

## TEKNIK ISOLASI PENYAKIT INFEKSI JAMUR PADA LARVA KUDA LAUT, *Hippocampus kuda* DI HATCHERI DAN UPAYA PENGENDALIANNYA

Slamet Haryanto, Sri Suratmi, dan Mohamad Ansari

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut  
Jl. Br. Gondol, Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Kotak Pos 140, Singaraja, Bali 81155  
E-mail: info.gondol@gmail.com

### ABSTRAK

Budidaya kuda laut, *Hippocampus kuda* telah mulai dikembangkan di beberapa hatcheri Bali Utara, khususnya di Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng. Kendala utama dalam budidaya kuda laut adalah sering terjadi kematian massal pada stadia larva akibat infeksi jamur. Maka dari itu, kegiatan analisa sampel larva kuda laut yang sakit kemudian dilanjutkan uji daya hambat konsentrasi terendah beberapa fungisida telah dilakukan di Laboratorium Patologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk melakukan isolasi dan identifikasi jamur yang menginfeksi larva kuda laut serta upaya pengendaliannya. Hasil dari kegiatan ini adalah satu isolat jamur yang mempunyai karakter hifa kuat, bercabang banyak dan pada proses zoospora terjadi pembentukan tabung pelepasan spora (*discharge tube*) dan gelembung pelepasan spora (*terminal vesicle*). Isolat jamur ini diidentifikasi sebagai *Lagenidium callinectes* dan untuk pengendaliannya, penggunaan trifluralin 1,5 mg/L atau formalin 25 mg/L efektif untuk menekan perkembangan jamur ini.

**KATA KUNCI:** *Hippocampus kuda*, *Lagenidium callinectes*, pengendalian

### PENDAHULUAN

Kuda laut, *Hippocampus kuda* merupakan spesies ikan hias laut yang mempunyai nilai ekonomis tinggi. Selain dipelihara sebagai ikan hias yang unik, kuda laut juga dapat digunakan sebagai bahan baku obat yang berkhasiat untuk berbagai macam penyakit antara lain penyakit impotensi, asma, ginjal, kolesterol dan penyakit kulit (Kusdiarti *et al.*, 1999). Menurut Syarifuddin (2004) dalam Roza & Johnny (2014), bahwa konsumsi kuda laut di Asia mencapai 45 ton/tahun di mana Cina mendominasi yakni >20 ton/tahun diikuti Taiwan >11,2 ton/tahun dan Hongkong >10 ton/tahun.

Di Indonesia, kuda laut juga dikenal dengan nama tangkur kuda yang secara genetis merupakan kerabat dekat dengan tangkur buaya (ikan pipa). Ikan ini sangat unik karena mempunyai morfologi yang berbeda dibanding ikan-ikan yang lain. Selain bentuk kepalanya yang menyerupai kepala kuda, ikan jantan mempunyai kantung

pengeraman telur yang tidak dijumpai pada jenis ikan yang lain. Kantung pengeraman berfungsi untuk melindungi dan mengerami telur yang sudah dibuahi sampai menetas menjadi larva, serta terus melindunginya di dalam kantung hingga siap dilahirkan ke alam menjadi yuwana kuda laut (Fahri, 2009).

Larva atau yuwana adalah sebutan bagi anakan kuda laut yang baru lahir sampai umur maksimal 30 hari atau panjang badan sekitar 2 cm dan atau masih bersifat planktonik, melayang dan belum mampu bertengger pada tempat bertengger. Bentuk badan larva yang baru lahir sudah sempurna, memiliki kelengkapan organ badan menyerupai kuda laut dewasa. Di perairan alam kuda laut mulai dari larva sampai dewasa sepanjang hidupnya memakan zooplankton, crustacean dan larva ikan, sehingga digolongkan ke dalam hewan karnivora (Ari *et al.*, 2005).

