

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

UJI TOKSISITAS PRODUK EKSTRASELULAR DARI BAKTERI *Vibrio harveyi* TERHADAP BENIH KERAPU HIBRIDA CANTANG (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*)

Ketut M. Arya Sudewa dan Sri Suratmi

Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan

Banjar Dinas Gondol, Desa Penyabangan Kecamatan Gerokgak Kabupaten Buleleng, Bali 81101

E-mail: info.gondol@gmail.com

ABSTRAK

Produk ekstraselular bakteri dapat bersifat toksik pada ikan laut maupun ikan air tawar. Tujuan kegiatan ini adalah untuk mengetahui toksisitas dari produk ekstraselular (*extracellular product*/ECP) bakteri *Vibrio harveyi* terhadap benih kerapu hibrida cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*). Sebanyak 260 ekor ikan kerapu hibrida cantang sehat (panjang rata-rata $8,065 \pm 0,461$ cm) digunakan dalam kegiatan ini. Masing-masing 130 ekor ikan uji diinjeksi intramuskular dengan 0,1 mL produk ekstraselular dari *V. harveyi*, dan 130 ekor lainnya diinjeksi dengan 0,1 mL *phosphate buffer saline* (PBS) sebagai kontrol. Sebanyak 60 dan 70 ekor ikan uji dari masing-masing perlakuan dipelihara dalam bak beton volume 500 L dengan sistem air mengalir dan diberi pakan pelet komersial dua kali sehari secara *ad libitum*. Pengamatan terhadap respons dan sintasan ikan diamati selama satu bulan. Hasil pengamatan terhadap ikan kerapu hibrida cantang yang diinjeksi dengan ECP dari *V. harveyi* menunjukkan nafsu makan menurun pada waktu pemberian. Respons makan dari ikan tersebut kembali tinggi atau normal sehari setelah pemberian ECP. Reaksi pembengkakan di area penyuntikan juga terlihat dan ikan terlihat berenang aktif, serta tidak menunjukkan adanya luka kemerahan atau borok selama pemeliharaan. Rata-rata sintasan ikan terlihat sama antara perlakuan ECP dan kontrol yaitu 95%. Hasil ini menunjukkan bahwa ECP dari *V. harveyi* tidak bersifat toksik pada ikan kerapu hibrida cantang.

KATA KUNCI: kerapu hibrida cantang; produk ekstraselular; injeksi intramuscular; respons ikan; sintasan

PENDAHULUAN

Mikroorganisme virus, bakteri atau parasit merupakan penyebab penyakit yang sering ditemukan dalam pembenihan dan budidaya ikan. Penyakit bakteri pada ikan kerapu lebih banyak disebabkan oleh bakteri dari golongan *Vibrio* spp. *Vibrio* adalah bakteri Gram negatif, sel tunggal berbentuk batang pendek (koma), berukuran panjang 1,4-5,0 μm dan lebar 0,3-1,3 μm , bersifat motil dan mempunyai flagela polar dan secara khas ditemukan pada air laut. *Vibrio* bersifat anaerob fakultatif, yaitu dapat hidup baik dengan atau tanpa oksigen. Semua anggota jenis *Vibrio* adalah motil (bergerak) dan mempunyai kutub flagella dengan sarung pelindung (Pelczar & Chan, 1986). Golongan bakteri *Vibrio* yang sering menimbulkan penyakit di antaranya adalah *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *V. anguillarum*, *V. harveyi*, dan *V. Fulnivicus* (Hatmanti *et al.*, 2008; Yanuhar, 2009). Ikan yang sakit menunjukkan berbagai lesi, termasuk lesi mata/kebutaan, gastroenteritis, nekrosis otot, tukak kulit, dan penyakit busuk ekor (Zhang *et al.*, 2020).

Ekstraseluler adalah ruang yang berada di luar membran plasma dari organisme, dan ditempati oleh cairan. Pada organisme multiseluler, ruang ekstraseluler berada di luar sel, tetapi masih di dalam organisme. Komposisi ruang ekstraseluler meliputi metabolit, ion, berbagai protein dan zat non-protein yang dapat memengaruhi fungsi seluler (Anonim, 2021). Produk ekstraselular bakteri dapat bersifat toksik atau non toksik. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk mengetahui toksisitas dari produk ekstraseluler (*extracellular product*/ECP) bakteri *V. harveyi* terhadap benih kerapu hibrida cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu: benih kerapu hibrida cantang, air laut, air tawar, formalin teknis, minyak cengkeh (eugenol), produk ekstraselular (*extracellular product*, ECP) dari *Vibrio harveyi*, *phosphate buffer saline* (PBS), dan pakan pelet komersial.

