

Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Untuk Menginaktifkan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada Ikan Kerapu Bebek (*Epinephelus fuscoguttatus*)

Nita Amelia, Slamet Budi Prayitno *)

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof Soedarto Tembalang – Semarang

ABSTRAK

Permasalahan yang sering dihadapi pembudidaya ikan kerapu adalah infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang dapat menyebabkan kematian 100%, terutama pada stadia larva. Antibiotik dalam penanggulangan penyakit VNN menyebabkan residu dan resistensi pada ikan, sehingga perlu alternatif herbal salah satunya dengan penggunaan ekstrak daun jambu biji yang mengandung *flavonoid*. *Flavonoid* adalah senyawa bioaktif yang akan mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain sehingga dapat bersifat sebagai antivirus.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektifitas penggunaan ekstrak daun jambu biji dalam menginaktifkan VNN dengan melihat 1. Hasil PCR ikan kerapu sebelum dan setelah diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji. 2. Gejala klinis ikan kerapu yang terinfeksi VNN. 3. Histopatologi organ yang terinfeksi VNN. 4. Rata-rata waktu kematian ikan kerapu. 5. Tingkat mortalitas dan kelulushidupan ikan kerapu. 6. Kelayakan kualitas air untuk budidaya ikan kerapu. Metode yang digunakan eksperimental, disain Rancangan Acak Kelompok. Delapan puluh ekor ikan kerapu dibagi dalam 4 kelompok, masing-masing kelompok berisi 4 keranjang basket dan setiap keranjang basket berisi 5 ekor ikan. Ikan kontrol hanya diinjeksi VNN 0,1 ml/ekor. Perlakuan 1 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ekor dan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ekor dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Perlakuan 2 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ekor dan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ekor dengan konsentrasi 100 µg/ml. Perlakuan 3 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ekor dan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ekor dengan 10 µg/ml. Pengamatan deskriptif meliputi, hasil PCR, gejala klinis, histopatologi dan kualitas air. Perhitungan data meliputi, rata-rata waktu kematian, mortalitas dan kelulushidupan ikan kerapu.

Hasil PCR sebelum penginjeksian, negatif ikan kerapu tidak terinfeksi VNN dan setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji hasil PCR positif terinfeksi VNN. Gejala klinis ikan kerapu yang terinfeksi VNN adalah berenang memutar, berdiam diri di dasar, warna tubuh lebih gelap. Histopatologi menunjukkan adanya *inklusi body* (sel mengalami nekrosis), *hipertrofi* (sel mengalami pembesaran) dan *vacuola* (ruang-ruang kosong). Rata-rata waktu kematian ikan kontrol 132,7 jam, perlakuan 1 87,5 jam, perlakuan 2 114,8 dan perlakuan 3 98,1 jam. Tingkat mortalitas pada ikan kontrol 85%, perlakuan 1 80%, perlakuan 2 85% dan perlakuan 3 75%. Kelulushidupan pada ikan kontrol 15%, perlakuan 1 20%, perlakuan 2 15% dan perlakuan 3 25%. Kualitas air untuk budidaya dapat dikatakan layak untuk budidaya. Hasil PCR, histopatologi, rata-rata waktu kematian, mortalitas dan kelangsungan hidup menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji tidak efektif karena konsentrasi, dosis dan metode ekstrak daun jambu biji tidak tepat untuk menginaktifkan VNN.

Kata kunci : ekstrak daun jambu biji, ikan kerapu bebek, *viral nervous necrosis* (VNN).

