

**KAJIAN INFEKSI PARASIT *Argulus* spp. PADA IKAN AIR
TAWAR**

***Study on Parasite Infection of Argulus spp. in Freshwater
Fish***

AMRIANA



**PROGRAM DOKTOR ILMU PERIKANAN
FAKULTAS ILMU KELAUTAN DAN PERIKANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**KAJIAN INFEKSI PARASIT *Argulus* spp. PADA IKAN AIR
TAWAR**

***Study on Parasite Infection of Argulus spp. in Freshwater
Fish***

**Amriana
L013181014**

DISERTASI

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Doktor

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

HALAMAN PENGESAHAN DISERTASI

Kajian Infeksi Parasit *Argulus* spp. pada Ikan Air Tawar

Disusun dan diajukan oleh:

**AMRIANA
L013181014**

Telah diperiksa dan disetujui oleh:

Promotor,


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

Co. Promotor,


Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, S.K.H.
NIP. 19730216 199903 2 001

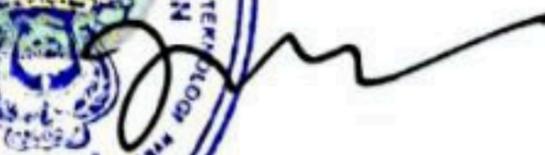
Co. Promotor,


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,


Salruddin S.Pi., MP., Ph.D.
NIP. 19750611 200312 1 003

Tanggal lulus: 23 Maret 2022

PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Amriana
NIM : L013181014
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

Menyatakan bahwa disertasi dengan judul: **"Kajian Infeksi Parasit *Argulus* spp. pada Ikan Air Tawar"**. 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, November 2021



Amriana

L013181014

PERNYATAAN KEPEMILIKAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

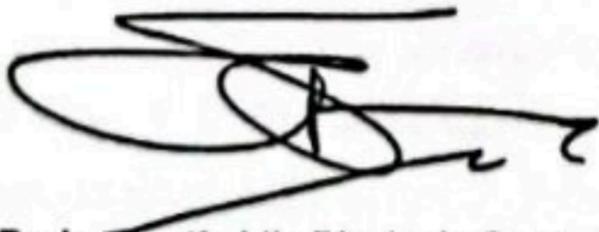
Nama : Amriana
NIM : L013181014
Program Studi : Ilmu Perikanan
Fakultas : Ilmu Kelautan dan Perikanan

menyatakan bahwa disertasi dengan Judul: "Kajian Infeksi Parasit *Argulus* spp. pada Ikan Air Tawar"

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,



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

Penulis,



Amriana
NIM. L013181014

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirahim

Puji dan syukur penulis antarkan kepada Allah SWT atas rahmat berkah dan hidayah-Nya sehingga penulis masih diberi kesehatan dan kesempatan untuk dapat menyelesaikan laporan penelitian ini. Penulis tak lupa antarkan salam dan shalawat kepada nabiuallah Mumammad SAW yang telah menghantarkan umat manusia dari jaman jahiliah ke jaman ber peradaban. Alhamdulillah penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul “Kajian Infeksi Parasit *Argulus* spp pada Ikan Air Tawar” dengan baik. Disertasi ini merupakan tugas akhir yang ditulis untuk memperoleh gelar Doktor pada Program Doktor Ilmu Perikanan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilaksanakan secara bertahap dari tahun 2018 hingga 2020 dengan pendanaan yang diperoleh dari Program Magister Menuju Doktor untuk Sarjana Unggul (PMDSU) *batch* ke-3. Hasil penelitian telah dipublikasikan pada Jurnal Internasional bereputasi dan terindeks SCOPUS.

Pelaksanaan penelitian dan penulisan disertasi ini telah dibantu dan didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Hilal Anshary, M.Sc. selaku promotor, Dr. drh. Dwi Kesuma Sari, S.K.H. dan Dolores V. Baxa, Ph.D sebagai ko-promotor atas segala bantuan, pengetahuan, nasihat, dan bimbingan yang telah diberikan kepada penulis.
2. Tim penguji, Dr. Ir. Gunarto Latama, M.Sc, Dr. Ir. Sriwulan, MP, Dr. Ince Ayu Khairana Kadirah, S.Pi, M.Agr, dan Dr. Ir. Andi Parenrengi, M.Sc, yang telah banyak memberikan saran dan perbaikan kepada penulis.
3. Prof. Dr. Ir. Rachman Syah, MS sebagai penguji eksternal
4. Safruddin, S.Pi, MP., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin
5. Prof. Dr. Ir. Sharifuddin Bin Andy Omar, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Doktor Ilmu Perikanan atas segala nasihat dan arahan selama penulis berstatus sebagai mahasiswa program doktor.
6. Kedua orang tua dan keluarga yang telah memberikan motivasi dan doa serta dukungan kepada penulis
7. Saipul Saparuddin S.Pi dan keluarga yang telah banyak membantu penulis selama melaksanakan penelitian di Danau Towuti, Kaba. Luwu Timur.

8. Pegawai Balai Benih Ikan Air Tawar Bontomarannu, Kab. Gowa yang telah membantu penulis selama melaksanakan penelitian di BBI.
9. Rekan-rekan penulis lainnya yang telah membantu selama melakukan pengambilan data survei.
10. Rekan-rekan laboran Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan, Laboratorium Produktivitas dan Kesuburan Perairan, *Mini Hatchery* FIKP dan pegawai FIKP, atas segala dukungan motivasi dan bantuannya kepada penulis.
11. Teman-teman Magister Program Studi Ilmu Perikanan 2017, Doktor Program Studi Ilmu Perikanan 2018, serta rekan PMDSU UNHAS *Batch 3*.

Penulis menyadari bahwa penulisan disertasi ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, penulis dengan hati dan tangan terbuka mengharapkan saran dan kritik membangun demi kesempurnaan tulisan yang akan datang.

Makassar, Juni 2022

Amriana

RINGKASAN

Amriana. L013181014. “Kajian Infeksi Parasit *Argulus* spp pada Ikan Air Tawar” dibimbing oleh **Hilal Anshary** sebagai promotor, **Dwi Kesuma Sari** sebagai co-promotor I, dan **Dolores V. Baxa** sebagai co-promotor II.

Parasit *Argulus* merupakan ektoparasit yang umumnya menginfestasi ikan air tawar. *Argulus* dilaporkan telah menginfestasi berbagai jenis ikan di perairan alami maupun budidaya. Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi tingkat dan potensi ancaman infestasi *Argulus* pada perairan alami dan tempat budidaya khususnya di Provinsi Sulawesi selatan. Hasil identifikasi morfologi dan analisis molekuler pada spesies *Argulus* yang menginfeksi ikan air tawar di Danau Towuti adalah *Argulus indicus*. Sementara spesies yang menginfeksi induk dan benih ikan mas di kolam budidaya adalah *Argulus foliaceus*. Parasit *A. indicus* telah menginfestasi ikan gabus, betok, nila dan louhan di Danau Towuti. Ikan gabus memiliki tingkat infeksi tertinggi dengan prevalensi 72,13%, Intensitas rata-rata $7,36 \pm 1,87$ dan kelimpahan $5,31 \pm 1,41$ ind/ikan. Tingkat infestasi *A. indicus* pada ikan gabus termasuk kategori sedang hingga berat (73,3-96,7%). Sementara pada kolam budidaya, induk dan benih ikan mas telah terinfestasi *A. foliaceus* dengan infestasi tertinggi pada induk ikan. Prevalensi *A. foliaceus* pada induk ikan berkisar 30-100% dan intensitas rata-rata $2,3 \pm 0,7$ - $12,5 \pm 4,0$ sedangkan pada benih prevalensi 0-48% dan intensitas rata-rata 0 – $1,67 \pm 0,2$. Ukuran tubuh induk ikan mas berpengaruh secara nyata ($P < 0,05$) terhadap infestasi *Argulus*. Pelekatan *A. indicus* pada tubuh ikan menunjukkan reaksi inflamasi sedang pada jaringan kulit ikan gabus seperti peningkatan *melanomacrophage centers* (MMC), hemoragi, nekrosis, dan distribusi leukosit. Sementara pada ikan betok, louhan dan nila menunjukkan reaksi inflamasi rendah seperti distribusi leukosit, hemoragi dan MMC yang tersebar terbatas pada jaringan kulit. Infestasi *A. foliaceus* pada kulit induk dan benih ikan mas menunjukkan reaksi infestasi. Analisis sampel darah ikan menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam parameter hematologi ($P < 0,05$) seperti total leukosit dan presentasi peningkatan monosit antara ikan yang terinfestasi *A. indicus* dan ikan yang tidak terinfestasi dari spesies yang sama. Bakteri asosiasi pada mucus ikan gabus berhasil mengidentifikasi 8 spesies bakteri dengan 2 spesies bakteri pada ikan normal (*Staphylococcus xylosus* dan *Pantoea* sp) dan 6 spesies bakteri pada ikan berparasit (*Micrococcus luteus*, *Bacillus mycoides*, *Acinobacter baumannii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pantoea* sp, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus arlettae*, dan *Acinobacter baumannii*).

Summary

Amriana. L013181014. "Study on Parasite infection of *Argulus* spp in Freshwater Fish" supervised by **Hilal Anshary** as promotor, **Dwi Kesuma Sari** as co-promotor I, and **Dolores V. Baxa** as co-promotor II.

Argulus parasites are ectoparasites that generally infest freshwater fish. *Argulus* is reported to have infested various types of fish in both natural and aquaculture waters. East Luwu and Gowa districts have potential freshwater fish resources in South Sulawesi. However, the case of *Argulus* infestation is a threat to freshwater fisheries activities. This study aims to investigate the level and potential threat of *Argulus* infestation in natural waters and aquaculture areas, especially in the province of South Sulawesi. The results indicated that the *Argulus* parasite had infested snakehead, betok, tilapia and flowerhorn fish from Towuti Lake. Snakehead fish had the highest infection rate with a prevalence of 72.13%, an average intensity of 7.36 ± 1.87 and an abundance of 5.31 ± 1.41 ind/fish. It was found that the level of infestation of *Argulus indicus* in snakehead fish is categorized as moderate to severe (73.3-96.7%). Meanwhile, goldfish broodstock and fry in aquaculture ponds have been infested with *Argulus*, with the highest infestation in brood fish. *Argulus* prevalence in brood fish ranges from 30-100%, and the average intensity is 2.3 ± 0.7 - 12.5 ± 4.0 , while in fry, the prevalence is 0-48%, and the average intensity is 0 – 1.67 ± 0.2 . Body size of carp broodstock had a significant effect ($P < 0.05$) on *Argulus* infestation. The result of morphological identification of *Argulus* species that infect freshwater fish in Towuti Lake is *Argulus indicus*. Meanwhile, the species that infects the broodstock and fry of goldfish in aquaculture ponds is *Argulus foliaceus*. Genetic sequencing results show 90-97% similarity between *A. indicus* and other *Argulus* species. Meanwhile, the *A. foliaceus* samples had 99% - 100% similarity compared to the *A. foliaceus* sequences taken from GenBank. Genetic distance determination showed that the *A. indicus* sequences formed the same klad. At the same time, the *A. foliaceus* sequences from this study sample also formed the same klad as *A. foliaceus* from Iran and China. Further research was conducted to investigate the impact of *Argulus* attachments on fish bodies. The results of the histological analysis showed moderate inflammatory reactions in fish with the highest infestation, such as increased melanomacrophage centers (MMC), haemorrhage, necrosis, and leukocyte distribution in snakehead fish. Meanwhile, other fish showed low inflammatory reactions such as the distribution of leukocytes, haemorrhage and scattered MMC limited to skin tissues. Analysis of fish blood samples showed significant differences in hematological parameters ($P < 0.05$) such as total leukocytes and the presentation of increased monocytes between *A. indicus*-infested fish and uninfested fish of the same species. Associated bacteria in the mucus of snakehead fish identified 8 species of bacteria with 2 species of bacteria in normal fish (*Staphylococcus xylosus* and *Pantoea* sp) and 6 species of bacteria in parasitic fish (*Micrococcus luteus*, *Bacillus mycoides*, *Acinobacter baumannii*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pantoea* sp, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus arlettae*, and *Acinobacter baumannii*).

