

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,


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


Co. Promotor,


Dolores V. Baxa, Ph.D.

Ketua Program Studi
S3 Ilmu Perikanan,


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

Dekan Fakultas Ilmu Kelautan
dan Perikanan,


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 penering 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, ampibi 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. Menguantifikasi 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 Indoneisa. 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.

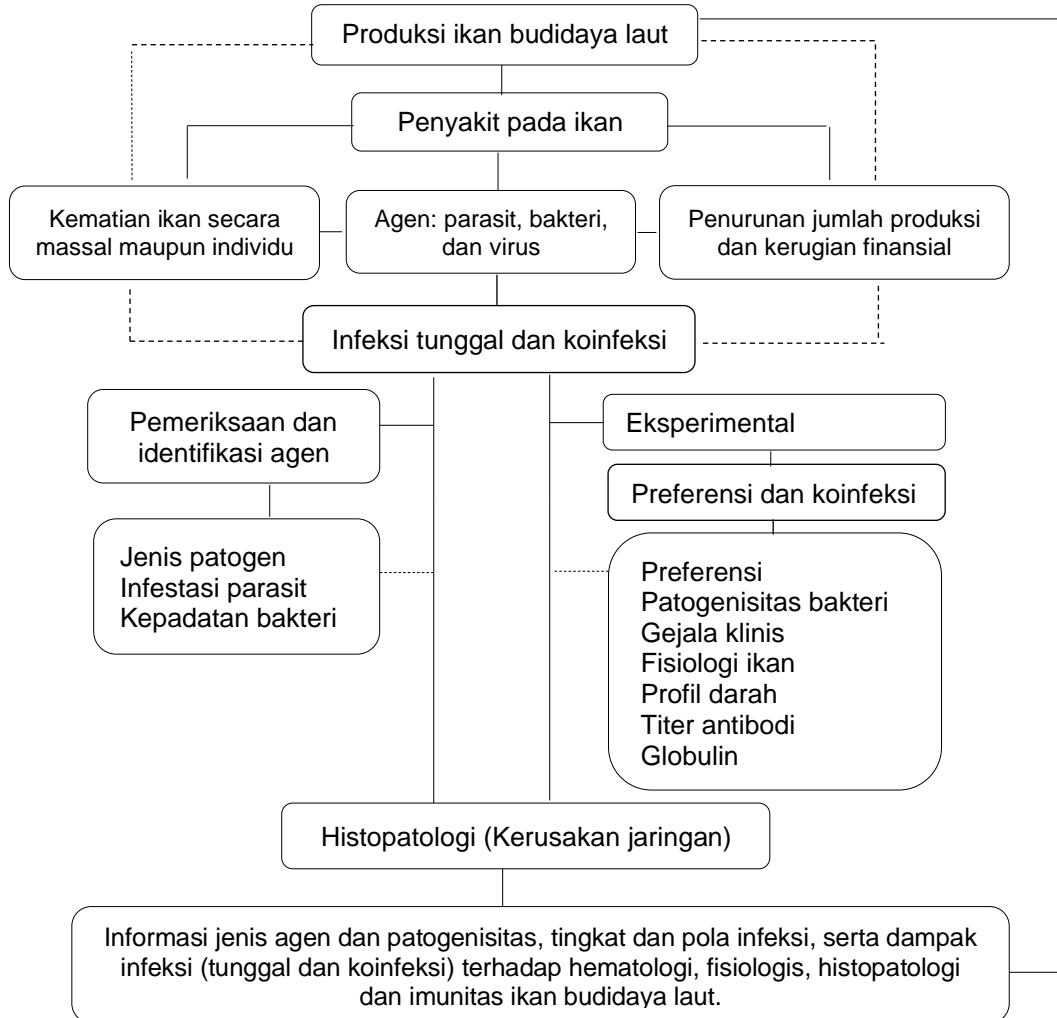
E. Kebaharuan (*Novelties*)

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

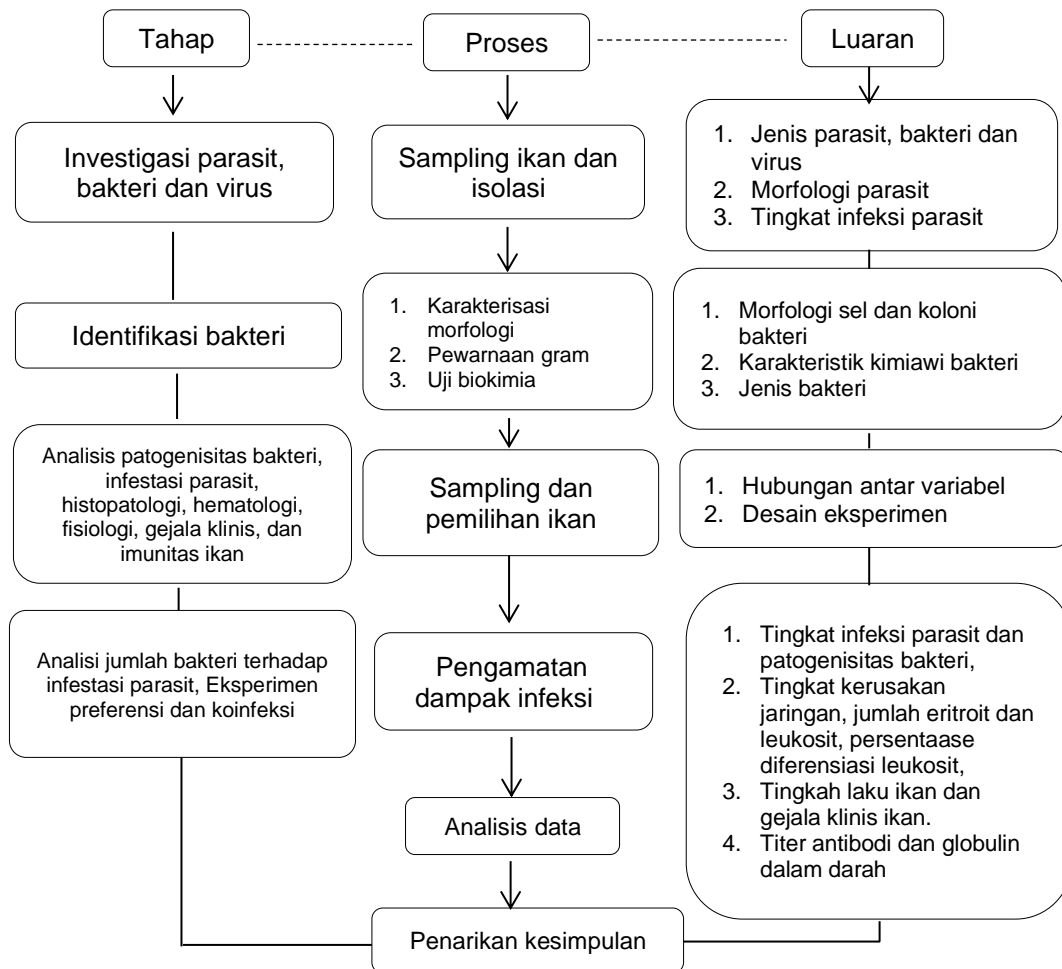
ikan uji. Analisis histopatologi juga dilakukan untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan ikan baik karena infeksi tunggal maupun secara simultan. Kerangka pikir penelitian ditunjukkan pada Gambar 1.



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.

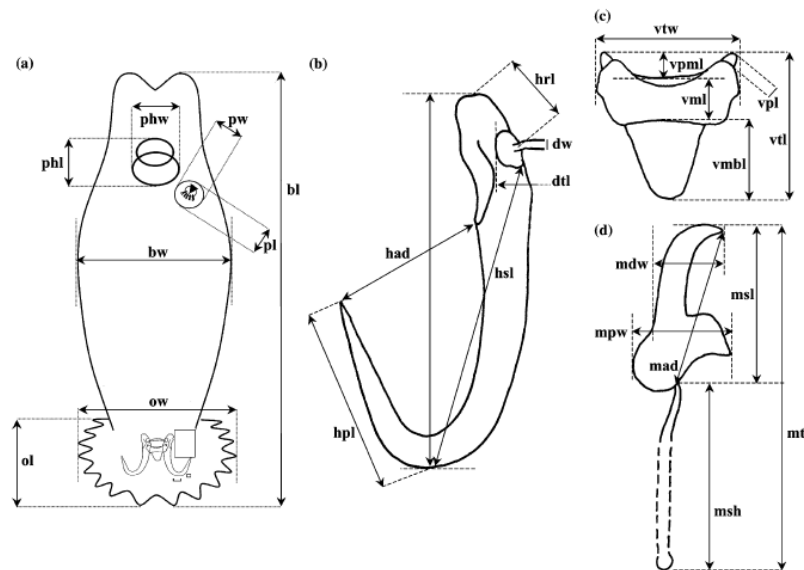
Pembuatan preparat dilakukan untuk mempermudah identifikasi parasit yang ditemukan. Parasit yang menginfeksi organ target diambil menggunakan pipet tetes dan meletakkannya di atas kaca objek. Pewarnaan parasit dari golongan Protozoa termasuk *Trichodina* dilakukan berdasarkan protokol yang dijelaskan 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*; *phi*, *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

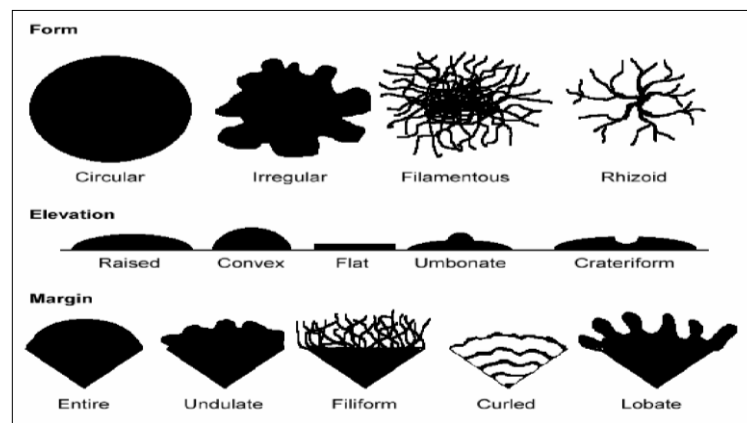
a) Isolasi dan pemurnian bakteri.

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.

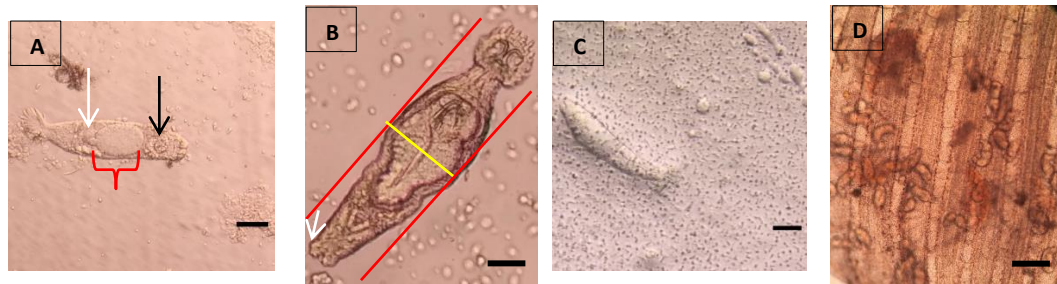
Lokasi sampling	Jenis ikan	Organ yang terinfeksi	Jenis ektoparasit	Jumlah parasit
Takalar	<i>Amphiprion percula</i>	Sirip	<i>Gyrodactylus</i> sp.	1.908
	<i>Lates calcarifer</i>	Insang	<i>Trichodina</i> sp.	630
Situbondo	<i>Hybrid grouper (E. fuscoguttatus-lanceolatus)</i>	Insang	<i>Trichodina</i> sp.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

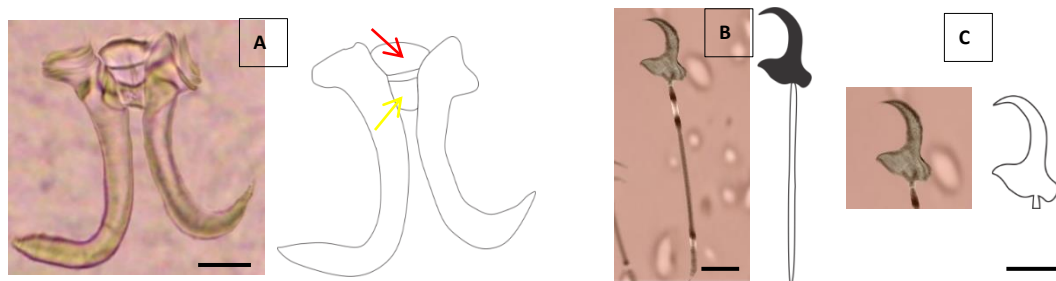
Kode isolat	Warna gram	Spesies bakteri
4 IA	Basil gram positif	<i>Bacillus mycoides</i>
4 MA	Basil gram negative	<i>Bordetella hinzii</i>
4 GA	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
1 IKR	Basil gram negative	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
2 MKR	Basil gram positif	<i>Bacillus cereus</i>
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).

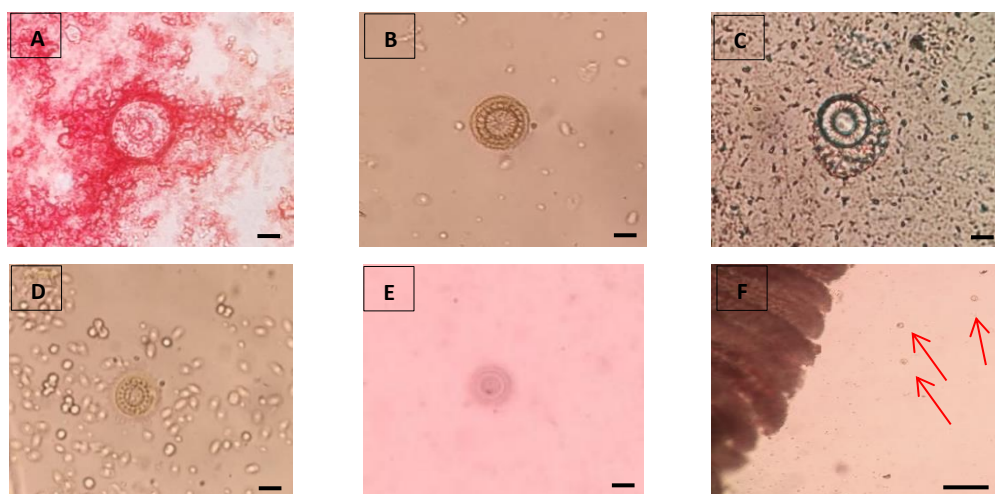


Gambar 6. *Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula* dari Takalar. A) Parasit bagian ventral (panah merah: *embryo*; panah hitam: *pharynx*; panah putih: *seminal receptacle*. B) Garis merah: panjang badan; panah kuning: lebar badan; panah putih: *cephalic lobes*. C) Parasit bagian dorsal. D) parasit 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*.

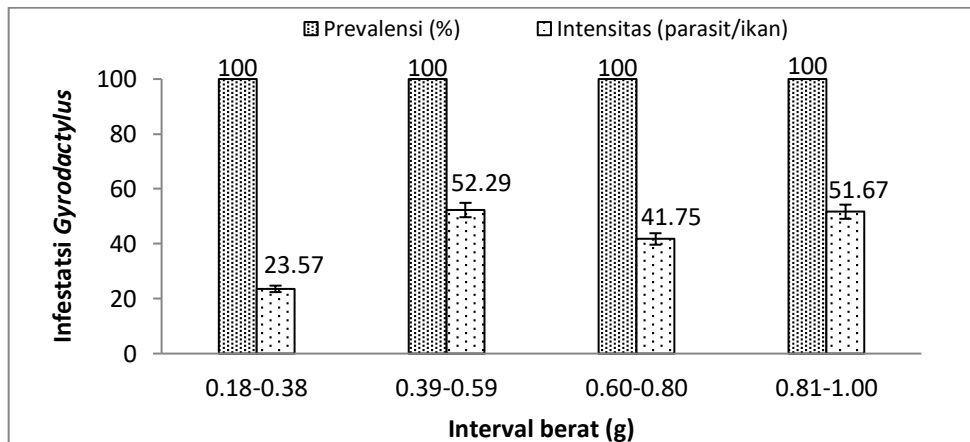
Interval panjang (cm)	Organ	Jumlah ikan yang diperiksa (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prevalensi (%)	Intensitas rerata (parasit/ikan)
1,0-2,0	Sirip ekor	20	197	100	9,85 ± 3,13
	Sirip punggung	20	61	90	3,39 ± 1,57
	Sirip dubur	20	66	80	4,13 ± 2,41
	Sirip perut	20	38	50	3,80 ± 2,45
	Sirip dada	20	0	0	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*.

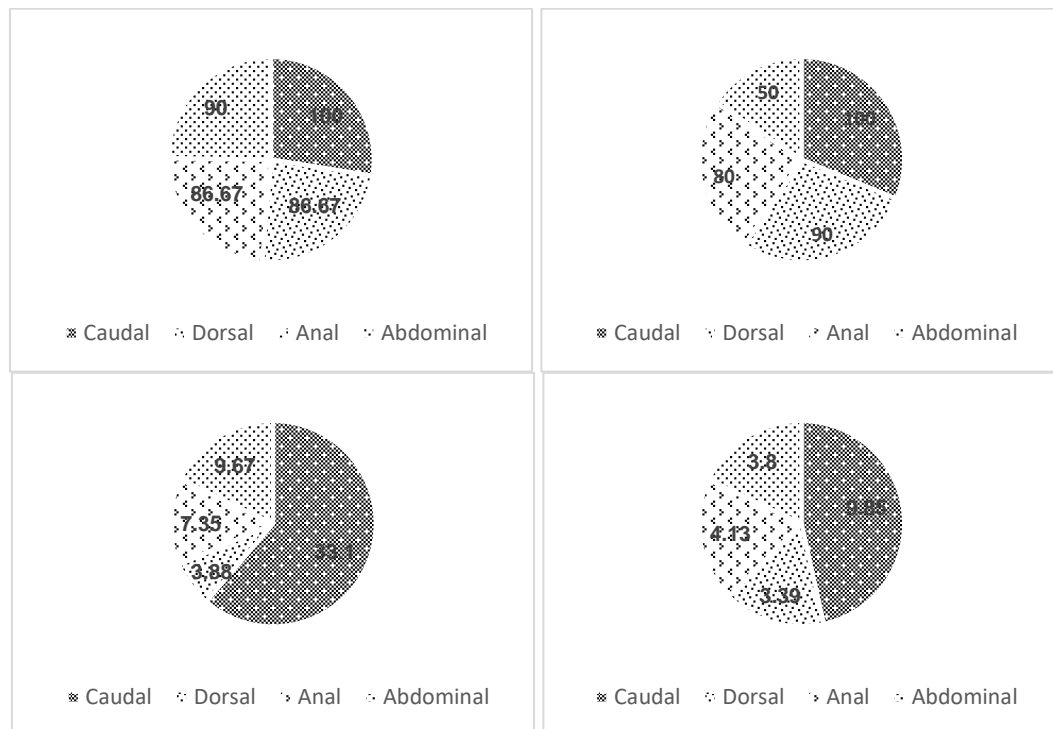
Interval berat (g)	Jumlah ikan yang diperiksa (ekor)	Jumlah ikan yang terinfeksi (ekor)	Jumlah parasit (spesimen)	Prevalensi (%)	Intensitas rerata (parasit/ikan)
0,18-0,38	23	23	542	100	23,57 ± 0,0556
0,39-0,59	17	17	889	100	52,29 ± 0,0512
0,60-0,80	4	4	167	100	41,75 ± 0,0510
0,81-1,00	6	6	310	100	51,67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



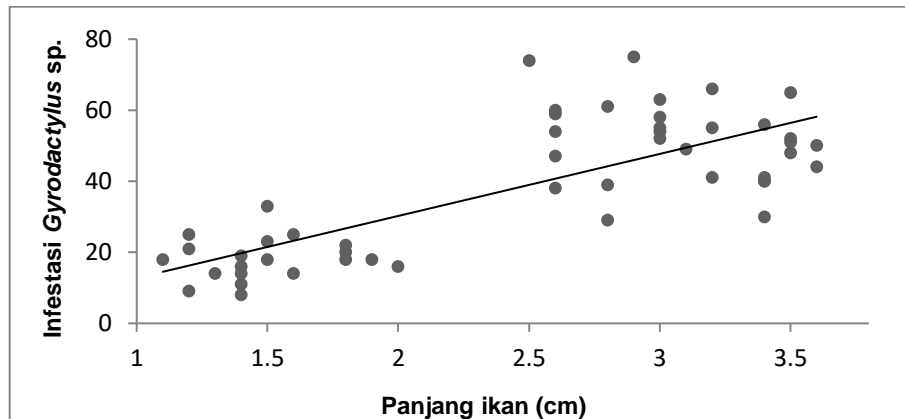
Gambar 9. Infestasi *Gyrodactylus* sp. pada *Amphiprion percula* berdasarkan interval berat.



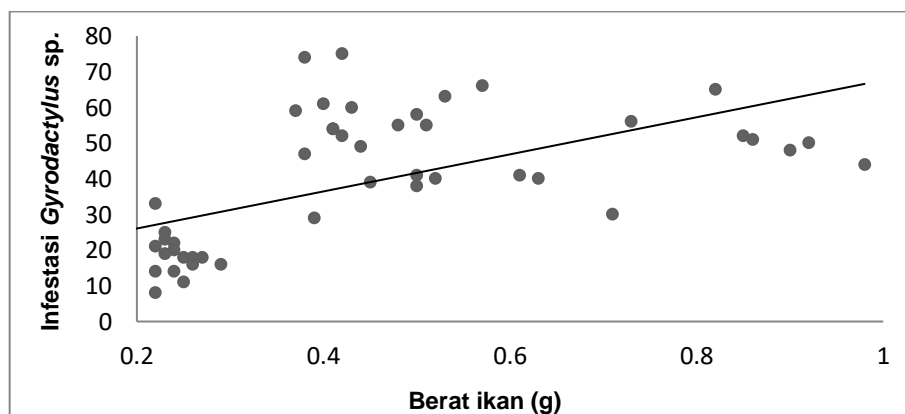
Gambar 10. Prevalensi (atas) dan rata-rata intensitas (bawah) *Gyrodactylus* sp. pada sirip *Amphiprion percula* berdasarkan interval panjang 2,5-3,6 cm (kiri) dan 1,0-2,0 cm (kanan) ($P < 0,05$).

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

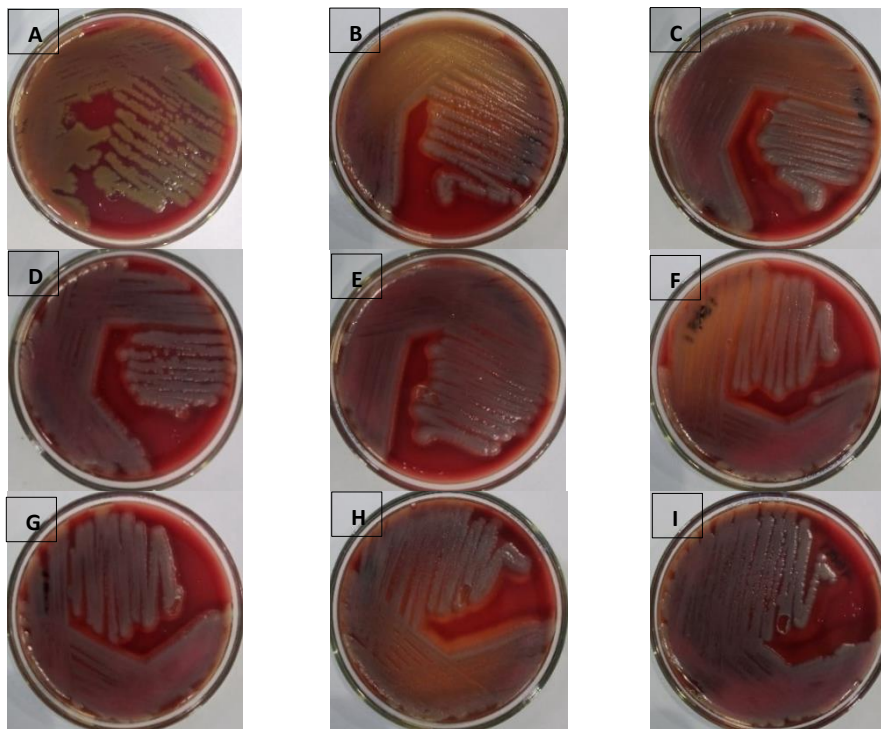
2. Identifikasi bakteri

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

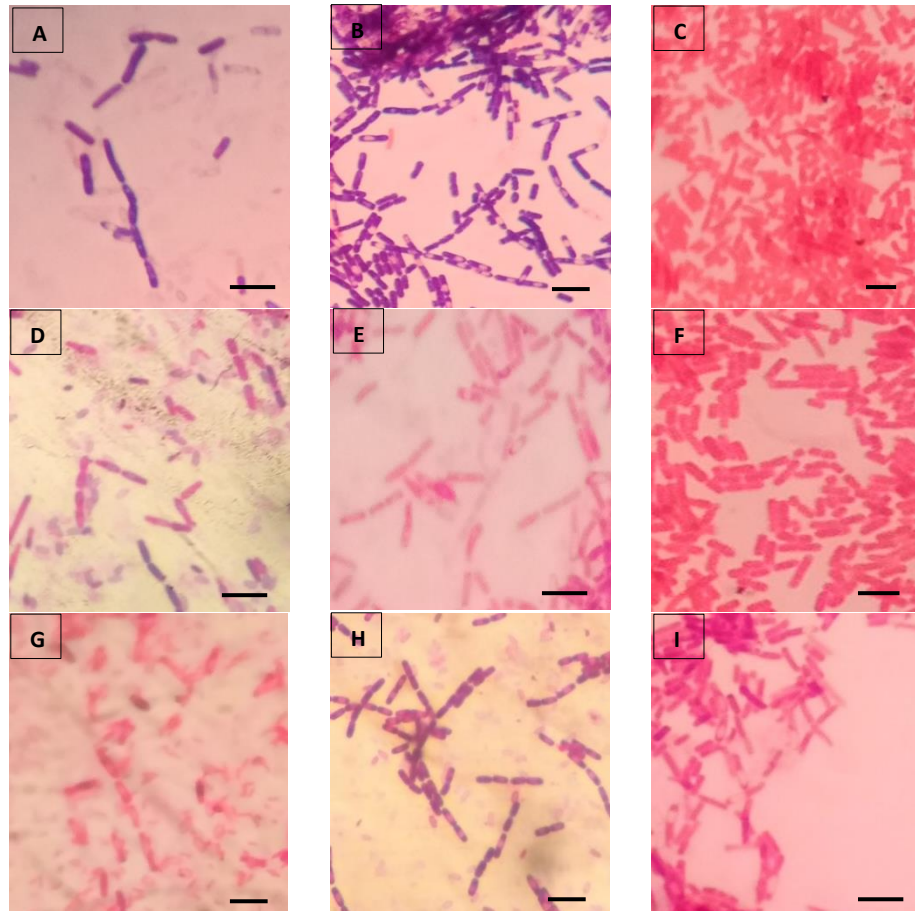
Keterangan = I: Insang; A: *Amphiprion*; L: Lendir; G: Ginjal; KP: Kakap putih; KR: Kerapu



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

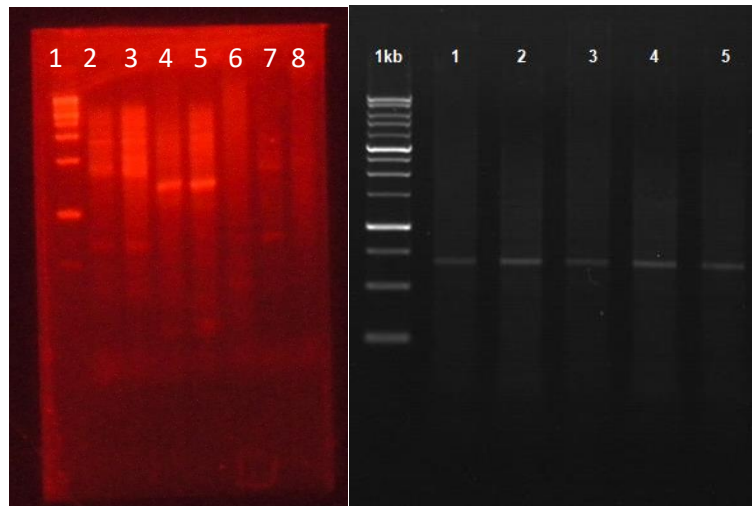
ginjal dan insang adalah organ yang banyak terinfeksi oleh bakteri gram negatif, sedangkan pada lendir dominan terinfeksi oleh bakteri gram positif.

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 patogenisitas *Gyrodactylus* (Tu et al., 2015). Meskipun *Gyrodactylus* berpotensi sangat patogen (Bakke et al., 2002), patogenisitas 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 pbaik 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 pathogen 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.

III. PREFERENSI PARASIT *Trichodina* sp. PADA IKAN KAKAP PUTIH *Lates calcarifer*

Abstrak

Parasit *Trichodina* diketahui dapat berkembang biak dengan cepat melalui pembelahan pada inang dalam kondisi lemah akibat stres dan faktor lingkungan yang tidak optimal. Selain itu, parasit ini diketahui bertransmisi langsung dalam waktu singkat, sehingga keberadaannya dianggap sebagai ancaman pada ikan budidaya. Dilaporkan bahwa ukuran dan umur inang cukup berpengaruh terhadap transmisi parasit, hingga berdampak pada peningkatan infestasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis preferensi *Trichodina* berdasarkan ukuran inang dan distribusi spasial parasit berdasarkan insang. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan metode pemeliharaan bersama (kohabitasi) antara ikan sehat dan ikan sakit. Pemilihan ukuran ikan dilakukan berdasarkan ukuran ikan sehat dan ikan terinfeksi *Trichodina* sp. yang diperoleh dari Balai Perikanan Budidaya Kabupaten Takalar. Terdapat tiga perlakuan yakni ikan sehat berukuran A: 1-2 cm; B: 2-6 cm; dan C: >10 cm, masing-masing empat kali ulangan, yang dipelihara bersama dengan ikan sakit berukuran 6-10 cm sebagai sumber infeksi. Eksperimen dilakukan pada bak bervolume ± 800 Liter yang diberi sekat hingga membentuk 12 kotak, menggunakan jaring. Parameter tingkat dan pola infeksi diamati setiap satu kali sepekan selama empat pekan. Analisis data menggunakan regresi linier untuk mengetahui pengaruh antar variabel. Setelah dikohabitasi dengan ikan sakit berukuran 6-10 cm, hasil menunjukkan bahwa tingkat infeksi *Trichodina* sp. lebih tinggi pada ikan berukuran 2-6 cm ($P < 0,05$), diikuti oleh ikan berukuran >10 cm. Sebaliknya, pada ikan berukuran 1-2 cm tidak ditemukan infeksi *Trichodina* sp. Infeksi *Trichodina* sp. pada ikan berukuran >10 cm hanya ditemukan pada pekan ketiga percobaan, sedangkan pada ikan berukuran 2-6 cm ditemukan setiap pekan dengan peningkatan dari pekan pertama hingga terakhir percobaan. Tingkat infeksi juga menunjukkan *Trichodina* sp. pada ikan berukuran 2-6 cm lebih banyak pada insang kiri ($P < 0,05$). Penelitian menyimpulkan bahwa setelah kohabitasi, *Trichodina* sp. lebih banyak pada ikan berukuran 2-6 cm dibandingkan ukuran lainnya (1-2 dan >10 cm). Sementara berdasarkan insang, *Trichodina* lebih banyak pada insang kiri.

Kata kunci: insang, preferensi, *Trichodina*

Abstract

The *Trichodina* are known to be able to reproduce rapidly through fission in weak hosts due to stress and environmental factors that are not optimal. In addition, this parasite is known to transmit directly in a short time, therefore its presence is considered a threat to cultured fish. This study aimed to analyze the preferences of *Trichodina* based on host size and the spatial distribution of parasites based on gills. The research was conducted experimentally through cohabitation between healthy fish of various sizes and infected fish. The fish selection was based on the size of healthy fish and infected fish by *Trichodina* sp. which collected from the brackfish aquaculture institute of Takalar Regency. There are three treatments, namely healthy fish of size A: 1-2 cm; B: 2-6 cm; and C: >10 cm in four replicates each, which were cohabitated with 6-10 cm infected fish as a source of infection. The experiment was carried out in a ± 800 Liter volume tank which was bordered to form 12 boxes, using a net. Parameters of the level and pattern of infection were observed once a week for four weeks. Data analysis used linear regression to determine the effect between variables. After cohabitation with infected fish (6-10

cm), the results showed the infection rate of *Trichodina* sp. was higher on fish measuring 2-6 cm ($P < 0,05$), followed by fish measuring >10 cm. While no infection on fish measuring 1-2 cm. The infection of *Trichodina* sp. in fish measuring >10 cm was only found in the 3rd week of the experiment, while in fish measuring 2-6 cm was found every week with an increase from the first week to the last week of the experiment. The infection rate also showed that fish measuring 2-6 cm, *Trichodina* sp. was higher on the left gills ($P < 0,05$). The study concluded after cohabitation, *Trichodina* sp. was higher in fish measuring 2-6 cm compared to other sizes tested (1-2 and >10 cm). While based on the gills, *Trichodina* sp. was higher on the left gills.

Keyword: gills, preference, *Trichodina*

A. Pendahuluan

Kakap putih *L. calcarifer* adalah ikan katadromus yang tersebar luas di kawasan tropis Indo-Pasifik dan merupakan ikan bernilai ekonomis tinggi (Silvaraj et al., 2021). *Lates calcarifer* adalah ikan predator besar yang ditemukan di lingkungan pesisir, muara dan air tawar. Ikan ini tergolong spesies yang tumbuh cepat. Menurut Rayes et al. (2013), kakap putih dapat mencapai laju pertumbuhan harian sebesar 0,51% perhari dengan kelangsungan hidup hingga 86%. Hal ini menjadikan *L. calcarifer* menjadi spesies yang populer untuk dibudidayakan dengan nilai > 65 juta dollar (Tucker et al., 2002; Petersen et al., 2016). Data FAO tahun 2019 dalam Irmawati et al., 2021 menunjukkan produksi kakap putih pada lima negara produsen di Asia (Australia, Indonesia, Thailand, Malaysia dan Taiwan) mencapai 90 ribu ton. Kakap putih di Indonesia telah dibudidayakan pada keramba jaring apung (BPBAP Situbondo, Bali, Ambon, Batam) dan juga telah berhasil melewati masa uji coba budidaya pada tambak (Anggraini et al., 2019; Asdary et al., 2019; Zafran et al., 2019; Susilowati, 2020). Budidaya kakap putih di Indonesia dilaporkan juga telah dilakukan menggunakan sistem resirkulasi *raceway* (Asdary et al., 2019).

Di Indonesia, kakap putih merupakan spesies yang memiliki permintaan pasar yang cukup tinggi baik dalam negeri maupun ekspor ke luar negeri (Irmawati et al., 2021). Pasar ekspor ikan kakap putih mencakup kawasan Australia, USA, Eropa dan negara-negara Timur Tengah. Data statistik menunjukkan produksi perikanan budidaya kakap putih dalam skala nasional mencapai ± 10 ribu ton pada tahun 2018 dan Indonesia menjadi produsen kakap putih terbesar keempat dan memasok setidaknya 8,2% kebutuhan kakap putih di seluruh dunia (FAO, 2020a). Permintaan yang cukup tinggi terhadap komoditas ini mengakibatkan terjadinya eksploitasi, sehingga ketersediaannya di alam semakin menurun. Hal ini mendorong intensifikasi budidaya kakap putih di seluruh dunia termasuk Indonesia

(Irmawati et al., 2021). Sebagai akibat dari intensifikasi praktik budidaya, ancaman besar bagi keberlanjutan industri ini secara ekologi dan ekonomi dapat terjadi secara global yakni ikan budidaya akan rentan stres sehingga mudah terinfeksi oleh patogen pada media budidaya. Laporan hasil penelitian telah mengungkapkan wabah penyakit infeksius pada komoditas kakap putih di Indonesia (Anggraini et al., 2019; Zafran et al., 2019). Secara global, Silvaraj et al. (2021) melaporkan wabah penyakit termasuk infeksi parasit dalam pengembangan budidaya ikan kakap putih *L. calcarifer* di seluruh dunia.

Trichodina merupakan ektoparasit Protozoa yang sangat umum pada ikan budidaya dan patogen yang cukup berbahaya, termasuk pada ikan kakap putih. Transmisi langsung *Trichodina* dapat menyerang inang dalam waktu singkat, terutama pada ikan yang hidup dalam kondisi kurang optimal (Lom, 1995). Ektoparasit Protozoa seperti *Trichodina* dianggap sebagai ancaman bagi ikan budidaya karena penyebaran dan transmisinya yang cepat. *Trichodina* adalah ektoparasit yang tergolong cukup berbahaya pada ikan budidaya, bahkan Abdel-Meguid (2001) menyatakan bahwa parasit ini dianggap sebagai salah satu penyebab utama kematian ikan. Selain itu, umumnya ektoparasit Protozoa dapat menyebabkan kerusakan parah dan kematian pada ikan juvenil (Hassan, 1999).

Beberapa penelitian telah menunjukkan sensitivitas parasit terhadap ukuran dan umur inang. Tahap larva ikan dilaporkan adalah yang paling sensitif terhadap perkembangan penyakit Protozoa (Valladao et al., 2014). Sampai saat ini, *Trichodina* adalah salah satu parasit Protozoa berbahaya yang dijelaskan bahwa proliferasinya sangat mungkin didorong oleh hubungan antarfaktor parasit itu sendiri dan perubahan inang seperti variasi ukuran (Martins et al., 2015). Laporan lain menjelaskan bahwa immunogen pada tingkatan ukuran dan jenis ikan dapat menjadi alasan spesifikasi penyebaran mikroorganisme patogen pada ikan (Mikkelsen et al., 2011). Induksi antigen yang bersifat imunogenik akan direspons oleh tubuh ikan dengan membentuk antibodi spesifik, sehingga patogen akan susah bertahan hidup pada tubuh inang yang relatif besar (Haenen et al., 2014). Selain itu, telah dijelaskan bahwa mikroorganisme yang hidup bersama memainkan peran yang beragam dan penting dalam biologi ikan, tetapi keragaman dan interaksinya dengan faktor abiotik dan biotik sebagian besar masih belum diketahui (Vasemägi et al., 2017).

Namun, Wang et al. (2017) menyatakan bahwa penelitian tentang hubungan antara inang dan ektoparasit termasuk *Trichodina* jarang menjadi perhatian utama

pada ikan. Berdasarkan penelusuran penulis, minimnya kajian pada aspek tersebut juga terjadi di Indonesia. Sementara interaksi tersebut memiliki peran penting dalam pengelolaan budidaya ikan. Selain itu, efek negatif dari infeksi parasit dalam berbagai aspek dan tahap pertumbuhan pada ikan juga tidak bisa diabaikan (Adel et al., 2016), sehingga pemahaman tentang ukuran dan organ spesifik ikan yang disukai oleh parasit perlu ditingkatkan. Hal itu dapat membantu keberhasilan terutama dalam hal teknis budidaya di lapangan. Pengetahuan tentang preferensi *Trichodina* sangat penting sebagai informasi dasar guna menunjang keberhasilan budidaya ikan dalam rangka penanganan dan pencegahan. Oleh karena itu, penelitian bertujuan untuk menganalisis preferensi *Trichodina* sp. terhadap inang yakni ukuran dan organ ikan.