Budidaya kuda laut telah mulai dikembangkan di beberapa hatcheri Bali Utara, khususnya di Kecamatan Gerokgak Kabupaten Buleleng. Namun dalam pelak-

sanaannya masih ditemukan beberapa kendala, terutama adalah sering terjadi kematian massal pada stadia larva akibat infeksi jamur. Berawal dari permasalahan tersebut, Laboratorium Patologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol melakukan kegiatan analisa sampel larva kuda laut yang sakit kemudian dilanjutkan uji daya hambat konsentrasi terendah 2 jenis fungisida yaitu trifluralin dan formalin. Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk melakukan isolasi dan identifikasi jamur yang menginfeksi larva kuda laut serta upaya pengendaliannya.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah larva kuda laut, *H. kuda* yang mengalami kematian massal, media PYGSA (bacto peptone 1,25 g; yeast extract 1,25 g; glucose 3 g; bacto agar 12 g; air laut 1 L), media PYGS broth (bacto peptone 1,25 g; yeast extract 1,25 g; glucose 3 g; air laut 1 L), antibiotik (ampisilin dan streptomisin), air laut steril, trifluralin, formalin, alkohol 70% dan alkohol absolut.

### Alat

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, timbangan digital, sendok untuk menimbang, aluminum foil, parafilm, tabung reaksi + rak, autoclave, cork borer no. 2 (diameter 5,5 mm), cutter, gunting, pinset, spidol permanen, cleanbench, lemari pendingin, inkubator dan mikroskop.

### Metode

#### Isolasi Jamur

Analisa terhadap sampel larva kuda laut sakit yang berasal dari hatcheri swasta di Desa Sanggalangit, Kecamatan Gerokgak, Kabupaten Buleleng Bali yang mengalami kematian massal, dilakukan isolasi jamur karena larva kuda laut ini mengalami gejala klinis: terlihat lemas dan adanya bercak-bercak putih pada bagian badannya. Larva sampel tersebut dicuci dengan air laut steril kemudian dikultur pada media PYGSA. Untuk menghindari kontaminasi bakteri, sekelilingnya ditaburi streptomisin dan ampisilin  $\pm$  500  $\mu$ g, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 3-5 hari sambil diamati menggunakan mikroskop setiap hari. Pemurnian dilakukan dengan cara memotong

sebagian kecil miselia yang tumbuh aktif 1 x 1 cm dipindahkan ke media PYGSA yang baru.

### Identifikasi

Untuk identifikasi, miselia jamur yang tumbuh aktif dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 20 mL air laut steril, diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Miselia jamur yang tumbuh dibilas dengan air laut steril sebanyak 3x, kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi air laut steril dan diinkubasi selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan terhadap proses pelepasan spora menggunakan mikroskop. Untuk pengamatan pertumbuhan pada suhu yang berbeda, 6 potongan miselia jamur 1 cm x 1 cm dipindahkan pada masing-masing 6 media PYGSA, kemudian diinkubasi pada suhu 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C dan 40°C. Identifikasi jamur berpedoman pada Roza & Johnny (2007).

### Pengendalian

Untuk pengendalian terhadap infeksi jamur pada larva kuda laut perlu dilakukan uji konsentrasi daya hambat terendah (MIC test) fungisida terhadap isolat jamur tersebut berpedoman pada Roza & Johnny (1999). Fungisida yang digunakan adalah fungisida yang umum digunakan oleh para pembudidaya yakni trifluralin dan formalin. Konsentrasi masing-masing fungisida dibuat dalam tabung reaksi menggunakan metode pengenceran secara berangkai dalam larutan PYGS broth dengan kisaran antara 0,01-100 mg/L. Diawali dengan pembuatan larutan dengan konsentrasi fungisida 100 mg/L, kemudian diencerkan (1:1) sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi fungisida 50 mg/L. Larutan ini kemudian diencerkan kembali (1:1) secara berangkai sehingga diperoleh larutan masing-masing dengan konsentrasi fungisida sebesar 100; 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1; 1,5 0,7; 0,3; 0,2; 0,1; 0,05; 0,02; dan 0,01 mg/L. Sedangkan untuk kontrol negatif, masukkan PYGS broth tanpa fungisida ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ke dalam masing-masing tabung reaksi tersebut diinokulasikan isolat jamur dengan cara memotongnya menggunakan cork borer no. 2. Setiap perlakuan menggunakan 3 ulangan. Setelah itu diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Langkah selanjutnya yaitu melakukan pembilasan dengan cara memasukkan potongan jamur tersebut ke dalam cawan petri yang berisi air laut steril kemudian dilakukan reisolasi jamur dari perlakuan konsentrasi fungisida tersebut

pada media PYGSA dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 hari dan setiap hari dilakukan pengukuran diameter pertumbuhannya. Konsentrasi fungisida uji dikatakan efektif apabila tidak ada pertumbuhan jamur dari hasil reisolasi jamur tersebut.

