

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akuakultur merupakan salah satu sektor produksi pangan dengan perkembangan yang paling cepat di dunia (Barría *et al.*, 2021). Akuakultur berperan penting dalam memenuhi kebutuhan pangan yang bergizi bagi miliaran manusia di seluruh dunia (Tigchelaar *et al.*, 2022). Produksi ikan menyumbang sebanyak 57,5 juta ton dari 87,5 juta ton hewan akuatik yang dihasilkan secara global oleh sektor akuakultur (FAO, 2022). Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menjadi komoditas perikanan yang paling luas didistribusikan dan diminati dalam akuakultur. Lebih dari 90% ikan nila diproduksi secara komersial melalui kegiatan akuakultur (Prabu *et al.*, 2019). Budidaya dan produksi ikan nila semakin meningkat selama beberapa dekade terakhir karena dipengaruhi oleh pertumbuhan ikan nila yang cepat, kemampuan mentolerir berbagai kondisi lingkungan, bahkan dapat tumbuh di kondisi kualitas air yang buruk dan kadar oksigen rendah (Rebouças *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2021).

Peningkatan permintaan ikan nila di dunia, diikuti dengan munculnya berbagai permasalahan terkait budidaya dan produksi ikan nila. Permasalahan seperti penurunan kualitas air dan peningkatan stress pada ikan yang dibudidayakan menjadikan ikan nila lebih rentan terhadap berbagai penyakit. Serangan penyakit menjadi salah satu faktor pembatas dalam sektor akuakultur (Assefa & Abunna, 2018). *Aeromonas hydrophila* merupakan

bakteri patogen yang umum menginfeksi ikan nila dan dapat menyebabkan *Motile Aeromonas Septicaemia* (MAS). *A. hydrophila* umumnya berperan sebagai patogen oportunistik atau sekunder, tetapi juga dapat menjadi patogen primer yang dapat menyebabkan kematian massal ikan nila (Monir *et al.*, 2020). Ikan nila juga sangat rentan terhadap infeksi bakteri *Streptococcus* sp. termasuk *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus iniae*, dan *Streptococcus agalactiae* yang saat ini menjadi salah satu bakteri patogen yang dampaknya paling signifikan dan menyebabkan kerugian finansial secara global (Zamri-Saad *et al.*, 2014).

Intensifikasi budidaya ikan nila membuat ikan rentan terhadap berbagai penyakit. Selain dapat terinfeksi oleh patogen tunggal, ikan nila juga dapat terinfeksi oleh dua atau lebih patogen yang biasa disebut sebagai ko-infeksi. Ko-infeksi pada budidaya ikan dapat memberikan dampak yang lebih parah daripada infeksi tunggal (Abdel-Latif *et al.*, 2020). Beberapa contoh ko-infeksi alami dengan patogen yang berbeda telah dilaporkan pada berbagai spesies ikan nila. Penelitian terhadap kematian massal ikan nila hybrid merah di Malaysia menunjukkan bahwa adanya ko-infeksi TiLV, *A. hydrophila*, dan *S. agalactiae* (Basri *et al.*, 2020). Adanya ko-infeksi alami *A. hydrophila* dan *S. iniae* dapat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi pada budidaya ikan nila di Karnataka, India (Puneeth *et al.*, 2022). Ko-infeksi TiLV dan *S. agalactiae* juga dilaporkan dapat meningkatkan kematian dan meningkatkan tingkat keparahan penyakit pada ikan nila di Malaysia (Lukman *et al.*, 2023).