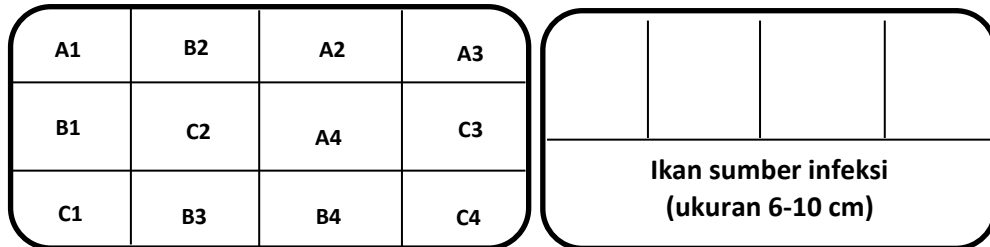
B. Metode Penelitian

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kakap putih *L. calcarifer* yang berasal dari Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Kabupaten Takalar, berdasarkan hasil penelitian pendahuluan (Lihat Bab 2). Kakap putih berukuran <2 cm hingga >10 cm diangkut menggunakan kantong sampel dalam *box styrofoam* ke fasilitas Hatchery FIKP-UNHAS, untuk dilakukan eksperimen lebih lanjut. Pengamatan parasit dilakukan di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, FIKP-UNHAS.

1. Desain eksperimen (sumber, ukuran, dan aklimatisasi ikan)

Eksperimen preferensi infeksi parasit *Trichodina* dilakukan berdasarkan Mizuno et al. (2016) dan Mahardika et al. (2018) dengan beberapa modifikasi. Terdapat empat kelompok ukuran ikan yang digunakan yakni <2 cm, 2-6 cm, 6-10 cm, dan >10 cm. Ikan berukuran 6-10 cm adalah kelompok ikan sakit (terinfeksi secara alami oleh *Trichodina*), sedangkan ukuran <2 cm, 2-6 cm dan >10 cm merupakan ikan sehat (tidak terinfeksi oleh *Trichodina*). Eksperimen dilakukan dengan cara pemeliharaan bersama (kohabitasi) antara ikan sakit dan ikan sehat berbagai kelompok ukuran selama ± empat pekan, dengan aklimatisasi selama satu pekan agar ikan terbiasa dengan lingkungan baru. Eksperimen dilakukan pada bak penampungan bervolume ±1000 Liter (dengan sistem aerasi) yang diberi sekat menggunakan jaring, dengan tiga perlakuan masing-masing empat kali ulangan. Air laut yang digunakan merupakan air laut steril yang berasal dari BPBAP Takalar. Bagian bawah bak diisi dengan ikan yang terinfeksi oleh *Trichodina* sp. berukuran 6-10 cm sebanyak 50 ekor sebagai sumber infeksi. Bagian atas bak yang terbagi menjadi 12 sekat diisi dengan masing-masing 15

ekor ikan sehat (tidak terinfeksi *Trichodina*, dibuktikan dengan pemeriksaan mikroskopis) per sekat untuk masing-masing ulangan pada setiap kelompok ukuran (Gambar 16).



Gambar 16. Desain bak eksperimen preferensi infeksi *Trichodina* sp. Kiri) Tampak dari atas; Kanan) Tampak dari samping. A) Ikan ukuran 1-2 cm; B) Ukuran 2-6 cm; C) Ukuran >10 cm.

2. Penanganan ikan dan pengamatan ektoparasit

Ikan dari wadah pemeliharaan diletakkan dalam cawan petri, kemudian dianestesi menggunakan es batu. Pemeriksaan ektoparasit menggunakan metode preparat ulas (*smear method*), dengan mengukur panjang total (*total length*), ditimbang dan catat. Selanjutnya insang, lendir, dan sirip ikan dikerok (*scrapping*). Sampel diletakkan dalam kaca preparat dan ditetesi larutan fisiologis lalu ditutup menggunakan *cover glass*. Kemudian diamati di bawah mikroskop. Perhitungan jumlah parasit dilakukan setiap satu kali dalam sepekan selama empat pekan pada masing-masing lima sampel ikan untuk setiap ulangan.

3. Pengukuran kualitas air

Parameter kualitas air diukur satu kali per pekan selama empat pekan. Parameter yang diukur yakni suhu menggunakan termometer, pH menggunakan pH-meter, oksigen terlarut menggunakan DO-meter, dan amoniak menggunakan *Tetra Ammonia Test Kit*.

4. Analisis data

Parameter yang diamati meliputi tingkat infeksi (prevalensi dan intensitas) parasit, preferensi organ dan ukuran ikan serta pola infeksi dan parameter kualitas air. Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan analisis regresi linier untuk mengetahui pengaruh ukuran ikan dan preferensi insang terhadap tingkat infeksi *Trichodina* sp. Prevalensi dan intensitas parasit ditentukan menggunakan persamaan sebagai berikut (Bush et al., 1997):

$$\text{Prevalensi} : P = \frac{N}{n} \times 100\%$$

$$\text{Intensitas} : I = \frac{\sum Pr}{N}$$

$$\text{Kelimpahan} : K = \frac{\sum Pr}{n}$$

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

C. Hasil

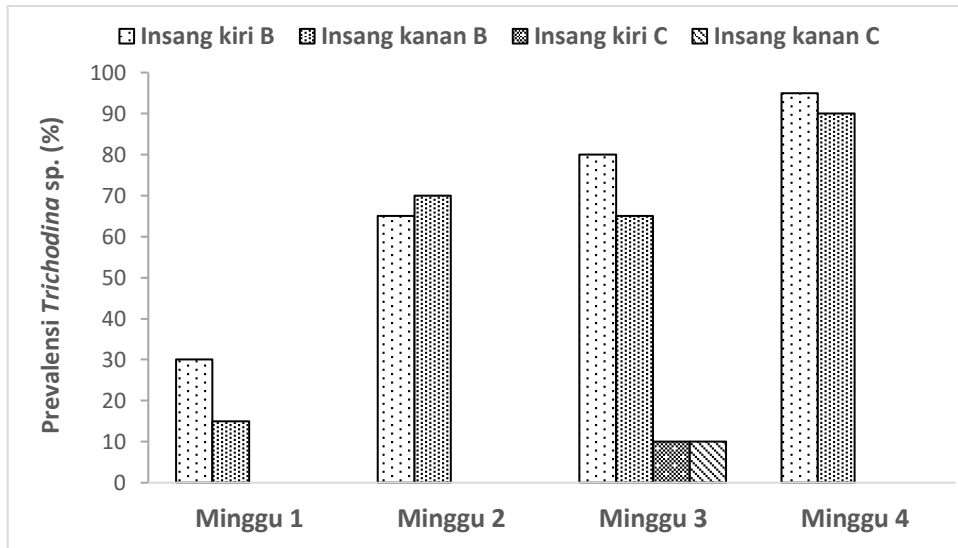
Hasil pengamatan preferensi menunjukkan kelompok ukuran 2-6 cm merupakan yang paling terinfeksi setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi oleh *Trichodina*. Tingkat infeksi *Trichodina* mengalami peningkatan dari pekan pertama hingga pekan keempat percobaan. Sebaliknya, ukuran 1-2 cm tidak ditemukan ikan yang terinfeksi oleh parasit. Sementara ikan ukuran >10 cm hanya terinfeksi parasit pada pekan ketiga percobaan. Tingkat infeksi *Trichodina* sp. pada kakap putih berbagai ukuran yang dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi ditunjukkan pada Tabel 13. Sebaliknya, prevalensi dan intensitas *Trichodina* sp. pada kakap putih setelah dikohabitasi, berdasarkan insang setiap pekan disajikan pada Gambar 17 dan 18.

Tabel 13. Tingkat infeksi *Trichodina* sp. pada kakap putih *Lates calcarifer* berbagai ukuran setelah dikohabitasi dengan ukuran yang terinfeksi (6-10 cm), setiap pekan.

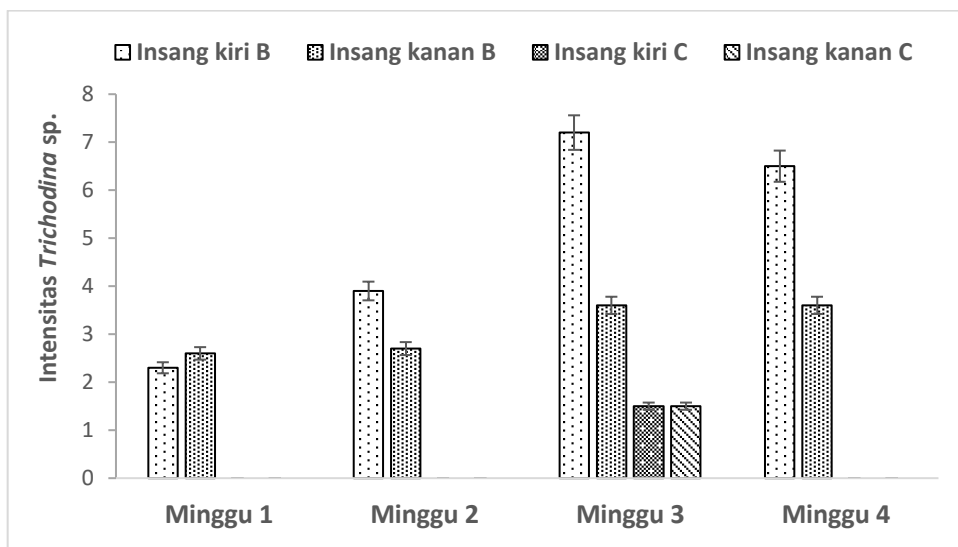
PL	Pekan							
	I		II		III		IV	
	P (%)	Intensitas	P (%)	Intensitas	P (%)	Intensitas	P (%)	Intensitas
A	0	0	0	0	0	0	0	0
B	30	3,6	80	5,5	80	5,5	100	9,45
C	0	0	0	0	15	2	0	0

Keterangan: PL= Perlakuan; A= 1-2 cm; B=2-6 cm; C= >10 cm; P= Prevalensi.

Secara umum, tingkat infeksi *Trichodina* (Gambar 17 dan 18) lebih tinggi pada insang kiri. Hal tersebut berlaku baik berdasarkan prevalensi maupun intensitas. Prevalensi *Trichodina* sp. paling tinggi ditemukan pada insang kiri ikan ukuran 2-6 cm, pekan keempat (95%). Intensitas tertinggi ditemukan pada insang kiri ikan ukuran 2-6 cm, pekan ketiga (7,2). Hasil mengungkapkan bahwa tidak ada infeksi *Trichodina* pada ikan ukuran 1-2 cm, sedangkan pada ikan ukuran >10 cm ditemukan infeksi *Trichodina* sp. hanya pada pekan ketiga percobaan.



Gambar 17. Prevalensi *Trichodina* sp. berdasarkan posisi insang kakap putih *Lates calcarifer* berbagai ukuran (B: 2-6 cm; C: >10 cm), setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi (6-10 cm).



Gambar 18. Intensitas *Trichodina* sp. berdasarkan posisi insang kakap putih *Lates calcarifer* berbagai ukuran (B: 2-6 cm; C: >10 cm), setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi (6-10 cm).

Tingkat infeksi parasit pada ikan ukuran 2-6 cm menunjukkan kecenderungan peningkatan pada setiap pekan percobaan. Hal itu terlihat pada pola nilai prevalensi maupun intensitas parasit ($P < 0,05$; Lampiran 10 dan 11). Selain itu, kecenderungan peningkatan infestasi *Trichodina* sp. juga ditemukan pada tingkat infeksi berdasarkan posisi insang yang menunjukkan bahwa insang kiri adalah yang paling banyak terinfeksi. Hasil pengukuran parameter kualitas air menunjukkan rentang rata-rata salinitas 34,33-35 ppt, suhu 32,33-33,58°C, pH 7,13-7,42, DO 6,91-7,38 ppm, dan amoniak 0,02-0,03 ppm (Tabel 14).

Tabel 14. Rata-rata parameter kualitas air selama eksperimen preferensi *Trichodina* sp.

Parameter kualitas air	Perlakuan			
	A	B	C	D
Salinitas (ppt)	35,00	34,50	34,42	34,33
Suhu (°C)	33,00	32,83	32,33	33,58
pH	7,38	7,13	7,42	7,29
DO (ppm)	6,91	7,13	7,38	7,13
Amoniak (Nh3) (ppm)	0,02	0,02	0,02	0,03

D. Pembahasan

Parasit Protozoa dari genus *Trichodina* adalah salah satu parasit yang umum pada ikan di seluruh dunia (Dar et al., 2016). Dalam kondisi lingkungan yang buruk, populasi parasit ini meningkat dengan cepat dan dapat menyebabkan kerusakan epitel dengan invasi sekunder berikutnya oleh bakteri dan jamur. Menurut Tang et al. (2017), hingga saat ini terdapat lebih dari 400 spesies *Trichodina* telah diidentifikasi di seluruh dunia, terutama dilaporkan menginfeksi dari ikan. Banyak Protozoa adalah patogen serius dan merupakan hama utama dalam budidaya air tawar atau laut. *Trichodina* biasanya terdapat pada insang dan kulit ikan air tawar dan laut. Infestasi parasit akan sangat tergantung pada sejumlah faktor di lingkungan eksternal dan cara hidup inangnya. Parasit mengatur hubungan timbal balik mereka dengan lingkungan eksternal melalui media inang. Selanjutnya timbul ketergantungan luar biasa mereka pada berbagai aspek ekologi dan biologi inangnya. Ukuran dan umur ikan merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi tingkat infeksi (Su, 1993).

Secara umum, hasil penelitian tentang preferensi *Trichodina* sp. menunjukkan pengaruh ukuran dan organ inang terhadap tingkat infeksi dan mengalami peningkatan infeksi hingga pekan terakhir percobaan. Pada ikan ukuran 2-6 cm, prevalensi *Trichodina* menunjukkan peningkatan dari pekan pertama hingga pekan terakhir percobaan (Gambar 17). Intensitas parasit *Trichodina* mengalami peningkatan dari pekan pertama hingga pekan ke ketiga, dan pekan terakhir percobaan mengalami penurunan (Gambar 18). Dijelaskan bahwa kerentanan ikan budidaya terhadap infeksi patogen terkadang berhubungan dengan ukuran, umur inang, dan lama pemaparan (Haenen et al., 2014; Yanong, 2016). Ikan pada ukuran yang lebih kecil dan benih juga dilaporkan sangat rentan terhadap parasitisme *Trichodina* sp. (Lom, 1995). Pada larva ikan,

Trichodina bisa menjadi lebih tinggi selain juga faktor pakan dan kualitas air (Rokhmani, 2009).

Selain itu, infestasi *Trichodina* ditemukan lebih banyak khususnya pada insang kiri (Gambar 17 dan 18). Parasit insang seperti *Trichodina* merupakan parasit yang memiliki inang yang sangat umum di lingkungan akuatik. Rohde (1994) menyatakan bahwa parasit dengan kelimpahan inang yang tinggi akan lebih menyukai ruang relung yang tersedia di insang, sehingga berpengaruh terhadap distribusi mikrohabitat. Sebaliknya, parasit dengan kelimpahan inang yang rendah akan menghindari relung insang untuk meminimalisir kompetisi. Laporan lain mengungkapkan bahwa sebaran parasit pada area insang ikan juga sangat dipengaruhi oleh aliran air, yakni sisi yang dilewati air secara maksimal lebih disukai oleh parasit (Adou et al., 2017; Blahoua et al., 2019). Wootten (1974) menemukan infeksi ektoparasit yang lebih tinggi untuk insang kiri pada ikan *Atherinosoma microstoma* dan *Leptatherina presbyteroides*. Peneliti mendeskripsikan bahwa mungkin ada beberapa perbedaan morfologi atau fisiologi antara kedua sisi ikan, atau beberapa model perilaku ikan yang mungkin menguntungkan parasit untuk mencapai insang kiri.

Hingga saat ini, riset tentang komparasi infestasi parasit antarinsang masih sangat langka, khususnya tentang parasit Protozoa. Beberapa laporan terdahulu memberi gambaran bahwa sisi insang yang banyak terinfeksi parasit sangat mungkin karena lengkung dan luas permukaan yang lebih besar serta daerah arus pernapasan dengan volume yang besar (Wootten, 1974; Paling, 1968). Hal ini didukung oleh teori bahwa tingkat infeksi parasit pada organ tertentu pada ikan dipengaruhi secara langsung pola aliran air pembawa oksigen di insang (Hughes & Morgan, 1973; Lu et al., 2018). Berkenaan dengan dampak infeksi, parasit *Trichodina* dapat menyebabkan sekresi lendir yang berlebihan, kerusakan epitel dan borok yang memungkinkan masuknya bakteri oportunistik. Hal tersebut pada akhirnya dapat menyebabkan borok dan kematian pada ikan dewasa dan benih (Khan, 1991; Urawa & Arthur, 1991).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ukuran ikan maupun kombinasinya dengan posisi insang berpengaruh terhadap tingkat infeksi *Trichodina* sp. Pengaruh tersebut dapat dikaitkan dengan perbedaan lokasi pengambilan sampel, status kekebalan ikan dan ketahanan terhadap penyakit terutama untuk benih dan juvenil, yang merupakan tahap paling kritis dalam produksi ikan budidaya laut (Grisez et al., 1997). Hasil studi ini menunjukkan

ukuran ikan >10 cm memiliki infestasi parasit yang rendah dibandingkan ukuran 2-6 cm (Tabel 13). Studi tentang efek parasitisme menurut tahap kehidupan inang masih tergolong langka, meskipun terdapat laporan yang telah mengungkapkan bahwa tempat penetasan dapat sangat berpengaruh. Parasitisme secara langsung memengaruhi larva atau ikan berukuran kecil, karena mekanisme pertahanan utamanya belum berkembang dengan sempurna seperti sisik yang tampaknya menjadi penghalang utama bagi infeksi parasit (Tavares-Dias et al., 2008). Selain ukuran ikan, variasi infestasi ektoparasit juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor perubahan lingkungan, musim, asal, dan pertahanan biologis ikan (Mizuno et al., 2016). Partikel yang tersusun dari bahan anorganik, organik, dan/atau biologis yang terdapat di lingkungan budidaya secara alami dapat memengaruhi kesehatan ikan melalui interaksi kimia, mekanik dan biologis (Lu et al., 2018).

Kemampuan parasit untuk menyerang ikan umumnya menurun seiring dengan bertambahnya umur dan ukuran inang. Penjelasan untuk hubungan positif antara infeksi parasite dan usia serta ukuran ikan adalah kebiasaan makan intensif ikan dewasa selama tahap pertumbuhan. Oleh karena itu semakin besar ukuran dan semakin tua ikan, semakin kecil serangan ektoparasit karena sistem ketahanan ikan yang lebih baik (Rustikawati et al., 2004). Ini mungkin hasil dari respon imun yang meningkat pada ikan dengan ukuran yang lebih besar (Stubbs, 1985). Dalam analisis hubungan antara infeksi parasit dan umur ikan, beberapa faktor telah dipertimbangkan terhadap kaitannya dengan variasi infeksi parasit (Rokhmani et al., 2017). Ini termasuk perubahan komposisi dan kuantitas makanan inang seiring bertambahnya usia. Hal itu berkaitan dengan pengembangan kekebalan tubuh yang diperoleh seiring bertambahnya usia. Akumulasi umur ikan juga berpengaruh pada migrasinya sebagai salah satu faktor yang berpengaruh dalam hal infestasi parasit (Arthur et al., 1982).

Madsen et al. (2000) melaporkan bahwa tingkat infeksi parasit Cliata termasuk *Trichodina* secara signifikan berkorelasi positif baik dengan berat dan panjang ikan. Dalam beberapa kasus, parasit Protozoa menurun dengan usia dan ukuran ikan. Meskipun infestasi bisa tinggi pada ukuran di atas larva, juvenil atau ikan dewasa memiliki sisik yang lebih berkembang dan kulit yang lebih keras, sehingga intensitas dan lesi bisa berkurang di tubuh mereka. Perubahan ini diamati pada frekuensi rendah dan selalu dikaitkan dengan daerah baik tanpa sisik atau dengan sedikit sisik, berbeda dengan situasi yang diamati pada larva yang terinfeksi di seluruh kulitnya (Su, 1993). Namun, ikan yang lebih besar juga

memiliki kemungkinan terinfestasi lebih banyak oleh parasit. Ikan yang lebih besar dan lebih tua memakan jumlah dan variasi makanan yang besar dibandingkan dengan yang kecil. Hal ini akan kemungkinan membawa lebih banyak parasit ke dalam ikan karena invertebrata yang menyusun makanan ikan dapat berperan dalam pelekatan spora atau telur parasit (Khan et al., 1986) atau bertindak sebagai inang perantara parasit (El-Matbouli & Hoffmann, 1989).

Penjelasan lain menerangkan bahwa preferensi parasit pada ikan juga bergantung pada adaptasi fisiologi yang dilakukan oleh parasit itu sendiri. Beberapa cara adaptasi seperti adaptasi indera penglihatan dan pernapasan dianggap mampu meningkatkan pertahanan parasit pada tubuh inang (Hardi, 2015). Ikan muda dianggap mungkin kurang tahan terhadap infeksi penyakit karena sistem kekebalan yang belum berkembang. Sebaliknya, ikan berukuran lebih besar yang dibudidayakan dalam kepadatan tinggi pada akhirnya akan stres dan selanjutnya rentan terhadap penyakit (Firdaus-Nawi et al., 2013; Zamri-Saad et al., 2014). Riset terdahulu menjelaskan bahwa parasit menggunakan kemoreseptor yang dipancarkan oleh inang untuk mencapai inang. Parasit biasanya menggunakan CO₂ sebagai produk sampingan respirasi, dalam kombinasi dengan bahan kimia spesifik yang dimiliki oleh inang (Chaisson & Hallem, 2012).

Banyak ektoparasit bergantung pada isyarat kemosensorik untuk menemukan inang dan pasangan, memilih situs oviposisi, dan menemukan sumber makanan (Carey & Carlson, 2011). Lebih lanjut dijelaskan bahwa parasit menggunakan kemosensorik yang berperan dalam bantuan untuk mencari makan dan cara menemukan inang dan akan aktif saat parasit hidup bebas. Kemosensorik menjadi regulator penting terutama berkaitan dengan spesifikasi inang (Langeland et al., 2021). Dalam membangun infeksi, parasit dalam inang harus terlebih dahulu menemukan inangnya dan melakukan penetrasi ke inangnya. Studi terperinci tentang pencarian inang oleh ektoparasit menunjukkan adanya isyarat tertentu sebelum mencapai inang. Parasit Protozoa dapat bertahan cukup lama sambil menunggu untuk menemukan inang yang benar. Setelah menemukan inang yang benar, ektoparasit akan menembus jaringan epitel dan memulai proses parasitisme (Hallem et al., 2007; Hallem et al., 2011). Selain itu, preferensi parasit terhadap inang juga bisa dipengaruhi oleh faktor imunogenik inang selama tahap hidupnya. Willem et al. (1997) mengemukakan bahwa infeksi

parasit mampu mereduksi aktifitas imunogenik pada inang, sehingga menjadi lebih rentan terhadap berbagai serangan mikroorganisme patogen termasuk parasit.

E. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka disimpulkan bahwa setelah dikohabitasi dengan ikan sakit berukuran 6-10 cm, ikan berukuran 2-6 cm merupakan kelompok yang paling banyak terinfeksi dibandingkan ukuran 1-2 cm dan >10 cm. Hal ini erat kaitannya dengan ukuran dan imunitas ikan, yakni ukuran >10 cm diduga memiliki sistem pertahanan dan imunitas yang lebih baik daripada ikan dengan ukuran yang lebih kecil. Selain itu, insang kiri merupakan organ yang paling banyak terinfeksi oleh *Trichodina*.

IV. TRICHODINIASIS DAN BAKTERI YANG BERASOSIASI PADA KAKAP PUTIH *Lates calcarifer*

Abstrak

Bakteri merupakan salah satu agen penyakit yang sering menyerang komoditas budidaya termasuk kakap putih *L. calcarifer*. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri atau koinfeksi dengan parasit diketahui menyebabkan masalah kesehatan yang parah pada industri akuakultur. Identifikasi patogen dan pemahaman tentang kemungkinan interaksi antarpatogen memainkan peran penting untuk pencegahan penularan dan akurasi terapi penyakit ikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri pada *L. calcarifer* yang dibudidayakan dan menganalisis hubungannya dengan tingkat infeksi *Trichodina* dan ukuran ikan. Sampel diambil dari Balai Budidaya ikan Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan dan diangkut menggunakan wadah plastik steril berisi air laut yang memiliki aerasi, kemudian dianalisis di Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Universitas Hasanuddin, Makassar. Bakteri diisolasi dari insang dan lendir berdasarkan kriteria tingkat infeksi parasit pada spesimen ikan. Media *marine agar* (MA) digunakan untuk menumbuhkan bakteri dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24-48 jam. Koloni bakteri dimurnikan pada media agar darah (BAM), kemudian dilakukan karakterisasi morfologi dan pewarnaan gram. Karakterisasi biokimia dari isolat terpilih dilakukan dengan menggunakan instrumen *Vitek-2 compact system*. Penelitian ini menunjukkan bahwa delapan spesies bakteri yang teridentifikasi dari lendir dan insang ikan yang terinfeksi *Trichodina*, tergolong bakteri basil berspora. Variasi tingkat infeksi parasit berpengaruh terhadap jumlah bakteri ($P < 0,05$). Temuan kami juga menunjukkan kecenderungan peningkatan jumlah bakteri dan parasit dengan peningkatan ukuran inang ($P < 0,05$). Hasil penelitian juga menunjukkan adanya hubungan infeksi bakteri dengan tingkat infeksi *Trichodina* pada kakap putih dan menegaskan bahwa peningkatan infeksi parasit menyebabkan peningkatan kepadatan bakteri.

Kata kunci: budidaya laut, penyakit ikan, *Trichodina*, Vitek-2.

Abstract

Bacteria is one of the disease agents that frequently attack aquaculture commodities including barramundi (*Lates calcarifer*) in aquaculture facilities. Diseases caused by bacterial infection or co-infection with parasites are known to cause severe health problems in aquaculture industry. Identification of pathogens and understanding of the possible interaction between pathogens plays an important role for the prevention of transmission and for the fish disease therapeutic accuracy. The study aimed to identify bacteria in cultured *L. calcarifer* and to analyze their relationship with *Trichodina* infection rate and fish size. The samples were collected from the Takalar fish farm, South Sulawesi, and transported using sterile plastic containers filled with seawater and having an aeration, then analyzed at the Fish Parasites and Diseases Laboratory, Hasanuddin University, Makassar. Bacteria were isolated from gills and mucus based on the criteria of the parasitic infection rate in the fish specimens. The marine agar media used to grow bacteria was incubated at 32°C for 24-48 hours. The bacterial colonies were purified on blood agar media, then a morphological characterization and a gram staining were performed. The biochemical characterization of the selected isolate was performed using the rapid identification of microorganisms by a Vitek-2 compact system. This study shows that all of the 8 species of identified bacteria from the mucus and gills of infected fish belong to the

Bacillus genus. The variance of the parasites' infection rate shows an impact on the number of bacteria ($P < 0,05$). Our finding also demonstrated a tendency to increase in bacteria and parasite numbers with the increase of the host size ($P < 0,05$). The results show the relation of the bacterial infection with *Trichodina* in sea bass and confirmed that an increase of the parasite infection rate caused the increase of bacterial density.

Keyword: fish disease, marine aquaculture, *Trichodina*, Vitek-2.

A. Pendahuluan

Kakap putih *L. calcarifer* merupakan salah satu komoditas ekonomi penting di sektor budidaya laut (Toranzo et al., 2005). *Lates calcarifer* yang juga dikenal sebagai barramundi, adalah salah satu spesies ikan laut komersial terpenting di negara-negara Asia Tenggara termasuk Malaysia, Thailand, Vietnam, Indonesia, dan Filipina (FAO, 2020b). *Lates calcarifer* banyak dibudidayakan di Indonesia, karena selain memiliki nilai pasar yang tinggi, kisaran toleransi fisiologis yang luas, fekunditas yang tinggi, juga pertumbuhan yang relatif cepat (Hidayat et al., 2014; Petersen et al., 2016). Produksi kakap putih di Indonesia umumnya berasal dari daerah Kepulauan Riau, Bali, Jawa Timur, Aceh, dan Sumatra Utara (Irmawati et al., 2020) dan dibudidayakan pada keramba jaring apung (KJA) di beberapa balai perikanan budidaya seperti BPBAP Situbondo, Bali, Ambon, dan Batam (Anggraini et al., 2019; Asdary et al., 2019; Zafran et al., 2019; Susilowati, 2020). Kakap putih juga dilaporkan telah berhasil dibudidaya pada tambak di BPBAP Jepara (Dirjen Perikanan Budidaya, 2020). Budidaya kakap putih di Indonesia dilaporkan juga telah dilakukan menggunakan sistem resirkulasi *raceway* (Asdary et al., 2019). Data FAO Tahun 2019 menunjukkan produksi kakap putih secara global mencapai >80 ribu metrik ton, dan Indonesia memasok lebih dari 8% kebutuhan kakap putih dunia (Irmawati et al., 2021).

Permintaan ikan yang cukup tinggi mendorong intensifikasi budidaya kakap putih (Irmawati et al., 2021), sehingga menimbulkan masalah seperti peningkatan eksposur terhadap berbagai macam penyakit, terutama karena faktor stres. Hal tersebut merupakan ancaman nyata bagi keberlanjutan industri budidaya kakap putih baik secara ekologi maupun ekonomi (Senapin et al., 2019). Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan penyakit ikan, yakni kondisi lingkungan yang tidak mendukung, kualitas pakan yang buruk atau indukan yang tidak memadai. Selain penggunaan teknik budidaya yang tidak tepat, kontaminasi dari alat budidaya dan pekerja juga dapat menyebabkan penularan penyakit yang cepat (Chatterjee & Haldar 2012). Infeksi parasit Ciliata merupakan penyakit yang

sering terjadi di lingkungan budidaya ikan. Parasit bersilia seperti *Trichodina* sering ditemukan menginfeksi ikan budidaya di dunia, baik di lingkungan air tawar maupun air laut. Umumnya *Trichodina* merupakan ektoparasit yang menyerang insang atau permukaan tubuh ikan (Kotob et al., 2016). Infeksi ini dianggap cukup berbahaya karena dapat menyebabkan infeksi sekunder lainnya seperti bakteri dan virus. Hal ini bisa menjadi stimulus mortalitas yang signifikan pada ikan budidaya (Xu et al., 2015). Di Indonesia, infeksi *Trichodina* sp. pada kakap putih telah banyak dilaporkan (Rückert et al., 2008).

Dalam lingkungan perairan, bakteri adalah agen patogen yang sering terjadi dan muncul bersama dengan patogen lain termasuk parasit. Penyakit bakteri diketahui menyebabkan beberapa masalah, seringkali mematikan pada ikan karena kerusakan permukaan tubuh, kehilangan nafsu makan, pendarahan, dan pembengkakan pada organ tertentu seperti insang, ginjal dan limpa. Hal ini dapat meningkatkan kematian ikan dan menurunkan produksi industri perikanan budidaya (Ashari et al., 2014). Telah dilaporkan bahwa *L. calcarifer* telah mengalami penurunan kesehatan yang signifikan dalam dekade terakhir karena wabah bakteri (Toranzo et al., 2005; Fauzy et al., 2014).

Infeksi bakteri juga dilaporkan sangat mungkin untuk berinteraksi dengan patogen lain (parasit dan virus) di lingkungan budidaya ikan. Bahkan interaksi tersebut meningkatkan keberadaan berbagai penyakit mematikan pada organisme budidaya (Kotob et al., 2016). Bowden et al. (2007) menyatakan bahwa parasit Ciliata menyebabkan kerusakan epitel insang ikan dan menyebabkan infeksi bakteri sekunder. Mikroorganisme merupakan bagian dari komunitas ekologi, oleh karena itu dianggap memiliki hubungan yang kompleks antarjenis maupun golongan yang berbeda. Metabolit dari satu mikroba mungkin memfasilitasi nutrisi bagi yang lain sehingga menghasilkan mutualisme. Dalam kondisi ekstrim, organisme lain mungkin lebih memperoleh keuntungan, yang mengarah pada pertumbuhan dan reproduksi yang cepat, akhirnya menjadi spesies yang dominan di lingkungan (Mekuto et al., 2018). Namun, interaksi antara infeksi parasit dan keberadaan bakteri pada inang ikan dan kemungkinan dampaknya terhadap wabah penyakit masih kurang dipahami (Colquhoun & Duodun, 2011; Soto et al., 2012).

Sampai saat ini, informasi mengenai hubungan patogenisitas antara infeksi bakteri dan parasit *Trichodina*, khususnya pada budidaya *L. calcarifer* di Indonesia masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini berhipotesis bahwa infeksi *Trichodina*

dapat meningkatkan kerentanan *L. calcarifer* terhadap bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri pada budidaya *L. calcarifer* dan menganalisis potensi interaksi antara parasit dan bakteri yang menginfeksi *L. calcarifer*.

B. Metode Penelitian

1. Sampel ikan dan desain penelitian

Ikan kakap putih *L. calcarifer* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil budidaya pada Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Kabupaten Takalar. Sebanyak 30 ekor *L. calcarifer* berbagai ukuran (2-10 cm) yang terinfeksi oleh *Trichodina* (dibuktikan dengan pengamatan mikroskopis) diangkut dari BPBAP Takalar ke Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, FIKP-UNHAS menggunakan kantong sampel berisi air laut dengan sistem aerasi dalam box styrofoam. Selanjutnya dilakukan pengamatan parasit *Trichodina* pada ikan untuk kemudian dikategorisasi sendiri menjadi tiga kelompok infeksi yakni infeksi ringan (*light*), sedang (*moderate*), dan berat (*heavy*) berdasarkan infestasi parasit yang diperoleh, yakni tingkat infeksi parasit 0-5 dikategorikan infeksi rendah; 12-15 infeksi sedang; dan >80 infeksi berat. Pada masing-masing ikan dengan tingkat infeksi parasit dan ukuran yang berbeda, dilakukan analisis bakteri yakni perhitungan jumlah koloni dan identifikasi jenis. Hasil pengamatan dianalisis statistik untuk menentukan hubungan antar parameter.

2. Penanganan sampel ikan dan pengamatan *Trichodina* sp.

Stok ikan diambil dari wadah pemeliharaan dan diletakkan dalam cawan petri, kemudian dibius (*anastesi*) menggunakan es batu. Pemeriksaan *Trichodina* dilakukan menggunakan metode preparat ulas pada permukaan tubuh, sirip dan insang ikan. Tahapan pemeriksaan meliputi pengerokan (*scrapping*) pada masing-masing organ, kemudian sampel ditempatkan pada *slide glass*, meneteskan larutan fisiologis lalu diratakan, dan amati di bawah mikroskop.

3. Isolasi bakteri

Bakteri diisolasi dari sampel lendir dan insang kakap putih menggunakan media TSA dengan teknik pegulasan. Sampel lendir dan insang diencerkan (3 kali pengenceran bertingkat) menggunakan larutan fisiologis NaCl 0.9%. Sampel dipilih dan dikategorisasi sendiri menjadi tiga kelompok berdasarkan tingkat infeksi parasit yang ditemukan. Pengenceran dilakukan dengan menyiapkan tiga tabung eppendorf masing-masing berisi 1,5 mL NaCl fisiologis 0,9%, lalu sampel lendir dan insang dimasukkan ke dalam masing-masing tabung pertama dan

dihomogenkan menggunakan vortex (pengenceran pertama). Kemudian 100 µL sampel diambil dari tabung pertama menggunakan mikropipet dan masukkan ke dalam tabung kedua (pengenceran kedua). Prosedur tersebut diulangi hingga tabung ketiga (pengenceran ketiga). Isolasi dilakukan dengan mengambil sampel pada pengenceran kedua (10^{-2}) dan ketiga (10^{-3}) menggunakan mikropipet sebanyak 100 µL, lalu memasukkannya ke dalam cawan berisi media agar (TSA) dan diulas menggunakan batang L hingga rata. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 32°C selama 24-48 jam.

4. Karakterisasi morfologi koloni, sel dan sifat kimiawi bakteri

Koloni bakteri yang tumbuh pada media *agar plate* dihitung kepadatannya dan koloni dipilih berdasarkan dominansi karakter morfologi (Lihat Bab 2) untuk dimurnikan. Pemurnian bakteri dilakukan pada media agar darah (BAM) menggunakan metode gores untuk identifikasi lebih lanjut. Koloni bakteri yang telah murni diidentifikasi melalui Teknik pewarnaan gram dan uji biokimia menggunakan *Rapid Identification of Microorganism by Vitek-2 compact system* (Lihat Bab 2).

5. Perhitungan bakteri

Perhitungan koloni bakteri dilakukan menggunakan metode *standar plate count* (SPC) dengan menandai koloni bakteri menggunakan spidol agar tidak terjadi pengulangan hitungan. Jumlah koloni ditentukan menggunakan persamaan sebagai berikut (Fardiaz, 1993):

$$\text{Cfu/mL} = \text{Jumlah koloni/cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \times 10$$

6. Analisis data

Parameter yang diamati meliputi infestasi parasit, total koloni, dan jenis bakteri. Intensitas parasit dianalisis berdasarkan tiga kelompok ukuran ikan yakni 1= 1-3,5 cm; 2= 3,6-7,0 cm; dan 3= 7,1-9,5 cm. Sebaliknya, jumlah bakteri dianalisis berdasarkan lima kelompok ukuran ikan (Tabel 15) dan infestasi parasit. Data diuji secara statistik menggunakan analisis ragam (*one-way Anova* atau *Kruskal-Wallis*) pada taraf kepercayaan 95%. Analisis statistik dilakukan menggunakan aplikasi SPSS versi 25.

C. Hasil

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri (Tabel 16) menunjukkan terdapat dominansi bentuk koloni bulat utuh (*circular*) dengan warna putih dan kuning. Secara umum ukuran koloni bakteri yakni besar (*large*) dengan elevasi rata (*flat*).

Hasil uji biokimia bakteri (Tabel 17) mengonfirmasi bahwa terdapat delapan spesies bakteri (Tabel 18) yang ditemukan pada insang dan lendir kakap putih *L. calcarifer*. Penampakan isolat bakteri pada media TSA disajikan pada Gambar 19 dan 20, sedangkan isolat murni bakteri pada media agar darah ditunjukkan pada Gambar 21.

Tabel 15. Kepadatan bakteri berdasarkan infestasi *Trichodina* sp. dan ukuran kakap putih *Lates calcarifer*.

Kode sampel	Panjang ikan (cm)	Jumlah parasit (spesimen)	Faktor pengenceran	Sampel		Total (Cfu/mL)	
				Insang	Lendir	Insang	Lendir
1.1	9,5	82	10 ⁻²	235	241	2,35x10 ⁵	2,41x10 ⁵
1.2	9,5	82	10 ⁻³	93	95	9,30x10 ⁵	9,50x10 ⁵
2.1	8,5	15	10 ⁻²	243	232	2,43x10 ⁵	2,32x10 ⁵
2.2	8,5	15	10 ⁻³	20	16	-	-
3.1	7,1	12	10 ⁻²	110	229	1,1x10 ⁵	2,29x10 ⁵
3.3	7,1	12	10 ⁻³	24	12	-	-
4.1	6,5	5	10 ⁻²	201	244	2,0x10 ⁵	2,44x10 ⁵
4.2	6,5	5	10 ⁻³	46	18	4,6x10 ⁵	-
5.1	2,8	0	10 ⁻²	13	20	-	-
5.2	2,8	0	10 ⁻³	6	18	-	-

Keterangan: (-) Jumlah bakteri tidak memenuhi syarat perhitungan SPC (30-300 koloni).

Tabel 16. Morfologi koloni bakteri pada insang dan lendir ikan kakap putih *Lates calcarifer*.

Kode isolat	Warna	Bentuk	Pinggiran	Elevasi	Permukaan	Ukuran
Insang (1.2W)	Putih	Bulat	Utuh	<i>Convex</i>	Halus	Besar
Insang (2.1Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Besar
Insang (2.2W)	Putih	Bulat	Bergerigi	<i>Raised</i>	Kasar	Besar
Insang (2.2Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Besar
Insang (3.2W)	Putih	Bulat	Bergelombang	<i>Flat</i>	Halus	Besar
Insang (3.2Y)	Kuning	Bulat	Tidak beraturan	<i>Flat</i>	Halus	Besar
Insang (4.1W)	Putih	Bulat	Bergerigi	<i>Flat</i>	Halus	Besar
Insang (4.1Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (1Y)	Kuning	Bulat	Bergerigi	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (2.1Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (3.1W)	Putih	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (3.1Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (4.1W)	Putih	Bulat	Utuh	<i>Raised</i>	Kasar	Besar
Lendir (4.1Y)	Kuning	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Halus	Kecil
Lendir (5.2W)	Putih	Bulat	Utuh	<i>Flat</i>	Kasar	Besar

Keterangan: Y= Yellow; W= White.