## HASIL DAN BAHASAN

Hasil analisa pada sampel larva kuda laut, *H. kuda* yang mengalami gejala klinis: lemas dan adanya bercak-bercak putih pada bagian badannya, diperoleh satu isolat jamur. Karakteristik dari isolat jamur tersebut antara lain berwarna keputih-putihan pada media PYGSA dengan diameter 9 cm setelah 7 hari masa inkubasi pada suhu 25°C. Bentuk hifa kuat, bercabang tidak beraturan dengan septum tipis. Pada kultur murni, hifa tumbuh agak seragam dengan lebar 5-30 µm, terdapat sitoplasma yang banyak dengan diameter >40 µm. Zoospora akan terbentuk setelah 12 jam miselia dipindahkan ke dalam air laut steril. Pembentukan zoospora terjadi dari butiran-butiran kecil yang kasar. Vesicle terbentuk pada akhir *discharge tube* dengan ukuran 37-5000 x 4-10 µm dan diameter 25-72,5 µm. Dalam waktu singkat zoospora bergerak dan berkumpul menuju *terminal vesicle* yang terbungkus gelatin, 5 menit kemudian muncul flagella. Setelah

10 menit zoospora akan memisahkan diri dan berenang bebas selama 25-30 menit, 40 menit kemudian vesicle akan lepas dan pecah. Produksi dan pelepasan zoospora ini berlangsung selama seminggu. Satu vesicle dapat menghasilkan 20-40 zoospora, tergantung ukurannya. Pelepasan zoospora berlangsung cepat dan serentak begitu vesicle terbuka. Zoospora yang dikeluarkan berbentuk bola dengan diameter 7,5-15 µm (rata-rata 10 µm) dengan ketebalan dindingnya sebesar 1,5 µm. Germinasi terjadi setelah 3 jam zoospora dipindahkan ke dalam PYGS broth. Berdasarkan karakteristik tersebut maka isolat jamur ini diidentifikasi sebagai *Lagenidium callinectes* (Tabel 1).

*L. callinectes* mempunyai toleransi yang tinggi terhadap suhu karena dapat tumbuh pada kisaran 20-40°C, namun tumbuh optimal pada suhu 25°C. Jamur ini mempunyai siklus hidup yang pendek yakni hanya 48 jam (Roza & Johnny, 2002). Roza & Johnny (2014) menyatakan bahwa *L. callinectes* toleran terhadap air tawar dan payau namun optimum tumbuh pada air laut. Bahkan menurut penelitian Roza & Johnny (2007) jamur ini mampu memanfaatkan NaCl dan KCl sebagai sumber mineral, karbon dan energi. Berdasarkan penelitian Roza & Johnny (2014) *L. callinectes* selain tumbuh optimum

Tabel 1. Karakteristik isolat jamur dibandingkan dengan *Lagenidium callinectes*

| Karakteristik                          | Isolat jamur | <i>Lagenidium callinectes</i><br>(Roza & Johnny, 2007) |
|--|--------------|--|
| Diameter koloni (cm), pada suhu (°C)*  |              |  |
| 15                                     | 5,3          | 5,5  |
| 20                                     | 7,5          | 7,5  |
| 25                                     | 9            | 9  |
| 30                                     | 8            | 8  |
| 35                                     | 6            | 6,1  |
| 40                                     | -            | -  |
| Formasi vesicle                        | +            | +  |
| Discharge tube                         | Panjang      | Panjang  |
| Hifa halus                             | +            | +  |
| Cabang hifa                            | +            | +  |
| Fragmen hifa                           | -            | -  |
| Vakuola hifa                           | +            | +  |
| Sekat hifa                             | +            | +  |
| Disartikulasi                          | -            | -  |
| Formasi zoospora                       | Vesicle      | Vesicle  |
| Diameter zoospora yang dilepaskan (µm) | 7,5-15       | 15-Agu   |
| Perkecambah seperti rambut             | -            | -  |