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN DISERTASI	iii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iv
PERNYATAAN KEPEMILIKAN PENULISAN	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ARTIKEL	xv
I. PENDAHULUAN UMUM	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah, Tujuan Penelitian, Hipotesis, dan Novelti Penelitian..	6
1. Kerangka pikir dan rumusan masalah.....	6
2. Tujuan penelitian.....	7
3. Hipotesis penelitian.....	8
4. Kebaharuan penelitian	8
C. Kerangka Penelitian Disertasi.....	8
II. DESKRIPSI MORFOLOGI DAN MOLEKULER SPESIES <i>Argulus</i> DARI PERAIRAN ALAMI DAN KOLAM BUDIDAYA	10
A. Pendahuluan.....	11
B. Metode Penelitian	12
1. Lokasi studi	12
2. Identifikasi parasit <i>Argulus</i> secara morfologi.....	12
3. <i>Polimerase chain reaction</i> (PCR).....	13
4. Analisis data.....	15
C. Hasil.....	15
1. Identifikasi morfologi	15
2. Analisis genetika	19
D. Pembahasan	21
1. Karakteristik morfologi spesies <i>Argulus</i>	21

	Halaman
2. Analisis molekuler spesies <i>Argulus</i>	23
E. Kesimpulan.....	24
III. INFESTASI PARASIT <i>Argulus</i> PADA IKAN AIR TAWAR DI PERAIRAN ALAM DAN KOLAM BUDIDAYA	25
A. Pendahuluan	26
B. Metode Penelitian.....	27
1. Lokasi studi dan metode pengambilan sampel	27
2. Pengambilan sampel air	29
3. Analisis data	30
C. Hasil	30
1. Infestasi <i>Argulus indicus</i> pada ikan di perairan alami.....	30
2. Infestasi <i>Argulus foliaceus</i> pada ikan di kolam budidaya	33
D. Pembahasan	36
1. Infestasi <i>Argulus indicus</i> pada ikan di perairan alami.....	36
2. Infestasi <i>Argulus foliaceus</i> pada ikan di kolam budidaya	40
E. Kesimpulan	43
IV. DAMPAK INFESTASI <i>Argulus indicus</i> DAN <i>Argulus foliaceus</i> TERHADAP INANG	44
A. Pendahuluan.....	45
B. Metode Penelitian	46
1. Persetujuan komisi etik	46
2. Pengambilan darah dan pembuatan sedimen apus darah	46
3. Pembuatan preparat jaringan (Histologi)	47
4. Bakteri asosiasi parasit <i>Argulus</i>	48
5. Analisis data.....	50
C. Hasil.....	50
D. Pembahasan	52
E. Kesimpulan.....	58
V. PEMBAHASAN UMUM	59
VI. KESIMPULAN UMUM DAN REKOMENDASI	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	76

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Persentase homegenitas spesies <i>Argulus</i>	19
2. Mikrohabitat <i>Argulus indicus</i> pada ikan dari Danau Towuti	32
3. Parameter kualitas air lokasi penangkapan ikan di Danau Towuti	33
4. Prevalensi dan intensitas <i>Argulus foliaceus</i> pada induk dan benih ikan mas .	34
5. Parameter kualitas air pada kolam induk dan benih ikan mas	36
6. Gambaran darah ikan normal dan ikan yang terinfestasi <i>Argulus</i>	51
7. Hasil Identifikasi bakteri dari mukus ikan gabus	52

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Kerangka konsep penelitian.	7
2. Karakter penciri <i>Argulus</i> sp.....	13
3. Dorsal-ventral <i>Argulus indicus</i> dari Danau Towuti	16
4. Organ penciri <i>Argulus indicus</i>	17
5. <i>Argulus foliaceus</i>	18
6. Hubungan filogenetik <i>Argulus indicus</i> dan <i>Argulus foliaceus</i>	20
7. Peta lokasi penelitian	28
8. Infestasi <i>Argulus</i> pada ikan air tawar di Danau Towuti dan BBI Gowa.....	29
9. Prevalensi <i>Argulus indicus</i> pada Ikan air tawar di Danau Towuti	31
10. Kelimpahan dan intensitas parasit <i>Argulus indicus</i> pada ikan di Danau Towuti	31
11. Prevalensi parasit <i>Argulus indicus</i> pada ikan gabus	32
12. Kelimpahan dan intensitas parasit <i>Argulus</i> pada ikan gabus	33
13. Hubungan kelimpahan <i>Argulus foliaceus</i> dengan bobot badan inang	35
14. Mikrohabitat <i>Argulus foliaceus</i> pada ikan mas (<i>Cyprinus carpio</i>).....	35
15. Gambaran histologi kulit ikan	50

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Perbedaan urutan nukleotida spesies <i>Argulus</i>	77
2. Jarak evolusi antara <i>sequence</i> spesies <i>Argulus</i>	84
3. Hasil uji biokimia isolat bakteri menggunakan Vitek-2 <i>Compact</i>	85

DAFTAR ARTIKEL

1. Judul Artikel : *Morphological and molecular description of Argulus Indicus Weber, 1892 (Crustacea: Branchiura) found from striped snakehead fish (Channa striata) in Lake Towuti, Indonesia*
DOI/alamat daring : <http://www.bioflux.com.ro/docs/2021.1373-1382.pdf>
Penulis : Amriana, Dwi Kesuma Sari, Sriwulan, Hilal Anshary
Jurnal : AACL Bioflux 14(3):1373-1382. (*Published*)

2. Judul Artikel : *Prevalence of Argulus indicus, histopathology and hematological properties of infected wild fish in Lake Towuti, Indonesia.*
DOI/alamat daring: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220859>
Penulis : Amriana, Dwi Kesuma Sari, Sriwulan, Hilal Anshary
Jurnal : Biodiversitas 22(8): 3578-3584. (*Published*)

3. Judul Artikel : *Evaluation of Argulus indicus on striped snakehead (Channa striata) in Towuti Lake, South Sulawesi, Indonesia*
DOI/alamat daring: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d230320>
Penulis : Amriana, Dwi Kesuma Sari, Sriwulan, Hilal Anshary
Jurnal : Biodiversitas 23(3): 1353-1360. (*Published*)

I. PENDAHULUAN UMUM

A. Latar Belakang

Peningkatan populasi manusia menuntut tersedianya pangan yang memadai untuk kebutuhan hidup. Ikan merupakan salah satu sumber protein tinggi yang memiliki harga relatif murah, dan menjadi alternatif untuk permintaan pangan global yang tiap tahunnya terus mengalami peningkatan. Perikanan tangkap dan akuakultur menjadi sektor yang diupayakan untuk terus meningkatkan produksi ikan sebagai penyediaan sumber pangan global. FAO (2018) memperkirakan bahwa perikanan dan akuakultur mendukung penghidupan 10-12% populasi dunia, dengan sekitar 60 juta orang terlibat langsung dalam perikanan tangkap dan budidaya. Produksi perikanan dan akuakultur global mencapai 171 juta ton, dengan sekitar 88% dari total produksi tersebut untuk konsumsi manusia secara global. Konsumsi ikan per kapita juga mengalami peningkatan setiap tahunnya dari 10 kg pada tahun 1960-an menjadi lebih dari 20 kg pada 2016 dan diproyeksikan akan terus meningkat. Indonesia merupakan salah satu negara dengan produksi perikanan tangkap dan akuakultur yang cukup tinggi. Produksi perikanan tangkap mencapai 15 juta ton dan akuakultur 15,7 juta ton. Produksi penangkapan perairan umum 557.793 ton dan budidaya air tawar Indonesia mencapai 3,7 juta ton (BPS, 2018). Ikan merupakan sumber protein yang tinggi, sehingga banyak diminati oleh masyarakat dunia. Namun, ikan dapat mengalami penurunan kualitas akibat serangan berbagai jenis parasit (Yooyen *et al.*, 2006). Parasit menjadi perhatian serius untuk populasi ikan di alam maupun pada budidaya ikan karena efeknya dalam melemahkan sistem kekebalan inang dan meningkatkan kerentanan ikan terhadap infestasi sekunder seperti virus, bakteri dan jamur, yang mengakibatkan devaluasi nutrisi ikan dan kematian ikan (Onyedineke *et al.*, 2010).

Infeksi parasit memiliki konsekuensi yang signifikan terhadap biologi inang, dengan efek merusak yang bukan hanya bersifat nutrisi (Frantz *et al.*, 2018). Aktivitas parasit pada inang juga dapat menimbulkan ketidakseimbangan fisiologis yang berpengaruh terhadap pertumbuhan, kelangsungan hidup dan reproduksi inang (Iwanowicz, 2011). Ikan dapat mengalami konsekuensi dari infestasi parasit dengan perubahan perilaku inang yang disadari dalam waktu yang lebih lama jika dibandingkan jenis patogen lainnya. Parasit jarang membunuh inangnya, sebab konsep 'parasit yang baik' harus menghindari kematian inangnya untuk meminimalkan hambatan untuk menemukan inang baru. Namun, parasit pada beberapa kasus infeksi juga dapat menyebabkan kematian inang untuk

memfasilitasi transmisi parasit dalam menginfeksi inang lainnya (Barber *et al.*, 2000).

Ektoparasit merupakan salah satu golongan parasit yang banyak ditemukan menginfestasi berbagai jenis ikan di dunia. Strategi parasit yang kompleks dalam transmisi, reproduksi dan interaksi dengan patogen lain menuntut pemahaman yang lebih dalam untuk pengembangan strategi pengendaliannya. Salah satu ektoparasit yang telah banyak dilaporkan menginfestasi ikan di dunia adalah *Argulus*. Parasit *Argulus* merupakan krustasea dari golongan Branchiura yang terdiri atas 153 spesies yang tersebar di seluruh dunia (Walter & Boxshall, 2021). Penelitian Neethling & Avenant-Oldewage (2016) melaporkan 62 spesies *Argulus* telah terdata di Amerika dan 44,44% dari total spesies *Argulus* telah terlaporkan. Benua Asia dan Afrika di posisi kedua yaitu sebanyak 37 spesies (24,4%) dan terendah pada Benua Australia yaitu sebanyak 5 spesies (3,27%). Sementara, penelitian parasit *Argulus* di Indonesia baru melaporkan 4 spesies (2,61%) yaitu *Argulus indicus*, *A. belones*, *A. japonicus* dan *A. foliaceus* (Neethling & Avenant-Oldewage, 2016; Kismiyati *et al.*, 2018). Penyebaran spesies *Argulus* di Indonesia telah dilaporkan pada berbagai provinsi.

