

**ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI *Vibrio* spp.
PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

(Skripsi)

Oleh:

**CANDYA RISMA KINSANI
NPM 2217021128**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI *Vibrio* spp.
PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)**

Oleh

CANDYA RISMA KINSANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRAK

ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI *Vibrio* spp. PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Oleh

CANDYA RISMA KINSANI

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) merupakan komoditas budi daya bernilai ekonomi tinggi yang rentan terhadap penyakit vibriosis akibat infeksi bakteri *Vibrio* spp. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *Vibrio* spp. dari ikan kerapu macan serta menguji patogenitasnya secara *in vitro* dan *in vivo*. Isolasi bakteri dilakukan dari organ target menggunakan media TCBS, dilanjutkan pemurnian pada media TSA+NaCl 2%. Uji *in vitro* dilakukan melalui uji hemolisis pada media *Blood Agar Plate* (BAP), sedangkan uji *in vivo* dilakukan dengan injeksi intramuskular suspensi bakteri berkonsentrasi 10^7 CFU/ml pada ikan sehat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Vibrio* spp. berhasil diisolasi dari limfa, luka, dan mata dengan koloni berwarna kuning pada media TCBS. Uji hemolisis menunjukkan isolat β -hemolitik bersifat patogen, sedangkan isolat non-hemolitik bersifat non-patogen. Pada uji *in vivo*, isolat β -hemolitik menyebabkan perubahan perilaku, penurunan nafsu makan, munculnya lesi, serta mortalitas, sementara kelompok kontrol tidak menunjukkan gejala klinis. Penelitian ini membuktikan bahwa isolat *Vibrio* spp. β -hemolitik berpotensi sebagai agen penyebab vibriosis pada ikan kerapu macan.

Kata kunci: *Epinephelus fuscoguttatus*, *Vibrio* spp., isolasi bakteri, uji patogenitas

ABSTRACT

ISOLATION AND PATHOGENICITY TEST OF *Vibrio* spp. IN TIGER GROUPER (*Epinephelus fuscoguttatus*)

**BY
CANDYA RISMA KINSANI**

The tiger grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) is a high-economic-value aquaculture commodity that is susceptible to vibriosis caused by *Vibrio* spp. infection. This study aimed to isolate *Vibrio* spp. from tiger grouper and to evaluate their pathogenicity through in vitro and in vivo assays. Bacterial isolation was performed from target organs using Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose (TCBS) agar, followed by purification on Tryptic Soy *Agar* supplemented with 2% NaCl. The in vitro assay was conducted using a hemolysis test on Blood *Agar* Plate (BAP), while the in vivo assay was carried out by intramuscular injection of bacterial suspensions at a concentration of 10^7 CFU/ml into healthy fish. The results showed that *Vibrio* spp. were successfully isolated from the spleen, wounds, and eyes, forming yellow colonies on TCBS agar. Hemolysis testing revealed that β -hemolytic isolates exhibited pathogenic characteristics, whereas non-hemolytic isolates were considered non-pathogenic. In the in vivo assay, β -hemolytic isolates induced behavioral changes, reduced appetite, lesion formation, and mortality, while the control group showed no clinical signs. This study demonstrates that β -hemolytic *Vibrio* spp. isolates have the potential to act as causative agents of vibriosis in tiger grouper..

Keywords: *Epinephelus fuscoguttatus*, *Vibrio* spp., bacterial isolation, pathogenicity test

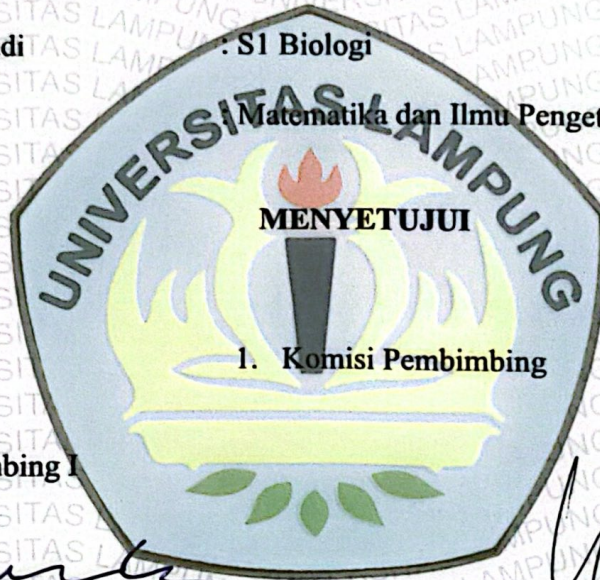
Judul Skripsi : ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI
Vibrio spp. PADA IKAN KERAPU MACAN
(*Epinephelus fuscoguttatus*)

Nama Mahasiswa : Candya Risma Kinsani

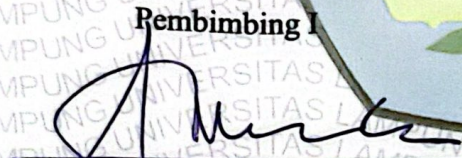
Nomor Pokok Mahasiswa : 2217021128

Program Studi : S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I


Prof. Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003

Pembimbing II


Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP. 196104181987031001

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung


Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Sumardi, M.Si.

Sekretaris : Ir. Salman Farisi, M.Si.

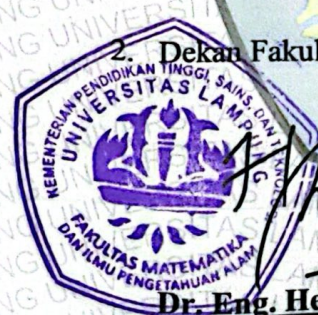
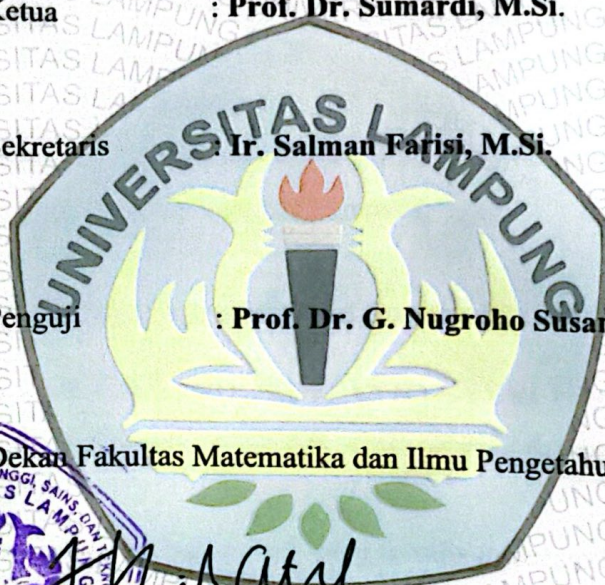
Penguji : Prof. Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc.

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 29 April 2026



A handwritten signature in black ink, corresponding to the name Prof. Dr. Sumardi, M.Si. listed as the head of the examination team.

A handwritten signature in black ink, corresponding to the name Ir. Salman Farisi, M.Si. listed as the secretary of the examination team.

A handwritten signature in black ink, corresponding to the name Prof. Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc. listed as a member of the examination team.

A handwritten signature in black ink, corresponding to the name Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. listed as the Dean of the Faculty of Mathematics and Natural Sciences.

