

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

EFEKTIVITAS BEBERAPA BAHAN KIMIA TERHADAP COCCON DAN LINTAH LAUT HIRUDINEA (*Zeylanicobdella arugamensis*)

Ketut Mahardika*, Indah Mastuti, Ahmad Muzaki, dan Zafran

Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan
Jl. Br. Gondol Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Kotak Pos 140, Singaraja 81101, Bali

(Naskah diterima: 12 Februari 2019; Revisi final: 10 April 2019; Disetujui publikasi: 10 April 2019)

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas bahan kimia terhadap *Zeylanicobdella arugamensis* yang menginfeksi ikan kerapu hibrida cantik secara *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in vitro* dilakukan dengan mengoleksi *Z. arugamensis* dari ikan kerapu hibrida cantik dan ditempatkan dalam cawan petri (100-200 ekor/cawan petri). *Z. arugamensis* tersebut diinkubasi dalam suhu ruang selama satu hari agar menghasilkan coccon. Masing-masing dua cawan petri yang berisi *Z. arugamensis* direndam dengan obat cacing dan bahan kimia seperti albendazole, levamisole, oxfendazole, dan piperazine pada dosis 1.000 mg/L, ivermectin dosis 30-100 mg/L, calcium hypochlorite (kaporit) dosis 10.000 mg/L, formalin dosis 200-400 mg/L, klorin dosis 200-400 mg/L, tembakau dosis 10.000-50.000 mg/L dalam air laut dan air tawar, dan air laut sebagai kontrol. Perendaman dilakukan selama 60 menit dan selanjutnya diganti dengan air laut steril untuk diinkubasi selama 13 hari. Bahan kimia tersebut juga digunakan untuk perendaman secara *in vivo* terhadap ikan kerapu hibrida cantik yang terinfeksi lintah. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa formalin dan klorin pada dosis 300 mg/L dan 400 mg/L, ivermectin dosis 100 mg/L, kaporit dosis 10.000 mg/L selama 60 menit mampu membunuh *Z. arugamensis* dan cocconya hingga 100%. Sedangkan perendaman obat cacing, dan tembakau kurang efektif untuk membunuh *Z. arugamensis* dan cocconya. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa bahan kimia dengan dosis tinggi bersifat toksik pada ikan uji. Perendaman dengan formalin dan hidrogen peroksida pada dosis 100-200 mg/L dalam air tawar selama 60 menit efektif dalam membunuh *Z. arugamensis* dan aman bagi ikan kerapu hibrida cantik.

KATA KUNCI: bahan kimia; coccon; kerapu hibrida; uji *in vitro*; uji *in vivo*; *Zeylanicobdella arugamensis*

ABSTRACT: *Effectiveness of different chemical compounds against cocoon and marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*). By: Ketut Mahardika, Indah Mastuti, Ahmad Muzaki, and Zafran*

*The purpose of this study was to determine the effectiveness of different chemical compounds on parasite *Zeylanicobdella arugamensis* infecting hybrid grouper "cantik" through *vitro* and *in vivo*. The *in vitro* tests were carried out by collecting leeches from hybrid grouper "cantik", and then placed in petridishes (100-200 leeches/petridish). The *Z. arugamensis* was incubated at room temperature for one day to allow cocoon. Afterward, each of the two petridishes containing *Z. arugamensis* were soaked with each selected chemical such as albendazole, levamisole, oxfendazole, and piperazine at doses of 1,000 ppm; ivermectin doses of 30-100 ppm; calcium hypochlorite dosage of 10,000 ppm; formalin doses 200-400 ppm; chlorine doses 200-400 ppm; tobacco doses 10,000-50,000 ppm mixed in sea water or fresh water; fresh water and sea water as a control. Soaking with the chemicals was carried out for 60 minutes and then replaced with sterile sea water and incubated for 13 days. These chemicals were also used in *in vivo* treatment against hybrid grouper "cantik" infected by *Z. arugamensis*. The *in vitro* test showed that formalin and chlorine at doses of 300 ppm and 400 ppm, ivermectin at a dose of 100 ppm, calcium hypochlorite dose of 10,000 ppm of seawater for 60 minutes were able to kill *Z. arugamensis* and its cocoon up to 100%. While the use of anti-worm chemicals or medicines (albendazole, levamisole, oxfendazole, piperazine), and herbal tobacco drugs were less effective in killing *Z. arugamensis* and its cocoon. The *in vivo* test provided evidences that high-dose of chemicals were toxic to hybrid grouper "cantik". Soaking with formalin and hydrogen peroxide at a dose of 100-200 ppm in fresh water for 60 minutes were effective in killing *Z. arugamensis* and safe for hybrid grouper "cantik".*

KEYWORDS: chemicals; cocoon; hybrid grouper; *in vitro* test; *in vivo* test; *Zeylanicobdella arugamensis*

* Korespondensi: Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan. Jl. Br. Gondol Kec. Gerokgak Kab. Buleleng, Kotak Pos 140, Singaraja 81101, Bali, Indonesia.
Tel. + 62 362 92278
E-mail: kmahardika@yahoo.com