Keterangan: \* = 7 hari inkubasi; - = negatif; + = positif

Tabel 2. Konsentrasi daya hambat terendah (MIC test) fungisida terhadap isolat jamur

| Konsentrasi (mg/L) | Fungisida   |            |            |            |            |            |
|--------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                    | Trifluralin |            |            | Formalin   |            |            |
|                    | 1           | 2          | 3          | 1          | 2          | 3          |
| 100                | -           | -          | -          | -          | -          | -          |
| 50                 | -           | -          | -          | -          | -          | -          |
| 25                 | -           | -          | -          | -          | -          | -          |
| 12,5               | -           | -          | -          | +          | +          | +          |
| 6,2                | -           | -          | -          | +          | +          | +          |
| 3,1                | -           | -          | -          | +          | +          | +          |
| 1,5                | -           | -          | -          | +          | +          | +          |
| 0,8                | +           | +          | +          | + (3,1 mm) | + (3 mm)   | + (3,4 mm) |
| 0,4                | +           | +          | +          | + (4 mm)   | + (4,3 mm) | + (4,5 mm) |
| 0,2                | +           | +          | +          | + (5,5 mm) | + (5,3 mm) | + (5,7 mm) |
| 0,1                | +           | +          | +          | + (7 mm)   | + (6,9 mm) | + (7,1 mm) |
| 0,05               | +           | +          | +          | + 7,8 mm)  | + (7,5 mm) | + (8 mm)   |
| 0,02               | + (3 mm)    | + (3,1 mm) | + (2,9 mm) | + (8 mm)   | + (8,2 mm) | + (8,1 mm) |
| 0,01               | + (5,1 mm)  | + (5 mm)   | + (5,1 mm) | + (8,9 mm) | + (9,1 mm) | + (9 mm)   |
| 0 (kontrol)        | + 9 (mm)    | + (9,2 mm) | + (9,1 mm) | + (9,2 mm) | + (9 mm)   | + (9,5 mm) |

Keterangan: - = tidak tumbuh, + = tumbuh, mm = diameter jamur

pada media PYGSA, jamur ini juga cukup baik tumbuh pada media GYSA (*Glucose Yeast extract Seawater Agar*), PDSA (*Potato Dextrose Seawater Agar*), NSA (*Nutrient Seawater Agar*) dan CMSA (*Corn Meal Seawater Agar*).

Menurut beberapa laporan sebelumnya, infeksi *L. callinectes* tergolong patogen (Roza & Johnny, 2007; Roza, 2012; Roza *et al.*, 2012; Suratmi *et al.*, 2014). Roza & Johnny (2014) menyatakan bahwa frekuensi infeksi jamur ini lebih sering terjadi pada musim hujan. Jamur ini hidup dan memakan jaringan badan inangnya sebagai sumber makanan, sehingga tidak jarang ditemukan larva yang mati badannya keropos, tinggal tulang dan kulit, sedangkan dagingnya telah habis.

Hasil MIC test 2 jenis fungisida trifluralin dan formalin terhadap pertumbuhan jamur *L. callinectes* (Tabel 2) adalah: pada perlakuan trifluralin dengan konsentrasi 0,02 mg/L jamur masih tumbuh dengan diameter 2,9-3,1 mm, pada konsentrasi 0,05-0,8 mg/L diameter jamur sudah sulit untuk diukur namun masih tumbuh walaupun sangat sedikit dan pada konsentrasi 1,5 mg/L sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan. Sedangkan pada perlakuan formalin, konsentrasi 12,5 mg/L jamur masih tumbuh

dengan diameter 3-3,4 mm, pada perlakuan 1,5-12,5 mg/L diameter jamur sudah tidak dapat diukur karena pertumbuhannya sangat sedikit dan pada konsentrasi 25 mg/L jamur sudah tidak tumbuh.