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Candya Risma Kinsani
NPM : 2217021128
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS BAKTERI *Vibrio* spp. PADA IKAN KERAPU MACAN (*Epinephelus fusoguttatus*)

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis di dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain. Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah saya, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 23 Mei 2026



Yang Menyatakan

Candya Risma Kinsani

NPM. 2217021128

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Candya Risma Kinsani, lahir di Bandar Lampung, 13 Agustus 2004. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Budi dan Ibu Ira. Penulis mengawali jenjang pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Al- Ikhsan pada Tahun 2009-2010. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 1 Suka Jawa pada 2010-2016. Penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 10 Bandar Lampung pada tahun 2016-2019 dan melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 9 Bandar Lampung pada tahun 2019-2022. Penulis melanjutkan pendidikan ke perguruan tinggi di Universitas Lampung sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, melalui jalur Seleksi Bersama Masuk PTN (SBMPTN) pada tahun 2022. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi (HIMBIO) sebagai anggota biro Dana dan Usaha (DANUS) dan aktif mengikuti Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Sains dan Teknologi (SAINTEK) sebagai anggota Departemen Dana dan Usaha (Danus).

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut Lampung (BBPBL) Provinsi Lampung pada bulan Desember-Januari 2025 dan menghasilkan karya tulis ilmiah dengan judul **“Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) di Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut Lampung”**.

Kemudian penulis juga pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kota Karang Raya Bandar Lampung pada Juni-juli 2025.

Allhamdulillah rabbil alamin..

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan limpahan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, meskipun masih terdapat banyak kekurangan di dalamnya. Ya Allah, terima kasih Engkau telah memberikan keluarga kecil yang hangat selalu menyayangi dan mencintai saya, sehingga karya sederhana ini saya persembahkan dengan setulus hati saya untuk:

Kedua orang tua saya tersayang, Ayahanda Budi Prasetyo dan Almh Ibunda Ira Ida, serta mba dan adik saya tercinta, Mba Cheri dan Adek Cahyo. Terima kasih banyak atas segala doa, ridho, dukungan, tuntunan, semangat, serta motivasinya kepada saya. Terima kasih sudah selalu menjadi rumah yang paling nyaman bagi saya. Karya ini saya persembahkan sebagai bentuk rasa terima kasih saya atas segala pengorbanan dan jerih payah Ayah dan ibu dalam mengiringi langkah hidup saya. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ayah, almh ibu, mba dan adek bangga serta bahagia, karena saya sadar selama ini belum bisa berbuat yang lebih.

Bapak dan Ibu Dosen yang sudah mengajarkan saya banyak ilmu, terkhusus Dosen Pembimbing dan Pembahas yang telah menjadi orang tua di kampus bagi saya selama saya menyelesaikan karya ini. Terima kasih karena telah senantiasa membimbing, mengarahkan, membantu, dan memotivasi saya dengan tulus dan ikhlas sehingga saya dapat mencapai gelar Sarjana.

Sahabat dan teman-teman seperjuangan dari awal hingga akhir perkuliahan.
Terima kasih atas bantuan, dukungan, dan kebersamaannya selama ini.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S AL-Baqarah: 286)

“Life can be heavy, especially if you try to carry it all at once. Part of growing up and moving into new chapters of your life is about catch and release”.

-Taylor Swift

“Ya Allah Yarabb semoga anakku Candya Risma Kinsani sukses dunia akhirat, dapat pekerjaan bagus, jodoh yang baik, dan mengangkat derajat keluarga”

(Ayah & Ibu)

SANWACANA

Assalamu`alaikum Wr. Wb.

Bismillahirrahmaanirrahim Alhamdulillahil`Alamin, puji Syukur kepada Allah Subhanahuwata`ala atas Rahmat dan karunia- Nya yang telah memberikan kemampuan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “ **Isolasi dan Uji Patogenitas Bakteri *Vibrio* spp. pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)**”. *Shalawat* serta salam selalu terlimpah curahkan kepada baginda Nabi Muhammad *Shalallahu`Alaihi Wassalam* yang telah menuntun umatnya ke zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan. Skripsi ini disusun sebagai syarat dalam mencapai gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Terseselaikannya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari berbagai pihak yang telah membantu, memberikan dukungan, serta memberikan semangat kepada penulis. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak terkait:

1. Ayahanda Budi dan Almh Ibunda Ira, kedua orang tua tercinta yang telah memberikan doa, ridho, dukungan, tuntunan, semangat, serta motivasi kepada penulis dalam segala keadaan sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi dan mendapatkan gelar Sarjana.
2. Mba Cheri dan Adik Cahyo, Mba dan Adik tersayang yang telah memberikan dukungan, semangat, serta selalu mendoakan penulis dalam penyusunan skripsi.
3. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengtahuan Alam Universitas Lampung.
4. Bapak Jani Master, S.Si., M.Si Ketua jurusan biologi FMIPA

Universitas Lampung.

5. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si. Ketua Program Studi S1 Biologi FMIPA Universitas Lampung.
6. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta motivasi kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
7. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta motivasi kepada penulis selama proses penelitian dan penyusunan skripsi.
8. Bapak Prof. Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis untuk menyempurnakan penyusunan skripsi.
9. Bapak Rakhmat Hadi Saputra, S.Pi. selaku Pembimbing Lapangan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan BBPBL Lampung yang telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi saran serta masukan selama penulis penelitian dan penyusunan skripsi.
10. Aulia selaku teman seperjuangan penulis selama penelitian yang telah membersamai setiap waktu, mendukung, dan menyemangati penulis dari masa perkuliahan.
11. Tim Paguyuban Lebah Bagus (Manda, Syala, Una, Nora, Najwa, Njun, Cici, Yosi, Desna, Fla) yang telah memberi semangat, dukungan, dan tempat cerita selama penulis menyelesaikan skripsi.
12. Chika selaku sepupu yang telah membantu, mendukung, dan mendengarkan keluh kesah, selama penulis menyelesaikan skripsi.
13. Kepada seseorang yang tak kalah penting kehadirannya, Wahyu Ramadhan. Terimakasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis. Berkontribusi banyak dalam penulisan karya tulis ini baik tenaga, waktu dan materi kepada penulis. Telah menjadi tempat ternyaman bagi penulis mendengarkan keluh kesah, menemani, serta memberi semangat penuh kepada penulis.

14. Segenap keluarga besar, sanak saudara, serta teman-teman lainnya dan semua pihak yang telah membantu penulis selama perkuliahan, penelitian, dan penyusunan skripsi.
15. Last but not least, I wanna thank me. I wanna thank me for believin me, I wanna thank me for doing all this hard work. I wanna thank me for having no days off. I wanna thank me for never quitting

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis menerima saran dan masukan dari para pembaca untuk membantu menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Bandar Lampung, 23 Mei 2026

Penulis

Candya Risma Kinsani

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL DEPAN.....	i
HALAMAN JUDUL DALAM.....	ii
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN.....	v
HALAMAN MENGESAHKAN.....	vi
RIWAYAT HIDUP.....	vii
PERSEMBAHAN.....	ix
MOTTO.....	x
SANWACANA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR TABEL.....	xviii
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran.....	3
1.4 Hipotesis Penelitian.....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Ikan Kerapu Macan (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Kerapu Macan.....	6
2.1.2 Siklus Reproduksi.....	7