PENDAHULUAN

Ikan kerapu bebek (*Ephinephelus fuscoguttatus*) mempunyai nilai jual yang tinggi berkisar antara Rp 350.000-400.000/kg. Setiap tahun produksi ikan kerapu terus mengalami peningkatan, tahun 2009 produksi 5.300 kemudian meningkat tahun 2010 mencapai 7.000 ton dan mengalami peningkatan lagi pada tahun 2011 menjadi 9.000 ton (Arifenie, 2011; Suherman, 2011). Salah satu permasalahan dalam budidaya ikan kerapu adalah penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Viral Nervous Necrosis* (VNN), adalah jenis virus *Nodaviridae* yang menyerang ikan kerapu, terutama pada stadia larva dan benih. VNN dapat menyebabkan kematian massal hingga mencapai prevelensi 100% (Johnny *et al.*, 2010; Suratmi dan Ni Luh, 2008). Pembudidaya ikan kerapu biasa menggunakan bahan kimia dan antibiotik untuk mencegah dan mengobati penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Penggunaan bahan kimia atau antibiotik yang digunakan berupa OTC (*Oxy Tetra Cyklin*) memiliki dampak negatif yaitu dapat menyebabkan residu dan resistensi pada ikan sehingga tingkat mortalitas semakin tinggi dan biaya pengobatan semakin mahal untuk menggunakan antibiotik baru. Daun jambu biji merupakan salah satu tanaman herbal yang dapat menjadi alternatif untuk mengendalikan penyakit viral (Sugianti, 2005). Daun jambu biji mengandung ekstrak *quersetin* yang terdiri dari senyawa *tanin* dan *flavonoid*. Senyawa *flavonoid* merupakan senyawa bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain, sehingga *flavonoid* mempunyai aktivitas sebagai antivirus dan antioksidan. *Quersetin* dalam ekstrak daun jambu biji menghambat aktivitas enzim *reverse transkriptase*, yaitu enzim yang diperlukan virus untuk mereplikasi diri (Departemen Pertanian 2008).

Direkbusarakom *et al.*, (1997), melaporkan bahwa penggunaan ekstrak daun jambu biji mampu menghambat aktivitas virus pada udang seperti IHNV, IPNV, OMV. Belum diketahuinya penelitian penggunaan ekstrak daun jambu biji untuk virus ikan menjadi acuan penelitian ini. Tujuan penelitian untuk mengetahui efektifitas penggunaan daun jambu biji dalam menginaktifkan VNN dengan melihat hasil PCR ikan kerapu bebek sebelum dan setelah diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji, mengetahui gejala klinis ikan kerapu yang terinfeksi VNN, mengetahui histopatologi organ yang terinfeksi VNN, mengetahui rata-rata waktu kematian, tingkat mortalitas, kelulushidupan ikan kerapu bebek dan kelayakan kualitas air untuk budidaya ikan kerapu.

Pembuatan ekstrak daun jambu biji dilaksanakan di Balai Obat Universitas Diponegoro, Semarang pada tanggal 20-26 Maret 2012. Kegiatan penelitian secara keseluruhan dilaksanakan pada tanggal 9 April-12 Mei 2012 di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPAP), Jepara.

METODOLOGI PENELITIAN

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah kerapu stadia juvenil ukuran antara 7-8 cm, karena ikan kerapu stadia juvenil sistem imunnya masih rentan untuk terinfeksi VNN. Jenis penelitian yang dilakukan termasuk eksperimental, menggunakan disain Rancangan Kelompok Blok. Jumlah ikan yang digunakan sebanyak 80 ekor, yang dibagi menjadi satu kontrol berjumlah 20 ekor dan tiga perlakuan masing-masing berjumlah 20 ekor dengan empat kali ulangan. Langkah pertama yang dilakukan dalam penelitian, yaitu pembuatan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava*), mengacu pada metode yang telah digunakan di Balai Obat Universitas Diponegoro, Semarang. *Simplisia* adalah proses menghilangkan kadar air pada daun. *Oleoresin* merupakan tahap selanjutnya, daun yang telah kering ditambahkan alkohol 96%. Penggunaan alkohol 96% atau etanol sebagai pelarut karena etanol bersifat universal yang dapat melarutkan senyawa yang tidak dapat larut dalam air, seperti lemak, *flavonoid* dan klorofil. Larutan alkohol kemudian disaring sampai diperoleh filtrat, dan diuapkan menggunakan *rotapavor* pada suhu 70°C hasilnya berupa *oleoresin*. Ikan kerapu bebek sebelum diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji dipelihara terlebih dahulu pada bak fiber sampai nafsu makan ikan kerapu normal, yaitu selama 10 hari. Setiap bak fiber diisi 4 buah basket dan setiap basket diisi 5 ekor ikan. Uji PCR dilakukan diawal penelitian untuk memastikan ikan tidak terinfeksi VNN. Pembuatan inokulum virus dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler BBPAP, Jepara. Virus VNN menyerang organ otak dan mata. Otak dan mata dihancurkan kemudian ditambah SV total lisis dan dihomogenkan. Setelah itu ditambahkan SV RNA dilution buffer diinkubasi pada suhu 70°C lalu disentrifuse dan supernatan yang diperoleh diindahkan dalam ependorf baru. Penambahan ethanol, SV RNA wash solution, DNase Mix, SV RNA solution, penambahan *nuklease free water*.