Parasit *Argulus* di Indonesia pertama kali dilaporkan oleh Weber (1892), *Argulus* ditemukan menginfestasi ikan lele lokal di Parahayangan. Penelitian Weber menjelaskan tentang deskripsi morfologi dan morfometrik dari spesies *Argulus* yang diberi nama *Argulus indicus*. Spesies ini kemudian tercatat sebagai spesies parasit yang holotipenya berasal dari Indonesia. Spesies *A. belones* juga ditemukan pertama kali di Indonesia oleh Van Kampen (1909). Spesies ini menginfestasi ikan *Belone schismatorhynchus* di pantai utara Aceh, Sumatera. Kasus infestasi *Argulus* pada perairan alami juga dilaporkan pada tahun 1992. *Argulus* dilaporkan menginfestasi ikan hias *Xiphophorus maculatus* yang dikirim dari Bandar Udara Soekarno Hatta (Alifuddin *et al.*, 2007). Selain ikan hias, kasus infeksi *Argulus* telah juga dilaporkan pada ikan *Tor tambroides* dari kolam budidaya dan dari populasi ikan di Provinsi Aceh (Muchlisin *et al.*, 2014). Infestasi *A. japonicus* juga telah dilaporkan pada berbagai spesies ikan air tawar di Jawa tengah, seperti *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus* dan *Carassius auratus auratus* (Kismiyati *et al.*, 2018). Sementara di Pulau Sulawesi, infestasi *Argulus* juga telah dilaporkan oleh Amrullah *et al.* (2019) yang menemukan infestasi *Argulus* di *Anguilla marmorata* dari Danau Poso. Infestasi *Argulus* pada ikan mas dan nila budidaya juga telah dilaporkan di Kabupaten Sigi (Juwahir *et al.*, 2016) dan Pulau

Sangihe (Manumpil *et al.*, 2015). Kasus-kasus ini menunjukkan bahwa infestasi *Argulus* pada ikan di Indonesia telah tersebar ke berbagai wilayah. Namun, penelitian tentang parasit *Argulus* sp. di Indonesia masih sangat minim terutama dalam identifikasi spesies. Sementara kasus infestasi *Argulus* telah lama ditemukan di Indonesia.

Penelitian *Argulus* di Indonesia setidaknya mulai berkembang dengan pemanfaatan *scanning electron microscope* (SEM) sebagai alat untuk mempelajari profil morfologi dan meristik dari spesies *A. japonicus* (Ghazy, 2020). Hal ini harusnya turut memicu peneliti lainnya untuk mengkaji spesies *Argulus*. Selain itu, peneliti parasit di Indonesia juga harus mulai mempertimbangkan pengaplikasian identifikasi molekuler pada parasit *Argulus* untuk mendukung hasil identifikasi morfologi dan menganalisis silsilah keturunan spesies *Argulus*. Sampai saat ini, pengaplikasian metode analisis molekuler pada spesies *Argulus* dari Indonesia belum memiliki pelaporan, sementara metode molekuler sudah lama diaplikasikan dalam pendataan biodiversitas. Gambaran penelitian *Argulus* di Indonesia mengindikasikan kurangnya kajian yang berkelanjutan dan minat eksplorasi keanekaragaman spesies *Argulus* baik dalam taksonomi morfologi maupun molekuler.

Taksonomi dan molekuler sangat berperan dalam pendataan keanekaragaman hayati. Teknik molekuler yang berbasis analisis filogeni akan menggambarkan konstruksi sejarah evolusi dan hubungan evolusi antara keturunan dan nenek moyang spesies berdasarkan pada kemiripan karakter (Lipscomb *et al.*, 2003; Nadler & De Len, 2011; Yang & Rannala, 2012). Pengurutan gen merupakan salah satu cara yang paling efektif untuk memperoleh informasi yang dapat menjelaskan hipotesis filogenetik. Wilayah gen yang paling banyak digunakan untuk tujuan filogeni adalah wilayah *deoxyribonucleic acid* (DNA) ribosom untuk genom organisme, terutama *internal transcribed spacer* (ITS), 18S dan 28S (Trivendi *et al.*, 2020). Teknik molekuler juga telah lama digunakan untuk filogeni parasit ikan yaitu sejak awal tahun 1990-an (Rohde 1993). Analisis molekuler memiliki peran penting dalam hubungan taksonomi dengan spesies yang ditandai dengan pemisahan morfologis yang sulit untuk diidentifikasi dan siklus hidup yang kompleks. Analisis sekuens DNA, telah banyak digunakan dalam studi filogenetik parasit cacing pada ikan, terutama penelitian pada tiga kelompok Platyhelminthes utama: Cestoda, Digenea dan Monogenea (Muchlisin *et al.*, 2014; Choudhary *et al.*, 2015; García-Vásquez *et al.*, 2021).

Kajian dengan pendekatan berbasis genom juga telah digunakan untuk mengidentifikasi krustase parasit seperti *Argulus*. Oakley & Cunningham (2001), telah melaporkan data sekuens parsial 28S rRNA dari *Argulus* sp ke GenBank. Lavrov *et al.* (2004) juga melakukan penelitian tentang posisi filogenetik Pentastomida dengan membuat analisis filogenetik komparatif menggunakan *pcox1*, *cox2*, dan *pnad4* dan menentukan urutan mtDNA dari *Argulus americanus*. Selanjutnya, Mølller (2009) melaporkan studi filogeni molekuler pertama Branchiura, Pentastomida, dan Maxillopoda lainnya, berdasarkan mitokondria 16S rRNA, 18S, dan 28S rRNA. Sementara, penelitian tentang pendeteksian dini spesies *Argulus* dari telur *Argulus* telah dilaporkan oleh Khan *et al.* (2016). Mereka melakukan identifikasi spesies *Argulus* menggunakan DNA barcode *Cyotchrome C oxidase* subunit I (COI) dari telur *Argulus* yang juga dilakukan pada *Argulus* fase dewasa. Komponen taksonomi morfologi dan molekuler (filogeni) dalam pendataan keanekaragaman parasit, terutama spesies *Argulus*. dapat saling melengkapi. Filogenetik dapat digunakan untuk mengonfirmasi hasil taksonomi morfologi untuk mendukung hipotesis klasifikasi. Perpaduan metode ini dapat meningkatkan ketelitian dalam pendataan keanekaragaman spesies parasit *Argulus* sp. terutama di Indonesia yang masih sangat terbatas.

Kasus infeksi parasit *Argulus* telah banyak dilaporkan dapat menginfeksi berbagai jenis ikan air tawar, air payau, air laut, dan amfibi (Neethling & Avenant-Oldewage, 2016). Kasus infestasi *Argulus* juga telah dilaporkan pada berbagai sistem perairan seperti kolam budidaya, sungai, danau, waduk dan teluk (Öztürk, 2010; Alsarakibi *et al.*, 2014). Selain dapat menempati berbagai sistem perairan, *Argulus* juga dapat bertahan di berbagai kondisi cuaca (Alsarakibi *et al.*, 2014). Parasit *Argulus* berubah menjadi wabah yang banyak menginfestasi ikan-ikan di tempat budidaya maupun di perairan alami. Kasus infestasi *Argulus* sp. telah dilaporkan menyebabkan kerugian ekonomi pada usaha akuakultur dengan terjadinya penurunan bobot tubuh ikan dan meningkatnya biaya perawatan serta menurunnya daya beli konsumen akibat infeksi yang terjadi pada ikan (Walker *et al.*, 2011; Sahoo *et al.*, 2013). Infeksi *Argulus* juga berdampak pada usaha perikanan rekreasi dengan menurunnya minat konsumen dalam kegiatan memancing ikan pada wisata rekreasi perikanan (Taylor *et al.*, 2006). Lebih lanjut infeksi parasit tersebut di alam menyebabkan terjadinya kerusakan pada populasi ikan (Öztürk, 2010).

Pada usaha budidaya di India, *Argulus* telah menginfeksi sekitar 40% budidaya ikan mas sehingga menyebabkan semakin meningkatnya biaya dalam perawatan dan peningkatan produksi yang berdampak dengan terjadinya Kerugian hingga Rp 14.000.000/ha/tahun (Sahoo *et al.*, 2012). Infestasi *Argulus* berdampak terhadap semakin menurunnya produksi ikan di lokasi budidaya dan semakin meningkatnya biaya perawatan untuk menangani kasus infeksi yang terjadi. Ikan yang terinfeksi oleh *Argulus* sp. juga dapat mengalami kematian akibat terjadinya luka-luka pada tubuh ikan dan terbentuknya infeksi sekunder oleh bakteri, virus maupun jamur (Nagasawa *et al.*, 2010; Noaman *et al.*, 2010). Selain sebagai agen penyakit, *Argulus* juga merupakan salah satu vektor penyakit dan sebagai inang perantara parasit lainnya (Kearn, 2004; Bandilla *et al.*, 2006).

Argulus dapat menyebabkan kerusakan pada integumen inang melalui mekanisme *attachment* dan *feeding*. Kerusakan ini dapat diakibatkan oleh aktivitas mekanis atau dari sekresi kimia. Organ *attachment* utama pada *Argulus* dewasa adalah *sucker*. Selain itu berbagai organ tambahan dimodifikasi untuk membentuk kait atau duri yang digunakan untuk merusak integumen inang. Saat melekat pada inang, *Argulus* terus menerus mengepakkan torakopoda secara bolak-balik, menjaga aliran air ke tubuh untuk tujuan pernapasan. Hal ini menyebabkan tekanan atrofi dan sebagian area yang sedikit memar pada kulit ikan ketika *Argulus* diangkat. *Stylet* pra-oral dan duri labial pada *Argulus* mampu mengeluarkan berbagai racun atau enzim pencernaan yang memfasilitasi *feeding* parasit (Walker *et al.*, 2011). Lubang kecil dapat terbentuk di kulit inang sebagai hasil dari aktivitas perlekatan *Argulus*. Secara histologis, ikan yang terinfeksi *Argulus* menunjukkan peningkatan melanisasi pada dermis dan reaksi seluler inflamasi ringan dengan distribusi leukosit yang menyebar. Pembengkakan pembuluh darah dan reaksi inflamasi ringan pada kulit ikan (Parida *et al.*, 2018). Hiperplasia pada epidermis dan proliferasi sel-sel juga terjadi pada bagian kulit yang luka. Hal ini dapat berdampak dengan terganggunya fisiologi ikan, meningkatkan stres dan menyebabkan pertumbuhan ikan menjadi terhambat. Infeksi *Argulus* juga dapat memicu terjadinya infeksi sekunder oleh bakteri, virus, dan jamur, akibat luka yang terbentuk, yang dapat meningkatkan risiko kematian pada ikan yang terinfeksi (Nagasawa *et al.*, 2010). Berbagai dampak yang ditimbulkan oleh serangan parasit *Argulus* pada ikan menjadi dasar perlunya penelitian lebih lanjut tentang parasite tersebut.