Deteksi dan pemantauan patogen yang efektif sangat penting untuk pencegahan dan pengendalian penyakit. Pengembangan metode deteksi patogen yang relatif cepat, memberikan hasil yang akurat, sensitif, dan spesifik sangat dibutuhkan dalam pencegahan penyebaran penyakit. Salah satu metode deteksi patogen yang sensitif dan spesifik yaitu dengan PCR (Ador *et al.*, 2021). Patogen dapat diidentifikasi dengan metode berbasis kultur dan uji biokimia, tetapi memerlukan waktu yang lama sehingga dikembangkan metode deteksi patogen secara molekuler yaitu dengan uji PCR (Dong *et al.*, 2023). Bakteri *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* dapat dideteksi secara tunggal menggunakan metode PCR. Metode PCR secara tunggal melibatkan prosedur yang kompleks dan durasi pengerjaan yang lebih panjang karena hanya dapat digunakan untuk mendeteksi satu jenis patogen per satu reaksi PCR. *Duplex* PCR dapat dijadikan sebagai metode deteksi yang efektif untuk mendeteksi beberapa jenis patogen secara simultan. Dibandingkan dengan *single* PCR, metode *duplex* PCR menunjukkan efisiensi yang lebih tinggi dalam aspek waktu dan biaya (Novita *et al.*, 2020).

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode *duplex* PCR untuk mendeteksi dua patogen yang berbeda secara simultan. (Jo *et al.*, 2013) mengembangkan metode *duplex* PCR yang menargetkan gen *groEL* untuk deteksi simultan dua patogen ikan *Vibrio anguillarum* dan *Edwardsiella tarda*. Penelitian lain yang dilakukan oleh (Hu *et al.*, 2024) menggunakan metode *duplex* PCR untuk mendeteksi secara simultan patogen *Klebsiella pneumoniae* dan *Chryseobacterium* pada ikan croaker kuning besar dengan

target gen ompA yang masing-masing memiliki ukuran 663 dan 1404 bp. Metode *duplex* PCR juga dikembangkan oleh (Fattahi *et al.*, 2015) untuk mendeteksi patogen berbeda dari ikan trout pelangi secara simultan yaitu *Aeromonas hydrophila* dan *Escherichia coli* berdasarkan target gen 16S rRNA yang masing-masing memiliki ukuran produk amplifikasi 700 bp dan 544 bp.

Pengembangan metode *duplex* PCR untuk mendeteksi ko-infeksi *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* pada ikan nila di Indonesia belum dieksplorasi secara mendalam, sehingga dilakukan pengembangan deteksi berdasarkan gen spesifik dari setiap bakteri. *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* dapat dideteksi berdasarkan gen spesifik yang dimiliki tiap spesies bakteri. *A. hydrophila* memiliki gen aerolysin yang merupakan salah satu faktor virulensi penting yang menjadi penanda strain *Aeromonas* bersifat patogen (De Guia *et al.*, 2024). *S. agalactiae* memiliki gen 16S rRNA sebagai penanda spesies. Gen 16S rRNA memiliki daerah yang dilestarikan yang ditemukan di semua bakteri, tetapi juga memiliki variasi spesifik di antara spesies yang berbeda. Identifikasi spesies tertentu seperti *S. agalactiae* diharapkan dapat dilakukan dengan akurasi tinggi (Parasana *et al.*, 2022).

Hasil pengembangan metode *duplex* PCR untuk mendeteksi ko-infeksi bakteri patogen pada ikan nila diharapkan dapat diaplikasikan sebagai metode baru deteksi ko-infeksi dua patogen pada ikan nila secara simultan, terutama untuk patogen *A. hydrophila* dan *S. agalactiae* yang umum menginfeksi ikan nila.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana karakterisasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila?
- 1.2.2 Bagaimana pengembangan metode *single* dan *duplex* PCR untuk mendeteksi ko-infeksi *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila?
- 1.2.3 Bagaimana pengujian *postulate Koch* dapat memvalidasi ko-infeksi *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Menganalisis karakterisasi bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila.
- 1.3.2 Mengembangkan metode *single* dan *duplex* PCR untuk mendeteksi ko-infeksi *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila.
- 1.3.3 Menguji ko-infeksi *Aeromonas hydrophila* dan *Streptococcus agalactiae* pada ikan nila berdasarkan *postulate Koch*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Data ilmiah yang dapat digunakan sebagai rujukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan metode *duplex* PCR sebagai metode pengujian deteksi ko-infeksi patogen pada ikan nila.
- 1.4.2 Metode deteksi yang efektif dan akurat untuk mendeteksi ko-infeksi pada ikan nila sehingga memungkinkan tindakan pencegahan dan pengelolaan kesehatan ikan nila yang lebih baik dalam sektor akuakultur.