PENDAHULUAN

Budidaya perikanan di Indonesia semakin berkembang. Secara makro ekonomi, data Badan Pusat Statistik (BPS) mencatat pertumbuhan PDB (produk domestik bruto) nasional sektor perikanan tahun 2017 sebesar 6,75% atau naik sebesar 31 persen dari tahun 2016. Angka PDB tersebut tercatat paling progresif dan berada di atas rata-rata pertumbuhan PDB nasional yang hanya 5,03%. Kinerja PDB sektor perikanan, ditopang oleh volume produksi perikanan budidaya, yang mana dalam lima tahun terakhir (2013-2017) tercatat tumbuh rata-rata sebesar 5,11% (DJPB, 2018). Perkembangan budidaya yang semakin intensif dapat menimbulkan masalah patologis serius. Salah satu penyebab masalah patologis tersebut adalah infeksi parasit yang dapat menghambat pertumbuhan normal ikan bahkan dapat menimbulkan kematian massal (Athanasopoulou *et al.*, 2009). Infeksi parasit hirudinea (Piscicolidae) dapat menghambat pertumbuhan ikan laut dan ikan air tawar. Salah satu spesies hirudenia yaitu *Zeylanicobdella arugamensis* dilaporkan dapat menginfeksi ikan air laut di Asia Tenggara (Kua *et al.*, 2010). Ikan laut yang dilaporkan dapat terinfeksi *Z. arugamensis* adalah ikan kerapu bebek *Cromileptes altivelis*, kerapu macan *Epinephelus fuscoguttatus*, napoleon *Cheilinus undulatus*, kerapu batik *E. polyphemus* (Koesharyani *et al.*, 2001), kerapu hibrida (Mahardika *et al.*, 2018a; Murwantoko *et al.*, 2017), orange-spotted grouper *E. cooides* (Cruz-Lacierda *et al.*, 2000; Koesharyani *et al.*, 2001; Kleinertz & Palm, 2013), crimson snapper *Lutjanus erythrophthalma* (Ravi & Yahaya, 2017), kerapu *E. areolatus* (Kleinertz *et al.*, 2014), kakap putih *Lates calcarifer* (Kua *et al.*, 2010), dan kerapu sunu *Plectropomus leopardus*. *Z. arugamensis* dapat hidup dengan menghisap darah inangnya. Patogenisitas parasit ini rendah tetapi infeksi berat dapat menyebabkan luka pada kulit sehingga memberi peluang bagi bakteri sebagai infeksi sekunder (Koesharyani *et al.*, 2001).

Kontrol terhadap infeksi lintah laut pada ikan kerapu dapat dilakukan dengan perendaman ikan dengan 50-250 mg/L formalin selama satu jam dengan aerasi kuat (Koesharyani *et al.*, 2001; Cruz-Lacierda *et al.*, 2000). *Treatment* tersebut, diikuti dengan perendaman dengan antibiotik untuk menghindari agar tidak terjadi infeksi sekunder oleh bakteri akibat bekas luka yang ditinggalkan oleh lintah tersebut. Secara *in vitro*, perendaman dengan formalin dosis 250-500 mg/L, levamizole dosis 500-1.000 mg/L, ivermectin dosis 62,2-1.000 mg/L, CuSO₄ dosis 500-1.000 mg/L dapat membunuh lintah laut (Murwantoko *et al.*, 2017). Namun demikian, *treatment* bahan kimia tersebut di atas dilaporkan efektif untuk membunuh lintahnya saja

dan belum diketahui apakah bahan kimia tersebut juga berpengaruh terhadap coccon yang dihasilkan oleh lintah tersebut. *Treatment* formalin, hidrogen peroksida dan air tawar terhadap ikan kerapu yang terinfeksi lintah telah diterapkan oleh pembudidaya di *hatchery* dan keramba jaring apung (KJA) di Pulau Bali dan sekitarnya. *Treatment* tersebut hampir dilakukan setiap 1-2 minggu sekali karena populasi lintah yang menginfeksi ikan kerapu selalu datang dan berkembang dengan cepat. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan *treatment* lintah laut dan coccon-nya dengan beberapa bahan kimia dalam skala laboratorium. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas dari beberapa bahan kimia terhadap lintah laut beserta coccon-nya.

BAHAN DAN METODE

Sumber Lintah Laut (*Hirudinea, Z. arugamensis*)

Z. arugamensis diperoleh dari ikan kerapu hibrida cantang (f *E. fuscoguttatus* X m *E. lanceolatus*) yang dibesarkan di bak pemeliharaan volume 1 m³ di Balai Besar Riset Budidaya Laut dan Penyuluhan Perikanan, Gondol, Bali. *Z. arugamensis* dikoleksi dengan cara merendam ikan kerapu dengan air tawar selama 30 menit dengan aerasi kuat. *Z. arugamensis* yang sudah lepas dari ikan maupun yang masih menempel di ikan diambil secara manual (dengan tangan) dan ditempatkan dalam cawan petri (diameter 8 cm, 100-200 lintah laut/cawan petri) yang telah diisi dengan air laut (31 ppt). Lintah yang dikoleksi adalah lintah yang ukurannya > 5 mm atau ukuran dewasa agar dapat menghasilkan coccon. Beberapa *Z. arugamensis* kondisinya menjadi lemah dan bahkan ada yang mati setelah ditempatkan dalam cawan petri yang mengandung air laut karena adanya lendir ikan yang menempel pada lintah. Dua jam setelahnya, *Z. arugamensis* yang lemah atau mati dan tidak menempel dalam cawan petri dibuang dengan membilas cawan petri dengan air laut steril sehingga jumlah *Z. arugamensis* dalam setiap cawan petri tidak sama. *Z. arugamensis* dalam cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 28°C-30°C hingga menghasilkan coccon atau sampai dilakukan *treatment*. Penggunaan air laut steril dilakukan untuk mengurangi protozoa yang dapat mengganggu kehidupan *Z. arugamensis* dan perkembangan coccon yang dihasilkannya (Mahardika *et al.*, 2018b).