B. Rumusan Masalah, Tujuan Penelitian, Hipotesis, dan Kebaruan Penelitian

1. Kerangka pikir dan rumusan masalah

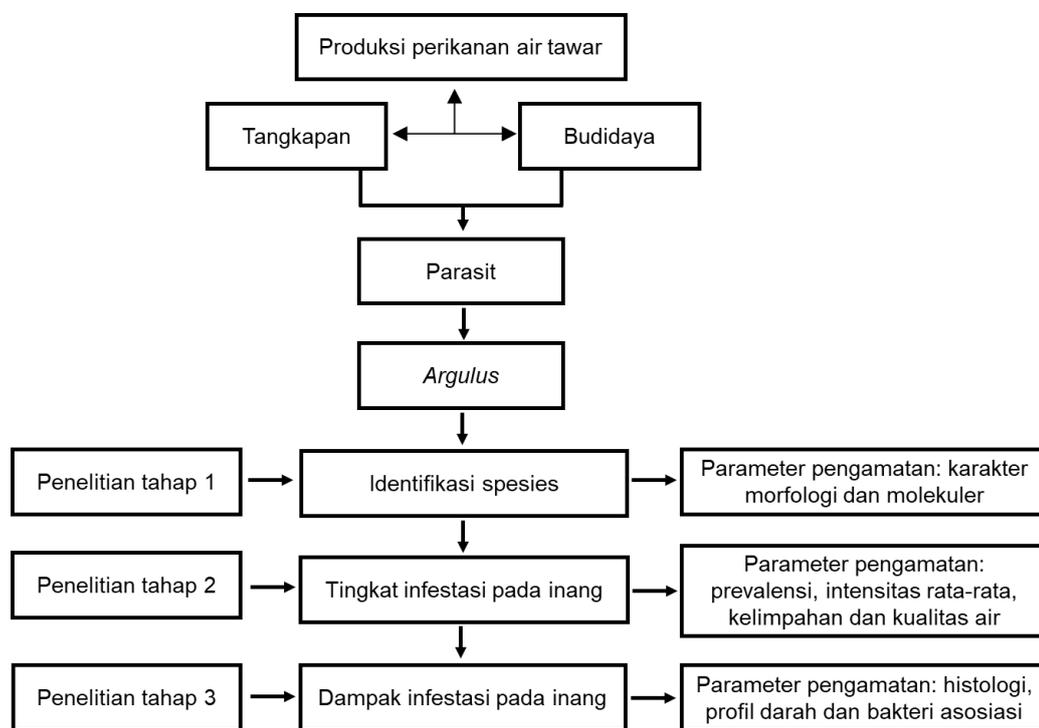
Argulus merupakan ektoparasit yang bersifat kosmopolitan yang dapat menginfeksi ikan air tawar dan ikan air laut. Infeksi parasit *Argulus* merupakan kasus yang masih kurang diperhatikan karena dipandang sebagai kasus infeksi yang memiliki morbiditas dan mortalitas rendah. Namun, tanpa disadari kasus infeksi tersebut merupakan awal terjadinya serangan patogen lainnya. Infeksi *Argulus* dapat memicu infeksi sekunder dari bakteri, virus, dan jamur, sehingga ikan menjadi lebih rentan terhadap penyakit lainnya (Nagasawa *et al.*, 2010; Noaman *et al.*, 2010). Parasit ini memiliki spesifitas inang yang rendah sehingga dapat menginfeksi berbagai jenis ikan. *Argulus* dapat menginfeksi ikan di perairan alami dan tempat budidaya serta dapat menyerang di sepanjang musim (Alsarakibi *et al.*, 2014). Parasit *Argulus* menjadi ancaman terutama bagi populasi ikan yang ada di alam serta pada kegiatan budidaya ikan air tawar.

Spesies *Argulus* yang telah teridentifikasi sampai saat ini sekitar 153 spesies (Walter & Boxshall, 2021). Namun, hanya empat spesies yang telah ditemukan di Indonesia yaitu *Argulus foliaceus*, *A. japonicus*, *A. belones* dan *A. indicus*. Kurangnya pendataan spesies parasit *Argulus* yang didominasi pelaporan penelitian *Argulus* mengindikasikan masih terbatasnya eksplorasi keanekaragaman parasit *Argulus* di Indonesia. Penelitian keanekaragaman spesies parasit pada umumnya mengidentifikasi *Argulus* secara morfologi berdasarkan karakter penciri setiap spesies (Meehan, 1940; Rushton-Mellor, 1994). Dewasa ini, selain analisis morfologi-meristik mulai berkembang analisis molekuler untuk mengidentifikasi spesies berdasarkan perbedaan genetik dari spesies tersebut (Abele *et al.*, 1989). Namun di Indonesia, identifikasi spesies *Argulus* belum terlalu diperhatikan, penelitian yang banyak dilaporkan hanya mengidentifikasi *Argulus* sampai pada taraf genus (Maulana *et al.*, 2017). Sementara informasi tentang keanekaragaman spesies *Argulus* dapat menjadi pendataan awal untuk penelitian lanjutan.

Selain penelitian tentang keanekaragaman jenis *Argulus*, penelitian lainnya berfokus pada tingkat infeksi *Argulus* antara lain tingkat prevalensi, intensitas dan kelimpahan. Tingkat infeksi ini dapat dihubungkan dengan efek yang disebabkan *Argulus* terhadap ikan yang dapat dilihat dari kerusakan jaringan dan gambaran darah (Kismiyati *et al.*, 2018) serta bakteri asosiasi. Gambaran kerangka penelitian dapat dilihat pada Gambar 1. Output dari penelitian ini dapat menjadi landasan

data dan informasi untuk penelitian parasit *Argulus*, terutama untuk pencegahan dan pengendaliannya kedepannya. Berdasarkan uraian tersebut terdapat beberapa rumusan masalah dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

- Jenis parasit *Argulus* apa saja yang menginfeksi ikan air tawar di perairan alami dan kolam budidaya?
- Bagaimana dinamika tingkat infeksi *Argulus* pada ikan di perairan alami dan kolam budidaya?
- Bagaimana tingkat kerusakan jaringan dan gambaran darah serta bakteri asosiasi pada ikan yang terinfeksi *Argulus*?



Gambar 1. Kerangka konsep penelitian

2. Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan umum penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengidentifikasi parasit *Argulus* yang menginfestasi ikan di perairan alami dan tempat budidaya dengan analisis morfologi dan molekuler
- Menginvestigasi tingkat prevalensi, kelimpahan dan intensitas serangan parasit *Argulus* pada ikan di perairan alami dan kolam budidaya
- Mengkaji tingkat kerusakan jaringan dan perubahan profil darah ikan yang terinfeksi parasit *Argulus* serta bakteri yang berasosiasi dengan parasit *Argulus*.

3. Hipotesis penelitian

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

- a. Beberapa spesies *Argulus* dapat ditemukan menginfestasi ikan di perairan alami dan kolam budidaya
- b. Terjadi fluktuasi tingkat infestasi parasit *Argulus* pada ikan di perairan alami dan kolam budidaya
- c. Infestasi *Argulus* pada inang dapat menyebabkan perubahan profil darah, kerusakan jaringan kulit, dan memicu interaksi bakteri asosiasi pada kulit ikan yang terinfestasi parasit.

4. Kebaruan penelitian

Kebaruan (*novelty*) dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Identifikasi keanekaragaman spesies *Argulus* yang menginfestasi ikan di perairan alami dan tempat budidaya dengan pendekatan morfologi dan molekuler
- b. Penggunaan faktor habitat, tingkah laku ikan dan lingkungan Perairan alami dan tempat budidaya dalam penentuan tingkat infestasi spesies *Argulus* pada ikan.
- c. Identifikasi bakteri yang berasosiasi dengan parasit *Argulus* dalam penilaian dampak infestasi *Argulus* pada ikan.

C. Kerangka penelitian disertasi

Penelitian ini dituliskan dalam suatu karya disertasi yang terdiri atas lima bab. Setiap bab disajikan secara berurut untuk memberikan gambaran utuh dari penelitian. Susunan bab dalam disertasi ini akan mengikuti *outline* disertasi sebagai berikut:

Bab 1. Bab ini berisi pendahuluan umum, yaitu gambaran mengenai latar belakang, rumusan masalah, tujuan umum, dan kebaruan penelitian. Pada bab ini juga dipaparkan gambaran perkembangan penelitian *Argulus* dan celah penelitian *Argulus* yang masih belum difokuskan terutama di Indonesia.

Bab 2. Bab ini membahas mengenai identifikasi parasit *Argulus* yang menginfestasi ikan di perairan alami dan tempat budidaya dengan pendekatan morfologi dan molekuler. Secara umum bab ini akan dikhususkan untuk menyelesaikan tujuan kedua pada penelitian ini.

Bab 3. Bab ini membahas tentang tingkat infestasi parasit *Argulus* pada ikan air tawar di perairan alam dan tempat budidaya. Bab ini memberikan gambaran

mengenai tingkat infestasi *Argulus* pada ikan air tawar di perairan alami dan tempat budidaya. Secara umum bab ini dikhususkan untuk menyelesaikan tujuan pertama pada penelitian ini.

Bab 4. Bab ini membahas mengenai bagaimana dampak infestasi *Argulus* pada ikan di perairan alam dan tempat budidaya dengan pengamatan kerusakan jaringan kulit ikan dan gambaran darah ikan serta bakteri yang berasosiasi dengan parasit *Argulus*. Secara umum bab ini dikhususkan untuk menyelesaikan tujuan ketiga pada penelitian ini.

Bab 5. Bab ini berisi pembahasan umum, di mana pada bagian ini hasil dan pembahasan dari bab-bab sebelumnya dirangkai dan dikaitkan untuk memberikan suatu kesimpulan umum. Penggambaran *novelties*/kebaruan pada penelitian ini juga akan digambarkan pada bab ini. Secara umum bab ini dikhususkan untuk merangkai ketiga tujuan penelitian menjadi suatu kesimpulan dan rekomendasi.

Bab 6. Bab ini berisi kesimpulan umum dan rekomendasi dari keseluruhan kegiatan penelitian.