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Macan.....	8
2.1.4 Distribusi Ikan Kerapu Macan.....	9
2.2 Bakteri <i>Vibrio</i> pada Ikan Kerapu Macan.....	10
2.2.1 Vibriosis.....	10
2.2.2 <i>Vibrio</i> sp.....	10
2.3 Media <i>Thiosulfate Citrate Bile Salt Agar</i> (TCBS).....	11
2.4 Media <i>Blood Plate Agar</i> (BAP).....	12
2.5 Uji Patogenitas Bakteri.....	13
2.5.1 Uji <i>In Vitro</i>	13
2.5.2 Uji <i>In Vivo</i>	13
2.6 Sistem Imun Ikan Kerapu Macan.....	13
III. METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Waktu dan Tempat.....	15
3.2 Alat dan Bahan.....	15
3.3 Rancangan Percobaan.....	16
3.4 Metode Penelitian.....	17
3.5 Prosedur Penelitian.....	17
3.5.1 Pengambilan Sampel Ikan Kerapu Macan.....	17
3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	18
3.5.3 Pembuatan Media.....	18
3.5.3.1 Media TCBS.....	18
3.5.3.2 Media TSA.....	18
3.5.3.3 Media BAP.....	19
3.5.3.4 Media TSB.....	19
3.5.4 Isolasi Bakteri <i>Vibrio</i> spp.....	19
3.5.5 Pemurnian Isolat Bakteri <i>Vibrio</i> spp.....	20
3.5.6 Uji <i>In vitro</i>	20
3.5.7 Pengenceran Suspensi Bakteri.....	21
3.5.8 Aklimatisasi Ikan.....	21
3.5.9 Uji <i>In vivo</i>	21
3.5.10 Observasi Pasca Injeksi Bakteri <i>Vibrio</i> spp.....	22

3.6 Analisis Data.....	22
3.7 Diagram Alir Penelitian.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Hasil Pengamatan Sampel Ikan Kerapu Macan Sakit.....	24
4.2 Hasil Isolasi Bakteri <i>Vibrio</i> . spp dari Organ Target.....	25
4.3 Hasil Uji Hemolisis Isolat <i>Vibrio</i> . spp.....	28
4.4 Hasil Uji <i>in Vivo</i> Pasca Injeksi.....	29
4.5 Hasil Pengamatan Parameter Kualitas Air.....	31
4.6 Pembahasan.....	32
4.7 Proses Timbulnya Penyakit.....	33
4.8 Struktur Anatomi Ikan terhadap Timbulnya Penyakit.....	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran.....	36
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ikan Kerapu Macan (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)	6
2. Teknik <i>Streak Plate</i> dengan Metode Kuadran.....	20
3. Diagram Alir Penelitian.....	23

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Uji <i>In Vivo</i> pada Ikan Kerapu Macan.....	16
2. Rancangan Percobaan.....	16
3. Hasil Pengamatan Sampel Ikan Kerapu Macan Sakit.....	24
4. Hasil Isolasi Bakteri <i>Vibrio</i> spp.dari Organ Target.....	26
5. Hasil Uji Hemolisis Isolat <i>Vibrio</i> spp.....	28
6. Hasil Uji <i>In Vivo</i> Pasca Injeksi.....	29
7. Tabel Parameter Kualitas Air Hari-1.....	31
8. Tabel Parameter Kualitas Air Hari-26.....	31

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Budi daya ikan banyak dilakukan di Indonesia karena memiliki beberapa keunggulan. Salah satu komoditas unggulannya adalah ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*), yang dikenal mudah dibudidayakan, terutama di Keramba Jaring Apung (KJA). Ikan kerapu macan merupakan komoditas perikanan bernilai ekonomi tinggi, memiliki harga jual yang tinggi, dan menjadi salah satu komoditas ekspor asli Indonesia. Sejauh ini, budi daya perikanan di Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut Lampung (BBPBL) masih didominasi oleh ikan kakap. Oleh karena itu, diversifikasi budi daya memberikan peluang untuk mengembangkan jenis ikan lain, salah satunya adalah ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*).

Ikan kerapu macan merupakan salah satu komoditas perikanan budi daya yang memiliki nilai ekonomi tinggi. Permintaan pasar yang terus meningkat, baik untuk konsumsi lokal maupun ekspor, mendorong pengembangan budi daya ikan ini di berbagai daerah, termasuk di BBPBL. Ikan kerapu macan termasuk spesies asli Indonesia yang memiliki daya adaptasi yang tinggi dan mudah dibudidayakan. Ikan kerapu macan memiliki potensi besar untuk dikembangkan dan dipasarkan, baik dalam maupun luar negeri dengan fekunditas tinggi serta pertumbuhan yang cukup cepat (Budiyanti dan Romansyah, 2016).

Perkembangan budi daya ikan kerapu macan yang semakin pesat, menunjukkan meningkatnya minat masyarakat dalam mengonsumsi ikan. Kondisi ini memberikan peluang yang besar bagi para pembudidaya, namun juga menghadirkan tantangan, terutama terkait ancaman penyakit yang dapat menyerang ikan kapan saja. Kendala utama dalam budi daya ikan kerapu macan adalah kematian yang ditimbulkan oleh penyakit. Salah satu penyakit yang sering menyerang ikan kerapu macan adalah infeksi bakterial vibriosis. Vibriosis merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang ikan dan invertebrata (Hastari dkk., 2014). Penyakit tersebut umumnya muncul akibat penurunan kualitas air, yang disebabkan oleh penumpukan pakan membusuk, keterampilan pembudidaya yang masih terbatas, serta penggunaan faktor produksi yang belum optimal dalam proses budi daya (Manurung, 2018).

Vibrio alginolyticus, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*, *V. metchnikovii*, *V. vulnificus* dan *V. fluvialis* merupakan bakteri yang sering ditemukan pada ikan laut sehingga menyebabkan kematian massal. Salah satu cara pencegahan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri yaitu dengan pemberian vaksin pada ikan. Vaksinasi merupakan suatu imunoprolifaksis yang fungsinya untuk meningkatkan respon imun untuk melawan organisme *invasive* (virus dan bakteri) yang masuk ke dalam tubuh. Vaksinasi bertujuan untuk meningkatkan sistem imun adaptif sehingga memiliki proteksi yang lebih lama terhadap penyakit (Pasaribu dkk., 2021).

Penyakit ikan merupakan kondisi yang dapat menimbulkan gangguan pada ikan, baik secara langsung maupun tidak langsung. Gangguan tersebut dapat disebabkan oleh organisme lain, pakan, maupun kondisi lingkungan yang tidak mendukung

kehidupan ikan. Serangan penyakit pada ikan di kolam umumnya terjadi akibat interaksi yang tidak serasi antara ikan, lingkungan, dan patogen. Ketidaksesuaian interaksi ini menyebabkan stres pada ikan, sehingga menurunkan mekanisme pertahanan tubuhnya dan membuat ikan lebih rentan terhadap penyakit (Linayati dkk., 2024).

Menurut Jasmanindar (2011), penyakit ikan dibedakan menjadi dua jenis, yaitu penyakit infeksi (disebabkan oleh bakteri, virus, parasit, dan jamur) dan penyakit non-infeksi (disebabkan oleh stres, tumor, gangguan gizi, pakan, dan trauma). Salah satu jenis penyakit yang umum dijumpai adalah penyakit bakterial, yang disebabkan oleh bakteri berukuran mikroskopis. Gejala klinis penyakit ini umumnya tidak dapat diamati secara langsung dari tampilan luar tubuh ikan, sehingga diperlukan pemeriksaan lebih lanjut di laboratorium. Berdasarkan dengan adanya permasalahan tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang berjudul “*Isolasi dan Uji Patogenitas Bakteri Vibrio spp. Pada Ikan Kerapu Macan (Epinephelus fuscoguttatus)*”. Guna mengetahui sejauh mana isolat *Vibrio spp.* yang ditemukan serta dampaknya terhadap kesehatan ikan kerapu macan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengisolasi bakteri *Vibrio spp.* dari ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)
2. Menguji patogen bakteri *Vibrio spp.* secara *in vitro* dan *in vivo*.