Alat yang digunakan dalam kegiatan ini meliputi: bak beton volume 500 L, batu aerasi, selang aerasi, selang air tawar, pipa pembuangan air, sikat pembersih bak, pipa sipon, *sputit tuberculin* (1 mL), *tube* plastik steril 15 L, *jelly ice*, *cool box*, handuk kecil, ember plastik, kursi kecil, dan bak fiber (100 L) penampungan ikan.

Metode

Metode kerja kegiatan ini berdasarkan Mahardika *et al.* (2020), sebagai berikut:

Bak pemeliharaan

Empat bak beton volume 500 L disiapkan terlebih dahulu dengan membersihkan dinding dan dasar bak dengan klorin. Bak tersebut dibiarkan selama dua jam kemudian dibilas dengan air tawar sampai bersih dan bau klorin hilang. Bak selanjutnya dikeringkan selama dua hari. Demikian pula selang aerasi, batu aerasi, pipa pemasukan dan pembuangan air pemeliharaan, selang sipon, dan peralatan lain direndam dalam klorin selama sehari dan dibilas dengan air tawar. Pemasangan selang dan batu aerasi, serta pengisian air laut dilakukan beberapa saat sebelum ikan uji ditebar dan dipelihara.

Ikan uji

Ikan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah ikan kerapu hibrida cantang ukuran 7,3-8,8 cm ($8,065 \pm 0,461$) (Gambar 1). Sebanyak 260 ekor ikan uji yang berasal dari *hatchery* swasta di sekitar Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan (BBRBLPP), Gondol, Bali. Ikan direndam terlebih dahulu dengan 100 mg/L formalin dalam air tawar selama satu jam untuk menghilangkan parasit yang kemungkinan menempel pada tubuh ikan. Ikan uji tersebut diaklimatisasi dalam dua bak beton vol-



Gambar 1. Ikan kerapu hibrida cantang yang digunakan sebagai ikan uji.

ume 500 L selama satu minggu dengan air mengalir dan pakan pelet komersial.

Penyiapan produk ECP dan PBS

Produk ECP hasil isolasi dari *V. harveyi* (Suratmi & Haryanto, 2021) dan *phosphate buffer saline* (PBS) masing-masing disiapkan dalam *tube* plastik steril volume 15 L. *Tubes* tersebut selanjutnya dimasukkan dalam *cool box* yang telah diisi dengan *jelly ice* secukupnya.

Persiapan bahan dan sarana untuk uji toksisitas

Sarana uji toksisitas yakni tempat penyuntikan ikan berupa bak plastik volume 15 L disiapkan dengan posisi terbalik dan dilengkapi dengan handuk basah. Disiapkan pula alat suntik berupa *sputit tuberculin* (1 mL) dengan jarum suntik (27 G). Disiapkan pula bak fiber volume 200 L dengan aerasi dan air mengalir untuk penampungan ikan uji sebelum dianestesi. Larutan anestesi berupa minyak cengkeh (eugenol) disiapkan untuk proses pemingsanan ikan sebelum diinjeksi dengan ECP maupun PBS. Sebanyak 0,2 mL larutan eugenol dimasukkan dalam bak plastik volume 15 L yang berisi 5 L air laut tanpa diaerasi. Bak penampungan juga disiapkan untuk ikan uji setelah penyuntikan yang akan dimasukkan secara bertahap (± 50 ekor) hingga proses uji toksisitas ECP selesai.

Injeksi ECP dan PBS pada ikan uji

Masing-masing sebanyak 1 mL ECP *V. harveyi* dan PBS dimasukkan dalam *sputit tuberculin* secara terpisah. Sebanyak 10 ekor ikan uji dimasukkan dalam larutan minyak cengkeh secara bertahap. Ikan yang telah pingsan diambil dan ditempatkan di atas handuk basah. Injeksi ECP 0,1 mL/ekor ikan dilakukan pada bagian punggung ikan sebelah kiri (intramuskular/IM) (Gambar 2). Sedangkan 130 ekor ikan uji lainnya disuntik dengan 0,1 mL PBS/ekor ikan sebagai pembanding atau kontrol.



