

DISERTASI

**STUDI INFEKSI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES
IKAN LAUT**

*STUDY OF PATHOGENIC INFECTION ON SEVERAL
SPECIES OF MARINE FISH*

SUFARDIN

L013181012



**PROGRAM STUDI DOKTORAL ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**STUDI INFEKSI PATOGEN PADA BEBERAPA SPESIES
IKAN LAUT**

*STUDY OF PATHOGENIC INFECTION ON SEVERAL
SPECIES OF MARINE FISH*

Disertasi
Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor

Program Studi
Ilmu Perikanan

Disusun dan diajukan oleh

**SUFARDIN
L013181012**

Kepada

**DOCTORAL PROGRAM IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF MARINE SCIENCE AND FISHERIES
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

HALAMAN PENGESAHAN DISERTASI

Studi Infeksi Patogen pada Beberapa Spesies Ikan Laut

Disusun dan diajukan oleh:

SUFARDIN
L013181012

Telah diperiksa dan disetujui oleh:

Promotor,


Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc.
NIP. 19671012 199202 1 001

Co. Promotor,

Co. Promotor,


Dr. Ir. Sniwulan, MP.
NIP. 19660630 199103 2 002


Dolores V. Baxa, Ph.D.

Ketua Program Studi
S3 Ilmu Perikanan,

Dekan Fakultas Ilmu Kelautan
dan Perikanan,


Prof. Dr. Ir. Sharifuddin Bin Andy Omar, M.Sc.
NIP. 19590223 198811 1 001


Safruddin, S.Pi, MP., Ph.D.
NIP. 19750631 200312 1 003



Tanggal lulus: 2 Maret 2022

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sufardin
NIM : L013181012
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

menyatakan bahwa disertasi dengan Judul: "Studi Infeksi Patogen pada Beberapa Spesies Ikan Laut"

ini adalah karya penelitian saya sendiri dan bebas dari plagiasi. Di dalamnya tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali digunakan sebagai acuan dalam naskah ini, yang artinya sumber disebutkan sebagai referensi dan dituliskan pula di Daftar Pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti terdapat plagiasi dalam karya ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan terkait (Permendiknas No. 17, tahun 2007).

Makassar, Juni 2022



Sufardin
L013181012

PERNYATAAN KEPEMILIKAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sufardin
NIM : L013181012
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

menyatakan bahwa disertasi dengan Judul: "Studi Infeksi Patogen pada Beberapa Spesies Ikan Laut"

menyatakan bahwa publikasi sebagian atau keseluruhan isi disertasi pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin dan menyertakan tim pembimbing sebagai pemilik tulisan (*author*) dan Universitas Hasanuddin sebagai institusinya. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya dua semester (satu tahun sejak pengesahan disertasi) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan disertasi ini, maka pembimbing sebagai salah seorang dari penulis berhak memublikasikannya pada jurnal ilmiah yang ditentukan kemudian, sepanjang nama mahasiswa tetap diikutkan.

Makassar, Juni 2022

Mengetahui,

Penulis,



Prof. Dr. Ir. Shariuddin Bin Andy Omar, M.Sc.
NIP. 19590223 198811 1 001



Sufardin
NIM. L013181012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas berkah, rahmat dan inayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan disertasi yang berjudul “Studi Infeksi Patogen pada Beberapa Spesies Ikan Laut”. Penelitian disertasi ini dilakukan selama tiga tahun yakni 2018-2021. Pengambilan sampel dilakukan di Balai Perikanan Budidaya Laut Kabupaten Situbondo (Jawa Timur), Gondol (Bali), Takalar (Sulawesi Selatan) dan Ambon (Maluku). Penelitian ini sepenuhnya didanai oleh Program Beasiswa Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) *Batch-III* yang diberikan oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI). Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Studi Ilmu Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Adapun beberapa bagian disertasi ini telah diterbitkan pada jurnal Internasional terindeks Scopus. Seiring selesainya penulisan disertasi ini, perkenankan penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Kedua orang tuaku, Ayahanda Suaedin dan Ibunda Siti Ruhyati yang telah melahirkan, membesarkan, mendidik dan memberi semangat, limpahan kasih sayang, waktu serta tenaganya untuk memotivasi, memberi dukungan dan semangat yang tiada hentinya selama penulis menempuh pendidikan.
2. Kepada saudara-saudaraku, Adik Furkanuddin, Nurwahidah, Rahmawati serta si bungsu tercinta Muh. Azzam Nurwahid. Kalian adalah penyemangat dan pengering peluhku selama menempuh pendidikan. Kepada Keluarga Besar terkhusus buat paman Wahyudin, S.Pd., dan M. Zaidin, S. Sos., Tante Junari, S.Pd., yang telah memberi semangat dan dukungan serta pesan moril kepada penulis selama menempuh pendidikan.
3. Kepada Pembimbing Utama Bapak Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. yang senantiasa memberi arahan dan masukan serta dukungan moril dalam menyelesaikan tulisan ini dengan sangat sabar dan tekun.
4. Kepada Ibu Dr. Ir. Sriwulan, MP. dan Dolores V. Baxa Ph.D. selaku Pembimbing Anggota yang senantiasa memberikan dukungan, arahan dan bimbingan selama penulis menjadi mahasiswa di Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin.

5. Kepada Penguji: Bapak Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc., Bapak Dr. Ir. Andi Parenrengi, M.Sc., Ibu Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, SKH. dan Ibu Dr. Ince Ayu Khairana Kadirah, S.Pi., M.Agr. yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat membangun dalam penulisan disertasi ini.
6. Kepada Bapak Safruddin, S.Pi., MP., Ph.D. selaku Dekan FIKP UNHAS
7. Kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Sharifuddin Bin Andy Omar, M.Sc. selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Perikanan FIKP UNHAS.
8. Kepada Ibu Dr. Ir. Arniati Massinai, M.Si. yang telah banyak membantu penulis selama menempuh pendidikan mulai dari jenjang Sarjana hingga menempuh pendidikan pada jenjang Doktor. Terima kasih, kebaikan ibu tak akan pernah terlupakan oleh penulis sampai kapanpun.
9. Kepada seluruh Dosen Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin, seluruh staff akademik dan non-akademik, Bapak Ketua Jurusan Ilmu Kelautan, Ketua Jurusan Ilmu Perikanan, Ketua Prodi Budidaya Perikanan. Terkhusus juga buat kak Rosmaniar, S.Si. (Laboran Lab. Parasit dan Penyakit Ikan, FIKP UNHAS) yang senantiasa berbagi ilmu dan memberi *support* selama penulis melakukan penelitian.
10. Kepada sahabat-sahabatku yang memberi semangat kepada penulis selama penyelesaian studi yaitu Andiyari dan Abdul Waris yang telah saya anggap seperti saudara sendiri.
11. Kepada teman-teman angkatan S1 yang saya cintai "IK ANDALAS", yang selalu kompak dan selalu ada ketika masa-masa sulit dan bahagia penulis selama menempuh pendidikan di FIKP Unhas.
12. Para sahabat seperjuangan program Magister Ilmu Perikanan, FIKP Unhas angkatan 2017 atas kebersamaan dan kenangan selama penulis melanjutkan menempuh pendidikan di FIKP Unhas.
13. Para sahabat seperjuangan program Doktoral Ilmu Perikanan, FIKP Unhas angkatan 2018 atas kebersamaan dan motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan program doktoral di FIKP Unhas.
14. Teman-teman seperjuangan pada program beasiswa PMDSU *Batch-3* atas kebersamaan dan dukungan yang tiada henti selama penulis menempuh pendidikan.
15. Terakhir dan paling mendalam, terima kasih kepada Nur Asmi Kama, S.Pi. sosok penting dan penyemangat bagi penulis. Pencapaian ini tidak terlepas dari harapan-harapan baikmu untukku selama ini.

Serta masih sangat banyak orang-orang yang membantu dalam menyelesaikan tulisan ini baik secara moril maupun non moril yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu. Penulis mengetahui jika tanpa bantuan kalian semua maka tulisan ini tidak akan pernah mencapai akhir yang baik. Oleh karena itu sekali lagi penulis ucapkan terima kasih setulus-tulusnya, tanpa kalian semua tidak akan ada artinya. Akhir kata, penulis mengharapkan disertasi ini dapat memberikan manfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan dimasa depan. Aamin ya rabbal alamin.

Makassar, Juni 2022

Sufardin

RINGKASAN

Sufardin. L013181012. "Studi Infeksi Patogen pada Beberapa Spesies Ikan Laut" dibimbing oleh Hilal Anshary sebagai promotor, Sriwulan, dan Dolores V. Baxa sebagai co-promotor.

Ikan budidaya rentan terkena penyakit dibandingkan di alam liar. Agen penyakit seperti parasit, bakteri, dan virus dapat menyebabkan mortalitas sehingga berdampak pada kerugian ekonomi akibat penurunan jumlah produksi. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi simultan diketahui menyebabkan masalah kesehatan pada ikan budidaya, yang sebagian besar dampaknya secara spesifik belum dapat dijelaskan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi patogen yang menyerang ikan budidaya laut, menganalisis tingkat infeksi parasit dan bakteri, mendeskripsikan preferensi infeksi *Trichodina*, menganalisis dampak infeksi patogen terhadap hematologi, histopatologi dan fisiologi, serta mengevaluasi imunitas ikan.

Sampel ikan diperoleh dari tiga lokasi yakni fasilitas budidaya laut Takalar (*Lates calcarifer* dan *Amphiprion percula*), Gondol (*L. calcarifer* dan kerapu hibrid *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*), dan Situbondo (kerapu hibrid *E. fuscoguttatus-lanceolatus*). Metode preparat ulas digunakan untuk investigasi parasit berdasarkan ciri morfologi, sedangkan instrumen *Vitek-2 compact system* digunakan untuk identifikasi bakteri. Deteksi Iridoviridae dilakukan melalui analisis *polymerase chain reaction* (PCR). Preferensi infeksi parasit diketahui melalui kohabitasi ikan sakit dengan ikan sehat berbagai ukuran. Hubungan antara infeksi parasit dan bakteri diungkapkan dengan mengisolasi dan menghitung konsentrasi bakteri pada ikan berdasarkan tingkat infeksi parasit. Eksperimen koinfeksi dilakukan dengan injeksi bakteri baik pada ikan sehat maupun yang terinfeksi oleh parasit. Parameter dampak infeksi yakni hematologi, histopatologi, fisiologis, dan imunitas ikan. Data diuji secara statistik menggunakan analisis ragam dan regresi linier.

Hasil penelitian menunjukkan parasit yang menginfeksi ikan adalah *Gyrodactylus* sp. dan *Trichodina* sp. Tingkat infeksi *Gyrodactylus* sp. pada *A. percula* serta *Trichodina* sp. pada kerapu hibrid dari Situbondo dan Gondol tergolong sangat parah. Sebaliknya, *Trichodina* sp. pada *L. calcarifer* dari Takalar tergolong infeksi parah. Bakteri yang menginfeksi ikan yakni *Bacillus* sp., *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bordetella hinzii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Brevibacillus chosinensis*, *Licinubacillus fusiformis*, *Aeromonas caviae*, dan *Photobacterium damsela*. Setelah kohabitasi, tingkat infeksi *Trichodina* sp. lebih tinggi pada ikan berukuran 2-6 cm ($P < 0,05$) dengan preferensi insang kiri ($P < 0,05$). Variasi tingkat infeksi *Trichodina* sp. diketahui berpengaruh terhadap jumlah bakteri ($P < 0,05$). Hasil eksperimen mengungkapkan bahwa koinfeksi menyebabkan lebih banyak dampak buruk pada kesehatan ikan dibandingkan infeksi tunggal. Infeksi tunggal parasit maupun bakteri menunjukkan dampak ringan secara histopatologi, fisiologi dan hematologi ikan. Parameter imun menunjukkan nilai globulin dan titer antibodi lebih tinggi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *A. caviae*, yakni produksi globulin tinggi pada infeksi tunggal ($P < 0,05$), sedangkan titer antibodi lebih tinggi pada koinfeksi ($P < 0,05$).

Sebagai kesimpulan bahwa terdapat dua jenis ektoparasit yang menginfeksi ikan budidaya laut yakni *Gyrodactylus* sp. dan *Trichodina* sp.. Bakteri pada ikan terdiri atas 12 jenis yang didominasi oleh bakteri basil berspora. *Aeromonas caviae* merupakan bakteri yang paling letal di antara bakteri uji lainnya. Secara umum prevalensi parasit menunjukkan infeksi yang sangat parah, sedangkan

berdasarkan intensitas menunjukkan infeksi sedang pada ikan dari Takalar dan Gondol. Infestasi parasit cenderung lebih tinggi pada ikan yang lebih besar. Setelah kohabitasi, ikan berukuran 2-6 cm merupakan kelompok yang paling banyak terinfeksi *Trichodina* pada insang kiri. Koinfeksi parasit dan bakteri berkontribusi nyata pada penurunan kesehatan ikan. Deteksi Iridoviridae pada ikan budidaya laut menunjukkan hasil negatif.

SUMMARY

Sufardin. L013181012. "Study of Pathogenic Infection on Several Species of Marine Fish" supervised by Hilal Anshary as promotor, Sriwulan, and Dolores V. Baxa as co-promotor.

Cultured fish are susceptible to disease compared to wild one. Disease agents such as parasites, bacteria and virus cause mortality, it has an impact on economic losses due to a decrease in production. Diseases caused by simultaneous infections cause problems in cultured fish, and their specific impacts on fish health are mostly undescribed. This study aims to identify pathogens in marine aquaculture fish, analyze the infection rate of parasitic and bacterial, describe preferences of *Trichodina* infection, analyze the impact of pathogenic infections on hematology, histopathology, physiology, and evaluate fish immunity.

Fish samples were obtained from three locations, namely the marine aquaculture facilities of Takalar (*Lates. calcarifer* and *Amphiprion percula*), Gondol (*L. calcarifer* and grouper hybrid *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*), and Situbondo (grouper hybrid *E. fuscoguttatus-lanceolatus*). The smear method was used for parasite investigations based on morphological characteristics, while the Vitek-2 compact system instrument was used for bacterial identification. The detection of Iridoviridae was carried out through polymerase chain reaction (PCR) analysis. Preference of parasitic infection was understood through the cohabitation of infected fish with non-infected fish of various sizes. The relationship between parasitic infection and bacteria was determined by analyzing the concentration of bacteria in fish with different parasitic infestations. Co-infection was carried out by injecting bacteria into both healthy and non-infected fish. The impact infection parameters were hematology, histopathology, physiology, and immunity of fish. The data were statistically tested using analysis of variance and linear regression.

The results showed fish parasites were *Gyrodactylus* sp. and *Trichodina* sp. The infection rate of *Gyrodactylus* sp. on *A. percula* and *Trichodina* sp. on hybrid grouper from Situbondo and Gondol was classified as very severe. Otherwise, *Trichodina* in *L. calcarifer* from Takalar is classified as a severe infection. The bacteria on fish were *Bacillus* sp., *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bordetella hinzii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Brevibacillus chosinensis*, *Licinubacillus fusiformis*, *Aeromonas caviae*, and *Photobacterium damsela*. After cohabitation, *Trichodina* sp. was higher in fish of 2-6 cm sized ($P < 0,05$) with left gills preference ($P < 0,05$). Meanwhile, variations of parasitic infection affect the number of bacteria ($P < 0,05$). Co-infection revealed more pathological effects on fish health than single infection. Single infection of parasites or bacteria showed a mild pathological impact on fish's histopathology, physiology, and hematology. Immune parameters showed higher production of globulin and antibody titer in single and co-infection with *Aeromonas caviae*, which were globulin was higher in single infection ($P < 0,05$) dan antibody titer was higher in co-infection.

In conclusion, there are two Genus of infecting parasites on marine cultured fish, namely *Gyrodactylus* sp. and *Trichodina* sp. The infecting bacteria consisted of 12 species dominated by bacilli-spore bacteria. *Aeromonas caviae* is the most lethal bacteria among other bacteria tested. Moreover, the prevalence of the parasite indicates a very severe infection, while the intensity indicates a moderate infection in fish from Takalar and Gondol. Moreover, parasite infestation tends to be higher in larger fish. After cohabitation, the fish group of 2-6 cm sized were the most infected with *Trichodina* sp. on the left gills. Generally, the co-infection of

parasite and bacteria contribute significantly to fish health. Detection of Iridoviridae in culture fish shows negative result.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN DISERTASI	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PERNYATAAN KEPEMILIKAN PENULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	ix
SUMMARY	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
I. PENDAHULUAN UMUM	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan dan Kegunaan Penelitian	9
D. Hipotesis Penelitian	10
E. Kebaharuan (<i>Novelties</i>)	10
F. Kerangka Pikir Penelitian	10
G. Diagram Alir Penelitian	11
II. IDENTIFIKASI PARASIT, BAKTERI DAN DETEKSI VIRUS IRIDOVIRIDAE PADA IKAN LAUT DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA	13
Abstrak	13
<i>Abstract</i>	13
A. Pendahuluan	14
B. Metode Penelitian	17
1. Penanganan sampel di laboratorium dan pengamatan parasit	17
2. Pengamatan bakteri	19
3. Deteksi virus Iridoviridae melalui analisis molekuler	21
4. Analisis data	23
C. Hasil	24
1. Identifikasi parasit dan analisis tingkat infeksi	24
2. Identifikasi bakteri	31
3. Deteksi Iridoviridae	33
D. Pembahasan	34
1. Identifikasi dan tingkat infeksi parasit	34
2. Identifikasi bakteri	42
3. Deteksi Iridoviridae melalui teknik <i>polymerase chain reaction</i> (PCR)	44
E. Kesimpulan	45

III. PREFERENSI PARASIT <i>Trichodina</i> sp. PADA KAKAP PUTIH <i>Lates calcarifer</i>	47
<i>calcarifer</i>	47
Abstrak	47
<i>Abstract</i>	47
A. Pendahuluan	48
B. Metode Penelitian	50
1. Desain eksperimen (sumber, ukuran, dan aklimatisasi ikan)	50
2. Penanganan ikan dan pengamatan ektoparasit	51
3. Pengukuran kualitas air	51
4. Analisis data	51
C. Hasil	52
D. Pembahasan	54
E. Kesimpulan	58
IV. TRICHODINIASIS DAN BAKTERI YANG BERSOSIASI PADA IKAN KAKAP PUTIH <i>Lates calcarifer</i>	59
Abstrak	59
<i>Abstract</i>	59
A. Pendahuluan	60
B. Metode Penelitian	62
1. Sampel ikan dan desain penelitian	62
2. Penanganan sampel ikan dan pengamatan <i>Trichodina</i> sp.	62
3. Isolasi bakteri	62
4. Karakterisasi morfologi koloni, sel dan sifat kimiawi bakteri	63
5. Perhitungan bakteri	63
6. Analisis data	63
C. Hasil	63
D. Pembahasan	70
E. Kesimpulan	72
V. STUDI KOINFEKSI <i>Trichodina</i> sp. DAN BEBERAPA SPESIES BAKTERI PATOGEN PADA IKAN KAKAP PUTIH <i>Lates calcarifer</i>	73
Abstrak	73
<i>Abstract</i>	73
A. Pendahuluan	74
B. Metode Penelitian	75
1. Sumber ikan dan rancangan eksperimen	75
2. Pengukuran parameter kualitas air	76
3. Pengamatan parasit	76
4. Persiapan bakteri dan injeksi	77
5. Pengamatan tingkah laku ikan	77
6. Persiapan analisis darah	78
7. Analisis profil darah	78
8. Pengukuran klinis indikator imun	78
9. Pengamatan histopatologi	79
10. Analisis data	80
C. Hasil	80
1. Penampakan tubuh dan organ sistemik ikan setelah eksperimen	80

	Halaman
2. Tingkah laku ikan selama eksperimen	81
3. Patogenisitas bakteri pada kakap putih selama eksperimen.....	82
4. Gambaran darah kakap putih setelah eksperimen	84
5. Histopatologi ikan kakap putih <i>L. calcarifer</i> setelah eksperimen.....	86
6. Imunitas ikan.....	90
7. Parameter kualitas air dan infestasi <i>Trichodina</i> sp.	91
D. Pembahasan	91
E. Kesimpulan	98
VI. PEMBAHASAN UMUM	100
VII. KESIMPULAN UMUM DAN REKOMENDASI	104
A. Kesimpulan	104
B. Rekomendasi	105
DAFTAR PUSTAKA	106
LAMPIRAN	135

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Parasit yang menginfeksi ikan kakap putih, kerapu dan ikan giru di Indonesia.	3
2. Ektoparasit yang menginfeksi ikan dari semua lokasi penelitian.....	24
3. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan instrument <i>Vitek-2 compact</i>	24
4. Pengukuran morfometrik <i>Gyrodactylus</i> sp. pada <i>Amphiprion percula</i>	26
5. Infestasi <i>Gyrodactylus</i> sp. berdasarkan interval panjang dan organ <i>Amphiprion percula</i>	27
6. Infestasi parasit <i>Gyrodactylus</i> sp. berdasarkan interval berat ikan <i>Amphiprion percula</i>	27
7. Infestasi <i>Trichodina</i> sp. pada insang kakap putih dan kerapu hibrid berdasarkan lokasi.....	30
8. Infestasi <i>Trichodina</i> sp. pada kakap putih dari Takalar (T), kerapu hibrid dari Situbondo (S) dan Gondol (G) berdasarkan interval panjang ikan.	30
9. Infestasi <i>Trichodina</i> sp. pada kakap putih dari Takalar (T), kerapu hibrid dari Situbondo (S) dan Gondol (G) berdasarkan interval berat ikan.....	30
10. Morfologi koloni bakteri dari lendir, insang dan ginjal kakap putih <i>Lates calcarifer</i> , kerapu hibrid <i>Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus</i> , dan giru <i>Amphiprion percula</i>	31
11. Hasil uji biokimia isolat bakteri yang berasal dari lendir, insang dan ginjal ikan kakap putih, kerapu hibrid dan giru. *GP= gram positif; GN= gram negatif .	33
12. Beberapa contoh infeksi cacing genus <i>Gyrodactylus</i> pada ikan hias.....	35
13. Tingkat infeksi <i>Trichodina</i> sp. pada kakap putih <i>Lates calcarifer</i> berbagai ukuran setelah dikohabitasi dengan ukuran yang terinfeksi (6-10 cm), setiap pekan.....	52
14. Rata-rata parameter kualitas air selama eksperimen preferensi <i>Trichodina</i> sp.	54
15. Kepadatan bakteri berdasarkan infestasi <i>Trichodina</i> sp. dan ukuran kakap putih <i>Lates calcarifer</i>	64
16. Morfologi koloni bakteri pada insang dan lendir ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i>	64
17. Hasil uji biokimia bakteri menggunakan instrument <i>Vitek-2 compact</i>	65
18. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan instrument <i>Vitek-2 compact</i>	65