Ikan kerapu bebek yang telah diaklimatisasi selama 10 hari lalu diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji. Konsentrasi ekstrak daun jambu biji mengacu pada

Direkbusarakom, *et al.*, (1997), yaitu 1000, 100 dan 10 µg/ml sebanyak 0,1 ml/ekor. Dosis virus 0,1 ml/ekor mengacu pada penelitian Roza *et al.* (2004). Cara penginjeksian ikan kerapu dengan VNN dan ekstrak daun jambu biji mengacu pada Puspitaningtyas (2006), yaitu ikan kontrol adalah ikan yang diinjeksi virus 0,1 ml/ ekor tanpa ekstrak daun jambu biji. Perlakuan 1 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ekor dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ekor dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Perlakuan 2 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ ekor dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ ekor dengan konsentrasi 100 µg/ml. Perlakuan 3 ikan diinjeksi virus 0,1 ml/ ekor dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji 0,1 ml/ ekor dengan 10 µg/ml. Menurut Prayitno (2002); Aslianti *et al.*, (2002), gejala klinis yang ditunjukkan ikan kerapu setelah terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) menunjukkan tingkah laku berenang yang tidak beraturan, gerak renang yang pasif, ikan mengapung dengan perut di atas karena pembengkakan gelembung renang, warna tubuh terlihat lebih gelap dan nafsu makan menurun. Ikan kerapu yang mengalami kematian diuji PCR untuk memastikan ikan terinfeksi VNN. Metode mengacu pada OIE 2006 chapter 2.1.7., Prosedur kerjanya meliputi Ekstraksi RNA menggunakan TRIzol reagent (Invitrogen), reaksi RT-PCR untuk deteksi VNN, dan pengamatan hasil PCR pada gel agarose. Uji histopatologi dilakukan untuk mengetahui kerusakan jaringan akibat VNN yang menyerang otak dan mata. Proses pembuatan preparat mengacu pada Lightner DV (1996), yaitu fiksasi menggunakan *buffer formalin*, *dehidrasi*, *clearing* dan *infiltrasi*. Proses selanjutnya *embedding*, pemotongan dan pewarnaan. Perhitungan data berupa rata-rata waktu kematian ikan, mortalitas dan kelangsungan hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji PCR sebelum ikan kerapu diinjeksi virus dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Gambar 1.

M K+ K- S

427 bp →

Keterangan :

M : Marker (100 bp DNA ladder)

K- : Kontrol negatif

K+ : Kontrol positif terinfeksi

VNN, fragmen size 427 bp

S : D.12.07





Gambar 1. Hasil pengamatan PCR sebelum ikan kerapu diinjeksi virus dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji

Ikan kerapu bebek yang diuji PCR sebelum diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji menunjukkan hasil negatif. Marker yang digunakan dimulai dari 100 bp DNA ladder dan pada fragment 427 bp menunjukkan hasil sampel yang diuji (S) tidak terdapat bendaran pita yang sejajar pada kontrol positif. Menurut Anggunadi (2004), apabila tidak ada pita DNA yang berpendar dan sejajar dengan kontrol positif pada hasil pemeriksaan PCR, maka hal ini menunjukkan bahwa tidak ada DNA teramplifikasi sehingga hasilnya negatif dan ikan dapat dinyatakan bebas virus.