Bahan Kimia untuk *Treatment*

Bahan kimia yang digunakan untuk *treatment* *Z. arugamensis* meliputi piperazine, ivermectin 1,0% w/v (Ivomec, Merial), piperazine citrate 100% (Vermizyn

SBK, Medion), levamisole HCl 375 mg/kaplet (Nemasol, Medion), oxfendazole 900 mg/bolus (Verm-O, Sanbe Farma), albendazole 1.500 mg/bolus (Wormzol-B, Medion), formalin (formaldehyde losung, Merck), $\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (kuprisulfat pentahidrat, Merck), klorin teknis (Bratachem), calcium hypochlorite powder (kaporit 60®, Tjiwi Kimia), rajangan daun tembakau kering, air tawar, dan air laut sebagai kontrol. Beberapa bahan kimia yang digunakan masih dalam bentuk bolus dan kaplet, oleh karena itu, terlebih dahulu dihitung berat bahan aktif yang terkandung dalam setiap mg bolus/kaplet. Selanjutnya bolus/kaplet dibuat menjadi serbuk dengan cara mengerusnya. Konsentrasi bahan kimia dalam bentuk mg/L (ppm (part/million water)) dibuat dengan perhitungan sebagai berikut:

- 1 mg/L bahan padat = 1 mg/1.000 liter
- 1 mg/L bahan cair = 1 mL/1.000.000 liter
- 1 mg/L ivermectin 1,0% w/v = 10 $\mu\text{L}/1.000$ liter
- Konsentrasi (1 mg/L) = $\frac{\text{berat kaplet (mg)}}{\text{berat bahan aktif (mg)}} \times 10^{-3} (\text{L})$
- 5 g rajangan daun tembakau kering (komersial) direndam dalam 100 mL air laut steril (50.000 mg/L) selama satu hari. Air rendaman tembakau disaring dan digunakan untuk uji *in vitro* dan *in vivo*.

Treatment secara *In Vitro*

Uji coba *treatment* terhadap lintah dan coccon yang dihasilkannya dilakukan dengan tiga ulangan waktu. Pada *treatment* ulangan pertama dilakukan terhadap *Z. arugamensis* dan coccon yang dihasilkannya setelah diinkubasi pada suhu ruang selama satu hari. *Treatment* menggunakan bahan kimia seperti formalin 200 dan 300 mg/L, klorin 300 mg/L, kaporit (calcium hypochlorite) 1.000 mg/L, ivermectin 30 mg/L, piperazine 1.000 mg/L, levamisole 1.000 mg/L, oxfendazole 1.000 mg/L, albendazole 1.000 mg/L, tembakau 50.000 mg/L dalam air laut, air tawar dan air laut sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan terdiri atas dua cawan petri. *Treatment* dilakukan dengan merendam *Z. arugamensis* dan coccon-nya dalam 100 mL bahan kimia tersebut selama 60 menit.

Treatment bahan kimia pada ulangan kedua dilakukan dengan merendam *Z. arugamensis* dan coccon-nya dalam setiap dua cawan petri dengan bahan kimia seperti: formalin 300 mg/L, klorin 200 mg/L, $\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 200 mg/L, ivermectine 100 mg/L, tembakau 10.000 mg/L dalam air laut, air tawar dan air laut steril sebagai kontrol. *Treatment* bahan kimia tersebut dilakukan pada *Z. arugamensis* dan coccon-nya setelah 1, 3, 6, dan 9 hari pasca ditempatkan dalam cawan petri. Perendaman dilakukan selama 60 menit.

Treatment bahan kimia pada ulangan ketiga dilakukan hanya pada coccon dengan umur yang sama yaitu satu hari. *Treatment* dilakukan dengan merendam coccon dalam setiap cawan petri selama 60 menit dengan bahan kimia seperti: formalin 300 dan 400 mg/L, klorin 300 dan 400 mg/L, ivermectine 50 dan 100 mg/L, tembakau 10.000 mg/L dalam air laut maupun air tawar, serta air laut sebagai kontrol.

Setelah *treatment*, semua bahan kimia dalam cawan petri diganti dengan air laut steril. *Z. arugamensis* yang masih hidup dan menempel di cawan petri dihitung, dan dibiarkan tetap diinkubasi di cawan petri bersama coccon-nya selama 13 hari. Hasil uji *in vitro* dari ketiga ulangan di atas dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik.

Ikan Uji dan *Treatment In Vivo*

Ikan uji yang digunakan untuk *treatment* bahan kimia terhadap *Z. arugamensis* adalah ikan kerupu hibrida cantik (*f E. fuscoguttatus X m E. polyphekadion*) dengan panjang 12-15 cm. Sebanyak 110 ekor ikan kerupu tersebut dibiarkan terinfeksi oleh *Z. arugamensis* secara alami dengan penempatan ikan-ikan tersebut dalam satu bak fiber 500 liter dengan sirkulasi air laut langsung. Selama dua bulan, ikan-ikan tersebut telah banyak ditempati dengan *Z. arugamensis*.

Uji *in vivo* dilakukan dengan dua ulangan waktu. Perlakuan pada ulangan pertama dilakukan dengan memasukkan masing-masing lima liter air laut ke dalam bak plastik volume 15 liter. Serbuk dan cairan bahan kimia seperti albendazole dengan dosis total 1.000 mg/L, levamisole 1.000 mg/L, oxfendazole 1.000 mg/L, piperazine 1.000 mg/L, ivermectin 30 mg/L, air perasan dari rajangan daun tembakau kering (50.000 mg/L), formalin 200 mg/L dan air laut sebagai kontrol. Masing-masing perlakuan terdiri atas dua ulangan bak. Masing-masing tiga ekor ikan kerupu hibrida cantik dimasukkan dalam setiap bak yang telah berisi bahan kimia tersebut dan dilengkapi dengan aerasi. Kondisi ikan diamati setelah 30 dan 60 menit. Sedangkan kondisi dari *Z. arugamensis* diamati dengan mengambilnya (mengisolasi) dan ditempatkan dalam cawan petri yang telah diisi air laut.