Nomor	Halaman
19. Fisiologi kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang sehat setelah diinjeksi bakter	81
20. Fisiologi ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang terinfeksi <i>Trichodina</i> sp. setelah diinjeksi bakteri.....	82
21. Patogenisitas bakteri pada ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang terinfeksi parasit.....	83
22. Patogenisitas bakteri pada kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang sehat.....	83
23. Profil darah (rata-rata \pm SD) ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> semua perlakuan setelah eksperimen.....	84
24. Skoring hasil pengamatan histopatologi pada organ ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang sehat dan diinjeksi bakteri.....	86
25. Skoring hasil pengamatan histopatologi pada organ ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang terinfeksi oleh <i>Trichodina</i> sp. dan diinjeksi bakteri.....	86
26. Nilai rerata parameter kualitas air selama eksperimen infeksi tunggal dan koinfeksi.	91
27. Rerata dan simpangan baku intensitas <i>Trichodina</i> sp. pada ikan terinfeksi alami (perlakuan B, D, F, dan H).	91

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Kerangka pikir penelitian.....	11
2. Diagram alir penelitian	12
3. Detail kunci pengukuran <i>hard part Gyrodactylus sp.</i>	19
4. Morfologi koloni bakteri.....	20
5. A) DensiCHECK; B) Kartu identifikasi yang terpasang dalam kaset; C) Instrumen <i>Vitek-2 compact</i>	21
6. <i>Gyrodactylus sp.</i> pada <i>Amphiprion percula</i> dari Takalar.	25
7. Bagian keras <i>Opisthaptorale Gyrodactylus sp.</i> pada <i>Amphiprion percula</i>	25
8. <i>Trichodina sp.</i> yang menginfeksi kakap putih dari Takalar dan kerapu hibrid dari Situbondo dan Gondol.....	25
9. Infestasi <i>Gyrodactylus sp.</i> pada <i>Amphiprion percula</i> berdasarkan interval berat.	28
10. Prevalensi dan rata-rata intensitas <i>Gyrodactylus sp.</i> pada sirip <i>Amphiprion percula</i> berdasarkan interval panjang.	28
11. Model regresi dan nilai korelasi infestasi <i>Gyrodactylus sp.</i> berdasarkan panjang <i>Amphiprion percula</i>	29
12. Model regresi dan nilai korelasi infestasi <i>Gyrodactylus sp.</i> berdasarkan berat <i>Amphiprion percula</i>	29
13. Isolat murni bakteri yang berasal dari Lendir, insang, dan ginjal kakap putih, kerapu hibrid, dan giru	31
14. Hasil pewarnaan gram bakteri dari ikan kakap putih, kerapu hibrid dan giru	32
15. Hasil PCR menggunakan primer tiga pada <i>Amphiprion percula</i> dan <i>Lates calcarifer</i>	34
16. Desain bak eksperimen preferensi infeksi <i>Trichodina sp.</i>	51
17. Prevalensi <i>Trichodina sp.</i> berdasarkan posisi insang kakap putih <i>Lates calcarifer</i> berbagai ukuran (B: 2-6 cm; C: >10 cm), setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi (6-10 cm).	53
18. Intensitas <i>Trichodina sp.</i> berdasarkan posisi insang kakap putih <i>Lates calcarifer</i> berbagai ukuran (B: 2-6 cm; C: >10 cm), setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi (6-10 cm).	53

Nomor	Halaman
19. Koloni bakteri yang berasal dari insang kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada media TSA..	66
20. Koloni bakteri yang berasal dari lendir kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada media TSA..	66
21. Isolat murni bakteri dari insang and lendir kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada BAM.....	67
22. Hasil pewarnaan gram bakteri dari insang dan lendir kakap putih <i>Lates calcarifer</i>	68
23. Jumlah bakteri berdasarkan infeksi <i>Trichodina</i> sp. pada kakap putih <i>Lates calcarifer</i>	69
24. Jumlah bakteri berdasarkan interval panjang ikan.....	69
25. Intensitas <i>Trichodina</i> sp. berdasarkan interval panjang ikan.....	69
26. Penampakan kerusakan tubuh ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> setelah diinjeksi dengan bakteri.	80
27. Penampakan organ sistemik ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> setelah diinjeksi dengan bakteri.	81
28. Mortalitas ikan setelah infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Photobacterium damsela</i>	84
29. Sel darah ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i>	85
30. Eritrosit dan leukosit pada serum darah kakap putih <i>Lates calcarifer</i> untuk semua perlakuan.	85
31. Differensiasi leukosit (%) ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada semua perlakuan.....	85
32. Histopatologi kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang tidak terinfeksi dan yang hanya terinfeksi oleh <i>Trichodina</i> sp. secara alami	87
33. Histopatologi kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada infeksi tunggal <i>Aeromonas caviae</i>	87
34. Histopatologi ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i>	88
35. Histopatologi kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	88
36. Histopatologi ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Photobacterium damsela</i>	89

Nomor	Halaman
37. Globulin pada serum darah ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang tinfeksi tunggal dan konfeksi.	90
38. Titer antibodi dalam darah ikan kakap putih <i>Lates calcarifer</i> yang terinfeksi tunggal dan koinfeksi.	90

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Uji Kruskal-Wallis Infestasi <i>Gyrodactylus</i> sp. berdasarkan sirip	136
2. Regresi liner infestasi <i>Gyrodactylus</i> sp. terhadap interval berat ikan.....	137
3. Uji Kruskal-Wallis intensitas <i>Gyrodactylus</i> sp. berdasarkan interval panjang ikan.....	138
4. Regresi linier infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval panjang ikan dari Takalar	139
5. Regresi linier Infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval panjang ikan, dari Situbondo	140
6. Regresi linier Infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval berat ikan dari Takalar	141
7. Regresi linier Infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval berat ikan dari Situbondo	142
8. Regresi linier Infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval berat ikan dari Gondol	143
9. Regresi linier Infestasi <i>Trichodina</i> sp. terhadap interval panjang ikan dari Gondol.....	144
10. Regresi linier prevalensi <i>Trichodina</i> sp. berdasarkan kelompok ukuran ikan yang diuji	145
11. Regresi linier intensitas <i>Trichodina</i> sp. berdasarkan kelompok ukuran ikan yang diuji	146
12. Uji Kruskal-Wallis jumlah bakteri berdasarkan tingkat infeksi parasit.....	147
13. Kruskal-Wallis jumlah bakteri berdasarkan panjang ikan	148
14. Kruskal-Wallis infestasi parasit berdasarkan panjang ikan.....	149
15. Patogenisitas bakteri.....	150
16. Regresi linier persen mortalitas ikan pada semua perlakuan	151
17. Regresi linier persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i>	152
18. Regresi persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	153
19. Regresi linier persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Photobacterium damsela</i>	154

Nomor	Halaman
20. Regresi linier eritrosit pada semua perlakuan bakteri.....	155
21. Regresi linier leukosit pada semua perlakuan bakteri	156
22. Regresi linier limfosit darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i>	157
23. Regresi linier monosit darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i>	158
24. Regresi linier neutrofil darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	159
25. Regresi linier basofil darah ikan pada semua perlakuan	160
26. Parameter imun (titer antibodi dan globulin)	161
27. Regresi linier rata-rata antibodi pada semua perlakuan bakteri	162
28. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan injeksi <i>Aeromonas caviae</i>	163
29. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	164
30. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Photobacterium damsela</i>	165
31. Regresi linier globulin pada semua perlakuan bakteri	166
32. Regresi linier globulin ikan sehat dan ikan terinfeksi <i>Trichodina</i> sp.	167
33. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Aeromonas caviae</i>	168
34. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	169
35. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan <i>Photobacterium damsela</i>	170
36. Regresi linier kuantifikasi histopatologi antarperlakuan pada infeksi tunggal	171
37. Regresi linier alterasi organ antarperlakuan pada koinfeksi	172
38. Regresi linier alterasi organ semua perlakuan pada infeksi tunggal dan koinfeksi	173

I. PENDAHULUAN UMUM

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara beriklim tropis dengan potensi sumber daya ikan yang sangat besar. Produksi ikan Indonesia mencapai lebih dari 23 juta ton pada tahun 2019. Lebih dari 15 juta ton (>65%) merupakan ikan hasil budidaya dan ±8 juta ton (34%) adalah hasil tangkapan (BPS, 2020). Ikan merupakan bahan pangan favorit masyarakat karena nilai gizinya yang bagus (Mariyono & Sundana, 2002). Sektor perikanan memegang peranan penting sebagai penyedia protein hewani untuk manusia. Selain mengandung protein yang tinggi (±43%), gizi pada ikan juga mudah dicerna oleh tubuh (Natsir & Latifa, 2018). Ikan merupakan sumber makanan dan nutrisi penting bagi ratusan juta orang di seluruh dunia, dan sektor budidaya memainkan peran penting dalam memenuhi permintaan pangan secara global (FAO, 2020b). Di Indonesia, permintaan komoditas ikan terbilang cukup tinggi, yang terindikasi oleh peningkatan konsumsi ikan dari tahun ke tahun (Hidayati et al., 2016). Rata-rata konsumsi ikan naik sebesar 5,96% pertahun yaitu dari 23,96 kg/kapita pada tahun 2005 meningkat menjadi 30,17 kg/kapita pada tahun 2010 (Maarif, 2010). Data Kementerian Kelautan dan Perikanan menunjukkan bahwa konsumsi ikan mencapai 56,39 kg/kapita hingga tahun 2020 (KKP, 2021).

Tingginya permintaan ikan akan mendorong manusia memproduksi ikan lebih banyak dan tentunya juga cepat. Salah satu cara adalah melalui pengembangan sektor budidaya yang dapat memicu terjadinya intensifikasi budidaya ikan. Hal tersebut menimbulkan ancaman besar bagi keamanan dan keberlanjutan industri, terutama yang berkaitan dengan hama dan penyakit, khususnya pada ikan budidaya laut (BPBL Ambon, 2016). Ikan budidaya laut memiliki potensi yang cukup besar. Sekitar 28.000 jenis ikan di dunia, lebih dari 25 ribu jenis telah ditemukan di Indonesia. Budidaya berbagai spesies ikan laut sedang tumbuh dengan pesat. Prospek masa depan untuk pengembangan budidaya laut dapat membantu masyarakat pesisir yang bergantung pada terutama sumber daya perikanan untuk kebutuhan makanan dan pendapatan (Teitelbaum et al., 2010). Di Indonesia, budidaya ikan laut termasuk ikan hias akan mendukung pengelolaan dan konservasi sumber daya laut dengan mengurangi penangkapan ikan yang berpotensi merusak dan mengancam ekosistem laut di mana sumber daya perikanan menjadi sumber mata pencaharian penting (Lilley & Lilley, 2007).

Terlepas dari potensi tersebut, beberapa laporan menyatakan risiko kerugian akan rentan meningkat pada aspek produksi di sektor perikanan budidaya dibandingkan dengan perikanan tangkap. Hal ini erat kaitannya dengan bahaya penyakit ikan yang memengaruhi keamanan produksi (APEC, 2013). Beberapa alasan dianggap penting untuk menjadi perhatian tentang keberlanjutan produksi komoditas budidaya, terutama yang berkaitan dengan infeksi mikroorganisme patogen. Misalnya padat tebar yang tinggi selama budidaya dibandingkan dengan populasi ikan di alam liar dapat menjadi pemicu stres pada ikan. Hal tersebut meningkatkan risiko infeksi patogen dalam populasi ikan karena kondisi tubuh yang kurang optimal. Hal ini dapat menjadi ancaman tersendiri bagi keberlanjutan produksi perikanan budidaya (Palm et al., 2011; Koesharyani et al., 2001). Infeksi berbagai macam patogen menjadi fokus dari beberapa peneliti karena implikasinya terhadap wabah penyakit ikan, keamanan pangan dan fungsi sebagai indikator biologis untuk perubahan lingkungan serta kesehatan ikan (Palm et al., 2011; Kleinertz et al., 2014; Kleinertz & Palm, 2015).

Budidaya merupakan sektor yang cukup rentan terjangkit berbagai jenis penyakit dan menyebabkan masalah yang serius. Infeksi virus dan mikroorganisme lainnya pada ikan akan berdampak pada kualitas usaha budidaya, penurunan bobot ikan, bentuk tubuh yang abnormal, dan penolakan oleh konsumen (Woo & Bruno, 2014). Infeksi patogen juga dapat memengaruhi nilai jual ikan, sehingga memicu kerugian pada sektor ekonomi dan keberlanjutan industri budidaya. Parasit merupakan salah satu agen penyakit infeksius yang sering menyebabkan kematian pada ikan, baik secara individu maupun populasi ikan. Dampak infeksi parasit terhadap ikan yakni dapat menyebabkan kerusakan mekanik serta penurunan stok dan mutu ikan. Hal ini terjadi karena adanya cacat pada kulit maupun organ dalam ikan akibat serangan parasit (Peters et al., 2021).

Peneliti terdahulu telah melaporkan berbagai golongan parasit yang menginfeksi ikan budidaya seperti yang tunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Parasit yang menginfeksi ikan kakap putih, kerapu dan ikan giru di Indonesia.

Golongan parasit	Inang	Referensi
Acanthocephala	kerapu kakap putih	Rückert, 2006; Palm et al., 2015 Muhtadin, 2017
Trematoda	kerapu kakap putih	Kleinertz, 2010; Rückert et al., 2010; Palm et al., 2011; Palm et al., 2015; Mahardika et al., 2018 Muhtadin, 2017
Cestoda	kerapu	Koesharyani et al., 2001; Kleinertz, 2010; Rückert et al., 2010; Palm et al., 2015
Ciliophora	kerapu kakap putih giru	Asmanelli et al., 1993; Koesharyani et al., 1998; Zafran et al., 2000; Palm et al., 2011 BPBL Batam, 2014; Zafran et al., 2019 BPBL Ambon, 2016; Utami et al., 2014
Crustacea	kerapu kakap putih	Palm et al, 2015; Koesharyani et al., 2001 BPBL Batam, 2014
Flagellata	kerapu giru	Asmanelli et al., 1993; Zafran et al., 2000 BPBL Ambon, 2016
Hirudinea	kerapu kakap putih	Koesharyani et al., 2001; Palm et al., 2011; Palm et al., 2015 BPBL Batam, 2014
Monogenea	kerapu kakap putih giru	Kleinertz, 2010; Rückert, et al., 2010; Palm et al., 2011 BPBL Batam, 2014 Utami et al., 2014
Nematoda	kerapu kakap putih giru	Kleinertz, 2010; Palm et al., 2015 Ressa, 2007; Muhtadin, 2017 Utami et al., 2014
Microsporea dan Myxozoa	kerapu	Palm et al., 2011; Palm et al., 2015

Penyakit ikan karena serangan parasit umumnya menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh sehingga patogen lain seperti bakteri dan virus akan mudah menginfeksi jaringan yang telah terekspos (Holzer et al., 2006). Selain infeksi parasit, ikan juga rentan terinfeksi penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen lainnya seperti bakteri. Penyakit bakterial, terutama pada hewan air seperti ikan dilaporkan secara signifikan memengaruhi usaha budidaya di seluruh dunia (Foyosal & Lisa, 2018). Wabah penyakit bakteri dilaporkan dapat menimbulkan masalah yang serius dalam produksi perikanan budidaya. Selain itu, penyakit bakterial pada ikan tersebar secara luas dan memiliki dampak negatif secara ekologi dan ekonomi baik pada ikan di alam liar maupun lingkungan budidaya (Austin & Austin, 2007). Lebih lanjut, infeksi bakteri dilaporkan dapat menginvasi dan merusak organ bagian dalam pada tubuh ikan, hingga menyebabkan kematian (Palm et al., 2015). Toranzo et al. (2005) melaporkan golongan berbagai jenis bakteri penyebab penyakit pada ikan laut. Misalnya bakteri gram negatif seperti *Listonella anguillarum* (sebelumnya dikenal sebagai *Vibrio anguillarum*) penyebab vibriosis pada kakap putih, striped bass, lele, red

seabream. *Vibrio ordalii* penyebab vibriosis pada Salmonidae, *Vibrio salmonicida* pada Atlantic salmon dan cod, *Vibrio vulnificus* pada eels dan seabass. *Moritella viscosa* (sebelumnya dikenal dengan *Vibrio viscosus*) penyebab *winter ulcer* pada salmon Atlantik, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (sebelumnya dikenal dengan *Pasteurella piscicida*) penyebab *photobacteriosis* (pasteurellosis) pada seabream, kakap putih, sole, striped bass, dan yellowtail. *Pasteurella skyensis* penyebab pasteurellosis pada salmon Atlantik, dan *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* penyebab *furunculosis* pada Salmonidae. *Tenacibaculum maritimum* (sebelumnya dikenal dengan *Flexibacter maritimus*) penyebab *flexibacteriosis* pada kakap putih, gilthead dan red seabream. *Pseudomonas anguilliseptica* penyebab pseudomonadiasis (*winter disease*) pada seabream, lele, dan turbot. Sebaliknya, bakteri gram positif misalnya *Lactococcus garvieae* (sebelumnya dikenal dengan *Enterococcus seriolicida*) penyebab *streptococcosis* atau *lactococcosis* pada yellowtail dan lele. *Streptococcus iniae* penyebab *streptococcosis* pada yellowtail dan kakap putih. *Streptococcus parauberis* pada turbot dan *Streptococcus phocae* pada salmon Atlantik. *Renibacterium salmoninarum* penyebab *bacterial kidney disease* (BKD) pada Salmonidae. *Mycobacterium marinum* penyebab *mycobacteriosis* pada kakap putih dan turbot serta *Piscirickettsia salmonis* penyebab *piscirickettsiosis* pada Salmonidae.

Selain itu, laporan terbaru mengungkapkan adanya infeksi *Pseudomonas* dan *Vibrio* pada *L. calcarifer* (Fauzy et al., 2014; Zaenuddin et al., 2019). Bakteri penyebab penyakit yang dikenal luas dan potensial pada ikan yakni *Aeromonas*, *Pseudomonas*, dan *Streptococcus iniae* yang bertanggung jawab untuk *motile aeromonas septicemia* (MAS), septikemia hemoragik, dan streptokokosis pada ikan budidaya (Foysal et al., 2011). Di Indonesia, berbagai kegagalan panen terhadap komoditas budidaya laut dan payau sering terjadi akibat infeksi bakteri. Bakteri *Vibrio* penyebab vibriosis termasuk bakteri patogen yang dilaporkan sering menginfeksi komoditas budidaya khususnya di Indonesia (Triyaningsih et al., 2014; Fajriani et al., 2018). Hastari et al. (2014) mendapati vibriosis pada ginjal dan limfa ikan kerapu macan. Austin & Austin (1999) mengidentifikasi 13 kelompok bakteri yang terdiri dari 51 genus termasuk *Mycobacterium*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* dan *Vibrio*, yang merupakan penyebab utama penyakit infeksi bakterial pada ikan.

Selain parasit dan bakteri, serangan virus pada ikan juga dilaporkan sebagai penyebab kerugian yang sangat besar pada industri perikanan secara global.

Negara yang mengalami wabah penyakit akibat infeksi virus pada ikan akan mengalami kerugian meliputi berkurangnya produksi, pendapatan, lapangan kerja, akses pemasaran dan investasi (Darmono, 2014). Salah satu yang sering menginfeksi ikan adalah virus dari golongan Iridoviridae. Iridoviridae dianggap sebagai salah satu agen penyakit paling mengkhawatirkan dan menyebabkan infeksi sistemik yang fatal yang berujung pada kematian massal pada ikan air tawar dan air laut di seluruh dunia (Zhuo et al., 2020). Iridoviridae merupakan famili virus yang memiliki spektrum inang yang luas seperti Invertebrata (termasuk *insecta*) dan *poikilotherm* vertebrata (ikan, amfibi dan reptil) (Jancovich et al., 2012). Berdasarkan ukuran partikel, inang, dan urutan *Major Capsid Protein* (MCP), Iridoviridae terbagi menjadi lima genera yaitu *Iridovirus*, *Chloriridovirus*, *Ranavirus*, *Lymphocystivirus* dan *Megalocytivirus* (Jancovich et al., 2012). Menurut taksonomi virus terbaru (*International Committee on Taxonomy of Viruses*, 2021) (ICTV-10) ([https:// talk.ictvonline.org/taxonomy/](https://talk.ictvonline.org/taxonomy/)), famili Iridoviridae terbagi lagi menjadi dua subfamili, yaitu Alphairidovirinae termasuk genera *Lymphocystivirus*, *Megalocytivirus* dan *Ranavirus*, dan Betairidovirinae termasuk genera *Chloriridovirus*, *Decapodiridovirus* dan *Iridovirus*.