Tabel 4. Hasil uji biokimia bakteri menggunakan instrumen *Vitek-2 compact*.

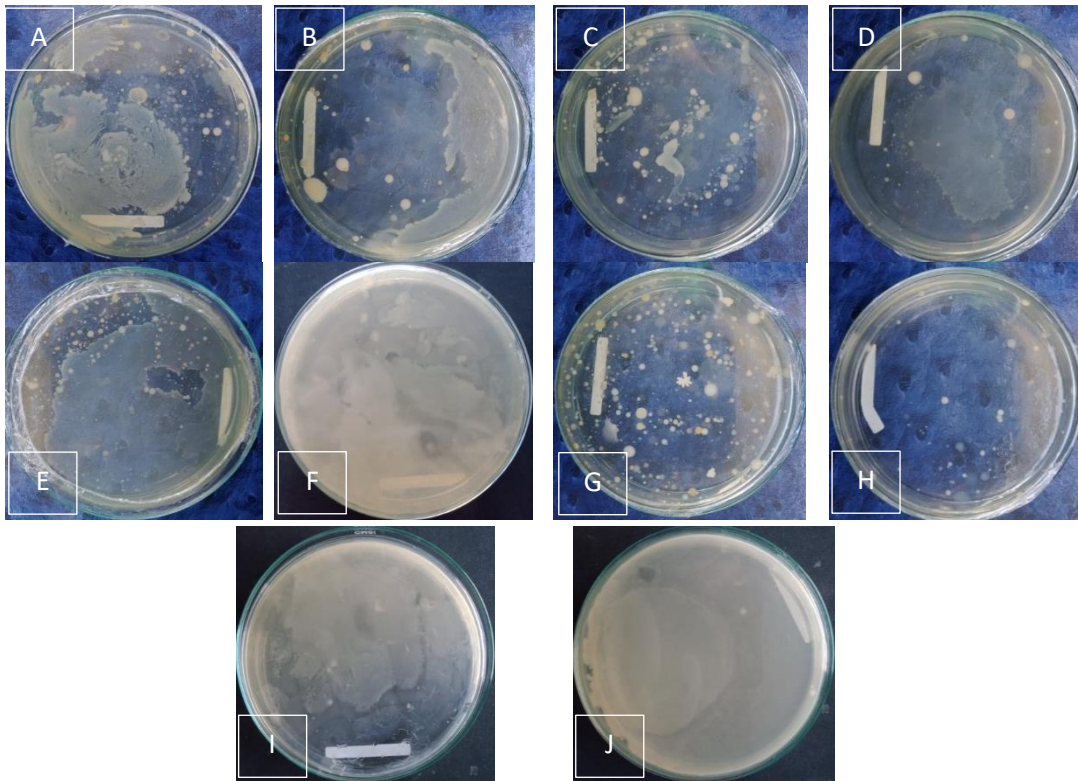
Jenis Uji	Kode isolat bakteri GN						Jenis Uji	Kode isolat bakteri GP			
	G1.2W	G2.1Y	M1Y	M2.1Y	M4.1W	M5.2W		G2.2W	G3.2W	G3.2Y	G4.1W
APPA IARL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	BXUL LeuA	-/-	-/+	-/+	-/+
H2S Dglu	-/+	-/+	+/+	-/+	-/+	-/+	BGAL AlaA	-/-	-/+	-/+	-/-
BGLU dMNE	-/+	-/+	+/+	+/-	-/+	-/+	APPA GLYG	-/+	-/-	+/-	-/+
ProA TyrA	+/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-	ELLM MTE	-/+	+/-	+/-	+/+
SAC CIT	+/-	-/+	+/-	+/-	-/+	-/-	dMNE PLE	-/-	-/-	-/-	-/-
ILATk NAGA	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	-/-	BMAN AGLU	-/(+)	-/-	-/-	-/+
GlyA IHISa	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-	INU PSCNa	-/-	-/-	-/-	-/-
O129R ELLM	-/-	+/-	+/+	-/(-)	+/-	-/-	OLD POLYB_R	-/+	-/-	-/-	-/+
ADO dCEL	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	LysA PheA	-/+	-/+	+/+	-/+
BNAG GGT	-/-	-/+	+/+	+/-	-/+	+/+	PyrA TyrA	+/-	+/+	(-)/+	+/+
dMAL BXYL	+/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	CDEX INO	-/-	-/-	-/-	-/-
LIP URE	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	(-)/-	MdX GlyA	-/-	-/-	-/+	-/-
dTAG MNT	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-	dMLZ IRHA	/-	-/-	-/-	-/-
AGLU AGAL	-/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	PHC dTAG	-/-	-/-	+/-	-/-
ODC CMT	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	dGLU NaCl 6.5%	+/+	-/-	-/-	+/+
GGAA ILATa	-/-	+/+	-/-	-/-	-/+	-/-	ESC ProA	+/-	-/-	-/-	+/-
PyrA BGAL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	AspA BNAG	-/+	+/-	+/+	-/+
AGLTp OFF	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/+	AGAL MdG	-/-	-/-	+/-	-/-
dMAN BALap	-/-	-/+	+/-	-/-	-/-	-/-	dGAL dMAN	-/-	-/-	+/-	-/-
PLE dSOR	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	dMAN BGLU	-/-	-/-	+/-	-/-
dTRE 5KG	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/+	NAG dTRE	+/+	-/-	-/-	+/+
SUCT PHOS	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	-/+	PVATE KAN	+/-	-/-	+/-	+/+
LDC BGUR	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	dRIB	+	-	-	+
IMLTa	-	+	-	-	+/-	-	TTZ	+	-	-	+

Keterangan: GP= gram positif; GN=gram negatif

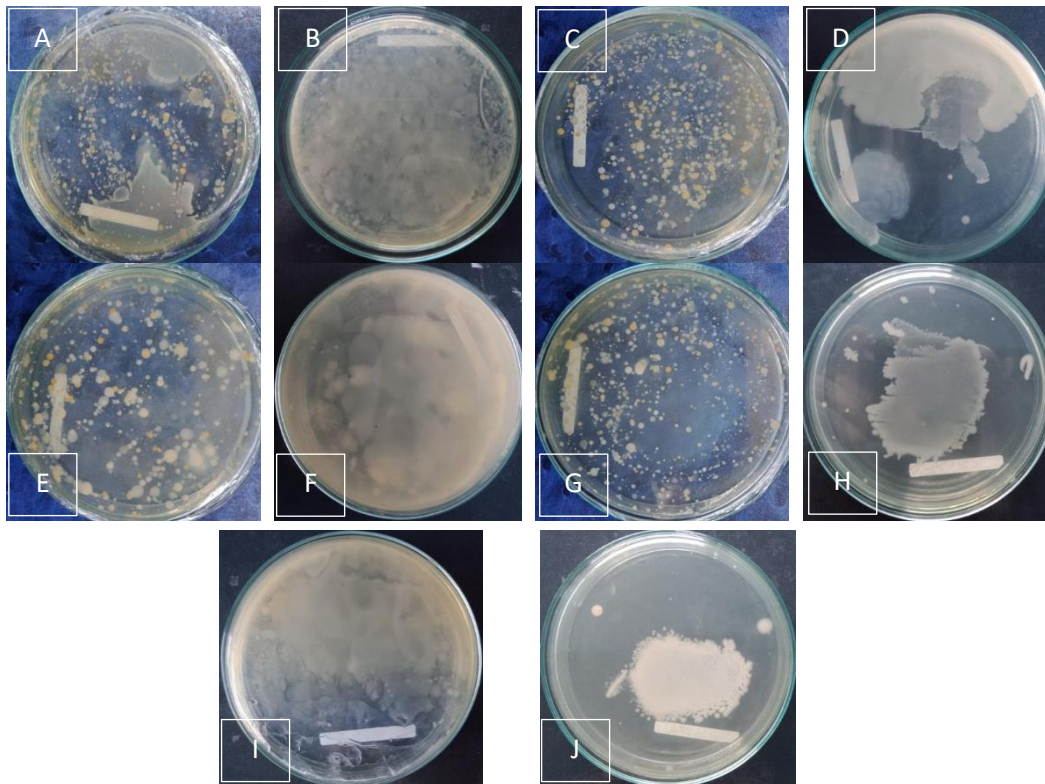
Tabel 5. Hasil identifikasi bakteri berdasarkan instrumen *Vitek-2 compact*.

Kode isolat	Warna gram	Spesies bakteri
Insang (1.2W)	Basil gram negatif	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
Insang (2.1Y)	Basil gram negatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Insang (2.2W)	Basil gram positif	<i>Bacillus sp.</i>
Insang (2.2Y)	Basil gram positif	<i>Unidentified</i>
Insang (3.2W)	Basil gram positif	<i>Brevibacillus chosinensis</i>
Insang (3.2Y)	Basil gram positif	<i>Licinubacillus fusiformis</i>
Insang (4.1W)	Basil gram positif	<i>Bacillus sp.</i>
Insang (4.1Y)	Tercampur	<i>Unidentified</i>
Lendir (1Y)	Coco-basil gram negatif	<i>Aeromonas caviae</i>
Lendir (2.1Y)	Basil gram negatif	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>
Lendir (3.1W)	Basil gram positif	<i>Unidentified</i>
Lendir (3.1Y)	Basil gram negatif	<i>Unidentified</i>
Lendir (4.1W)	Basil gram negatif	<i>Pseudomonas putida</i>
Lendir (4.1Y)	Tercampur	<i>Unidentified</i>
Lendir (5.2W)	Basil gram negatif	<i>Photobacterium damsela</i>

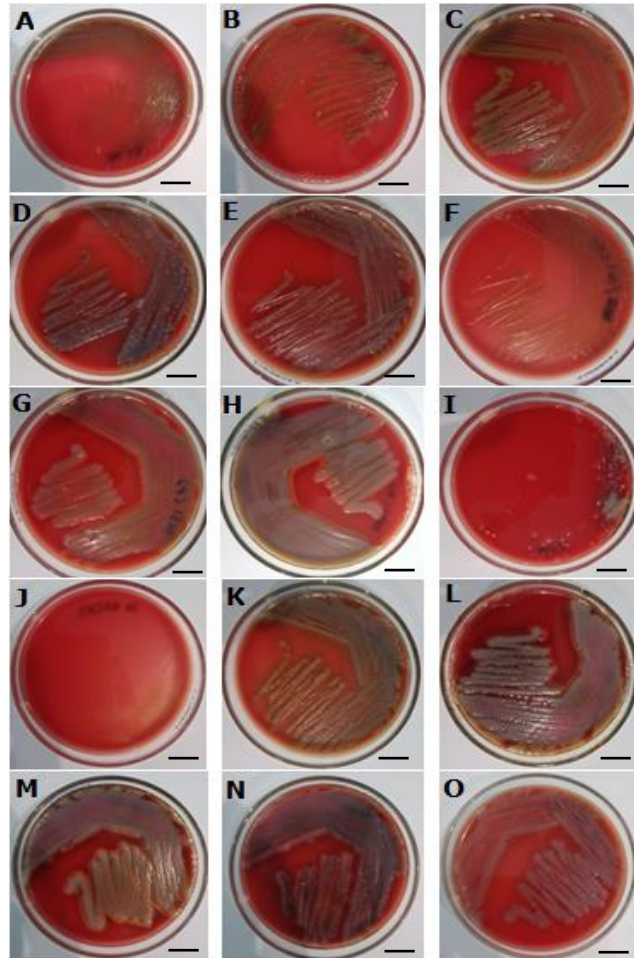
Keterangan: Y= Yellow; W= White



Gambar 19. Koloni bakteri yang berasal dari insang kakap putih *Lates calcarifer* pada media TSA. A) 1.1 (10^2), B) 1.2 (10^3), C) 2.1 (10^2), D) 2.2 (10^3), E) 3.1 (10^2), F) 3.2 (10^3), G) 4.1 (10^2), H) 4.2 (10^3) I) 5.1 (10^2) J) 5.2 (10^3).

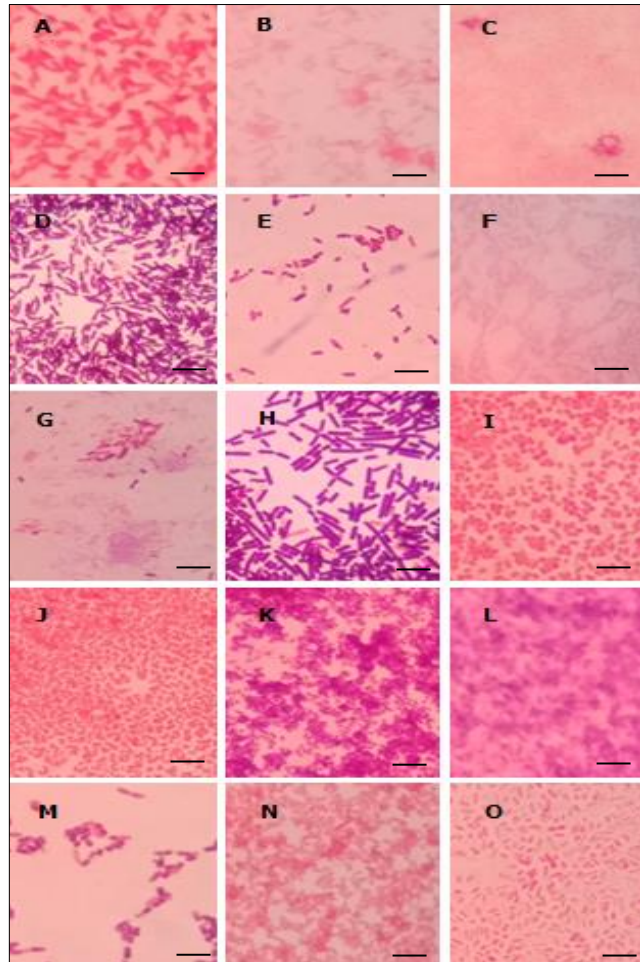


Gambar 20. Koloni bakteri yang berasal dari lendir kakap putih *Lates calcarifer* pada media TSA. A) 1.1 (10^2), B) 1.2 (10^3), C) 2.1 (10^2), D) 2.2 (10^3), E) 3.1 (10^2), F) 3.2 (10^3), G) 4.1 (10^2), H) 4.2 (10^3) I) 5.1 (10^2) J) 5.2 (10^3).



Gambar 21. Isolat murni bakteri dari insang dan lendir kakap putih *Lates calcarifer* pada BAM. A) G1.2W; B) G2.1Y; C) G2.2Y; D) G2.2W; E) G3.2Y; F) G3.2W; G) G4.1Y; H) G4.1W; I) M1Y; J) M2.1Y; K) M3.1Y; L) M3.1W; M) M4.1Y; N) M4.1W; O) M5.2W. Skala: 2 cm.

Karakterisasi sel bakteri dilakukan melalui pewarnaan gram menunjukkan bahwa semua sel bakteri berbentuk basil, kecuali satu yang berupa coco-basil. Sebanyak 15 isolat yang diwarnai, tujuh isolat diklasifikasikan sebagai gram-negatif dan enam isolat gram positif. Sebaliknya, dua isolat lainnya tercampur antara dua kelompok bakteri gram negatif dan positif, seperti yang ditunjukkan pada isolat 3.2Y dan 4.1Y dari insang (Gambar 22). Pemilihan isolat untuk identifikasi lebih lanjut dilakukan berdasarkan dominansi karakter koloni seperti ukuran dan pigmentasi. Kemudian, sebagai perwakilan ukuran yakni koloni besar dan kecil dipilih di setiap cawan.

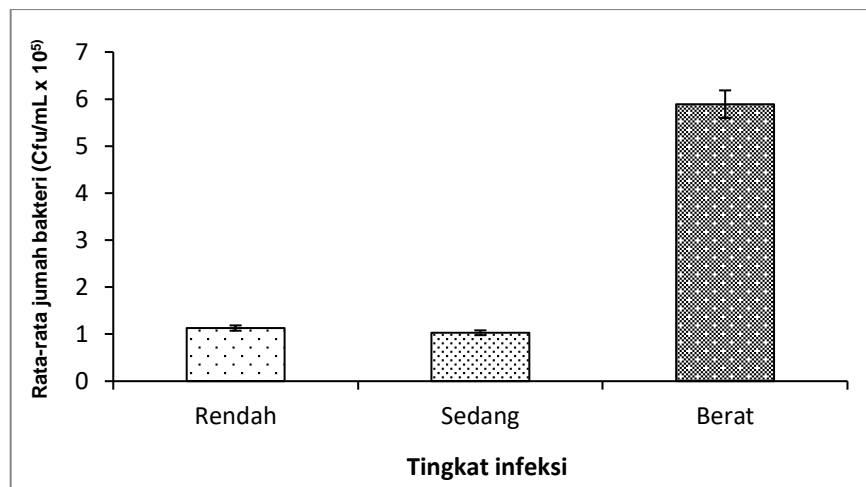


Gambar 22. Hasil pewarnaan gram bakteri dari insang dan lendir kakap putih *Lates calcarifer*. A) G1.2W; B) G2.1Y; C) G2.2Y; D) G2.2W; E) G3.2Y; F) G3.2W; G) G4.1Y; H) G4.1W; I) M1Y; J) M2.1Y; K) M3.1Y; L) M3.1W; M) M4.1Y; N) M4.1W; O) M5.2W. Skala: 2 μ m.

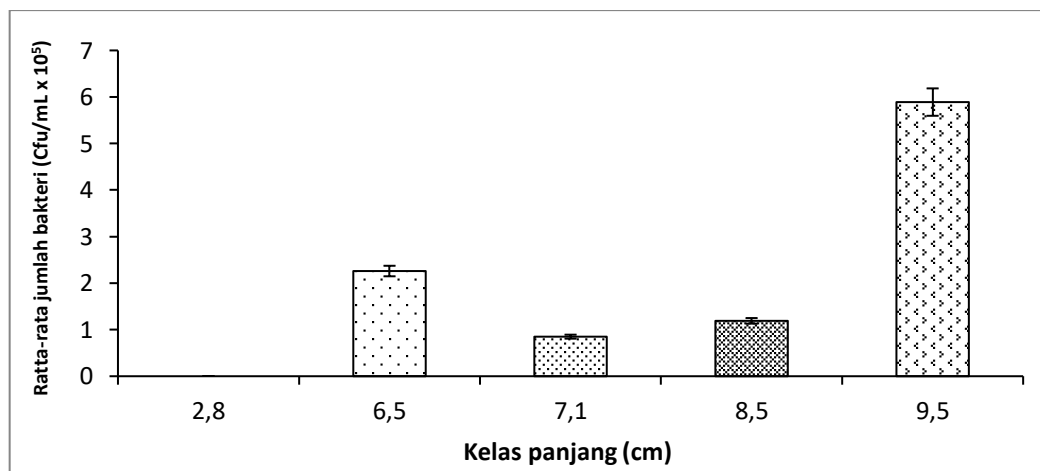
Berdasarkan hasil pewarnaan gram dan karakterisasi biokimia menggunakan *Vitek-2 compact*, teridentifikasi delapan spesies bakteri dari insang dan lendir kakap putih *L. calcarifer* (Tabel 18). Jenis bakteri yang ditemukan pada insang *L. calcarifer* adalah: *S. paucimobilis* (probabilitas 96%), *P. aeruginosa* (probabilitas 92%), *B. sp.* (probabilitas 93%), *B. choshinensis* (probabilitas 98%), *B. sp.* (probabilitas 97%) dan *L. fusiformis* (probabilitas 89%), sedangkan spesies bakteri yang ditemukan dari sampel lendir adalah: *A. caviae* (probabilitas 95%), *S. paucimobilis* (probabilitas 96%), *P. putida* (probabilitas 99%), *Ph. damsela* (probabilitas 95%). Terdapat 5 isolat yang tidak teridentifikasi. Persentase probabilitas mewakili tingkat akurasi identifikasi spesies pada instrumen.

Uji statistik non-parametrik digunakan dalam penelitian ini untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri berdasarkan tingkat infeksi parasit. Hal ini juga diterapkan untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri berdasarkan ukuran ikan

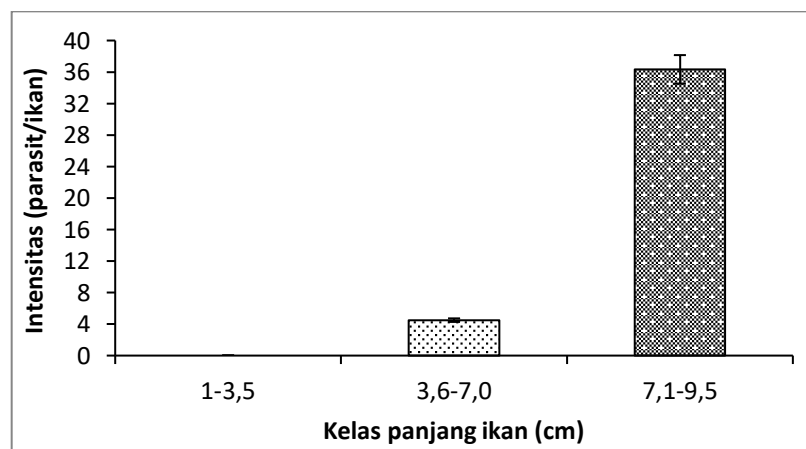
dan rata-rata intensitas parasit berdasarkan interval panjang ikan. Hasil analisis statistik disajikan pada Gambar 23, 24, dan 25.



Gambar 23. Jumlah bakteri berdasarkan infeksi *Trichodina* sp. pada kakap putih *Lates calcarifer* (P value: 0,039). Kelas= Rendah: 0-5 parasit/ikan; Sedang: 12-15 parasit/ikan; Berat: >80 parasit/ikan.



Gambar 24. Jumlah bakteri berdasarkan interval panjang ikan (P value: 0,031).



Gambar 25. Intensitas *Trichodina* sp. berdasarkan interval panjang ikan (P value: 0,044).

Perhitungan jumlah bakteri dan infestasi parasit menunjukkan kecenderungan jumlah yang lebih tinggi pada ikan yang lebih besar (Gambar 24 dan 25). Jumlah bakteri juga lebih tinggi pada peningkatan infeksi parasit (Gambar 23). Hasil analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis (non-parametrik ANOVA) menunjukkan perbedaan signifikan ($P < 0,05$) pada rata-rata jumlah bakteri berdasarkan infeksi parasit *Trichodina* (P value=0,039; Lampiran 12) (Gambar 23). Hasil yang serupa diperoleh pada analisis statistik untuk jumlah bakteri berdasarkan interval panjang ikan (P value=0,031; Lampiran 13) (Gambar 24) dan jumlah parasit berdasarkan interval panjang ikan terinfeksi (P value =0,044; Lampiran 14) (Gambar 25).

D. Pembahasan

Setelah semua isolat terpilih diidentifikasi, diperoleh delapan jenis bakteri yang semuanya tergolong bakteri basil. Khan & Ghosh (2013) menyatakan bahwa sebagian besar genus bakteri *Bacillus* termasuk aerobik dan anaerobik fakultatif, yang dapat menjadi indikator bahwa mereka dapat hidup di berbagai relung, yang menjelaskan kelimpahannya di lingkungan perairan. Beberapa peneliti melaporkan bahwa genus *Bacillus* banyak ditemukan di industri akuakultur (Budd, 2015). Golongan bakteri yang termasuk dalam genus ini umumnya motil dan hidup di berbagai habitat, termasuk lingkungan perairan dan sedimen (Nicholson et al., 2000). Beberapa anggota bakteri berbentuk batang (basil) telah ditemukan menyebabkan penyakit pada ikan. Sebagai contoh, telah dilaporkan bahwa *Aeromonas* dapat menyebabkan pembengkakan perut dan kerusakan ginjal pada komoditas perikanan budidaya di Kabupaten Ngawi, Indonesia (Rejeki et al., 2016). *Aeromonas* juga merupakan kelompok basil penyebab *motile aeromonas septicemia* (MAS) pada komoditas budidaya seperti ikan mas dan lele. Bakteri basil lain misalnya *Pseudomonas* dianggap bertanggung jawab atas septikemia hemoragik pada ikan (Foysal et al., 2011; Kyeon et al., 2016) dan *Photobacterium damsela* menyebabkan beberapa penyakit sistemik pada lebih dari 40 spesies ikan, termasuk *Sparus aurata* dan *L. calcarifer* (Candan et al., 1996; Santiago et al., 2004; Labella et al., 2011).

Penelitian ini juga menunjukkan hubungan antara jumlah bakteri dan tingkat infeksi parasit pada ikan ukuran tertentu. Ikan yang lebih besar memiliki jumlah bakteri yang jauh lebih banyak dan memiliki tingkat infeksi yang lebih tinggi. Jumlah bakteri cenderung lebih tinggi pada infeksi berat *Trichodina* dibandingkan pada infeksi sedang dan ringan. Hasil analisis uji statistik menunjukkan perbedaan

yang signifikan untuk semua parameter yang diuji. Hasil penelitian ini mengonfirmasi bahwa kepadatan bakteri dan infestasi parasit, kepadatan bakteri dengan panjang inang, dan infestasi parasit dengan panjang ikan sangat terkait (uji Kruskal-Wallis; $P < 0,05$; Gambar 23, 24, dan 25). Hal ini membuktikan bahwa dari segi kelimpahan populasi, tingkat infeksi parasit memengaruhi kepadatan bakteri. Serangan ringan *Trichodina* biasanya terdapat pada insang, sirip dan kulit ikan yang tampak sehat. Tanda-tanda klinis trichodiniasis hanya muncul pada ikan dengan infeksi berat dan kasus sedang yang biasanya terkena lebih dari satu faktor stres (Hassan, 1999).

Haenen et al. (2014) menyatakan bahwa kerentanan terjadi pada ikan budidaya ketika ada hubungan antara bakteri dan mikroorganisme lain atau variabel lain seperti ukuran inang baik dari segi panjang maupun berat. Infeksi simultan sering terjadi pada ikan, oleh karena itu interaksi antarmikroorganisme patogen juga sering terjadi dan berdampak tidak terduga (Kotob et al., 2016). Hasil penelitian ini memberikan pemahaman awal yang lebih baik tentang hubungan infeksi bakteri dengan infeksi *Trichodina* bersilia pada budidaya kakap putih *L. calcarifer*. Hahn & Hofle (2001) melaporkan hubungan potensial antara kelimpahan bakteri dan parasit Protozoa dan mengungkapkan hubungan mereka dengan kematian *L. calcarifer*. Selain itu, kemungkinan terjadinya wabah penyakit yang disebabkan oleh infeksi Protozoa dan bakteri di budidaya ikan air juga telah ditinjau (Declercq et al., 2013). Bagaimanapun, bakteri dan Protozoa bersilia adalah mikroorganisme yang paling banyak ditemukan di lingkungan perairan (Lom & Dykova 1992).

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan risiko infeksi bakteri yang lebih tinggi pada ikan yang lebih besar, yang dimediasi oleh hubungan antara patogen dan parasit *Trichodina* pada kakap putih *L. calcarifer*. Hasil ini mendukung riset terdahulu, misalnya mengenai kepadatan bakteri yang menunjukkan bahwa bakteri dapat ditularkan oleh infeksi parasit sebagai situs infeksi sekunder dan mendorong koinfeksi (Sun et al., 2009; Xu et al., 2015). Pemahaman hubungan antara kemunculan bakteri dan parasit Protozoa dapat mendukung praktik manajemen alternatif dalam budidaya ikan dan meminimalkan kerugian ekonomi (Gomes et al., 2019). Meskipun tidak dipahami dengan baik, keberadaan penyakit di lingkungan perairan disebabkan oleh kombinasi interaksi agen, tingkat resistensi imun inang dan parameter lingkungan yang penting (Balebona et al., 1998). Kombinasi beberapa variabel lingkungan yang penting dianggap bertanggung

jawab atas keberadaan berbagai penyakit dan agennya (Vezzulli et al., 2002). Variasi tingkat infeksi patogen pada ikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti ukuran dan asal inang, gangguan mikroorganisme lain, pertahanan biologis inang, perubahan lingkungan dan musim (Mizuno et al., 2016).

E. Kesimpulan

Penelitian ini menyimpulkan terdapat delapan jenis bakteri yang diidentifikasi dari lendir dan insang *L. calcarifer* serta didominasi oleh golongan bakteri basil, yang merupakan golongan bakteri paling melimpah di perairan. Temuan ini menunjukkan hubungan kepadatan bakteri dengan infestasi *Trichodina* dan ukuran ikan. Penelitian ini mengungkapkan kemungkinan interaksi antara infeksi bakteri dan infestasi parasit pada kakap putih *L. calcarifer* di Indonesia, terutama pada insang dan lendir ikan.

V. STUDI KOINFEKSI *Trichodina* sp. DAN BEBERAPA SPESIES BAKTERI PATOGEN PADA KAKAP PUTIH *Lates calcarifer*

Abstrak

Dampak infeksi lebih dari satu patogen secara bersamaan pada ikan terutama kakap putih, sebagian besar belum dapat dijelaskan. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap dampak koinfeksi antara *Trichodina* sp. dan bakteri patogen berdasarkan beberapa indikator kesehatan (hematologi, fisiologi, histopatologi, dan imunitas) ikan. Eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap dengan delapan perlakuan (A=ikan sehat; B=ikan terinfeksi *Trichodina* sp.; C= ikan sehat diinjeksi *Aeromonas caviae*; D= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksi *A. caviae*; E=ikan sehat diinjeksi *Pseudomonas aeruginosa*; F=ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksi *Ps. aeruginosa*; G= ikan sehat diinjeksi *Photobacterium damsela*; H=ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksi *Ph. damsela*) dan masing-masing tiga ulangan. Ikan dikumpulkan dari lokasi budidaya yang terletak di Takalar, Sulawesi Selatan, Indonesia. Data diuji secara statistik menggunakan analisis ragam dan regresi linier. Temuan ini mengungkapkan lebih banyak kerusakan yang disebabkan oleh koinfeksi dibandingkan infeksi tunggal untuk semua bakteri yang diuji. Secara statistik, patogenisitas *A. caviae*, eritrosit, limfosit, monosit, neutrofil, basofil, globulin, dan titer antibodi berbeda nyata ($P < 0,05$). Bakteri *A. caviae* lebih mematikan daripada bakteri lain yang diuji. Secara histopatologi, infeksi tunggal *Trichodina* sp. menunjukkan akumulasi sel inflamasi dan hemoragi yang rendah. Sebaliknya, koinfeksi *Trichodina* sp. dengan masing-masing bakteri menyebabkan kerusakan parah pada jaringan ikan. Produksi titer antibodi dan globulin lebih tinggi pada perlakuan dengan infeksi *A. caviae*. Globulin tertinggi pada infeksi tunggal *A. caviae* ($P < 0,05$), sedangkan titer antibodi lebih tinggi pada koinfeksi dengan *A. caviae* ($P < 0,05$).

Kata kunci: *A. caviae*, koinfeksi, *L. calcarifer*, *Ph. damsela*, *Ps. aeruginosa*, *Trichodina*

Abstract

The impact of multiple pathogen infections on fish, especially seabass, is mostly undescribed. This study aims to reveal the effect of coinfection between *Trichodina* sp. and pathogenic bacteria based on several health indicators (hematology, physiology, histopathology, and immunity). The experiment used a completely randomized design with eight treatments (A= healthy fish; B= fish infected by *Trichodina* sp.; C= healthy fish injected with *Aeromonas caviae*; D = fish infected by *Trichodina* sp. and injected with *A. caviae*; E= healthy fish injected with *Pseudomonas aeruginosa*; F= fish infected by *Trichodina* sp. and injected with *Ps. aeruginosa*; G= healthy fish injected with *Photobacterium damsela*; H= fish infected by *Trichodina* sp. and injected with *Ph. damsela*) and three replicates each. Fish were collected from a farm located in Takalar, South Sulawesi, Indonesia. The data were statistically tested using analysis of variance and linear regression. This finding revealed more damage caused by co-infection than a single infection for all bacteria tested. Statistically, the pathogenicity of *A. caviae*, erythrocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, basophils, histopathology quantification, globulins, and antibody titers were significantly different ($P < 0,05$). Results showed *A. caviae* was more lethal than other bacteria tested. Histologically, a single infection of *Trichodina* sp. showed a low accumulation of

inflammatory cells and hemorrhage. While the co-infection with the respective bacteria causing severe damage to fish tissues. Production of antibody titer and globulin were higher in infection with *A. caviae* infection. Globulin was highest in a single infection with *A. caviae* ($P < 0,05$), while antibody titer was higher in co-infection with *A. caviae* ($P < 0,05$).

Keyword: *A. caviae*, Co-infection, *L. calcarifer* *Ph. damsela*, *Ps. aeruginosa*, *Trichodina*

A. Pendahuluan

Ikan kakap putih telah menjadi salah satu komoditas penting yang dibudidayakan di beberapa negara Asia, termasuk Indonesia karena potensi ekonominya yang sangat tinggi (Maharajan et al., 2016). Permintaan terhadap komoditas ini secara nasional dan internasional cukup tinggi, sehingga mendorong intensifikasi budidaya kakap putih yang berujung pada kerentanan ikan terhadap eksposur patogen akibat stres (Senapin et al., 2019; Irmawati et al., 2021). Lebih lanjut, dijelaskan bahwa masalah teknis dan infeksi penyakit infeksius masih menghantui pengembangan budidaya ikan ini di beberapa wilayah Indonesia (Irmawati et al., 2020). Misalnya, wabah parasit dan bakteri pada ikan kakap putih telah dilaporkan pada beberapa lokasi budidaya di Gerokgak, Bali dan Situbondo, Jawa Timur (Zafran et al., 2019; Zaenuddin et al., 2019). Penyakit menular yang terkait dengan parasit dan bakteri merupakan ancaman serius yang memengaruhi industri budidaya termasuk kakap putih, karena menyebabkan kerugian ekonomi yang besar bagi negara-negara pembudidaya ikan (Dong et al., 2017).

Trichodina merupakan ektoparasit yang umum ditemukan menginfeksi ikan air tawar dan laut di seluruh dunia (Wang et al., 2017). Parasit ini memiliki mode serangan menempel pada kulit dan insang dan transmisi secara langsung (Tantry et al., 2016). Infestasi ektoparasit ini pada ikan dapat sangat merusak kulit ikan dan memudahkan patogen lain seperti bakteri dan virus untuk masuk dan menginfeksi ikan yang terekspos (Xu et al., 2012; Xu et al., 2014). Masalah menjadi lebih rumit ketika ada infeksi sekunder, sehingga patogen lain seperti bakteri mudah terpapar. Ini merupakan serangkaian proses dalam patologi ikan dan menyebabkan kerusakan parah pada inangnya (Landsberg et al., 2013; Scott & Bollinger, 2014).

Banyak peneliti hanya berfokus pada infeksi yang bersifat tunggal dan mengklasifikasikan agen lain sebagai oportunistik serta mengabaikannya (Cox, 2001). Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri dan parasit berpotensi menimbulkan masalah yang cukup serius karena frekuensinya yang

tinggi terutama pada budidaya ikan. Di Indonesia (salah satu hasil penelitian ini), Sufardin et al. (2021) melaporkan infeksi bakteri pada ikan kakap putih menunjukkan kemungkinan kaitannya dengan infeksi *Trichodina* sp. Sejauh ini, interaksi antara parasit dan bakteri patogen pada ikan dan kemungkinan dampak epidemi tidak dipahami dengan baik (Abdel-Latif et al., 2020). Faktanya, efek koinfeksi ektoparasit (misalnya *Trichodina*) sebagai agen yang memfasilitasi infeksi bakteri sekunder masih belum dilaporkan dan tidak diketahui dengan baik. Infeksi lebih dari satu patogen mampu menimbulkan wabah penyakit yang serius pada ikan budidaya. Jika infeksi terjadi secara simultan maka penyakit yang ditimbulkannya akan semakin parah (García-Rosado et al., 2007), melebihi infeksi tunggal dan menyebabkan dampak yang signifikan pada sistem budidaya dan ekonomi (Kotob et al., 2016).

Dalam banyak kasus infeksi yang bersifat ganda, agen patogen dapat menekan sistem imun dari inang sehingga patogen lain memiliki kesempatan untuk memulai infeksi baru. Hal tersebut dilaporkan dapat menyebabkan tingkat keparahan infeksi menjadi meningkat hingga kematian pada ikan yang terinfeksi (Telfer et al., 2008). Oleh karena itu mempelajari koinfeksi parasit dan bakteri patogen pada ikan khususnya kakap putih sangat penting, guna memberikan informasi tentang tingkat patogenisitas agen dan menyiapkan rencana penanganan yang strategis. Studi ini menyelidiki konsekuensi kesehatan ikan yang diwakili oleh fitur hematologi dan histopatologi organ sistemik organ akibat koinfeksi *Trichodina* sp. dengan beberapa bakteri patogen pada ikan kakap putih *L. calcarifer*. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan memberikan gambaran kekebalan ikan melalui analisis globulin dan titer antibodi setelah tantangan infeksi ganda secara eksperimen.

B. Metode Penelitian

1. Sumber ikan dan rancangan eksperimen

Ikan kakap putih *L. calcarifer* yang digunakan dalam penelitian merupakan hasil budidaya pada Balai Perikanan Budidaya Air Payau Kabupaten Takalar, berukuran 8-10 cm. Penelitian ini menggunakan 24 akuarium bervolume 40 Liter, yang dilengkapi dengan filtrasi dan aerasi. Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilakukan dengan delapan perlakuan infeksi dan masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali sehingga terdapat 24 satuan percobaan:

- A= kontrol atau ikan sehat (tidak terinfeksi *Trichodina*);
- B= ikan terinfeksi alami *Trichodina* sp.;
- C= ikan sehat yang diinjeksi dengan *A. caviae*;
- D= ikan terinfeksi alami *Trichodina* sp. dan diinjeksi dengan *A. caviae*;
- E= ikan sehat yang diinjeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*;
- F= ikan terinfeksi alami *Trichodina* sp. dan diinjeksi dengan *Ps. aeruginosa*;
- G= ikan sehat yang diinjeksi dengan *Photobacterium damsela*;
- H= ikan terinfeksi alami *Trichodina* sp. dan diinjeksi dengan *Ph. damsela*.

Pengamatan awal *Trichodina* sp. dilakukan untuk perlakuan B, D, F dan H untuk memastikan bahwa ikan telah terinfeksi oleh *Trichodina* seperti yang diharapkan. Ikan yang tidak terinfeksi *Trichodina* sp. diperoleh dari tangki kultur yang berbeda dengan ikan yang terinfeksi. Setiap akuarium berisi delapan ekor ikan yang diberi pakan komersial (KAIO, 50%) dengan frekuensi pemberian tiga kali sehari selama empat pekan. Sebelum perlakuan C, D, E, F, G, dan H dilakukan, konsentrasi letal (LC₅₀) bakteri uji perlu ditentukan dengan injeksi intramuscular dengan *A. caviae* (C), *Ps. aeruginosa* (E), dan *Ph. damseale* (G) pada ikan sehat dan ikan yang secara alami terinfeksi *Trichodina* sp. (D, F, dan H). Uji LC₅₀ dilakukan untuk memastikan setidaknya setengah dari ikan uji dapat bertahan hidup dari konsentrasi bakteri yang diinjeksikan. Injeksi dilakukan pada konsentrasi bakteri 10⁵, 10⁷, dan 10⁹ CFU/mL, dengan masing-masing tiga ulangan untuk setiap konsentrasi. LC₅₀ yang dihitung berdasarkan pengujian ini digunakan untuk menginjeksi ikan pada perlakuan C, D, E, F G dan H.