Pada ulangan kedua dilakukan perlakuan pada masing-masing tiga ekor ikan kerupu hibrida cantik dengan ivermectin (20 dan 10 mg/L), formalin (200, 150, dan 100 mg/L), hidrogen peroksida (200, 150, dan 100 mg/L) dalam air tawar, serta air tawar sebagai kontrol. Masing-masing dosis perlakuan terdiri atas dua bak. Kondisi ikan dan *Z. arugamensis* diamati setelah 30 dan 60 menit dengan metode yang sama seperti ulangan pertama.

Hasil uji *in vivo* dari kedua ulangan tersebut dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel.

HASIL DAN BAHASAN

Treatment secara *In vitro*

Treatment *Z. arugamensis* dan coccon-nya pada ulangan satu menunjukkan bahwa perendaman 300 mg/L formalin, 300 mg/L klorin, dan 10.000 mg/L *calcium hypochlorite* (kaporit) mampu membunuh semua *Z. arugamensis* (100%), sedangkan *treatment* air tawar mampu membunuh *Z. arugamensis* hingga 94,29% (sintasan 5,71%; Tabel 1). Akan tetapi, perendaman bahan kimia dosis tinggi (1.000 mg/L) seperti piperazine, oxfendazole, levamisole, dan albendazole belum mampu membunuh *Z. arugamensis*. Demikian pula perendaman dengan 30 mg/L ivermectin, dan bahan herbal air rajangan daun tembakau kering (50.000 mg/L) tidak berpengaruh terhadap *Z. arugamensis*. Walaupun bahan kimia tersebut mampu membunuh *Z. arugamensis*, namun terdapat beberapa yang belum mampu menghambat perkembangan coccon yang dihasilkannya. Hanya formalin 300 mg/L dan 10.000 mg/L kaporit dalam air laut yang mampu menghambat dan membunuh *Z. arugamensis* beserta coccon-nya. Bahan kimia seperti ivermectin 30 mg/L dan albendazole 1.000 mg/L walaupun tidak efektif dalam membunuh *Z. arugamensis* akan tetapi mampu menghambat perkembangan coccon untuk menghasilkan larva (*hatching rate* 0%).

Hasil penghambatan terhadap perkembangan coccon juga ditunjukkan dengan perendaman oxfendazole 1.000 mg/L, levamisole 1.000 mg/L, tembakau 50.000 mg/L dalam air laut, formalin 200 mg/L, dan klorin 300 mg/L. Sedangkan *treatment* dengan piperazine 1.000 mg/L dan air tawar belum mampu menghambat perkembangan coccon yang ditunjukkan dengan nilai persentase yang hampir sama dengan kontrol (air laut).

Pada *treatment* ulangan-2 (Gambar 1A), perendaman formalin 300 mg/L, klorin 200 mg/L, $\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 200 mg/L, ivermectine 100 mg/L dan air tawar dapat membunuh *Z. arugamensis* setelah inkubasi satu hari yang ditunjukkan dengan rendahnya sintasan yang dihasilkan (0%-14,58%) dibandingkan dengan sintasan *Z. arugamensis* pada kontrol dan air tembakau (100%). Efektivitas bahan kimia tersebut sedikit menurun pada *Z. arugamensis* setelah inkubasi tiga hari dalam cawan petri. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena *Z. arugamensis* lebih tahan karena telah beradaptasi dalam media pemeliharaan dalam cawan petri dan masih cukup nutrisi untuk bertahan hidup tanpa inang. Akan tetapi seiring lama waktu inkubasi menyebabkan daya tahan *Z. arugamensis* berkurang akibat tidak

adanya asupan makanan. Kondisi *Z. arugamensis* yang semakin lemah dan kurus membuat lebih rentan terhadap *treatment* bahan kimia tersebut. Hal tersebut terlihat dari rendahnya sintasan *Z. arugamensis* yang dihasilkan setelah *treatment* bahan kimia dan air tawar pada waktu enam dan sembilan hari pascainkubasi. *Z. arugamensis* mampu bertahan hidup tanpa inang selama lebih dari 15 hari yang ditunjukkan pada kelompok kontrol.

Treatment dengan formalin 300 mg/L dan ivermectine 100 mg/L juga mampu menghambat perkembangan coccon untuk menghasilkan larva setelah ikubasi 1-9 hari (Gambar 1B). Sedangkan *treatment* dengan klorin 200 mg/L hanya berpengaruh terhadap coccon umur satu hari. *Treatment* dengan $\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 200 mg/L dan air tawar walaupun dapat membunuh atau menekan sintasan dari *Z. arugamensis*, akan tetapi tidak berpengaruh atau tidak mampu menghambat perkembangan coccon untuk menghasilkan larva.

Treatment bahan kimia pada ulangan-3 (Tabel 2) dititikberatkan pada coccon-nya saja. Semua lintah laut yang terdapat dalam cawan petri diambil secara manual. Bahan kimia yang digunakan mengacu dari hasil ulangan-1 dan 2, yang mana bahan kimia seperti formalin, klorin, ivermectin menunjukkan efektivitas yang konsisten dalam menghambat daya tetas coccon. Namun demikian, konsentrasi dari ketiga bahan kimia tersebut ditingkatkan lagi sampai 400 mg/L. Hal yang sama dilakukan terhadap tembakau (10.000 mg/L dalam air laut dan air tawar) sebagai salah satu bahan herbal.