Infeksi Iridoviridae dilaporkan dapat menyebabkan penurunan nafsu makan, letargik, pembengkakan organ sistemik hingga kematian massal dan mengganggu corak (warna) pada ikan (Noga, 2010; Fu et al., 2011; Yanong, 2016). Infeksi *Lymphocystivirus*, *Iridovirus* dan *Megalocytivirus* biasanya ditemukan pada organ sistemik seperti ginjal, limfa, hati, insang dan seluruh permukaan tubuh (kulit dan sirip) (Ciulli et al., 2015). Borrego et al. (2015) mengemukakan bahwa laju insiden *Lymphocystivirus* mencapai 70% pada fasilitas akuakultur di seluruh dunia. Wabah Iridoviridae ditengarai sebagai penyebab kerugian ekonomi yang signifikan pada sektor perikanan budidaya ikan di Korea (Kitamura et al., 2006). Infeksi Iridoviridae juga dilaporkan telah menyebabkan kerugian pada industri budidaya ikan di Jepang dengan laju kematian beberapa spesies ikan budidaya mencapai 30% (Xu et al., 2000). Di Indonesia telah dilaporkan infeksi Iridoviridae misalnya Johnny & Roza (2009) melaporkan infeksi Iridovirus pada larva kerapu pasir dan menyebabkan kematian hingga 70%. Selanjutnya infeksi *Megalocytivirus* telah dilaporkan oleh Murwantoko et al. (2009) pada ikan kerapu. Data terbaru mengungkapkan bahwa infeksi Iridoviridae pada kelompok grouper di Bali menyebabkan mortalitas >90% (Fusianto et al., 2021). Laporan yang sama juga menjelaskan bahwa Iridoviridae kadang tidak memperlihatkan gejala, namun

dapat menyebabkan penurunan kesehatan pada komoditas budidaya. Infeksi berbagai patogen ditengarai juga dapat memengaruhi kesehatan jenis-jenis ikan tertentu yang bernilai ekonomis tinggi (Musyaffak et al., 2010).

Sebagai lingkungan yang fluktuatif, lingkungan akuatik baik di alam liar maupun lingkungan budidaya memungkinkan kompetisi dan interaksi antarpatogen dalam inang yang sama. Konsekuensi interaksi tersebut dianggap dapat menekan sistem kekebalan tubuh, sehingga inang menjadi lebih rentan. Hingga kini interaksi lebih dari satu patogen pada inang yang sama secara simultan atau dikenal dengan istilah koinfeksi masih minim perhatian khususnya pada ikan budidaya di Indonesia. Sementara hal tersebut dianggap dapat menyebabkan masalah yang lebih serius dengan kejadian yang cukup sering baik di alam maupun pada lingkungan budidaya. Sejauh ini para peneliti di dunia hanya fokus pada infeksi yang bersifat tunggal dan mengklasifikasikan agen lain sebagai oportunistik dan lebih sering diabaikan (Cox, 2001; Bakaletz, 2004), sementara interaksi antarpatogen yang menyerang sering secara drastis dan meningkatkan kerentanan inang terhadap infeksi, tingkat keparahan dan durasi infeksi (Graham et al., 2007; Telfer et al., 2008). Selain itu juga menyebabkan peningkatan patogenisitas dari satu atau kedua patogen (Bradley & Jackson, 2008).

Infeksi berbagai jenis mikroorganisme patogen secara simultan pada ikan dapat memicu kerugian yang lebih besar pada sektor perikanan. Beberapa alasan koinfeksi bisa menjadi fokus kajian penting karena dianggap mampu meningkatkan keparahan penyakit seperti durasi infeksi dan patologi inang (Graham et al., 2007; Telfer et al., 2008). Penyakit pada ikan akibat koinfeksi mikroorganisme memungkinkan peran yang signifikan dalam penurunan status kesehatan ikan (Xu et al., 2014). Eksplorasi tentang infeksi simultan oleh lebih dari satu patogen memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang interaksi mereka dan dapat berkontribusi pada peningkatan kesehatan hewan (Stentiford et al., 2017). Koinfeksi sangat umum di alam dan biasanya muncul ketika dua atau beberapa patogen yang berbeda menginfeksi inang yang sama, baik secara simultan atau sebagai infeksi sekunder dan berperan dalam peningkatan keparahan penyakit (Kotob et al., 2016). Hal ini berpotensi menyebabkan efek negatif yang lebih serius pada inang yang terpapar. Koinfeksi bakteri, parasit, jamur, dan virus telah dijelaskan pada beberapa komoditas budidaya dan berdampak serius pada kesehatan ikan (Abdel-Latif et al., 2020). Misalnya, infeksi parasit dapat menyebabkan adanya infeksi sekunder seperti penularan bakteri

patogen dan virus (Holzer et al., 2006). Hal ini menimbulkan stres dan mengurangi resistensi ikan terhadap patogenitas agen infeksi sekunder lainnya. Hal tersebut bisa menjadi pemicu terjadinya koinfeksi pada ikan (Bowers et al., 2000).

Sebagai contoh, dilaporkan bahwa ikan yang terinfeksi parasit *Gyrodactylus* dan bakteri *Streptococcus* menunjukkan mortalitas yang lebih tinggi (>42%) dibandingkan infeksi tunggal oleh parasit (0%) atau bakteri (6,7%) akibat ketahanan tubuh ikan menjadi lemah dalam waktu singkat (Xu et al., 2007). Beberapa penelitian sebelumnya telah menjelaskan interaksi antara infeksi parasit dan bakteri yang meningkatkan keparahan gejala penyakit di banyak tempat (Lhorente et al., 2014; Figueroa et al., 2017; Vasemägi et al., 2017). Hal serupa juga dilaporkan terjadi pada koinfeksi parasit dan virus. Studi yang dilakukan oleh Ogut & Cavus (2014) menunjukkan bahwa infeksi parasit *Trichodina* dapat meningkatkan kerentanan inang terhadap *Viral Hemorrhagic Septicemia Virus* (VHSV) pada *Merlangius merlangus*. Mendukung pola tersebut, sinergi infeksi bakteri dan virus juga menunjukkan hal serupa. Koinfeksi antara *Infectious Pancreatic Necrosis Virus* (IPNV) dengan bakteri *Vibrio* menyebabkan kematian pada ikan salmon menjadi lebih cepat (empat hari), dibandingkan dengan infeksi tunggal oleh *Vibrio* (delapan hari) (Landsberg et al., 2013).

Pemahaman tentang interaksi komunitas patogen dapat membantu praktik manajemen alternatif di sektor budidaya dan mereduksi dampak negatif infeksi (Gomes et al., 2019). Pasar perikanan saat ini menghendaki adanya pasokan komoditas yang bebas dari hama dan penyakit. Oleh karena itu perlu adanya tindakan awal dalam rangka pencegahan melalui pemeriksaan dan analisis mendalam agar kemungkinan tersebarnya patogen secara luas dapat diminimalisir. Berdasarkan hal tersebut maka dipandang perlu untuk melakukan riset tentang infeksi patogen khususnya terkait infeksi tunggal dan koinfeksi pada ikan budidaya laut, guna mendorong keberhasilan produk perikanan yang berkualitas, bebas hama serta punya daya saing.

B. Rumusan Masalah

Sebagai sektor produksi pangan dengan pertumbuhan tercepat di dunia (FAO, 2017), tentunya industri budidaya membutuhkan perhatian khusus terutama pada hal-hal yang berkaitan dengan keamanan dan keberlanjutan produksi. Infeksi agen patogen seperti parasit tercatat sebagai salah satu penyebab penyakit yang sering dijumpai pada ikan di seluruh dunia. Penyakit ini berdampak pada keamanan dan keberlanjutan produksi hingga kerugian ekonomi dan ekologis

(Eroldoğan et al., 2018). Infeksi parasit pada ikan umumnya menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh atau organ yang terkena serangan. Masalah akan menjadi lebih rumit ketika terjadi infeksi sekunder pada situs infeksi, sehingga patogen lain seperti bakteri dan virus akan mudah menginfeksi jaringan yang terekspose (Xu et al., 2012). Serangan parasit dianggap dapat meningkatkan risiko infeksi sekunder oleh bakteri patogen sehingga dapat meningkatkan keparahan wabah penyakit viral dengan tingkat mortalitas yang tinggi (Holzer et al., 2006; Landsberg et al., 2013). Dalam dekade terakhir, peneliti hanya fokus pada infeksi tunggal dan mengklasifikasikan patogen lain sebagai oportunistik serta mengabaikannya (Cox, 2001; Bakaletz, 2004). Hal ini menjadi penting untuk ditindaklanjuti karena dampak infeksi sebagai akibat interaksi antarpatogen pada satu inang dapat meningkatkan keparahan penyakit, khususnya pada ikan budidaya (Telfer et al., 2008).

Interaksi antarpatogen pada ikan yang hidup di alam liar dilaporkan sering terjadi namun tidak menimbulkan keparahan penyakit seperti yang terjadi di lingkungan budidaya (Abdel-Latif et al., 2020). Sebaliknya, dijelaskan bahwa infeksi berbagai patogen secara simultan (koinfeksi) sangat berbahaya pada komoditas budidaya. Misalnya *marine aquabirnavirus* (MABV) dan *Lymphocystivirus* dilaporkan berkorelasi positif terhadap kejadian vibriosis dan infeksi *Streptococcus* di Korea. Koinfeksi tersebut dianggap sebagai penyebab kematian massal ikan olive flounder *Paralichthys olivaceus* (Oh et al., 2006; Jung et al., 2008). Penyakit yang disebabkan oleh infeksi patogen secara simultan pada satu inang berpotensi menimbulkan masalah yang lebih serius pada budidaya ikan, dibandingkan dengan infeksi tunggal. Koinfeksi berperan dalam peningkatan mortalitas karena infeksi dapat mereduksi sistem kekebalan tubuh ikan. Lebih lanjut, dijelaskan bahwa koinfeksi mampu meminimalisir fungsi vaksinasi pada ikan (Hartgers & Yazdanbakhsh, 2006). Laporan lain menjelaskan bahwa infeksi parasit dapat meningkatkan frekuensi infeksi bakteri dan mengganggu homeostasis dalam usus dan organ sistemik lainnya pada ikan (Vasemägi et al., 2017).

Interaksi antara berbagai keragaman mikroorganisme patogen dan kesehatan ikan telah menjadi perhatian besar para peneliti karena memainkan peran penting bagi inang, terutama yang berkaitan dengan promosi kesehatan dan perlawanan terhadap patogen oportunistik (Buffie & Pamer, 2013). Selain itu, koinfeksi telah dikaitkan dengan dampak negatif yang serius pada ikan karena dianggap dapat menyebabkan wabah penyakit yang serius (Abdel-Latif et al.,

2020). Secara umum, koinfeksi memiliki efek serius seperti pola dan tingkat keparahan penyakit ikan menjadi lebih besar. Namun, pemahaman tentang efek spesifik koinfeksi masih terbatas dan data yang tersedia tentang hal ini masih sangat langka (Kotob et al., 2016). Sejauh penelusuran dan studi literatur oleh penulis, perhatian terkait masalah koinfeksi pada ikan budidaya di Indonesia tergolong masih sangat minim. Sementara pengetahuan tentang hal tersebut merupakan langkah penting dalam menyiapkan rencana penanganan strategis terhadap penyakit ikan. Berdasarkan penjelasan tersebut dan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Patogen apa saja yang menginfeksi ikan budidaya laut di Indonesia?
2. Bagaimana hubungan tingkat infeksi parasit dengan kepadatan bakteri?
3. Bagaimana pengaruh ukuran ikan terhadap preferensi infeksi *Trichodina* pada ikan kakap putih?
4. Bagaimana tingkat kerusakan jaringan tubuh ikan kakap putih akibat infeksi patogen?
5. Bagaimana dampak koinfeksi *Trichodina* dan bakteri patogen terhadap Kesehatan ikan kakap putih?
6. Bagaimana imunitas ikan kakap putih setelah terinfeksi oleh patogen?

C. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Berdasarkan uraian pada rumusan masalah, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi patogen yang menyerang ikan budidaya laut di Indonesia.
2. Menganalisis tingkat infeksi parasit dan patogenisitas bakteri serta korelasi antar infeksi.
3. Mendeskripsikan preferensi infeksi *Trichodina* berdasarkan ukuran dan organ ikan.
4. Menganalisis tingkat kerusakan jaringan ikan akibat infeksi patogen.
5. Menganalisis dampak koinfeksi parasit dan bakteri terhadap hematologi, fisiologi dan gejala klinis pada ikan.
6. Mengevaluasi imunitas ikan setelah infeksi tunggal dan koinfeksi.

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi tentang status keberadaan penyakit karena infeksi parasit, bakteri dan virus pada ikan budidaya laut di Indonesia. Selain itu, diharapkan dapat memberi informasi baru terkait dampak *single* dan *multiple* infeksi terhadap kerusakan jaringan, hematologi, fisiologi dan imunitas ikan.

D. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kajian pustaka, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, dan tujuan penelitian maka dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Terdapat beberapa jenis patogen yang menginfeksi ikan di fasilitas budidaya air laut.
2. Tingkat infeksi parasit berkorelasi dengan infeksi bakteri.
3. Parasit menginfeksi tubuh ikan berdasarkan ukuran dan organ ikan.
4. Terdapat berbagai kerusakan pada jaringan ikan akibat infeksi pathogen.
5. Koinfeksi berdampak buruk terhadap hematologi, fisiologi dan gejala klinis pada ikan.
6. Koinfeksi memengaruhi imunitas ikan.

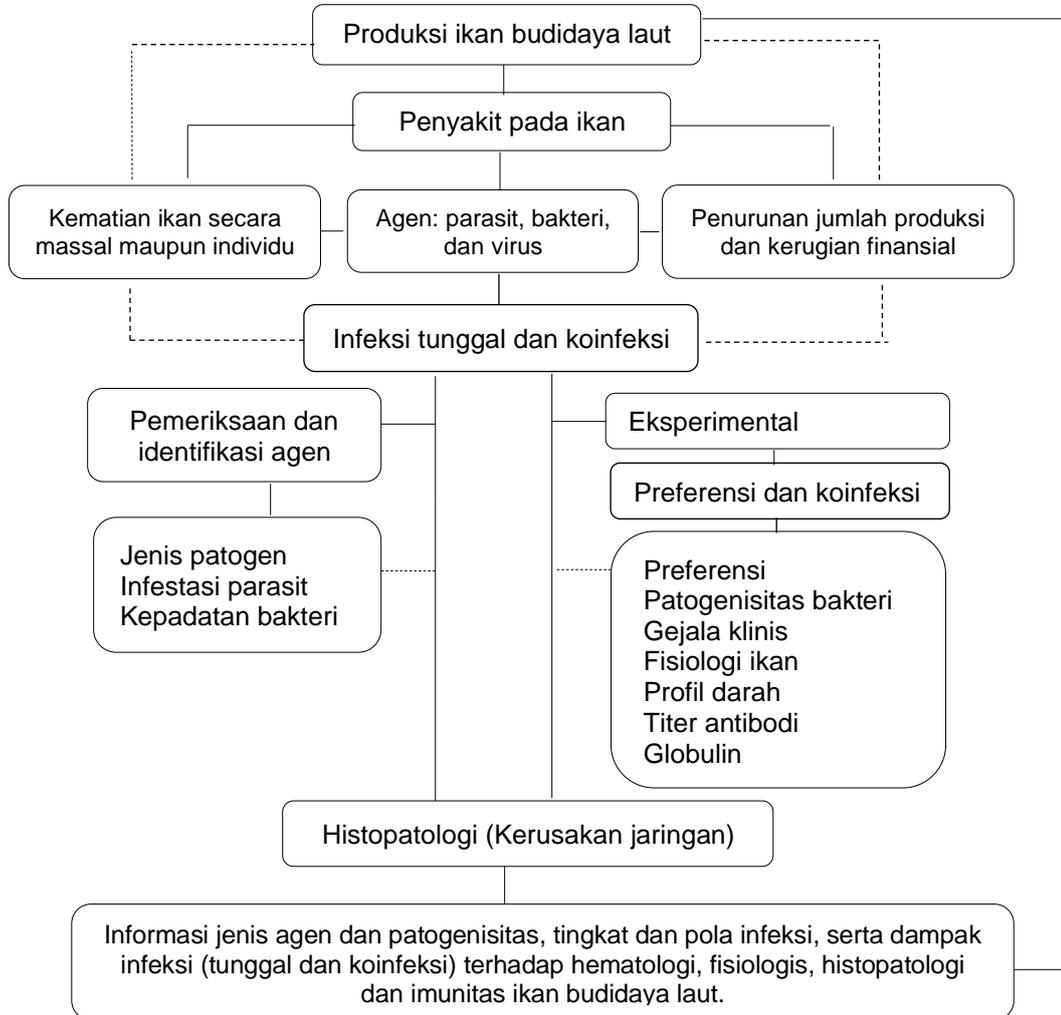
E. Kebaharuan (*Novelties*)

Penyakit pada ikan budidaya akibat infeksi bakteri, parasit dan virus cukup sering ditemukan. Namun pengetahuan tentang preferensi infeksi beberapa jenis patogen secara spesifik, khususnya di lokasi budidaya masih sangat minim. Selain itu, kajian tentang dampak koinfeksi mikroorganisme patogen pada ikan belum pernah dilakukan di Indonesia. Kebaharuan penelitian ini adalah preferensi infeksi mikroorganisme patogen secara spesifik berdasarkan stadia, ukuran, dan organ inang. Selain itu, diperolehnya informasi baru tentang dampak koinfeksi *Trichodina* dan bakteri patogen (*Aeromonas*, *Pseudomonas*, dan *Photobacterium*) pada ikan, khususnya kakap putih yang dibudidayakan.

F. Kerangka Pikir Penelitian

Indonesia merupakan negara kepulauan yang besar dengan laut yang lebih luas dibandingkan daratannya. Hal ini menjadikan Indonesia memiliki lebih banyak potensi yang bisa dikembangkan pada sektor kelautan dan perikanan khususnya budidaya ikan. Fluktuasi produksi ikan budidaya dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah penyakit. Agen penyakit pada ikan seperti parasit, bakteri, dan virus dapat menyebabkan kematian sehingga memicu penurunan jumlah produksi. Studi ini mengungkapkan dampak infeksi tunggal dan simultan mikroorganisme patogen pada ikan budidaya laut. Identifikasi agen penyakit dilakukan untuk mengetahui jenis patogen, infestasi parasit, dan kepadatan bakteri. Selanjutnya dilakukan uji eksperimental untuk mengetahui preferensi infeksi parasit serta uji koinfeksi parasit dan bakteri patogen untuk mengetahui patogenisitas bakteri, gejala klinis, fisiologi, profil darah, titer antibodi dan globulin

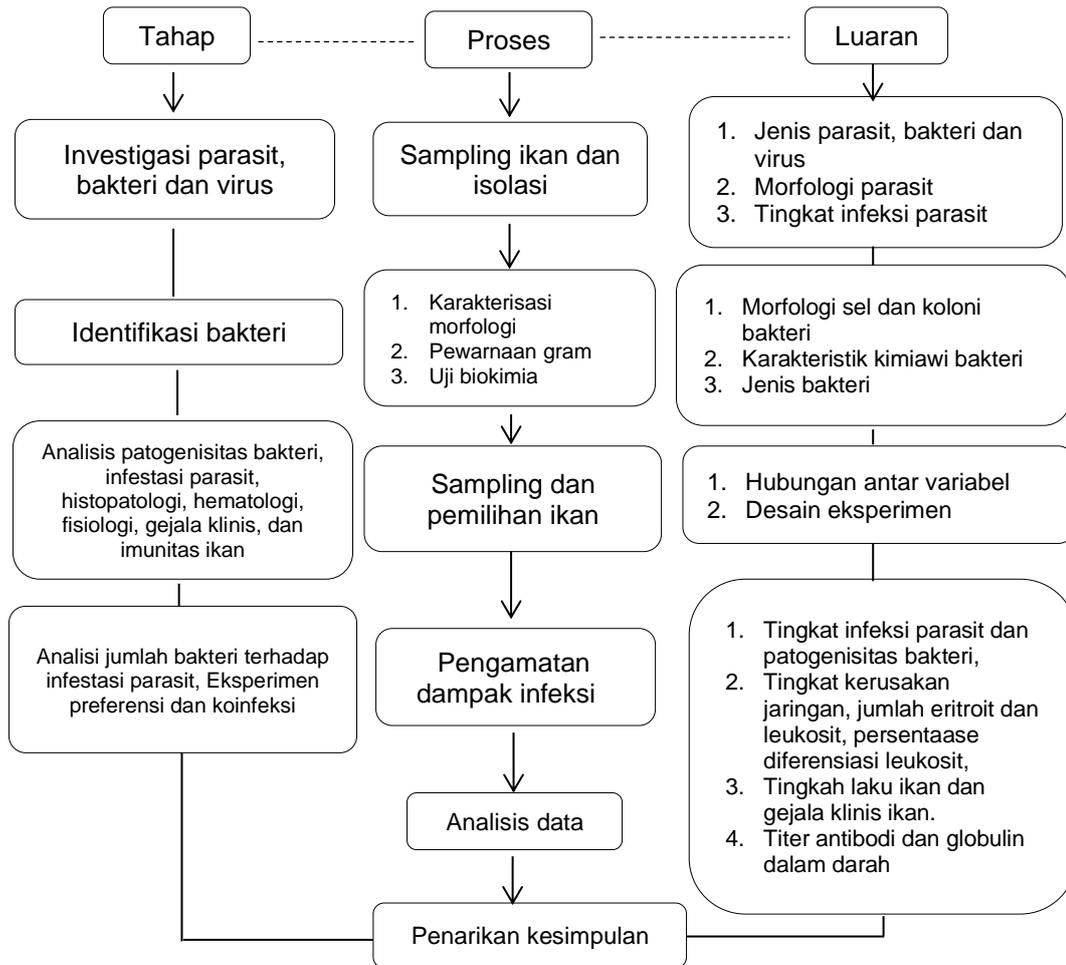
ikan uji. Analisis histopatologi juga dilakukan untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan ikan baik karena infeksi tunggal maupun secara simultan. Kerangka pikir penelitian ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