2. Pengukuran parameter kualitas air

Parameter kualitas air yang diukur adalah salinitas (refraktometer), suhu (termometer), pH (pH-meter), oksigen terlarut (DO-meter), dan amonia (Tetra Amonia Test Kit). Parameter diamati secara rutin selama tiga sampai empat pekan.

3. Pengamatan parasit

Ikan diambil dari wadah pemeliharaan dan diletakkan dalam cawan petri, kemudian dianestesi menggunakan es batu. Selanjutnya panjang total (cm) diukur dan berat (g) ikan ditimbang, kemudian parasit diperiksa dengan metode preparat ulas (*smear method*) untuk mengetahui keberadaan infeksi *Trichodina*. Sejumlah kecil jaringan sampel diperoleh dengan mengikis permukaan tubuh, sirip, atau insang dan ditempatkan pada *slide glass*. Beberapa tetes air yang dipakai pada saat penelitian dari bak pemeliharaan ditambahkan, lalu diratakan. Kaca penutup

ditempatkan di atas *slide*, kemudian diamati di bawah mikroskop. Ikan yang ditemukan terinfeksi oleh *Trichodina* sp. ditempatkan di akuarium untuk perlakuan koinfeksi (B, D, F dan H), sedangkan ikan yang tidak terinfeksi ditempatkan di akuarium untuk perlakuan infeksi tunggal (A, C, E, dan G).

4. Persiapan bakteri dan injeksi

Larutan bakteri disiapkan pada berbagai konsentrasi (10^5 , 10^7 , dan 10^9 Cfu/mL). Larutan standar 0,5 McFarland (blanko) dibuat dengan membandingkan asam sulfat (H_2SO_4) dan barium klorida ($BaCl_2$) dalam 10 tabung reaksi berturut-turut, dan konsentrasi bakteri ditentukan berdasarkan standar tersebut. Bakteri berumur 24 jam diambil dari agar miring *Tryptic Soy Agar* (TSA) menggunakan inokulasi loop steril, kemudian dihomogenkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan fisiologis NaCl 0,9%. Kekeruhan larutan blanko dan suspensi bakteri diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 640 nm. Kekeruhan larutan blanko dianalisis untuk membuat kurva standar dan menghasilkan rumus regresi. Kepadatan suspensi bakteri kemudian dihitung dengan cara substitusi ke dalam rumus regresi yang dihasilkan oleh kurva standar. Kepadatan suspensi yang diperoleh diencerkan menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9 % untuk memperoleh kepadatan yang diharapkan (10^9 , 10^7 , dan 10^5 Cfu/mL). Sejumlah 0,2 mL dari setiap suspensi diinjeksikan melalui injeksi intramuscular ke ikan yang dipelihara (Li et al., 2011). Ikan yang mati selama percobaan dihitung untuk menentukan LC_{50} 96 jam dari masing-masing bakteri yang akan diterapkan pada masing-masing perlakuan infeksi.

5. Pengamatan tingkah laku ikan

Tingkah laku ikan diamati menurut Mangunwardoyo et al. (2010) dan SK-BKIPM (2015). Pengamatan langsung dan berkala terhadap perilaku ikan seperti cara berenang, gerakan insang, dan respon terhadap makan. Ikan lesu dianggap sebagai tanda awal stres, misalnya menghabiskan lebih banyak waktu di dasar akuarium atau bersandar di dinding daripada berenang di tengah akuarium. Kemudian perilaku abnormal diamati seperti kesulitan berenang karena ikan mulai menghabiskan waktu yang tidak normal di dekat permukaan tangki, juga sesekali berenang naik turun dengan perubahan nafsu makan. Selanjutnya ikan yang stres menunjukkan perilaku seperti berenang dengan cepat atau tidak menentu di sekitar akuarium dan kurang nafsu makan. Perubahan lebih lanjut dalam perilaku termasuk gerakan insang yang sangat cepat, yang merupakan tanda ikan stres. Akhirnya, kejang atau gerakan tidak menentu dengan ikan yang tampak terengah-

engah karena kekurangan oksigen di permukaan tangki hingga mengalami kematian. Gejala klinis juga diamati seperti pembengkakan dan pendarahan. Pengamatan perilaku ikan dilakukan dengan menghitung jumlah ikan yang mengalami perubahan perilaku yang disajikan dalam persen.

6. Persiapan analisis darah

Pada akhir percobaan, sampel darah ikan dianalisis jumlah sel, diferensiasi leukosit, titer antibodi, dan globulin dengan tiga kali ulangan untuk setiap perlakuan. Sampel darah diperoleh dengan cara memasukkan spuit steril ke dalam pembuluh darah di sekitar ekor. Darah yang telah diambil dimasukkan ke dalam tabung mikro yang mengandung 3,8% natrium sitrat sebagai agen antikoagulan.

7. Analisis profil darah

Parameter hematologi dinyatakan dalam standar internasional (SI), yaitu sel darah merah dan sel darah putih (RBC; 10^{10} cm^{-3} dan WBC; 10^8 cm^{-3}) menggunakan standar *Neubauer-hemocytometry* (Goda et al., 2020). Sampel darah diisolasi untuk pengamatan eritrosit dengan mengisi pipet eritrosit Thoma sampai batas satu dan pengenceran dengan larutan Hayem sampai batas 101. Sampel diamati di bawah mikroskop menggunakan hemositometer yang ditutup dengan *cover glass*. Untuk pengamatan leukosit, pipet leukosit Thoma diisi sampel darah hingga batas 0,5 dan larutan Turk ditambahkan hingga batas 11 pada skala. Sampel darah diteteskan pada hemositometer dan ditutup perlahan dengan *cover glass* untuk menghindari udara terperangkap yang membentuk gelembung. Rumus yang digunakan untuk menghitung jumlah sel eritrosit dan leukosit adalah:

$$(\text{Eritrosit} / \text{Leukosit}) = \text{Jumlah sel} \times \frac{1}{\text{Volume kotak}} \times \text{Jumlah kotak}$$

Sampel darah diteteskan pada *slide glass* untuk pengamatan diferensiasi leukosit. *Slide glass* lain disiapkan dan ditempatkan di atas kaca dengan sampel darah pada sudut 30-45°. Kaca bagian atas kemudian perlahan-lahan ditarik dari kiri ke kanan hingga membentuk lapisan tipis, kemudian kedua kaca dikeringkan. Preparat direndam dalam larutan metanol selama lima menit dilanjutkan dengan pewarna Giemsa selama 20 menit kemudian dibilas menggunakan air mengalir. Sampel yang telah disiapkan kemudian diamati di bawah mikroskop. Diferensiasi leukosit dinyatakan dalam persen.

8. Pengukuran klinis indikator imun

Indikator imun yang digunakan dalam penelitian ini adalah titer antibodi dan globulin dalam serum darah. Pengukuran titer antibodi dilakukan menurut Hardi et

al. (2018). Serum yang diperoleh dari sampel darah disentrifugasi selama 3 menit pada kecepatan 3000 rpm. Kemudian dimasukkan 25 μ L larutan PBS ke dalam sumur 1-12 pada *microplate*. Sebanyak 25 μ L serum ditambahkan ke sumur 1-11. Bakteri ditambahkan sebanyak 25 μ L ke dalam sumur 1-12 dan *microplate* dihomogenkan menggunakan mikropipet. Diinkubasi selama dua hingga tiga jam pada suhu ruang. Titer antibodi spesifik positif ditandai oleh reaksi penggumpalan, sedangkan negatif jika tidak ada gumpalan dan titik terkonsentrasi pada dasar sumur.

Pengukuran globulin pada darah ikan dilakukan melalui pengurangan nilai total protein dengan nilai albumin. Total protein dalam serum diukur dengan metode biuret menurut Peyghan et al. (2014). Reagen biuret dipipet sebanyak 500 μ L ke dalam masing-masing tabung standard, blanko (akuades) dan tabung uji (serum). Kemudian sebanyak 10 mikron akuades dipipet ke dalam tabung blanko, 10 mikron serum ke dalam tabung uji, dan 10 mikron larutan standard ke tabung standard. Dihomogenisasi dan inkubasi pada suhu 37° C selama 5 menit. Suspensi diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Selanjutnya pengukuran albumin dilakukan menurut metode yang dijelaskan oleh Sulfitri et al. (2020), dengan menambahkan 2,5 mL reagen biuret ke dalam masing-masing tabung standard, blanko (akuades) dan tabung uji (serum). Selanjutnya serum darah dipipet sebanyak 25 μ L ke dalam tabung uji dan 10 μ L larutan standard ke tabung standard. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Kemudian diukur abosrbansi suspensi pada panjang gelombang 620 nm.

9. Pengamatan histopatologi

Analisis histopatologi dilakukan pada organ sistemik di akhir eksperimen berdasarkan Espinosa et al. (2019). Organ insang, hati dan ginjal diperoleh dan dipilih dari ikan secara acak dari masing-masing perlakuan. Organ sampel di simpan dalam *phosphate buffer formalin* (PBS) 10% selama 24 jam dan dicuci menggunakan larutan fisiologis (NaCl 0,9%). Sampel kemudian didehidrasi secara bertingkat menggunakan alkohol 70-100%, dibersihkan menggunakan xylol, dan *diembedded* dalam parafin. Selanjutnya jaringan dipotong menggunakan mikrotom 3-5 μ m, diwaxing, direhidrasi menggunakan ethanol absolut, dan diwarnai meggunakan pewarna *hematoxylin-eosin* (HE). Kemudian amati di bawah mikroskop. Hasil pengamatan dikategorisasi menjadi patologi ringan, sedang dan berat berdasarkan tingkat kerusakan jaringan.

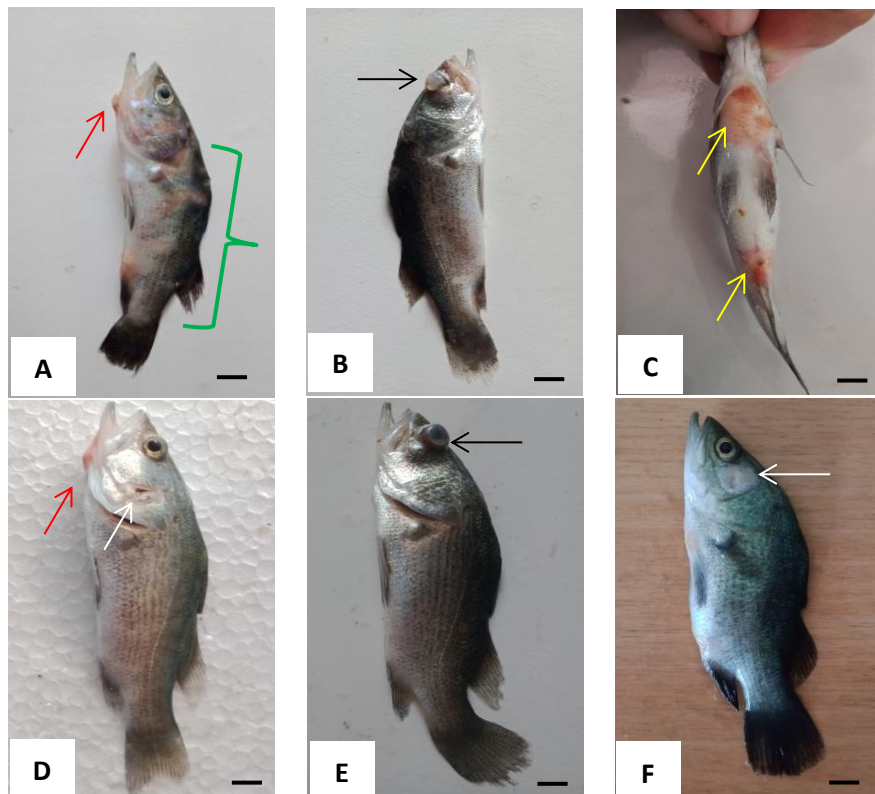
10. Analisis data

Data yang diperoleh (jumlah eritrosit dan leukosit, diferensiasi leukosit, patogenisitas bakteri, titer antibodi, globulin dan kuantifikasi histopatologi) diuji secara statistik menggunakan analisis ragam dan regresi linier untuk melihat variasi dan pengaruh antar variabel penelitian. Analisis statistik dilakukan menggunakan IBM SPSS versi 25.

C. Hasil

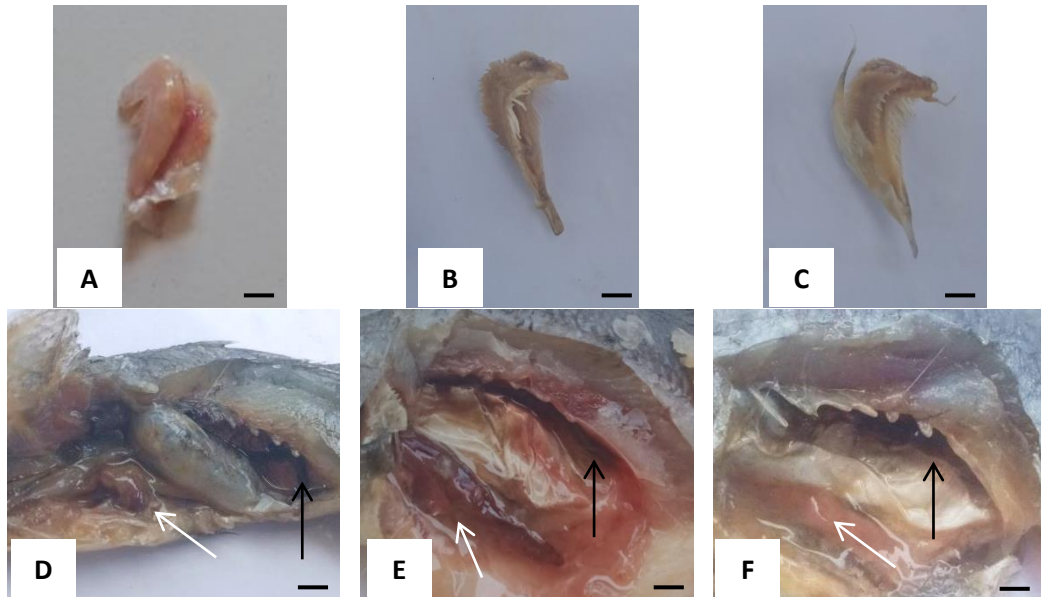
1. Penampakan tubuh dan organ sistemik ikan setelah eksperimen

Organ ikan kakap putih *L. calcarifer* menunjukkan beberapa kerusakan (Gambar 26) setelah diinjeksi dengan bakteri patogen. Ditemukan variasi kerusakan seperti permukaan tubuh (A), mata (B dan E), perdarahan (C), rahang bawah (D), dan operkulum (F). Temuan ini menunjukkan bahwa *Ps. aeruginosa* dan *Ph. damsela* yang diinjeksikan tidak menimbulkan kerusakan pada permukaan tubuh ikan dan perdarahan seperti infeksi *A. caviae*. Sebaliknya, injeksi *Ph. damsela* menyebabkan kerusakan pada mata dan injeksi *Ps. aeruginosa* menyebabkan kerusakan pada rahang bawah seperti infeksi *A. caviae*.



Gambar 26. Penampakan kerusakan tubuh ikan kakap putih *Lates calcarifer* setelah diinjeksi dengan. A, B and C) *Aeromonas caviae*; D) *Pseudomonas aeruginosa*; E and F) *Photobacterium damsela*. Panah merah: lower jaw; panah kuning: bleeding; panah hijau: kulit; panah hitam: bola mata; panah putih: operkulum. Skala: 1 cm.

Hasil pemeriksaan organ sistemik ikan kakap putih *L. calcarifer* (Gambar 27) menunjukkan adanya bercak putih pada insang (A) setelah injeksi *A. caviae*. Sebaliknya, ginjal dan hati kakap putih *L. calcarifer* tampak lebih gelap (D) setelah injeksi *A. caviae* dibandingkan dengan injeksi dengan bakteri lain (E dan F).



Gambar 27. Penampakan organ sistemik ikan kakap putih *Lates calcarifer*. Insang setelah diinjeksi dengan: A) *Aeromonas caviae*; B) *Pseudomonas aeruginosa*; C) *Photobacterium damsela*. Ginjal (panah hitam) dan hati (panah putih) setelah diinjeksi dengan: D) *Aeromonas caviae*; E) *Pseudomonas aeruginosa*; and F) *Photobacterium damsela*. Skala: 0,5 cm.

2. Tingkah laku ikan selama eksperimen

Tingkah laku ikan selama percobaan seperti yang ditunjukkan pada Tabel 19 dan 20, menunjukkan ikan mengalami letargik (100%) pada 24 jam pertama untuk semua perlakuan karena fase adaptasi. Kemudian, pada 48 jam percobaan sebanyak 70,83% ikan mengalami letargik setelah diinjeksikan *Ps. aeruginosa*, dan 66,67% setelah diinjeksikan *Ph. damsela* masih menunjukkan letargik pada infeksi tunggal.

Tabel 6 Fisiologi ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang sehat setelah diinjeksi bakteri.

Perlakuan	24 jam	48 jam	72 jam	>72 jam
<i>A. caviae</i>	Letargik di dasar akuarium (100%)	Letargik di dasar akuarium (100%)	Muncul nafsu makan berenang lambat (62,5%)	Gerak reflek dan operkulum cepat (70,83%)
<i>Ps. aeruginosa</i>	Letargik di dasar akuarium (100%)	Letargik di dasar akuarium (70,83%)	Muncul nafsu makan berenang cepat (79,17%)	Gerak operkulum pelan (83,83%)
<i>Ph. damsela</i>	Letargik di dasar akuarium (100%)	Letargik di dasar akuarium (66,67%)	Muncul nafsu makan berenang cepat (70,83%)	Gerak operkulum pelan (79,17%)

Tabel 7. Fisiologi ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang terinfeksi *Trichodina* sp. setelah diinjeksi bakteri.

Perlakuan	24 jam	48 jam	72 jam	72-96 jam
<i>Trichodina</i> sp. + <i>A. caviae</i>	Leargik di dasar akuarium (100%)	Berenang naik turun (58,33%)	Muncul nafsu makan (83,33%)	Berenang lemah dan gerak operculum cepat (95,83%)
<i>Trichodina</i> sp. + <i>Ps. aeruginosa</i>	Letargik di dasar akuarium (100%)	Letargik di dasar akuarium (91,67%)	Muncul nafsu makan dan gerak reflek (75%)	Gerak operculum cepat (83,33%)
<i>Trichodina</i> sp. + <i>Ph. damsela</i>	Letargik di dasar akuarium (100%)	Letargik di dasar akuarium (83,33%)	Muncul nafsu makan dan gerak reflek (75%)	Gerak operculum cepat (91,67%)

Ikan menunjukkan berenang naik turun pada perlakuan koinfeksi dengan *A. caviae* sebanyak 58,33% pada 48 jam percobaan. Sebaliknya, pada perlakuan koinfeksi dengan *Ps. aeruginosa* menunjukkan letargik sebanyak 91,67% dan 83,33% pada koinfeksi *Ph. damsela*. Pada infeksi tunggal dengan *A. caviae*, 62,50% ikan menunjukkan nafsu makan namun berenang perlahan pada 72 jam percobaan. Kemudian, pada >72 jam, 70,83% ikan menunjukkan gerak refleksi dan gerakan operculum lambat setelah injeksi *A. caviae*. Pada 72 jam setelah infeksi tunggal *Ps. aeruginosa*, 79,17% ikan menunjukkan adanya nafsu makan dan berenang cepat, kemudian pada >72 jam sebanyak 83,33% ikan menunjukkan gerakan operculum lambat. Selanjutnya 70,83% ikan menunjukkan nafsu makan dan berenang cepat serta 79,17% menunjukkan gerakan operculum cepat, setelah infeksi tunggal *Ph. damsela*.

Sebaliknya, pada ikan koinfeksi, sebanyak 83,33% menunjukkan nafsu makan yang kurang pada 72 jam percobaan setelah penyuntikan *A. caviae*. Kemudian, 95,83% ikan menunjukkan cara berenang yang lemah dan gerakan operculum cepat. Pada koinfeksi dengan penyuntikan *Ps. aeruginosa*, percobaan di 72 jam sebanyak 75% ikan menunjukkan nafsu makan dan gerakan refleksi, serta 83,33% menunjukkan gerakan operculum yang cepat. Perlakuan koinfeksi dengan injeksi *Ph. damsela* menunjukkan 75% ikan muncul nafsu makan dengan gerak refleksi, dan 91,67% menunjukkan gerakan operculum yang cepat.

3. Patogenisitas bakteri pada kakap putih selama eksperimen

Patogenisitas bakteri menunjukkan *A. caviae* pada ikan yang terinfeksi *Trichodina* sp. lebih mematikan dibandingkan bakteri lainnya (Tabel 21 dan Gambar 28). Hal ini ditunjukkan dengan nilai LC₅₀ terendah yaitu 5 Cfu/mL diikuti oleh *A. caviae* dan *Ph. damsela* pada ikan sehat yaitu 6 dan 6,1 Cfu/mL. Bakteri

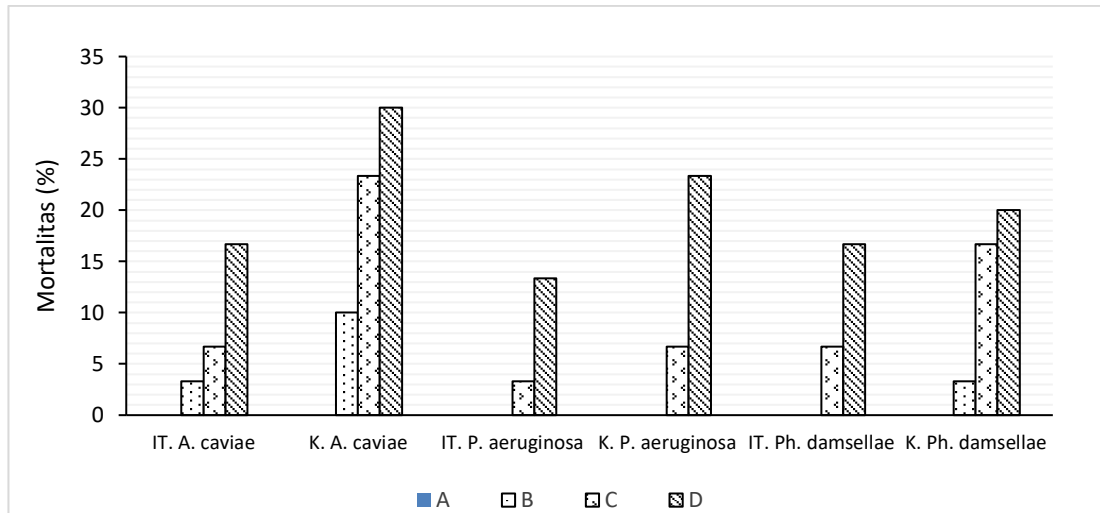
dengan LC₅₀ tertinggi adalah *Ps. aeruginosa* dan *Ph. damsela* pada ikan tidak terinfeksi *Trichodina* sp. yaitu 8,1 dan 7,6 Cfu/mL berturut-turut diikuti oleh *Ps. aeruginosa* pada ikan yang tidak terinfeksi dengan LC₅₀ 7,4 cfu/mL (Tabel 22 dan Lampiran 15). Uji statistik pada persen mortalitas ikan menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar semua perlakuan (P<0,05; Lampiran 16). Sebaliknya, hanya bakteri *A. caviae* yang berbeda nyata (P<0,05; Lampiran 17) antara infeksi tunggal dan koinfeksi, sedangkan bakteri lainnya tidak berbeda (Lampiran 18 dan 19).

Tabel 28. Patogenisitas bakteri pada ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang terinfeksi parasit.

Bakteri	Konsentrasi (Cfu/mL)	Jumlah ikan (ekor)			Rasio Mortalitas	LC ₅₀ -96 jam
		Diperiksa	Mati	Hidup		
<i>A. caviae</i>	1,3 x 10 ⁹	30	9	21	9/30	5,0
	1,3 x 10 ⁷	30	7	23	7/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	3	27	3/30	
	Kontrol	30	0	10	0/30	
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,3 x 10 ⁹	30	7	23	7/30	7,4
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	
	Kontrol	30	0	10	0/30	
<i>Ph. damsela</i>	1,3 x 10 ⁹	30	6	24	6/30	6,1
	1,3 x 10 ⁷	30	5	25	5/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	1	29	1/30	
	Kontrol	30	0	10	0/30	

Tabel 9. Patogenisitas bakteri pada ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang sehat.

Bakteri	Konsentrasi (Cfu/mL)	Jumlah ikan (ekor)			Rasio Mortalitas	LC ₅₀ -96 jam
		Diperiksa	Mati	Hidup		
<i>A. caviae</i>	1,3 x 10 ⁹	30	5	25	5/30	6,0
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	1	29	1/30	
	Kontrol	30	0	30	0/30	
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,3 x 10 ⁹	30	4	26	4/30	8,1
	1,3 x 10 ⁷	30	1	29	1/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	
	Kontrol	30	0	30	0/30	
<i>Ph. damsela</i>	1,3 x 10 ⁹	30	5	25	5/30	7,6
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	
	Kontrol	30	0	30	0/30	



Gambar 28. Mortalitas (%) ikan setelah infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Aeromonas caviae* ($P < 0,05$), *Pseudomonas aeruginosa* ($P > 0,05$), dan *Photobacterium damsellae* ($P > 0,05$). (A: kontrol; B: 10^5 Cfu/mL; C: 10^7 Cfu/mL; D: 10^9 Cfu/mL). Keterangan: IT= Infeksi tunggal; K= Koinfeksi.

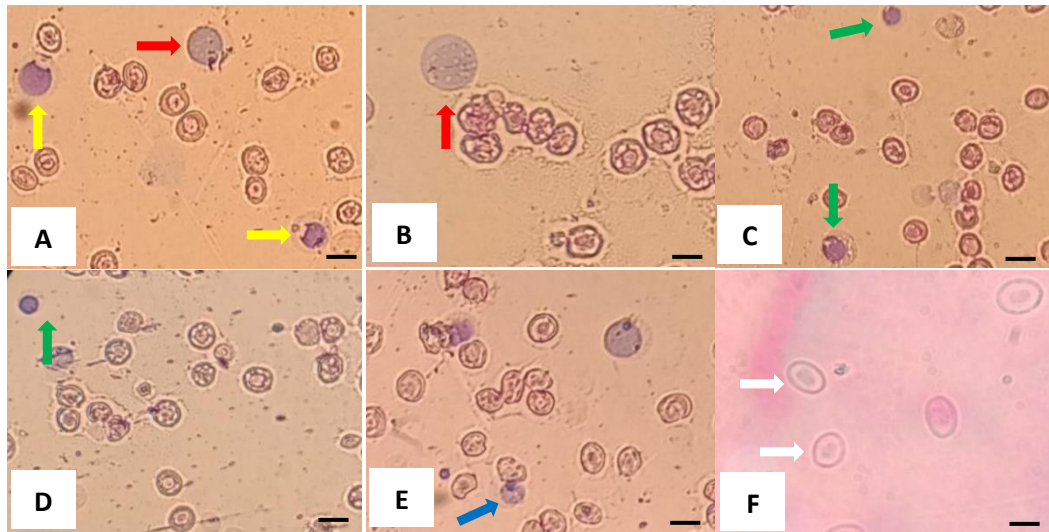
4. Gambaran darah kakap putih setelah eksperimen

Penampakan dan profil darah kakap putih ditunjukkan pada Gambar 29 dan Tabel 23. Secara statistik, eritrosit berbeda nyata antarperlakuan ($P < 0,05$; Lampiran 20), sedangkan leukosit tidak berbeda (Gambar 30 dan Lampiran 21). Sebaliknya, untuk diferensiasi leukosit (Gambar 31), limfosit dan monosit masing-masing berbeda nyata ($P < 0,05$; Lampiran 22 dan 23) pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *A. caviae* ($P < 0,05$). Selanjutnya, neutrofil berbeda nyata pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Ps. Aeruginosa* ($P < 0,05$; Lampiran 24). Secara umum basofil berbeda nyata antarperlakuan ($P < 0,05$; Lampiran 25).

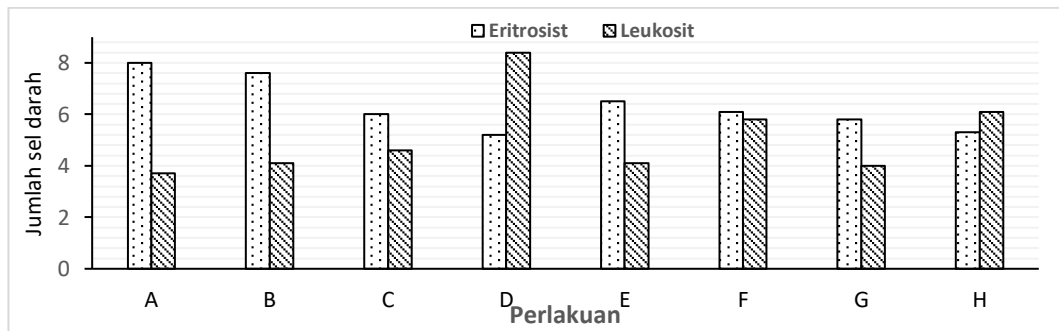
Tabel 10. Profil darah (rata-rata \pm SD) ikan kakap putih *Lates calcarifer* semua perlakuan setelah eksperimen.

PR	A	B	C	D	E	F	G	H
RB	8,0 \pm 1,53	7,6 \pm 1,15	6,0 \pm 0,58	5,2 \pm 2,19	6,5 \pm 0,88	6,1 \pm 2,33	5,8 \pm 1,76	5,3 \pm 0,58
WB	3,7 \pm 0,58	4,1 \pm 1,20	4,6 \pm 2,33	8,4 \pm 1,34	4,1 \pm 1,45	5,8 \pm 2,19	4,0 \pm 0,33	6,1 \pm 1,53
L	31 \pm 2,31	64 \pm 1,89	52,33 \pm 0,98	72 \pm 0,94	42,33 \pm 0,88	47 \pm 1,15	40 \pm 2,52	42,67 \pm 1,20
M	44 \pm 2,89	15 \pm 1,41	21,33 \pm 0,27	11 \pm 1,89	28,33 \pm 2,96	28 \pm 1,53	25 \pm 2,58	23 \pm 3,51
N	25 \pm 0,58	21 \pm 2,87	26,33 \pm 0,72	17 \pm 0,94	29,33 \pm 2,19	25 \pm 2,08	21,33 \pm 5,04	22,33 \pm 3,53
B	0	0	0	0	0	0	13,67 \pm 2,73	12,00 \pm 1,53

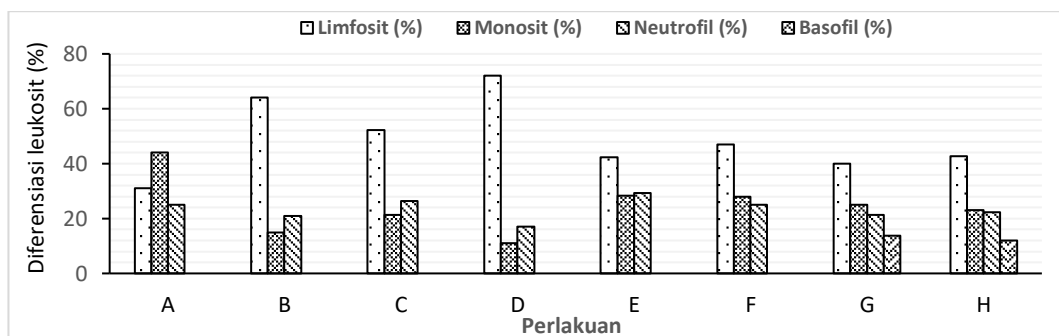
Keterangan= PR: Parameter; RB (RBCC): *Erythrocytes count*, WB (WBCC): *Leukocytes count* ($\times 10^{10} \text{ mm}^{-3}$); L: *Lymphocyte*, M: *Monocyte*, N: *Neutrophil* dan B: *Basophil* (%); ; A= kontrol; B= ikan terinfeksi *Trichodina* sp.; C= ikan sehat yang diinjeksikan dengan *A. caviae*; D= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *A. caviae*; E= ikan sehat diinjeksikan dengan *Pseudomonas aeruginosa*; F= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ps. aeruginosa*; G= ikan sehat diinjeksikan dengan *Photobacterium damsellae*; H= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ph. damsellae*.



Gambar 29. Sel darah ikan kakap putih *Lates calcarifer*. (A, B, C, D and E: diferensiasi leukosit; F: Eritrosit sebelum pewarnaan giemsa. Panah merah: Basofil; panah kuning: Monosit; panah hijau: Limfosit; panah biru: Neutrofil; panah putih: Eritrosit). Perbesaran 40x. Skala: 10 μ m.



Gambar 30. Eritrosit ($\times 10^{10} \text{ mm}^{-3}$) ($P < 0,05$) dan leukosit ($\times 10^8 \text{ mm}^{-3}$) ($P > 0,05$) pada serum darah kakap putih *Lates calcarifer* untuk semua perlakuan. A= kontrol; B= ikan terinfeksi *Trichodina* sp.; C= ikan sehat yang diinjeksikan dengan *A. caviae*; D= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *A. caviae*; E= ikan sehat diinjeksikan dengan *Pseudomonas aeruginosa*; F= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ps. aeruginosa*; G= ikan sehat diinjeksikan dengan *Photobacterium damsela*; H= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ph. damsela*.



Gambar 31. Diferensiasi leukosit (%) ikan kakap putih *Lates calcarifer* pada semua perlakuan. A= kontrol; B= ikan terinfeksi *Trichodina* sp.; C= ikan sehat yang diinjeksikan dengan *A. caviae*; D= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *A. caviae*; E= ikan sehat diinjeksikan dengan *Pseudomonas aeruginosa*; F= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ps. aeruginosa*; G= ikan sehat diinjeksikan dengan *Photobacterium damsela*; H= ikan terinfeksi *Trichodina* sp. dan diinjeksikan dengan *Ph. damsela*.

5. Histopatologi ikan kakap putih *L. calcarifer* setelah eksperimen

Hasil pengamatan histopatologi disajikan secara kuantitatif melalui skoring kerusakan jaringan (Tabel 24 dan 25). Histopatologi organ sistemik *L. calcarifer* menunjukkan banyak perubahan pada infeksi tunggal bakteri serta koinfeksi bakteri dan *Trichodina* sp.. Histopatologi organ sistemik (insang, ginjal, hati) dan kulit ikan kakap putih *L. calcarifer* ditunjukkan pada Gambar 32 (ikan sehat dan terinfeksi *Trichodina* sp.), Gambar 33 dan 34 (injeksi *A. caviae*), Gambar 35 (injeksi *Ps. aeruginosa*), serta Gambar 36 (injeksi *Ph. damsela*).

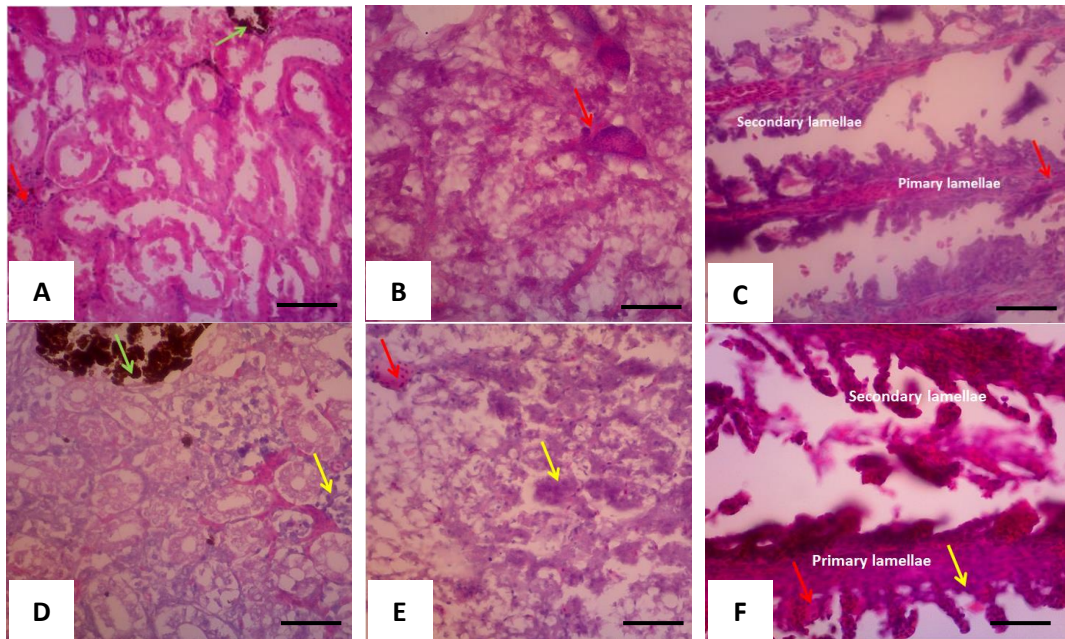
Tabel 11. Skoring hasil pengamatan histopatologi pada organ ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang sehat dan diinjeksi bakteri.

PL	Organ	Sel radang	Nekrosis	Melano makrofag	Jaringan Ikat	Vakuola	Hemoragi
Kontrol	Ginjal						+
	Hati						+
	Insang	+					+
<i>A. caviae</i>	Ginjal	+++	+++	+++			+++
	Hati	++	++			++	++
	Insang	++	++				+++
<i>Ph. damsela</i>	Kulit dan Otot		+				
	Ginjal	+++	+++	+++			+++
	Hati	+	+				++
<i>Ps. aeruginosa</i>	Insang	++	++				++
	Ginjal	+++	+++	+++			+++
	Insang	+	+				++
	Hati	+	+				+

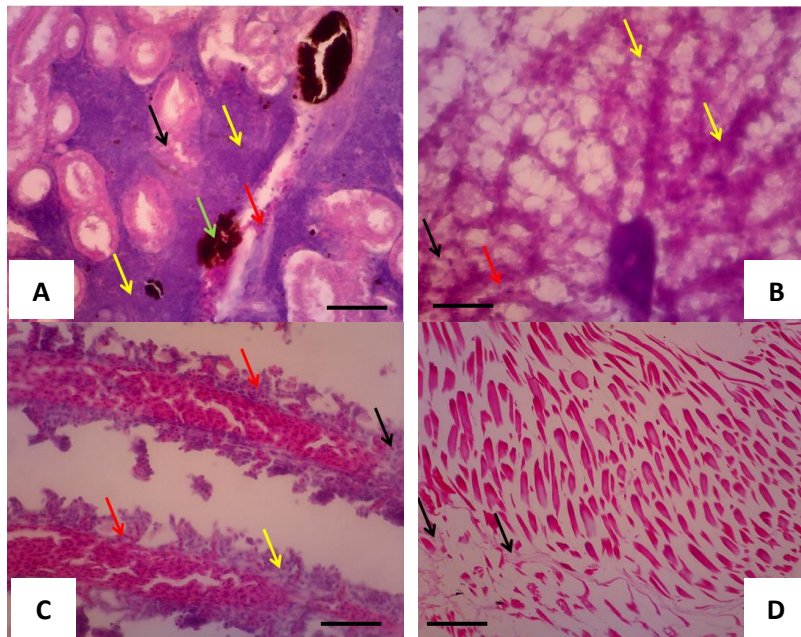
Tabel 12. Skoring hasil pengamatan histopatologi pada organ ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang terinfeksi oleh *Trichodina* sp. dan diinjeksi bakteri.