1.3 Kerangka Pemikiran

Budi daya ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) memiliki prospek ekonomi tinggi karena permintaan pasar yang

terus meningkat. Namun, keberhasilan budi daya ini sangat dipengaruhi oleh kualitas lingkungan dan kesehatan ikan. Salah satu kendala utama adalah munculnya penyakit yang dapat menyebabkan kematian massal, salah satunya vibriosis, yaitu infeksi yang disebabkan oleh bakteri genus *Vibrio* seperti *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, dan *V. vulnificus*.

Infeksi *Vibrio* spp. umumnya berkaitan dengan kondisi lingkungan perairan yang buruk seperti penurunan kualitas air dan manajemen budi daya yang tidak optimal. Gejala klinis pada ikan yang terinfeksi meliputi lesu, berenang tidak normal, warna tubuh gelap, luka borok, dan kematian. Deteksi awal terhadap infeksi *Vibrio* sangat penting untuk mencegah penyebaran penyakit lebih luas. Oleh karena itu, dibutuhkan upaya identifikasi bakteri penyebab penyakit melalui isolasi dari organ target dan uji patogenitas baik secara *in vitro* maupun *in vivo*

Media selektif berupa TCBS digunakan untuk mengisolasi *Vibrio* spp. secara spesifik, sedangkan media BAP digunakan untuk mengamati aktivitas hemolitik yang ditandai potensi patogenik isolat. Selain itu, uji *in vivo* dengan menyuntikkan isolat ke ikan sehat bertujuan untuk membuktikan apakah isolat tersebut benar-benar bersifat patogen. Jika bakteri yang diisolasi dari ikan sakit menunjukkan zona hemolisis dan menyebabkan gejala klinis serta kematian pada ikan sehat, maka dapat dikonfirmasi bahwa isolat tersebut bersifat patogen dan merupakan agen penyebab vibriosis.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Diduga bakteri *Vibrio* sp. dapat diisolasi dari ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) menggunakan media TCBS
2. Diduga isolat bakteri *Vibrio* spp. yang diperoleh dari ikan kerapu macan memiliki sifat patogenik yang ditunjukkan melalui kemampuan menghasilkan zona hemolisis pada media BAP secara *in vitro* serta menimbulkan gejala klinis pada ikan sehat melalui uji *in vivo*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Kerapu Macan

Menurut Erfan dkk. (2022) Ikan Kerapu Macan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Class	: Chondrichthyes
Ordo	: Percomorphi
Family	: Serranidae
Genus	: <i>Epinephelus</i>
Species	: <i>Epinephelus fuscoguttatus</i>



Gambar 1. Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2024).

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) memiliki bentuk tubuh pipih, yaitu lebar tubuh lebih kecil dari pada panjang dan tinggi tubuh, rahang atas dan bawah dilengkapi dengan gigi yang lancip dan kuat, mulut lebar, serong ke atas dengan bibir bawah yang sedikit menonjol, sirip ekor berbentuk bundar, sirip

punggung, posisi sirip perut berada di bawah sirip dada, serta badan ditutupi sirip kecil yang bersisik stenoid. Ikan kerapu macan termasuk ikan laut yang umumnya hidup di perairan terumbu karang dengan salinitas 33-35 ppt. Pada fase muda, ikan ini dapat ditemukan di perairan payau seperti muara dan laguna dengan salinitas sekitar 20-30 ppt (Mariskha dan Abdulgani, 2012).

2.1.2 Siklus Reproduksi

Ikan kerapu macan merupakan jenis ikan hermaprodit protogini. Hermaprodit protogini adalah suatu keadaan dimana terjadinya perubahan kelamin dari fase betina ke fase jantan. Ikan ini akan memulai siklus reproduksinya sebagai ikan betina kemudian setelah itu berubah menjadi jantan. Perubahan kelamin ini dipengaruhi ukuran, umur, dan jenisnya (Mariskha dan Abdulgani, 2012).

Ikan jantan dengan berat badan 2,5 kg atau lebih akan menghasilkan sperma yang sudah mampu membuahi sel telur. Pada umumnya kerapu bersifat soliter tapi pada saat akan memijah ikan kerapu bersifat bergerombol. Di perairan Indo Pasifik puncak pemijahan ikan kerapu berlangsung beberapa hari sebelum bulan purnama pada malam hari. Induk ikan kerapu betina dengan berat badan 1-1,5 kg dapat menghasilkan 200.000 sampai 300.000 butir telur (Muslim dkk., 2022).

Musim pemijahan kerapu di wilayah tropis, termasuk Indonesia, berlangsung sepanjang tahun, dengan puncaknya antara bulan Januari hingga November. Telur dan larva bersifat pelagis, sementara individu muda hingga dewasa bersifat demersal. Ikan ini umumnya hidup di dasar perairan laut tropis dan subtropis, bersifat soliter, namun berkumpul dalam kelompok saat musim

pemijahan. Larva kerapu menunjukkan perilaku diel vertikal, yaitu menghindari permukaan air pada siang hari dan naik ke permukaan saat malam, sejalan dengan kebiasaan bersembunyi di celah karang pada siang hari dan aktif mencari makan di malam hari. Tingkat kematangan gonad menjadi indikator penting dalam memperkirakan status reproduksi, menentukan ukuran dan usia pertama kali matang gonad, serta memahami proporsi stok ikan yang produktif dalam suatu populasi (Mariskha dan Abdulgani, 2012).

2.1.3 Kebiasaan Makan Ikan Kerapu Macan

Menurut Emha (2018) menyatakan bahwa ikan dapat dibedakan menjadi tiga golongan berdasarkan jenis ususnya yang terdiri atas:

1. Ikan Karnivora, memiliki panjang usus lebih pendek dari pada panjang tubuhnya karena daging yang dimakan merupakan asupan protein tinggi sehingga mudah diserap oleh tubuh.
2. Ikan omnivora, memiliki panjang usus yang hanya sedikit lebih panjang dari panjang total badannya karena makanan yang dimakan ikan golongan ini bergantung pada ketersediaan makanan yang tersedia.
3. Ikan herbivora, memiliki panjang usus 5 kali lebih panjang dari panjang total badannya karena makanannya yang berserat dan lebih lama dicerna tubuh.

Ikan kerapu macan merupakan predator yang memangsa hewan berukuran lebih kecil sesuai dengan bukaan mulutnya. Sifat kanibal dapat muncul apabila ikan kekurangan pakan, yang ditunjukkan oleh bentuk gigi yang tajam dan lancip. Dalam budi daya, ikan ini umumnya diberi pakan berupa ikan rucah, meskipun ketersediaannya tidak selalu tersedia. Ikan kerapu macan tergolong sebagai ikan crepuscular, yaitu aktif mencari makan pada waktu fajar dan senja. Pola makannya bersifat menyergap, di mana ikan

akan menunggu mangsa mendekat atau bersembunyi di celah-celah batu karang sebelum menyerang (Khalil dkk., 2021).

2.1.4 Distribusi Ikan Kerapu Macan

Daerah penyebaran ikan kerapu macan meliputi perairan tropis dan sub-tropis di Laut Atlantik, Mediterania dan Indo-Pasifik, termasuk laut merah. Salah satu indikator keberadaan kerapu macan adalah adanya terumbu karang pada suatu wilayah perairan. Di Indonesia, ikan kerapu macan banyak ditemukan di perairan Pulau Sumatera, Jawa, Sulawesi, Pulau Buru dan Ambon (Kamal dkk., 2019).

Ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) pada fase juvenil umumnya ditemukan di perairan dangkal dengan kedalaman antara 0,5-3 meter, khususnya di habitat padang lamun yang berfungsi sebagai tempat perlindungan dan mencari makan. Seiring pertambahan usia dan ukuran tubuh, ikan ini akan bermigrasi menuju perairan yang lebih dalam, berkisar antara 7-40 meter. Perpindahan tersebut umumnya terjadi pada waktu siang menjelang sore (senja), yang kemungkinan berkaitan dengan aktivitas makan atau penghindaran dari predator. Kondisi lingkungan yang optimal untuk menunjang kehidupan kerapu macan mencakup suhu perairan antara 24-31 °C, salinitas pada kisaran 33-35 ppt, kadar oksigen terlarut lebih dari 3,5 ppm, serta pH air berkisar antara 7,8-8,0. Parameter parameter tersebut sangat penting karena secara langsung memengaruhi metabolisme, pertumbuhan, dan kelangsungan hidup ikan. Perubahan signifikan pada salah satu parameter tersebut dapat menyebabkan stres fisiologis, menurunnya daya tahan tubuh, hingga kematian pada ikan kerapu (Okomoda dkk., 2020).

2.2 Bakteri *Vibrio* pada Ikan Kerapu Macan

2.2.1 Vibriosis

Menurut Anton dkk. (2020), Vibriosis merupakan salah satu penyakit infeksius yang umum menyerang udang dan ikan, yang disebabkan oleh bakteri patogen dari genus *Vibrio*. Penyakit ini umumnya muncul akibat buruknya manajemen kualitas air serta kondisi lingkungan yang mendukung pertumbuhan patogen. Vibriosis diketahui dapat menyebabkan tingkat mortalitas yang tinggi, khususnya pada ikan air laut seperti ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). Menurut Apriliani dkk. (2016), vibriosis termasuk penyakit infeksius yang bersifat menular, baik melalui media air maupun melalui kontak langsung antar individu. Penyakit ini memiliki tingkat virulensi yang tinggi dan dapat menyebabkan kematian hingga 100 % pada ikan.

2.2.2 *Vibrio* sp.

Bakteri *Vibrio* merupakan bakteri gram negatif berbentuk basil (batang) yang hidup di ekosistem perairan dan dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi, pH, suhu, dan salinitas, serta memiliki oksidase dan katalase positif. Pada media agar TCBS, bakteri ini akan membentuk koloni berwarna kuning. *Vibrio* merupakan bakteri patogen yang menyebabkan ikan sakit yang ditandai dengan gejala klinis seperti nafsu makan berkurang, berenang miring, lemah, perubahan warna tubuh menjadi gelap, ginjal pucat, dan munculnya luka pada punggung yang dapat berkembang menjadi borok. Pertumbuhan optimal bakteri *Vibrio* pada media TCBS terjadi pada suhu inkubasi 28-37 °C selama 18-24 jam. *Vibrio* tetap tumbuh normal pada rentan salinitas 20-60 ppt. Namun pertumbuhan mulai terhambat pada salinitas 0 ppt, dan sama sekali tidak tumbuh pada salinitas 100 ppt. Hal ini

dipengaruhi oleh sifat bakteri *Vibrio* yang merupakan bakteri halofilik (Arisandi dkk., 2017).

Bakteri halofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang mampu tumbuh dan bertahan hidup secara optimal pada lingkungan dengan konsentrasi garam yang tinggi. Kemampuannya dalam mempertahankan keseimbangan osmotik memungkinkan bakteri ini tetap aktif meskipun berada pada kondisi salinitas ekstrem. Salah satu habitat alami dari bakteri halofilik adalah bittern, yaitu larutan pekat sisa proses pembuatan garam. Bakteri ini diketahui mampu menghasilkan enzim hidrolitik, seperti protease. Enzim protease berperan dalam mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan peptida pada protein, sehingga menghasilkan oligopeptida dan asam-asam amino. Jenis protease yang bersifat halostabil memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam proses degradasi limbah pada lingkungan dengan kadar garam tinggi (Anisa dkk., 2017).

2.3 Media *Thiosulfate Citrate Bile Salt Sucrose Agar* (TCBS)

Vibrio sp. dapat tumbuh pada media TCBS. TCBS merupakan media selektif dan diferensial untuk isolasi bakteri *Vibrio* sp. media ini mengandung tiosulfat yang mampu menghambat bakteri lain untuk tumbuh sehingga media ini hanya ditumbuhi oleh bakteri *Vibrio* saja. Menurut Ihsan dan Retnaningrum (2020), media selektif TCBS memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri non-target karena mengandung senyawa tiosulfat. Selain itu, media TCBS tidak disterilisasi menggunakan autoklaf, karena proses pemanasan tersebut dapat merusak atau menguapkan kandungan tiosulfat yang berperan penting dalam memberikan sifat selektif pada media tersebut. Isolat bakteri *Vibrio* menunjukkan morfologi koloni

yang khas, yaitu berwarna kuning atau hijau, dengan tepi koloni yang rata (*entire*), elevasi berbentuk cembung (*convex*), dan bentuk koloni membulat (*circular*). Warna kuning pada koloni disebabkan oleh kemampuan bakteri dalam menurunkan pH medium serta memfermentasi sukrosa yang terkandung dalam media TCBS, sedangkan koloni berwarna hijau menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak mampu memfermentasi sukrosa (Ihsan, 2021).

2.4 Media *Blood Plate Agar* (BAP)

Uji patogenitas dilakukan dengan menggunakan media BAP (*Blood Agar Plate*) untuk mendeteksi kemampuan hemolisa bakteri. Menurut Sanatang dkk. (2021), media *Blood Agar Plate* merupakan media yang digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam melisis darah. Bakteri penghasil enzim ekstraseluler dapat melisiskan sel darah merah pada agar (hemolisis). Terdapat tiga jenis hemolisis yaitu beta hemolisis, alfa hemolisis, dan gamma hemolisis. Hemolisis dibedakan menjadi tiga jenis berdasarkan kemampuan melisiskan sel darah merah dan hemoglobin. Beta-hemolisis ditandai dengan lisis total sel darah merah dan hemoglobin yang menghasilkan zona bening jernih di sekitar koloni bakteri. Alfa-hemolisis menunjukkan lisis sebagian, yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi kehijauan akibat reduksi parsial hemoglobin. Sementara itu, gamma-hemolisis menunjukkan tidak adanya aktivitas hemolitik, sehingga tidak ditemukan perubahan warna maupun zona di sekitar koloni. Zona bening yang jelas mengindikasikan kemampuan isolat dalam melisiskan sel darah merah secara sempurna, sedangkan perubahan warna kehijauan atau tidak adanya perubahan menunjukkan aktivitas hemolitik yang tidak sempurna atau tidak terjadi sama sekali (Hikmawati dkk., 2019).

2.5 Uji Patogenitas Bakteri

2.5.1 Uji *In Vitro*

Uji *in vitro* adalah metode pengujian yang dilakukan pada media buatan yang telah disesuaikan dengan kondisi lingkungan optimal yang mendukung pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme (Ikrom dkk., 2014). Selain itu, pengujian *in vitro* pengujian yang dilakukan di luar organisme hidup, umumnya dalam kondisi laboratorium, dan biasanya melibatkan studi terhadap sel, jaringan, atau mikroorganisme dalam kultur (Shiba dkk., 2022).