G. Diagram Alir Penelitian

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dan hipotesis serta kerangka pikir penelitian, maka peneliti menyusun alur penelitian seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram alir penelitian

II. IDENTIFIKASI PARASIT, BAKTERI DAN DETEKSI VIRUS IRIDOVIRIDAE PADA IKAN BUDIDAYA LAUT DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis patogen yang menginfeksi ikan dari tiga lokasi budidaya. Investigasi parasit menggunakan metode preparat ulas melalui pengerokan pada insang, sirip, lendir, usus, lambung, hati dan ginjal ikan. Sebaliknya, isolasi bakteri dilakukan dengan metode gores pada media TSA dan pemurnian pada media agar darah. Identifikasi parasit dilakukan berdasarkan ciri morfologi, sedangkan identifikasi bakteri dilakukan menggunakan instrumen *Vitek-2 compact system*. Deteksi Iridoviridae dilakukan secara molekuler melalui analisis *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan lima macam primer. Analisis ragam dan regresi linier digunakan untuk mengetahui pengaruh antar variabel penelitian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan *A. percula* dari Takalar terinfeksi oleh parasit *Gyrodactylus* dan hanya diemukan pada sirip (kecuali sirip dada), sedangkan ikan kakap putih *L. calcarifer* dari Takalar serta kerapu hibrid *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus* dari Gondol dan Situbondo terinfeksi oleh parasit *Trichodina* pada insang. Secara umum infestasi *Gyrodactylus* mencapai prevalensi 100% terutama pada sirip ekor. Infestasi *Trichodina* pada kerapu hibrid dari Situbondo adalah yang tertinggi dibandingkan ikan dari lokasi lainnya. Pola infeksi *Gyrodactylus* dan *Trichodina* cenderung lebih tinggi pada ikan berukuran yang lebih besar. Analisis bakteri menunjukkan dominansi bakteri basil berspora. Jenis bakteri yang menginfeksi lendir, insang, dan ginjal ikan yakni *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bordetella hinzii*, dan *Sphingomonas paucimobilis*. Hasil analisis PCR dan sekuens menunjukkan tidak terdapat infeksi Iridoviridae pada ikan laut. Penelitian menyimpulkan bahwa ikan *A. percula* terinfeksi oleh cacing *Gyrodactylus* hanya pada sirip, sedangkan *L. calcarifer* dan *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus* terinfeksi oleh *Trichodina* pada insang. Ikan dari Situbondo memiliki infestasi parasit tertinggi dibandingkan lokasi lainnya. Secara umum tingkat infeksi parasit tinggi pada ikan yang lebih besar. Terdapat lima jenis bakteri yang menginfeksi lendir, insang dan ginjal ikan, dengan dominansi bakteri basil berspora. Hasil analisis sikuens DNA tidak menemukan infeksi Iridoviridae.

Kata kunci: budidaya laut, *Gyrodactylus*, penyakit ikan, *Trichodina*

Abstract

This study aims to identify and analyze the pathogens that infect fish from three aquaculture locations. Investigation of parasites using the smear method preparations through scraping on the gills, fins, mucus, intestines, stomach, liver, and kidneys of fish. Isolation of bacteria was carried out by the streak method on Tryptic Soy Agar (TSA) media and purification on blood agar media. Identification of parasites was carried out based on morphological characteristics, while identification of bacteria was carried out using the Vitek-2 compact system instrument. The detection of Iridoviridae was carried out molecularly through polymerase chain reaction (PCR) analysis using five primers. Analysis of variance and linear regression was used to determine the effect between research variables. The results showed that *A. percula* from Takalar was infected by *Gyrodactylus* and found only on the fins (except the pectoral fins), while seabass

L. calcarifer from Takalar and grouper hybrid *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus* from Gondol and Situbondo were infected by *Trichodina* on the gills. In general, *Gyrodactylus* infestations reach 100% prevalence, especially found on the caudal fin. *Trichodina* infestation in hybrid grouper from Situbondo was the highest compared to fish from other locations. The pattern of infection with *Gyrodactylus* and *Trichodina* infections tends to be higher in fish with larger sizes. Bacterial analysis showed the predominance of spore bacilli. The species of bacteria on mucus, gills, and kidneys of fish are *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bordetella hinzii*, and *Sphingomonas paucimobilis*. The study concluded *A. percula* was infected by *Gyrodactylus* on the fins, while *L. calcarifer* and *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus* were infected by *Trichodina* on the gills. Fish from Situbondo had the highest parasite infestation compared to other locations. In general, parasite infection rates are high in larger fish. Five species of bacteria were found from mucus, gills, and kidneys of fish, with the predominance of spore-bacilli bacteria. The results of PCR and sequence analysis showed that there was no Iridoviridae infection in marine fish.

Keyword: fish disease, *Gyrodactylus*, marine aquaculture, *Trichodina*

A. Pendahuluan

Pada sektor perikanan, budidaya merupakan salah satu industri yang paling penting dan mengalami peningkatan di seluruh dunia. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan populasi manusia yang semakin meningkat, sehingga berdampak pada peningkatan kebutuhan pangan dunia berupa protein hewani yang berasal dari komoditas budidaya (FAO, 2020b). Dilaporkan lebih dari 50% produksi perikanan dunia berasal dari perikanan budidaya dan sekitar $\pm 80\%$ berasal dari negara-negara Asia termasuk Indonesia (Hartono & Nasution, 2006). Data FAO (2020b) mengungkapkan bahwa produksi perikanan budidaya secara global mencapai lebih dari 180 juta ton. Perkembangan sektor budidaya di Indonesia cukup pesat khususnya budidaya laut. Data tahun 2010 menunjukkan produksi perikanan budidaya mencapai >6 juta ton dan lebih dari 50% berasal dari budidaya laut, serta meningkat menjadi >15 juta ton pada tahun 2020 (KKP, 2021). Pertumbuhan industri budidaya dalam dekade terakhir juga tidak terlepas karena teknologi di bidang budidaya yang semakin berkembang (Neori et al., 2001).

Di Indonesia, sektor budidaya khususnya berbagai spesies ikan laut hias dan konsumsi sedang tumbuh dengan pesat. Salah satunya adalah ikan giru *Amphiprion*, yang bisa diproduksi melalui budidaya (Wood, 2001). Budidaya ikan hias laut dapat mendukung pengelolaan dan konservasi laut dengan mengurangi penangkapan di alam yang merusak dan mengancam ekosistem (Lilley & Lilley, 2007). Ikan hias adalah komoditas unggulan ikan nonkonsumsi yang memberikan kontribusi nilai produksi yang cukup tinggi pada perikanan budidaya. Produksi ikan hias hingga tahun 2020 mencapai 1,87 miliar ekor dengan kenaikan rata-rata

7,34% per tahun pada periode tahun 2015-2019 (KKP, 2020). Menurut data statistik ekspor dunia, nilai pasar ikan hias mencapai >350 juta USD (UNEP, 2013). Selain itu, komoditas budidaya laut konsumsi yang cukup populer adalah ikan kakap putih dan kerapu, karena mempunyai nilai ekonomis tinggi dan pertumbuhan yang relatif cepat. Kakap putih telah dibudidayakan baik pada keramba jaring apung (KJA) di laut maupun budidaya tambak, dengan produksi >8 ribu ton pada tahun 2017 (Tarwiyah, 2001; KKP, 2018). Sebaliknya, ikan kerapu adalah komoditas yang juga telah berhasil dibudidayakan dan cukup digemari karena punya pangsa pasar yang baik secara domestik maupun internasional dengan produksi mencapai >3.500 ton secara nasional (Langkosono, 2007; Triana, 2010; BPS, 2020).

Di sisi lain, perikanan budidaya dianggap sebagai sektor yang cukup rentan mengalami hambatan karena ketersediaan lahan yang semakin sempit, sementara permintaan terhadap komoditas budidaya terus meningkat. *Food and Agriculture Organization* (FAO, 2020a) memprediksi bahwa permintaan terhadap komoditas budidaya pada tahun 2030 akan mendekati angka 200 juta ton. Hal ini dapat memicu terjadinya intensifikasi budidaya di seluruh dunia, termasuk di Indonesia, sehingga menyebabkan ikan yang dibudidayakan akan dikelola dengan kondisi yang jauh lebih padat dalam ruang terbatas. Hal tersebut memberi kemungkinan bahwa ikan lebih stres dan sensitif dibandingkan yang hidup di alam liar (Hamed et al., 2018). Pada media budidaya dan ikan dengan kondisi yang kurang optimal akibat stress, dapat menyebabkan patogen mudah berkembang dan menjadi agen infeksi. Hal ini menyebabkan ikan rentan terjangkit berbagai jenis penyakit dan menimbulkan masalah yang serius serta kerugian bagi para pembudidaya. Seiring perkembangan dan intensifikasi industri budidaya, kehadiran patogen merupakan ancaman dan tidak bisa dikesampingkan (Senapin et al., 2019).

Penyakit pada organisme akuatik merupakan salah satu hal yang kompleks dan masih menjadi tantangan dalam beberapa tahun terakhir karena berdampak pada penurunan beberapa hal penting secara ekologis dan ekonomis (Foyosal & Lisa, 2018). Pada ikan, sering ditemukan penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme patogen seperti parasit, bakteri, dan virus (Woo & Bruno, 2014). Agen infeksius penyebab penyakit seperti parasit dan bakteri dilaporkan telah banyak memengaruhi komoditas perikanan, khususnya pada sektor budidaya. Infeksi parasit pada ikan dapat menyebabkan kerusakan organ dan bentuk tubuh menjadi abnormal, sehingga berdampak pada penolakan konsumen yang

berujung pada penurunan nilai jual. Keberadaan parasit pada ikan juga dianggap dapat menjadi salah satu faktor predisposisi bagi infeksi mikroorganisme patogen lainnya yang lebih berbahaya (Scholz, 1999). Pada skala budidaya, infeksi parasit dapat menyebabkan peningkatan laju mortalitas ikan pada tahap tertentu khususnya larva (Grabda, 1991). Menurut laporan yang ada, serangan parasit pada ikan telah menyebabkan kerugian mencapai tiga milyar USD per tahun (Subasinghe et al., 2001), dan penurunan jumlah produksi perikanan secara global (Hill, 2005). Selain itu, kondisi stres akibat tidak seimbangnya parameter lingkungan seperti padat penebaran, suhu dan oksigen dilaporkan juga dapat meningkatkan penyebaran patogen lain seperti bakteri penyebab wabah yang serius (Hastein et al., 2006; Pridgeon et al., 2012). Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri dengan tingkat kelangsungan hidup ikan yang rendah juga merupakan tantangan yang signifikan bagi pembudidaya ikan. Penyakit bakteri telah menjadi hambatan utama pada industri budidaya karena kemampuan patogen yang dapat bertahan hidup dengan baik di lingkungan perairan secara independen dari inangnya, (Foyisal & Lisa, 2018).

Patogen lainnya yang juga sering menginfeksi komoditas budidaya adalah virus. Wabah akibat serangan virus dilaporkan menyebabkan kerugian yang signifikan pada industri budidaya di beberapa negara di Asia (Saranya & Sudhakaran, 2020). Dijelaskan bahwa serangan virus sering muncul saat kondisi stres pada tempat budidaya maupun pada ikan yang hidup di alam liar. Salah satu yang ditemukan sering menginfeksi ikan adalah golongan Iridoviridae. Di beberapa negara di Asia dilaporkan adanya infeksi Iridoviridae pada ikan budidaya dengan gejala khas seperti tubuh menghitam dan berenang lemah dan perlahan ke permukaan air atau pada kolam pemeliharaan (Zhuo et al., 2020). Komoditas yang terinfeksi oleh virus ini umumnya sulit untuk dikomersialisasikan karena perubahan patologi yang dialami, dan hal itu akan berpengaruh secara ekonomi dan ekologis (Cano et al., 2007). Lebih lanjut dijelaskan bahwa infeksi virus, termasuk Iridoviridae dilaporkan juga sering menyebabkan kematian massal pada ikan (Noga, 2010).

Pada sektor budidaya, identifikasi mikroorganisme patogen pada lingkungan akuatik dinilai sangat penting terutama untuk hal-hal yang berkaitan dengan penyakit yang mengganggu kesehatan komoditas budidaya. Dalam industri akuakultur, perawatan dimulai dengan identifikasi patogen secara menyeluruh (Stewart & Costerton, 2001). Oleh karena pentingnya langkah identifikasi dan

bahaya penyakit ikan pada sektor perikanan budidaya, maka dianggap penting untuk melakukan kajian pendahuluan terkait identifikasi patogen pada ikan budidaya. Berdasarkan penjelasan tersebut, sehingga dianggap penting untuk mendiagnosa keberadaan patogen sebagai langkah awal mempersiapkan pengelolaan berkelanjutan yang lebih baik. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keberadaan patogen (parasit, bakteri dan virus Iridoviridae) pada ikan budidaya laut dari berbagai lokasi budidaya laut di Indonesia.

B. Metode Penelitian

Sampel ikan yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tiga lokasi budidaya yakni Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Kabupaten Takalar (kakap putih dan *Amphiprion*), Situbondo (kerapu hibrid), dan Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP) Kabupaten Gondol (kakap putih dan kerapu hibrid). Ukuran ikan yang digunakan bervariasi yakni 1-10 cm. Ikan diangkut menggunakan kantong sampel dalam *box styrofoam* yang dilengkapi sistem aerasi untuk diamati patogennya (parasit, bakteri dan deteksi virus Iridoviridae). Pengamatan patogen dilakukan pada Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, FIKP-UNHAS. Ikan dari tiga lokasi budidaya disimpan dalam wadah pemeliharaan yang dilengkapi dengan sistem aerasi, hingga dilakukan analisis lebih lanjut.

1. Penanganan sampel di laboratorium dan pengamatan parasit

Ikan diambil dari stok pada wadah pemeliharaan dan diletakkan dalam cawan petri, kemudian dianestesi menggunakan es batu. Pengamatan parasit pada ikan diawali dengan mengukur panjang total (*total length*) ikan menggunakan mistar. Kemudian berat ikan ditimbang menggunakan timbangan analitik dan dicatat. Pengamatan parasit meliputi ektoparasit dan endoparasit dengan langkah sebagai berikut:

a) Ektoparasit.

Pemeriksaan ektoparasit pada ikan dilakukan menggunakan metode preparat ulas (*smear method*). Tahapan pemeriksaan meliputi pengerokan (*scrapping*) pada permukaan tubuh, sirip dan insang ikan. Sampel ditempatkan pada *slide glass*, kemudian ditetesi larutan fisiologis dan diratakan. Lalu *slide* ditutup menggunakan kaca penutup, kemudian diamati di bawah mikroskop. Parasit yang ditemukan difoto untuk dilakukan analisis dan identifikasi lebih lanjut. Adapun organ target predileksi ektoparasit yang akan diperiksa adalah sebagai berikut: **Insang dan sirip:** Pemeriksaan insang dan sirip ikan dilakukan dengan

memotong lembaran insang menggunakan gunting dan pinset steril. Lembaran insang dan sirip dikerok dan diletakkan pada kaca preparat, kemudian ditetesi larutan fisiologis. Selanjutnya melakukan pengamatan di bawah mikroskop. Sebaliknya, untuk **Lendir**: Pemeriksaan dilakukan dengan cara mengerok (*scrapping*) permukaan tubuh ikan menggunakan pisau atau scapel, kemudian letakkan sampel lendir di atas kaca objek dan ratakan. Selanjutnya mengamati di bawah mikroskop.

b) Endoparasit.

Pemeriksaan endoparasit dilakukan dengan pembedahan untuk mengamati parasit pada organ dalam ikan seperti usus, lambung, hati, dan ginjal. Masing-masing organ disimpan dalam cawan petri berisi larutan fisiologis, kemudian diamati di bawah mikroskop. Parasit yang ditemukan kemudian difoto untuk dilakukan analisis dan identifikasi lebih lanjut.

c) Pembuatan preparat dan pewarnaan parasit Protozoa.

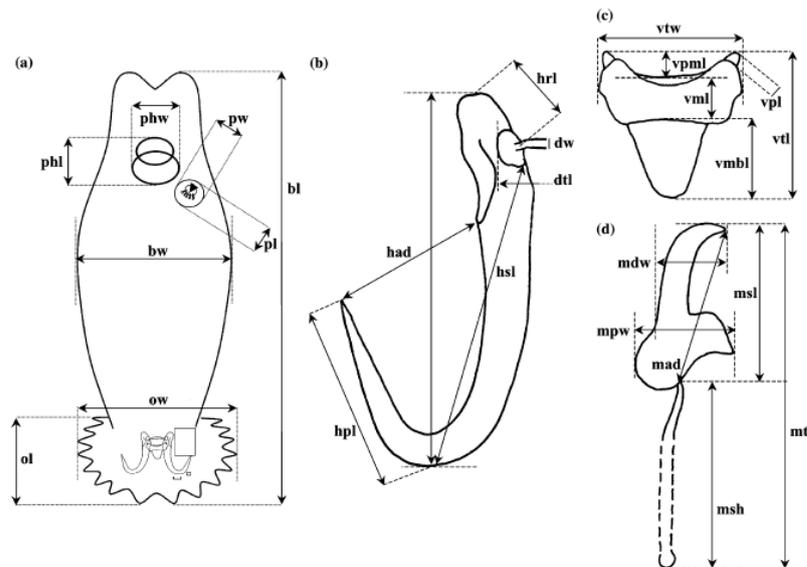
Pembuatan preparat dilakukan untuk mempermudah identifikasi parasit yang ditemukan. Parasit yang menginfeksi organ target diambil menggunakan pipet tetes dan meletakkannya di atas kaca objek. Pewarnaan parasit dari golongan Protozoa termasuk *Trichodina* dilakukan berdasarkan protokol yang dijelaskan oleh Anshary (2016), dengan prosedur sebagai berikut:

- 1) Parasit yang telah diisolasi diletakkan pada *slide glass* dan dikeringkan.
- 2) *Slide glass* diberi larutan perak nitrat (AgNO_3) 2% hingga menutupi sampel.
- 3) Disimpan \pm delapan menit hingga kering dan dibilas dengan akuades.
- 4) *Slide* disimpan pada cawan petri yang telah diisi air dan disinari dengan ultraviolet selama \pm 20-30 menit, lalu dikeringkan dan *slide* ditutupi dengan *cover glass*.
- 5) *Cover glass* diberi *entellan* pada bagian ujung atau sudut kemudian diamati di bawah mikroskop dan didokumentasikan.

d) Identifikasi parasit.

Identifikasi parasit Ciliata Protozoa dilakukan melalui pengamatan ciri morfologi berdasarkan Mizuno et al. (2016). Sebaliknya, identifikasi Monogenea dilakukan berdasarkan ciri morfologi yang dijelaskan oleh Reed et al. (2012). Pengamatan morfologi Monogenea dilakukan dengan mengisolasi spesimen dan melakukan pengukuran morfometrik pada bagian keras (*hard part*) mengacu pada Christison et al. (2005) dan García-Vazques et al. (2015) (Gambar 3). Parasit Monogenea secara individual dikeluarkan dari inang dan dibilas dengan akuades.

Spesimen disiapkan dalam bentuk utuh dalam *amonium pycrate glycerine* (Paladini et al., 2011). Bagian keras *haptoral* dari Monogenea dipelajari pada mikroskop Olympus CX21FS1 (perbesaran 40x), beberapa bagian *hard part* hanya menggunakan satu sampel karena kelangkaan spesimen dan kesulitan preparasi. Pengukuran morfometrik dilakukan menggunakan software ImageJ 1.46r yang terkalibrasi dengan menghitung dari gambar. Hasil pengukuran disajikan dalam simpangan baku dan kisaran.



Gambar 3. Detail kunci pengukuran *hard part* *Gyrodactylus* sp. **A)** whole body; bl, body length; bw, body width; ol, opisthaptor length; ow, opisthaptor width; phl, pharynx length; phw, pharynx width; pl, penis length; pw, penis width. **B)**, hamulus and connecting dorsal bar; dtl, dorsal bar total length; dw, dorsal bar width; had, hamulus aperture distance; hpl, hamulus point length; hrl, hamulus root length; hsl, hamulus shaft length. **C)**, ventral bar; vbml, ventral bar membrane length; vml, length of the median portion of the ventral bar; vpl, ventral bar process length; vpml, ventral bar process-to-mid length; vtl, total length of the ventral bar; vtw, total width of the ventral bar. **D)**, marginal hook; mad, marginal hook aperture distance; mdw, marginal hook distal width; mpw, marginal hook proximal width; msh, marginal hook shaft length; msl, marginal hook sickle length; mtl, marginal hook total length.