PL	Organ	Sel radang	Nekrosis	Melano makrofag	Jaringan Ikat	Vakuola	Hemoragi
Kontrol	Ginjal	+++		++			
	Hati	++					+
	Insang	++					++
<i>A. caviae</i>	Ginjal	+++	+++	++	++	++	++
	Hati	+++	++		+	++	++
	Insang	+++	++				+++
	Kulit dan Otot	++	+				
<i>Ph. damsela</i>	Insang	++	++				++
	Ginjal	+++	+++	+++		+	++
	Hati	+++	++				+++
	Kulit dan Otot	++	++	++			+
<i>Ps. aeruginosa</i>	Hati	++	+++				+
	Ginjal	+++	+++	+++	++	+	+++
	Insang	++	++				++

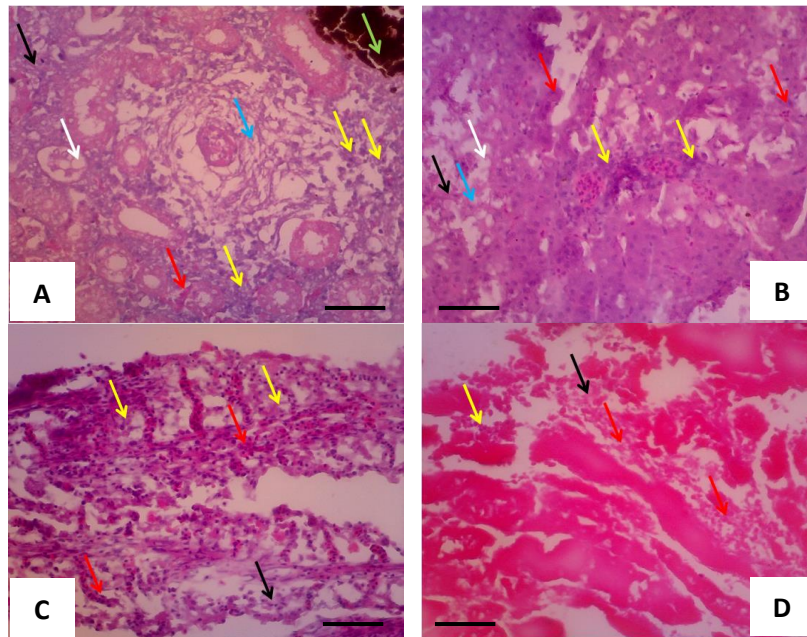
Keterangan: PL= Perlakuan; + = perubahan patologi ringan; ++ = perubahan patologi sedang; +++ = perubahan patologi berat.



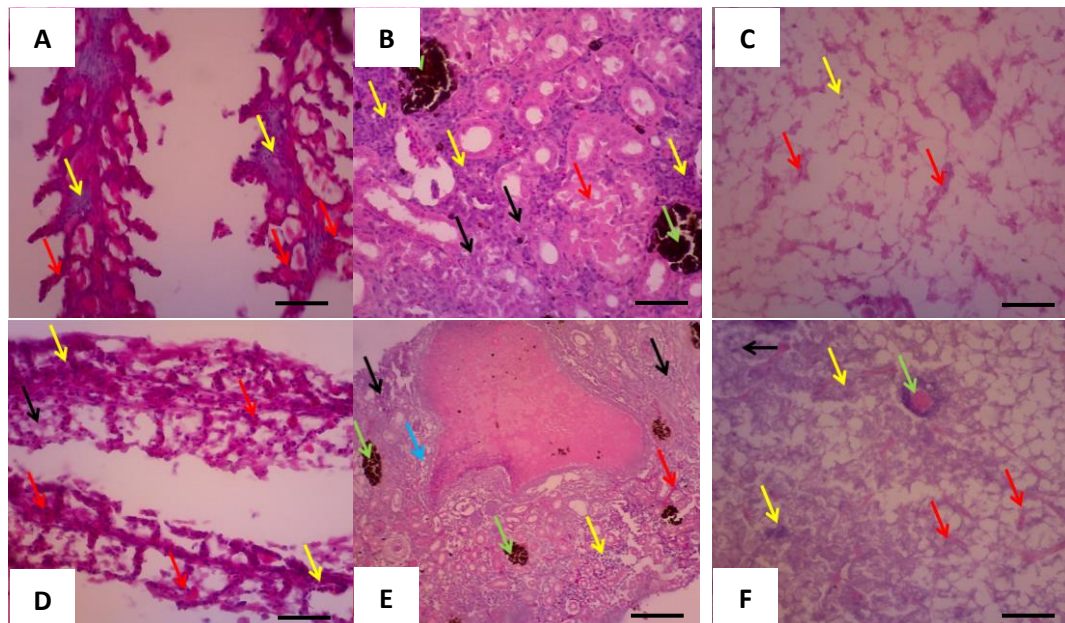
Gambar 32. Histopatologi kakap putih *Lates calcarifer* yang tidak terinfeksi (A: ginjal; B: hati; C: insang) dan yang hanya terinfeksi oleh *Trichodina* sp. secara alami (D: ginjal; E: hati; F: Insang). Panah kuning: inflammasi; panah merah: hemoragi; panah hijau: melanomakrofag). Perbesaran 100x. Skala: 200 μ m.



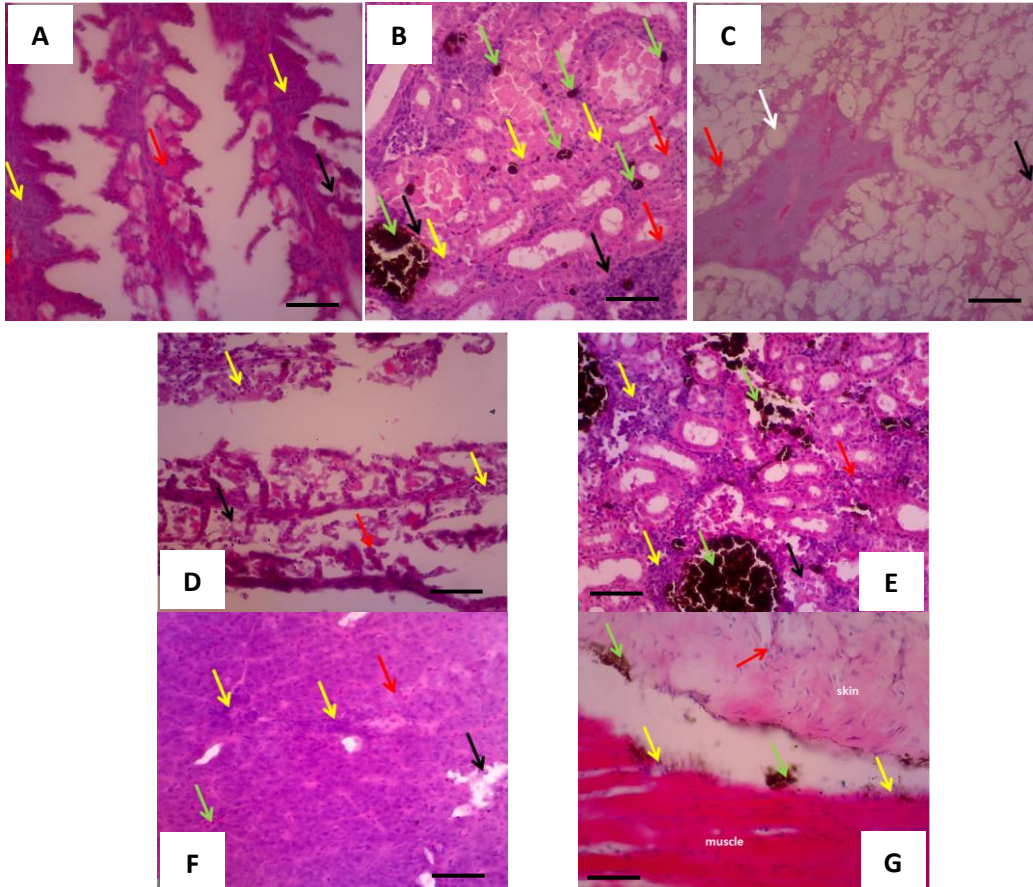
Gambar 33. Histopatologi kakap putih *Lates calcarifer* pada infeksi tunggal *Aeromonas caviae* (A: ginjal; B: hati; C: insang; D: kulit). Panah hitam: nekrosis; panah kuning: inflammasi; panah merah: hemoragi; panah hijau: melanomakrofag). Perbesaran 100x. Skala: 200 μ m.



Gambar 34. Histopatologi ikan kakap putih *Lates calcarifer* pada koinfeksi dengan *Aeromonas caviae* (A: ginjal; B: hati; C: insang; D: kulit). Panah hitam: nekrosis; panah kuning: inflamasi; panah merah: hemoragi; panah hijau: melanomakrofag; panah biru: jaringan ikat; panah putih: vakuola). Perbesaran 100x. Skala: 200 μ m.



Gambar 35. Histopatologi kakap putih *Lates calcarifer* pada infeksi tunggal (A: insang; B: ginjal; C: hati) dan koinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa* (D: insang; E: ginjal; F: hati). Panah hitam: nekrosis; panah kuning: inflamasi; panah merah: hemoragi; panah hijau: melanomakrofag; panah biru: jaringan ikat. Perbesaran 100x.



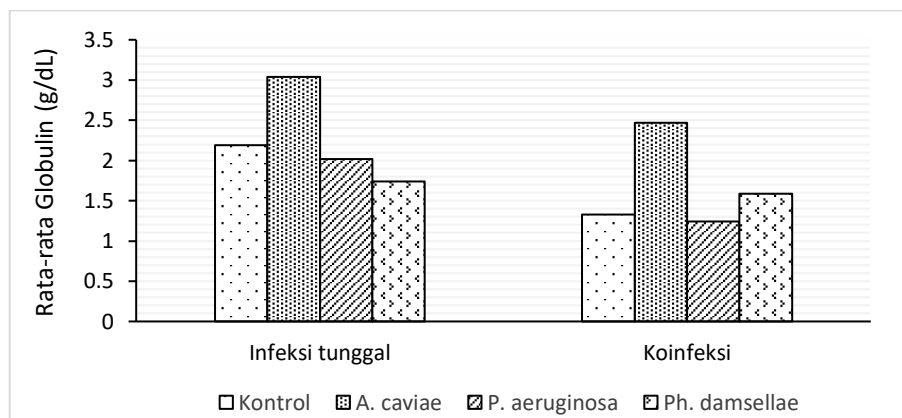
Gambar 36. Histopatologi ikan kakap putih *Lates calcarifer* pada infeksi tunggal (A: insang; B: ginjal; C: hati) dan koinfeksi dengan *Photobacterium damselae* (D: insang; E: ginjal; F: hati; G: kulit). Panah hitam: nekrosis; panah kuning: inflamasi; panah merah: hemoragi; panah hijau: melanomakrofag; panah putih: vakuola. Perbesaran 100x. Skala: 200 μ m.

Secara umum, terdapat lebih banyak kerusakan jaringan akibat koinfeksi dibandingkan dengan infeksi tunggal. Ikan infeksi tunggal menunjukkan sedikit melano-makrofag (Gambar 32A) dan hemoragi (Gambar 32B dan 32C) tetapi tidak ada peradangan dan nekrosis. Ikan yang tidak terinfeksi mengalami hemoragi yang sangat kecil di hati dan insang (Gambar 32E dan 32F), dan melanomakrofag di ginjal (Gambar 32D). Pada infeksi tunggal dengan *A. caviae* (Gambar 33) ditemukan nekrosis, inflamasi, hemoragi dan melanomakrofag yang rendah. Sebaliknya, koinfeksi *Trichodina* dan *A. caviae* (Gambar 34) ditemukan akumulasi sel radang (inflamasi), hemoragi, vakuola, melano-makrofag, jaringan ikat, dan nekrosis yang besar. Hal serupa juga ditemukan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Ps. Aeruginosa* (Gambar 35), dan *Ph. damselae* (Gambar 36). Namun, vakuola hanya ditemukan pada koinfeksi dengan *A. caviae* dan infeksi tunggal *Ph.*

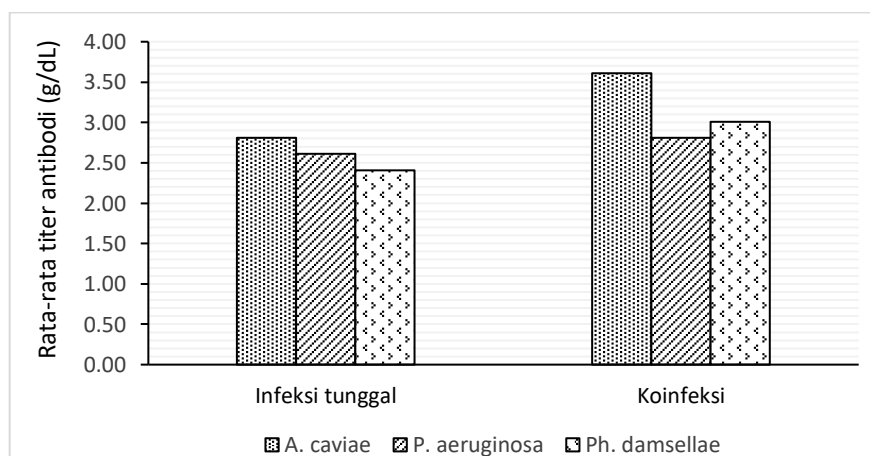
damsellae. Berdasarkan perubahan pada jaringan ikan, kerusakan paling parah ditemukan pada koinfeksi *Trichodina* sp. dan *A. caviae* (Tabel 35 dan Gambar 34).

6. Imunitas ikan

Evaluasi kekebalan ikan kakap putih *L. calcarifer* ditentukan dengan mengukur indikator kekebalan yakni globulin dan titer antibodi (Lampiran 26) dalam darah ikan setelah eksperimen. Globulin dan titer antibodi serum darah ditunjukkan pada Gambar 37 dan 38. Secara statistik, titer antibodi dalam darah kakap putih berbeda nyata ($P < 0,05$) antar semua perlakuan (Lampiran 27), serta antara infeksi tunggal dan koinfeksi dengan bakteri *A. caviae* (Lampiran 28). Sebaliknya, dua bakteri lainnya tidak berbeda ($P > 0,05$; Lampiran 29 dan 30). Selanjutnya, globulin berbeda nyata ($P < 0,05$) antar semua perlakuan (Lampiran 31 dan 32), serta antar infeksi (tunggal dan koinfeksi) pada *A. caviae* dan *Ps. Aeruginosa* (Lampiran 32 dan 34. Sebaliknya, pada *Ph. damsellae* tidak berbeda ($P > 0,05$; Lampiran 35).



Gambar 37. Globulin pada serum darah ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang terinfeksi tunggal dan koinfeksi.



Gambar 38. Titer antibodi dalam darah ikan kakap putih *Lates calcarifer* yang terinfeksi tunggal dan koinfeksi.

7. Parameter kualitas air dan infestasi *Trichodina* sp.

Parameter kualitas air yang sebagai data pendukung adalah: rerata salinitas 33,75-34,83 ppt, suhu 28-29°C, pH 7-7,42, DO 6,5-7,62 ppm, dan amonia 0,02-0,03 ppm (Tabel 26). Investigasi infestasi parasit menunjukkan prevalensi hingga 100% untuk semua ikan yang terinfeksi alami hanya pada insang. Intensitas rata-rata ektoparasit tidak berbeda secara statistik antarperlakuan (berkisar 131,13 – 209,75; $P > 0,05$) (Tabel 27).

Tabel 13. Nilai rerata parameter kualitas air selama eksperimen infeksi tunggal dan koinfeksi.

Parameter	Kode Perlakuan							
	A	B	C	D	E	F	G	H
Salinitas (ppt)	34,75	34,00	34,67	34,67	34,83	34,83	33,75	34,75
Suhu (°C)	28,33	28,00	28,33	28,33	28,33	28,33	29,00	29,00
pH	7,25	7,33	7,33	7,00	7,25	7,42	7,42	7,42
DO (ppm)	7,52	7,33	6,50	7,13	7,62	7,17	7,13	7,17
Amoniak (ppm)	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02

Tabel 14. Rerata dan simpangan baku intensitas *Trichodina* sp. pada ikan terinfeksi alami (perlakuan B, D, F, dan H)

Ikan	Kode Pperlakuan											
	B3	B2	D2	D1	B1	D3	F2	F3	H1	H3	F1	H2
1	201	123	157	196	133	139	195	145	165	146	129	162
2	213	214	116	134	108	139	189	192	129	137	122	144
3	134	156	122	237	106	165	205	205	114	118	111	127
4	125	175	145	226	160	201	198	190	122	216	132	156
5	152	154	115	214	182	158	187	189	105	138	152	141
6	167	172	215	225	101	132	165	144	166	102	114	126
7	190	146	145	215	203	123	209	176	133	115	172	214
8	122	168	129	231	129	167	149	154	116	152	117	153
Rerata Int.	163	163,5	143	209,75	140,25	153	187,12	174,37	131,25	140,5	131,13	152,88
Simpangan baku	2,52	9,32	11,60	11,70	13,37	8,87	7,23	8,36	8,08	12,33	7,43	9,86

D. Pembahasan

Sampai saat ini, laporan tentang keterkaitan komposisi bakteri dan hubungannya dengan kematian ikan akibat Protozoa Ciliata di lingkungan budidaya masih sangat terbatas. Studi ini menggabungkan beberapa indikator kesehatan seperti fisiologi, hematologi, histopatologi, dan indikator imun sebagai pendekatan inovatif untuk lebih memahami infeksi parasit Protozoa bersilia dan hubungannya dengan infeksi bakteri. Pemahaman hubungan ini dalam budidaya ikan dapat membantu praktik manajemen alternatif di sektor budidaya dan mereduksi dampak negatif akibat kerugian (Gomes et al., 2019). Investigasi simultan pada beberapa komunitas patogen dalam komoditas dan sistem akuakultur memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang interaksi mereka

dan berkontribusi pada peningkatan kesehatan hewan (Rud et al., 2016; Stentiford et al., 2017).

Pengamatan ektoparasit mengungkapkan lokasi spesifik *Trichodina* sp. yang dominan di insang kakap putih *L. calcarifer*. Temuan ini sama dengan pernyataan Mizuno et al. (2016) bahwa preferensi lokasi ektoparasit *Trichodina* sering pada bagian tubuh ikan yang terpapar langsung dengan lingkungan luar seperti insang dan permukaan tubuh. Infestasi ektoparasit baik pada perlakuan tunggal maupun koinfeksi sangat tinggi, mencapai prevalensi hingga 100% pada semua perlakuan dengan intensitas rata-rata 131,13 – 209,75. Prevalensi parasit 99-100% dengan intensitas rata-rata lebih dari 100 parasit/ikan tergolong infeksi sangat parah (William & Bunkley, 1996). Tanda-tanda klinis trichodiniasis pada ikan adalah gerakan lamban, kehilangan nafsu makan, nekrosis dan borok di berbagai bagian tubuh, sisik terlepas dan akumulasi lendir yang berlebihan di sekitar insang (Hassan, 1999).

Hasil penelitian juga menunjukkan perilaku berenang ikan yang lemah akibat infeksi bakteri patogen, yang diamati selama percobaan (Tabel 19 dan 20) dengan warna tubuh tergolong pucat. Gejala klinisnya mirip dengan hasil penelitian terdahulu oleh Triyaningsih et al. (2014), yang menemukan lesi pada permukaan tubuh dan pergerakan yang lemah pada ikan yang terinfeksi *Aeromonas*. Selain itu, tanda-tanda klinis seperti letargik, berenang lemah, dan perdarahan yang terlihat dalam penelitian ini sejalan dengan laporan sebelumnya (Chu & Lu, 2008; Shen et al., 2013; Dash et al., 2014). Gejala lain yang terlihat adalah borok pada sirip punggung dan kecenderungan untuk berenang dengan lemah baik di permukaan maupun di dasar akuarium. Zhang et al. (2018) telah melaporkan gejala klinis termasuk sirip gelap, berenang lambat, pendarahan permukaan, edema perut, dan pendarahan pada ikan yang terinfeksi *Aeromonas*.

Analisis patogenisitas bakteri menunjukkan bahwa *A. caviae* lebih mematikan daripada bakteri lain yang diuji. Temuan ini mungkin menunjukkan infeksi sekunder difasilitasi oleh parasit yang berkoloni seperti yang dijelaskan sebelumnya oleh Scott & Bollinger (2014). Uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam patogenisitas *A. caviae* pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Trichodina* sp. Hal ini menunjukkan bahwa infeksi *A. caviae* dapat menyebabkan kematian baik pada ikan yang sebelumnya sehat maupun ikan yang terinfeksi *Trichodina*. *Aeromonas* adalah salah satu bakteri patogen yang paling umum di habitat air tawar dan laut di seluruh dunia (Jagruthi et al., 2014).

Triyaningsih et al. (2014) juga melakukan uji patogenesis infeksi *Aeromonas*, menemukan bahwa suspensi dengan kepadatan $1,25 \times 10^6$ CFU/mL mengakibatkan kematian 50%. Gejala klinis ikan yang terinfeksi *A. caviae*, baik infeksi tunggal maupun koinfeksi, menunjukkan beberapa jenis kerusakan yang mencolok pada permukaan tubuh, insang, dan bola mata. Selain itu, ditemukan bercak merah pada perut di sekitar sirip dada, perut, dan dubur (Gambar 26). Pada berbagai jenis ikan hias air tawar dan air laut ditemukan penyakit seperti septikemia, rot pada sirip, borok, dan pembengkakan yang disebabkan oleh infeksi *Aeromonas* (Ye et al., 2013).

Data hematologi menunjukkan peningkatan leukosit pada ikan koinfeksi (Tabel 23), diduga merupakan bukti bahwa ikan merespons infeksi patogen dalam tubuh, yang memiliki banyak tindakan untuk melindungi diri dari serangan eksternal. Sel darah putih adalah sel pertahanan ikan dan kadarnya memiliki indikasi untuk respon imun dan kemampuan ikan untuk menghadapi infeksi patogen dan garis utama pertahanan imunologi (Tierney et al., 2004). Sel-sel ini mampu menghasilkan antibodi dan dapat melakukan aktivitas makrofag pada ikan termasuk kakap putih (Villegas & Mulero, 2014). Ketika ikan menerima induksi patogen seperti infeksi bakteri, sel *adhesi* dapat bertindak sebagai penghalang infeksi dalam tubuh (Guttman & Finlay, 2009; Howell & de Leeuw, 2018). Pertahanan non-spesifik ikan terdiri atas sel fagosit (neutrofil dan makrofag) (Robertsen et al., 1994). Makrofag memainkan peran sentral dalam pertahanan non-spesifik seluler (Dalmo & Seljelid, 1995). Selanjutnya, sel monosit dan makrofag menghasilkan prostaglandin yang memodulasi fungsi imun (Kinsella & Lokesh, 1990). Selain itu, makrofag yang diisolasi dari darah kakap putih menunjukkan kemampuan yang lebih besar untuk menelan bakteri dibandingkan dengan yang diisolasi dari kepala-ginjal (Scapigliati et al., 2002). Lebih lanjut dijelaskan bahwa limfosit bertanggung jawab untuk aktivasi dan pemeliharaan respons imun yang disesuaikan dan memediasi imunitas seluler dan humoral (Netea et al., 2005). Interaksi neutrofil dengan mikroba patogen menyebabkan aktivasi oksigen dalam membran plasma vakuola fagosit dan dianggap sebagai sistem pertahanan penting pada ikan (Biller-Takahashi et al., 2013). Hubungan positif ini dapat dikaitkan dengan efek pada modulasi bakteri sehingga mengurangi tekanan patogen (Lückstädt, 2008), sehingga mendukung mekanisme pertahanan alami ikan.

Hasil pengamatan profil darah menunjukkan peningkatan leukosit khususnya limfosit yang cukup cepat dengan proporsi monosit dan neutrofil yang lebih rendah pada ikan koinfeksi (Tabel 23). Limfosit memainkan peran sentral dalam pertahanan non-spesifik inang terutama berperan dalam memerangi infeksi patogen dalam tubuh, sehingga penting untuk mengetahui kegunaannya untuk penilaian kesehatan ikan (Alejo & Tafalla, 2011; Vallejos-Vidal et al., 2016). Hematologi dapat menjadi alat yang berguna untuk memantau status kesehatan dan diagnosis penyakit pada ikan (Shahsavani et al., 2010; Haniffa & AbdulKader Myden, 2011). Leukosit tertinggi yang dialami ikan koinfeksi kemungkinan terkait dengan kandungan protein serum. Ini bisa menjadi indikator sebagai cara diagnosis sistem pertahanan non-spesifik pada ikan, dan memainkan peran penting dalam mengenali antigen alami yang ada pada organ sistemik ikan (Uribe et al., 2011). Selanjutnya, neutrofil dianggap sebagai konstituen penting dari pertahanan inang sehingga evaluasi fungsi neutrofil berguna untuk penilaian status kesehatan ikan (Palic et al., 2005). Evaluasi fungsi neutrofil diperlukan untuk penilaian kesehatan umum ikan (Cerezuela et al., 2012), dengan berbagai aktivitas fagositosis, bakterisida, dan pernapasan. Namun, ada variasi antarindividu yang luas dalam spesies ikan di sebagian besar parameter kekebalan, termasuk aktivitas neutrofil (Sahoo et al., 2005).

Jumlah sel darah menunjukkan jumlah eritrosit terendah ditemukan pada ikan koinfeksi, sedangkan tertinggi pada ikan pada perlakuan kontrol. Sebaliknya, jumlah leukosit yang tinggi terjadi pada koinfeksi dan terendah pada ikan sehat (Tabel 23 dan Gambar 30). Gambaran darah dan penanda fisiologis dapat digunakan untuk mengenali kemungkinan bahaya lingkungan terhadap kesehatan hewan air akibat penyakit menular (Burgos-Aceves et al., 2019). Darah dalam tubuh ikan juga dikaitkan dengan kandungan protein serum dan dapat menjadi indikator peningkatan sistem kekebalan ikan, serta berperan penting dalam mengenali antigen alami yang ada di kulit, organ sistemik dan ditemukan dalam plasma ikan (Magnadottir, 2010; Uribe et al., 2011). Sistem kekebalan bawaan memberikan respons non-spesifik awal yang penting untuk melawan patogen (Kordon et al., 2018). Pemeriksaan respon imun bawaan dapat memberikan pemahaman tentang biomarker yang berguna untuk menilai status kesehatan ikan selama budidaya (Abreu et al., 2009). Kimia dan fisiologi darah merupakan parameter penting untuk mengevaluasi kondisi fisiologis umum tubuh, terutama digunakan sebagai indikator stres pada ikan (Docan et al., 2012). Faktor stres

diketahui menyebabkan menurunnya daya tahan tubuh (*imunosupresi*) pada ikan dan berperan sebagai penghambat fungsi neutrofil sebagai fagositosis khususnya pada organ sistemik ikan (Palic et al., 2005).

Di antara organ sistemik, insang adalah salah satu struktur tubuh ikan yang paling halus dan sensitif terhadap kondisi lingkungan dan patogen (Saraiva et al., 2015). Ada beberapa laporan tentang efek histopatologi yang disebabkan oleh berbagai faktor patogen pada insang ikan laut termasuk parasit. Di antara parasit insang, *Trichodina* bersilia mungkin yang paling sering terdeteksi. Pada penelitian ini, ginjal dan hati menunjukkan organ yang paling terpengaruh secara histopatologi. Ikan Teleostei tidak memiliki rongga meduler di tubuhnya sehingga ginjal berfungsi sebagai organ hematopoietik utama (Agius & Roberts, 2003). Gejala klinis dan histopatologi dalam penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya oleh Santoro et al. (2017) dan Sonia & Lipton (2012). Ginjal adalah organ penting penghasil antibodi utama pada ikan Teleostei (Geven & Klaren, 2017). Organ ini memainkan peran kunci dalam mengelola reaksi stres, yang mencakup kontak yang kuat dengan sistem saraf, kekebalan dan endokrin. Ini mengandung sitokin yang menghasilkan sel limfoid dari sistem kekebalan tubuh dan sel endokrin yang mengeluarkan hormon stres (kortisol dan katekolamin) (Tort, 2011).

Dalam penilaian kesehatan ikan, parameter histopatologi telah banyak diterapkan untuk studi perubahan patologi akibat agen infeksi sebagai penanda biologis (Forouhar et al., 2018). Pada penelitian ini, perubahan patologi tambahan akibat infeksi *Trichodina* sp. dan *A. caviae* pada kakap putih *L. calcarifer* dicatat. Dampak histopatologi pada organ ikan tercatat dalam beberapa analisis perubahan patologi jaringan yaitu insang, hati, ginjal, kulit, dan otot. Kuantifikasi kerusakan jaringan menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($P < 0,05$) antarperlakuan (Lampiran 36, 37 dan 38). Perlakuan kontrol tidak menunjukkan kerusakan yang berarti baik pada insang, ginjal, maupun hati (Gambar 32A, 32B, dan 32C). Namun organ ikan yang mengalami infeksi tunggal *Trichodina* sp. menunjukkan akumulasi sel inflamasi di insang, ginjal, dan hati. Selain itu, melano-makrofag ditemukan di ginjal dan perdarahan di hati dan insang. Organ ikan yang diinfeksi tunggal oleh *A. caviae*, terutama ginjal, mengalami berbagai jenis kerusakan, yaitu akumulasi sel inflamasi, melano-makrofag, perdarahan, dan nekrosis. Infeksi *Ph. damsela* dan *Ps. aeruginosa* seperti nekrosis dan hemoragik pada insang dan ginjal ditemukan pada hasil penelitian

ini. Penelitian terdahulu juga melaporkan infeksi *Ph. damselae* subsp. menyebabkan kerugian terbesar dalam produksi budidaya *L. calcarifer* (Afonso et al., 2005). Dilaporkan terjadi kematian ikan akibat lesi histopatologi yang khas, seperti nekrosis pembuluh darah arteri pada organ sistemik pada ginjal ikan (Kurtovic et al., 2008).

Kriteria hematologi umumnya digunakan sebagai indikator awal penilaian status kesehatan ikan dan telah terbukti dapat diandalkan untuk mengukur dampak perubahan lingkungan pada ekologi ikan (Sheikh & Ahmed, 2016). Kurtovic et al. (2008) menyatakan ginjal mengacu pada jumlah yang lebih tinggi dari pusat melano-makrofag dan atrofi glomerulus sebagai fitur umum dari ginjal ikan kakap yang rusak akibat koinfeksi mikroorganisme patogen. Kehadiran perdarahan dan nekrosis pada ikan budidaya telah dikaitkan dengan banyak bahaya mikroorganisme patogen di lingkungan perairan (Roberts, 2012). Keuntungan penggunaan fitur histopatologi sebagai biomarker pada organisme akuatik adalah mampu mengintegrasikan antara pengaruh faktor abiotik dan biotik terhadap fungsi organ dan kesehatan ikan (van Dyk et al., 2009). Selain itu, survei histopatologi pada jaringan ikan biasanya mengacu pada perubahan yang lebih serius dan jelas bahkan jika perubahan tersebut hanya ada pada beberapa spesimen. Namun, penting untuk diingat bahwa ikan yang sehat tidak ditandai dengan tidak adanya histopatologi, tetapi dapat menunjukkan gangguan struktural sedang atau reaksi inflamasi ringan (Bernet et al., 2004).

Analisis imunitas ikan menunjukkan bahwa infeksi *A. caviae* menghasilkan globulin tertinggi baik pada infeksi tunggal maupun ikan koinfeksi (Gambar 37). Selain itu, titer antibodi juga menunjukkan hasil tertinggi pada ikan setelah diinfeksi dengan *A. caviae* baik infeksi tunggal maupun ikan koinfeksi (Gambar 38). Hal ini diduga karena infeksi patogen menjadi stimulus produksi antibodi pada tubuh ikan. Protein dalam serum (albumin dan globulin) adalah elemen humoral dari sistem imun non-spesifik dan koinfeksi mungkin terkait dengan peningkatan respons imun non-spesifik pada ikan. Globulin sangat penting untuk menjaga sistem kekebalan tubuh agar tetap sehat. Gamma globulin adalah sumber dari semua protein yang diperlukan untuk fungsi kekebalan dalam darah (Wiegertjes et al., 1996). Data parameter hematologi dalam penelitian ini menunjukkan bahwa koinfeksi dapat memengaruhi pertahanan alami kakap putih karena interaksi antarmikroorganisme yang diuji. Jadi, ikan yang dibudidayakan dapat meningkatkan stres, membahayakan kompetensi kekebalan dan mengurangi kemampuan mereka

untuk memerangi infeksi, serta berujung pada terjadinya wabah penyakit (Kotob et al., 2016). Kadar globulin dan protein total secara tidak langsung mencerminkan kondisi imunitas humoral spesifik (Stosik et al., 2001), karena mereka memainkan peran penting dalam imunitas dan inflamasi dengan mengatur sitokin inflamasi (Azab et al., 2013). Namun dalam kimia klinis, total serum protein merupakan indikator terpenting dari kondisi kesehatan ikan (Yang & Chen, 2003).

Selain itu, titer antibodi merupakan cerminan dari kemampuan tubuh terhadap infeksi patogen melalui imun spesifik. Antibodi yang beredar akan menetralkan molekul antifagosit dan eksotoksin lain yang dihasilkan oleh bakteri (Skinner, 2009). Produksi antibodi dipengaruhi oleh serangan patogen, dan sel limfosit berperan dalam memproduksi antibodi dalam tubuh ikan (Rukyani et al., 1997). Sistem kekebalan sangat penting untuk pemeliharaan kesehatan dan memainkan peran kunci dalam melawan patogen. Kepala ginjal merupakan salah satu komponen utama dari sistem kekebalan. Selain itu, kepala ginjal adalah organ limfoid terkenal pada *L. calcarifer* dan sering kaya akan pusat melano-makrofag, yang mencerminkan peran yang berkaitan dengan dengan sistem kekebalan (Azad et al., 2009). Parameter kekebalan non-spesifik berguna untuk menentukan status kesehatan ikan dan untuk mengevaluasi zat imunomodulator pada ikan budidaya sebagai marker pencemaran dan resistensi penyakit (Sahoo et al., 2005).

Koinfeksi *Trichodina* sp. dan *A. caviae* berkontribusi terhadap kerusakan yang lebih parah pada ginjal dan hati (Gambar 34) daripada perlakuan infeksi tunggal, terutama akumulasi sel inflamasi dan nekrosis. Selain itu, akumulasi sel inflamasi ditemukan pada semua ikan baik pada infeksi tunggal terinfeksi koinfeksi. Secara histopatologi, kerusakan yang diamati pada permukaan tubuh dan insang ikan yang terinfeksi merupakan tanda yang jelas dari cedera akibat pembuangan racun bakteri dan sepsitemia. Selain itu, melanomakrofag yang besar mungkin menunjukkan respons defensif jaringan hematopoietik terhadap kerusakan radikal bebas yang disebabkan oleh infeksi *Aeromonas* (Kathirkaman et al., 2018). Meseguer et al. (1994) melaporkan adanya Melanomakrofag pada ginjal dan hati *L. calcarifer* akibat infeksi bakteri dan parasit. Oleh karena itu, organ ini dianggap sebagai salah satu yang berperan penting dalam respon imun pada ikan.

Dalam penelitian ini, tampaknya koinfeksi telah menyebabkan aktivasi beberapa indikator imun-fisiologis dalam profil hematologi. Jumlah leukosit dan diferensiasi leukosit seperti limfosit, monosit, dan neutrofil termasuk di antara sel-

sel pertahanan yang terlibat dalam respon imun ikan (Uribe et al., 2011). Tavares-Dias et al. (2008) menyatakan jumlah leukosit ikan merupakan salah satu cara paling dasar untuk menilai sistem kekebalan tubuh. Hal ini mendukung penjelasan Tierney et al. (2004) bahwa kuantitas dan kualitas sel leukosit umumnya digunakan untuk mengetahui reaksi imun yang disebabkan oleh penyakit. Temuan kami mengungkapkan bahwa infeksi tunggal *Trichodina* sp. hanya menghasilkan akumulasi sel inflamasi dan beberapa perdarahan, sedangkan koinfeksi dengan *A. caviae* berkontribusi pada perubahan patologi lainnya seperti peradangan, nekrosis, vakuola, melano-makrofag, dan jaringan parut. Hasil serupa dilaporkan oleh Moustafa et al. (2020) dengan nekrosis, inflamasi, dan melano-makrofag pada hati ikan nila yang ditemukan akibat infeksi *Aeromonas*. Juga, percobaan serupa pada ikan mas hitam mengungkapkan pendarahan dan kerusakan jaringan yang parah (Zhang et al., 2018). Akumulasi makrofag di ginjal dan organ sistemik lainnya dikaitkan dengan respon imun terhadap bahan patogen melalui fagositosis (Steinel & Bolnick, 2017).

Parasit Ciliata berpotensi memiliki dampak signifikan pada ikan budidaya, karena kemampuannya berkembang biak dengan cepat sebagai respons terhadap perubahan parameter lingkungan (Gomes et al., 2016). Beberapa penelitian melaporkan peningkatan kematian pada ikan koinfeksi oleh parasit dan bakteri. Misalnya koinfeksi yang disebabkan oleh *Trichodina* sp. dan bakteri patogen menyebabkan kematian serius pada nila hibrida *Oreochromis niloticus* (Xu et al., 2015), kemungkinan karena kerusakan fisik epitel oleh parasit dan memfasilitasi infeksi bakteri sekunder (Kotob et al., 2016). Pada dasarnya, koinfeksi parasit dan bakteri patogen telah memengaruhi kesehatan ikan seperti yang dilaporkan oleh Xu et al. (2014). Studi ini membuktikan pengaruh perubahan patologi pada hubungan yang kuat antarmikroorganisme. Penurunan imunitas juga diduga berperan penting dalam respon fisiologis tubuh ikan. Telah dijelaskan koinfeksi ektoparasit dan bakteri dapat memengaruhi peningkatan yang signifikan dalam kematian, kerusakan pada permukaan tubuh. Studi lain telah melaporkan keparahan gejala penyakit yang disebabkan oleh koinfeksi bakteri dan ektoparasit pada ikan rainbow trout (Bandilla et al., 2006), nila (Xu et al., 2009), dan salmon Atlantik (Lhorente et al., 2014).

E. Kesimpulan

Penelitian ini mengungkapkan bahwa infeksi tunggal *Trichodina* sp. mengakibatkan akumulasi sel inflamasi dan hemoragi yang rendah di beberapa

organ. Sementara itu, koinfeksi *Trichodina* sp. dan bakteri patogen berkontribusi terhadap kerusakan parah yang terlihat melalui profil darah dan histopatologi organ sistemik ikan. *A. caviae* merupakan bakteri yang paling letal dibandingkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Photobacterium damsela*. Evaluasi imunitas ikan menunjukkan produksi titer antibodi tertinggi pada ikan koinfeksi dengan *A. caviae*. Sebaliknya, globulin lebih tinggi pada infeksi tunggal dengan *A. caviae*.

VI. PEMBAHASAN UMUM

Pertumbuhan populasi manusia menyebabkan peningkatan permintaan ikan, untuk memenuhi kebutuhan protein hewani. Hal tersebut menjadikan negara-negara penghasil ikan, perusahaan, dan nelayan atau pembudidaya untuk meningkatkan produksi ikan di seluruh dunia, sehingga memicu intensifikasi budidaya. Menurut Dey et al. (2008), Negara-negara Asia memasok 60% produksi ikan dunia, dimana 13% dari pengeluaran digunakan untuk membeli pangan berupa ikan. Pertumbuhan penduduk terus meningkat menyebabkan produksi perikanan baik dari penangkapan maupun budidaya akan menjadi semakin penting di masa depan (Sadovy et al., 2012). Indonesia memainkan peran penting dalam penyediaan ikan budidaya di Asia (Lau & Parry-Jones, 2000; Pet-Soede et al., 2004; Johnston & Yeeting, 2006).

Namun, intensifikasi sektor budidaya memiliki beberapa kendala dan dampak yakni dari segi menurunnya kesehatan ikan yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, jamur, parasit akibat stres dan faktor kondisi yang kurang optimal (Zafran et al., 1998; Koesharyani et al., 2001; Bondad-Reantaso et al., 2005). Hal ini menyebabkan ikan rentan terinfeksi penyakit dan menimbulkan masalah yang serius serta kerugian bagi para pembudidaya. Dilaporkan bahwa masalah utama yang sering dihadapi oleh pembudidaya ikan, baik air laut maupun air tawar di Indonesia, adalah serangan penyakit (Rahayu et al., 2013). Faktor yang berperan dalam timbulnya suatu penyakit adalah faktor internal dan eksternal. Faktor internal merupakan faktor yang berasal dari lingkungan dalam seperti gangguan genetik, kekebalan, dan metabolisme tubuh. Faktor eksternal yang memengaruhi penyakit bersifat patogen adalah parasit, virus, jamur, dan bakteri, sedangkan non-patogen disebabkan oleh suhu, kualitas air, pH, gas beracun dan nutrisi (Bondad-Reantaso et al., 2005). Serangan parasit dan bakteri dapat menimbulkan gangguan kesehatan dan menyebabkan kerugian besar bagi pembudidaya, antara lain kematian massal terutama pada benih dan larva, penurunan bobot, serta rendahnya fekunditas (Gunawan et al., 2011).