Tingkah laku dan gejala klinis kerapu bebek setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkah laku dan gejala klinis ikan kerapu bebek setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji

No	Gambar	Keterangan
1		Gambar pada no 1 menunjukkan gejala klinis ikan terinfeksi VNN untuk ikan kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 yaitu dengan berenang menengadah.
2		Gambar pada no 2 menunjukkan gejala klinis ikan terinfeksi VNN untuk ikan kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 yaitu ikan berdiam diri di dasar seolah-olah mati

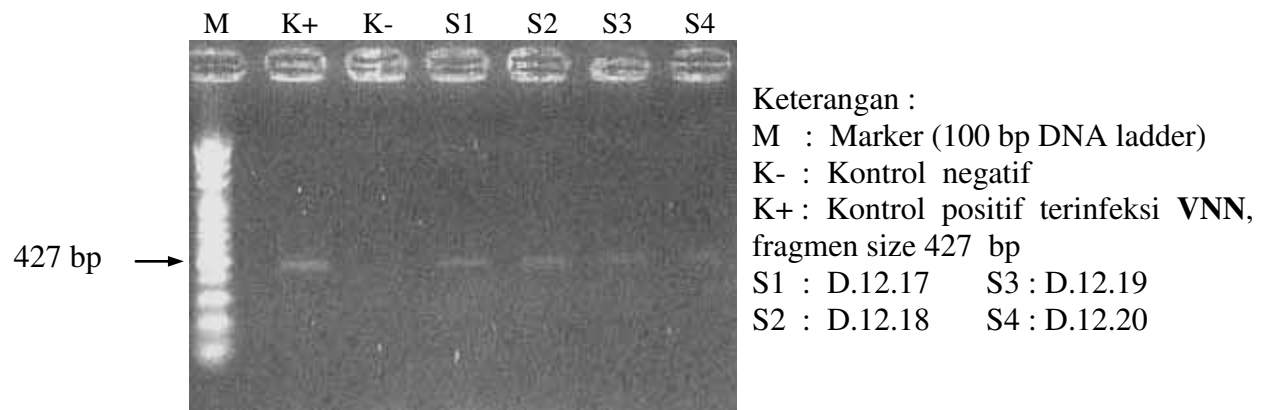
3



Gambar pada no 3 menunjukkan gejala klinis ikan terinfeksi VNN untuk ikan kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 yaitu ikan kerapu mengalami *wierling* atau berenang memutar

Hasil gejala klinis ikan kerapu bebek yang terinfeksi VNN adalah *wierling* atau berenang memutar, menengadah, berdiam diri di dasar seolah-olah mati, warna tubuh lebih gelap. Virus VNN menyerang syaraf otak, sehingga motorik rusak. Hal tersebut mengakibatkan tidak seimbangannya antara keinginan makan maupun keseimbangan dalam air dengan motorik. Menurut Chi, *et al.* (1997), ikan kerapu yang terinfeksi VNN akan menunjukkan gejala klinis pada keseimbangannya, yaitu berenang secara menengadah. Berdasarkan gejala klinis tersebut ikan yang terinfeksi VNN akan mengalami gejala klinis yang lama. Menurut Sumaryam, dkk. (2012), ikan kerapu yang diinfeksi virus dengan cara injeksi tidak menunjukkan gejala klinis seperti infeksi alami karena infeksi secara injeksi dengan dosis 0,1 ml/ekor banyak virus yang masuk sehingga gejala klinis tidak bisa berkembang sebagai mestinya pada infeksi alami.

Hasil uji PCR setelah ikan kerapu diinjeksi virus dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Gambar 2.