2. Pengamatan bakteri

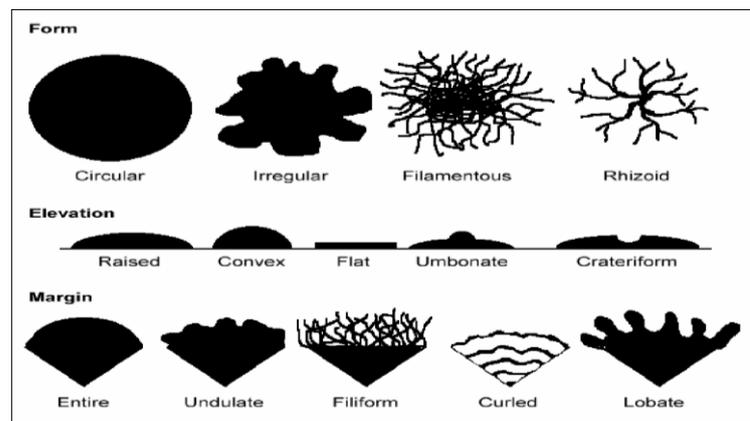
a) Isolasi dan pemurnian bakteri.

Isolasi bakteri dilakukan secara aseptik menggunakan media TSA dalam *Laminar air flow* (LAF) dengan teknik cawan gores pada lendir, insang dan ginjal ikan. Isolasi dilakukan dengan menusuk ginjal dan menggores permukaan tubuh (lendir) ikan menggunakan jarum ose steril. Kemudian menggoreskan ose tersebut pada media agar. Sebaliknya, sampel insang dipotong menggunakan gunting steril dan langsung digores menggunakan ose steril pada media agar. Cawan berisi

media hasil goresan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24 - 48 jam. Koloni bakteri pada media TSA diinokulasi pada media agar darah (BAM) dengan teknik gores untuk mendapatkan biakan murni, guna dilakukan identifikasi lebih lanjut.

b) identifikasi bakteri.

Identifikasi bakteri diawali dengan karakterisasi morfologi koloni. Karakterisasi dilakukan melalui pengamatan bentuk (*form*), pinggiran (*entire*), ketinggian (*elevation*), warna (*colour*), dan tekstur permukaan bakteri berdasarkan Cappuccino & Sherman, (1987) (Gambar 4).



Gambar 4. Morfologi koloni bakteri.

Selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi sel melalui pewarnaan gram dengan meneteskan akuades pada gelas objek dan mencampurkan sampel bakteri menggunakan ose bulat. Setelah tercampur rata, difiksasi dengan melewatkannya di atas api kecil hingga kering. Selanjutnya melakukan pewarnaan melalui empat tahapan: (1) meneteskan preparat dengan kristal violet, didiamkan selama satu menit kemudian dibilas dengan air mengalir; (2) meneteskan iodine, didiamkan selama satu menit, dibilas dengan air mengalir; (3) meneteskan alkohol, didiamkan selama 20-30 detik, dibilas dengan air yang mengalir; (4) meneteskan safranin, didiamkan selama 45 detik, dibilas dengan air mengalir. Kemudian preparat dikeringkan dan melakukan pengamatan di bawah mikroskop.

Selanjutnya karakterisasi sifat kimia atau uji biokimia bakteri dilakukan menggunakan analisis *Rapid Identification of Microorganisms by Vitek-2 compact system*. Terdapat dua kartu kunci identifikasi yang digunakan dalam analisis Vitek-2 yakni kartu identifikasi basil gram negatif (BGN) dan basil gram positif (BGP), sehingga analisis ini dilakukan berdasarkan hasil pewarnaan gram. Protokol uji Vitek-2 yakni: Suspensi bakteri dari isolat murni diambil menggunakan *cotton swab* steril dan diresuspended kedalam *disposable tube* berisi NaCl hingga sepadan

dengan kekeruhan standard 0,48-0,56 skala McFarland (diukur menggunakan DensiCHECK, Gambar 5A). Selanjutnya memasang masing-masing 64-Well *Vitek-2 disposable target slide* (kartu identifikasi) ke dalam masing-masing *disposable tube* dan pindahkan ke dalam kaset (Gambar 5B). Kaset berisi sampel dimasukkan ke dalam alat *Vitek-2 compact* (Gamber 5C). Hasil identifikasi baik menggunakan kartu BGP atau BGN dapat diketahui dalam kurun waktu kurang dari 24 jam (10-12 jam).



Gambar 5. A) DensiCHECK; B) Kartu identifikasi yang terpasang dalam kaset; C) Instrumen *Vitek-2 compact*.

3. Deteksi virus Iridoviridae melalui analisis molekuler

a) Preparasi sampel

Sampel ikan diukur panjang dan berat. Organ yang terkena gejala infeksi seperti bagian sirip (ekor, punggung, abdomen) atau ginjal dan limfa diambil untuk diekstraksi (Johnny & Roza, 2009). Menurut Siva et al. (2014), pada kulit luar ikan yang terinfeksi iridoviridae biasanya muncul nodul warna putih yang dapat dilihat dengan kasat mata.

b) Ekstraksi DNA.

Ekstraksi DNA virus pada ikan dilakukan mengacu pada protokol *Geneaid Tissue DNA Extraction* yakni sebagai berikut:

1. Organ ditimbang sebanyak 30 mg dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf.
2. Ditambahkan 180 mikron buffer ATL, lalu disentrifugasi dan ditambahkan 20 mikron protein asek. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya diinkubasi menggunakan *waterbath* pada suhu 56°C selama 24 jam.
3. Sampel disentrifugasi dan ditambahkan larutan buffer AL sebanyak 200 mikron. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 detik.

4. Sampel diinkubasi menggunakan waterbath pada suhu 75°C selama 10 menit. Kemudian disentrifugasi lalu ditambahkan 200 uL *ethanol absolute* dan dihomogenkan menggunakan vortex selama 15 detik.
5. Sampe dipindahkan ke dalam GD column, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama satu menit
6. Cairan yang tertampung dalam tabung pengumpul dibuang dan sampel dipindahkan pada GD column yang baru lalu ditambahkan 500 uL buffer AW I dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 8.000 rpm selama satu menit.
7. Cairan yang tertampung dalam tabung pengumpul dibuang dan sampel dipindahkan pada GD column yang baru lalu ditambahkan 500 uL buffer AW II dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 14.000 rpm selama tiga menit
8. Larutan pada *collection tube* dibuang dan disentrifugasi kembali pada kecepatan 14.000 rpm selama satu menit.
9. Sampel dipindahkan ke dalam tabung eppendorf dan ditambahkan 100 mikron *destilate water*, lalu diinkubasi pada suhu kamar selama satu menit. Kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selama satu menit.
10. Pada tabung eppendorf ditambahkan 100 uL *destilate water* lalu diinkubasi pada suhu kamar selama satu menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 8.000 rpm selam satu menit. Hasil *elution* DNA pada tabung eppendorf selanjutnya siap untuk di PCR.

c) Amplifikasi DNA melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR).

Deteksi Iridoviridae (*Lymphocystivirus*, *Megalocytivirus*, dan *Iridovirus*) pada ikan dilakukan melalui teknik PCR menggunakan metode dan primer yang mengacu pada Go et al. (2006), Murwantoko et al. (2009), OIE (2009), dan Palmer et al. (2012). Primer yang digunakan untuk mendeteksi *Lymphocystivirus* yaitu primer satu (LC1-F): 5'- AGG TTC AAG CGT CAC AAG -3' dan (LC1-R): 5'- GAA AAC CCA TTG ATC CGT -3' serta Primer dua (F-GII): 5' TGG GAT TCC AAY GGT CAA TTA -3', (R-GII): 5'- TTA GAT TAT TGG GCA GCG TT -3', dan (F-GIII): 5'- AGG AAA TAA CCG CAG TA GAA TGC A -3'. Untuk mendeteksi *Megalocytivirus* yaitu primer tiga (MCP-Irido-F-Bam): 5'- ATC AGG ATC CAT GTC TGC AAT CTC AGG TG -3', (MCP-Irido-R-Eco): 5'- CGT CGA ATT CGT CGA CAG ATG TGA AGT AG -3', dan (MCP-Irido-2R-Eco): 5'- CGT CGA ATT CTT ACA GGA TAG GGA AG -3'. Sebaliknya, untuk *Iridovirus* digunakan primer empat (I-F): 5'- CTC AAA CAC TCT GGC TCA TC -3' dan (I-R): 5'- GCA CCA ACA CAT CTC CTA TC

-3' serta primer 5 (DNA Pol F): 5'- CAA GGC TGT TGG ATT TTG AG -3' dan (DNA Pol R): 5'- AGT CCT GTC CAA GTG CAA CC -3'.

Polymerase chain reaction (PCR) untuk deteksi DNA Iridoviridae dilakukan pada 20 µl campuran reaksi (*Master mix*) yang mengandung masing-masing 0,6 µL primer dengan konsentrasi 10 picomol, 10 µL PCR buffer (Toyobo, Japan), empat µl dNTPs, 0,4 µl Kod FX Neo, satu µl ekstrak DNA dan 3,4 µl PCR *grade water* atau *nuclease free water* (NFW). Amplifikasi DNA dilakukan pada berbagai optimasi suhu annealing. Tahapan predenaturasi pada suhu 94°C selama 2 menit, dan denaturasi 98°C selama 10 detik. Selanjutnya *annealing* pada suhu 50-55°C selama 30 detik dan *extension* pada suhu 68°C selama satu menit. Kemudian *final extension* pada suhu 68°C selama tujuh menit. Amplifikasi dilakukan sebanyak 30 siklus.

Elektroforesis. Analisis hasil amplifikasi dilakukan melalui elektroforesis pada 1,5% Agarose gel dengan kekuatan 120 Volt selama 40 menit dalam 1x TAE Buffer. Sampel hasil PCR beserta kontrol positif dan kontrol negatif (*destilate water / nuclease free water*) dicampur dengan *Loading Dye buffer* 6x sebanyak tiga µL di atas parafilm dan disuntikkan ke sumur agarose gel. Marker yang digunakan adalah satu kb DNA ladder (250-10.000 bp, vivantis). Interpretasi dilakukan dengan bantuan Ultraviolet Transiluminator.

Sekuensing. Tahap sekuensing dilakukan untuk mengkonfirmasi urutan *parsial genom* virus yang menginfeksi ikan. Sekuen DNA dianalisis dengan menyelaraskan urutan nukleotida dengan sekuens yang diduga terdapat dalam gen bank menggunakan program MEGA 6,0. Daerah yang memiliki kesamaan urutan sekuens dianalisis kembali menggunakan penyelarasan yang terdapat dalam fasilitas penyelarasan Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) untuk menentukan persentase kesamaan pasangan basa dengan isolat referensi yang terdapat di gen bank.

4. Analisis data

Data prevalensi, intensitas, dan kelimpahan parasit diuji secara statistik menggunakan analisis ragam dan regresi linier sederhana untuk menentukan pengaruh antar variabel penelitian. Prevalensi, intensitas, dan kelimpahan parasit ditentukan menggunakan persamaan menurut Bush et al. (1997), sebagai berikut:

$$\text{Prevalensi: } P = \frac{N}{n} \times 100\%; \quad \text{Intensitas: } I = \frac{\sum Pr}{N}; \quad \text{Kelimpahan: } K = \frac{\sum Pr}{n}$$

Keterangan: P= Prevalensi (%); I = Intensitas (parasit/ikan); K = Kelimpahan (parasit/ikan); N = Jumlah ikan yang terinfeksi (ekor); n= Jumlah ikan yang diamati (ekor); Pr = Jumlah parasit (spesimen).

C. Hasil

Hasil pengamatan menunjukkan terdapat dua jenis ektoparasit dan lima jenis bakteri yang menginfeksi sampel ikan dari tiga lokasi budidaya (Tabel 2 dan 3). Parasit cacing *Monogenea* ditemukan hanya menginfeksi sirip. Sebaliknya, parasit Protozoa hanya ditemukan menginfeksi insang ikan.

1. Identifikasi parasit dan analisis tingkat infeksi

Pada ikan *Amphiprion percula* dari BPBAP Takalar ditemukan infeksi parasit cacing dari golongan *Monogenea* (Gambar 6 dan 7). Sebaliknya, parasit dari golongan Protozoa ditemukan menginfeksi kakap putih (dari Takalar) dan kerapu hibrid (dari Situbondo dan Gondol) (Gambar 8). Bagian keras (*hard part*) *Monogenea* ditunjukkan pada Gambar 7. Hasil pengamatan mengonfirmasi tidak ditemukan parasit yang menginfeksi ikan kakap putih dari BBRBLPP Gondol, Bali. Hasil pengukuran morfometrik parasit cacing *Monogenea* ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 2. Ektoparasit yang menginfeksi ikan dari semua lokasi penelitian.

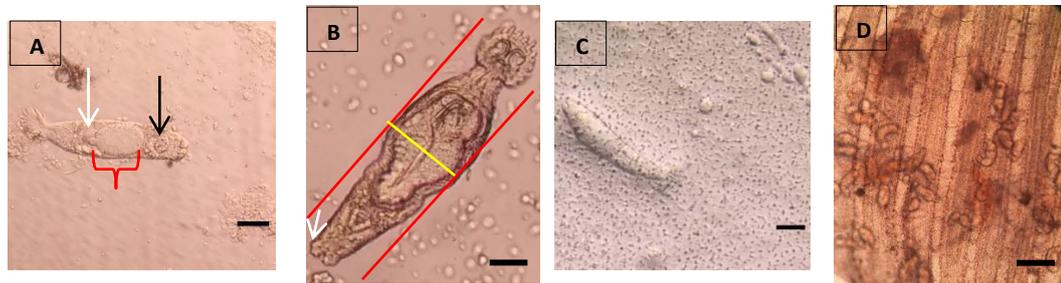
Lokasi sampling	Jenis ikan	Organ yang terinfeksi	Jenis ektoparasit	Jumlah parasit
Takalar	<i>Amphiprion percula</i>	Sirip	<i>Gyrodactylus</i> sp.	1.908
	<i>Lates calcarifer</i>	Insang	<i>Trichodina</i> sp.	630
Situbondo	<i>Hybrid grouper (E. fuscoguttatus-lanceolatus)</i>	Insang	<i>Trichodina</i> sp.	3.476
Gondol	<i>Hybrid grouper (E. fuscoguttatus-lanceolatus)</i>	Insang	<i>Trichodina</i> sp.	580
	<i>Lates calcarifer</i>	-	-	0

Tabel 3. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan instrumen *Vitek-2 compact*.

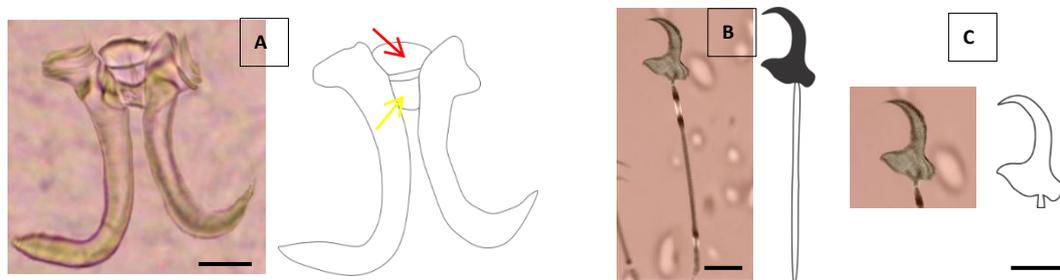
Kode isolat	Warna gram	Spesies bakteri
4 IA	Basil gram positif	<i>Bacillus mycoides</i>
4 MA	Basil gram negative	<i>Bordetella hinzii</i>
4 GA	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
1 IKR	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
2 MKR	Basil gram positif	<i>Bacillus cereus</i>
1 GKR	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
3 IKP	Basil gram positif	<i>Bacillus thuringiensis</i>
1 MKP	Basil gram positif	<i>Bacillus cereus</i>
2 GKP	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>

Identifikasi parasit *Monogenea* dilakukan berdasarkan ciri morfologi (Gambar 6 dan 7) dan karakter morfometrik (Tabel 4). Hasil pengamatan menunjukkan cacing ini memiliki *marginal hook* dan *central hook* (Gambar 7A) pada *opisthaptomya* untuk menempel pada permukaan organ inangnya. Selain itu, hasil pemeriksaan menunjukkan cacing memiliki embrio, faring, dan *seminal*

receptacle (Gambar 6A). Selanjutnya parasit ini juga memiliki *cephalic lobe* pada bagian anterior tubuh (Gambar 6B, panah putih). Panjang tubuh total (n=10) $246,65 \pm 64,14 \mu\text{m}$ dan total lebar tubuh (n=10) $69,02 \pm 012,83 \mu\text{m}$ (Tabel 4).

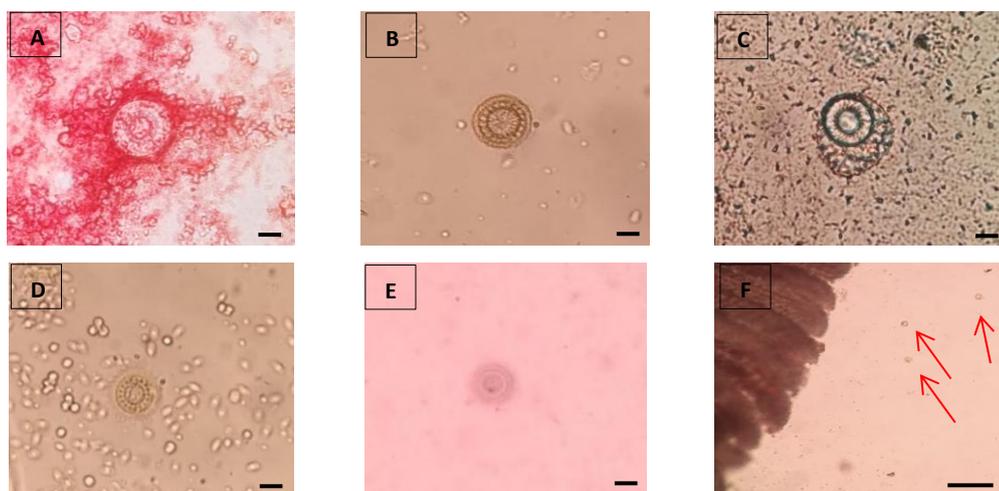


Gambar 6. *Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula* dari Takalar. A) Parasit bagian ventral (panah merah: *embryo*; panah hitam: *pharynx*; panah putih: *seminal receptacle*. B) Garis merah: panjang badan; panah kuning: lebar badan; panah putih: *cephalic lobes*. C) Parasit bagian dorsal. D) parasit pada sirip *Amphiprion percula*. A-C) Perbesaran 40x. D) Perbesaran 10x. Skala bar: A-C= 50 μm ; D=300 μm .



Gambar 7. Bagian keras *Opisthaptorale Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula*. A) *Hamuli*; Panah kuning: *ventral bar*; panah merah: *Dorsal bar*. B) *Marginal hook* dan D) *Marginal hook sickle*. Skala: 5 μm .

Gambar 8 menunjukkan parasit Protozoa yang menginfeksi ikan kakap putih dari BPBAP Takalar serta kerapu hibrid dari BPBAP Situbondo dan BBRBLPP Gondol. Parasit Protozoa yang ditemukan memiliki ciri-ciri tubuh berbentuk cakram, dikelilingi oleh membran, memiliki cincin dentakel dan bersilia.



Gambar 8. *Trichodina* sp. yang menginfeksi kakap putih dari Takalar (A, B, C) dan kerapu hibrid dari Situbondo (D) dan Gondol (E); F). Panah merah: *Trichodina* sp. di sekitar insang. A-E): perbesaran 100x; F: perbesaran 40x. Skala: A-E)= 50 μm ; F)= 500 μm .

Tabel 4. Pengukuran morfometrik *Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula*.

Item pengukuran	Hasil pengukuran (μm)
	n=10 Kisaran (Rerata \pm SD)
TBL	246,65 \pm 64,14 (173,51-339,91)
TBW	69,02 \pm 12,83 (56,35-97,42)
HTL	23,37*
HA	17,35*
HPSW	3,43*
HPL	11,46*
HDSW	2,81*
HSL	17,76*
HICL	8,90*
HAA	8,59*
HPCA	2,04*
IHAA	4,35*
HRL	7,35*
VBL	3,79*
VBW	4,32*
DBL	3,54*
DBW	1,48*
MHTL	18,36 \pm 6,41 (9,82-28,90)
MHSL	13,42 \pm 6,02 (6,16-23,16)
MHSiL	4,94 \pm 1,41 (2,37-7,23)
MHSiPW	2,92 \pm 0,43 (2,49-3,36)
MHToeL	1,84 \pm 0,21 (1,63-2,06)
MHSiDW	3,22 \pm 0,40 (2,82-3,62)
MHA	6,89 \pm 0,43 (6,46-7,33)
MHI/AH	1,03 \pm 0,05 (0,98-1,08)

Keterangan: TBL: Total body length, TBW: Total body width, HTL: Hamulus total length, HA: Hamulus aperture, HPSW: Hamulus point shaft width, HPL: Hamulus point length, HDSW: Hamulus distal shaft width, HSL: Hamulus shaft length, HICL: Hamulus inner curve length, HAA: Hamulus aperture angle, HPCA: Hamulus point curve angle, IHAA: Inner hamulus aperture angle, HRL: Hamulus root length, VBL: Ventral bar length, VBW: Ventral bar width, DBL: Dorsal bar length, DBW: Dorsal bar width, MHTL: Marginal hook total length, MHSL: Marginal hook shaft length, MHSiL: Marginal hook sickle length, MHSiPW: Marginal hook sickle point width, MHToeL: Marginal hook toe length, MHSiDW: Marginal hook sickle distal width, MHA: Marginal hook aperture, MHI/AH: Marginal hook instep/arch height. (*hanya satu spesimen yang diperiksa).

