK. *Elsevier. FEMS Microbiol Ltrs* 1998; 168:77-84.
- Irianto, A, 2005. Patologi Ikan Teleostei. Edisi ke-1. Yogyakarta. *Gajah Mada University Press,157 pp*.
- Jamilah & Priyani.1999. Moderate Heat or Chlorine Destroys *Aeromonas hydrophila* biofilm on stainless steel. *J. Dairy food and Environ. Sanitation*. Vol 19 (1), 29-34.



Purwaningsih, 2010. Diagnosa Penyakit Mycobacteriosis, *Mycobacterium fortuitum* pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan teknik Polymerase Chain Reaction (PCR). Bogor. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar.

Senjani, Dini. 2002. Mempelajari Pembentukan Biofilm oleh Isolat Lokal BAL pada Permukaan Stainless Steel. Bogor. FMIPA. IPB

Yunus, L. 2000. Pembentukan biofilm oleh *Salmonella blockey* pada permukaan *stainless steel* serta Pengaruh Sanitasi terhadap Pembentukan kembali Biofilm Baru. [Skripsi]. Bogor: IPB. hlm. 12-15.