II. DESKRIPSI MORFOLOGI DAN MOLEKULER SPESIES *Argulus* DARI PERAIRAN ALAM DAN KOLAM BUDIDAYA

Abstrak

Parasit *Argulus* merupakan ektoparasit yang telah dilaporkan di berbagai wilayah di dunia. 153 spesies *Argulus* secara global telah berhasil diidentifikasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi parasit *Argulus* spp. yang menginfeksi ikan di perairan alam dan tempat budidaya dengan analisis morfologi dan molekuler. Spesimen *Argulus* dari Danau towuti (n=20) dipilih dari total 2252 spesimen yang dikumpulkan diperoleh dari ikan yang terinfeksi. *Argulus* dari Balai Benih Ikan, Gowa (n=20) dipilih dari 330 total spesimen yang dikumpulkan dari ikan yang terinfeksi. Setiap *Argulus* yang ditemukan dikumpulkan dan diawetkan dalam etanol 70% untuk pengamatan morfologi dan analisis molekuler. Hasil identifikasi morfologi pada spesies *Argulus* yang menginfeksi beberapa ikan air tawar di Danau towuti adalah *Argulus indicus*. Sementara spesies yang menginfeksi induk dan benih ikan mas di kolam budidaya adalah *Argulus foliaceus*. Karakter morfologi seperti bentuk karapas, bentuk abdomen, bentuk mulut, jumlah *rib* penyusun *sucker*, bentuk dan jumlah sklerit, bentuk respiratory area, letak dan bentuk organ kapulatori dapat menjadi kunci pembeda antara spesies. Hasil analisis morfologi dilanjutkan dengan analisis molekuler. Hasil urutan genetik menunjukkan kesamaan 90-97% antara *A.indicus* dengan spesies *Argulus* lainnya. Sampel *A. foliaceus* memiliki per identity 99,82% antara sampel dalam penelitian ini dan kesamaan 99%-100% bila dibandingkan dengan urutan *A. foliaceus* yang diambil dari GenBank (KF747861 dan JQ740819). Penentuan jarak genetik dengan metode *neighbour joining* juga menunjukkan bahwa sekuens *A. indicus* membentuk satu klad yang sama sementara sekuens *A. foliaceus* dari sampel penelitian ini juga membentuk klad yang sama dengan *A. foliaceus* dari Iran dan Cina. Berdasarkan analisis morfologi dan molekuler, spesies *Argulus* yang menginfeksi ikan di Danau Towuti adalah *A. indicus* pada ikan mas adalah *A. foliaceus*.

Kata kunci: DNA, parasit, perairan, spesies, taksonomi.

Abstract

Argulus parasite is an ectoparasite that has been reported in various regions of the world. 153 *Argulus* species globally have been identified. This study aims to identify the parasite *Argulus* spp. that infests fish in natural waters and aquaculture sites by morphological and molecular analysis. *Argulus* specimens from Lake Towuti (n=20) were selected from 2252 specimens collected from infected fish. *Argulus* from the Fish Seed Center, Gowa (n=20) was selected from 330 *Argulus* specimens collected from infected fish. Every *Argulus* found was collected and preserved in 70% ethanol for morphological observations and molecular analysis. The results of the morphological identification of *Argulus* species that infect some freshwater fish in Lake Towuti are *Argulus indicus*. Meanwhile, the species that infects the broodstock and fry of goldfish in aquaculture ponds is *Argulus foliaceus*. Morphological characters such as the shape of the carapace, the shape of the abdomen, the shape of the mouth, the number of ribs that make up the sucker, the shape and number of sclerites, the shape of the respiratory area, the location and shape of the copulatory organs can be key differentiators between species. The results of the morphological analysis were followed by molecular analysis. Genetic sequencing results show 90-97% similarity between *A.indicus* and other *Argulus* species. The *A. foliaceus* sample had a 99.82% per identity between the samples in this study and a 99%-100% similarity when compared to the *A. foliaceus* sequences taken from GenBank (KF747861 and JQ740819). Determination of genetic distance by neighbour joining method also showed that the *A. indicus* sequences formed the same clade while the *A. foliaceus* sequences from this study sample also formed the same clade as *A. foliaceus* from Iran and China. Based on morphological and molecular analysis, the species of *Argulus* that infests fish in Lake Towuti is *A. indicus* in goldfish is *A. foliaceus*.

Keywords: DNA, parasite, water, species, taxonomy.

A. Pendahuluan

Argulus merupakan parasit kosmopolitan yang dapat menginfeksi berbagai spesies ikan di perairan yang berbeda. Parasit ini diketahui menginfeksi ikan air tawar (Oztürk, 2010; Sahoo *et al.*, 2012; Alsarakibi *et al.*, 2014) dan ikan laut (Schram *et al.*, 2005; Bottari *et al.*, 2017). Kasus infestasi parasit *Argulus* telah dilaporkan di Asia, Eropa, Amerika, Australia dan Afrika (Neethling & Avenant-Oldewage, 2016). Penelitian *Argulus* secara global telah berhasil mengidentifikasi 153 species *Argulus* yang tersebar di berbagai wilayah di dunia (Walter & Boxshall, 2021). Penelitian dari Neethling & Avenant-Oldewage (2016), melaporkan 62 spesies *Argulus* telah terdata di Amerika atau 44,44% dari total spesies *Argulus* yang telah dilaporkan. Benua Asia dan Afrika di posisi kedua dengan 37 spesies (24,4%) dan terendah pada benua Australia yaitu 5 spesies (3,27%). Indonesia baru melaporkan 4 spesies *Argulus* atau sekitar 2,61% dari total spesies *Argulus* yang telah dilaporkan di dunia.

Parasit *Argulus* telah lama ditemukan di Indonesia, dimulai pada tahun 1892, seorang zoologis dari Jerman yaitu Weber berhasil menemukan spesies *Argulus* baru yang diperoleh dari ikan lele dari Parahyangan, Jawa Barat. Spesies tersebut diberi nama *Argulus indicus* dan menandai pelaporan pertama spesies tersebut di dunia. Penelusuran spesies *Argulus* lainnya dilakukan oleh Van Kampen (1909) yang berhasil menemukan spesies baru dari ikan *Belone schismatorhynchus* di perairan Aceh dan diberi nama *Argulus belones*. Spesies lain yang telah dilaporkan di Indonesia adalah *Argulus japonicus* Spesies ini dilaporkan pada tahun 2002, ditemukan menginfestasi ikan hias platis koral yang dilalulintaskan di Bandar Udara Soekarno Hatta (Alifuddin *et al.*, 2007). Spesies *Argulus* yang dilaporkan di Indonesia hanya 4 spesies dari 153 spesies *Argulus* di dunia, yaitu *A. indicus*, *A. belones*, *A. japonicus*, dan *A. foliaceus*.

Penelitian tentang parasit *Argulus* di Indonesia dapat dikatakan sangat didominasi oleh spesies *A. japonicus*, sedangkan spesies lainnya masih sangat kurang diteliti bahkan banyak yang belum dilaporkan, sementara kasus infestasi *Argulus* telah lama ditemukan di Indonesia. Penelitian *Argulus* sp. di Indonesia setidaknya mulai berkembang dengan pemanfaatan SEM sebagai alat untuk mempelajari profil morfologi dan meristik dari spesies *A. japonicus* (Ghazy, 2020). Hal ini harusnya turut memicu peneliti lainnya untuk meneliti spesies *Argulus* lainnya yang belum ditemukan karena kurangnya minat untuk mengkaji genus parasit tersebut. Peneliti parasit di Indonesia juga harus mulai mempertimbangkan

pengaplikasian identifikasi molekuler pada parasit *Argulus* untuk mendukung hasil identifikasi morfologi meristik serta untuk menganalisis silsilah keturunan dari spesies *Argulus* dan pengelompokan keturunannya berdasarkan evolusi (Mondal *et al.*, 2014). Sampai saat ini, belum ada laporan pengaplikasian metode analisis molekuler pada identifikasi spesies *Argulus* di Indonesia. Tentunya ini menjadi ketertinggalan penelitian yang jauh sedangkan negara lainnya sudah lama mengaplikasikan metode molekuler untuk identifikasi spesies *Argulus*.

Berdasarkan uraian tersebut sehingga penelitian morfologi dan molekuler spesies *Argulus* penting untuk dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menginvestigasi Spesies *Argulus* berdasarkan karakter morfologi dan analisis molekuler. *Output* dari penelitian ini dapat berkontribusi terhadap data keanekaragaman spesies parasit *Argulus* di Indonesia.

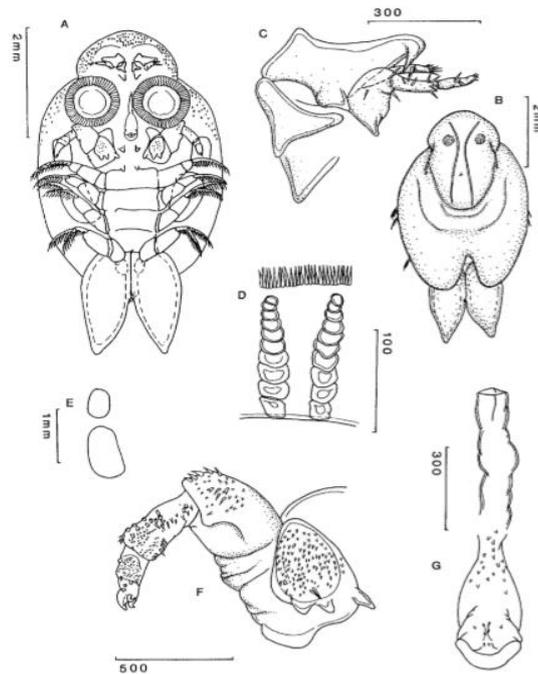
B. Metode Penelitian

1. Lokasi studi

Spesimen *Argulus* yang diamati dalam penelitian ini diperoleh dari dua lokasi yaitu dari survei infeksi parasit pada ikan di Danau Towuti (Februari 2018 - Januari 2019) dan survei parasit di Balai Benih Ikan Air Tawar, Kab. Gowa (Maret-September 2019). Spesimen *Argulus* dari Danau Towuti (n=20 ekor) dipilih dari total 2252 spesimen yang dikumpulkan diperoleh dari ikan yang terinfeksi. *Argulus* dari Balai Benih Ikan, Gowa (n=20 ekor) dipilih dari 330 total spesimen yang dikumpulkan dari ikan yang terinfeksi. Setiap *Argulus* yang ditemukan dikumpulkan dan diawetkan dalam etanol 70% untuk pengamatan morfologi dan analisis molekuler.

2. Identifikasi parasit *Argulus* secara morfologi

Parasit yang telah diawetkan selanjutnya diamati dan diukur dengan mikroskop stereo Kruss dan mikroskop optikal Olympus CX31, serta dilakukan karakterisasi morfologi dengan ilustrasi bagian tubuh (Gambar 2), baik secara keseluruhan dan per bagian tubuh menggunakan mikroskop lucida BX50. Selanjutnya diidentifikasi secara morfologi menurut buku Kabata (1985) dan Jurnal (Weber, 1892; Van Kampen, 1909; Wilson, 1927; Rushton-Mellor, 1994; Rushton-Mellor *et al.*, 1994). Setelah diidentifikasi, parasit difiksasi menggunakan alkohol 70% untuk disimpan, dan digunakan kembali untuk analisis DNA parasit *Argulus*.



Gambar 2. Karakter penciri *Argulus* (Rushton-Mellor, 1994); A = ventral, B = dorsal, C = antena, D = sklerit E = area pernafasan, F = maksila kedua (*basal plate*), G = tabung mulut dan stilet

3. *Polimerase Chain Reaction* (PCR)

a. Ekstraksi DNA

Sampel *Argulus* sp. dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 ml dan digerus menggunakan *micropasttle* hingga sampel halus. Ekstraksi DNA parasit *Argulus* dilakukan dengan menggunakan protokol QIAamp DNA Minikit. Ekstraksi dilakukan dengan menambahkan 180 μ l *Buffer* ATL ke dalam *microtube* 1,5 ml dan disentrifugasi selama 15 detik. Sampel selanjutnya ditambahkan 20 μ l protein asek ke dalam *microtube* dan selanjutnya dihomogenkan selama 15 detik. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 56 °C selama 24 jam.