Indonesia sebagai pusat keanekaragaman parasit di dunia kemungkinan memiliki lebih banyak spesies agen infeksi penyebab penyakit yang belum dilaporkan atau dideskripsikan (Sorvillo et al., 2002). Penyakit ikan yang terjadi akibat infeksi parasit biasanya menyebabkan kerusakan pada permukaan tubuh ikan sehingga agen penyakit lain seperti jamur, bakteri, dan virus, akan lebih

mudah terpapar pada ikan yang telah terinfeksi parasit tersebut. Utami et al. (2014) melaporkan bahwa parasit yang sering menginfeksi ikan budidaya laut adalah dari kelompok cacing dan Protozoa. Umasugi & Burhanuddin (2015) menjelaskan tentang infeksi Protozoa pada budidaya kerapu dengan prevalensi >50%. Sebaliknya, Hadiroseyani et al. (2006) melaporkan infeksi parasit cacing dengan prevalensi hingga 100% dan intensitas mencapai lebih dari 50 parasit/ikan pada insang ikan yang berasal dari Bogor. Infeksi parasit pada ikan juga dapat berdampak pada ekosistem laut dan sumber daya hayati (Buchman & Bresciani, 2001). *Gyrodactylus* adalah salah satu cacing Monogenea yang ditemukan menginfeksi ikan, tersebar luas, dan memengaruhi banyak spesies ikan di dunia. Sebagai patogen ikan yang penting, *Gyrodactylus* dilaporkan dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang signifikan dalam industri akuakultur. Selain itu, *Gyrodactylus* berpotensi membahayakan populasi ikan liar (Bakke et al., 2007). Parasit cacing ini mampu merusak jaringan ikan karena kemampuannya menembus sel epidermis inang. Selain itu, organ perlekatan dan borok yang dihasilkan oleh pencernaan enzimatik mengakibatkan hilangnya integritas osmotik epidermis, yang tampaknya menjadi penyebab utama kematian ikan (Tu et al., 2015).

Hasil pengamatan infestasi parasit (Bab 2) menunjukkan cenderung peningkatan infeksi seiring dengan bertambahnya ukuran ikan. Hal ini serupa dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya (Alifuddin et al., 2013; Maulana et al., 2017). Laporan terdahulu banyak yang menganggap bahwa ikan yang lebih besar akan lebih tahan terhadap serangan parasit, baik melalui pengamatan sampel dari alam atau dari hasil eksperimen. Hal itu berkaitan dengan sistem imun yang lebih baik pada ikan dewasa dibandingkan ikan kecil atau larva (Su, 1993; Martins et al., 2010). Parasitisme khususnya *Trichodina* dapat menyebabkan lesi pada inangnya sebagai akibat dari proliferasi yang cepat. Perubahan patologi seperti hiperplasia lamela sekunder (Yemmen et al., 2010; Yemmen et al., 2011), pengelupasan seluler, fusi lamela (Abdel-Baki et al., 2011), pembengkakan subepitel dengan perpindahan epitel lamela sekunder (Valladão et al., 2014) dan nekrosis insang (Yemmen et al., 2011) umumnya terkait dengan trichodiniasis. Parasit ini sering dikaitkan dengan lesi pada permukaan tubuh yang menyebabkan infeksi sekunder seperti bakteri oportunistik dan menyebabkan kematian (Khan, 2009; Valladão et al., 2014).

Selain parasit, infeksi penyakit bakterial juga sering ditemukan menyerang komoditas ikan budidaya. Telah banyak dilaporkan bahwa umumnya bakteri patogen ikan yakni golongan gram negatif, seperti *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Flexibacter* sp., dan *Vibrio* sp. Bakteri-bakteri ini hampir selalu ditemukan dan hidup di air kolam, di permukaan tubuh ikan, dan pada organ-organ tubuh bagian dalam ikan. Pencegahan infeksi bakteri ini terletak pada pengelolaan kualitas air yang baik sehingga ikan terhindar dari stres. Laporan lain menyatakan bahwa ikan budidaya dilaporkan sering terserang bakteri seperti *Aeromonas hydrophilla*, *Aeromonas salmonicida*, dan, *Sphingomonas*, *Pseudomonas fluorescens* (Sari, 2011). Komunitas bakteri pada hewan akuatik diduga memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan dan kemampuan bertahan hidup inang. Pada ikan, mikrobiota dilaporkan dapat berpengaruh hingga pada ekspresi gen inangnya, terutama yang berperan dalam imunitas dan nutrisi (Widya et al., 2016). Timbulnya wabah penyakit ikan dapat dikaitkan dengan penekanan sistem kekebalan ikan (Moustafa et al., 2020).

Secara umum, studi koinfeksi parasit dan bakteri mengungkapkan pengaruh terhadap kesehatan ikan budidaya. Data histopatologi, hematologi, dan imunitas ikan menunjukkan peningkatan keparahan penyakit akibat koinfeksi parasit dan bakteri (Bab 5). Sinergi serupa antara bakteri dan parasit yang meningkatkan keparahan gejala penyakit dilaporkan di banyak tempat (Lhorente et al., 2014; Figueroa et al., 2017; Vasemägi et al., 2017). Studi terbaru membuktikan pengaruh perubahan patologi pada hubungan yang kuat antarmikroorganisme. Penurunan imunitas juga diduga berperan penting dalam respon fisiologis tubuh ikan. Sistem kekebalan bawaan menyediakan wadah pertahanan pertama melawan patogen yang menyerang melalui pengenalan patogen potensial (Eggestol et al., 2018). Tkachenko et al. (2014) menggambarkan efek dari infeksi bakteri patogen pada jaringan inang sebagai bagian yang terkait dengan induksi stres. Kehadiran beberapa patogen dilaporkan dapat memengaruhi kesehatan ikan budidaya terkait wabah penyakit, sementara infeksi patogen secara simultan pada ikan budidaya dapat menambah keparahan penyakit (García-Rosado et al., 2007).

Seringkali dalam beberapa kasus infeksi, satu patogen mengubah respon imun dari inang yang memungkinkan patogen lain untuk membangun infeksi baru yang menyebabkan kematian pada ikan yang terkena (Telfer et al., 2008). Dijelaskan bahwa interaksi antara agen infeksi secara simultan juga menghasilkan kerentanan yang sangat beragam pada ikan budidaya (Cox, 2001). Penelitian ini

menjelaskan bahwa infeksi tunggal *Trichodina* sp. menyebabkan inflamasi yang rendah pada jaringan target. Telah dilaporkan bahwa kerusakan yang paling banyak disebabkan oleh parasit adalah inflamasi dan nekrosis sel epidermis (Hassan, 1999). Sementara itu, koinfeksi parasit dan bakteri menyebabkan kerusakan parah yang terindikasi dari histopatologi dan hematologi (Bab 5). Bakteri *A. caviae* menunjukkan patogenisitas yang lebih besar setelah eksperimen koinfeksi dibandingkan infeksi tunggal *Trichodina* atau infeksi tunggal bakteri lainnya.

VII. KESIMPULAN UMUM DAN REKOMENDASI

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ikan laut yang berasal dari beberapa fasilitas budidaya di Indonesia telah terinfeksi oleh dua jenis ektoparasit yakni *Gyrodactylus* sp. pada ikan giru dan *Trichodina* sp. pada kakap putih dan kerapu hibrid. *Trichodina* merupakan parasit Ciliata yang umum pada ikan budidaya dan menyebabkan penyakit gatal-gatal di permukaan tubuh atau kulit ikan. Sebaliknya, *Gyrodactylus* adalah cacing Monogenea yang dilaporkan sangat patogen pada ikan karena mampu menembus epitel kulit inang. Kedua ektoparasit ini diketahui dapat menyebabkan infeksi sekunder yang lebih berbahaya pada ikan. Identifikasi bakteri menunjukkan ikan budidaya laut terinfeksi oleh 12 jenis bakteri yang didominasi oleh bakteri basil dan berspora. Ini merupakan golongan bakteri paling melimpah di perairan dan memiliki ketahanan yang kuat sehingga dapat hidup di berbagai relung. Selain itu deteksi Iridoviridae menunjukkan hasil negatif.
2. Tingkat infeksi parasit pada tiga lokasi budidaya tergolong sangat parah berdasarkan prevalensi. Berdasarkan intensitas, infeksi parasit pada ikan dari Situbondo tergolong sangat parah, namun ikan dari Takalar dan Gondol tergolong infeksi sedang. Selain itu, pola tingkat infeksi parasit secara umum cenderung lebih tinggi pada ikan dengan ukuran yang lebih besar. Tingkat infeksi parasit yang tinggi diduga terkait faktor kondisi yakni ikan yang cenderung stres menyebabkan ketahanan tubuh menurun, sehingga mudah terinfeksi oleh patogen. Selain itu, bakteri *A. caviae* merupakan yang paling mematikan dibandingkan bakteri uji lainnya.
3. Ikan sehat berukuran 2-6 cm merupakan kelompok yang paling banyak terinfeksi oleh *Trichodina* dibandingkan ukuran <2 cm dan >10 cm, setelah dikohabitasi dengan ikan yang terinfeksi ukuran 6-10 cm. Selain itu, insang kiri merupakan organ yang paling banyak terinfeksi. Pola ini diduga erat kaitannya dengan ukuran dan imunitas ikan, yakni ukuran ikan yang lebih besar sangat mungkin memiliki sistem pertahanan dan imunitas yang lebih baik daripada ikan dengan ukuran yang lebih kecil, sehingga ukuran >10 cm memiliki tingkat infeksi parasit yang rendah. Lama pemaparan juga berpengaruh terhadap infestasi parasit, sehingga tingkat infeksi *Trichodina* meningkat dari pekan pertama hingga pekan terakhir percobaan.

4. Profil darah kakap putih menunjukkan lebih banyak peningkatan jenis leukosit pada koinfeksi dibandingkan infeksi tunggal, yang merupakan salah satu indikator bahwa tubuh ikan merespon serangan patogen melalui respon imun non spesifik. Selanjutnya fisiologis ikan umumnya mengalami kekurangan nafsu makan, berenang lemah dan pergerakan operkulum yang cepat setelah koinfeksi.
5. Secara histopatologi, infeksi tunggal menyebabkan kerusakan yang ringan, sedangkan koinfeksi berkontribusi terhadap kerusakan yang lebih parah. Hal ini jelas merupakan dampak dari infeksi simultan *Trichodina* dan bakteri patogen sehingga jaringan ikan mengalami berbagai kerusakan.
6. Titer antibodi dan globulin dalam serum darah ikan kakap putih menunjukkan nilai tertinggi setelah infeksi dengan bakteri *A. caviae* baik secara tunggal maupun koinfeksi, dibandingkan perlakuan infeksi lainnya. Dalam hal ini koinfeksi *Trichodina* dan bakteri patogen menyebabkan produksi antibodi ikan meningkat, yang merupakan indikator bahwa respon imun spesifik ikan bekerja melawan infeksi patogen.

B. Rekomendasi

Berdasarkan hasil penelitian, maka dianggap perlu memberikan beberapa rekomendasi sebagai berikut:

1. Untuk mendorong keberhasilan budidaya ikan, perlu perhatian yang lebih terhadap riset yang terkait dengan infeksi simultan beberapa komunitas patogen pada ikan, karena hal ini masih sangat jarang dilakukan di Indonesia, khususnya pada budidaya laut.
2. Diperlukan riset yang lebih komprehensif terkait koinfeksi pada beberapa komoditas penting untuk menunjang keberhasilan produk perikanan budidaya di Indonesia, baik air tawar maupun air laut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aziz, M., Eissa, AE., Hanna, M., & Okada, MA. 2013. Identifying some pathogenic *Vibrio/Photobacterium* species during mass mortalities of cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from some Egyptian coastal provinces. *International J. Vet Sci and Med.* 1: 87-95
- Abdel-Baki, AS., Sakran, T., Fayed, H., & Zayed, E. 2011. *Trichodina fahaka* (Ciliophora: Peritrichia) in *Tetradon fahaka* from Nile River, Egypt: seasonality and histopathology. *Sci. Res and Essays.* 6(7): 1583-1587.
- Abdel-Latif, HMR., Dawood, MAO., Menanteau-Ledouble, S., & El-Matbouli, M. 2020. The nature and consequences of co-infections in tilapia: A review. *J. Fish Dis.* 43: 651-664. DOI: 10.1111/jfd.13164
- Abdel-Meguid, 2001. Trichodiniasis as a cause of mortality among infected *Tilapia zillii* with special emphasis on its control using Earthtec. *Egypt J. Aq. Bio. Fish.* 5: 95-104
- Abreu, JS., Marzocchi-Machado, CM., Urbaczek, AC., Fonseca, LM., & Urbinati, EC. 2009. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). *Braz. J. Biol.* 69(4): 1133-1139.
- Adel, M., Safari, R., Yaghoubzadeh, Z., Fazli, H. & Khalili, E. 2016. Parasitic infection in various stages life of cultured *Acipenser persicus*. *Vet. Res. Forum.* 7(1): 73-77.
- Adou, Y., Blahoua, K., Yao, S., & N'Douba, V. 2017. Spatial distribution of two gill monogenean species from *Sarotherodon melanotheron* (Cichlidae) in man-made Lake Ayamé 2, Côte d'Ivoire. *J. Biol. Environ. Sci.* 10: 35-44.
- Afonso, A., Gomes, S., da Silva, J., Marques, F., & Henrique, M. 2005. Side effects in seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) due to intraperitoneal vaccination against vibriosis and pasteurellosis. *Fish Shellfish Immunol.* 19: 1-16.
- Agius, C., & Roberts, RJ. 2003. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. *J. Fish. Dis.* 26: 499-509.
- Alejo, A., & Tafalla C. 2011. Chemokines in teleost fish species. *Dev. Comp. Immuno.* 35: 1215 -1222. DOI: 10.1016/j.dci.2011.03.011.
- Alifuddin, MY., Hadiroseyani, I., & Ohoiulun. 2007. Parasit pada ikan hias air tawar (ikan cupang, guppy dan rainbow). *J. Akua. Ind.* 2(2): 93-100.
- Anggraini, N., Adawiah, SW., Br Ginting, DN., & Marpaung, S. 2019. Analisis spasial kesesuaian budidaya kerapu berbasis data penginderaan jauh (studi kasus: Pulau Ambon Maluku). *J. Peng. Jauh dan Peng. Data Cit. Dig.* 16(2): 113-122.
- Anshary, H. 2016. *Parasitologi Ikan (Biologi, Identifikasi dan Pengendaliannya)*. Penerbit Deepublish, Yogyakarta.

- Arpia, RY., Tritawani, R., & Elvyra. 2012. Jenis-Jenis Parasit pada Ikan Baung (*Mystus nemurus*) dari Perairan Sungai Siak Rumbai. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Pekanbaru.
- Arthur, JR., Margolis, L., Whitaker, DJ. & McDonald, TE. 1982. A quantitative study of economically important parasites (*Theragra chalcogramma*) from British Columbian waters and effects of postmortem handling on their abundance in the musculature. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 39: 710-726.
- Asdary, M., Prastowo, D., Yuliana., & Kusumaningrum, I. 2019. Pembesaran kakap putih (*Lates calcalifer*) dengan sistem resirkulasi *raceway*. J. Per. Budidaya Air Payau dan Laut. 14: 64-70.
- Ashari, C., Tumbol, RA., & Kolopita, MEF. 2014. The diagnosis of bacterial disease in tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured on fixed net cage in Lake Tondano. J. Aqu. 2(3): 24-30.
- Asia-Pacific Economic Cooperation, 2013. Training Modules on Food Safety Practices for Aquaculture. Michigan State University and the World Bank Group.
- Asmanelli, Yuliansyah, H., & Muchari, 1993. Penyakit ikan laut di lokasi keramba jaring apung di kepulauan Riau. [Marine fish diseases in floating net cages in Riau Archipelago]. In: Proceeding of Coastal Fisheries Aquaculture Conference. Maros, pp. 13-24
- Assal N., & Lin, M. 2021. PCR procedures to amplify GC-rich DNA sequences of *Mycobacterium bovis*. J. Micro. Meth. 181: 1-23.
- Austin, B., & Austin DA. 1999. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Farm and Wild Fish. 3rd (revised) edition. Springer-Praxis, Goldaming.
- Austin, B., & Austin, DA. 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish, Fourth ed. Praxis Publishing, United Kingdom, XXVIII+, pp. 552.
- Azab, B., Kedia, S., & Shah, N. 2013. The value of the pretreatment albumin/globulin ratio in predicting the long-term survival in colorectal cancer. Int. J. Col. Dis. 28: 1629-1636. <https://doi.org/10.1007/s00384-013-1748-z>.
- Azad, IS., Tirunavukkarasu, AR., Kailasam, M., Subburaj, R., & Rajan, JJS. 2009. Ontogeny of lymphoid organs in the Asian sea bass (*Lates calcarifer*, Bloch). Asian Fish. Sci. 22(3): 901-913.
- Badan Pusat Statistik, 2020. Produksi perikanan Indonesia. <https://statistik.kkp.go.id/home.php?m=total&i=2> (Diakses pada 30 Juni 2021, pukul 19.00 WITA)
- Bakaletz, LO. 2004. Developing animal models for polymicrobial diseases. Nat. Rev. Microbiol. 2: 552-568
- Bakke, TA., Cable, J., & Harris, PD. 2007. The biology of gyrodactylid monogeneans: the "Russian-doll killers". Adv. in Par. 64: 161-376.

- Bakke, TA., Harris, PD., & Cable, J. 2002. Host specificity dynamics: observations on gyrodactylid monogeneans. *Int. J. Par.* 32: 281-308
- Bakke, TA., Harris, PD., Jansen, PA., & Hansen, LP. 1992. Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Dis. of Aqu. Org.* 13: 63-74.
- Balai Perikanan Budidaya Laut Ambon, 2016. Budidaya Ikan Hias Clown. Program Pengembangan Sumberdaya Perikanan BPBL, Ambon.
- Balai Perikanan Budidaya Laut Batam, 2014. Penyakit Infeksi Pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Balebona M. C., Zorrilla I., Morinigo MA., & Borrego JJ. 1998. Survey of bacterial pathologies affecting farmed Gilthead seabream (*Sparus aurata*) in southern Spain from 1990 to 1996. *Aqua.* 166: 19-35.
- Bandilla, M., Valtonen, ET., Suomalainen, LR., Aphalo, PJ., & Hakalahti, T. 2006. A link between ectoparasite infection and susceptibility to bacterial disease in rainbow trout. *Int. J. for Par.* 36(9): 987-991. DOI: 10.1016/j.ijpara.2006.05.001
- Basson, L., Van As, JG., & Fishelson, L. 1990. A new species of *Trichodina* (Ciliophora: Peritrichia) from the intestine of the surgeonfish *Acanthurus xanthopterus*. *Int. J. for Par.* 20(6): 785-787
- Ben, KA., Chaieb, K, Besbes, A., Zmantar, T., & Bakhrouf, A. 2006. Virulence and enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR of *Vibrio alginolyticus* strains isolated from Tunisian cultured gilthead sea bream and sea bass outbreaks. *Vet. Microbiol.* 117(2-4): 321-7.
- Bernet, D., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., & Burkhardt-Holm, P. 2004. Evaluation of two monitoring approaches to assess effects of waste water disposal on histological alterations in fish. *Hydrobio.* 524: 53-66.
- Biller-Takahashi, JD., Gimbo, RY., & Takahashi, LS. 2013. Leukocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Braz. J. Biol.* 73(2): 1-5.
- Blahoua, KG., Adou, YE., Etilé, RND., & N'Douba, V. 2019. Microhabitats preference of *Cichlidogyrus berrebi*, *C. kothiasi* and *C. pouyaudi* (Monogenea: Ancyrocephalidae) on the gills of *Tylochromis jentinki* from Ebrié Lagoon, Côte d'Ivoire. *Life Sci. J.* 16: 72-78.
- Boeger, WA., Kritsky, DC., Patella, L., & Bueno-Silva, M. 2020. Phylogenetic status and historical origins of the oviparous and viviparous gyrodactylids (Monogeneoidea, Gyrodactylidea). *Zool. Scripta.* 50: 112-124.
- Bondad-Reantaso, MG., Subasinghe, RP., Arthur, JR., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z., & Shariff, M. 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet. Par.* 132: 249-272.

- Borrego, JJ., Valverde, EJ., Labella, AM., & Castro, D. 2015. Lymphocystis disease virus: Its importance in aquaculture. Rev. in Aq. 9(2): 1-15. Doi: 10.1111/raq.12131
- Botella, S., Pujalte, MJ., Macian, MC., Ferrus, MA., & Hernandez, J. 2002. Amplified fragment length polymorphism (AFLP) and biochemical typing of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*. J. Appl. Microbiol. 93(4): 681-688.
- Bottonee, EJ. 2010. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. Clin. Micr. Rev. 23: 382-398.
- Bowden, TJ., Thompson, KD., Morgan, AL., Gratacap, RML., & Nikoskelainen, S. 2007. Seasonal variation and the immune response, a fish perspective. Fish Shellfish Immuno. 22:695-706.
- Bowers, JM., Mustafa, A., Speare, DJ., Conboy, GA., Brimacombe, M., Sims, DE., & Burka, JF. 2000. The physiological response of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., to a single experimental challenge with sea lice, *Lepeophtheirus salmonis*. J. Fish Dis. 23(3): 165-172. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2000.00225.x>
- Bradley, JE., & Jackson, JA. 2008. Measuring immune system variation to help understand host-pathogen community dynamics. Parasitol. 135(7): 807-823. <https://doi.org/10.1017/s0031182008000322>
- Brichler, S., Gal, FL., Butt, A., Chevret, S., & Gordien, E. 2013. Commercial real-time reverse transcriptase PCR assays can underestimate or fail to quantify hepatitis D virus viremia. Clin. Gastr. Hepatol. 11(6): 734-4.
- Buchmann, K. 2020. Immune response to *Ichthyophthirius multifiliis* and role of IgT. Parasite Immunol. 48(8): e12675. <https://doi.org/10.1111/pim.12675>
- Buchmann, K., & Bresciani, J. 2001. An Introduction to Parasitic Disease of Freshwater rout, Denmark. DSR Publications, Delhi.
- Buchmann, K., & Uldal, A. 1994. Effects of the eye fluke infections on the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in a mariculture system. Bulletin of the Eur. Assoc. of Fish Path. 14: 104-07.
- Budd, J. 2015. Journal of fish diseases (reviewed). Canadian J. Comp. Med. 42(4): 267-271.
- Buffie, CG., & Pamer, EG. 2013. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. Nat. Rev. Immunol. 13: 790-801. <https://doi.org/10.1038/nri3535>
- Burgos-Aceves, MA., Cohen, A., Smith, Y., & Faggio, C. 2018. MicroRNAs and their role on fish oxidative stress during xenobiotic environmental exposures. Ecot. Env. Saf. 148: 995-1000.
- Bush, AO., Lafferty, KD., Lotz, JM., & Shostak, AW. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J. Parasitol. 83: 575-583.

- Candan, A., Ang-Kucker, M., & Karatas, S. 1996. Pasteurellosis in cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Turkey. Bull. Eur. Assoc. of Fish Path. 16: 150-153.
- Cano, I., Ferro, P., Alonso, M.C., Bergmann, SM., Oberdorfer, AM., Rosado, EG., Castro, D., & Borrego, JJ. 2007. Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus in different marine fish Species. J. App. Microb. 102(1): 32-40.
- Cappuccino, JG., & Sherman, N. 1987. Microbiology: A Laboratory Manual. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California, 477 p.
- Carey, AF., & Carlson, JR. 2011. Insect olfaction from model systems to disease control. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108: 12987-12995
- Cerezuela, R., Guardiola, FA., González, P., Meseguer, J., & Esteban, MÁ. 2012. Effects of dietary *Bacillus subtilis*, *Tetraselmis chuii*, and *Phaeodactylum tricornutum*, singularly or in combination, on the immune response and disease resistance of sea bream (*Sparus aurata* L.). Fish Shell Immuno. 33: 342-349.
- Chaisson, KE., & Hallem, EA. 2012. Chemosensory behaviors of parasites. Trends in Parasitol. 28(10): 427-436
- Chatterjee, S., & Haldar S. 2012. Vibrio related disease in aquaculture and development of rapid and accurate identification methods. Journal of Marine Science: Res. Dev. 2: 2155-9910, DOI: 10.4.172/2155-9910.S1-002.
- Christison, KW., Shinn, AP., & van As, JG. 2005. *Gyrodactylus thlapi* n.sp. (Monogenea) from *Pseudocrenilabrus philander philander* (Weber) (Cichlidae) in the Okavango Delta, Botswana. Sys. Parasitol. 60: 165-173.
- Chu, WH., & Lu, CP. 2008. In vivo fish models for visualizing *Aeromonas hydrophila* invasion pathway using GFP as a biomarker. Aqua. 277(3-4): 15-25.
- Ciulli, S., Pinheiro, ACDAS., Volpe, E., & Moscato, M. 2015. Development and application of a real-time pcr assay for the detection and quantitation of Lymphocystis disease virus. J. Virol. Meth. 213: 164-173
- Colquhoun, DJ., & Duodu, S. 2011. *Francisella* infections in farmed and wild aquatic organisms. Vet. Res. 42(1): 47. DOI: 10.1186/1297-9716-42-47.
- Cone, DK., Appy, R., Baggett, L., King, S., Gilmore, S., & Abbott, C. 2013. A new gyrodactylid (Monogenea) parasitizing bay pipefish (*Syngnathus leptorhynchus*) from the Pacific Coast of North America. J. Parasitol. 99: 183-188.
- Cox, FEG. 2001. Concomitant infections, parasites and immune responses. Parasitol. 122: S23-S38

- Cui, Y., Martlbauer, E., Dietrich, R., Luo, H., Ding S., & Zhu, K. 2019. Multifaceted toxin profile, an approach toward a better understanding of probiotic *Bacillus cereus*. *Crit. Rev. Tox.* 49(4): 342-356.
- Dalmo, RA., & Seljelid, R. 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminaran [$\beta(1,3)$ -D-glucan] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., macrophages in vitro. *J. Fish Dis.* (2): 175-85.
- Dar, SA., Kaur, H., Chishti, MZ., Ahmad, MZF., Tak, IUR., & Dar, GH. 2016. First record of protozoan parasites in cyprinid fish, *Schizothorax niger* Heckel, 1838 from Dal Lake in Kashmir Himalayas with study on their pathogenesis. *Mic. Path.* 93: 100-104.
- Darmono, 2014. Penyakit virus pada hewan aquatik. [https:// www. scribd. com/document/ 246415725/Virus-Pada-Hewan-Aquatik](https://www.scribd.com/document/246415725/Virus-Pada-Hewan-Aquatik) (Diakses Pada 5 Januari 2021, Pukul 08.00 WITA).
- Dash, P., Sahoo, PK., Gupta, PK., Garg, LC., & Dixit, A. 2014. Immune responses and protective efficacy of recombinant outer membrane protein R (rOmpR)-based vaccine of *Aeromonas hydrophila* with a modified adjuvant formulation in rohu (*Labeo rohita*). *Fish Shellfish Immunol.* 39(2): 512-23.
- Declercq, AM., Haesebrouck F., Van-den-Broeck W., Bossier P., & Decostere A. 2013. Columnaris disease in fish, a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Vet. Res.* 44: 27. <https://doi.org/10.1186/1297-9716-44-27>.
- de Moraes, J. 2015. Natural products with antischistosomal activity. *Future Med. Chem.* 7(6): 801-820.
- Deng, Q., Guo, QX., Zhai, YH., Wang, Z., & Gu, ZM. 2015. First record of *Chilodonella piscicola* (Ciliophora, Chilodonellidae) from two endangered fishes, *Schizothorax o'connori* and *Oxygymnocypris stewartii* in Tibet. *Parasitol. Res.* 114: 3097-3103.
- Dey, MM., Garcia, YT., Kumar, P., Piumsombun, S., Haque, MS., Li, L., Radam, A., Senaratne, A., Khiem, NT., & Koeshendrajana, S. 2008. Demand for fish in Asia: a cross-country analysis. *Aust. J. Agric. Resour. Econ.* 52: 321-338.
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 2020. Panen kakap putih pertama di Demak. <https://kkp.go.id/djpb/bbpapjepar/> (Diakses pada 10 Juni 2021, pukul 20.00 WITA)
- Docan, A., Cristae, V., Dedin, L., & Grecu, I. 2012. Studies of European catfish (*Silurus glanis*) leucocytes reaction in condition of rearing in flow-thru aquaculture. *Luc. Stiin. Zoot.* 53: 417-423.
- Dong, HT., Jitrakorn, S., Kayansamtuj, P., Pirarat, N., Rodkum, C., Rattanajpong, T., Senapin, S., & Saksmerprome. 2017. Infectious spleen and kidney necrosis disease (ISKND) outbreaks in farmed barramundi (*Lates calcarifer*) in Vietnam. *Fish Shellfish Immunol.* 68: 65-73.
- Drucker, EG., & Lauder, GV. 2003. Function of pectoral fins in rainbow trout: Behavioral repertoire and hydrodynamic forces. *J. Exp. Biol.* 206: 813-826.

- Eggestol, HO., Lunde, HS., Ronneseth, A., Fredman, D., Petersen, K., Mishra, CK., Furmanek, T., Colquhoun, DJ., Wergeland, HI., & Haugland, GT. 2018. Transcriptome-wide mapping of signaling pathways and early immune responses in lumpfish leukocytes upon in vitro bacterial exposure. *Sci. Rep.* 8: 52-61.
- El-Matbouli, M., & Hoffmann, R. 1989. Experimental transmission of two *Myxobolus* spp. developing bisporogeny via tubificid worms. *Parasitol. Res.* 15: 461-464.
- El-Naggar, MM., El-Naggar, AM., & Kearns, GC. 2004. Swimming in *Gyrodactylus rysavyi* (Monogenea: Gyrodactylidae) from the Nile catfish *Clarias gariepinus*. *Acta. Parasitol.* 49: 102-107.
- Eroldoğan, OT., Elsabagh, M., Emre, Y., Turchini, GM., Yılmaz, HA., Eraslan, D., Emre, N., & Evliyaoğlu, E. 2018. Circadian feeding schedules in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A comparative approach towards improving dietary fish oil utilization and n-3 LC-PUFA metabolism. *Aqua.* 495: 806-814. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.070>
- Espinosa, C., Esteban, MA., & Cuesta, A. 2019. Dietary administration of PVC and PE microplastics produces histological damage, oxidative stress and immunoregulation in European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) *Fish and Shellfish Immunol.* 95: 574-583. DOI: doi.org/10.1016/j.fsi.2019.10.072
- Eszterbauer, Sipos, D., Szakály, A., & Herczeg, D. 2019. Distinctive site preference of the fish parasite *Myxobolus Cerebralis* (Cnidaria, Myxozoa) During Host Invasion. *Acta. Vet. Hungarica.* 67(2): 212-223. DOI: 10.1556/004.2019.023
- Fajriani, B., Budiharjo, A., & Pujiyanto, S. 2018. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri antagonis terhadap *Vibrio parahaemolyticus* patogen pada udang *Litopenaeus vannamei* dari Produk probiotik dan sedimen mangrove di Rembang. *J. Biol.* 7(1): 52-63.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT. Raja Grafindo Persada, Jakarta, Indonesia. 199 p.
- Fauzy, A., Tarsim & A. Setyawan. 2014. Histopatologi organ kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan infeksi *Vibrio alginolyticus* dan jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai imunostimulan. *J. Rek. Tek. Bud. Per.* 3(1): 321-326.
- Figueroa, C., Bustos, P., Torrealba, D., Dixon, B., Soto, C., Conejeros, P., & Gallardo, JA. 2017. Coinfection takes its toll: sea lice override the protective effects of vaccination against a bacterial pathogen in Atlantic salmon. *Sci. Rep.* 7(1): 17817 pp.
- Firdaus-Nawi, M., Yusoff, SM., Yusof, H., Abdullah, SH., & Zamri-Saad, M. 2013. Efficacy of feed-based adjuvant vaccine against *Streptococcus agalactiae* in *Oreochromis* spp. in Malaysia. *Aqua. Res.* 45(1): 87-96. DOI:10.1111/j.1365-2109.2012.03207.x

- Foissner, W. 2014. An update of 'basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64: 271-292.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2017. World aquaculture 2015: A brief overview, by Rohana Subasinghe. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1140. Rome, Italy.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2020a. Text by Rimmer, M. A., Cultured aquatic species information programme, *Lates calcarifer* (Block, 1790). In: FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Lates_calcarifer/en.
- Food and Agriculture Organization (FAO), 2020b. The State of World Fisheries and Aquaculture. Meeting the Sustainable Development Goals; Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO; Rome, Italy.
- Forouhar, VM., Mohamadi, YA., Hedayati, A., & Faggio, C. 2018. Histopathological lesions and toxicity in common carp (*Cyprinus carpio* L. 1758) induced by copper nanoparticles. *Mic. Res. Tech.* 81: 724-729.
- Forwood, JM., Bubner, EJ., Landos, M., D'Antignana, T., & Deveney, MR. 2016. Praziquantel treatment for yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*): dose and duration safety study. *Fish Physiol. Biochem.* 42(1): 103-109.
- Foysal, MJ., & Lisa, AK. 2018. Isolation and characterization of *Bacillus* sp. strain BC01 from soil displaying potent antagonistic activity against plant and fish pathogenic fungi and bacteria. *J. Gen. Eng. Biotech.* 16(2): 387-392
- Foysal, MJ., Rahman, MM., & Alam, M. 2011. Antibiotic sensitivity and in vitro antimicrobial activity of plant extracts to *Pseudomonas fluorescens* isolates collected from diseased fish. *Int. J. Nat. Sci.* 1(4): 82-88.
- Fu, XZ., Shi, CB., Li, NQ., Pan, HJ., Chang, OQ., & Wu, SQ. 2011. Inverse PCR amplification of the complete major capsid protein gene of Lymphocystis disease virus isolated from *Rachycentron canadum* and the phylogenetic analysis of the virus. *Chinese J. Virol.* 23: 412-416.
- Fusianto, C., Hick, PM., Murwantoko, Herlambang, A., Whittington, RJ., & Becker, JA. 2021. Outbreak investigation attributes Infectious spleen and kidney necrosis virus as a necessary cause of a mortality epidemic in farmed grouper (*Epinephelus* spp.) in Bali, Indonesia. *Aqua. Rep.* 20: 1-10.
- Galli, P., Stefani, F., Zaccara, S., & Crosa, G. 2002. Occurrence of Monogenea in Italian freshwater fish (Poriver basin). *Parassitol.* 44: 189-197.
- García-Rosado, E., Cano, I., Martín-Antonio, B., Labella, A., Machado, M., Alonso, MC., Castro, D., & Borrego, JJ. 2007. Co-occurrence of viral and bacterial pathogens in disease outbreaks affecting newly cultured sparid fish. *Int. Microb.* 10: 193-199, DOI: 10.2436/20.1501.01.27

- Garcia-Vasquez, A., Guzman-Valdivieso, I., Razo-Mendivil, U., & Rubio-Godoy, M. 2018a. Three new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 described from *Goodea atripinnis* (Pisces: Goodeidae), an endemic freshwater fish from the central highlands of Mexico, Parasitol. Res. 117: 139-150, <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5680-y>.
- Garcia-Vasquez, A., Pinacho-Pinacho, CD., Martinez-Ramirez, E., & Rubio-Godoy, M. 2018b. Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 from *Profundulus oaxacae* (Pisces: Profundulidae) from Oaxaca, Mexico, studied by morphology and molecular analyses, Parasitol. Int. 67: 517-527. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.03.003>.
- Garcia-Vasquez, A., Razo-Mendivil, U., & Rubio-Godoy, M. 2015. Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. Parasitol. Res. 114: 3337-3355. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4559-z>.
- Geven, EJ., & Klaren, PH. 2017. The teleost head kidney: integrating thyroid and immune signalling. Dev. Comp. Immunol. 66: 73–83.
- Go, J., Lancaster, M., Deece, K., Dhungyel, O., Whittington, R. 2006. The molecular epidemiology of iridovirus in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) and dwarf gourami (*Colisa lalia*) from distant biogeographical regions suggests a link between trade in ornamental fish and emerging iridoviral diseases. Molecul. Cell. Prob. 20: 212-222.
- Goda, AMAS., Ahmed, SR., Nazmi, HM., Aboseif, A., Taha, MKS., Fadda, SH., Baromh, MZ., El-Haroun, E., & Davies, S. 2020. Assessment of a high protein distillers dried grain (HP-DDG) augmented with phytase in diets for European seabass, *Dicentrarchus labrax* fingerlings on growth performance, hematological status, immune response and related gut and liver histology. Aqua. 529(2): 1-35. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735617
- Gomes, GB., Hutson, KS., Domingos, JA., Villamil, SI., Huerliman, R., Miller, TL., & Dean, R. 2019. Parasitic protozoan interactions with bacterial microbiome in a tropical fish farm. Aqua. 502: 196-201.
- Gomes, GB., Jerry, DR., Miller, TL., & Hutson, KS. 2016. Current status of parasitic ciliates *Chilodonella* spp. (Phyllopharyngea, Chilodonellidae) in freshwater fish aquaculture. J. Fish Dis. 405: 703-715.
- Gorman, R., Bloomfield, S., & Adley, CC. 2002. A study of cross-contamination of foodborne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. Int. J. Food Microb. 76: 143-150
- Grabda, J. 1991. Marine Fish Parasitology. An Outline. Polish Scientific Publisher, New York. 306 p.
- Graham, AL., Cattadori, IM., Lloyd-Smith, JO., Ferrari, MJ., & Bjornstad, ON. 2007. Transmission consequences of coinfection: Cytokines writ large? Trends in Parasitol. 23(6): 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.04.005>

- Grano-Maldonado, MI. 2014a. *Gyrodactylus gasterostei* a difficult meal to swallow for the three-spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus* L. Scanning 36: 614-621.
- Grano-Maldonado, MI. 2014b. Ultrastructure of the external sensory apparatus of *Gyrodactylus gasterostei* Gläser, 1974. Microsc. Res. Tech. 77: 740-747.
- Grano-Maldonado, MI., Gisbert, E., Hirt-Chabbert, J., Paladini, G., Roque, A., Bron, JE., & Shinn, AP. 2011. An infection of *Gyrodactylus anguillae* Ergens, 1960 (Monogenea) associated with the mortality of glass eels (*Anguilla anguilla* L.) on the north-western Mediterranean Sea board of Spain. Vet. Parasitol. 180: 323-331
- Grano-Maldonado, MI., Moreno-Navas, J., & Rodriguez-Santiago, MA. 2018. Transmission Strategies Used by *Gyrodactylus gasterostei* (Monogenea) on its host, the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Fish. 3(2): 1-11.
- Grisez, L., Reyniers, J., Verdonck, L., Swings, J., & Ollevier, F. 1997. Dominant intestinal micro-flora of seabream and seabass larvae, from two hatcheries, during larvae development. Aqua. 155: 387-99.
- Gunawan, Setiawati, KM., & Hutapea, JH. 2011. Produktivitas induk ikan capungan Banggai (*Pterapogon kauderni*) F0 dan F1 di hatchery. Pros. Forum Inov. Tek. Akua. halaman 1211-1216.
- Guttman, JA., & Finlay, BB. 2009. Tight junctions as targets of infectious agents. (BBA) – Biom. 1788: 832-841. DOI: 10.1016/j.bbamem.2008.10.028
- Hadiroseyani, Y., Hariyadi, P., & Nuryati, S. 2006. Inventarisasi parasit lele dumbo (*Clarias* sp.) di daerah Bogor. Akuakultur Indonesia. Departemen Budidaya Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB. Bogor.
- Haenen, OLM., Fouz, B., Amaro, C., Isern, MM., Mikkelsen, H., Travers, MA., Renault, T., Wardle, R., Hellstrom, A., & Dalsgaard, I., 2014. Vibriosis in aquaculture, 16th EAFP conference, Tampere, Finland. Bull. Eur. Assoc. Fish Path. 34: 138-148.
- Hahn, MW., & Höfle, MG. 2001. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. FEMS Microb. Eco. 35: 113-121.
- Hallem, EA. Dilmann, AR., Hong, AV., Zhang Y., & Yano, JM. 2011. A sensory code for host seeking in parasitic nematodes. Curr. Biol. 21: 377-383
- Hallem, EA., Rengarajan, M., Ciche, TA., & Sternberg, PW. 2007. Nematodes, bacteria, and flies: a tripartite model for nematode parasitism. Curr. Biol. 17: 898-904.
- Hamed, SB., Ranzani-Paivaa, MJT., Tachibanaa, L., Diasa, DDC., Ishikawaa, CM., & Esteban, MA. 2018. Fish pathogen bacteria: Adhesion, parameters influencing virulence and interaction with host cells. Fish and Shellfish Immunol. 80: 550-562.