Proses penghambatan pertumbuhan jamur oleh fungisida disebabkan karena menurunnya pengambilan oksigen oleh mitokondria yang mengalami kerusakan membran, sehingga akhirnya energi yang dihasilkan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel menjadi berkurang sehingga pertumbuhan *L. callinectes* menjadi tidak normal dan pada akhirnya mati. Beberapa fungisida mampu menghambat proses pembentukan dinding sel yang diperlukan untuk memanjangkan hifa, percabangan, pembentukan spora dan pembelahan sel (Roza, 2012). Roza & Johnny (2014) menyatakan bahwa kerusakan yang disebabkan fungisida bersifat fungisidal (membunuh jamur) dan fungistatik (mencegah pertumbuhan vegetatif jamur).

Roza & Johnny (2014) juga menyatakan bahwa pengendalian infeksi jamur menggunakan bahan kimia yang berlebihan akan menimbulkan masalah baru karena akan memunculkan generasi jamur baru yang resisten dan kebal terhadap bahan

kimia, maka dari itu metode penggunaannya harus tepat dan bahan yang digunakan harus dipilih yang tidak menimbulkan dampak terhadap lingkungan maupun komoditas budidaya serta konsumennya.

## KESIMPULAN

Berdasarkan karakteristik jamur yang menginfeksi larva kuda laut, *Hippocampus kuda* di hatcheri diidentifikasi sebagai jamur *Lagenidium callinectes* dan penggunaan fungisida trifluralin 1,5 mg/L atau formalin 25 mg/L efektif untuk menanggulangnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Ibu Ir. Des Roza, Bapak Drh. Fris Johnny Ravael, Bapak Ir. Zafran, M.Sc. dan Kristiana Subyakto, S.Pi. selaku peneliti dan staf dari Laboratorium Patologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Budidaya Laut, Gondol-Bali yang telah membantu dalam pelaksanaan kegiatan serta membimbing langsung dalam penulisan makalah ini.

## DAFTAR ACUAN

- Ari, W.K., Thariq, M., & Santoso, H. (2005). Pemeliharaan yuwana. Direktorat Jenderal Perikanan, Balai Budidaya Laut, Lampung.
- Fahri, M. 2009. Laporan akhir tugas terstruktur mata kuliah Pengembangan Budidaya Perairan, Universitas Brawijaya. 11 hal.
- Kusdiarti, Asmanelli, & Soeharmoko. (1999). Penelitian pendahuluan perbedaan pemberian pakan terhadap kelulusan hidup anakan kuda laut. *Prosiding Temu Karya Ilmiah*. Penelitian Menuju Program Swasembada Pakan Ikan Budidaya. Puslitbangkan. Jakarta, hlm. 92-95.

- Roza, D., & Johnny, F. (1999). Penggunaan berbagai fungisida pada induk kepiting bakau (*Scylla serrata* Forsskal) pada masa pengeraman telur untuk mencegah infeksi *Lagenidium* spp. terhadap larvanya. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, V(1), 58-63.

- Roza, D., & Johnny, F. (2002). Jamur Lagenidiales yang diisolasi dari larva kepiting bakau (*Scylla serrata*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 8(2), 53-59.

- Roza, D., & Johnny, F. (2007). *Lagenidium callinectes* infection on rotifers, *Brachionus* sp. *Indonesian Aquaculture J.*, 2(1), 15-22.

- Roza, D. (2012). Kematian massal larva udang windu, *Penaeus monodon* Fabricius akibat infeksi *Lagenidium callinectes*. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Seri Penyakit Ikan dan Lingkungan, hlm. 691-697.

- Roza, D., Johnny, F., & Setiawati, K.M. (2012). Infeksi jamur ordo Lagenidiales, *Lagenidium callinectes* pada ikan klon, *Amphiprion ocellaris* di hatcheri dan penanggulangannya. *Prosiding Seminar Nasional Mikologi*, hlm. 299-305.

- Roza, D., & Johnny, F. (2014). Kasus kematian massal larva kuda laut, *Hippocampus kuda* di hatcheri. *Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. Yogyakarta, 30 Agustus 2014. 15 hlm.

- Suratmi, S., Haryanto, S., & Ansari, M. (2014). Teknik pengendalian penyakit infeksi jamur pada ikan capungan banggai, *Pterapogon kauderni* di hatcheri. *Prosiding Pertemuan Teknis Teknis Litkayasa*. hlm. 95-99.