

ISOLASI JAMUR LAGENIDIALES PADA LARVA KEPITING BAKAU (*Scylla tranquebarica*)

Slamet Haryanto^{*)}

^{*)} Teknisi Litkayasa pada Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol

ABSTRAK

Pembenihan kepiting bakau, *Scylla tranquebarica* telah dilaksanakan di Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali. Namun dalam pelaksanaannya masih banyak kendala, di antaranya sering terjadinya kematian massal terutama pada stadia zoea. Hasil pengamatan secara mikroskopis di laboratorium menunjukkan bahwa larva kepiting bakau rentan terhadap infeksi jamur dari Ordo Lagenidiales. Dalam makalah ini dibahas teknik isolasi dan identifikasi jamur dari Ordo Lagenidiales dari larva kepiting bakau, *Scylla tranquebarica* di hatcheri. Teknik isolasi dan identifikasi jenis jamur dari larva kepiting bakau ini dapat membantu dalam upaya pengendalian infeksi jamur Lagenidiales di hatcheri.

KATA KUNCI: isolasi, jamur Lagenidiales, *Scylla tranquebarica*

PENDAHULUAN

Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut Gondol, Bali telah melaksanakan budidaya kepiting bakau, *Scylla tranquebarica*, namun sering terjadi kematian massal pada stadia zoea. Larva yang terinfeksi secara visual terlihat mengalami perubahan warna tubuh dari normal transparan menjadi keputih-putihan. Sedangkan pada tubuh larva yang sudah mati terlihat adanya bintik putih pada karapas bagian punggung. Dari pengamatan secara mikroskopis terhadap zoea tersebut, diketahui bahwa pada tubuhnya sudah dipenuhi oleh hifa dan adanya *discharge tube* (tabung pelepasan) yang memproduksi zoospora. Kematian larva kepiting bakau akibat infeksi jamur dapat mencapai 100%. Kelompok jamur yang banyak ditemukan menginfeksi larva kepiting bakau di hatcheri adalah dari Ordo Lagenidiales, terutama *Lagenidium* sp. (Roza *et al.*, 1996); *Haliphthoros* sp. (Zafran *et al.*, 1993); *Halocrusticida hamanaensis* (Hatai, 1989).

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas maka perlu dilakukan teknik isolasi dan identifikasi untuk mengetahui jenis jamur Ordo Lagenidiales yang menginfeksi larva kepiting bakau tersebut. Dari hasil penelitian uji patogenisitas diketahui bahwa ketiga jenis jamur ini dapat menyebabkan tingkat kematian mencapai 100% setelah 48 jam infeksi

(Roza & Hatai, 1999). Tujuan dari kegiatan ini adalah untuk memperoleh teknik isolasi dan identifikasi jamur yang menginfeksi larva kepiting bakau di hatcheri.

BAHAN DAN TATA CARA

BAHAN

Bahan yang digunakan dalam kegiatan ini adalah larva kepiting bakau, *Scylla tranquebarica* stadia zoea-1 dan 3 yang mati maupun yang dalam kondisi lemah, media PYGSA (*bacto peptone* 1,25 g; *yeast extract* 1,25 g; *glucose monohydrate* 3 g; *bacto agar* 12 g dalam 1 L air laut disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 25 mL dan didiamkan sampai beku), media PYGS (tanpa *bacto agar*), ampicilin, streptomisin, *ethanol absolute*, *ethanol* 70%, dan air laut steril.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah gelas ukur, cawan petri, *beaker glass*, pinset steril, *scalpel*, *slide glass*, *erlenmeyer*, timbangan digital, sendok untuk menimbang, *aluminum foil*, *parafilm*, *autoclave*, penggaris, spidol permanen, mikroskop dilengkapi dengan kamera, *cleanbench*, lemari pendingin, dan inkubator.