- Haniffa, MA., & AbdulKader Mydeen, K.P. 2011. Hematological changes in *Channa striatus* experimentally affected by *Aeromonas hydrophila*. *Biores. Bull.* 4: 246-253.
- Hardi, EH. 2015. *Parasit Biota Akuatik*. Mulawarman University Press, Samarinda. 118 pp.
- Hardi, EH., Sukarti, K., Agriandini, M., Kusuma, IW., & Nugroho, RA. 2018. The comparative studies of Borneo plant extracts to increases vaccine efficacy in Tilapia, *oreochromis niloticus*. *J. Akua. Indo.* 17(2):158-167.
- Harms, CA. 1996. Treatments for parasitic diseases of aquarium and ornamental fish. *Sem. Avian & Exotic Pet. Med.* 2(5): 54-63.
- Harris, PD. 1993. Interactions between reproduction and population biology in gyrodactylid monogeneans-A review. *Bul. Franc. de la Peche et de la Piscicul.* 1: 47-65.
- Harris, PD., Soleng, A., & Bakke, TA. 2000. Increased suscepibility of salmonids to the monogenean *Gyrodactylus salaries* following administration of hydrocortisone acetate. *Parasitol.* 120: 57-64.
- Hartgers, FC., & Yazdanbakhsh, M. 2006. Co-infection of helminths and malaria: modulation of the immune responses to malaria. *Par. Immunol.* 28: 497-506
- Hartono, TT., & Nasution, Z. 2006. Status and constrains of carp aquaculture industry development in Indonesia. *Bul. Eko. Perikan.* 6(2): 1-14
- Haryono, S., Mulyana, & Lusiastuti, MA. 2016. Inventory of ectoparasites on goldfish (*Carassius auratus*) in District Ciseeng Bogor Regency. *J. Mina Sains.* 2(2): 71-79
- Hasnidar, 2018. Identifikasi dan prevalensi ektoparasit dan endoparasit pada ikan kerapu lumpur (*Epinephelus Tauvina*) di Kecamatan Talawi Kabupaten Batu Bara. *J. Bud. Per.* 1(1): 17-25. <http://jurnal.una.ac.id/index.php/tor/index>
- Hassan, MAH. 1999. Trichodiniasis in farmed freshwater Tilapia in Eastern Saudi Arabia. *J. Kau. Mar. Sci.* 10: 157-168.
- Hastari, IB., Sarjito. & Prayitno, SB. 2014. Karakterisasi agensia penyebab vibriosis dan gambaran histologi ikan kerapu macan (*Epinephelus Fuscoguttatus*) dari karamba jaring apung Teluk Hurun Lampung. *J. Aqua. Manag. Tech.* 3(3): 86-94.
- Hastein, T., Hjeltnes, B., Lillehaug, A., Utne Skare, J., Berntssen, M., & Lundebye, AK. 2006. Food safety hazards that occur during the production stage: challenges for fish farming and the fishing industry, *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 25: 607-625.
- Hidayat, R., Harpen, E., & Wardiyanto, E. 2014. Hematology profile of *Lates calcallifer* stimulated by black cumin (*Nigella sativa*) and its effectiveness against *Vibrio alginolyticus* infection. *J. Fish.* 3(1): 327-334.

- Hidayati, N., Bakri, M., Rusli., Fahrimal, Y., Hambal, M., & Daud, R. 2016. Identifikasi parasit pada ikan tongkol (*Euthynnus Affinis*) di tempat pelelangan ikan Lhoknga Aceh Besar. J. Med. Vet., 10(1): 5-8.
- Hill, BJ. 2005. The need for effective disease control in international aquaculture. Dev. Bio. 121: 3-12.
- Holzer, AS., Sommerville, C., & Wootten, R. 2006. Molecular studies on the seasonal occurrence and development of five myxozoans in farmed *Salmo trutta* L. Parasitol. 132(2): 193-205.
- Howell, K, & de Leeuw, E. 2018. Cell adhesion properties of human defensins. Bioch. Biophys. Res. Com. 502: 238-242. DOI: 10.1016/J.BBRC.2018.05.150
- Huang, Y., Xiaogang Chen, X., Li, X., Shu, P., Wang, H., Hou, T., Wang, Y., Song, F., & Zhang, J. 2022. A proof-of-principle study on implementing polymerase chain displacement reaction (PCDR) to improve forensic low-template DNA analysis. For. Sci. Int: Gen. 56: 102609
- Hughes, GM., & Morgan, M. 1973. The structure of fish gills in relation to their respiratory function. Biol. Rev. 48: 419-475.
- Huyse, T., Malmberg, G., & Volckaert, FAM., 2004. Four new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogenea, Gyrodactylidae) on gobiid fishes: combined DNA and morphological analyses. Syst. Parasitol. 59: 103-120.
- International Committee on Taxonomy of Viruses, 2021. Virus Taxonomy: 2021 release. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (Diakses pada 20 Juli, 2021 pukul 15.00 WITA)
- Iqbal, Z., & Imtiaz, HM. 2016. Parasites of double tail goldfish, *Carassius auratus* L. imported to Pakistan. Punjab Univ. J. Zool. 31(2): 223-228.
- Iqbal, Z., & Rehaman, BG. 2014. Parasitic Infestation of an ornamental fish comet, *Carassius auratus* L. imported to Pakistan. Biol. (Pakistan). 60(1): 103-107
- Irianto, A., & Asmanelli. 1992. Pengaruh penggunaan oxytetracycline terhadap kelangsungan hidup ikan kakap putih *Latca calcarifer* Bloch 1970. Prosiding Rapat Teknis Ilmiah Penelitian Perikanan Budidaya Pantai, Tanjung pinang. Badan Litbang Pertanian, Balitkandita-Maros.
- Irmawati., Marlina, AC., Alimuddin., & Kadriah, IAK. 2021. Budidaya Ikan Kakap Putih: Tinjauan Kelayakan di Keramba Jaring Apung dan tambak tradisional. Penerbit Nas Media Pustaka, Makassar. 119 pp.
- Irmawati, Umar, MT., Husain, AAA., Malina, AC., Kadir, NN., & Alimuddin. 2020. Distribution and character of Asian seabass (*Lates calcarifer* Bloch 1970) in South Sulawesi. IOP conf. Ser: earth and Env. Sci. 564: 1-9. DOI:10.1088/1755-1315/564/1/012011

- Isroni, W., Setyawati, D., & Maulida, N. 2019. Komunitas bakteri pada sistem resirkulasi pada budidaya lele dumbo (*Clarias gariepinus*). J. Aqua. and Fish Health. 8(3): 159-166.
- Jagruthi, C., Yogeshwari, G., Anbazahan, SM., Mari, LSS., Arockiaraj, J., Mariappan, P., Sudhakar, GRL., Balasundaram, C., & Harikrishnan, R. 2014. Effect of dietary astaxanthin against *Aeromonas hydrophila* infection in common carp, *Cyprinus carpio*. Fish & Shellfish Immunol. 41: 674-680
- Jancovich, JK., Chinchar, VG., Hyatt, A., Miyazaki, T., Williams, T. & Zhang, QY. 2012. Family Iridoviridae. In: King, A. M. Q., Adams, M. J., Carstens, E. B., & Lefkowitz, E. J. 2012. (eds.) Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier/Academic Press, Amsterdam, pp. 193-210
- Johnny, F., & Roza, D. 2009. Iridovirus infection case on seed of coral grouper fish, *Epinephelus Corallicola* In Hatchery. J. Fish. Sci. 9(1): 8-12.
- Johnston, B., & Yeeting, B. 2006. Economics and Marketing of the Live Reef Fish Trade in Asia–Pacific. Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra.
- Jones, SRM. 2001. The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. Dev. Comp. Immunol. 25(8-9): 841-852. [https://doi.org/10.1016/s0145-305x\(01\)00039-8](https://doi.org/10.1016/s0145-305x(01)00039-8)
- Jung, SJ., Kim, SR., Joung, IY., Kitamura, SI., Ceong, HT., & Oh, MJ 2008. Distribution of marine birnavirus in cultured olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Korea. J. Microbiol. 46: 265-273
- Kallert, DM., Eszterbauer, E., Grabner, D., & El-Matbouli, M. 2009. In vivo exposure of susceptible and non-susceptible fish species to *Myxobolus cerebralis* actinospores reveals nonspecific invasion behaviour. Dis. Aquat. Org. 84: 123 -130.
- Kathirkaman, P., Ayyaru, G., Serelathan, MV., Singaravel, V., & Gunasekaran, T. 2018. Innate immunological responses of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) for experimentally challenged *Aeromonas hydrophila* infection. Com Cli Path 5 pp. <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2683-8>
- Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2018. Produksi Perikanan dan Kelautan. Forum Merdeka Barat 9 Kementerian Komunikasi dan Informatika, Jakarta.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2020. Laporan Indikator Kerja triwulan 2 KKP, Jakarta. Laporan kinerja tahun 2020. [https://kkp.go.id/an-component/media/upload-gambar-pendukung/LKJ%20KKP%202020%20Revisi%20\(2\)%20\(1\).pdf](https://kkp.go.id/an-component/media/upload-gambar-pendukung/LKJ%20KKP%202020%20Revisi%20(2)%20(1).pdf)
- Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2021. Produktivitas Perikanan Indonesia. Forum Merdeka Barat 9 Kementerian Komunikasi dan Informatika, Jakarta.
- Khan, RA. 1991. Mortality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) associated with trichodinid ciliates. J. Wildlife Dis. 27: 153-155.

- Khan, RA. 2009. Parasites causing disease in wild and cultured fish in Newfoundland. *Icel. Agric. Sci.* 22: 29-35.
- Khan, RA., & Ghosh, K. 2013. Evaluation of phytase production by fish gut bacterium, *Bacillus subtilis*, for processing of *Ipomoea aquatica* leaves as probable aquafeed ingredient. *J. Aqu. Food Product Tech.* 22: 508-519.
- Khan, RA., Bowering, WR., Burgeois, C., Lear, H., & Pippy, JH. 1986. Myxosporean parasites of marine fish from the continental shelf off Newfoundland and Labrador. *Can. J. Zool.* 64: 2218-2226
- Kinsella, JE., & Lokesh, B. 1990. Dietary lipids, eicosanoids and the immune system. *Crit. Care Med.* 18(2): S94-S113.
- Kitamura, SI., Jung, SJ., Kim, WS., Nishizawa, T., Yoshimizu, M., & Oh, MJ. 2006. A new genotype of *Lymphocystivirus*, LCDV-RF, from lymphocystis disease rockfish. *Arch. Virol.* 151: 607-615. DOI 10.1007/s00705-005-0661-3.
- Kleinertz, S. 2010. Fish Parasites as Bioindicators: Environmental Status of Coastal Marine Ecosystems and A Grouper Mariculture Farm in Indonesia. Ph.D. Thesis. University of Bremen, Bremen.
- Kleinertz, S., Damriyasa, M., Hagen, W., Theisen, S., & Palm, HW. 2014. An environmental assessment of the parasite fauna of the reef-associated grouper *Epinephelus areolatus* from Indonesian waters. *J. Helminthol.* 88: 50-63. <http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X12000715>.
- Kleinertz, S., & Palm, HW. 2015. Parasites of the grouper fish *Epinephelus coioides* (Serranidae) as potential environmental indicators in Indonesian coastal ecosystems. *J. Helminth.* 89: 86-99.
- Klinger, R., & Floyd, RF. 2013. Introduction to Freshwater Fish Parasites. IFAS Extension, University of Florida. 14 pp.
- Koesharyani, I., Roza, D., Mahardika, K., Jhonny, F., Zafran., & Yuasa, K. 2001. Penuntun Diagnosa Penyakit Ikan II. Penyakit Ikan Laut dan Krustasea di Indonesia. Balai Penelitian Perikanan Laut Gondol-Singaraja. 49 pp.
- Koesharyani, I., Yuasa, K., Zafran, Hatai, K., 1998. Common ectoparasites of groupers in Indonesia, pp in: Proceeding of the Fifth Asian Fisheries Forum International Conference on Fisheries and Food Security beyond the Year 2000, Chiang-Mai.
- Konczal, M., Ellison, A.R., Phillips, K.P., Radwan, J., Mohammed, R.S., Cable, J., & Chadzinska, M., 2020. RNA-Seq analysis of the guppy immune response against *Gyrodactylus bullatarudis* infection. *Par. Immunol.* 42(12): e12782.
- Kordon, AO., Kari, A., & Pinchuk, L. 2018. Innate immune responses in fish: antigen presenting cells and professional phagocytes. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 18: 1123-1139.

- Kotob, MH., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzaher, M., & El-Matbouli, M. 2016. The impact of co-infections on fish: a review. *J. Vet. Res.* 47(1): 1-12. DOI: 10.1186/s13567-016-0383-4.
- Kreier, JP. 2013. *Parasitic Protozoa*, volume 8, second eds. Academic Press Inc, California.
- Kurtovic, B., Teskeredzic, E., & Teskeredzic, Z. 2008. Histological comparison of spleen and kidney tissue from farmed and wild European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Acta Adriat.* 49: 147-154.
- Kyeon, MS., Son, SH., Noh, YH., Kim, YE., Lee, HI., & Cha, JS. 2016. *Xanthomonas euvesicatoria* causes bacterial spot disease on pepper plant in Korea. *Plant Path. J.* 32(5): 431-40.
- Labella, A., Berbel, C., Manchado, M., Castro, D., & Borrego, JJ., 2011. *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, an emerging pathogen affecting new cultured marine fish species in southern Spain. *Recent Adv. in Fish Farm.* 9: 135-52.
- Landsberg, JH., Kiryu, Y., Tabuchi, M., Waltzek, TB., Enge, KM., Reintjes-Tolen, Preston, A., & Pessier, AP. 2013. Co-infection by alveolate parasites and frog virus 3-like ranavirus during an amphibian larval mortality event in Florida, USA. *Dis. Aqu. Org.* 105: 89-99
- Langeland, A., Hawdon, JM., & O'Halloran, DM. 2021. NemChR-DB: a database of parasitic nematode chemosensory G-protein coupled receptors. *Int. Journal for Parasitol.* 51(5): 333-337.
- Langkosono, 2007. Budidaya ikan kerapu (Serranidae) dan kualitas perairan. *Neptunus (Maj. Ilmu Kel.)*. 014: 61-67.
- Lau, PPF., & Parry-Jones, R. 2000. *The Hong Kong Trade in Live Reef Fish for Food*. TRAFFIC East Asia and World Wide Fund for Nature Hong Kong, Hong Kong.
- Lhorente, JP., Gallardo, JA., Villanueva, B., Carabaño, MJ., & Neira, R. 2014. Disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*): coinfection of the intracellular bacterial pathogen *Piscirickettsia salmonis* and the sea louse *Caligus rogercresseyi*. *PLoS One* 9 (4): e95397. DOI: 10.1371/journal.pone.0095397
- Li, J., Ni, XD., Liu, YJ., & Lu, CP. 2011. Detection of three virulence genes *alt*, *ahp* and *aerA* in *Aeromonas hydrophila* and their relationship with actual virulence to zebrafish. *J. App. Microb.* 110: 823-830.
- Lilley, GR., & Lilley, R. 2007. Towards a sustainable marine aquarium trade: An Indonesian perspective. *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.* #17 – November 2007.
- Lim, HH., Srisiri, K., Rerkamnuaychoke, B., & Bandhaya, A. 2019. A comparative study of whole genome amplification and low-template DNA profiling. *Forensic Science International: Gen. Supp. Ser.* 7(1): 509-511

- Lom, J. 1995. Trichodinidae and other ciliates (Phylum Ciliophora). In: Woo PTK, editor. Fish Diseases and Disorders. Wallingford: CAB International; p. 229-262
- Lom, J., & Dykova, I. 1992. Protozoan parasites of fishes. Dev. Aqua. Fish. Sci. 26: 271-279
- Lu, C., Kania, PW., & Buchmann, K. 2018. Particle effects on fish gills: An immunogenetic approach for rainbow trout and zebrafish. Aqua. 484: 98-104
- Ludyasari, A., 2016. Pengaruh Suhu *Annealing* pada Program PCR Terhadap Keberhasilan Amplifikasi DNA Udang Jari (*Metapenaeus elegans* De Man, 1907) Laguna Segara Anakan Cilacap, Jawa Tengah. Tesis. UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Lückstädt, C. 2008. The use of acidifiers in fish nutrition. CAB Rev. 3: 1-8.
- Maarif, S. 2010. Kebijakan strategis kementerian kelautan dan perikanan dalam mendukung pembangunan nasional. Makalah Seminar Nasional Kelautan, Kobangdikal Surabaya. 15 pp.
- Machado, MH., Pavanelli, GC., & Takemoto, RM. 1994. Influence of hosts sex and size on endoparasitic infrapopulations of *Pseudoplatystoma corruscans* and *Schizodon borelli* (Osteichthyes) of the high parana river, Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 3: 143-148.
- Madsen, HCK., Buchmann, K., & Møllergaard, S. 2000. *Trichodina* sp. (Ciliophora: Peritrichida) in eel *Anguilla anguilla* in recirculation systems in Denmark: host-parasite relations. Dis. Aqu. Org. 42: 149-152.
- Magnadottir, B. 2010. Immunological control of fish diseases. Mar. Biotec. 12: 361-379.
- Maharajan, A., Rufus, KM., Paruruckumani, PS., & Ganapirya, V. 2016. Histopathology biomarker responses in Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) exposed to copper. J. Bas. App. Zool. 77: 21-30.
- Mahardika, K., Mastuti, I., & Zafran. 2018. Intensitas parasit insang (Trematoda Monogenea: *Pseudorhabdosynochus* sp.) pada ikan kerapu hibrida melalui infeksi buatan. J. Ris. Aku. 13(2): 169-177.
- Mangunwardoyo, W., Ismayasari, R., & Riany, E. 2010. Uji patogenesis dan virulensi *Aeromonas hydrophila* stanier pada ikan nila (*Oreochromis niloticus* Lin.) melalui postulat Koch. J. Ris. Akua. 5(2): 245-255.
- Martins, ML., Cardoso, L., Marchiori, N., & de Pádua, SB. 2015. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. B. J. Vet. Parasitol. 24: 1-20.
- Martins, M. L., Marchiori, N., Nunes, G., & Rodrigues, M. P. 2010. First record of *Trichodina heterodontata* (Ciliophora: Trichodinidae) from channel catfish, *Ictalurus punctatus* cultivated in Brazil. Braz. J. Biol. 70(3): 637-644

- Mariyono & Sundana, A. 2002. Teknik pencegahan dan pengobatan penyakit bercak merah pada ikan air tawar yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophyla*. Bull. Tek. Pert. 7(1): 12-14.
- Maulana, DM., Zainal, AM., & Sugito, S. 2017. Intensitas dan prevalensi parasit pada ikan betok (*Anabas testudineus*) dari perairan umum daratan Aceh Bagian Utara. J. Ilm. Mah. Kel. & Perikan. Unsyiah. 2(1): 1-11.
- Matthews, RA. 1994. *Ichrhyophthirius mulrilliis* Fouquet 1876: infection and protective responses within the fish host. pp: Pike, A.W., Lewis, J.W. (eds.) Parasitic diseases of fish. Samam Publishing, Dyfed, United Kingdom. 17-42 pp.
- Mekuto, L., Ntwampe, SKO., & Mudumbi, JBN. 2018. Microbial communities associated with the co-metabolism of free cyanide and thiocyanate under alkaline conditions. 3 Biotech. 8(2): 93. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1124-3>.
- Mendoza-Palmero, CA., Blasco-Costa, I., & de Leon, GPP. 2019. Morphological and molecular characterisation of a new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Monogeneoidea: Gyrodactylidae) of cichlid fishes (Perciformes) from Mexico. Parasitol. Int. 70: 102-111
- Meseguer, J., Lopez-Ruiz, A., & Esteban, MA. 1994. Melano-macrophages of the seawater teleosts, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*): Morphology, formation and possible function. Cell & Tissue Res. 277: 1-10.
- Mikkelsen, H., McMullan, R., Filloux, A. 2011. The *Pseudomonas aeruginosa* reference strain PA14 displays increased virulence due to a mutation in *ladS*. PLoS One. 6(12): e29113.
- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., & Hatakeyama, M. 2016. The epidemiology of the Trichodinid Ciliate *Trichodina truttae* on hatchery-reared and wild salmonid fish in Hokkaido. Fish Path. 51(4): 199-209.
- Moustafa, EM., Dawood, MAO., Assar, DH., Omara, AA., Elbially, ZI., Farrag, FA., Shukry, M., & Zayed, MM. 2020. Modulatory effects of fenugreek seeds powder on the histopathology, oxidative status, and immune related gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Aqua. 515: 1-12. DOI: 10.1016/j.aquaculture. 2019.734589
- Muhtadin, D. 2017. Identifikasi Cacing Parasitik pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcalifer*) di Pelabuhan Perikanan Pantai Labuan dan Pelabuhan Perikanan Nusantara Karangantu. Skripsi. Jurusan Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Serang.
- Murwantoko, Handayani, CR., & Pratiwi, R. 2009. Cloning and sequence analysis of capsid protein gene of Iridovirus Indonesian isolates. Ind. J. Biotech. 14(1): 1117-1123.

- Musyaffak, M., Abida, IW., & Muhsoni, FF. 2010. Analisa Tingkat Prevalensi Dan Derajat Infeksi Parasit Pada Ikan Kerapu Macan (*Ephinephilus fuscoguttatus*) di Lokasi Budidaya Berbeda. Jurnal Kelautan 3(1): 9 pp
- Natsir, NA., & Latifa, S. 2018. Analisis kandungan protein total ikan kakap merah dan ikan kerapu bebek. J. Biol. Sci. & Edu. 7(1): 1-7.
- Neori, A., Shpige, IM., & Scharfstein, B. 2001. Land-based low-pollution integrated mariculture of fish, seaweed and herbivores: principles of development, design, operation and economics. Eur. Aqua. Soc. Spec. Pub. 29: 190-191.
- Netea, G., Van der Meer, JWM., Sutmuller, RP., Adema, GJ., & Kullberg, BJ. 2005. From the Th1/Th2 paradigm towards a Toll-like receptor/T-helper bias. Anti. Agents Chem. 49(10): 3991-3996.
- Nicholson, WL., Munakata, N., Horneck, G., & Melosh, HJSP. 2000. Resistance of *Bacillus endospores* to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. Microb. & Mol. Biol. Rev. 64(3): 548-72.
- Ningsih, AA., Setyawan, A., & Hudaidah, S. 2016. Identifikasi parasit pada ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) pasca terjadinya harmful algal blooms (habs) di Pantai Ringgung Kabupaten Pesawaran. J. Rek. & Tek. Bud. Per. 4(2): 479-484
- Nithya, QM., Porteen, K., & Pramanik, AK. 2007. Studies on occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in fin fishes and shellfishes from different ecosystem of West Bengal. Live. Res. Rural Dev. 19(1): 1-12.
- Noga, EJ. 2010. Fish Disease. Diagnosis and Treatment, (second edition). Wiley Blackwell. John Wiley & Sons. Singapore, 519 P.
- Office International des Epizooties (OIE), 2012. Manual diagnostic test for aquatic animals. Chapter 2.3.7 red sea bream iridoviral disease. hal. 345-356.
- Ogut, H., & Cavus, N. 2014. A comparison of ectoparasite prevalence and occurrence of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in whiting *Merlangius merlangus euxinus*. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. 49: 91-96
- Oh, MJ., Kim, WS., Kitamura, SI., Lee, HK., Son, BW., Jung, TS., & Jung, SJ. 2006. Change of pathogenicity in Olive flounder *Paralichthys olivaceus* by co-infection of *Vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda* and marine birnavirus. Aqua. 257: 156-160
- Olstad, K., Cable, J., Robertsen, G., & Bakke, TA. 2006. Unpredicted transmission strategy of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae): Survival and infectivity of parasites on dead hosts. Parasitol. 133: 33-41.
- Osorio, CR., & Lemos, ML., 2011. *Photobacterium*, pp in: Liu D, editor. Molecular detection of human bacterial pathogens. Boca Raton, FL: CRC Press Inc; p. 959-968.
- Ozturk, MO. 2005. An Investigation on metazoan parasites of common carp (*Cyprinus carpio*) in Lake Eber. Turkiye Paraz. Der. 29 (3): 204-210.

- Paladini, G., Hansen, H., Fioravanti, M. L., & Shinn, A. P. 2011. *Gyrodactylus longipes* n.sp. (Monogenea: Gyrodactylidae) from farmed gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) from the Mediterranean. *Parasitol. Int.* 60: 410-418.
- Palic, D., Andreasen, CB., Menzel, BW., & Roth, JA. 2005. A rapid, direct assay to measure degranulation of primary granules in neutrophils from kidney of fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). *Fish & Shellfish Immunol.* 19(3): 217-227.
- Paling, JE. 1968. A method of estimating the relative volumes of water flowing over the different gills of freshwater fish. *J. Exp. Biol.* 48: 785-802.
- Palm, HW., Kleinertz, S., & Rückert, S. 2011. Parasite diversity as an indicator of environmental change? -an example from tropical grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) mariculture in Indonesia. *Parasitol.* 138: 1-11. <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182011000011>.
- Palm, HW., Yulianto, I., Theisen, S., Rückert, S., & Kleinertz, S. 2015. *Epinephelus fuscoguttatus* mariculture in Indonesia: Implications from fish parasite infections. *Reg. Stud. Mar. Sci.* 2: 54-70.
- Palmer, L.J., Hogan, N.S., & Van, MRDH. 2012. Phylogenetic analysis and molecular methods for the detection of lymphocystis disease virus from yellow perch, *Perca flavescens* (Mitchell). *J. Fish Dis.* 35: 661-667
- Paperna, I. 1975. Parasites and diseases of the grey mullet (Mugilidae) with special reference to the seas of the Near East. *Aqua.* 5: 65-80. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(75\)90018-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(75)90018-6).
- Paperna, I., & Laurencin, Fb. 1979. Parasitic infections of sea bass, *Dicentrarchus Labrax*, and gilt head sea bream, *Sparus aurata*, In *Mariculture Facilities in France*. *Aqua.* 16(2): 173-175.
- Peters, L., Burkert, S., & Grüner, B. 2021. Parasites of the liver – epidemiology, diagnosis and clinical management in the European context. *J. Hepatol.* 75: 202-218.
- Petersen, EH., Phuong, H., Dat, NK., Tuan, VA., & Truc, LV. 2016. Bioeconomics of Asian seabass, *Lates calcarifer*, culture in Vietnam. *Aqua. Eco. Manag.* 18(1): 28-44
- Pet-Soede, L., Horuodono, H., S& udarsono, 2004. SARS and the live food fish trade in Indonesia: some anecdotes. *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.* 12: 3-9.
- Peyghan, R., Khadjeh, RH., & Enayati, A. 2014. Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Vet. Res. Forum.* 5(3): 225-229.
- Pridgeon, JW., & Klesius, PH. 2012. Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development. *CAB Rev.* 7(48): 1-16.

- Putri, SM., Haditomo, AHC., & Desrina, 2016. The infestation of monogenean on consumption freshwater fish in pond culture of Ngrajek village, Magelang. *J. Aqua. Manag. Tech.* 5(1): 162-170.
- Rahayu, FD., Ekastuti, DR., & Tiuria, R. 2013. Infestasi cacing parsitik pada insang ikan mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Acta. Vet. Indonesia* 1(1): 8-14
- Rayas, RD., Sutresna, IW., Diniarti, N., & Supii, AI. 2013. pengaruh perubahan salinitas terhadap pertumbuhan dan sintasan ikan kakap putih (*Lates calcarifer* Bloch). *J. Kel.* 6(1): 47-56.
- Reed, P., Floyd, R. F., Klinger, R. E., & Petty, D. 2012. Monogenean Parasites of Fish. IFAS Extension, University of Florida, Gainesville.
- Rejeki, S., Triyatno., & Murwantoko, 2016. Isolation and identification of *Aeromonas* spp. from diseased African catfish (*Clarias* sp.) in Ngawi Regency. *J. Fish. Gadjah Mada University.* 18(2): 55-60.
- Ressa, P. 2007. Pola Distribusi *Anisakis* sp. pada Usus Halus Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Tertangkap di TPI Brondong, Lamongan. Skripsi. Program Studi Biologi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aqua.* 433: 50–61.
- Ridhwan., Bakri, M., & Winaruddin. 2018. Identifikasi parasit pada ikan kerapu sunu (*Plecetropomus Leopardus*) yang dijual di TPI Lhoknga Kabupaten Aceh Besar. *Jimvet.* 2(4): 614-618
- Roberts, RJ. 2012. *Fish Pathology.* Wiley & Sons (590, pp). Tasmania, Australia.
- Robertsen, B, Engstad, RE., & Jorgensen, JB. 1994. Modulation of fish immune responses. Fair Haven, NJ: Vol. I: SS Publications, USA.
- Rohde, K. 1994. Niche restriction in parasites: proximate and ultimate causes. *Parasitol.* 109: S69-S84.
- Rokhmani, 2009. Keragaman dan Tingkat serangan ektoparasit pada gurame (*Osphronemus gourami Lacepede*) tahap pendederan I dengan ketinggian lokasi pemeliharaan yang berbeda. *J. Biotika.* 7(2): 87-93.
- Rokhmani, Riwidharso, E., Ariyani, E., Darsono & Daniel, DW. 2017. Hubungan kekerabatan protozoa *Trichodina* sp yang menginfeksi benih gurame dari sentra pembenihan di Bantul Jogjakarta Prosiding Sem. Nas Masy. Biodiv. Ind. 3(2): 220-223.
- Rückert, S. 2006. Marine Fish Parasites in Indonesia: State of Infestation and Importance for Grouper Mariculture. Ph.D. Thesis. Heinrich-Heine University of Düsseldorf, Düsseldorf.

- Rückert, S., Klimpel, S., & Palm, HW. 2010. Parasites of cultured and wild brown-marbled grouper *Epinephelus fuscoguttatus* (Forsskål, 1775) in Lampung Bay, Indonesia. *Aqua. Res.* 41: 1158-1169.
- Rückert, S., Palm, HW., & Klimpel, S. 2008. Parasites fauna of sea bass under mariculture condition in Lampung Bay, Indonesia. *J. App. Ichth.* 24(3): 321-327.
- Rud, I., Kolarevic, J., Holan, AB., Berget, I., Calabrese, S., & Terjesen, BF. 2016. Deep-sequencing of the bacterial microbiota in commercial-scale recirculating and semi-closed aquaculture systems for Atlantic salmon post-smolt production. *Aquacult. Eng.* 78(A): 50-62.
- Rukyani, A., Silvia, E., Sunartot, A., & Tauhid. 1997. Peningkatan respon kekebalan non-spesifik pada ikan lele dumbo (*clarias* sp.) dengan pemberian imunostimulan (B-Glucan). *J. Pen. Per. Ind.* 3(1): 1- 10.
- Rustikawati, I., Rostika, R., Iriana, D., & Herlina, E. 2004. Intensitas dan prevalensi ektoparasit pada benih ikan mas (*Cyprinus carpio* L.) yang berasal dari kolam tradisional dan longyam di Desa Sukamulya Kecamatan Singaparna Kabupaten Tasikmalaya. *J. Aku. Ind.* 3(1): 33-39.
- Sadovy, Y., Craig, MT., Bertocini, AA., Carpenter, KE., Cheung, WWL., Choat, JH., Cornish, AS., Fennessy, ST., Ferreira, BP., Heemstra, PC., Liu, M., Myers, RF., Pollard, DA., Rhodes, KL., Rocha, LA., Russell, BC., Samoilys, MA., & Sanciangco, J. 2012. Fishing groupers towards extinction: a global assessment of threats and extinction risks in a billion dollar fishery. *F. & Fish.* 14: 119-136.
- Sahoo, PK., Kumari, J., & Mishra, BK. 2005. Non-specific immune responses in juveniles of Indian major carps. *J. App. Ichth.* 21(2): 151-155.
- Santiago FG., Krug M. J., Nielsen ME., Santos Y., & Call DR., 2004. Simultaneous detection of marine fish pathogens by using multiplex PCR and a DNA Microarray. *J. Clin. Microb.* 42: 1414-1419, DOI: 10.1128/jcm.42.4.1414-1419.2004.
- Santoro, M., Di Nocera, F., Iaccarino, D., Lawton, SP., Cerrone, A., Degli Uberti, B., Amore, MD., Affuso, A., Hochscheid, S., Maffucci, F., & Galiero, G. 2017. Pathology and molecular analysis of *Hapalotrema mistroides* (Digenea: spirorchiidae) infecting a Mediterranean loggerhead turtle *Caretta caretta*. *Dis. Aquat. Org.* 124(2): 101-108.
- Saputra, I., & Gunawan, EH. 2020. Infestasi ektoparasit pada cyprinidae (*Cyprinus carpio*) dalam rantai perdagangan. *Quarant.* 2(1): 45-57.
- Saputra, I., & Indaryanto, FR. 2018. Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada komoditas ikan yang dilalulintaskan menuju Pulau Sumatera melalui Pelabuhan Penyeberangan Merak – Banten. *J. Per. & Kel.* 8(5): 155-162
- Saraiva, A., Costa, J., Serrão, J., Cruz, C., & Eiras, JC. 2015. A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aqua.* 448: 375-381.

- Saranya, SR., & Sudhakaran, R, 2020. Report on prevalence of tilapia lake virus infection in tilapia fishes (*Oreochromis niloticus*). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 27(1): 1-18 pp. DOI:10.1016/j.bcab.2020.101665
- Sari, DN. 2011. Pencegahan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dengan Pemberian Ekstrak Etil Asetat Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa*). Skripsi. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Scapigliati, G., Romano, N., Buonocore, F., Picchietti, S., Baldassini, MR., Prugnoli, D., Galice, A., Meloni, S., Secombes, C.J., Mazzini, M., & Abelli, I. 2002. The immune system of seabass, *Dicentrarchus labrax* reared in aquaculture. Dev. Compar. Immunol. 26: 151-160.
- Schelke, B. 2012. Gyrodactylid Biology, Transmission and Control. Dissertation. Organisms and Environment Research Group. School of Biological Sciences, Cardiff University.
- Scholz, T. 1999. Parasites in cultured and feral fish. Vet. Parasitol. 84: 317-335.
- Scott, SJ., & Bollinger, TK. 2014. *Flavobacterium columnare*: an important contributing factor to fish die-off in southern lakes of Saskatchewan, Canada. J. Vet. Diag. Inv. 26: 832-836.
- Senapin, S., Dong, HT., Meemetta, W., Gangnonngiw, W., Sangsuriya, P., Vanichviriyakit, R., Sonthi, M., & Nuangsaeng, B. 2019. Mortality from scale drop disease in farmed *Lates calcarifer* in Southeast Asia. J. Fish Dis. 42: 119-127.
- Shahsavani, D., Kaxerani, H., Kaveh, S. & Kanani, H. 2010. Determination of some normal serum parameters in starry Sturgeon (*Acipenser stellatus*) during spring season. Comp. Clin. Pathol. 19: 57-61.
- Sheikh, ZA., & Ahmed, I. 2016. Seasonal changes in hematological parameters of snow trout *Schizothorax plagiostomus* (Heckel 1838). Int. J. Fauna and Biol. Stud. 3(6): 33-38.
- Shen, Y., Zhang, J., Xu, X., Fu, J., Li, J. 2013. A new haplotype variability in complement C6 is marginally associated with resistance to *Aeromonas hydrophila* in grass carp. Fish Shellfish Immunol. 34(5): 1360-1365.
- Silvaraj, S. Salwany, ID. Yasin, M. Marlina, AM. Karim, & Saad, MZ. 2021. Transcriptome analysis of immune response in recombinant cell vaccine expressing OmpK vaccinated juvenile seabass (*Lates calcarifer*) head kidney against *vibrio harveyi* infection. Aqua. Rep. 21: 1-25.
- Siva, MU., Thangapandi, M., Badhul., HMA., & Kumar, TTA. 2014. Histopathological study of lymphocystis disease virus (LCDV) in cultured false clownfish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) and true clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802). J. Coast. Life Med. 2(4): 264-269. DOI: 10.12980/JCLM.2.2014APJTD-2014-0016

- Skinner, LA. 2009. The Physiological and Immunological Effects of Vaccination on Fish Health, Welfare, and Performance. Dissertation. The University of British Columbia, New York. 139 pp.
- Snoussi, M., Hajlaoui, H., Noumi, E., Zanetti, S., & Bakhrouf, A. 2008. Phenotypic and molecular characterization of *Vibrio alginolyticus* strains recovered from juveniles and older *Sparus aurata* reared in a Tunisian marine farm. *Ann. Microbiol.* 58: 141-146.
- Sonia, ASG., & Lipton, AP. 2012. Pathogenicity and antibiotic susceptibility of *Vibrio* species isolated from the captive-reared tropical marine ornamental blue damselfish, *Pomacentrus caeruleus* (Quoy and Gaimard, 1825). *Indian J. Geo-Marine Sci.* 41(4): 348-354.
- Sorvillo, F., Lawrence, RA., Berlin, OGW., Yatabe, JA., Degiorgio, C., & Morse, SA. 2002. *Baylisascaris procyonis*: An emerging helminthic zoonosis: emerg. *Infect Dis. US Nat. Lib. Med. Nat. Inst. Health.* 8(4): 355-359.
- Soto, E., Abrams, SB., & Revan, F. 2012. Effects of temperature and salt concentration on *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis* infections in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Di. Aqua. Org.* 101: 217-23.
- Steinel, NC, & Bolnick, DI. 2017. Melanomacrophage centers as a histological indicator of immune function in fish and other poikilotherms. *Front. in Immunol.* 8: 827-827.
- Stentiford, GD., Sritunyalucksana, K., Flegel, TW., Williams, BAP., Withyachumnarnkul, B., Itsathitpaisarn, O., & Bass, D. 2017. New paradigms to help solve the global aquaculture disease crisis. *PLOS Pathog.* 13: e1006160.
- Stewart, PS., & Costerton, JW. 2001. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet.* 358: 135-138. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1).
- Stosik, M., Deptula, W. & Travnicek, M. 2001. Resistance in carp *Cyprinus carpio* affected by natural bacterial infection. *Vet. Med. (Czech).* 46(1): 6-11.
- Stubbs, JA. 1985. Ecological Aspects of Hepatic Microsporidiosis in Coastal Waters with Particular Reference to The Host *Taurulus bubalis*. Dissertation. University of Plymouth, Pearl.
- Su, X. 1993. Taxonomic and Biological Studies of Protozoan Parasites in Tasmanian Marine Fishes. Dissertation, University of Tasmania, Hobart.
- Subasinghe, RP., Bondad-Reantaso, MG., & McGladdery, SE. 2001. Aquaculture development, health and wealth. Tech. proceeding of the conf. on aqua. Bangkok.
- Sufardin, Sriwulan, & Anshary, H. 2021. Bacteria associated with *Trichodina* sp. infection of barramundi, *Lates calcarifer* in a fish farm in South Sulawesi, Indonesia. *AAFL Bioflux.* 14(1): 643-654.