Hasil perhitungan infestasi parasit pada ikan yang berasal dari tiga lokasi budidaya menunjukkan bahwa parasit *Trichodina* pada ikan kerapu hibrid dari BPBAP Situbondo merupakan yang tertinggi. Selanjutnya diikuti oleh infestasi parasit Monogenea *Gyrodactylus* sp. pada sampel *A. percula* dari BPBAP Takalar (Tabel 5). *Trichodina* sp. hanya ditemukan menginfeksi organ insang pada kakap putih dan kerapu hibrid. Sebaliknya, *Gyrodactylus* sp. pada *A. percula* hanya menginfeksi sirip. Infestasi parasit cacing Monogenea berdasarkan ukuran ikan dan organ yang terinfeksi disajikan pada Tabel 5 dan 6 serta Gambar 9 dan 10.

Tabel 5. Infestasi *Gyrodactylus* sp. berdasarkan interval panjang dan organ *Amphiprion percula*.

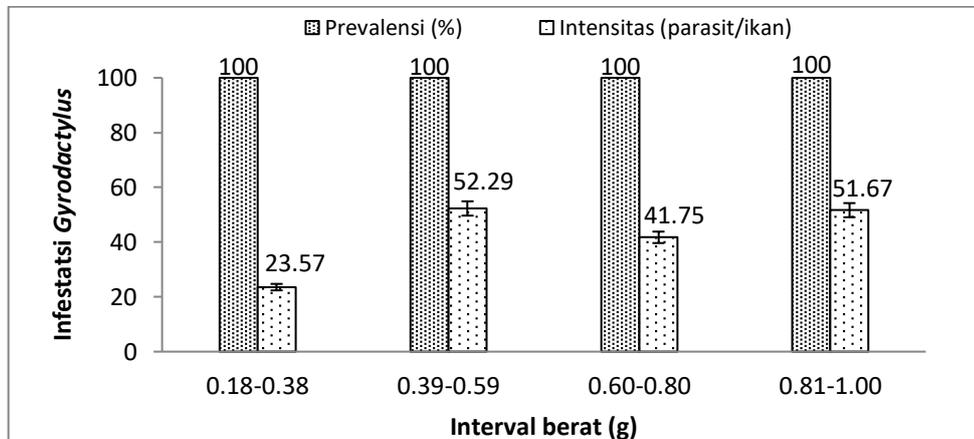
Interval panjang (cm)	Organ	Jumlah ikan yang diperiksa (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prevalensi (%)	Intensitas rerata (parasit/ikan)
1,0-2,0	Sirip ekor	20	197	100	9,85 ± 3,13
	Sirip punggung	20	61	90	3,39 ± 1,57
	Sirip dubur	20	66	80	4,13 ± 2,41
	Sirip perut	20	38	50	3,80 ± 2,45
	Sirip dada	20	0	0	0
	Insang	20	0	0	0
2,5-3,6	Sirip ekor	30	993	100	33,10 ± 12,2
	Sirip punggung	30	101	86,67	3,88 ± 2,10
	Sirip dubur	30	191	86,67	7,35 ± 5,80
	Sirip perut	30	261	90	9,67 ± 5,40
	Sirip dada	30	0	0	0
	Insang	30	0	0	0

Tabel 6. Infestasi parasit *Gyrodactylus* sp. berdasarkan interval berat ikan *Amphiprion percula*.

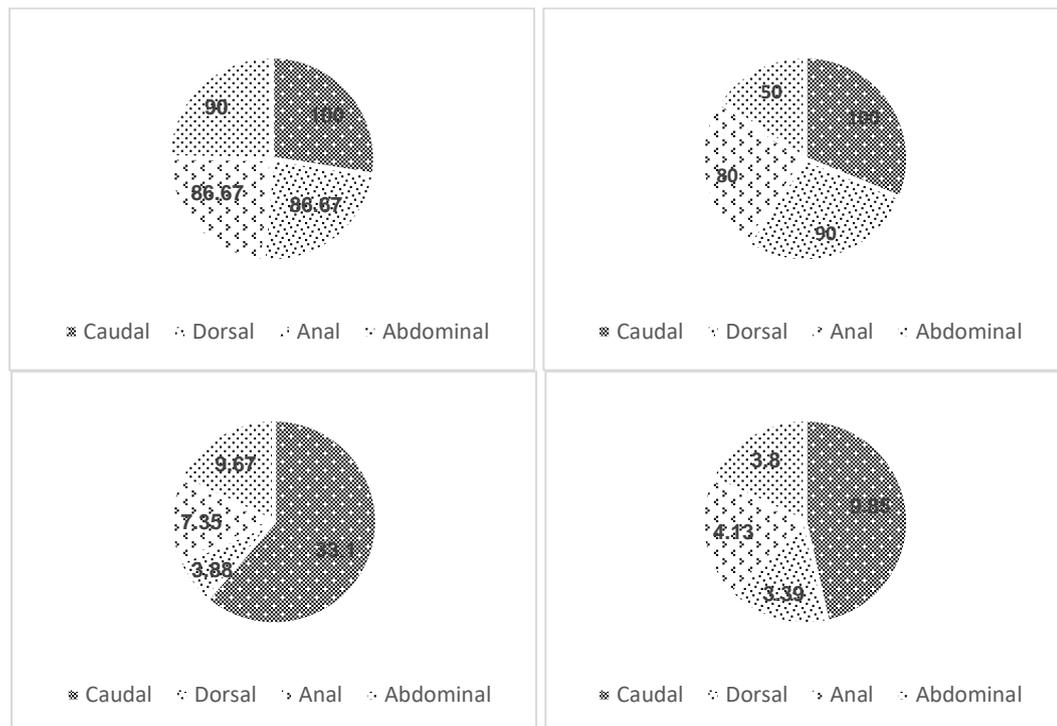
Interval berat (g)	Jumlah ikan yang diperiksa (ekor)	Jumlah ikan yang terinfeksi (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prevalensi (%)	Intensitas rerata (parasit/ikan)
0,18-0,38	23	23	542	100	23,57 ± 0,0556
0,39-0,59	17	17	889	100	52,29 ± 0,0512
0,60-0,80	4	4	167	100	41,75 ± 0,0510
0,81-1,00	6	6	310	100	51,67 ± 0,0557

Parasit Monogenea *Gyrodactylus* sp. ditemukan pada semua *A. percula* yang diperiksa, dengan prevalensi 100% pada sirip. Secara total, 1908 spesimen *Gyrodactylus* diperoleh pada semua sirip kecuali sirip dada (Tabel 5). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa sirip ekor merupakan yang paling banyak terinfeksi dibandingkan sirip lainnya dengan prevalensi 100% dan intensitas 33,10 parasit/ikan. *Gyrodactylus* sp. pada interval panjang memiliki prevalensi yang sama hingga 100% pada sirip ekor. Selanjutnya diikuti oleh prevalensi pada sirip perut (90%), sirip punggung dan sirip dubur (86,67%) pada interval panjang 2,5-3,6 cm. Sebaliknya, prevalensi *Gyrodactylus* pada sirip punggung yakni 90% diikuti sirip dubur (80%) dan sirip perut (50%) pada interval panjang 1,0-2,0 cm. Intensitas *Gyrodactylus* lebih tinggi pada ekor (33,10), diikuti oleh sirip perut (9,67), sirip dubur (7,35), dan sirip punggung (3,88) pada ikan dengan interval panjang 2,5-3,6 cm. Sebaliknya, intensitas pada ikan dengan interval panjang 1,0-2,0 cm adalah

9,85 (sirip ekor) diikuti oleh sirip dubur (4,13), sirip perut (3,80), dan sirip punggung (3,39). *Gyrodactylus* memiliki prevalensi yang sama hingga 100% pada sirip ekor dari empat interval berat (Tabel 6).



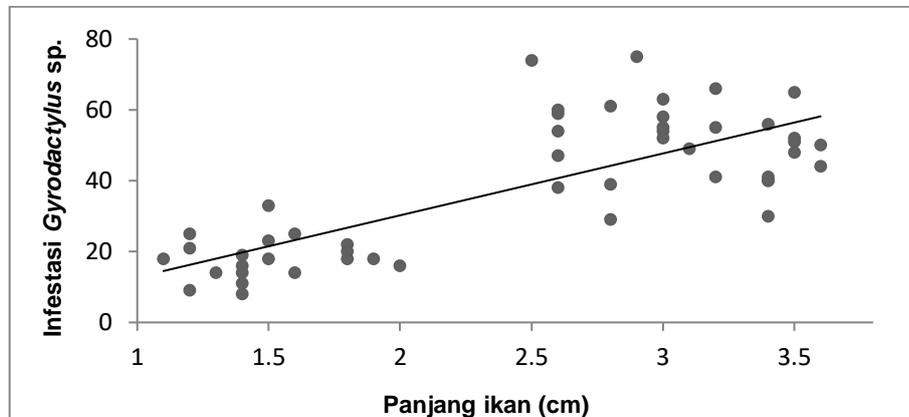
Gambar 9. Infestasi *Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula* berdasarkan interval berat.



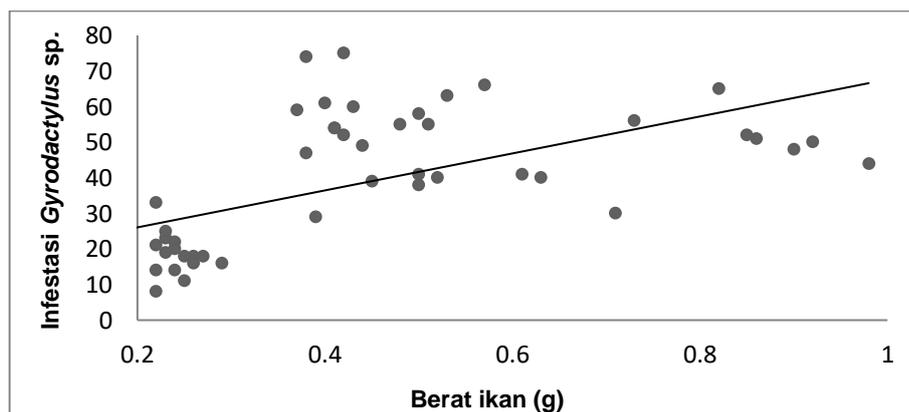
Gambar 10. Prevalensi (atas) dan rata-rata intensitas (bawah) *Gyrodactylus* sp. pada sirip *Amphiprion percula* berdasarkan interval panjang 2,5-3,6 cm (kiri) dan 1,0-2,0 cm (kanan) ($P < 0,05$).

Berdasarkan interval berat, diketahui bahwa yang paling banyak terinfeksi adalah ikan pada *cluster* teringan (0,18-0,38 g) yakni sebanyak 23 ekor. Namun tingkat infeksi tertinggi terdapat pada *cluster* kedua (0,39-0,59 g) yakni total 889 parasit dengan intensitas 52,29. Secara statistik, infestasi *Gyrodactylus* berbeda antarsirip dan berat ikan berpengaruh terhadap infestasi ($P < 0,05$; Lampiran 1 dan

2), sebaliknya, panjang ikan tidak berpengaruh (Lampiran 3). Semua interval memiliki prevalensi 100% dan infestasi parasit berkorelasi positif dan tergolong hubungan yang kuat (mendekati satu) dengan ukuran ikan (Gambar 11 dan 12).



Gambar 11. Model regresi dan nilai korelasi infestasi *Gyrodactylus* sp. berdasarkan panjang *Amphiprion percula*, dengan pearson's coefficient= 0,774 (Korelasi positif).



Gambar 12. Model regresi dan nilai korelasi infestasi *Gyrodactylus* sp. berdasarkan berat *Amphiprion percula*, dengan pearson's coefficient= 0,602 (korelasi positif).

Hasil pengamatan menunjukkan *Trichodina* sp. hanya menginfeksi insang ikan. Berdasarkan lokasi, tingkat infeksi *Trichodina* sp. lebih tinggi pada kakap putih yang berasal dari Situbondo dengan prevalensi 100% dan intensitas 115,87, sedangkan yang terendah adalah pada kakap putih dari Gondol yakni tidak terdapat infeksi parasit (Tabel 7). Berdasarkan interval panjang, prevalensi tertinggi *Trichodina* sp. pada kakap putih dari Takalar yakni pada *cluster* >7 cm (93,33). Data menunjukkan bahwa kerapu hibrid dari Situbondo dan Gondol pada semua interval panjang dan berat memiliki prevalensi yang sama yakni 100%. Selain itu, ikan dengan panjang >3,5 cm memiliki intensitas dan kelimpahan yang lebih tinggi dibandingkan ikan dengan panjang <3,5 cm.

Tabel 7. Infestasi *Trichodina* sp. pada insang kakap putih dan kerapu hibrid berdasarkan lokasi.

Ikan/Lokasi	Jumlah parasit (spesimen)	Jumlah ikan terinfeksi (ekor)	Intensitas (parasit/ikan)	Prevalensi (%)	Kelimpahan (parasit/ikan)
Kakap putih/Takalar	630	28	23,33	93,33	19,33
Kakap putih/Gondol	0	0	0	0	0
Kerapu hibrid/Situbondo	3.476	30	115,87	100	115,87
Kerapu hibrid/Gondol	580	30	19,33	100	19,33

Berdasarkan interval berat, prevalensi *Trichodina* sp. mencapai 100%, kecuali *cluster* teringan pada kakap putih dari Takalar. Tingkat infeksi *Trichodina* sp. berdasarkan interval panjang dan berat untuk semua lokasi ditunjukkan pada Tabel 8 dan 9. Uji statistik mengonfirmasi panjang ikan berpengaruh terhadap infestasi parasit ($P < 0,05$; Lampiran 4 dan 5) pada kerapu hibrid dari Situbondo dan kakap putih dari Takalar, sedangkan interval berat tidak berpengaruh (Lampiran 6 dan 7). Sebaliknya, ikan dari Gondol menunjukkan pengaruh berat ($P < 0,05$; Lampiran 8), sedangkan interval panjang tidak berpengaruh ($P > 0,05$; Lampiran 9).

Tabel 8. Infestasi *Trichodina* sp. pada kakap putih dari Takalar (T), kerapu hibrid dari Situbondo (S) dan Gondol (G) berdasarkan interval panjang ikan.

Lokasi	Interval panjang (cm)	Jumlah ikan terinfeksi (ekor)	Jumlah ikan diperiksa (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prev. (%)	Intensitas (parasit/ikan)	Kelimpahan (parasit/ikan)
T	6,0-6,5	4	5	52	80,00	13,00	10,40
	6,6-7,1	10	11	215	90,91	21,50	19,55
	7,2-7,7	14	14	363	93,33	25,93	25,93
S	2,5-2,9	10	10	1.133	100	113,30	113,30
	3,0-3,4	14	14	1.426	100	101,86	101,86
	3,5-4,9	6	6	917	100	152,83	152,83
G	2,5-2,9	11	11	134	100	12,18	12,18
	3,0-3,4	12	12	227	100	18,92	18,92
	3,5-3,9	7	7	219	100	31,29	31,29

Tabel 9. Infestasi *Trichodina* sp. pada kakap putih dari Takalar (T), kerapu hibrid dari Situbondo (S) dan Gondol (G) berdasarkan interval berat ikan.

Lokasi	Interval berat (gram)	Jumlah ikan terinfeksi (ekor)	Jumlah ikan diperiksa (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prev. (%)	Intensitas (parasit/ikan)	Kelimpahan (parasit/ikan)
T	2,30-2,55	15	17	276	88,24	18,40	16,24
	2,56-2,80	7	7	167	100	23,86	23,86
	2,81-3,55	6	6	187	100	31,17	31,17
S	0,25-0,49	13	13	1.405	100	108,08	108,08
	0,50-0,74	9	9	975	100	108,33	108,33
	0,75-0,99	8	8	1.096	100	137,00	137,00
G	0,25-0,49	15	15	199	100	13,27	13,27
	0,50-0,74	12	12	295	100	24,58	24,58
	0,75-0,99	3	3	86	100	28,67	28,67

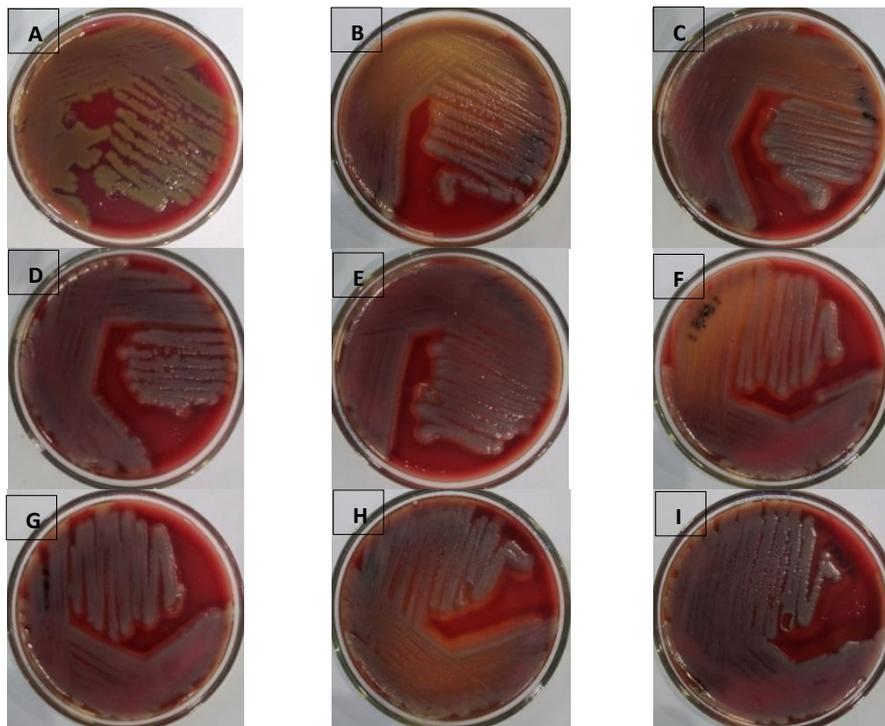
2. Identifikasi bakteri

Hasil pengamatan bakteri menunjukkan bahwa bakteri berbentuk batang (basil) mendominasi pada semua sampel dan organ ikan yang dianalisis. Isolat murni serta morfologi koloni dan sel bakteri ditunjukkan pada Tabel 10, Gambar 13 dan 14. Hasil uji biokimia disajikan pada Tabel 11.

Tabel 10. Morfologi koloni bakteri dari lendir, insang dan ginjal kakap putih *Lates calcarifer*, kerapu hibrid *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*, dan clown fish *Amphiprion percula*.

Isolat	Organ	Bentuk	Elevasi	Pinggiran	Warna	Permukaan
4IA	Insang giru	Circular	Flat	Undulate	White	Smooth
4LA	Lendir giru	Filamentous	Flat	Filiform	White	Smooth
4GA	Ginjal giru	Circular	Convex	Entire	White	Smooth
1IKR	Insang Kerapu	Circular	Flat	Serrate	White	Rough
2LKR	Lendir kerapu	Circular	Crateriform	Entire	White	Smooth
1GKR	Ginjal kerapu	Irregular	Umbonate	Lobate	White	Smooth
3IKP	Insang kakap putih	Circular	Flat	Entire	White	Smooth
1LKP	Lendir kakap putih	Circular	Raised	Entire	White	Smooth
2GKP	Ginjal kakap putih	Circular	Raised	Entire	White	Smooth

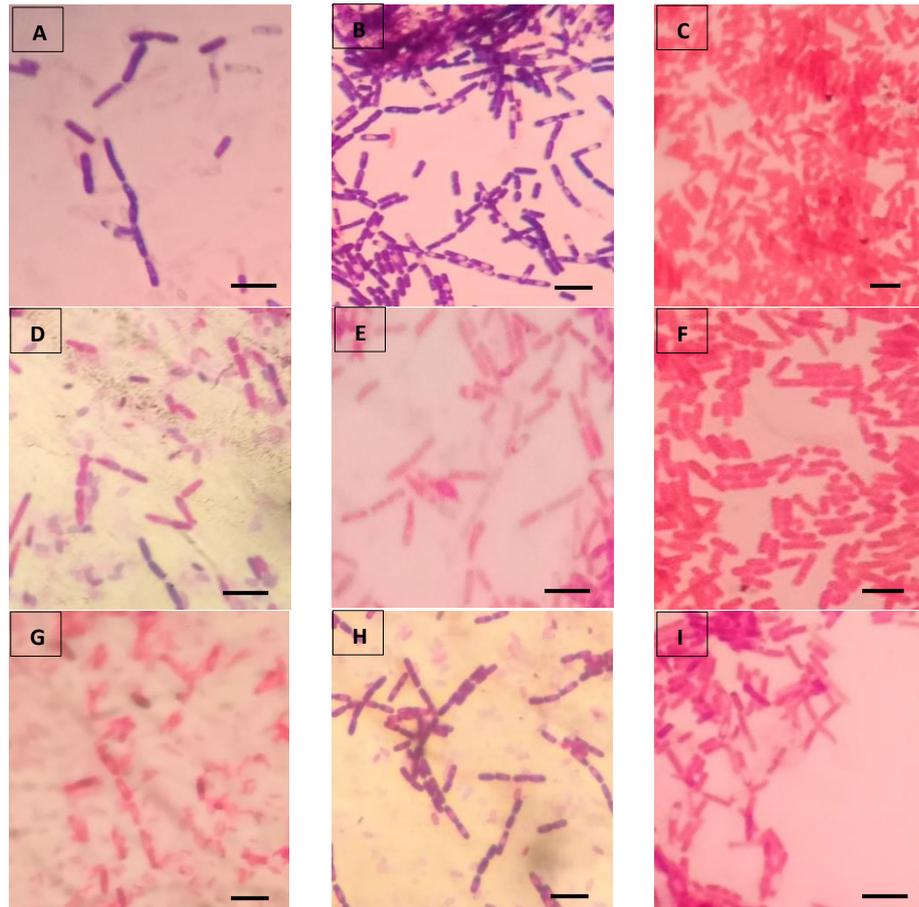
Keterangan = I: Insang; A: *Amphiprion*; L: Lendir; G: Ginjal; KP: Kakap putih; KR: Kerapu



Gambar 13. Isolat murni bakteri yang berasal dari: A, B, C) Lendir, insang dan ginjal kakap putih; D, E, F) Lendir, insang dan ginjal kerapu hibrid; G, H, I) Lendir, insang dan ginjal giru.