Gambar 1. Larva kepiting bakau, *Scylla tranquebarica* stadia zoea (a dan b), dan larva yang terinfeksi jamur Lagenidiales (c)

TATA CARA

Teknik Isolasi

- Ambil larva kepiting bakau stadia zoea-1 dan 3 yang lemah dan mati menggunakan pinset steril kemudian letakkan di atas *slide glass*
- Amati dengan mikroskop untuk mengetahui ada atau tidaknya infeksi jamur
- Zoea yang terinfeksi jamur yang ditandai dengan adanya hifa diinokulasikan ke atas media PYGSA dengan menggunakan pinset steril
- Tambahkan streptomisin dan ampicilin masing-masing sebanyak 500 mg agar tidak terjadi kontaminasi bakteri
- Masukkan kedalam inkubator dengan suhu 25°C selama 48—72 jam
- Lakukan pemurnian dengan cara memotong miselia jamur yang aktif tumbuh dengan diameter 5,5 mm (Cork borer nomor 2) menggunakan *scalpel* yang sudah disterilkan dan dipindahkan ke media PYGSA baru
- Masukkan kedalam inkubator dengan suhu 25°C
- Lakukan pengukuran diameter koloni jamur setiap hari selama 7 hari

Teknik Identifikasi

- Kultur isolat jamur yang murni yang aktif tumbuh dipotong dengan diameter 5,5 mm (Cork borer nomor 2) menggunakan *scalpel* yang sudah disterilkan dan diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media PYGS cair
- Masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 25°C selama 72 jam
- Miselia jamur yang tumbuh setelah masa inkubasi dicuci dengan air laut steril sebanyak tiga kali

- Setelah pencucian, miselia jamur tersebut dipindah menggunakan pinset steril ke dalam cawan petri yang berisi 25 mL air laut steril
- Masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 25°C untuk pembentukan *discharge tube* dan zoospora
- Amati dengan mikroskop secara berkala (tiap jam) untuk mengetahui proses pembentukan dan pelepasan zoosporanya

Teknik isolasi dan identifikasi jamur Lagenidiales pada larva kepiting bakau disajikan secara rinci pada Diagram 1.

HASIL DAN BAHASAN

Telah diisolasi tiga isolat jamur Lagenidiales yang menginfeksi larva kepiting bakau stadia zoea-1 dan 3 hasil penetasan di Laboratorium Patologi Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali. Secara visual larva yang terinfeksi jamur terlihat adanya perubahan warna tubuh dari normal (transparan) menjadi keputih-putihan, pada karapas bagian punggung terlihat adanya bintik putih dan dari pengamatan secara mikroskopis terlihat bahwa pada tubuh larva tersebut sudah dipenuhi oleh hifa. Pertumbuhan jamur Lagenidiales pada media PYGSA ditampilkan pada Gambar 2.

Secara morfologi isolat pertama dari jamur Lagenidiales mempunyai karakter antara lain warna koloni pada media PYGSA keputih-putihan, dengan diameter 17,0—21,0 cm setelah 5 hari inkubasi pada suhu 25°C. Hifa bercabang tidak beraturan, tidak mempunyai septum, berbentuk batang yang licin dengan lebar 16—46 µm. Pembentukan protoplasma dalam hifa terlihat dengan jelas pada media air laut. Perubahan bentuk protoplasma ke dalam sporangium tidak beraturan dengan bentuk dan ukurannya bervariasi yang memproduksi