Sampel diambil dan selanjutnya disentrifugasi selama 15 detik. Larutan *Buffer* AI 200 μ l ditambahkan ke dalam *microtube* dan dihomogenkan selama 15 detik. Sampel diinkubasi kembali pada suhu 56 °C selama 10 menit. Sampel yang telah di inkubasi, diambil dan disentrifugasi selama 15 detik. Sampel selanjutnya ditambahkan larutan etanol 200 μ l dan dihomogenkan selama 15 detik. Sampel yang ada di dalam *microtube*, dipindahkan pada *column* (*pellet* dan *collection tube*) dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm.

Sampel yang berada pada *pellet* dipindahkan ke dalam *collection tube* yang baru dan ditambahkan 500 μ l *Buffer* AW I dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Sampel yang berada dalam *pellet* selanjutnya

dipindahkan pada *collection tube* yang baru dan ditambahkan 500 µl AW II, disentrifugasi selama 3 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Sampel dalam *pellet* disentrifugasi kembali selama 1 menit dengan kecepatan 14.000 rpm. Sampel dalam *pellet* dipindahkan kembali ke dalam tabung *microtube* 1,5 ml yang baru dan ditambahkan 200 µl NFW (*nucleus free water*). Penambahan NFW dilakukan secara berkala yakni 100 µl diinkubasi selama 1 menit pada suhu kamar kemudian disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. Selanjutnya ditambahkan kembali 100 µl NFW, diinkubasi selama 1 menit dan disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 8000 rpm. *Pellet* dibuang dan hasil ekstraksi yang berada dalam *microtube* 1,5 ml diambil untuk disimpan. Ekstraksi DNA sampel *Argulus* diberi label dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -20 °C hingga digunakan untuk analisis PCR.

b. Amplifikasi DNA

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan LabCycler PCR system (Sensoquest). PCR menggunakan 18s rRNA yaitu *Primer Forward* ERIB 1 (5'-ACC TGG TTG ATC CTG CCA G-3') dan *primer reverse* ERIB 10 (5'-CTT CCG CAG GTT CAC CTA CGG-3') (Patra *et al.*, 2016). Mix PCR yang digunakan dengan volume 20 µL yaitu 1 µL DNA sampel, 1 µL *Primer Forward* ERIB 1 (5'-ACC TGG TTG ATC CTG CCA G-3') dan 1 µL ERIB 10 (5'-CTT CCG CAG GTT CAC CTA CGG-3'), Hotstart Taq polymerase 10 µL (QIAGEN, Hilden, Germany), dan 7 µL NFW.

c. Kondisi PCR

Pradenaturasi 95°C selama 5 menit, denaturasi 94°C selama 30 detik, *annealing* 45°C selama 30 detik, *extension* 72°C selama 1 menit dan *final extension* 72°C selama 10 menit dengan 30 siklus.

d. Elektroforesis

Pada tahap elektroforesis, gel agarose yang digunakan disiapkan terlebih dahulu sesuai dengan keperluan. Konsentrasi agarose yang digunakan adalah 1,5 %. Agarose terlebih dahulu dipanaskan sampai larut dan mendidih menjadi larutan di *microwave*. Setelah itu dibiarkan selama kurang lebih 25 menit sampai suhunya 50°C. Kemudian dicetak dalam *tray* agarose yang dilengkapi dengan sisir untuk membentuk sumur-sumur gel. Setelah agarose dalam keadaan dingin, sisir diangkat kemudian gel dimasukkan ke dalam elektroforesis yang berisi TAE 1x sebagai *buffer* elektroforesis. Sampel hasil PCR diambil sebanyak 5 µL dan

ditambahkan 3 μ L *loading dye*, kemudian diinjeksi ke dalam sumur-sumur gel. Setelah semua hasil PCR diinjeksikan ke sumur-sumur gel selanjutnya elektroforesis dijalankan dengan tegangan 120 volt selama 20 menit.

e. Visualisasi DNA

Gel hasil elektroforesis direndam dalam larutan Gel Red selama 15-30 menit. Untuk mengamati keberadaan pita DNA parasit maka gel hasil elektroforesis diamati menggunakan UV *trans illuminator* dan sekaligus dilakukan pengambilan gambar.

f. Sequencing

Setelah konfirmasi PCR ampikon, sekuensing PCR dilakukan menggunakan pewarna campuran v3.1 (ABI, Abilene, TX) dan diukur dalam gel bio-agarose Euro (ABI, Abilene, TX). Sampel dimuat ke *sequencer* MegaBace (Bioserve Biotechnologies, Pvt. Ltd., Hyderabad) untuk sekuensing DNA.

4. Analisis data

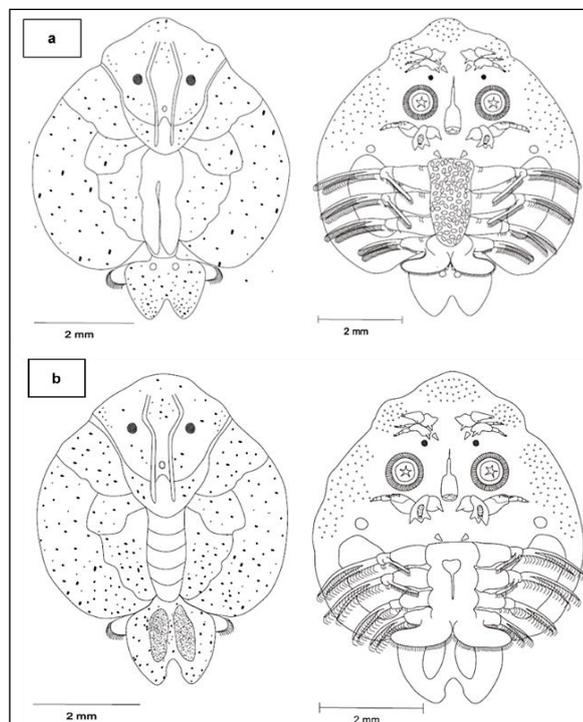
Keberadaan pita DNA parasit *Argulus* dianalisis secara deskriptif dengan bantuan gambar dan dilanjutkan dengan melakukan *sequencing* untuk mengetahui kekerabatan parasit *Argulus*. Semua data sekuen sebelum dianalisis dilakukan blast (similarity) dengan data BankGene pada NCBI program. *Blast* dilakukan untuk mengetahui sekuen pada spesies atau genus yang sama dan tidak terjadi kontaminasi pada sampel penelitian. Sekuen nukleotida gen diedit dan disejajarkan (*aligned*) menggunakan Program MEGA X version 6.0 (Kumar *et al.* 2018). Parameter sebagai penanda menggunakan haplotipe, *variable sites* berdasarkan nukleotida, jarak genetik (d) model *kimura-two parameter*, dan asam amino serta komposisi sekuen nukleotida. Untuk mengetahui posisi sampel penelitian digunakan analisis filogeni menggunakan metode *Neighbour-Joining* dengan 1000 kali pengulangan (Kimura, 1980) pada program MEGA X.

C. Hasil

1. Identifikasi morfologi

Hasil identifikasi morfologi pada spesies *Argulus* yang menginfeksi ikan air tawar di Danau Towuti adalah *A. indicus*. Sementara spesies yang menginfeksi induk dan benih ikan mas di kolam budidaya adalah *A. foliaceus*. Perbedaan morfologi spesies *Argulus* dapat dilihat pada gambar (Gambar 3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bagian tubuh *Argulus* secara umum dibagi menjadi tiga bagian yaitu karapas, toraks dan abdomen.

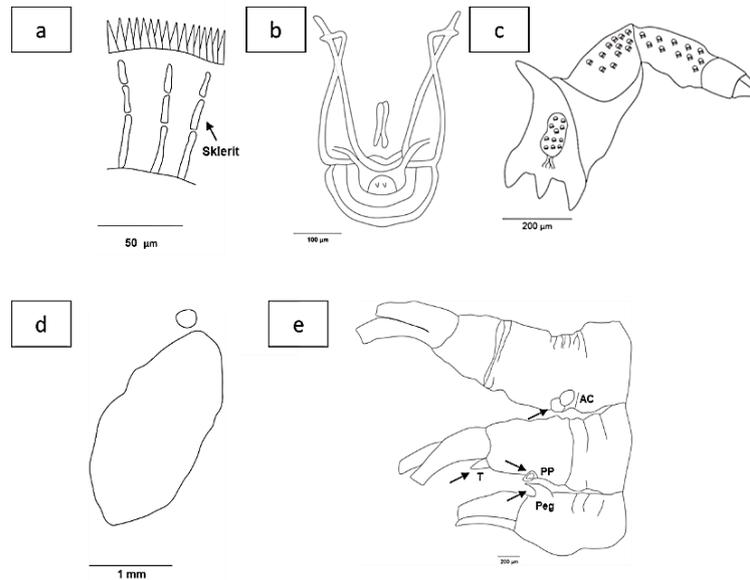
Bagian karapas pada *A. indicus* betina berbentuk bulat melebar dan menutupi hingga kaki renang keempat. Sebaliknya, karapas jantan memiliki berbentuk bulat telur, dan menutupi sebagian *lobus natatory*. Pada betina, panjang karapas berkisar 2,31 – 7,14 mm sedangkan pada jantan 4,93 – 6,35 mm. Lebar karapas pada betina yaitu 2,11 – 7,17 mm dan berkisar 4,70 – 6,02 mm pada jantan. *A. indicus* memiliki mata majemuk dengan diameter 185 – 261 μm pada betina dan 186 – 258 μm pada jantan. Area kepala memiliki *flage* pada antena pertama yang berukuran pendek sedangkan pada antena kedua lebih panjang. Diameter *maxilla* atau *suction cup* pertama adalah 0,40 – 1,23 mm pada betina dan 0,74 – 1,12 mm pada jantan.



Gambar 3. Dorsal-ventral *Argulus indicus* dari Danau Towuti a. betina, b. jantan.

Sucker memiliki 67 – 76 rusuk pendukung, masing-masing rusuk terdiri atas tiga sklerit yang berbentuk memanjang (Gambar 4a). Mulut tabung berbentuk oval, dengan dua duri di dekat ujung posterior, disertai dengan *stylet* pada bagian anterior yang dapat memanjang dan memendek (Gambar 4b). Maksila kedua tampak ramping dengan sisik, lempeng basal berbentuk bulat memanjang, dengan sebelas sisik pektinat dan lima sisik di bagian anterior (Gambar 4c). Ada tiga duri kokoh di tepi lempeng basal yang runcing dan berwarna coklat kemerahan. Ujung rahang atas berbentuk kait disertai dengan ujung tajam. Karapas memiliki area pernapasan yang dibagi menjadi dua bagian, pada bagian anterior berbentuk bulat

kecil dan bagian posterior berukuran lebih besar dengan bentuk memanjang dan lebar (Gambar 4d). Antena pertama dilengkapi dengan kait dan dua duri pada bagian tepi anterior, berbentuk memanjang dengan ujung yang runcing. Flagela terdapat pada sepasang kaki pertama dan kedua. Kaki renang kedua hingga keempat dilengkapi dengan aksesoris sanggama pada jantan (Gambar 4e).