Gambar 2. Injeksi ECP pada ikan uji secara intramuskular (IM).

Masing-masing 60 dan 70 ekor ikan uji pada setiap perlakuan (ECP dan PBS) ditempatkan pada bak beton yang telah disiapkan (dua bak/perlakuan). Selanjutnya, ikan-ikan tersebut dipelihara dan diamati selama satu bulan. Ikan diberikan pakan pelet komersial dua kali sehari secara *adlibitum*.

Parameter yang diamati

Parameter yang diamati dalam kegiatan uji toksisitas ini yaitu tingkah laku (gejala klinis) dan mortalitas ikan setelah diinjeksi dengan ECP.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa respons makan dari ikan uji menurun setelah disuntik dengan ECP *V. harveyi*. Ikan tidak mau makan pada siang hari (dua jam setelah injeksi: pukul 12.00 WITA) hingga sore hari (enam jam setelah injeksi: pukul 16.00 WITA). Berbeda halnya dengan ikan uji yang diinjeksi dengan PBS (kontrol) yang langsung merespons pakan yang diberikan pada siang maupun sore hari (Tabel 1).

Tabel 1 juga menunjukkan respons makan ikan uji yang diberi ECP *V. harveyi* terlihat normal setelah satu hari (24 jam) pemberian. Hal tersebut disebabkan ikan mengalami stres (demam) akibat reaksi penyuntikan benda asing (ECP dari *V. harveyi*). Reaksi tubuh ikan tersebut ditunjukkan dengan hilangnya nafsu makan. Ikan terlihat diam di dasar bak pemeliharaan dan berenang pelan di kolom air. Reaksi perlawanan tubuh ikan kerapu hibrida cantang terhadap ECP *V. harveyi* sangat singkat di mana satu hari setelah pemberian ikan menunjukkan respons makan yang normal. Nafsu makan ikan uji yang diberi ECP *V. harveyi* terlihat normal dengan respons agresif ikan yang segera naik ke permukaan air ketika diberikan pakan pelet komersial. Nafsu makan ikan dari kedua perlakuan tersebut baik ECP *V. harveyi* maupun kontrol terlihat sama hingga satu bulan pemeliharaan.

Kondisi tubuh ikan selama pemeliharaan terlihat normal yang ditunjukkan dengan tidak adanya luka terutama pada daerah punggung kiri di tempat penyuntikan ECP *V. harveyi* maupun PBS (Tabel 2).

Ikan terlihat menunjukkan sedikit pembengkakan pada tempat penyuntikan yaitu daerah punggung sebelah kiri sesaat setelah penyuntikan ECP *V. harveyi*. Pembengkakan tersebut kemudian tidak terlihat lagi sehari setelah penyuntikan. Ikan yang disuntik PBS tidak menunjukkan adanya pembengkakan. Sintasan ikan kerapu hibrida cantang setelah satu bulan pemeliharaan baik dari perlakuan pemberian ECP maupun kontrol menunjukkan sintasan yang sama yaitu 95% (Tabel 3).

Sintasan yang tinggi pada perlakuan ECP menunjukkan bahwa produk ECP *V. harveyi* tidak bersifat toksik pada ikan kerapu hibrida cantang ukuran 7-8 cm. Ada dua kemungkinan terkait hal ini, kemungkinan pertama, karena: ukuran ikan yang digunakan. Ukuran ikan di atas 5 cm termasuk kategori ukuran besar sehingga daya tahan tubuhnya lebih kuat terhadap penyuntikan ECP *V. harveyi* dosis 0,1 mL yang mengandung 50 mg koloni *V. harveyi*/mL PBS, atau memiliki absorbansi rendah (0,061) (Suratmi *et al.*, 2021) yang memungkinkan kandungan proteinnya tidak cukup toksik untuk ikan uji. Kemungkinan kedua adalah ECP *V. harveyi* tidak bersifat toksik untuk ikan kerapu. Menurut Hardi *et al.* (2014), ECP bakteri *Pseudomonas sp.*, bersifat toksik pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) karena menyebabkan perubahan pada pola renang, *clear operculum*, sirip ekor gripis, *opacity* (kekeruhan mata), bilateral eksoptalmia, hipertrofi, dan nekrosis pada jaringan mata dan ginjal serta hiperplasia dan nekrosis pada jaringan otak. Kematian ikan nila mencapai 20%-60% selama 168 hari pengamatan. Protein produk ekstraseluler dari *Streptococcus agalactiae* tipe non-hemolitik juga dilaporkan dapat menyebabkan penyakit streptococcosis pada ikan nila (Dwinanti *et al.*, 2014).