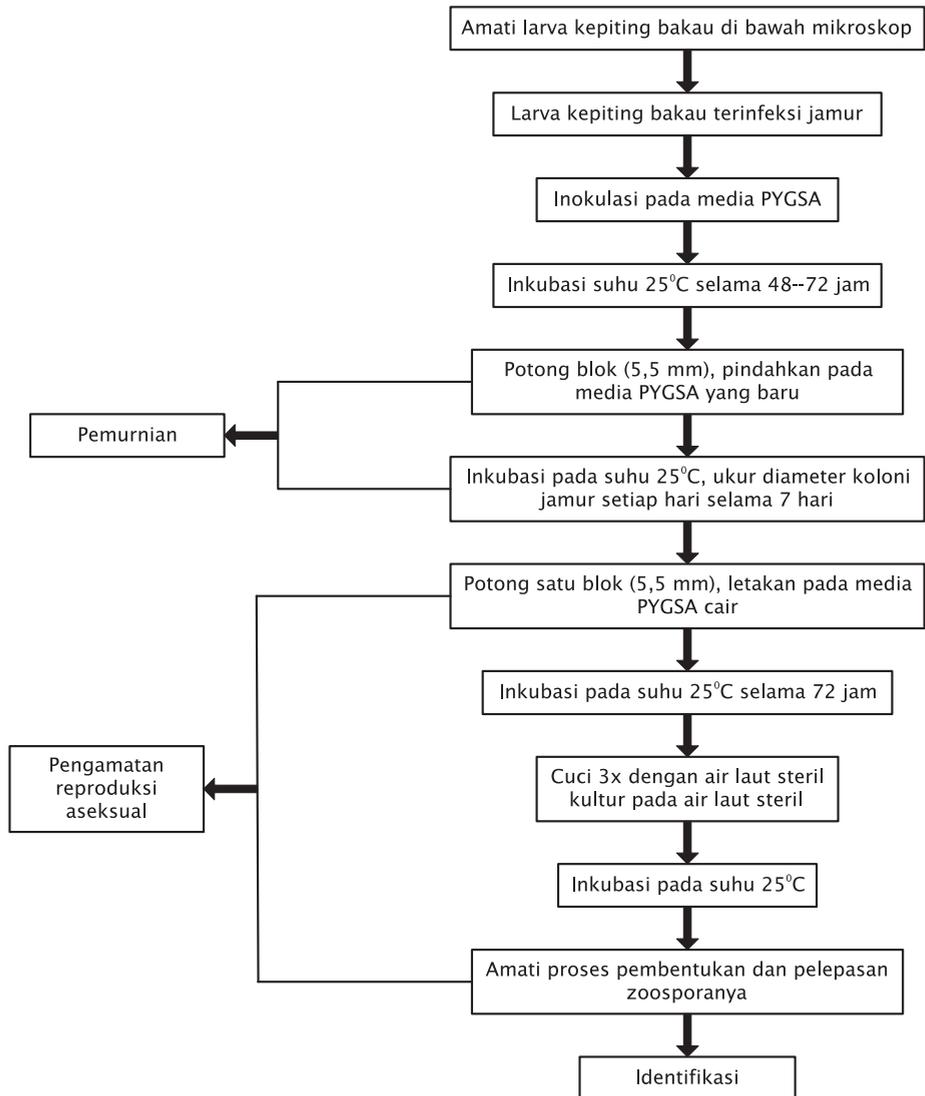
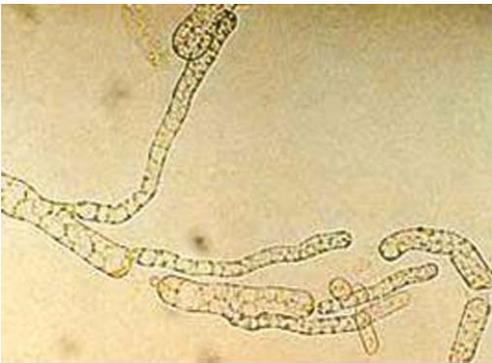


Diagram 1. Teknik isolasi dan identifikasi jamur Lagenidiales yang menginfeksi larva kepiting bakau, *Scylla tranquebarica*