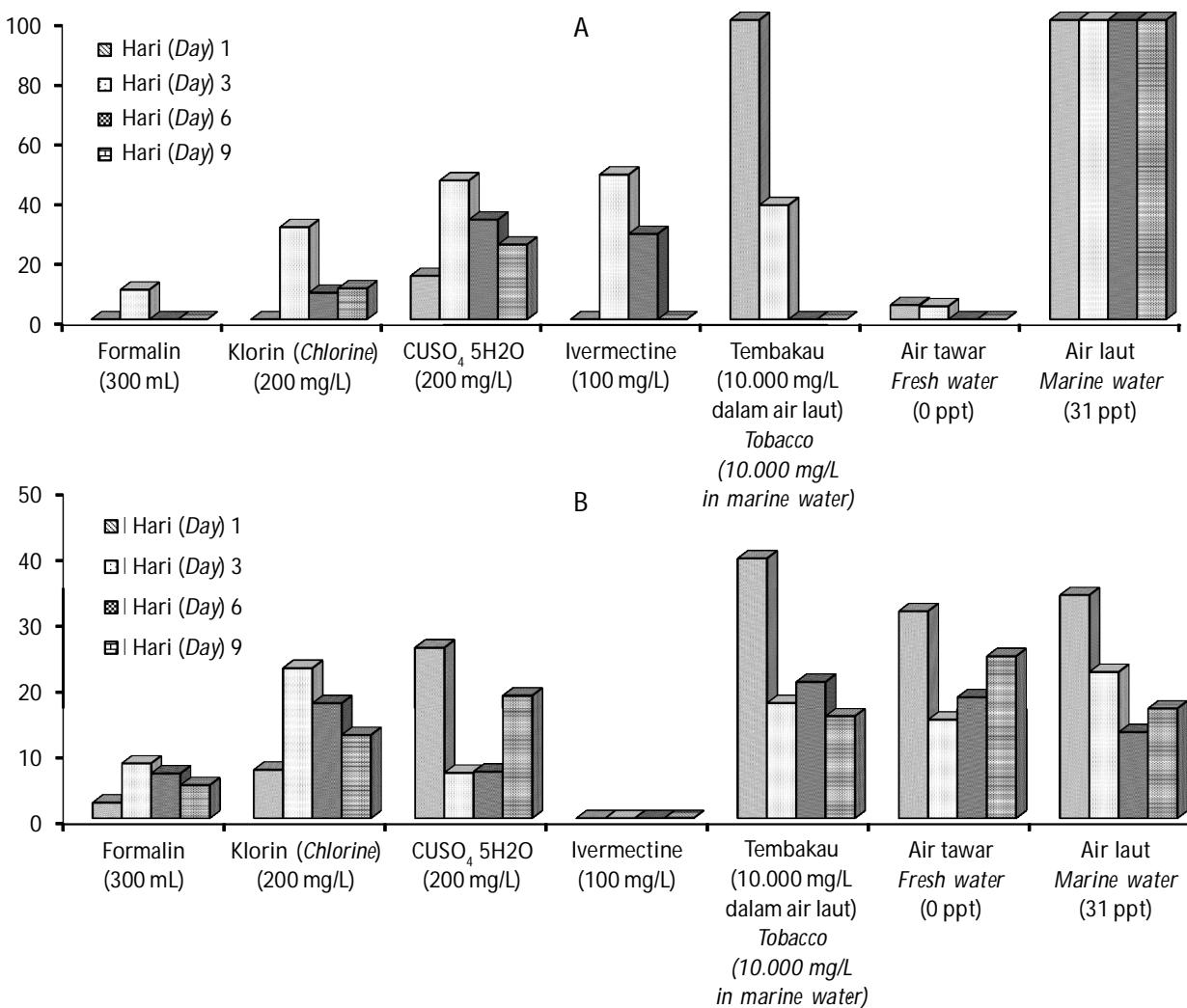
Hasil percobaan menunjukkan bahwa formalin (300 dan 400 mg/L) dan ivermectin (50 dan 100 mg/L) mampu menghambat perkembangan coccon (daya tetas 0%) dengan tidak adanya larva *Z. arugamensis* sampai hari ke-13 pascainkubasi. Sedangkan klorin (300 dan 400 mg/L) hanya mampu menghambat daya tetas coccon sampai 91,98% (daya tetas coccon mencapai 8,02%-8,42%; Tabel 5). Air perasan tembakau (10.000 mg/L) dalam air tawar memiliki daya hambat yang lebih tinggi (daya tetas coccon: 0,65%) dibandingkan dengan tembakau dalam air laut (daya tetas coccon: 7,37%). Hal tersebut didukung dengan hasil perendaman air tawar selama 60 menit mampu menghambat daya tetas coccon sampai 89,98% (atau daya tetas 10,02%) dibandingkan dengan kontrol air laut (daya tetas 19,65%).

Z. arugamensis dewasa dapat hidup tanpa inang sampai dua minggu (Mahardika *et al.*, 2018a). Namun, kondisi dari *Z. arugamensis* semakin kurus dan warnanya semakin pucat seiring dengan lamanya waktu inkubasi. Secara mikroskopis, perkembangan coccon menjadi larva sama dengan perkembangan coccon yang

Tabel 1. Sintasan dari *Z. arugamensis* dan coccon yang menetas (ulangan-1) setelah direndam dengan bahan kimia selama 60 menit dan diinkubasi selama 13 hari

Table 1. Survival rate of *Z. arugamensis* and hatching rate of cocoon (treatment-1) after soaking with various chemicals for 60 minutes and incubated for a period of 13 days