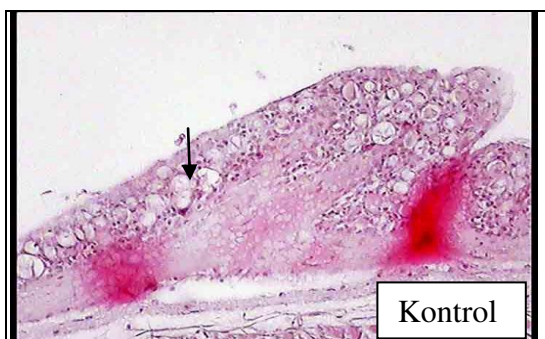
Gambar 2. Hasil uji RT PCR setelah diinjeksi virus dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji

Ikan kerapu bebek yang mengalami mortalitas dilakukan uji PCR dan hasilnya menunjukkan bahwa ikan kerapu bebek positif terinfeksi VNN. Ekstrak daun jambu biji tidak efektif diduga karena metode yang dilakukan untuk dicampurkan dengan VNN langsung

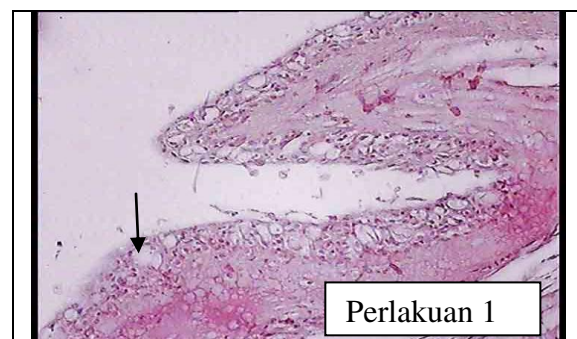
diinjeksikan, sehingga senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun jambu biji yaitu *flavonoid* yang merupakan kelompok fenol, yaitu bioaktif yang akan mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain tidak efektif karena virus lebih cepat mereplikasikan diri bila ada inangnya. Faktor lain yang mempengaruhi yaitu penentuan konsentrasi dan dosis yang tidak sesuai mempengaruhi ketidakefektifan daun jambu biji. Menurut Prayitno (2002), penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dapat menyebabkan kematian atau kerusakan syaraf sentral pada ikan, sehingga tidak mampu untuk merespon berbagai rangsangan dan tidak adanya keseimbangan dalam bergerak maupun berenang dan akhirnya ikan mengalami kematian.

Marker yang digunakan dalam uji PCR dimulai dari fragment 100 bp sampai 1000 bp dan dengan fragment 427 bp paling terang menunjukkan pita yang berpendar sejajar dengan kontrol positif yaitu pada kontrol (S1), perlakuan 1 (S2), perlakuan 2 (S3) dan perlakuan 3 (S4) sama seperti pada kontrol positif. Menurut Suratmi dan Ni Luh (2007); Anggunadi (2004), marker adalah barisan pita (band) yang telah diketahui berat molekulnya. Marker biasanya diletakan pada sumur pertama gel agarosa sehingga hasil pemeriksaan terlihat pada lajur pertama. Pengamatan hasil positif atau negatif dari PCR dapat dilihat dari tidak adanya frgment DNA pada kontrol negatif.

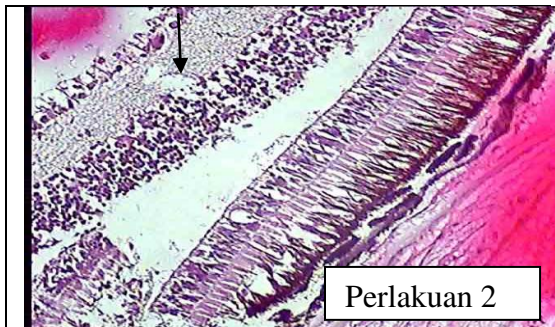
Pengamatan histopatologi organ mata dan otak dilakukan pada ikan yang menunjukkan gejala klinis terinfeksi VNN. Histopatologi bagian mata disajikan pada Gambar 3, 4, 5 dan 6.