Gambar 2. Bentuk pertumbuhan jamur Lagenidiales pada media PYGSA

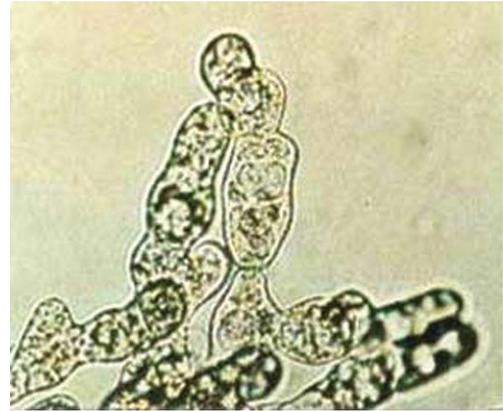
discharge tube (tabung pelepasan). Banyak vakuola yang muncul dalam zoosporangium dan *discharge tube* yang keluar. Pembentukan zoospora terlihat setelah 10 jam pemindahan miselia kedalam air laut dan berlangsung selama 5 hari. Pembentukan satu *discharge tube* biasanya dari cabang setiap zoosporangium maka isolat jamur Lagenidiales ini diidentifikasi sebagai *Haliphthoros* sp. (Hatai, 1989; Roza *et al.*, 2002; Roza & Johnny, 2002). Jamur *Haliphthoros* sp. dari Lagenidiales ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Jamur *Haliphthoros* sp. dari Lagenidiales yang menginfeksi keping bakau, *S. tranquebarica*

Isolat kedua jamur Lagenidiales mempunyai karakter yakni koloni berwarna agak kuning dengan diameter 5,6—7,0 cm setelah 3 hari inkubasi pada suhu 25°C menggunakan media PYGSA. Hifa kuat, bercabang, dan mempunyai septum yang tipis diameter hifa 12—40 μm . Hifa mempunyai ujung dengan diameter 150 μm yang berisi sitoplasma. Setiap sporangium membentuk septum dan beberapa cabang sebagai batas *discharge tubes* (tabung pelepasan). *Discharge tube* ini kadang-kadang berbentuk lurus atau berombak dengan ukuran 40-1.150 x 5-15 mm. Ukuran zoospora adalah 5,0-10,0 x 3,8-5,0 μm dengan flagela bercabang dua. Spora yang dikeluarkan diameternya 4,5—7,5 μm ; berbentuk bola; dan kaku. Pada media air laut steril spora yang berenang akan berkembang membentuk filamen yang panjangnya 10—270 μm . Ujung filamen melebar dan berkecambah menjadi tunas hifa dengan diameter 5—10 μm , vakuola tidak jelas dengan granula kecil dan licin. Dari karakter di atas maka isolat kedua dari jamur Lagenidiales diidentifikasi sebagai

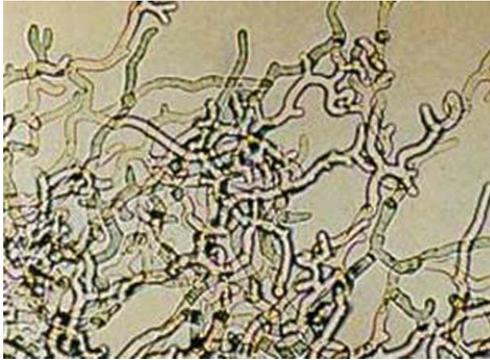
Halocrusticida sp. (Hatai, 1989; Roza *et al.*, 2002; Roza & Johnny, 2002). Jamur *Halocrusticida* sp. dari Lagenidiales ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Jamur *Halocrusticida* sp. dari Lagenidiales yang menginfeksi keping bakau, *S. tranquebarica*

Sedangkan isolat ketiga dari jamur Lagenidiales mempunyai bentuk hifa kuat, bercabang, mempunyai septum tipis. Pada kultur murni, hifa tumbuh agak seragam dengan diameter 7—17 μm dengan sitoplasma yang banyak sehingga tidak beraturan dan membesar sampai diameter besar dari 40 μm . Pembentukan spora terjadi dari butiran-butiran kecil yang kasar. *Vesicle* terbentuk pada akhir *discharge tube* dengan ukuran 37-5.000 x 4-10 μm dan diameternya 25—72,5 μm yang banyak mengandung protoplasma dengan diameter 22,5—65 μm . Zoospora adalah monoplanetik yang mempunyai dua flagela, bentuk, dan ukuran tidak beraturan seperti bola memanjang dengan ukuran 8-17,5 x 7,5-15 μm (rata-rata 10 μm) mempunyai dinding yang tebal lebih besar dari 1,5 μm . Berdasarkan karakternya maka isolat ketiga jamur Lagenidiales diidentifikasi sebagai *Lagenidium* sp. (Hatai, 1989; Roza *et al.*, 2002; Roza & Johnny, 2002; Roza & Johnny, 2007). Jamur *Lagenidium* sp. dari Lagenidiales ditampilkan pada Gambar 5.