2.5.2 Uji *In Vivo*

Uji *in vivo* adalah metode pengujian yang dilakukan secara langsung pada organisme hidup, seperti hewan atau manusia, dengan tujuan untuk mengamati respons biologis secara menyeluruh dalam kondisi fisiologis yang utuh. Pengujian *in vivo* memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai efek biologis suatu agen dalam sistem biologis yang kompleks (Shiba dkk., 2022).

2.6 Sistem Imun Ikan Kerapu Macan dan Respon terhadap Infeksi *Vibrio* sp.

Menurut Hastari dkk. (2014) menyatakan bahwa ikan kerapu macan yang terinfeksi vibriosis mengalami perubahan tingkah laku seperti bergerak lamban, nafsu makan menurun, keseimbangan terganggu, dan selalu berenang di permukaan. Perubahan tingkah laku pada ikan kerapu macan ini diduga karena bakteri tersebut memproduksi toksin yang terlalu berlebih. Saat bakteri menginfeksi ikan, bakteri dapat menghasilkan zat beracun yang disebut sebagai toksin yang merupakan produk ekstraseluler yang berkaitan dengan antibiosis

sehingga bisa mematikan organisme inang atau memudahkan bakteri masuk ke dalam tubuh inang.

Selain itu, ikan kerapu macan yang terinfeksi vibriosis menunjukkan gejala klinis diantaranya lesu, berenang miring, warna tubuh lebih gelap, bekas luka infeksi semakin membesar, sisik mengelupas, tubuh lebih banyak memproduksi lendir, ginjal pucat, dan mulut terdapat benjolan berwarna merah (Tukan dkk., 2023).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-Desember 2025 di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Lingkungan Balai Besar Perikanan Budi Daya Laut (BBPBL) Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari seperangkat alat bedah, pengaris, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, cawan petri, korek api, bunsen, jarum ose, sendok, spatula, neraca analitik, autoklaf, kulkas, *waterbath*, *hotplate stirrer*, *magnetic stirrer*, *laminar air flow*, inkubator, mikropipet, gelas ukur, spidol, DO meter, pH meter, refraktometer, termometer, spuit injeksi, bak pemeliharaan ikan, dan aerator.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari ikan kerapu macan, pakan buatan berupa pelet, biakan murni *Vibrio* sp., media TSA (*Tryptic Soy Agar*), TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salts Sucrose Agar*), TSB (*Tryptic Soy Broth*), alkohol 76 %, akuades, plastik, NaCl Fisiologis 0,85 %, minyak cengkeh, aluminium foil, dan mikrotip

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 taraf perlakuan dan 6 pengulangan yang terdiri dari satu faktor. Faktor Perlakuan terdiri atas 3 taraf yang dapat dilihat pada (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan Uji *In Vivo* pada Ikan Kerapu Macan

Perlakuan	Keterangan
K-	Tanpa injeksi bakteri <i>Vibrio</i> spp.
P1	Injeksi 0,1 ml suspensi <i>Vibrio</i> spp. patogen yang menunjukkan isolat β -hemolisis pada media BAP
P2	Injeksi 0,1 ml suspensi <i>Vibrio</i> spp. non-patogen yang menunjukkan isolat tanpa hemolisis

Keterangan:

K-= Kontrol Negatif

P1= Perlakuan 1

P2= Perlakuan 2

Tabel 2. Rancangan Percobaan

Ulangan	P1	P2	K-
U1	P1-1	P2-1	K-1
U2	P1-2	P2-2	K-2
U3	P1-3	P2-3	K-3
U4	P1-4	P2-4	K-4
U5	P1-5	P2-5	K-5
U6	P1-6	P2-6	K-6

Keterangan:

U1= Ulangan 1

U2= Ulangan 2

U3= Ulangan 3

U4= Ulangan 4

U5= Ulangan 5

U6= Ulangan 6

3.4 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif. Pengumpulan data primer yaitu pengambilan sampel, perlakuan dan observasi.

Pengumpulan data sekunder yaitu melalui studi literatur dan pustaka.

Selanjutnya dilakukan analisis data dengan membandingkan data primer dengan data sekunder.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel Ikan Kerapu Macan

Sampel ikan kerapu macan diperoleh dari *Hatchery* modul Ikan Kerapu Macan di BBPBL sebanyak 25 ekor. Dari jumlah tersebut, 1 ekor merupakan ikan yang diduga sakit atau menunjukkan gejala klinis vibriosis, seperti tubuh berwarna lebih gelap, berenang miring, tampak lesu, nafsu makan menurun, serta terdapat luka atau borok pada tubuh. Sebanyak 24 ekor ikan sehat digunakan untuk uji patogenitas secara *in vivo*. Ikan sehat tersebut dibagi ke dalam 3 perlakuan dengan 6 ulangan, di mana setiap perlakuan terdiri atas 8 ekor ikan, termasuk 2 ekor sebagai cadangan. Ikan uji yang dipilih memiliki berat berkisar 30-60 gram/ekor dan panjang 12-14 cm/ekor

3.5.2 Sterilisasi

Alat yang digunakan dicuci menggunakan sabun. Selanjutnya, peralatan yang akan digunakan disterilkan dikemas sesuai jenisnya, seperti cawan yang dibungkus kertas, tabung reaksi yang ditutup dengan sumbat, serta gelas ukur yang dilapisi aluminium foil. Peralatan tersebut kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 1 atm dan suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi, peralatan

dikeringkan dalam oven untuk menghilangkan sisa uap air yang masih menempel.

3.5.3 Pembuatan Media

Media yang dibuat untuk isolasi dan uji patogenitas bakteri *Vibrio* spp. terdiri atas media TCBS (*Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose Agar*), TSA (*Tryptic Soy Agar*), (*Tryptic Soy Agar*) miring, TSB (*Trypticase Soy Broth*) dan BAP (*Blood Plate Agar*)

3.5.3.1 Media TCBS

Media TCBS digunakan untuk isolasi bakteri *Vibrio* spp. dengan volume 250 ml, yaitu bahan TCBS 22 g, NaCl 3,75 g dan akuades 200 ml disterilisasi terlebih dahulu dalam autoklaf 1 atm pada suhu 121 °C selama 15 menit kemudian ditambahkan TCBS sebanyak 22 g dengan cara dipanaskan dan dihomogenkan di atas *hotplate- magnetic stirrer*. Setelah itu didinginkan menggunakan *waterbath* sampai suhu media berkisar 45 °C, lalu dituang ke dalam cawan petri steril.

3.5.3.2 Media TSA

Media TSA digunakan untuk pemurnian bakteri *Vibrio* spp. yang diambil dari koloni bakteri yang sudah tumbuh di media TCBS. Langkah pembuatan media TSA untuk volume 250 ml adalah dengan 10 g bahan TSA ditimbang dan 3,75 g NaCl dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan akuades sebanyak 250 ml, selanjutnya dihomogenkan dengan *hotplate- magnetic stirrer* dan disterilisasi dalam autoklaf 1 atm pada suhu 121 °C selama 15 menit, lalu didinginkan sebentar di *waterbath* dan dituang ke dalam cawan petri steril.

3.5.3.3 Media BAP

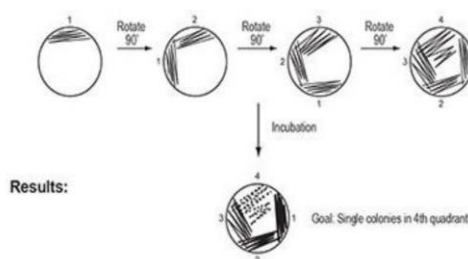
Media BAP yang digunakan dalam penelitian ini merupakan media siap pakai (ready to use) yang diperoleh secara komersial melalui e-commerce. Media tersebut berbasis nutrisi agar yang diperkaya dengan darah domba 5% dan telah melalui proses sterilisasi oleh produsen, sehingga siap digunakan tanpa dilakukan peracikan ulang di laboratorium. Media BAP ini digunakan untuk uji hemolisis isolat *Vibrio* spp. guna mengamati aktivitas hemolitik bakteri berdasarkan terbentuknya zona hemolisis di sekitar koloni setelah proses inkubasi.