Perlakuan <i>Treatments</i>	Rata-rata jumlah lintah laut <i>Average number of</i> <i>Z. arugamensis</i>	Sintasan dari lintah laut setelah perlakuan <i>Survival rate of Z. arugamensis</i> <i>after treatment (%)</i>	Rata-rata jumlah coccon <i>Average number</i> <i>of coccon</i>	Persentase coccon yang menetas setelah perlakuan dengan bahan kimia dan inkubasi selama 13 hari <i>Percentage hatching rate of cocoon after soaking</i> <i>with chemicals and incubate for periods of 13 days</i>	
				Rata-rata jumlah coccon <i>Average number</i> <i>of coccon</i>	0
Formalin (300 mg/L)	42	0	775	0	0
Formalin (200 mg/L)	189	100	675	13.63	13.63
Klorin (300 mg/L)	128	0	942	13.91	13.91
Chlorine (300 ppm)	26	0	345	0	0
Kaporit (10,000 mg/L)	169	100	583	0	0
Ivermectin (30 mg/L)	189	100	535	35.51	35.51
Piperazine (300 mg/L)	137	100	426	6.34	6.34
Levamizole (1,000 mg/L)	128	100	647	2.32	2.32
Oxfendazole (1,000 mg/L)	170	100	582	0	0
Albendazole (1,000 mg/L)	125	100	862	8.24	8.24
Tembakau (300 mg/L)	125	125	449	28.29	28.29
Tobacco (300 ppm)	70	5.71	386	31.35	31.35
Air tawar/Fresh water (0 ppt)	88	100			
Air laut/Marine water (31 ppt)					



Gambar 1. Persentase sintasan dari *Z. arugamensis* (A) dan coccon-nya (B, ulangan-2) setelah direndam dengan bahan kimia selama 60 menit pada umur inkubasi 1-9 hari, dan diamati setelah 13 hari inkubasi.

Figure 1. Survival rate (%) of *Z. arugamensis* (A) and its cocoon (B, treatment-2) observed at different days after soaked with various chemicals for 60 minutes (1-9 days).

telah dilaporkan sebelumnya oleh Mahardika *et al.* (2018a), Murwantoko *et al.* (2017), Kua *et al.* (2010). Penggunaan bahan kimia seperti formalin, albendazole, levamisole, vermycin, oxfendazole, ivermectin, H₂O₂ (hidrogen peroksida), CuSO₄, dan air tawar dilaporkan mampu membunuh *Z. arugamensis* secara *in vitro* (Murwantoko *et al.*, 2017). Walaupun tidak dikemukakan jumlah ataupun persentase *Z. arugamensis* yang dapat terbunuh dengan perendaman bahan kimia tersebut. Albendazole, nikotin, levamisole, ivermectin, tiabendazole juga dilaporkan mampu membunuh lintah, *Limniatis nilotica* secara *in vitro* (Bahmani *et al.*, 2012; 2014; 2015; Gholami-Ahangaran *et al.*, 2012).

Treatment secara In Vivo

Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa 1.000 mg/L albendazole, levamizole, oxfendazole, piperazine, air rendaman dari 50.000 mg/L rajangan daun tembakau kering dan 200 mg/L formalin dalam air laut tidak berpengaruh terhadap lintah, *Z. arugamensis* (Tabel 3). Lintah-lintah tersebut masih terlihat menempel di tubuh ikan dan beberapa ada yang menempel di bak. Namun bahan kimia tersebut dengan dosis 1.000 mg/L dan 50.000 mg/L dapat bersifat toksik pada ikan kerapu hibrida cantik. Ikan-ikan tersebut terlihat lemah dan bahkan ada yang mati setelah direndam selama 60 menit. Kematian ikan uji juga terlihat pada perendaman dengan 30 mg/L ivermectin selama 60

Tabel 2. Persentase sintasan larva *Z. arugamensis* (ulangan-3) pada hari ke-13 setelah coccon direndam dengan bahan kimia pada umur inkubasi satu hari dalam cawan petri

Table 2. Survival rate (%) of *Z. arugamensis* (treatment-3) on day 13 after the cocoons were soaked with chemicals for 60 minutes at one day incubation in Petri dish

Perlakuan <i>Treatments</i>	Jumlah cocoon <i>Number of cocoon</i>	Daya tetas cocoon dengan perlakuan bahan kimia dan diinkubasi selama 13 hari <i>Hatching rate of chemicals-treated cocoon after 13 days incubation</i>	
		Jumlah larva <i>Number of larvae</i>	Persentase <i>Percentage</i>
Formalin (400 mg/L)	694	0	0
Formalin (300 mg/L)	593	0	0
Klorin (400 mg/L) <i>Chlorine (400 ppm)</i>	636	51	8.02
Klorin (300 mg/L) <i>Chlorine (300 ppm)</i>	380	32	8.42
Ivermectin (100 mg/L)	475	0	0
Ivermectin (50 mg/L)	535	0	0
Tembakau dalam air laut (10.000 mg/L) <i>10,000 ppm tobacco in marine water</i>	651	48	7.37
Tembakau dalam air tawar (10.000 mg/L) <i>10,000 ppm tobacco in fresh water</i>	618	4	0.65
Air tawar/Fresh water (0 ppt)	788	79	10.03
Air laut/Marine water (31 ppt)	631	124	19.65

menit. Namun, lintah yang menempel dan menginfeksi ikan terlihat terlepas dari tubuh ikan dan mati. Hasil ini menunjukkan bahwa bahan kimia seperti albendazole, levamisole, oxfendazole, dan piperazine dengan dosis 1.000 mg/L, serta 50.000 mg/L tembakau tidak dapat diaplikasikan untuk *treatment* ikan kerapu hibrida cantik yang terinfeksi *Z. arugamensis*.