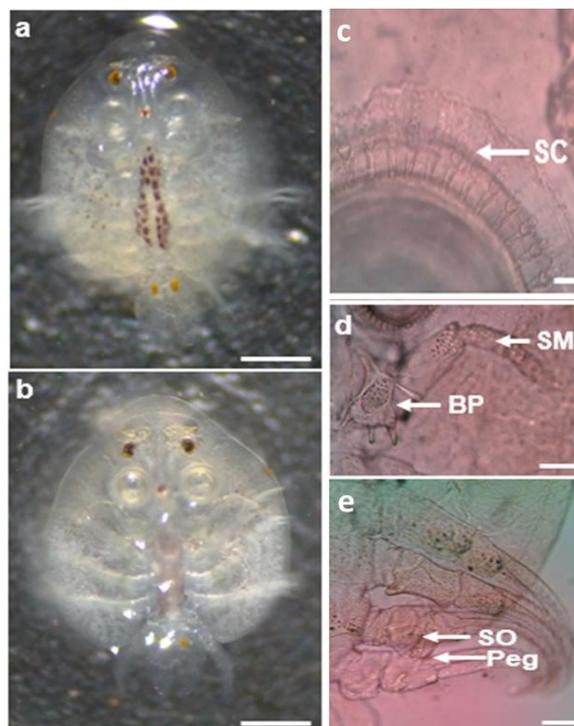


Gambar 4. Organ pencari *Argulus indicus*; a = tulang rusuk (sklerit) yang mendukung pengisap; b = tabung mulut c = maksila; d = area pernafasan; e = aksesoris kopulasi pada jantan (AC = bantalan aksesori pada kaki kedua; PP = proyeksi posterior; T = tubulus pada kaki ketiga; P = peg pada kaki keempat);

Telur ditempatkan pada ruas toraks 1-4 yang berwarna kecokelatan dan bulat pada betina. Bagian abdomen pada betina berbentuk melebar, dengan lobus posterior bulat melebar dengan sedikit terbelah pada bagian ujung abdomen. Panjang abdomen berkisar antara 0,60 – 1,64 mm pada betina dan 1,45 – 1,73 mm pada jantan. Lebar 0,86 – 2,28 mm pada betina dan 1,46-2,05 mm pada jantan. Terdapat spermateka yang berupa sinus kecil berbentuk bulat pada abdomen betina. Abdomen pada jantan berbentuk memanjang dengan lobus posterior runcing dan sedikit terbelah pada bagian ujung abdomen. Terdapat testis berbentuk bulat memanjang dan tidak mencapai lobus posterior pada abdomen jantan.

Argulus foliaceus memiliki rata-rata dimensi panjang tubuh (n = 20) $9,2 \pm 1,7$ mm dan lebar $4,9 \pm 1,2$ mm. Karapas *A. foliaceus* berbentuk oval, pipih melebar, dan menutupi sebagian besar thorax, memanjang hingga kaki renang ke empat, tetapi tidak mencapai Abdomen (Gambar 5a-b). Area kepala berbentuk segitiga

dengan dua mata majemuk. Pada tampilan ventral, bagian kepala memiliki dua pasang antenna dengan kait dan duri. Sklerit menopang pengisap (*sucker*) dengan 5 – 6 tulang rusuk di sisi anterior dan 6 – 7 di sisi posterior (Gambar 5c). Bukaan mulut dan kerucut mulut menyatu berbentuk tabung dengan mandibula terletak di rongga mulut. Pada bagian anterior terdapat stilet pra-oral yang dapat digerakkan atau ditarik. Pelat basal berbentuk segitiga dan meruncing dengan tulang belakang di posterior (Gambar 5d). Karapas memiliki saluran pencernaan berupa usus serta organ osmoregulasi yang disebut area pernafasan. Jenis *A. foliaceus* memiliki sepasang area pernafasan yaitu berbentuk bulat pada bagian anterior dan memanjang pada posterior. Toraks memiliki empat segmen dengan empat pasang kaki renang. Pada jantan, organ kopulasi menutupi kaki renang tiga-empat dan bagian depan abdomen memanjang dengan ujung posterior sempit yang berujung runcing (Gambar 5e).



Gambar 5. *Argulus foliaceus* betina; a. tampak punggung, b. pandangan ventral, c. sklerit (SC), d. maksila kedua (SM) dan lempeng basal (BP), e. organ kopulasi (soket, SO dan Peg), bar skala: a, b=1 mm; c=400 μ m; d=200 μ m; e = 50 μ m.

Pada betina terdapat tempat kantung telur yang terdapat pada bagian toraks dan terlihat berwarna kuning telur atau kecokelatan. Spermateka betina berbentuk bulat kecil berada di bawah *lobus natatory*. Sementara testis berbentuk elips dan tidak mencapai daerah posterior abdomen. Lobus abdomen berbentuk

bilobed dan pada betina umumnya pendek sedangkan jantan lebih panjang. Tubuh *A. foliaceus* terlihat transparan dengan rona warna kehijauan. Sementara, pada betina keberadaan kantung yang berisi telur kuning/putih kecoklatan terlihat menonjol sehingga mencirikan tubuh transparan dengan corak coklat kekuningan pada bagian toraks dorsal.

2. Analisis genetika

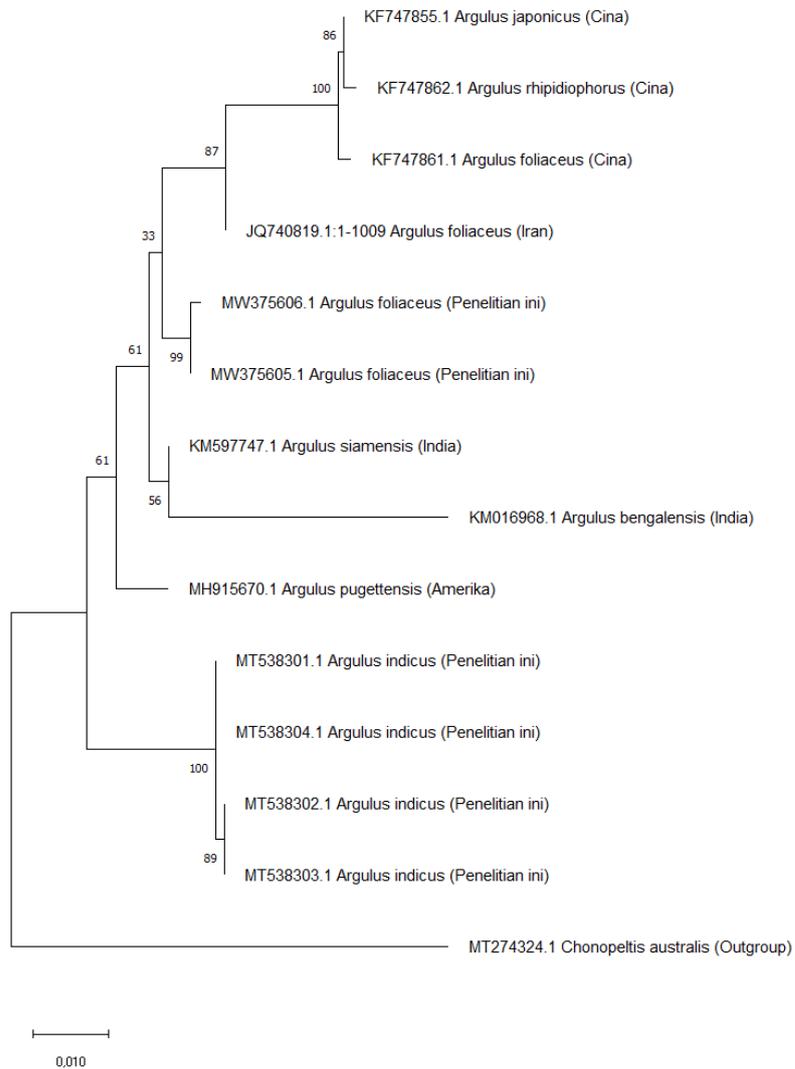
Identifikasi spesies *Argulus* sp. dikonfirmasi lebih lanjut menggunakan analisis genetik. Basis data genetik dari *A. indicus* dengan menggunakan primer 18s rRNA belum terdeposit. Oleh karena itu, dugaan spesies *A. indicus* diperoleh dari analisis per *identity* antara spesies lain dan penampakan pohon filogenik dari spesies *Argulus* lainnya. Urutan genetik menunjukkan kesamaan 90-97% antara *A. indicus* dan spesies *Argulus* lainnya. Sementara sampel *A. foliaceus* memiliki per *identity* 99,82% antara sampel dalam penelitian ini dan kesamaan 99%-100% bila dibandingkan dengan urutan *A. foliaceus* yang diambil dari GenBank (nomor aksesori KF747861 dan JQ740819) (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase homogenitas spesies *Argulus* sp.

Spesies	Homogenitas (%)					
	<i>A. indicus</i> (MT538301)	<i>A. indicus</i> (MT538302)	<i>A. indicus</i> (MT538303)	<i>A. indicus</i> (MT538304)	<i>A. foliaceus</i> (MW375605)	<i>A. foliaceus</i> (MW37606)
<i>A. bengalensis</i> (KM016968)	90,28	90,52	90,28	90,52	92,00	91,78
<i>A. foliaceus</i> (JQ740819)	97,04	96,88	97,04	96,98	100,00	100,00
<i>A. foliaceus</i> (KF747861)	97,36	97,18	97,36	97,18	99,04	98,95
<i>A. japonicus</i> (KF747855)	96,96	96,80	96,96	96,80	98,84	98,77
<i>A. siamensis</i> (KM597749)	97,37	97,21	97,37	97,21	99,60	99,52
<i>A. rhipiodopirus</i> (KF747862)	97,03	96,86	97,03	96,86	98,95	98,86
<i>C. australis</i> (MT274324)	90,83	90,83	90,83	90,83	91,09	91,28

Penentuan jarak genetik dengan metode *neighbour joining* mengungkapkan bahwa 4 sekuens *A. indicus* bergabung dalam satu klad yang sama sementara 2 sampel *A. foliaceus* dari sampel penelitian juga membentuk klad yang sama dengan *A. foliaceus* dari Iran dan Cina (Gambar 6). Spesies *A. indicus* dari penelitian ini menunjukkan jarak genetik yang cukup jauh dengan spesies *Argulus* lainnya. Sementara *A. foliaceus* dari penelitian ini menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan *A. foliaceus* yang dideskripsikan dari Iran seperti yang ditunjukkan pada keberpilihan urutan nukleotida (Lampiran 1) serta

kekerabatan yang dekat antara kedua spesies berdasarkan jarak genetik berpasangan (0,000-0,002) (Lampiran 2).



Gambar 6. Hubungan filogenetik *Argulus indicus* dan *Argulus foliaceus* dari penelitian ini dengan spesies *Argulus* yang berkerabat dekat. Pohon filogenetik menggunakan metode *Neighbour joining* model parameter Kimura-2 (Kimura, 1990). *Chonopeltis australis* digunakan sebagai *outgroup*. Angka-angka di pohon adalah nilai *bootstrap*

D. Pembahasan

1. Karakteristik morfologi spesies *Argulus*

Karakteristik morfologi spesimen *Argulus* yang diperoleh dari Danau towuti dipastikan merupakan spesies yang sama dengan *A. indicus*. Morfologi *A. indicus* pertama kali dijelaskan oleh Weber (1892) dengan karapas betina *A. indicus* berbentuk bulat telur, mencapai pasangan kaki terakhir. Sebaliknya, Wilson (1927) menunjukkan bahwa karapas betina hampir berbentuk bulat. Selain itu, Meehan (1940) melaporkan bahwa karapas betina berbentuk bulat. Temuan ini menunjukkan hasil yang berbeda dari deskripsi Weber (1892) dan Wilson (1927). Namun, hasil ini mirip dengan Meehan (1940), yang menyatakan bahwa karapas betina bulat melebar. Sementara, deskripsi terkait *A. indicus* jantan dijelaskan pertama kali oleh Wilson, (1944) bahwa karapas jantan berbentuk bulat telur dan sangat menyempit di anterior, yang mirip dengan penelitian ini. Karapas berbentuk bulat telur dan sebagian menutupi *lobus natatory*.