Tabel 1. Nafsu makan ikan uji setelah pemberian ECP dari *V. harveyi*

Perlakuan	Bak	Nafsu makan ikan setelah perlakuan		
		Siang hari	Sore hari	Setelah 24 jam
Penyuntikan ECP <i>V. harveyi</i>	1 (60 ekor)	Tidak mau makan	Tidak mau makan	Mau makan
	2 (70 ekor)	Tidak mau makan	Tidak mau makan	Mau makan
Penyuntikan PBS (kontrol)	1 (60 ekor)	Mau makan	Mau makan	Mau makan

Tabel 2. Kondisi tubuh ikan setelah pemberian ECP dari *V. harveyi* selama satu bulan pemeliharaan

Perlakuan	Bak	Kondisi ikan
Penyuntikan ECP <i>V. harveyi</i>	1 (60 ekor)	Tidak ada luka kemerahan/borok
	2 (70 ekor)	Tidak ada luka kemerahan/borok
Penyuntikan PBS (kontrol)	1 (60 ekor)	Tidak ada luka kemerahan/borok
	2 (70 ekor)	Tidak ada luka kemerahan/borok

Tabel 3. Sintasan ikan kerapu hibrida cantang yang diberi ECP dari *V. harveyi* setelah satu bulan pemeliharaan

Perlakuan	Bak	Sintasan (%)	Rata-rata sintasan (%)
Penyuntikan ECP <i>V. harveyi</i>	1 (60 ekor)	93.33	95.24
	2 (70 ekor)	97.14	
Penyuntikan PBS (kontrol)	1 (60 ekor)	96.67	95.48
	2 (70 ekor)	94.29	

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa ECP dari *V. harveyi* tidak bersifat toksik terhadap ikan kerapu hibrida cantang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan dan arahan dari peneliti Laboratorium Patologi BBRBLPP. Kegiatan ini merupakan bagian dari riset APBN yang dilakukan oleh Dr. Ketut Mahardika, Indah Mastuti, S.Si., M.Si., dan Ir. Zafran, M.Sc. pada tahun anggaran 2020.

DAFTAR ACUAN

Anonim. (2021). Definitions for extracellular. <https://www.definitions.net/definition/extracellular>. Disitir tanggal 7 Maret 2021.

Dwinanti, S.H., Sukenda, Yuhana, M., & Lusiastuti, A.M. (2014). Toksisitas dan imunogenisitas produk ekstraseluler *Streptococcus agalactiae* tipe non-hemolitik pada ikan nila (*Oreochromis*

niloticus). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 2(1), 105-116.

Hardi, E.H., Pebrianto, C.A., & Saptiani, G. (2014). Toksisitas produk ekstraseluler dan intraseluler bakteri *Pseudomonas* sp. pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*, 15(3), 312-322.

Hatmanti, A, Nuchsin, R., & Darmayati, Y. (2008). Studi penyakit bakterial pada budidaya ikan kerapu dan bakteri penghambatnya di perairan Teluk Lampung. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 7(1), 51-58.

Mahardika, K., Mastuti, I., Nasukha, A., Septory, R., Syahidah, D., Astuti, N.W.W., & Zafran (2020). Pemanfaatan bakteri patogen pada ikan kerapu sebagai kandidat vaksin, serta aplikasi ekstrak herbal untuk penanggulangan infeksi ektoparasit pada budidaya ikan laut. Laporan teknis Akhir Penelitian, Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan, Pusat Riset Perikanan Budidaya, Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan, 29 hlm.

- Pelczar, M.J.Jr. & Chan, E.C.S. (1986). Dasar-dasar mikrobiologi 1. Jakarta: UI Press.
- Suratmi, S. & Haryanto, S. (2021). Teknik isolasi ECP (*extracellular product*) dan ICC (*intracellular cell*) dari bakteri *Vibrio harveyi*. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur, 19 (inpublish)*.
- Yanuhar, U. (2009). Mekanisme infeksi *Vibrio* pada reseptor ikan kerapu tikus *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan, 1(1)*, 15-19.
- Zhang, X.-H., He, X., & Austin, B. (2020). *Vibrio harveyi*: A serious pathogen of fish and invertebrates in mariculture. *Marine Life Science & Technology, 2*, 231-245.