3.5.3.4 TSB

Media TSB digunakan sebagai suspensi awal untuk pengenceran suspensi bakteri *Vibrio* spp. untuk volume 100 ml dengan ditimbang bahan TSB 3 g dan NaCl 2 g yang dimasukkan ke dalam botol ditambahkan akuades 100 ml, kemudian media disterilisasi dalam autoklaf 1 atm pada suhu 121 °C selama 15 menit, dan tuang media ke tabung reaksi lalu media siap digunakan.

3.5.4 Isolasi Bakteri *Vibrio* spp.

Isolasi organ target (hati, limfa, ginjal) dari ikan dilakukan secara cepat untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Jarum ose dipijarkan di atas bunsen hingga berpijar, kemudian dibiarkan hingga dingin, lalu ditusukkan ke organ target. Setelah itu, jarum ose digoreskan media TCBS yang telah disiapkan dalam cawan petri steril dengan teknik streak plate dengan metode kuadran. Sampel uji kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 28-33 °C selama 18-24 jam.



Gambar 2. Teknik Streak dengan metode Kuadran (Sanders, 2012).

3.5.5 Pemurnian Isolat Bakteri *Vibrio* spp.

Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan mengkultur bakteri *Vibrio* spp. di media TSA+NaCl 2 %. Ambil 1 koloni yang mencirikan *Vibrio* spp. yang ditandai dengan warna koloni hijau atau kuning di media TCBS, lalu di kultur ke media TSA+NaCl 2 % dengan metode streak, kemudian di inkubasi pada suhu 28-33 °C selama 18-24 jam.

3.5.6 Uji Patogenitas secara *In Vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan media BAP (*Blood Agar Plate*), yaitu dengan mengambil 1 ose koloni tunggal dari isolat bakteri yang telah dimurnikan, kemudian ditanam pada media BAP menggunakan metode *spot inoculation* (metode titik). Media kemudian diinkubasi pada suhu 28-33 °C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, diamati terbentuknya zona hemolisis yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni sebagai indikator aktivitas hemolitik bakteri.

3.5.7 Pengenceran Suspensi Bakteri

Pengenceran suspensi bakteri dilakukan dengan mengukur kekeruhan suspensi bakteri dengan menggunakan standar *MacFarland 0.5* (1.5×10^8 cfu/ml), lalu lakukan pengenceran bertingkat 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , dan seterusnya hingga 10^{-8} dengan target dosis 10^7 cfu/ml, kemudian vortex tabung reaksi yang dilabeli 10^{-1} cfu/ml = 1.5×10^7 cfu/ml sebagai dosis yang ditentukan.

3.5.8 Aklimatisasi Ikan

Aklimatisasi dilakukan pada 24 ekor ikan yang sehat untuk dilakukan uji patogenitas secara *in vivo*, yaitu dengan ikan dimasukkan ke dalam 3 bak pemeliharaan yang masing-masing berisi 6 ekor ikan setiap baknya, kemudian diaklimatisasi selama 14 hari guna menyesuaikan ikan dengan kondisi lingkungan baru serta meminimalkan stres sebelum perlakuan injeksi bakteri dilakukan.

3.5.9 Uji Patogenitas secara *In Vivo*

Uji *in vivo* dilakukan menggunakan 18 ekor ikan kerapu macan sehat yang dipilih dari total 24 ekor ikan uji. Ikan dibagi ke dalam 3 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 6 ekor ikan. Perlakuan pertama diberi injeksi secara intramuskular sebanyak 0,1 ml suspensi bakteri *Vibrio* sp. yang menunjukkan sifat patogen berdasarkan adanya zona jernih (β -hemolisis) pada media BAP, dengan konsentrasi 10^7 CFU/ml. Perlakuan kedua diberi injeksi secara intramuskular sebanyak 0,1 ml suspensi *Vibrio* sp. non-patogen, yaitu isolat yang tidak menunjukkan zona jernih pada media BAP, dengan konsentrasi yang sama. Injeksi dilakukan pada bagian bawah sirip

punggung setiap ikan menggunakan jarum suntik steril. Kelompok ketiga berfungsi sebagai kontrol negatif, yaitu ikan yang tidak diberikan perlakuan apapun. Seluruh ikan kemudian diamati secara berkala untuk mengidentifikasi gejala klinis, perubahan perilaku, waktu munculnya gejala, dan kualitas air.

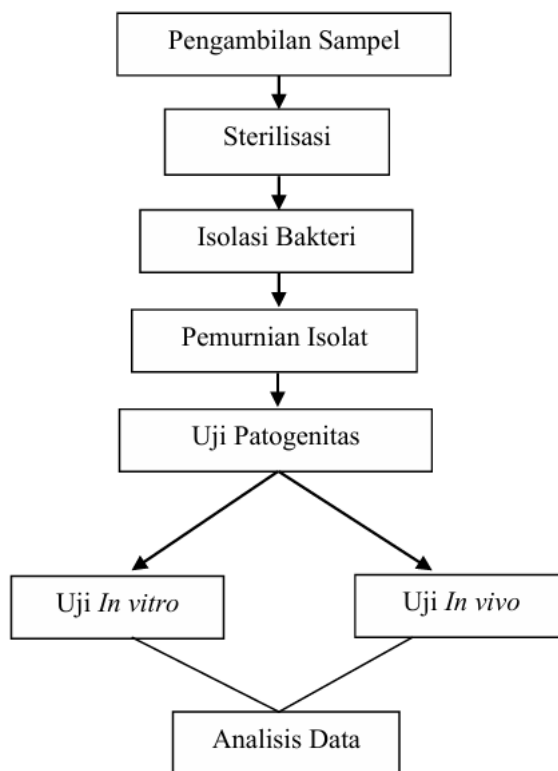
3.5.10 Observasi Pasca Injeksi bakteri *Vibrio* spp.

Observasi pasca injeksi dilakukan dengan mengamati perubahan perilaku, gejala klinis, waktu munculnya gejala, serta perubahan kualitas air seperti suhu, pH, DO, dan salinitas. Gejala klinis yang diamati meliputi penurunan nafsu makan, ikan tampak lesu, warna tubuh menjadi lebih gelap, munculnya borok atau luka pada permukaan tubuh, dan pola berenang yang tidak normal seperti berenang miring. Observasi dilakukan selama 26 hari dan seluruh hasil pengamatan dicatat serta didokumentasikan.

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, kemudian data dianalisis secara deskriptif.

3.7 Diagram Alir Penelitian



Gambar 2. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Bakteri *Vibrio* spp. berhasil diisolasi dari ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) yaitu pada organ target hati, limfa, ginjal, dan luka dengan ciri koloni berwarna kuning pada media TCBS.
2. Bakteri *Vibrio* spp. menunjukkan potensi patogenitas berdasarkan hasil *uji in vitro* dan *in vivo* yang ditandai dengan aktivitas hemolisis serta munculnya lesi pada ikan uji, meskipun tidak seluruh isolat menyebabkan mortalitas, sehingga mengindikasikan adanya variasi tingkat patogenitas.