Pada umumnya betina dewasa memiliki karapas yang membulat lebar dan lebar lebih besar dari panjangnya. Namun, jantan dewasa memiliki karapas berbentuk bulat telur yang panjangnya lebih besar dari lebarnya. Bagian abdomen melebar pada betina dan memanjang pada pria. Testis di bagian abdomen berbentuk memanjang sedangkan spermateka betina berukuran kecil, berbentuk bulat. Dalam penelitian ini, abdomen melebar pada betina dan memanjang pada jantan. Temuan ini mirip dengan deskripsi Weber (1892), Meehan (1940), dan Wilson (1944) tetapi berbeda dengan penjelasan Wilson tentang bentuk abdomen. Wilson (1944) melaporkan bahwa abdomen berbentuk hati pada betina dan berbentuk biji pada pria. Sebaliknya, penelitian ini menunjukkan bahwa abdomen berbentuk biji pohon ek pada betina dan berbentuk biji kacang Brazil pada jantan. Mirip dengan temuan peneliti dari deskripsi Wilson (1944) adalah bahwa sepasang testis memanjang elips dan spermateka betina kecil, berbentuk bulat. Pengisap *A. indicus* tidak dijelaskan oleh Weber (1892). Bagian ini dijelaskan oleh Wilson (1927) yang menemukan bahwa pengisap terdiri atas lima alat batang pendukung, sedangkan Meehan (1940) menyebutkan, pengisap memiliki ukuran sedang dan terdiri atas tiga batang yang terletak di dalam tulang rusuk penyangga. Pada tahun 1944, Wilson merevisi deskripsi pengisap dan menyatakan bahwa pengisap terdiri atas tiga batang yang menopang tulang rusuk, salah satunya memiliki ujung proksimal yang membesar. Dalam penelitian ini, pengisap relatif besar dengan 67-75 tulang rusuk pendukung, dan memiliki tiga sklerit memanjang di dalamnya.

Hasil ini mirip dengan jumlah sklerit yang ditemukan dalam deskripsi Meehan (1940) dan Wilson (1944). Selain itu, dalam penelitian ini, informasi tambahan tentang jumlah tulang rusuk pendukung disediakan.

Spesies *A. indicus* memiliki empat kaki renang dengan flagela di kaki pertama dan kedua di bagian toraks. Tempat penyimpanan telur terletak di tengah toraks betina. Sebaliknya, aksesoris kopulasi jantan terdapat pada kaki renang kedua sampai keempat. Weber (1892) melaporkan *siphon* dan *sting* pada *A. indicus* dengan penjelasan terbatas. Dalam penelitian ini, peneliti menemukan bahwa tabung mulut berbentuk bulat telur memanjang, dua duri di labial, dan stilet di atasnya. Rahang atas agak ramping, lempeng basal berbentuk segitiga lebar dan tiga duri berada di tepi posteriornya yang pendek dan lancip. Hal ini mirip dengan deskripsi Weber (1892), Meehan (1940), dan Wilson (1944). Warna tubuh *A. indicus* dilaporkan oleh Meehan (1940). Seluruh tubuh *A. indicus* memiliki bintik-bintik hitam yang menyebar ke seluruh tubuh. Sebaliknya, Ramakrishna (1952) menyebutkan warna *A. indicus* adalah hijau tua dengan bintik-bintik pada permukaan punggung karapas. Berbeda dengan penelitian sebelumnya, peneliti menemukan bahwa warna permukaan punggung *A. indicus* adalah bercak coklat yang menyebar dari daerah kepala ke abdomen.

Karakteristik morfologi spesimen *Argulus* yang diamati pada ikan mas sesuai dengan deskripsi *A. foliaceus* oleh Rushton-Mellor (1994). Spesies *A. foliaceus* mempunyai bagian tubuh yang secara umum dibagi menjadi tiga bagian yaitu *cephalothorax*, toraks dan abdomen. Parasit ini berbentuk datar, memipih, dan ditutupi oleh karapas pada bagian dorsalnya. Daerah *cephalic* berbentuk segitiga dengan dua pasang mata majemuk (Meehan, 1940). Pada bagian *cephalothorax* terdapat dua pasang antenna yang terbagi menjadi antena pertama dan antena kedua. Dua pasang maksila terletak dibawah mata majemuk, maksila pertama termodifikasi menjadi sucker atau alat penghisap dan maksila kedua terdapat pada bagian bawah *sucker* yang dilengkapi *basal plate*. Pada penelitian ini, sucker terdiri atas sejumlah sklerit pada tulang rusuk penyangga anterior dan posterior sekitar 5-9. Sklerit basal memanjang sementara yang lain lonjong dan lebih kecil, terletak bergantian antarbatang pendukung di margin internal. *Proboscis* dan stilet terletak pada bagian anterior sekitar tabung mulut (Wilson, 1944). Karapas memiliki saluran pencernaan serta dua area khusus untuk osmoregulasi, disebut sebagai area pernapasan. Pada bagian toraks terdapat empat segmen yang membawa sepasang kaki untuk berenang yang disertai

dengan seta. Sepasang kaki renang yang keempat berada di antara abdomen dan toraks dengan *lobus natatory* pada bagian bawahnya (Kabata, 1985). Pada *Argulus* jantan terdapat organ kopulasi pada sepasang kaki renang antara kaki renang 2, 3, dan 4. Karakteristik khusus *A. foliaceus* yang diamati dalam penelitian peneliti meliputi soket dan pasak sanggama pada pasangan kaki renang 3 dan 4. Sementara pada betina memiliki ovari pada berbentuk kantung telur yang memanjang menutupi bagian bawah toraks. Pada bagian abdomen, *Argulus* jantan memiliki testis yang berbentuk bulat memanjang sedangkan pada betina terdapat spermateka yang berbentuk seperti lingkaran kecil pada kedua sisi yang bersebelahan (Wilson, 1932). Abdomen *bilobed* berukuran pendek pada betina dan tidak tersegmentasi, sedangkan jantan memiliki lobus abdomen yang memanjang.

2. Analisis molekuler spesies *Argulus*

Spesimen *Argulus* yang diperiksa dari D. Towuti menunjukkan kemiripan yang tinggi dengan *A. indicus* dan spesies dari kolam budidaya menunjukkan kemiripan dengan *A. foliaceus* berdasarkan karakteristik morfologi. Selanjutnya, analisis molekuler dilakukan untuk mengonfirmasi identitas taksonomi parasit sebagai *A. indicus* dan *A. foliaceus* dengan kekerabatan dekat dengan spesies *Argulus* yang sama maupun spesies *Argulus* lainnya. Berdasarkan sistematika biologi yang melibatkan taksonomi klasik dan analisis filogenetik yang digunakan dalam penelitian ini, peneliti dapat secara khusus mengidentifikasi *A. indicus* dari ikan D. Towuti dan *A. foliaceus* dari ikan mas yang dipelihara di kolam budidaya. Taksonomi klasik digunakan untuk identifikasi spesies berdasarkan karakter morfologi organisme sedangkan analisis filogenetik mendukung hipotesis berdasarkan morfologi, termasuk pemahaman proses evolusi yang memisahkan spesies (Perkins *et al.*, 2011).

Pohon filogenetik menunjukkan perbedaan klad antara spesies *A. indicus*, *A. foliaceus* dan spesies *Argulus* lainnya. Pada empat *sequens* dari *A. indicus* bergabung dalam klad sama. Begitu pula dengan spesies *A. foliaceus* dari penelitian ini bergabung dalam klad yang sama dari *A. foliaceus* Iran dan turunan dari kladnya membentuk *A. foliaceus* dari Cina. Pohon filogenik dapat menunjukkan sejarah hubungan evolusioner antar organisme pada tingkat genera atau spesies (Yang & Rannala, 2012). Klad yang terbentuk pada pohon filogenik dapat menjelaskan hubungan kedekatan antarorganisme melalui silsilah leluhur mereka.

Analisis molekuler pada genus *Argulus* pertama kali dilakukan oleh Abele *et al.* (1989) menggunakan 18S rRNA. Ribosom ribonucleic acid (RNA) adalah target untuk mengamati hubungan filogenetik antarorganisme. Ribosom memiliki rRNA dan protein yang dimiliki oleh semua organisme yang mengandung subunit ribosom kecil termasuk spesies RNA tunggal (Patwardhan *et al.*, 2014) Ribosom dianggap sebagai primer universal yang umum diterapkan dalam analisis molekuler. Pohon filogenetik berkumpul dalam satu kelompok spesies *Argulus* dan menunjukkan nenek moyang yang sama terbaru dalam garis keturunan yang berbeda. Berdasarkan karakteristik morfologi dan analisis pengelompokan genetik, sampel diidentifikasi sebagai *A. indicus*. Jarak berpasangan evolusioner dari nilai 0,000 hingga 0,002 pada spesies *Argulus*, mengindikasikan perbedaan genetik yang rendah di antara mereka. Menurut Hasegawa (1999), nilai-nilai jarak dapat diklasifikasikan sebagai polarisasi organisme sebagai Plesiomorf "0" atau apomorf "1". Hal ini menjelaskan bahwa *A. indicus* memiliki garis keturunan yang jauh dengan spesies *Argulus* lainnya tetapi memiliki hubungan yang lebih dekat. Panjang cabang menunjukkan waktu evolusi spesies, yang mewakili perbedaan waktu evolusi antarmasing-masing spesies di pohon topologi (Patwardhan *et al.*, 2014)

E. Kesimpulan

Hasil analisis morfologi dan molekuler dari spesies *Argulus* yang menginfestasi ikan dari D. Towuti teridentifikasi sebagai *A. indicus* sedangkan spesies *Argulus* yang ditemukan dari Induk dan Benih ikan mas adalah *A. foliaceus*. Karakter morfologi seperti bentuk karapas, bentuk abdomen, bentuk mulut, jumlah rib penyusun *sucker*, bentuk dan jumlah sklerit, Bentuk *respiratory area*, letak dan bentuk organ kopulasi dapat menjadi kunci pembeda antar spesies. Analisis molekuler menunjukkan tingkat kesamaan 99-100% antar spesimen *A. foliaceus* dengan *A. foliaceus* Iran dan Cina. Sementara, persentase kemiripan *A. indicus* dengan spesies *Argulus* lainnya 90-97%. Pohon filogenik menunjukkan cluster yang berbeda antara *A. indicus*, *A. foliaceus* dan spesies lainnya. Perbedaan urutan gen juga teramati antara spesies *A. indicus*, *A. foliaceus* dan spesies *Argulus* lainnya.