Setelah dilakukan uji patogenisitas pada larva keping bakau stadia zoea 1 sampai zoea 4 selama 48 jam, diperoleh hasil bahwa jamur *Halocrusticida* lebih patogen daripada jamur *Haliphthoros* dan jamur *Lagenidium* (Roza & Hatai, 1999).



Gambar 5. Jamur *Lagenidium* sp. dari Lagenidiales yang menginfeksi kepiting bakau, *S. tranquebarica*

Karakter umum ketiga isolat jamur tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakter ketiga isolat jamur Lagenidiales yang diisolasi dari larva kepiting bakau, *Scylla tranquebarica*

Karakteristik	<i>Haliphthoros</i>	<i>Halocrusticida</i>	<i>Lagenidium</i>
Diameter koloni (cm)*	17	6,5	7--22
Formasi vesikel	-	-	+
Tabung pelepasan	panjang	pendek	panjang
Hifa halus	+	-	+
Cabang hifa	+	-	+
Fragmen hifa	+	-	-
Vakuola hifa	+	-	+/-
Sekat hifa	-	+	+/-
Disartikulasi	-	-	-
Formasi zoospora	bagian kecil	semua bagian talus	vesikel
Diameter zoospore yang dilepaskan (µm)	5--7	5--7	8--10
Perkecambahan seperti rambut	+	+	-

Keterangan:

- = negatif;

+ = positif;

* = 5 hari setelah waktu inkubasi

KESIMPULAN

Telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi tiga isolat jamur Lagenidiales dari larva kepiting bakau *Sylla tranquebarica* stadia zoea-1 dan 3 yaitu *Haliphthoros* sp., *Halocrusticida* sp., dan *Lagenidium* sp. Dari ketiga jenis jamur tersebut ternyata jamur *Halocrusticida* sp., lebih patogen daripada jamur *Haliphthoros* sp. dan jamur *Lagenidium* sp.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Ir. Des Roza Boer, Bapak Drh. Fris Johnny Ravael, dan Bapak Ir. Zafran, M.Sc. selaku peneliti dari Laboratorium Patologi Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol-Bali yang telah membimbing langsung dalam penulisan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Hatai, K. 1989. Fungal pathogens and parasites of aquatic animals. In Austin, B. and B. Austin (Eds.), Methods for Microbiological Examination of Fish and Shellfish. Ellis Horwood Limited, England. p. 250—258.
- Roza, D., Fris Johnny, dan Yunus. 1996. Uji coba pemanfaatan bakteri untuk menghambat perkembangan jamur *Lagenidium* sp. pada larva kepiting bakau, *Scylla serrata*.

Seminar Nasional Mikrobiologi Lingkungan II, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bogor, 9—10 Oktober 1996. 10 pp.

Roza, D. and K. Hatai, 1999. Pathogenicity of fungi isolated from the larvae of the mangrove crab, *Scylla serrata*, in Indonesia. *Mycoscience*. 40: 427—431.

Roza, D., F. Johnny, and K. Hatai 2002. *Atkinsiella dubia* and *Halocrusticida*

- panulirata* Infection on Larvae of Japanese Mitten Crab, *Eriocheir japonicus* De Haan. *J. Ilmu Biologi Biosfera*. 19(1): 12—22.
- Roza, D. and F. Johnny, 2002. Jamur Lagenidiales yang Diisolasi dari Larva Kepiting Bakau, *Scylla transquebarica*. *J. Penel. Perikanan Indonesia*. 8(2) :53—59.
- Zafran, D. Roza, dan A. Parenrengi. 1993. Karakteristik dan penanggulangan jamur *Lagenidium* sp. pada larva kepiting bakau, *Scylla serrata*. *J. Penel. Budidaya Pantai*. 9(4): 29—39.