Hasil perendaman dengan bahan kimia dalam air laut tidak berpengaruh terhadap kehidupan lintah dan bahkan bersifat toksik pada ikan kerapu hibrida cantik (Tabel 6), maka uji *in vivo* selanjutnya dipilih bahan kimia formalin yang pada dosis 200 mg/L dalam air laut tidak menimbulkan kematian ikan uji dan ivermectin yang menimbulkan kematian lintah dan ikan uji. Namun karena formalin dalam air laut tidak berpengaruh terhadap kehidupan lintah, sehingga dilakukan *treatment* ikan kerapu hibrida cantik dengan formalin dan hidrogen peroksida dalam air tawar. Demikian pula ivermectin yang menimbulkan kematian ikan uji, maka dosis yang digunakan diperkecil. Hasil uji perendaman selama 30 menit dengan formalin dan hidrogen peroksida dalam air tawar pada dosis 100-200 mg/L mampu membunuh lintah yang menginfeksi ikan kerapu hibrida cantik (Tabel 4). Ikan kerapu

hibrida cantik terlihat masih sehat dan aktif berenang setelah perendaman. Akan tetapi, ivermectin dalam air tawar dengan dosis rendah (10-20 mg/L) masih menyebabkan kematian ikan uji, sedangkan lintah setelah diisolasi dalam cawan petri yang berisi air laut masih terlihat hidup dan menempel pada dasar cawan petri.

Tembakau memiliki kandungan nikotin dan merupakan senyawa beracun bagi beberapa hewan. Tembakau digunakan untuk membersihkan air yang tercemar lintah (Bahmani *et al.*, 2015). Nikotin dalam dosis tinggi menyebabkan non-polarisasi reseptor nikotinik asetilkolin yang biasanya digunakan sebagai insektisida (Bahmani *et al.*, 2014). Perendaman dengan formalin 50-250 mg/L selama 60 menit dilaporkan mampu membunuh lintah laut (Koesharyani *et al.*, 2001; Cruz-Lacierda *et al.*, 2000). Namun dalam penelitian ini menunjukkan bahwa formalin 200 mg/L dalam air laut belum mampu membunuh *Z. arugamensis*. Chu & Yau (2013) melaporkan bahwa perendaman formalin dengan dosis berbeda (50-2.000 mg/L) selama 20 menit masih menunjukkan adanya pergerakan lintah. Ketika lintah laut yang sama ditempatkan ke dalam air laut (28 ppt), lintah menjadi

Tabel 3. Kondisi ikan kerapu hibrida cantik yang terinfeksi *Z. arugamensis* setelah direndam dalam bahan kimia selama 60 menit
 Table 3. The condition of hybrid groupers that infected with *Z. arugamensis* after soaked with various chemicals for 60 minutes

	Albendazole		Levamisole		Oxfendazole		Piperazine		Ivermectine		Tembakau		Formalin		Air laut		Marine water	
	(1,000 mg/L)	(1,000 mg/L)	(1,000 mg/L)	(1,000 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(30 mg/L)	(200 mg/L)	(200 mg/L)	(30 m)	(60 m)	(30 m)	(60 m)
	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m
Kondisi ikan	Mati	Lemah	Mati	Lemah	Mati	Lemah	Mati	Lemah	Mati	Mati	0	Mati	0	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat
<i>Fish condition</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>0</i>	<i>Dead</i>	<i>0</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>
Kondisi dari <i>Z. arugamensis</i>	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Mati	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup
<i>Z. arugamensis condition</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Dead</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>

Tabel 4. Kondisi ikan kerapu hibrida cantik yang terinfeksi *Z. arugamensis* setelah direndam dengan ivermectin, formalin, dan hidrogen peroksida dalam air tawar selama 60 menit

Table 4. The condition of hybrid groupers infected with *Z. arugamensis* after soaked with ivermectin, formalin, and hydrogen peroxide in fresh water for 60 minutes

	Ivermectin dalam air tawar		Air laut		Formalin dalam air tawar		Formalin in the fresh water		Hidrogen peroksida dalam air tawar		Hidrogen peroxide in the fresh water									
	20 mg/L	10 mg/L	Air tawar	Marine water	200 mg/L	150 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	150 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	150 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	150 mg/L	100 mg/L	30 m	60 m	30 m	60 m
	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m	30 m	60 m
Kondisi ikan	Mati	Lemah	Mati	Mati	Sehat	Sehat	Sehat	Lemah	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat	Sehat
<i>Fish condition</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Weak</i>	<i>Dead</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Weak</i>	<i>Healthy</i>	<i>Weak</i>	<i>Healthy</i>	<i>Weak</i>	<i>Healthy</i>	<i>Weak</i>	<i>Weak</i>	<i>Weak</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>	<i>Healthy</i>
Kondisi dari <i>Z. arugamensis</i>	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Hidup	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati	Mati
<i>Z. arugamensis condition</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Live</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>	<i>Dead</i>

aktif kembali setelah 20 menit hingga tiga jam. Selanjutnya dilaporkan bahwa persentase sintasan lintah laut berkisar antara 50%-100% setelah *treatment* bahan kimia dan pemulihan dalam air laut, sedangkan 14%-70% dari lintah tersebut mampu menginfeksi ikan kerapu macan *E. fuscoguttatus* setelah satu jam di air laut.

Pengaruh formalin terhadap infeksi lintah pada ikan kerapu hibrida cantik terlihat setelah penggunaan air tawar sebagai pelarutnya. Penggunaan air tawar untuk perendaman ikan kerapu yang terinfeksi lintah laut dilaporkan efektif. Akan tetapi, efektivitas air tawar dalam menurunkan intensitas infeksi lintah hanya untuk ikan-ikan yang tahan dengan perendaman air tawar seperti ikan kerapu lumpur *E. coioides* (Cruz-Lacierda *et al.*, 2000). Penggunaan air tawar untuk *treatment* lintah laut diperlukan bantuan tangan untuk melepaskan lintah yang menempel di tubuh ikannya, serta air tawar bekas *treatment* agar tidak dibuang ke laut kembali, oleh karena lintah laut dapat bertahan hidup di air tawar (salinitas 0 ppt) selama 2-3 hari (Mahardika *et al.*, 2018b). Lintah laut menempelkan coccon-nya pada bak pemeliharaan dan fasilitas budidaya lainnya. Coccon tersebut sangat sulit untuk dibunuh dengan bahan kimia seperti pada hasil uji *in vitro*. Coccon dapat dibunuh dengan penggunaan sodium hypochlorite (10.000 mg/L), formalin dan ivermectin dosis tinggi, ataupun dengan pengeringan (Cruz-Lacierda *et al.*, 2000).