- Sulfitri, Bahri, S., Khairuddin, Sumarni, NK., & Rahim, EA. 2020. Comparison of cork fish (*Channa striata*) Albumin content from boiling and steaming process by using biuret test. *Kovalen: J. Ris. Kim.* 6(1): 67-73.
- Sun, HY., Noe, J., Barber, J., Coyne, RS., Cassidy-Hanley, D., Clark, TG., Findly, RC., & Dickerson, HW. 2009. Endosymbiotic bacteria in the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *App. Env. Microb.* 75: 7445-7452.
- Surat Keputusan Badan Karantina Ikan pengendalian mutu dan keamanan hasil perikanan (SK-BKIPM), 2015. Petunjuk teknis pemantauan hama dan penyakit ikan karantina. Badan Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan. Jakarta.
- Susilowati, F. 2020. Pembenihan dan Pembesaran Ikan Kakap Putih *Lates calcarifer* di Balai Perikanan Budidaya Laut (BPBL) Batam, Kepulauan Riau. Laporan Akhir Ahli Madya Program Studi Teknologi Produksi dan Manajemen Perikanan Budidaya. Sekolah Vokasi IPB, Bogor.
- Tang, F., & Zhao, Y. 2007. Taxonomic studies of three species of *Trichodina* Ehrenberg, 1838 with pathologic research into gill tissue of *Carassius auratus* caused by *Trichodina heterodentata* Duncan, 1977: a study of trichodinids from freshwater fishes in Chongqing II. *J. Chongqing Normal Univ.* 24: 8-14
- Tang, F., Zhang, Y., & Zhao, Y. 2017. Morphological and molecular identification of the new species, *Trichodina pseudoheterodentata* sp.n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, in Chongqing China. *J. Euk. Microb.* 64: 45-55.
- Tantry, TA., Nazir, R., Chishti, MZ., Ahmad, F., Dar, GH., & Dar, JS. 2016. A report on the incidence of *Trichodina heterodentata* from fishes of Jammu, J&K India. *J. Par. Dis.* 40(2): 524-527.
- Tarwiyah, 2001. Pembesaran Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) di Keramba Jaring Apung. Direktorat Jenderal Perikanan, Departemen Pertanian. Jakarta. 5 Hal.
- Tavares-Dias, M., Affonso, EG., Olivera, SR., Marcon, JL., & Egani, MI. 2008. Comparative study on hematological parameters of farmed matriona, *Brycon amazonicus* Spix and Agassiz, 1829 (Characidae: Bryconinae) with others Bryconinae species. *Acta Amaz.* 38(4): 799-806.
- Telfer, S., Birtles, R., Bennett, M., Lambin, X., Paterson, S., & Begon, M. 2008. Parasite interactions in natural populations: Insights from longitudinal data. *Parasitol.* 135(7): 767-781. <https://doi.org/10.1017/s0031182008000395>
- Teitelbaum, AB., Yeeting, JK., & Ponia, B. 2010. Aquarium trade in the Pacific. *SPC Live Reef Fish Inf. Bull.* #19 – August 2010.
- Terceti, MS., Ogut, M., & Osorio, CR. 2016. Photobacterium damsela subsp. damsela: an emerging fish pathogen in the Black Sea: evidence of a multiclonal origin. *Appl. Environ. Microbiol.* 82: 3736-3745.

- Thilakaratne, IDSIP., Rajapaksha, G., Hewakopara, A., Rajapakse, RPVJ., & Faizal, ACM. 2003. Parasitic infections in freshwater ornamental fish in Sri Lanka. *Dis. Aqu. Org.* 54(2): 157-162. DOI: 10.3354/dao054157
- Thoney, DA. & Hargis, WJ. 1991. Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Ann. Rev. Fish Dis.* 2: 133-153.
- Tierney, KB., Farrel, AP., & Kennedy, CJ. 2004. The differential leucocyte landscape of four teleosts: juvenile *Oncorhynchus kisutch*, *Clupea pallasii*, *Culapea inconstans* and *Pimephales promelas*. *J. Fish Biol.* 65: 906-919.
- Tkachenko, H., Kurhaluk, N., Andriichuk, A., Gasiuk, E., & Beschasni, S. 2014. Oxidative stress biomarkers in liver of sea trout (*Salmo trutta m. trutta* L.) affected by ulcerative dermal necrosis syndrome. *Turk. J. Fish Aqua. Sci.* 14: 391-402.
- Toranzo, AE., Magarinos, B., & Romalde, JL. 2005. A review of the main bacterial fish diseases in mariculture systems. *Aqua.* 246: 37-61.
- Tort, L. 2011. Stress and immune modulation in fish. *Dev. Comp. Immunol.* 35(12): 1366-1375.
- Triana, H. 2010. Analisis fragmen DNA ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yang tahan dan rentan terhadap bakteri *Vibrio alginolyticus*. *J. Ilmu Dasar.* 11(1): 8-16.
- Triyaningsih, Sarjito, & Prayitno, SB. 2014. Patogenisitas *Aeromonas hydrophila* yang diisolasi dari Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang berasal dari Boyolali. *J. Aqua. Man. Tech.* 3(2): 11-17.
- Trujillo-González, A., Becker, JA., Vaughan, DB., & Hutson, KS. 2018. Monogenean parasites infect ornamental fish imported to Australia. *Parasitol. Res.* 117 (s1): 17 pp. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5776-z>
- Trujillo-González, A., Constantinoiu, CC., Rowe, R., & Hutson, KS. 2015. Tracking transparent monogenean parasites on fish from infection to maturity. *Int. J. Parasitol.* 4(3): 316-322. <https://doi.org/10.1016/j.ij-ppaw.2015.06.002>
- Tu, X., Ling, F., Huang, A., & Wang, G. 2015. An infection of *Gyrodactylus kobayashii* Hukuda, 1940 (Monogenea) associated with the mortality of goldfish (*Carassius auratus*) from central China. *Parasitol. Res.* 114: 737-745
- Tucker, J., Russell, D., & Rimmer, M. 2002. Barramundi Culture: A Success Story for Aquaculture in Asia and Australia, 33. *World Aqua.* Baton Rouge. pp.53-59.
- Tytell, ED. 2006. Median fin function in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*: Streamwise vortex structure during steady swimming. *J. Exp. Biol.*, 209: 1516-1534.

- Umara, A., Bakri, M., & Hambal, M. 2014. Identifikasi parasit pada ikan gabus (*Channa striata*) di Desa Meunasah Manyang Lamlhom, Kecamatan Lhoknga Aceh Besar. *J. Med. Vet.* 8: 110-112.
- Umasugi, S., & Burhanuddin, A. 2015. Analisis prevalensi dan intensitas ektoparasit ikan kerapu tikus (*Cromileptes altevalis*) di keramba jaring apung Perairan Teluk Kayeli Kabupaten Buru. *J. Agr. Perikan.* 8(1): 13-20 DOI: 10.29239/j.agrikan.8.1.13-20
- UNEP, 2013. Green Economy and Trade – Trends, Challenges and Opportunities.
- Urawa, S., & Arthur, JR. 1991. First record of the parasitic ciliate *Trichodina truttae* Mueller, 1937 on chum salmon fry (*Oncorhynchus keta*) from Japan. *Fish Path.* 26: 83-89.
- Urawa, S., & Yamao, S. 1992. Scanning electron microscopy and pathogenicity of *Chilodonella piscicola* (Ciliophora) on juvenile salmonids. *J. Aqua. An. Health.* 4: 188-197.
- Uribe, C., Folch, H., Enríquez, R., & Moran, G. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: A review. *Vet Med* 56(10): 486-503.
- Utami, RH., Setyawan, A., Diantari, R., & Hudaidah, S. 2014. Identifikasi parasit pada ikan badut (*Amphiprion percula*) di Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung. *J. Rek. & Tek. Bud.* 2(2): 1-4.
- Valladao, GM., Gallani, SU., De Padua, SB., Martins, ML., & Pilarski, F. 2014. *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae, a host-parasite relationship study. *Parasitol.* 141: 662-669.
- Vallejos-Vidal E, Reyes-López F, Teles M, & MacKenzie S. 2016. The response of fish to immunostimulant diets. *Fish Shell Immunol.* 56: 34-69.
- Van Dyk, JC., Marchand, MJ., Smit, NJ., & Pieterse, GM. 2009. A histology-based fish health assessment of four commercially and ecologically important species from the Okavango Delta panhandle, Botswana. *Afr. J. Aquat. Sci.* 34: 273-282.
- Vasemägi, A, Visse M, & Kisand V. 2017. Effect of environmental factors and an emerging parasitic disease on gut microbiome of wild salmonid fish. *Am. Soc. Mic. mSphere.* 2(6): e00418-17. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00418-17>.
- Vezzulli, L., Chelossi E., Riccardi G., & Fabiano M., 2002 Bacterial community structure and activity in fish farm sediments of the Ligurian sea (Western Mediterranean). *Aqua. Int.* 10: 123-141.

- Villegas, G., & Mulero, V. 2014. Current knowledge on the development and functionality of immune responses in the European seabass (*Dicentrarchus labrax*). pp: Vazquez, F., Cueto, J. (Eds.), Biology of European seabass. CRC Press. Boca Raton, London, New York. pp. 342-373.
- Wang, Z., Zhou, T., & Gu, Z. 2017. New data of two trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Trichodinidae) from farmed freshwater fishes in Hubei, China. *Eur. J. Parasitol.* 60: 50-59.
- Wang, Z., Zhou, T., Guo, Q., & Gu, Z. 2016. Description of a new freshwater ciliate *Epistylis wuhanensis* n.sp. (Ciliophora, Peritrichia) from China, with a focus on phylogenetic relationships within family epistylididae. *J. Euk. Microb.* 64(3): 394-406. DOI: 10.1111/jeu.12375
- Whittington, ID., & Ernst, I. 2002. Migration, site-specificity and development of *Benedenia lutjani* (Monogenea: Capsalidae) on the surface of its host, *Lutjanus carponotatus* (Pisces: Lutjanidae). *Parasitol.* 124(4): 423-434. DOI: 10.1017/s0031182001001287
- Widya, NL., Budiharjo, A., & Pangastuti, A. 2016. Bakteri heterotrof aerobik asal saluran pencernaan ikan sidat (*Anguilla bicolor bicolor*) dan potensinya sebagai probiotik. *Biotek.* 13(1): 9-17.
- Wiegertjes, GF., Stet, RJM., Parmentier, HK., & VanMuiswinkel, WB. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish; a comparable approach. *Dev. Comp. Immunol.* 20: 365-381.
- Willem, B., Muiswinkel, V., Geer, F., Wiegertjes., Egberts, E., & Stet, RJM. 1997. Immunogenic of disease resistance on fish. The 7th congress of the ISDCi: session G9 4:00. 21(2): 139-144
- Williams, EH., & Bunkley, LW. 1996. Parasites Off Shore Big Game Fishes of Puerto Rico and The Western Atlantic. Puerto Rico. Department of Natural Environmental Resources and University of Puerto Rico, Rio Piedras.
- Woo, PTK. 2006. Fish Diseases and Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections Second Edition. CAB Inter. Canada.
- Woo, PTK., & Bruno, DW. 2014. Diseases and Disorders of Finfish in Cage Culture, second Edition. CABI, Boston USA, 342 pp.
- Wood, EM. 2001. Collection of Coral Reef Fish for Aquaria: Global Trade, Conservation Issues and Management Strategies. Marine Conservation Society, Herefordshire, United Kingdom.
- Wootten. R. 1974. The spatial distribution of *Dactylogyrus amphibothrium* on the gills of ruffe *Gymnocephalus cernua* and its relation to the relative amounts of water passing over the parts of the gills. *J. Helminth.* 48: 167-174.
- Xu, DH., Shoemaker, CA., & Klesius, P. 2007. Evaluation of the link between Gyrodactylosis and streptococcosis of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *J. Fish Dis.* 30(4): 233-238.

- Xu, DH., Shoemaker, CA., & Klesius, PH. 2009. Enhanced mortality in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* following coinfections with *Ichthyophthiriasis* and *Streptococcosis*. *Dis. Aqu. Org.* 85(3): 187-192.
- Xu, DH., Shoemaker, CA., & Klesius, PH. 2012. *Ichthyophthirius multifiliis* as a potential vector of *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish. *FEMS Mic. Let.* 329(2): 160-167.
- Xu, DH., Shoemaker, CA., & LaFrentz, BR. 2014. Enhanced susceptibility of hybrid tilapia to *Flavobacterium columnare* after parasitism by *Ichthyophthirius multifiliis*. *Aqua.* 430: 44-49.
- Xu, DH., Shoemaker, CA., & Zhang, D. 2015. Treatment of *Trichodina* sp. reduced load of *Flavobacterium columnare* and improved survival of hybrid tilapia. *Aqua. Reports.* 2: 126-131.
- Xu, K., Song, W., Warren, A., & Choi, JK. 2000. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichia) of some marine fishes from coastal regions of the Yellow Sea and Bohai Sea. *Syst. Parasitol.* 50: 69-79.
- Yang, JL., & Chen, HC. 2003. Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry and erythrocyte morphology. *Chemosphere* 53:877-882.
- Yanong, RPE. 2016. Lymphocystis disease in fish. IFAS Extension, University of Florida.
- Ye, YW., Fan, TF., Li, H., Lu, JF., Jiang, H., & Hu, W. 2013. Characterization of *Aeromonas hydrophila* from hemorrhagic diseased freshwater fishes in Anhui Province, China. *Int. Food Res. J.* 20(3): 1449-1452.
- Yemmen, C., Quilichini, Y., Ktari, MH., Marchand, B., & Bahri, S. 2010. Morphological, ecological and histopathological studies of *Trichodina gobii* Raabe, 1959 (Ciliophora: Peritrichida) infecting the gills of *Solea aegyptiaca*. *Protistol.* 6(4): 258-263.
- Yemmen, C., Ktari, MH., & Bahri, S. 2011. Seasonality and histopathology of *Trichodina puytoraci* Lom, 1962, a parasite of flathead mullet (*Mugil cephalus*) from Tunisia. *Acta Adriat.* 52(1): 15-20.
- Yifang, C., Shaolin, W., Shuangyang, D., Jianzhong, S., & Zhu, K. 2020. oxins and mobile antimicrobial resistance genes in *Bacillus* probiotics constitute a potential risk for one health. *J. Hazard. Mat.* 382: 121-266.
- You, P., Guo, Z., King, SD., & Cone, DK. 2010. A new gyrodactylid species from *Cobitis granoei* (Rendahl) (Cobitidae) in Central China, *J. Parasitol.* 96: 897–899. <https://doi.org/10.1645/GE-2443.1>.
- Yuwono, T. 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Erlangga, Jakarta.

- Zaenuddin, A., Nuraini, L., Faries, A., and Wahyuningsih, S. 2019. Pengendalian penyakit vibriosis pada ikan kakap putih. *J. Perek. Bud. Air Payau & Laut.* 14: 77-83
- Zafran, Roza, D., & Mahardika, K. 2019. Prevalensi ektoparasit pada ikan budidaya di karamba jaring apung di Teluk Kaping, Buleleng, Bali. *J. Fish Mar. Res.* 3(1): 32-40.
- Zafran, Roza, D., Koesharyani, I., Johnny, F., & Yuasa, K. 1998. Manual for Fish Diseases Diagnosis: Marine Fish and Crustacean Diseases in Indonesia. Gondol Research Station for Coastal Fisheries and Japan International Cooperation Agency, 44 pp.
- Zafran, Roza, D., Koesharyani, I., Johnny, F., & Yuasa, K. 2000. Diagnosis and Treatments for Parasitic Diseases, Humpback Grouper, *Cromileptes altivelis* Broodstock. Gondol Research Institut for Fisheries, Bali.
- Zamri-Saad, M., Azmai, MNA., Sitti-Zahrah, A., & Zulkafli, AR. 2014. Control and prevention of streptococcosis in cultured tilapia in Malaysia: A Review. *Pert. J. Trop. Agr. Sci.* 37(4): 389-410
- Zheila, PRN. 2013. Prevalensi dan intensitas *Trichodina* sp. pada benih ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di desa tambakrejo, Kabupaten Pacitan. Paper. Fakultas Matematika dan Ilmu Penegtahuan Alam, ITS. Surabaya. pp. 1-11.
- Zhang, X., Shen, Y., Xu, X., Zhang, M., Bai, Y., Miao, Y., Fang, Y., Zhang, J., Wang, R., & Li, J. 2018. Transcriptome analysis and histopathology of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) spleen infected by *Aeromonas hydrophila*. *Fish Shell Immunol.* 83: 330-340. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.09.047
- Zhuo, LC., Zamhari, DNJBA., Yong, ASK., Shapawi, R., & Lin, YH. 2020. Pathogenicity and histopathology of infectious spleen and kidney necrosis virus genotype II (ISKNV-II) recovering from mass mortality of farmed Asian seabass, *Lates calcarifer*, in Southern China. *Aqua.* 534(8): 1-11.
- Ziętara, MS., & Lumme, J. 2004. Comparison of molecular phylogeny and morphological systematics in fish parasite genus *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 (Monogenea, Gyrodactylidae). *Zool. Pol.* 49: 5-28 DOI: 10.1016/j.ecoenv.2003.08.025
- Zorrilla, MA., Chabrillon, AS., Rosales, PD., Manzanares, EM., Balebona, MC., & Morinigo, MA. 2003. Bacteria recovered from diseased cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) in southwestern Spain. *Aqua.* 218: 11-20.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Kruskal-Wallis Infestasi *Gyrodactylus* sp. berdasarkan sirip

Ranks

	sirip	N	Mean Rank
numberparasite	siripekor	30	104.87
	sirippunggung	30	32.73
	siripdubur	30	45.42
	siripperut	30	58.98
	Total	120	

Test Statistics^{a,b}

numberparasite	
Kruskal-Wallis H	73.989
df	3
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sirip

Lampiran 2. Regresi liner infestasi *Gyrodactylus* sp. terhadap interval berat ikan

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,982328							
R Square	0,964969							
Adjusted R Square	0,947453							
Standard Error	0,295935							
Observations	4							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	4,824844	4,824844	55,09211	0,017672			
Residual	2	0,175156	0,087578					
Total	3	5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	0,580525	0,297945	1,948429	0,190706	-0,70143	1,862479	-0,70143	1,862479
X Variable 1	0,004024	0,000542	7,422406	0,017672	0,001691	0,006357	0,001691	0,006357

Lampiran 3. Uji Kruskal-Wallis intensitas *Gyrodactylus* sp. berdasarkan interval panjang ikan

Ranks			
	kelaspanjang	N	Mean Rank
prevalensi	1-2 cm	4	6.00
	2.5-3.6	4	3.00
Total		8	

Test Statistics^{a,b}

prevalensi	
Kruskal-Wallis H	3.000
df	1
Asymp. Sig.	.083

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

kelaspanjang

Lampiran 4. Regresi linier infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval panjang ikan dari Takalar

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,999613
R Square	0,999225
Adjusted R Square	0,99845
Standard Error	0,039366
Observations	3

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	1,99845	1,99845	1289,613	0,017723
Residual	1	0,00155	0,00155		
Total	2	2			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	0,650564	0,043916	14,81395	0,042909	0,092563	1,208565	0,092563	1,208565
X Variable 1	0,006426	0,000179	35,91119	0,017723	0,004152	0,0087	0,004152	0,0087

Lampiran 5. Regresi linier Infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval panjang ikan dari Situbondo

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,996208							
R Square	0,99243							
Adjusted R Square	0,984859							
Standard Error	0,123049							
Observations	3							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	1,984859	1,984859	131,0918	0,054462			
Residual	1	0,015141	0,015141					
Total	2	2						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	-2,51825	0,400967	-6,28045	0,100522	-7,61302	2,576517	-7,61302	2,576517
X Variable 1	0,0039	0,000341	11,44953	0,055462	-0,00043	0,008227	-0,00043	0,008227

Lampiran 6. Regresi linier Infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval berat ikan dari Takalar

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,766899							
R Square	0,588135							
Adjusted R Square	0,17627							
Standard Error	0,907596							
Observations	3							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	1,17627	1,17627	1,427979	0,443597			
Residual	1	0,82373	0,82373					
Total	2	2						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	4,775468	2,380981	2,005673	0,294447	-25,4778	35,02869	-25,4778	35,02869
X Variable 1	-0,01322	0,01106	-1,19498	0,443597	-0,15375	0,127314	-0,15375	0,127314

Lampiran 7. Regresi linier Infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval berat ikan dari Situbondo

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,69675
R Square	0,48546
Adjusted R Square	-0,02908
Standard Error	1,014435
Observations	3

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	0,970921	0,970921	0,943485	0,509257
Residual	1	1,029079	1,029079		
Total	2	2			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	5,640691	3,793628	1,486886	0,376919	-42,5619	53,84331	-42,5619	53,84331
X Variable 1	-0,00314	0,003235	-0,97133	0,509257	-0,04425	0,037961	-0,04425	0,037961

Lampiran 8. Regresi linier Infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval berat ikan dari Gondol

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,998899							
R Square	0,997799							
Adjusted R Square	0,995599							
Standard Error	0,06634							
Observations	3							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	1,995599	1,995599	453,436	0,029875			
Residual	1	0,004401	0,004401					
Total	2	2						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	0,153991	0,094776	1,624801	0,351229	-1,05025	1,358229	-1,05025	1,358229
X Variable 1	0,009548	0,000448	21,29404	0,029875	0,003851	0,015246	0,003851	0,015246

Lampiran 9. Regresi linier Infestasi *Trichodina* sp. terhadap interval panjang ikan dari Gondol

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,902218
R Square	0,813998
Adjusted R Square	0,627996
Standard Error	0,609921
Observations	3

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	1,627996	1,627996	4,376286	0,283875			
Residual	1	0,372004	0,372004					
Total	2	2						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	5,384364	1,655679	3,252059	0,189917	-15,653	26,42175	-15,653	26,42175
X Variable 1	-0,01751	0,008368	-2,09196	0,283875	-0,12383	0,088819	-0,12383	0,088819

Lampiran 10. Regresi linier prevalensi *Trichodina* sp. berdasarkan kelompok ukuran ikan yang diuji

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,649344							
R Square	0,421648							
Adjusted R Square	0,363813							
Standard Error	2,875837							
Observations	12							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	60,29563	60,29563	7,290502	0,02231			
Residual	10	82,70437	8,270437					
Total	11	143						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	8,051913	1,00973	7,97432	1,21E-05	5,802094	10,30173	5,802094	10,30173
X Variable 1	-0,06106	0,022614	-2,70009	0,02231	-0,11145	-0,01067	-0,11145	-0,01067

Lampiran 11. Regresi linier intensitas *Trichodina* sp. berdasarkan kelompok ukuran ikan yang diuji

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,623633							
R Square	0,388918							
Adjusted R Square	0,32781							
Standard Error	2,95609							
Observations	12							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	55,61532	55,61532	6,364424	0,030243			
Residual	10	87,38468	8,738468					
Total	11	143						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	8,039953	1,049198	7,66295	1,71E-05	5,702194	10,37771	5,702194	10,37771
X Variable 1	-0,70802	0,280652	-2,52278	0,030243	-1,33336	-0,08269	-1,33336	-0,08269

Lampiran 12. Uji Kruskal-Wallis jumlah bakteri berdasarkan tingkat infeksi parasit

Ranks			
	infection_rate	N	Mean Rank
number_ofbacteria	light	9	9.78
	moderate	9	10.11
	heavy	4	18.50
	Total	22	

Test Statistics^{a,b}	
	number_ofbacteria
Kruskal-Wallis H	6.501
df	2
Asymp. Sig.	.039

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: infection_rate

Lampiran 13. Kruskal-Wallis jumlah bakteri berdasarkan panjang ikan

Ranks

	fishlength	N	Mean Rank
numberofbacteria	9.5	4	17.00
	8.5	4	9.75
	7.1	4	8.00
	6.5	4	12.75
	2.8	4	5.00
	Total	20	

Test Statistics^{a,b}

bactnumberofbacteria	
Kruskal-Wallis H	10.599
df	4
Asymp. Sig.	.031

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: fishlength

Lampiran 14. Kruskal-Wallis infestasi parasit berdasarkan panjang ikan

Ranks			
	fishlengthinterval	N	Mean Rank
parasitesnumber	1-3.5	5	5.00
	3.6-7.0	5	7.20
	7.1-9.5	4	11.00
	Total	14	

Test Statistics^{a,b}

	parasitesnumber
Kruskal-Wallis H	6.263
df	2
Asymp. Sig.	.044

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

fishlengthinterval

Lampiran 15. Patogenisitas bakteri

Patogenisitas bakteri pada ikan sehat (tidak terinfeksi *Trichodina* sp.)

Bakteri	Perlakuan (Cfu/mL)	ΣIkan (Ind.)			Mortalitas		LC ₅₀
		Diperiksa	Mati	Hidup	Rasio	%	
<i>A. caviae</i>	1,3 x 10 ⁹	30	5	25	5/30	16,67	6,0
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	6,67	
	1,3 x 10 ⁵	30	1	29	1/30	3,33	
	Kontrol	30	0	30	0/30	0,00	
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,3 x 10 ⁹	30	4	26	4/30	13,33	8,1
	1,3 x 10 ⁷	30	1	29	1/30	3,33	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	0,00	
	Kontrol	30	0	30	0/30	0,00	
<i>Ph. damsela</i>	1,3 x 10 ⁹	30	5	25	5/30	16,67	7,6
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	6,67	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	0,00	
	Kontrol	30	0	30	0/30	0,00	

Patogenisitas bakteri pada ikan yang terinfeksi *Trichodina* sp.

Bakteri	Perlakuan (Cfu/mL)	ΣIkan (Ind.)			Mortalitas		LC ₅₀
		Diperiksa	Mati	Hidup	Rasio	%	
<i>A. caviae</i>	1,3 x 10 ⁹	30	9	21	9/30	30,00	5,0
	1,3 x 10 ⁷	30	7	23	7/30	23,33	
	1,3 x 10 ⁵	30	3	27	3/30	10,00	
	Kontrol	30	0	30	0/30	0,00	
<i>Ps. aeruginosa</i>	1,3 x 10 ⁹	30	7	23	7/30	23,33	7,4
	1,3 x 10 ⁷	30	2	28	2/30	6,67	
	1,3 x 10 ⁵	30	0	30	0/30	0,00	
	Kontrol	30	0	30	0/30	0,00	
<i>Ph. damsela</i>	1,3 x 10 ⁹	30	6	24	6/30	20,00	6,1
	1,3 x 10 ⁷	30	5	25	5/30	16,67	
	1,3 x 10 ⁵	30	1	29	1/30	3,33	
	kontrol	30	0	30	0/30	0,00	

Lampiran 16. Regresi linier persen mortalitas ikan pada semua perlakuan

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,327488
R Square	0,107248
Adjusted R Square	0,066669
Standard Error	6,831293
Observations	24

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	123,3356	123,3356	2,642911	0,118254
Residual	22	1026,664	46,66657		
Total	23	1150			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	10,43058	1,88807	5,52447	1,49E-05	6,514967	14,3462	6,514967	14,3462
X Variable 1	0,24833	0,152752	1,625703	0,118254	-0,06846	0,565119	-0,06846	0,565119

Lampiran 17. Regresi linier persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Aeromonas caviae*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,795562							
R Square	0,632919							
Adjusted R Square	0,571739							
Standard Error	1,602986							
Observations	8							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	26,58261	26,58261	10,34518	0,01822			
Residual	6	15,41739	2,569564					
Total	7	42						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	2,528126	0,834895	3,028075	0,023155	0,485211	4,571042	0,485211	4,571042
X Variable 1	0,175278	0,054495	3,216393	0,01822	0,041933	0,308622	0,041933	0,308622

Lampiran 18. Regresi persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,59487							
R Square	0,35387							
Adjusted R Square	0,246181							
Standard Error	2,126714							
Observations	8							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	14,86253	14,86253	3,286054	0,119818			
Residual	6	27,13747	4,522911					
Total	7	42						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	3,499819	0,932626	3,752651	0,00948	1,217766	5,781872	1,217766	5,781872
X Variable 1	0,171484	0,094599	1,812748	0,119818	-0,05999	0,40296	-0,05999	0,40296

Lampiran 19. Regresi linier persen mortalitas ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Photobacterium damsela*

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,671948
R Square	0,451514
Adjusted R Square	0,360099
Standard Error	1,95944
Observations	8

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	18,96357	18,96357	4,939196	0,06797
Residual	6	23,03643	3,839405		
Total	7	42			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	2,973059	0,975692	3,047128	0,022595	0,585626	5,360493	0,585626	5,360493
X Variable 1	0,192856	0,086777	2,22243	0,06797	-0,01948	0,405193	-0,01948	0,405193

Lampiran 20. Regresi linier eritrosit pada semua perlakuan bakteri

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,755738
R Square	0,57114
Adjusted R Square	0,499663
Standard Error	1,732635
Observations	8

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	23,98786	23,98786	7,990566	0,030086
Residual	6	18,01214	3,002023		
Total	7	42			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	16,01509	4,119402	3,887721	0,008098	5,935272	26,0949	5,935272	26,0949
X Variable 1	-1,82417	0,645323	-2,82676	0,030086	-3,40322	-0,24512	-3,40322	-0,24512

Lampiran 21. Regresi linier leukosit pada semua perlakuan bakteri

SUMMARY OUTPUT 2

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,285273
R Square	0,08138
Adjusted R Square	-0,07172
Standard Error	2,535811
Observations	8

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	3,417978	3,417978	0,531539	0,493425
Residual	6	38,58202	6,430337		
Total	7	42			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	2,265169	3,193749	0,709251	0,504782	-5,54965	10,07999	-5,54965	10,07999
X Variable 1	0,438202	0,601045	0,729067	0,493425	-1,0325	1,908906	-1,0325	1,908906

Lampiran 22. Regresi linier limfosit darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Aeromonas caviae*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,84639							
R Square	0,716376							
Adjusted R Square	0,64547							
Standard Error	1,113936							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	12,53658	12,53658	10,10318	0,033582			
Residual	4	4,963418	1,240855					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	-5,50991	2,870846	-1,91926	0,127379	-13,4807	2,460832	-13,4807	2,460832
X Variable 1	0,144932	0,045597	3,178551	0,033582	0,018335	0,271528	0,018335	0,271528

Lampiran 23. Regresi linier monosit darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Aeromonas caviae*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R		0,852109						
R Square		0,72609						
Adjusted R Square		0,657612						
Standard Error		1,094695						
Observations		6						
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	12,70657	12,70657	10,60332	0,03119			
Residual	4	4,793431	1,198358					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	7,649957	1,350536	5,664385	0,00479	3,900267	11,39965	3,900267	11,39965
X Variable 1	-0,2567	0,078832	-3,25627	0,03119	-0,47557	-0,03783	-0,47557	-0,03783

Lampiran 24. Regresi linier neutrofil darah ikan pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,827349							
R Square	0,684507							
Adjusted R Square	0,605634							
Standard Error	1,174854							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	11,97887	11,97887	8,678571	0,042139			
Residual	4	5,521127	1,380282					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	13,83099	3,539501	3,907609	0,017429	4,003755	23,65822	4,003755	23,65822
X Variable 1	-0,38028	0,129087	-2,94594	0,042139	-0,73868	-0,02188	-0,73868	-0,02188

Lampiran 25. Regresi linier basofil darah ikan pada semua perlakuan

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,74563
R Square	0,55597
Adjusted R Square	0,48196
Standard Error	1,76302
Observations	8

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	23,3506	23,350599	7,512499	0,0336958
Residual	6	18,6494	3,1082335		
Total	7	42			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	3,51639	0,71924	4,889012	0,002741	1,7564663	5,27632	1,7564663	5,2763204
X Variable 1	0,30654	0,11184	2,7408937	0,033696	0,0328786	0,5802	0,0328786	0,5801991

Lampiran 26. Parameter imun (titer antibodi dan globulin)

Titer antibodi (log₂) pada darah kakap putih yang terinfeksi oleh *Trichodina* sp.

Perlakuan	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	Log ₂
Kontrol 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
Kontrol 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
Kontrol 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
<i>A. caviae</i> 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	4,21
<i>A. caviae</i> 2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	3,61
<i>A. caviae</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3,01
<i>Ps. aeruginosa</i> 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	3,61
<i>Ps. aeruginosa</i> 2	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	2,41
<i>Ps. aeruginosa</i> 3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ph. damsela</i> 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	3,61
<i>Ph. damsela</i> 2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ph. damsela</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3,01

Titer antibodi (log₂) pada darah kakap putih yang tidak terinfeksi *Trichodina* sp.

Perlakuan	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	Log ₂
Kontrol 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
Kontrol 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
Kontrol 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,00
<i>A. caviae</i> 1	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	3,01
<i>A. caviae</i> 2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3,01
<i>A. caviae</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ps. aeruginosa</i> 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	3,01
<i>Ps. aeruginosa</i> 2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ps. aeruginosa</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ph. damsela</i> 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	2,41
<i>Ph. damsela</i> 2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	3,01
<i>Ph. damsela</i> 3	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	1,81

Globulin (g/dL) pada darah ikan kakap putih setelah eksperimen koinfeksi

Perlakuan	Ulangan	Infeksi tunggal	Koinfeksi
Kontrol	1	2,15	1,32
	2	2,40	1,44
	3	2,04	1,24
<i>A. caviae</i>	1	3,27	2,31
	2	3,00	2,52
	3	2,85	2,59
<i>Ps. aeruginosa</i>	1	2,68	1,15
	2	2,20	1,38
	3	1,20	1,20
<i>Ph. damsela</i>	1	2,63	1,85
	2	1,51	1,41
	3	1,09	1,52

Lampiran 27. Regresi linier rata-rata antibodi pada semua perlakuan bakteri

SUMMARY OUTPUT rata2 antarbakteri

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,879834
R Square	0,774107
Adjusted R Square	0,717634
Standard Error	0,994123
Observations	6

<i>ANOVA</i>					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	13,54688	13,54688	13,70751	0,020792
Residual	4	3,953125	0,988281		
Total	5	17,5			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	14,92188	3,111602	4,79556	0,008676	6,282682	23,56107	6,282682	23,56107
X Variable 1	-3,97074	1,072488	-3,70237	0,020792	-6,94845	-0,99304	-6,94845	-0,99304

Lampiran 28. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan injeksi *Aeromonas caviae*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,931589							
R Square	0,867857							
Adjusted R Square	0,834821							
Standard Error	0,760345							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	15,1875	15,1875	26,27027	0,00686			
Residual	4	2,3125	0,578125					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	12,5	1,783168	7,009996	0,00218	7,549132	17,45087	7,549132	17,45087
X Variable 1	-2,80288	0,546854	-5,12545	0,00686	-4,32119	-1,28457	-4,32119	-1,28457

Lampiran 29. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,574989							
R Square	0,330612							
Adjusted R Square	0,163265							
Standard Error	1,711307							
Observations	6							
<i>ANOVA</i>								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	5,785714	5,785714	1,97561	0,232566			
Residual	4	11,71429	2,928571					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	9,285714	4,175161	2,224037	0,090206	-2,30639	20,87782	-2,30639	20,87782
X Variable 1	-2,13553	1,519337	-1,40556	0,232566	-6,35388	2,082831	-6,35388	2,082831

Lampiran 30. Regresi linier titer antibodi pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Photobacterium damsela*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,662541							
R Square	0,438961							
Adjusted R Square	0,298701							
Standard Error	1,566699							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	7,681818	7,681818	3,12963	0,151603			
Residual	4	9,818182	2,454545					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	8,818182	3,07348	2,869119	0,045509	0,284833	17,35153	0,284833	17,35153
X Variable 1	-1,96296	1,109595	-1,76908	0,151603	-5,04369	1,117772	-5,04369	1,117772

Lampiran 31. Regresi linier globulin pada semua perlakuan bakteri

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,535853
R Square	0,287139
Adjusted R Square	0,254736
Standard Error	6,104358
Observations	24

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	330,2098	330,2098	8,861553	0,006958
Residual	22	819,7902	37,26319		
Total	23	1150			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	23,47194	3,8907	6,032832	4,51E-06	15,40312	31,54076	15,40312	31,54076
X Variable 1	-5,60866	1,884101	-2,97684	0,006958	-9,51604	-1,70127	-9,51604	-1,70127

Lampiran 32. Regresi linier globulin ikan sehat dan ikan terinfeksi *Trichodina* sp.

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,886894
R Square	0,786582
Adjusted R Square	0,733227
Standard Error	0,966284
Observations	6

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	13,76518	13,76518	14,74254	0,018466
Residual	4	3,73482	0,933705		
Total	5	17,5			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	9,462096	1,602116	5,905999	0,004114	5,013909	13,91028	5,013909	13,91028
X Variable 1	-3,37796	0,879768	-3,8396	0,018466	-5,82059	-0,93533	-5,82059	-0,93533

Lampiran 33. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Aeromonas caviae*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,820144							
R Square	0,672635							
Adjusted R Square	0,590794							
Standard Error	1,196754							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	11,77112	11,77112	8,218794	0,045613			
Residual	4	5,72888	1,43222					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	15,56285	4,235979	3,673966	0,021317	3,801882	27,32381	3,801882	27,32381
X Variable 1	-4,37588	1,526376	-2,86684	0,045613	-8,61378	-0,13798	-8,61378	-0,13798

Lampiran 34. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Pseudomonas aeruginosa*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,819326							
R Square	0,671295							
Adjusted R Square	0,589119							
Standard Error	1,199202							
Observations	6							
ANOVA								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	11,74766	11,74766	8,168964	0,046016			
Residual	4	5,752339	1,438085					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	7,376373	1,441913	5,115684	0,006907	3,372979	11,37977	3,372979	11,37977
X Variable 1	-2,37087	0,829515	-2,85814	0,046016	-4,67397	-0,06777	-4,67397	-0,06777

Lampiran 35. Regresi linier globulin pada infeksi tunggal dan koinfeksi dengan *Photobacterium damsela*

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,513054							
R Square	0,263225							
Adjusted R Square	0,079031							
Standard Error	1,795381							
Observations	6							
<i>ANOVA</i>								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	4,60643	4,60643	1,429063	0,297943			
Residual	4	12,89357	3,223392					
Total	5	17,5						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	6,51967	2,630195	2,478779	0,0683	-0,78292	13,82226	-0,78292	13,82226
X Variable 1	-1,80999	1,514088	-1,19543	0,297943	-6,01377	2,393789	-6,01377	2,393789

Lampiran 36. Regresi linier kuantifikasi histopatologi antarperlakuan pada infeksi tunggal

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,646034
R Square	0,417361
Adjusted R Square	0,364393
Standard Error	3,10484
Observations	13

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	75,95962	75,95962	7,879601	0,017058
Residual	11	106,0404	9,640034		
Total	12	182			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	10,30653	1,459132	7,063466	2,09E-05	7,095003	13,51806	7,095003	13,51806
X Variable 1	-0,58883	0,209769	-2,80706	0,017058	-1,05053	-0,12714	-1,05053	-0,12714

Lampiran 37. Regresi linier alterasi organ antarperlakuan pada koinfeksi

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,611307
R Square	0,373696
Adjusted R Square	0,321504
Standard Error	3,44582
Observations	14

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	85,01588	85,01588	7,160029	0,020192
Residual	12	142,4841	11,87368		
Total	13	227,5			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	12,59619	2,115505	5,954224	6,67E-05	7,986901	17,20548	7,986901	17,20548
X Variable 1	-0,66679	0,249191	-2,67582	0,020192	-1,20973	-0,12385	-1,20973	-0,12385

Lampiran 38. Regresi linier alterasi organ semua perlakuan pada infeksi tunggal dan koinfeksi

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,38842
R Square	0,15087
Adjusted R Square	0,116905
Standard Error	7,458886
Observations	27

ANOVA					
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	247,1256	247,1256	4,44191	0,045264
Residual	25	1390,874	55,63498		
Total	26	1638			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	8,99239	2,775952	3,239389	0,003373	3,275209	14,70957	3,275209	14,70957
X Variable 1	0,751142	0,356399	2,107584	0,045264	0,017123	1,48516	0,017123	1,48516