5.2 Saran

Pembudidaya ikan kerapu macan disarankan untuk melakukan pemantauan kesehatan ikan secara rutin sebagai upaya deteksi dini terhadap infeksi *Vibrio* spp., khususnya melalui pengamatan gejala klinis seperti perubahan perilaku munculnya luka, serta penurunan nafsu makan. Selain itu, dilakukan penerapan dan pengembangan strategi pencegahan serta pengendalian penyakit yang berkelanjutan, seperti melalui optimalisasi manajemen kesehatan ikan dan pemanfaatan agen alternatif seperti probiotik, guna menekan risiko

terjadinya infeksi *Vibrio* spp. dan meningkatkan keberhasilan budi daya.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Anisa, S., S. N. Mulyani, dan A. M. Ari. 2017. Pengaruh Garam Monovalen (NaCl dan KCl) dan Divalen (CaCl dan MgCl₂) Terhadap Aktivitas Protease Ekstraseluler Bakteri Halofilik Isolat Bittern Tambak Garam Madura. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. 20(1): 37-41.
- Anton., Yunarty., dan A. Kurniaji. 2020. Penggunaan Rumput Laut (*Gracilaria verrucosa*) sebagai Agen Biokontrol pada Polikultur Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk mencegah infeksi *Vibrio harveyi*. *Jurnal Airaha*. 9(2), 137-141.
- Apriliani, M., Sarjito., dan A. H. C. Haditomo. 2016. Keanekaragaman Agen Penyebab Vibriosis pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) dan Sensitivitasnya terhadap Antibiotik. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 5(1), 98-107.
- Arisandi, A., K. M. Wardani., K. Badami., dan D. G. Ananda. 2017. Dampak Perbedaan Salinitas terhadap Viabilitas Bakteri *Vibrio fluvialis*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 9(2): 91-97.
- Budiyanti, dan A. Romansyah. 2016. Studi Penggunaan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) Sebagai Bahan Anestesi Sistem Transportasi Tertutup Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Aqua Marine*. 4(1): 13-20.
- Erfin., M. Yohanista., dan Y. Safitri. 2022. Studi Identifikasi Jenis- Jenis Ikan Demersal Hasil Tangkap di Pasar Alok dan Pasar Wuring, Kabupaten Sikka, Provinsi Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan*. 4(2): 1-11.
- Emha, U. T. F. R., D. C. Iskandar., dan E. Rahmi. 2018. Histologis Intestinum Ikan Gurami (*Osphronemus gourami* Lac.) pada Fase Benih dan Dewasa. *Jurnal Jimvet*. 2(1): 56-63.

- Hastari, F. I., Sartijo., dan , B. S. Prayitno. 2014. Karakterisasi Agensia Penyebab Vibriosis dan Gambaran Histologi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) dari Keramba Jaring Apung Teluk Hurun Lampung. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 86-94.
- Hastari, S., Widarnani., dan Sukenda. 2014. *Patogenitas Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 13(2): 112-120.
- Hikmawati, F., A. Susilowati., dan R. Setyaningsih. 2019. Deteksi Jumlah dan Uji Patogenitas *Vibrio* spp. pada Kerang Hijau (*Perna viridis*) dikawasan Wisata Pantai Yogyakarta. *Prossiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. 5(2): 334-339
- Ihsan, B. 2021. Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang mengontaminasi Ikan Layang dan Bandeng di Pasar Tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 24(1) : 89-96.
- Ina, S. M. Y., Al-Saari, N, Mohamad, A, Mursidi, F. A., Aris, A., Amal, M. N. A., dan Zamri, M. 2019. Vibriosis in Fish: A Review on Disease Development and Prevention. *Journal of Aquatic Animal Health*. 31(1): 3-22.
- Ikrom., D. Asih., R. Wira., B. Perkasa., R. Tiara., dan Wasito. 2014. Studi *In Vitro* Ekstrak Etanol Daun Kamboja (*Plumeria alba*) sebagai Anti *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Sains Veteriner*. 32(1).
- Jamanindar, Y. 2014. Prevalensi Parasit dan Penyakit Ikan Air Tawar yang dibudidayakan di Kabupaten Kupang. *Jurnal Ilmu Hayati dan Fisik*. 13(1): 1-10.
- Khalil, M., Salamah, Zumairi, dan Muliani. 2021. Kajian Kinerja Pertumbuhan dan Kelangsungan Hidup Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) menggunakan Pakan Hewani yang Berbeda. *Aquatic Sciences Journal*. 8(2): 118-123.
- Kamal, M. M., A. A. Hakim., A. N. Butet., Y. Fitriyaningsih., dan R. Astuti. 2019. Autentikasi Spesies Ikan Kerapu berdasarkan Marka Gen MT-COI dari Perairan Peukan Bada, Aceh. *Jurnal Biologi Tropis*. 19(2): 116-123.
- Kadriah, I. A. K., Susianingsih, E., Sukenda, S., Yuhana, M., dan Harris, E. 2011. Deteksi Gen-Gen Penyandi Faktor Virulensi pada Bakteri *Vibrio*. *Jurnal Riset Akuakultur*. 6(1): 119-130.

- Linayati, L., S. T. Mardiana., B. M. Syakirin., D. B. Madusari., dan A. C. Purnama. 2024. Upaya Pencegahan Penyakit Ikan di Desa Silirejo, Kecamatan Tirto. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Radisi*. 4(3): 71-77.
- Mahasri, G., dan Kismiyati. 2016. *Penyakit Ikan*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Manurung, N. U. 2018. Identifikasi Bakteri Patogen pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Lokasi Budi daya Ikan Air Tawar Kabupaten Kepulauan Sangihe. *Prosiding Seminar Nasional*. 1(2): 186-193.
- Mariskha, P. R., dan N. Abdulgani. 2012. Aspek Reproduksi Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus sexfasciatus*) di Perairan Glondonggede Tuban. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 1(1): 27-31.
- Muslim, M., A. Iskandar., dan A. Hendriana. 2022. *Budidaya Ikan Kerapu di Tambak*. Insan Cendekia Mandiri. Sumatra Barat.
- Nitimulyo, K.H., Isnansetyo, A., Triyanto, T., Istiqomah, I., dan Murdjani, M. 2005. Isolasi Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 7(1): 80-94.
- Okomoda, V. T., S. Mithun., A. Chatterji., W. Effendy., A. S. Oladimeji., dan A. B. Munafi. 2020. *Environmental Effects on the Oxygen Consumption Rate in Juvenile Epinephelus fuscoguttatus*. Springer Nature. 1497-1505.
- Pasaribu, W. 2021. Pencegahan Penyakit Bakterial pada Ikan Kerapu. *Jurnal Bahari Papadak*. 2(2): 203-211.
- Sanders, E.R. 2012. Aseptic Laboratory Techniques: Plating Methods. *Journal of Visualized Experiments*. 63(3064): 1-18.
- Sanatang., dan T. M. P. Lio. 2021. Skrining Bakteri pada Kulit Pisang dengan menggunakan Media Nutrient Agar dan Blood Agar. *Jurnal Biologi Makassar*. 6(1): 31-37.
- Shiba. K., H. Nursifa., C. K. Kusumawulan., dan I. Sopyan. 2022. Uji Efektivitas *In Vivo* dan *In Vitro* Anti-Aging pada Sediaan Kosmetik. *Jurnal Farmaka*. 20(3). 36-39.
- Tukan, B. O., Y. Salosso., dan A. Djonu. 2023. Pencegahan Infeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus* sp.) menggunakan Rebusan Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Perikanan*, 13(3): 634-646.