Karakterisasi morfologi koloni bakteri menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat (*circular*) adalah yang dominan, yakni ditemukan pada tujuh isolat (insang, lendir, dan ginjal kakap putih; insang dan lendir kerapu; serta insang dan ginjal *A. percula*). Bentuk koloni lainnya yakni *filamentous* pada lendir *A. percula* dan

irregular ditemukan pada ginjal kerapu. Hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri yang tergolong gram positif ditemukan pada insang (kakap putih, kerapu, giru) dan lendir (kakap putih, kerapu). Sebaliknya, empat bakteri lainnya tergolong bakteri gram negatif ditemukan pada lendir (*A. percula*) dan ginjal (*L. calcarifer*, *Ephinephelus fuscoguttatus-lanceolatus*, dan *A. percula*). Selain itu, hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua isolat bakteri memiliki sel berbentuk batang (basil).



Gambar 14. Hasil pewarnaan gram bakteri dari ikan kakap putih, kerapu hibrid dan giru. A) *Bacillus cereus*; B) *Bacillus thuringiensis*; dan C) *Sphingomonas paucimobilis* dari lendir, insang dan ginjal kakap putih. D. *Bacillus cereus*; E) *Sphingomonas paucimobilis*; dan F) *Sphingomonas paucimobilis* dari lendir, insang dan ginjal kerapu. G) *Bordetella hinzii*; H) *Bacillus mycoides*; dan I) *Sphingomonas paucimobilis* dari lendir, insang dan ginjal *Amphiprion percula*. Perbesaran 100x. Skala: 0,5 μ m.

Hasil identifikasi bakteri berdasarkan analisis instrumen *Vitek-2 compact* menunjukkan terdapat lima jenis bakteri yang menginfeksi ikan yakni *Bacillus mycoides*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bordetella hinzii*, dan *Sphingomonas paucimobilis*. Analisis pewarnaan gram mengonfirmasi bahwa

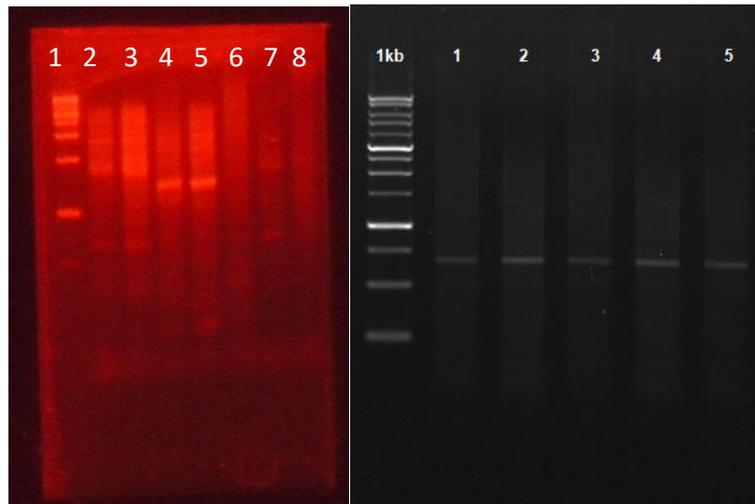
ginjal dan insang adalah organ yang banyak terinfeksi oleh bakteri gram negatif, sedangkan pada lendir dominan terinfeksi oleh bakteri gram positif.

Tabel 11. Hasil uji biokimia isolat bakteri yang berasal dari lendir, insang dan ginjal ikan kakap putih, kerapu hibrid dan giru. *GP= gram positif; GN= gram negatif

Jenis Uji		Kode isolat bakteri GP					Jenis Uji		Kode isolat bakteri GN			
		4IA	1IKR	2MKR	3IKP	1MKP			4MA	4GA	1GKR	2GKP
BXUL	LeuA	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	APPA	IARL	-/-	-/+	-/+	-/+
BGAL	AlaA	-/+	-/+	+/+	-/+	-/+	H2S	Dglu	-/-	-/+	-/+	-/-
APPA	GLYG	-/+	-/+	+/+	+/-	-/+	BGLU	dMNE	-/+	-/-	+/-	-/+
ELLM	MTE	+/-	+/+	-/-	-/-	+/+	ProA	TyrA	-/+	+/-	+/-	+/+
dMNE	PLE	+/-	-/+	+/-	+/-	-/+	SAC	CIT	-/-	-/-	-/-	-/-
BMAN	AGLU	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	ILATk	NAGA	-	-/-	-/-	-/+
INU	PSCNa	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	GlyA	IHISa	-/-	-/-	-/-	-/-
OLD	POLYB_R	-/-	+/-	+/+	-/(-)	+/-	O129R	ELLM	-/+	-/-	-/-	-/+
LysA	PheA	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	ADO	dCEL	-/+	-/+	+/+	-/+
PyrA	TyrA	-/-	-/+	+/-	+/-	-/+	BNAG	GGT	+/-	+/-	(-)/+	+/+
CDEX	INO	+/-	-/-	+/-	-/-	-/-	dMAL	BXYL	-/-	-/-	-/-	-/-
MdX	GlyA	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	LIP	URE	-/-	-/-	-/+	-/-
dMLZ	IRHA	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	dTAG	MNT	-/-	-/-	-/-	-/-
PHC	dTAG	-/-	-/-	+/-	+/-	-/-	AGLU	AGAL	-/-	-/-	+/-	-/-
dGLU	NaCl 6.5%	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	ODC	CMT	+/+	-/-	-/-	+/+
ESC	ProA	-/-	+/+	-/-	-/-	-/+	GGAA	ILATa	+/-	-/-	-/-	+/-
AspA	BNAG	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	PyrA	BGAL	-/+	+/-	+/+	-/+
AGAL	MdG	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	AGLTp	OFF	-/-	-/-	+/-	-/-
dGAL	dMAN	-/-	-/+	+/-	-/-	-/-	dMAN	BAlap	-/-	-/-	+/-	-/-
AMAN	BGLU	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	PLE	dSOR	-/-	-/-	+/-	-/-
NAG	dTRE	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	dTRE	5KG	+/+	-/-	-/-	+/+
PVATE	KAN	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	SUCT	PHOS	+/-	-/-	+/-	+/+
dRIB		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	LDC	BGUR	+	-	-	+
TTZ		-	+	-	-	+/-	IMLTa		+	-	-	+

3. Deteksi Iridoviridae

Sebanyak masing-masing 30 ekor ikan dari tiga lokasi budidaya telah diperiksa. Masing-masing organ (sirip, hati, limfa, dan ginjal) telah dianalisa secara molekuler menggunakan lima macam primer dengan berbagai optimasi. Hasil analisis duplex PCR menggunakan primer satu dan dua menunjukkan tidak terdapat pita DNA *Lympocystivirus*. Hal yang sama juga ditemukan pada hasil analisis PCR menggunakan primer empat dan lima, yakni tidak terdapat pita DNA *Iridovirus*. Sebaliknya, hasil PCR menggunakan primer tiga menunjukkan terdapat pita DNA yang teramplifikasi dari ikan kakap putih yang berasal dari BPBAP Ambon dan *Amphiprion* dari BPBAP Takalar, namun hasil sikuensing menunjukkan bukan DNA target (*Megalocytivirus*). Hasil analisis PCR ditunjukkan pada Gambar 15.



Gambar 15. Hasil PCR menggunakan primer 3. KIRI= 1: 1Kb Marker; 2-3: *Amphiprion percula*; 4-7: Kakap putih; 8: Kontrol negatif. KANAN= 1kb: Marker; 1-5: Kakap putih.

D. Pembahasan

1. Identifikasi dan tingkat infeksi parasit

a) Identifikasi *Gyrodactylus* sp.

Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa ektoparasit yang menginfeksi *A. percula* adalah golongan Monogenea. Hasil penjelasan yang mengacu pada Gambar 6 dan 7 mengonfirmasi bahwa parasit tersebut teridentifikasi sebagai genus *Gyrodactylus* (Reed et al., 2012). Sejauh penelusuran penulis, informasi ini merupakan laporan pertama tentang infeksi cacing *Gyrodactylus* pada ikan hias air laut *A. percula* atau pada keluarga ikan ini (famili Pomacentridae, subfamili Amphiprioninae), maupun pada kerabat terdekatnya yakni *damsel fish*. Bahkan hingga kini ini belum ada laporan tentang identifikasi *Gyrodactylus* pada *ornamental fish* hingga level spesies di Indonesia. Infeksi *Gyrodactylus* dalam penelitian ini menambah fauna *Gyrodactylus* yang diketahui dari masing-masing inang seperti yang ditunjukkan pada Tabel 12. Tercatat lebih dari 470 spesies dari genus *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 telah dideskripsikan pada ikan air tawar dan laut di seluruh dunia (Boeger et al., 2020; Konczal et al., 2020). Parasit ini memiliki bentuk tubuh yang lonjong dan pipih dengan salah satu ujungnya lebih besar (*posterior*), yang merupakan tempat menempel pada inangnya. Bagian posterior merupakan organ terpenting yaitu *opisthaptor* yang memiliki pengait (*hook*) dan dilengkapi *middle hook (anchor)* serta tidak memiliki bintik mata. Bagian anterior berbentuk seperti dua tonjolan atau lobus (Reed et al., 2012).

Tabel 12. Beberapa contoh infeksi cacing genus *Gyrodactylus* pada ikan hias.

Spesies	Inang	Lokasi	Referensi
<i>G. rivularae</i>	<i>Abbottina rivularis</i>	Cina	You et al., 2010
<i>G. sprostonae</i>	<i>Carassius gibelio</i>	Polandia	Ziętara & Lumme, 2004
<i>G. sp.</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Indonesia	Putri et al., 2016
<i>G. sp.</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Indonesia	Saputra & Gunawan, 2020
<i>G. sp.</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Indonesia	Haryono et al., 2016
<i>G. kobayashii</i>	<i>Carassius auratus</i>	Cina	Tu et al., 2015
<i>G. sp.</i>	<i>Carassius auratus</i>	Pakistan	Iqbal & Imtiaz 2016
<i>G. sp.</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Singapura	Trujillo-González et al., 2018
<i>G. gurleyi</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Malaysia	Trujillo-González et al., 2018
<i>G. gurleyi</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Thailand	Trujillo-González et al., 2018
<i>G. kobayashii</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Malaysia	Trujillo-González et al., 2018
<i>G. sp.</i>	<i>Carrasius auratus</i>	Pakistan	Iqbal & Rehman, 2014
<i>G. katherineri</i>	Guppy	Srilanka	Thilakarathne et al., 2003
<i>G. sp.</i>	<i>Poecilia reticulata</i>	Indonesia	Alifuddin et al., 2007
<i>G. turnbulli</i>	Gold fish	Srilanka	Woo, 2006
<i>G. katherineri</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Italia	Galli et al., 2002
<i>G. mojarrae</i>	Cichlid fishes	Meksiko	Mendoza-Palmero et al., 2019
<i>G. tepari</i>	<i>Goodea atripinnis</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2018a
<i>G. montebani</i>	<i>Profundulus</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2018b
<i>G. zapoteco</i>	<i>Profundulus</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2018b
<i>G. pseudobullatarudis</i>	<i>Xiphophorus helleri</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. xtachuna</i>	<i>Poecilia Mexicana</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. apazapanensis</i>	<i>Poecilia Mexicana</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. actzu</i>	<i>Poecilia Mexicana</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. apazapanensis</i>	<i>Poecilia Mexicana</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. pungitii</i>	<i>Poecilia mexicana</i>	Meksiko	García-Vásquez et al., 2015
<i>G. gondae</i>	<i>Pomatoschistus</i>	Belanda	Huyse et al., 2004

Gyrodactylus merupakan cacing tingkat rendah yang termasuk dalam filum Platyhelminthes, famili Gyrodactylidae dan menyebabkan gyrodactyliasis. Parasit ini sangat beragam dengan lebih dari 400 spesies yang dijelaskan pada ikan Teleostei air tawar dan laut (Cone et al., 2013). Di Indonesia, parasit ini diketahui telah menginfeksi banyak ikan air tawar seperti nila, lele dan ikan mas (Putri et al., 2016). Penulis meyakini bahwa ini adalah laporan pertama yang mengonfirmasi keberadaan *Gyrodactylus* pada ikan hias air laut khususnya *Amphiprion* dari Indonesia dengan analisis morfometrik. Infeksi Monogenea yang berada di dalam sistem budidaya akan menimbulkan tingkat kerentanan dan kematian ikan yang tidak terkontrol. Jika dibiarkan akan berujung pada kerugian ekonomi bagi pembudidaya ikan. Selain itu, infeksi yang menyebar dapat disebabkan oleh kerentanan ikan, yang dipengaruhi kondisi lingkungan yang buruk (Harris et al., 2000).

Pada sistem budidaya, Monogenea termasuk *Gyrodactylus* seringkali menjadi patogen karena mereka menyebar dengan cepat dan berpindah-pindah di antara inang (Thoney & Hargis, 1991). Parasit ini dapat berpindah dari ikan yang satu ke ikan lain melalui kontak langsung antara ikan hidup dan ikan mati (Bakke

et al., 1992). Infeksi dari inang baru dapat terjadi melalui transmisi langsung ketika inang yang terinfeksi melakukan kontak kulit dengan ikan lain dan sentuhan sirip (Harris, 1993). Ada beberapa profil transmisi dasar *Gyrodactylus* yaitu melalui kontak dengan inang hidup dan inang mati, dengan parasit terpisah yang hanyut di kolom air, dan oleh parasit yang menempel pada substrat padat. Namun, penularan dari inang yang mati dilaporkan kemungkinan lebih mudah daripada yang hidup, karena tingginya risiko penularan di air yang mengalir dan meningkatnya kontak dengan inang baru selama aktivitas makan memakan (Bakke et al., 2002). Lebih lanjut Olstad et al. (2006) menyatakan bahwa infeksi dari ikan mati mungkin juga menguntungkan untuk kelangsungan hidup *Gyrodactylus*.

Schelkle (2012) telah menggambarkan penularan parasit terutama melalui kontak langsung dengan ikan hidup potensial dan pada ikan mati. Setelah terlepas, *Gyrodactylus* memiliki kesempatan untuk melekat kembali selama lebih dari 20 jam. El-Naggar et al. (2004) menyatakan bahwa *Gyrodactylus* berenang untuk meningkatkan kemungkinan penularan ke inang baru. Ini menunjukkan kemungkinan bahwa parasit dapat mendeteksi pergerakan air yang terkait dengan inang yang mendekat menggunakan reseptor mekano-kimia. Penularan *Gyrodactylus* tidak memerlukan inang perantara. Cara perkembangbiakan parasit ini adalah vivipar yang mampu melahirkan individu hidup berukuran penuh dan memungkinkan pertumbuhan populasi yang cepat pada inangnya (Grano-Maldonado, 2014a). Ektoparasit *Gyrodactylus* dapat menyebabkan infeksi sekunder sehingga penyakit lain seperti jamur, bakteri, dan virus akan lebih mudah terpapar pada jaringan ikan yang terinfeksi (Woo, 2006). Infeksi berat menyebabkan kerusakan serius pada permukaan jaringan tubuh inang dan juga membawa potensi infeksi sekunder patogen lain, yang menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar dalam budidaya (Tu et al., 2015).

Gyrodactylus menunjukkan mekanisme infeksi yang sangat efisien karena mampu berenang terarah dengan cara meregangkan tubuh agar dapat mencapai inangnya. Lapisan epidermis dan permukaan tubuh inang dapat menjadi penghalang bagi keberhasilan infeksi *Gyrodactylus* (Grano-Maldonado et al., 2018). Oleh karena itu, *Gyrodactylus* akan memilih inang secara spesifik, memungkinkan untuk dapat diinfeksi dan memberikan nutrisi yang optimal (Buchmann & Bresciani, 2001). Infeksi parasit ini dapat merusak lapisan epidermis ikan melalui organ perlekatannya dan menyebabkan borok. Pencernaan

enzimatik yang dilakukan *Gyrodactylus* sebagai akibat kemampuan predasi parasit pada tempat perlekatannya mengakibatkan hilangnya integritas osmotik epidermis organ inang, yang dikaitkan dengan penyebab utama kematian ikan (Harms, 1996). *Gyrodactylus* merupakan ektoparasit yang selalu hidup di sirip dan insang ikan Teleostei. Infeksi parasit ini menyebabkan morbiditas dan mortalitas pada ikan khususnya larva dan juvenil dalam sistem budidaya (Forwood et al., 2016).

Penjelasan lain mengungkapkan bahwa parasit ini diketahui dapat menembus jaringan inang dan sel epitel dan mendorong potensi infeksi sekunder yang dapat memainkan peran penting dalam patogenesis *Gyrodactylus* (Tu et al., 2015). Meskipun *Gyrodactylus* berpotensi sangat patogen (Bakke et al., 2002), patogenesis spesies *Gyrodactylus* sangat bervariasi dan kematian inang karena induksi parasit ini akan sangat tergantung pada spesies dan ukuran inang (Bakke et al., 2007). Beberapa laporan bahkan mengungkapkan bahwa belum ada cara yang memuaskan dan senyawa yang efektif untuk mengendalikan infeksi *Gyrodactylus* (Reverter et al., 2014; de Moraes, 2015). Buchmann & Uidal (1994) melaporkan bahwa *Gyrodactylus* mampu menyebabkan mortalitas pada ikan meski dengan tingkat infeksi yang rendah dan durasi singkat.

b) Tingkat infeksi *Gyrodactylus* sp.

Secara umum, semua ikan ditemukan terinfeksi dengan prevalensi hingga 100%. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa *Amphiprion* terinfeksi oleh parasit *Gyrodactylus* hanya pada sirip (kecuali sirip dada) dan tidak ditemukan infeksi pada insang (Tabel 5). Ada kemungkinan bahwa parasit dapat mendeteksi pergerakan air yang terkait dengan inang terdekat menggunakan reseptor mekano-kimia dan fotosensitif (Grano-Maldonado et al., 2014b). Aliran air yang kompleks, misalnya karena pergerakan sirip ikan dilaporkan dapat meningkatkan transmisi *Gyrodactylus* (Tytell, 2006). Peneliti menemukan bahwa pergerakan sirip ikan mampu menghasilkan pusaran melingkar yang khas dan mampu mengangkut beberapa partikel termasuk parasit ke tubuh ikan (Drucker & Lauder, 2003). Turbulensi air dianggap dapat menjadi rute transmisi tambahan bagi *Gyrodactylus* (Grano-Maldonado et al., 2018). Beberapa *Gyrodactylus* menunjukkan spesifisitas mikrohabitat yang signifikan dan sangat bervariasi antarspesies (Buchmann, 2020). Beberapa studi menemukan bahwa parasit yang melekat pada sirip punggung atau sirip perut ikan dapat menjadi strategi untuk menghindari predasi inang, kompetisi, dan respon imun (Jones, 2001; Whittington & Erns, 2002). Selain itu, setiap fase perkembangan parasit yang menghuni sirip ikan yang berbeda

dapat memperoleh makanan secara spasial dan menghindari kompetisi (Trujillo-González et al., 2015).

Berdasarkan interval panjang ikan, tingkat infeksi *Gyrodactylus* lebih tinggi pada bagian ekor dibandingkan organ lainnya (Gambar 10). Sebaliknya, berdasarkan interval berat, *cluster* 0,39-0,59 g memiliki intensitas tertinggi dan *cluster* 0,18-0,38 g memiliki intensitas terendah. Prevalensi pada semua interval berat memiliki prevalensi 100% (Tabel 6 dan Gambar 9). Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan antara infestasi parasit setiap organ pada interval panjang ikan 1,0-2,0 cm dan 2,5-3,6 cm ($P < 0,05$). Nilai koefisien yang diamati antara jumlah *Gyrodactylus* pada interval panjang (0,77) dan berat ikan (0,602) menunjukkan korelasi positif (Gambar 11 dan 12). Menurut William & Bunkley (1996), prevalensi parasit 99-100% tergolong infeksi sangat parah dengan tingkat serangan “selalu”, sehingga infeksi parasit pada *A. percula* terutama pada sirip ekor tergolong sangat parah (100%). Variasi tingkat infeksi ektoparasit pada ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti ukuran dan asal ikan, pertahanan biologis ikan, serta perubahan lingkungan dan musim (Machado et al., 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran ikan kemungkinan memiliki peran terhadap nilai infeksi parasit. Ikan yang lebih besar memungkinkan lebar permukaan yang besar untuk manifestasi parasit sehingga parasit dapat tumbuh dengan cepat, daripada ikan yang lebih kecil. Machado et al. (1994) menggambarkan peningkatan ukuran ikan yang menyebabkan infeksi parasit akan meningkat secara signifikan. Monogenea termasuk *Gyrodactylus* umumnya menyerang benih berumur sekitar dua bulan, sehingga umur dan ukuran ikan juga memengaruhi infeksi parasit ini (Ozturk, 2005). Hasil penelitian Maulana et al. (2017) di Aceh, Indonesia, menemukan bahwa infeksi ektoparasit lebih tinggi pada ikan yang berukuran lebih besar daripada yang lebih kecil. Arpia et al. (2012) menyatakan bahwa faktor lain yang memengaruhi prevalensi dan intensitas parasit pada ikan yang lebih besar diduga dipengaruhi oleh kemampuan pergerakan parasit. Selain itu, cara perkembangbiakan parasit juga berpengaruh terhadap tingkat infeksi parasit. *Gyrodactylus* bereproduksi dengan cara beranak (vivipar) pada parasit dewasa. Perkembangan embrio terjadi secara penuh dalam sauran reproduksi (*ovary*). Kemampuan reproduksi ini memungkinkan *Gyrodactylus* berkembang biak dengan cepat dalam lingkungan perairan (Klinger & Floyd, 2013)

c) Identifikasi *Trichodina* sp.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ikan kakap putih *L. calcarifer* dari Takalar dan kerapu hibrid *E. fuscoguttatus-lanceolatus* dari Situbondo dan Gondol terinfeksi oleh parasit dari golongan Protozoa. Parasit ini menunjukkan adanya *denticles* dan *adoral ciliary spiral* yang merupakan ciri umum morfologi genus *Trichodina* (Mizuno et al., 2016). Genus *Trichodina* merupakan salah satu yang paling umum dari ikan air tawar dan laut (Dar et al., 2016). Ektoparasit ini adalah kelompok Protozoa bersilia yang beragam dan tersebar luas. Sampai saat ini, sekitar 400 jenis telah diidentifikasi di seluruh dunia, dan sebagian besar dilaporkan menginfeksi berbagai organisme akuatik termasuk ikan (Wang et al., 2017). Siklus hidup *Trichodina* terbilang cukup sederhana yaitu hanya melalui inang definitif atau tanpa inang perantara, dengan reproduksi melalui pembelahan. Mizuno et al. (2016) menyatakan bahwa *Trichodina* biasanya menginfeksi permukaan tubuh dan insang ikan.