KESIMPULAN

Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa lintah laut (hirudinea: *Z. arugamensis*) dapat dibunuh dengan perendaman bahan kimia seperti 300 mg/L formalin, 300 mg/L klorin, 100 mg/L ivermectin, dan 10.000 mg/L calcium hypochlorite (kaporit) dalam air laut selama 60 menit mampu membunuh *Z. arugamensis* hingga 100%. Bahan kimia tersebut juga mampu membunuh coccon yang dihasilkan oleh *Z. arugamensis*. Hasil uji *in vivo* menunjukkan bahwa perendaman 100-200 mg/L formalin dan hidrogen peroksida selama 60 menit dalam air tawar efektif dalam membunuh *Z. arugamensis* dan aman bagi ikan kerapu hibrida cantik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada teknisi Laboratorium Patologi (Ibu Sri Suratmi, Bapak Ketut M. Arya Sudewa, Ibu Kristiana Subyakto, S.Pi.), BBRBLPP, dan Ahkmad Fauzy, mahasiswa Politeknik Kelautan dan Perikanan, Sidoarjo, Surabaya yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR ACUAN

- Athanassopoulou, F., Bitchava, K., & Pappas, I.S. (2009). An overview of the treatments for parasitic disease in Mediterranean aquaculture. In Rogers, C. & Basurco, B. (Eds.). The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Zaragoza: Ciheam Options, Méditerranéennes: Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 86, p. 65-83.
- Bahmani, M., Avijgan, M., Gholami-Ahangaran, M., & Rafieian, M. (2012). The comparison of the anti *Limnatis nilotica* effects of albendazole and some of the Iranian medicinal plants. *Iranian South Med Journal*, 1, 25-33.
- Bahmani, M., Banihabib, E., Rafieian-Kopaei, M., & Gholami-Ahangaran, M. (2015). Comparison of disinfection activities of nicotine with copper sulphate in water containing *Limnatis nilotica*. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. Journal*, 21(1), 9-11.
- Bahmani, M., Karamati, S.A., Banihabib, E., & Saki, K. (2014). Comparison of effect of nicotine and levamisole and ivermectin on mortality of leech. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(1), 5477-5480.
- Chu, K.B. & Yau, L.Y. (2013). Effectiveness of formalin bath treatment on marine leech *Zeylanicobdella arugamensis*: A parasite of tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus*. Asian-Pacific Aquaculture - Meeting Abstract.
- Cruz-Lacierda, E.R.C., Toledo, J.D., Fermin, J.D.T., & Burreson, E.M. (2000). Marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*) infestation in cultured orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Aquaculture*, 185(3-4), 191-196.
- DJPB. (2018). Capaian kinerja subsektor perikanan budidaya dan outlook tahun 2018. <https://kkp.go.id/djpb/artikel/3042>.
- Gholami-Ahangaran, M., Bahmani, M., & Zia-Jahrom, N. (2012). *In vitro* antileech effects of *Vitis vinifera* L., niclosamide and ivermectin on mature and immature forms of leech *Limnatis nilotica*. *Glob. Vet.*; 8, 229-232.
- Kleinertz, S. & Palm, H.W. (2013). Parasites of the grouper fish *Epinephelus coioides* (Serranidae) as potential environmental indicators in Indonesian coastal ecosystems. *Journal of Helminthology*, 89, 86-99.
- Kleinertz, S., Damriyasa, I.M., Hagen, W., & Theisen, S. (2014). An environmental assessment of the parasite fauna of the reef-associated grouper

- Epinephelus areolatus* from Indonesian waters. *Journal of Helminthology*, 88, 50-63.
- Koesharyani, I., Roza, D., Mahardika, K., Johnny, F., Zafran, & Yuasa, K. (2001). Manual for fish disease diagnosis-II. Marine fish and crustacean diseases in Indonesia. Gondol Research Institute for Mari-culture, Central Research Institute for Sea Exploration and Fisheries, Dep. of Marine Affair and Fisheries and Japan International Cooperation Agency, p. 5-7.
- Kua, B.C., Azmi, M.A., & Hamid, N.K.A. (2010). Life cycle of the marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*) isolated from sea bass (*Lates calcarifer*) under laboratory conditions. *Aquaculture*, 302, 153-157.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Sudewi, & Zafran (2018a). Identification and life cycle of marine leech iso-lated from cultured hybrid grouper in the North-ern Bali waters of Indonesia. *Indonesian Aquacul-ture Journal*, 13(1), 41-49.
- Mahardika, K., Mastuti, I., & Zafran (2018b). Respons lintah laut (*Zeylanicobdella arugamensis*) terhadap salinitas berbeda secara laboratorium. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 2(3), 208-214.
- Murwantoko, Negoro, S.L.C., Isnansetyo, A., & Zafran (2017). Life cycle of marine leech (*Zeylanicobdella arugamensis*) from cultured cantik hybrid grouper (*Epinephelus* sp.) and their susceptibility against chemicals. *Aquacultura Indonesia*, 18(2), 72-76.
- Ravi, R. & Yahaya, Z.S. (2017). *Zeylanicobdella arugamensis*, the marine leech from cultured crimson snapper (*Lutjanus erythrophthalmus*), Jerejak Island, Penang, Malaysia. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 7(5), 473-477.