Banyak *Trichodina* telah diselidiki baik secara morfologi maupun molekuler (Deng et al., 2015; Wang et al., 2016). Terdapat berbagai spesies *Trichodina* yang menginfeksi ikan dan diketahui melalui karakteristik morfologinya. Mizuno et al. (2016) menjelaskan bahwa *Trichodina* memiliki ciri-ciri tubuh berbentuk cakram, dikelilingi oleh membran, sisi lateral berbentuk lonceng dan memiliki cincin *denticles* sebagai alat perlekatan serta memiliki silia. Umumnya, taksonomi *Trichodina* sebagian besar didasarkan pada struktur *adhesive disk* dan *denticles* yang dapat dilihat melalui pewarnaan *silver impregnation* (Foissner, 2014). Menurut Lom & Dykova. (1992), bentuk *denticles* dan *adoral ciliary spiral* merupakan ciri umum morfologi *Trichodina*. Terdapat beberapa parameter morfologi yang digunakan untuk mengidentifikasi *Trichodina* yaitu diameter tubuh serta jumlah dan dimensi *denticles* (Xu et al., 2000; Mizuno et al., 2016). Sebagian besar *Trichodina* menunjukkan spesifisitas inang yang rendah, variabilitas intraspesifik yang tinggi, dan kesamaan antarspesies yang membuat identifikasi spesies hanya berdasarkan karakteristik morfologi menjadi sulit (Kreier 2013; Tang et al., 2017; Wang et al., 2017).

Protozoa dari genus *Trichodina* dikenal luas sebagai ektoparasit yang menyebabkan kerusakan parah pada inangnya, dengan konsekuensi kerugian ekonomi di banyak negara (Lom, 1995). Keberadaan *Trichodina* telah dilaporkan pada ikan laut baik di lokasi budidaya maupun alam liar oleh beberapa peneliti. Misalnya pada kelompok grouper (Umasugi & Burhanuddin, 2015; Ningsih et al.,

2016; Hasnidar, 2018; Ridhwan et al., 2018; Zafran et al., 2019), seabass (Paperna & Laurencin, 1979; Irianto & Asmanelli, 1992; Zafran et al., 2019), belanak (Paperna, 1975), Ikan botana atau surgeonfish (Basson et al., 1990), sidat (Madsen et al., 2000; Grano-Maldonado et al., 2011), dan *Acipenser persicus* atau dikenal dengan nama sturgeon (Adel et al., 2016). Namun penelusuran pustaka oleh penulis mengungkapkan hingga kini belum terdapat laporan identifikasi *Trichodina* hingga level spesies pada kakap putih maupun kerapu hibrid, di Indonesia.

Parasit ini diketahui mampu memengaruhi kesehatan dari banyak jenis ikan budidaya. Lebih lanjut dikatakan bahwa *Trichodina* merupakan ektoparasit bersilia dan sering menyerang epitel kulit dan insang baik ikan air tawar maupun air laut. Setelah menembus epitel, parasit akan memulai tahap pembelahan. Infeksi *Trichodina* pada ikan akan menghancurkan sel epitel dan menyebabkan stres. Akibatnya, tanda-tanda klinis pada inang yang terinfeksi bervariasi seperti kekurangan oksigen hingga menyebabkan kematian (Tang & Zhao, 2007; Valladao et al., 2014). Penyakit ini juga diakui sebagai salah satu yang paling patogen dari golongan parasit Eukariota (Matthews, 1994). Zheila (2013) mengemukakan bahwa tubuh ikan yang berhubungan langsung dengan lingkungan luar termasuk insang merupakan habitat yang disukai ektoparasit *Trichodina*. Umara et al. (2014) dan Valladao et al. (2014) menemukan infeksi *Trichodina* pada permukaan tubuh dan insang serta pada ikan budidaya dan ikan di alam liar. Infeksi *Trichodina* pada ikan dilaporkan dapat mereduksi fungsi sistem imun dalam mekanisme pertahanan tubuh. Hal tersebut memungkinkan pertumbuhan dan proliferasi parasit di jaringan tertentu menjadi lebih cepat (Peters et al., 2021). *Trichodina* dilaporkan dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% pada kelompok catfish (Matthews, 1994).

d) Tingkat infeksi *Trichodina* sp.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Trichodina* sp. hanya ditemukan pada insang. Insang adalah organ yang paling menarik untuk diinvasi berbagai jenis parasit, diikuti oleh sirip dan organ lainnya. Aliran air yang konstan melintasi insang dapat menghasilkan stimulus mekanis yang kuat dan menjadikannya target menarik untuk perlekatan parasit (Kallert et al., 2009). Selain itu, selama periode invasi, insang merupakan organ yang paling sensitif dibandingkan area permukaan seperti sirip, kulit dan lendir. Oleh karena itu wilayah tubuh yang merespon rangsangan mekanis yang intens ini lebih disukai oleh parasit. Lebih

lanjut dijelaskan bahwa kemungkinan butuh lebih banyak waktu bagi parasit untuk mencapai bagian tubuh yang kurang aktif (Eszterbauer et al., 2019).

Pengamatan infestasi *Trichodina* sp. diketahui bahwa pada kerapu hibrid yang berasal dari Situbondo lebih tinggi (3.476 spesimen) dibandingkan ikan dari Gondol (580 spesimen). Parasit Protozoa dari dua lokasi tersebut juga memiliki prevalensi yang sama hingga 100%. Intensitas serangan parasit pada ikan dari Situbondo sebesar 115,87, sedangkan pada ikan dari Gondol sebesar 19,33. Menurut kriteria yang dijelaskan oleh William & Bunkley (1996), infeksi *Trichodina* pada ikan kerapu hibrid dari Situbondo tergolong sangat parah berdasarkan prevalensi dan intensitas. Sebaliknya, pada ikan kerapu hibrid dari Gondol, Bali tergolong infeksi sedang. Selanjutnya Infestasi *Trichodina* pada ikan kakap putih dari Takalar tergolong infeksi parah berdasarkan prevalensi (93,33%), sedangkan berdasarkan intensitas tergolong infeksi sedang (23,33). Variasi tingkat infeksi ekoparasit pada ikan dapat disebabkan oleh interaksinya dengan inang seperti ukuran, umur dan asal ikan. Hal ini berkaitan dengan pertahanan biologis ikan dan perubahan lingkungan bagi parasit. Infeksi *Trichodina* umumnya ditemukan menginfeksi kulit dan insang ikan yang berasal dari air yang mengandung bahan organik tinggi (Mizuno et al., 2016).

Secara umum, hasil penelitian menunjukkan kecenderungan panjang dan berat ikan berpengaruh terhadap tingkat infeksi *Trichodina*. Hasil ini mendukung riset terdahulu, misalnya Alifuddin et al. (2007) menyatakan bahwa ukuran dan umur ikan menyebabkan nilai prevalensi dan intensitas parasit akan semakin tinggi. Selain itu, semakin luas permukaan tubuh ikan maka koloni parasit juga akan semakin meningkat. Ikan yang terinfeksi *Trichodina* sangat berbahaya terutama karena pergerakan inang maupun parasitnya sehingga dapat menjangkau wilayah yang lebih luas. Umur ikan juga akan menyebabkan kontak yang lebih lama dengan parasit sehingga tingkat infeksi akan cenderung semakin tinggi dengan bertambahnya umur. Selain itu dikatakan bahwa luas permukaan tubuh ikan menyebabkan tingkat infeksi *Trichodina* yang berbeda (Rokhmani, 2009).

Hasil uji statistik mengonfirmasi panjang ikan berpengaruh terhadap infestasi parasit ($P < 0,05$) pada kerapu hibrid dari Situbondo dan kakap putih dari Takalar. Selanjutnya sampel ikan dari Gondol menunjukkan perbedaan signifikan pada interval berat ($P < 0,05$) dan tidak berbeda pada interval panjang ($P > 0,05$). Pengaruh ukuran umur inang dapat menjadi alasan variasi tingkat infeksi. Hasil

penelitian Maulana et al. (2017) di Aceh menemukan bahwa infeksi ektoparasit termasuk *Trichodina* lebih tinggi pada ikan dengan panjang dan berat yang besar daripada pada ikan yang lebih kecil. Umasugi & Burhanuddin (2015) melaporkan infeksi *Trichodina* yang tinggi pada ikan kerapu berukuran 10-17 cm pada insang dan sisik. *Trichodina truttae* ditemukan menginfeksi ikan budidaya laut dan menyebabkan hiperplasia jaringan epidermis dan kematian mencapai 56% (Urawa & Yamao, 1992). Beberapa spesies lele dilaporkan mengalami 100% kematian akibat infeksi *Trichodina* (Dar et al., 2016). Faktor lain yang memengaruhi prevalensi dan intensitas parasit pada ikan besar dipengaruhi oleh makanan yang dikonsumsi. Infeksi *Trichodina* banyak ditemukan pada komoditas perikanan budidaya terutama pada stadia juvenil (Arpia et al., 2012).

2. Identifikasi bakteri

Hasil analisis bakteri menunjukkan bahwa yang menginfeksi ikan didominasi oleh bakteri dengan bentuk koloni bulat utuh dan sel berbentuk batang serta memiliki spora. Sebaliknya, hasil pewarnaan gram menunjukkan terdapat dominansi bakteri gram negatif terutama pada organ ginjal dan insang ikan. Telah dijelaskan bahwa umumnya bakteri patogen adalah yang berasal dari golongan gram negatif dan memiliki sel berbentuk batang seperti *Aeromonas*, *Pseudomonas* dan *Sphingomonas*, pada ikan budidaya (Sari, 2011; Isoni et al., 2019). Di lingkungan perairan, bakteri adalah agen penyakit yang sering terjadi bersama dengan patogen lain. Misalnya bakteri berbentuk basil seperti *Aeromonas* sering ditemukan pada ikan budidaya. Penyakit karena serangan bakteri diketahui dapat bersifat mematikan akibat kehilangan nafsu makan, pendarahan, dan pembengkakan pada organ tertentu seperti insang, ginjal dan limfa (Ashari et al., 2014).

Laporan terdahulu telah mengungkapkan banyak jenis bakteri patogen yang memengaruhi kesehatan ikan budidaya. Toranzo et al. (2005) melaporkan golongan bakteri gram negatif penyebab penyakit pada ikan laut yakni *Listonella anguillarum* pada seabass, eel, dan red seabream. *Vibrio ordalii* pada salmonids, *Vibrio salmonicida* pada salmon Atlantik dan cod. *Vibrio vulnificus* pada eels dan seabass. *Moritella viscosa* pada salmon Atlantik. *Photobacterium damsela* pada seabream, kakap putih, sole, striped bass, dan yellowtail. *Pasteurella skyensis* pada salmon Atlantik, *Aeromonas salmonicida* pada salmonids. *Tenacibaculum maritimum* pada kakap putih, gilthead and red seabream. *Pseudomonas anguilliseptica* pada seabream, eel, dan turbot. Sebaliknya, bakteri gram positif

misalnya *Lactococcus garvieae* pada Yellowtail dan lele. *Streptococcus iniae* pada yellowtail, kakap putih. *Streptococcus parauberis* pada Turbot, *Streptococcus phocae*, *Renibacterium salmoninarum*, dan *Piscirickettsia salmonis* pada salmon. *Mycobacterium marinum* pada kakap putih dan turbot.

Lebih lanjut dijelaskan bahwa laporan terbaru mengungkapkan adanya infeksi *Pseudomonas* dan *Vibrio* pada kakap putih *L. calcarifer* (Fauzy et al., 2014; Zaenuddin et al., 2019). Di Indonesia, berbagai kegagalan panen pada komoditas budidaya sering terjadi akibat *Vibrio* dan *Aeromonas* (Triyaningsih et al., 2014; Fajriani et al., 2018). Hastari et al. (2014) mendapati vibriosis pada ginjal dan limfa ikan kerapu macan. Infeksi *Aeromonas* ditemukan pada beberapa komoditas budidaya seperti ikan baung, nila, kerapu, lele, patin, mas, dan gurami (Saputra & Indaryanto, 2018). Austin & Austin (1999) mengidentifikasi kelompok bakteri termasuk *Mycobacterium*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* dan *Vibrio*, yang merupakan penyebab utama penyakit infeksi bakterial pada ikan. Selain itu, bakteri patogen *Aeromonas*, *Pseudomonas*, dan *Streptococcus iniae*, dilaporkan bertanggung jawab atas *motile aeromonas septicemia* (MAS) dan *septicemia hemorrhagic* (Foysal et al., 2011).

Bacillus spp. pembentuk spora, merupakan salah satu bakteri yang memiliki ketahanan karena tahap sporulasi dalam siklus hidupnya stabil terhadap panas, asam lambung, dan lingkungan ekstrim lainnya (Cui et al., 2019). Yifang et al. (2020) menyatakan bahwa lebih dari 60% isolat bakteri (39 isolat dari 65 yang diteliti, 36 di antaranya merupakan genus *Bacillus*) menunjukkan aktivitas hemolitik, yang mungkin dikaitkan dengan faktor virulensi bakteri, dan menghasilkan enterotoksin dan berbagai toksin mirip surfaktan sitotoksik. Lebih lanjut dijelaskan bahwa isolat dari genus *Bacillus* diketahui kemampuannya menghasilkan terutama empat toksin, termasuk tiga enterotoksin (Hbl, Nhe, dan CytK1) dan satu toksin peptida (cereulide) (Bottonee, 2010). Berbagai penyakit bakteri telah dilaporkan pada ikan budidaya laut di seluruh dunia, terutama bakteri dari golongan gram negatif (Terceti et al., 2016). Botella et al. (2002) melaporkan banyak bakteri basil yang menyerang sistem imun dan mengganggu organ penghasil antibodi seperti ginjal. Selain itu dilaporkan kekhawairan terhadap kemampuan resistensi bakteri melawan berbagai antibiotik seperti ampisilin, amoksilin, *ciprofloxacin*, *chloramphenicol*, *enrofloxacin*, *nitrofurantoin*, *oksitetrasiklin*, *trimetoprim-sulfametoksazol*, dan novobiosin (Zorrilla et al., 2003; Labella et al., 2011).

Patogenisitas bakteri dianggap sebagai salah satu yang paling banyak dipelajari karena penyebarannya yang luas dan dampak ekonomi negatif pada ikan liar dan budidaya (Toranzo et al., 2005; Austin & Austin, 2007). Laporan terdahulu mengungkapkan bahwa penyakit bakterial termasuk paling berpengaruh dan berkontribusi dalam masalah penyakit dan memiliki dampak besar pada stok ikan budidaya laut di seluruh dunia (Ben et al., 2006; Snoussi et al., 2008). Lebih lanjut dijelaskan bahwa bakteri basil gram negatif lebih berbahaya dan umum di lingkungan berkadar garam tinggi baik pada fasilitas budidaya maupun alam liar (Abdel-Aziz et al., 2013). Banyak bakteri basil gram negatif menyukai lingkungan perairan laut atau payau dan menyesuaikan diri dengan baik pada kisaran salinitas yang luas. Kelompok ini biasanya ditemukan baik yang dibudidayakan maupun di alam liar (Nithya et al., 2007). Berbagai jenis bakteri basil gram negatif telah diisolasi dari lingkungan perairan dan berperan sebagai agen penyebab infeksi sistemik pada berbagai hewan air dan manusia (Santiago et al., 2004; Osorio & Lemos, 2011).

Infeksi bakteri patogen ditengarai dapat memengaruhi beberapa spesies ikan budidaya termasuk kelompok kerapu dan kakap putih di Asia dan Eropa serta menyebabkan wabah epizootic. Selain itu, patogen bakterial juga telah dilaporkan dapat menyebabkan terancamnya kemandirian produksi pada sektor budidaya (Labella et al., 2011). Selanjutnya, bakteri basil berspora umumnya memiliki ketahanan terhadap panas atau lingkungan ekstrim (Cui et al., 2019). Dilaporkan banyak bakteri dari genus *Bacillus* yang menghasilkan enterotoksin seperti Hbl, Nhe, dan CytK1. *Bacillus* juga dikenal dengan kemampuannya menghasilkan toksin peptida (Bottonee, 2010; Yifang et al., 2020). Dijelaskan bahwa enterotoksin yang diproduksi oleh bakteri patogen bersifat tahan panas dan dapat menjadi racun, sehingga menyebabkan keracunan pada makanan (Gorman et al., 2009).

3. Deteksi Iridoviridae melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR)

Polymerase chain reaction (PCR) merupakan teknik amplifikasi (penggandaan) segmen DNA dalam waktu singkat secara *in vitro*. Dalam bidang biologi molekuler, PCR adalah metode enzimatik yang bertujuan untuk memperbanyak urutan nukleotida tertentu secara eksponensial (Yuwono, 2006). Huang et al. (2022) menyatakan bahwa *polymerase chain reaction* (PCR) memainkan peran penting dalam analisis DNA forensik. Hasil penelitian melalui analisis PCR menggunakan berbagai macam primer menunjukkan bahwa primer satu dan dua (untuk *Lymphocystivirus*) serta primer tiga dan empat (untuk *Iridovirus*)

tidak berhasil mengamplifikasi DNA pada sampel ikan. Hanya primer tiga (untuk *Megalocytivirus*) yang berhasil mengamplifikasi DNA, namun hasil sikuensing menunjukkan bahwa pita DNA yang teramplifikasi menggunakan primer tiga bukan DNA target. Hal ini diduga karena sampel ikan yang memang tidak terinfeksi oleh Iridoviridae atau pemilihan primer yang tidak tepat. Preparasi sampel atau ekstraksi DNA juga dapat menjadi alasan tidak terdeteksinya Iridoviridae, berdasarkan hasil sikuensing DNA.

Selain itu, tahapan dalam metode PCR perlu dioptimasi khususnya suhu *annealing*. Hal ini diperlukan karena sebuah primer membutuhkan kondisi suhu optimum yang spesifik untuk dapat menempel pada cetakan DNA (Lim et al., 2019). Optimasi suhu pada tahap *annealing* merupakan salah satu faktor yang memengaruhi proses amplifikasi DNA *template*. Ketika kondisi suhu optimum dan sesuai maka primer dapat menempel pada DNA *template* dan bereplikasi dengan sempurna, sedangkan apabila kondisi suhu tidak optimum maka primer akan menempel pada sembarang tempat dan mengakibatkan terjadinya replikasi DNA yang tidak diinginkan (*non target*), sehingga menyebabkan hasil sikuensing tidak terbaca sebagai DNA yang diharapkan (Ludyasari, 2016). Oleh karena itu tahap *annealing* sangat penting untuk mendapatkan jumlah maksimum DNA yang dapat menempel dengan sempurna. Lebih lanjut dijelaskan bahwa analisis PCR dianggap rentan mengalami kegagalan secara teknis terutama pada amplifikasi nukleotida yang urutannya lebih pendek (<1000 *base pair*) (Assal & Lin, 2021). Selain itu, alasan lain yang diduga paling mungkin adalah kehati-hatian dalam preparasi atau tahap ekstraksi DNA. Kesalahan yang berkaitan dengan volume larutan dan berbagai reagen yang digunakan dapat memengaruhi sensitivitas teknik, terutama dalam analisis molekuler (Brichler et al., 2013).

E. Kesimpulan

Penelitian menyimpulkan bahwa ikan *Amphiprion* terinfeksi oleh *Gyrodactylus* sp. hanya pada sirip. Sebaliknya, kakap putih dan kerapu hibrid terinfeksi oleh *Trichodina* sp. hanya pada insang. Infestasi ektoparasit pada *Amphiprion* dan kerapu hibrid dari Situbondo dan Gondol tergolong sangat parah. Sebaliknya, ektoparasit pada ikan kakap putih dari Takalar tergolong infeksi parah. Pola infeksi parasit cenderung lebih tinggi pada ikan berukuran lebih besar. Identifikasi bakteri menunjukkan terdapat lima jenis bakteri yang menginfeksi lendir, insang, dan ginjal ikan yakni *B. mycoides*, *B. thuringiensis*, *B. cereus*, *B. hinzii*, dan *S. paucimobilis*. Ditemukan dominansi bakteri basil berspora, yakni

golongan bakteri yang melimpah di lingkungan akuatik, hidup di berbagai relung, dan memiliki ketahanan tubuh yang baik. Analisis molekuler mengungkapkan bahwa ikan yang berasal dari berbagai lokasi budidaya tidak terinfeksi oleh virus Iridoviridae.