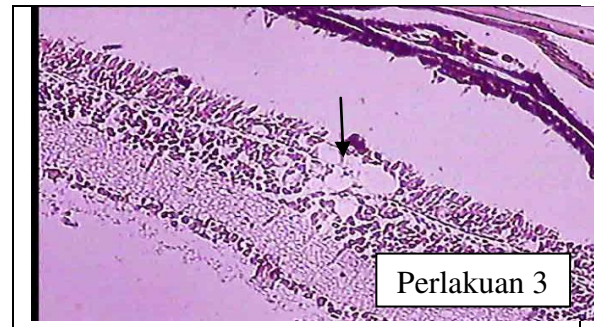
Gambar 3. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 400X



Gambar 4. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 400X

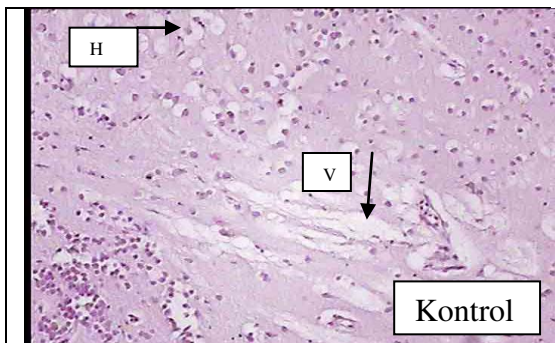


Gambar 5. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

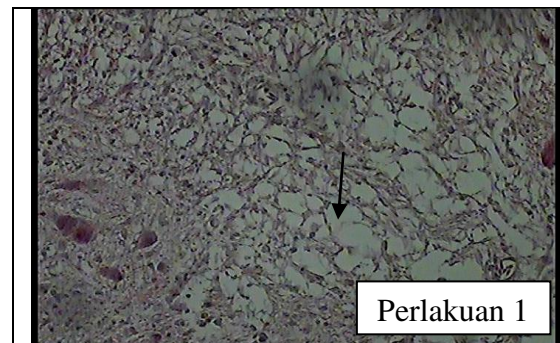


Gambar 6. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

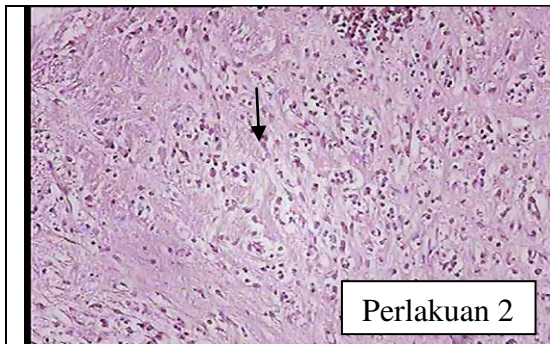
Ikan kerapu bebek yang menunjukkan gejala klinis terinfeksi VNN pada bagian mata untuk perlakuan kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 menunjukkan terbentuknya *vacuola*. *Vacuola* adalah ruang-ruang kosong pada sitoplasma. Histopatologi bagian otak disajikan pada Gambar 7, 8, 9 dan 10.



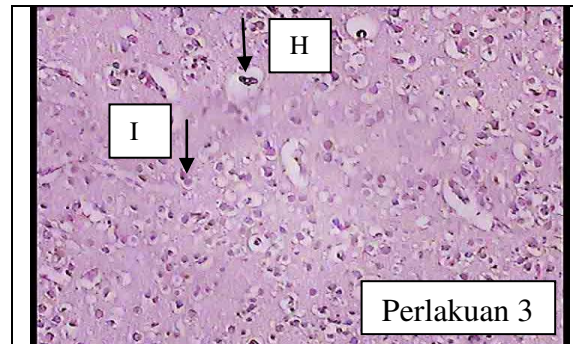
Gambar 7. Kerusakan bagian otak menunjukkan *hipertropy* dan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X



Gambar 8. Kerusakan bagian otak menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

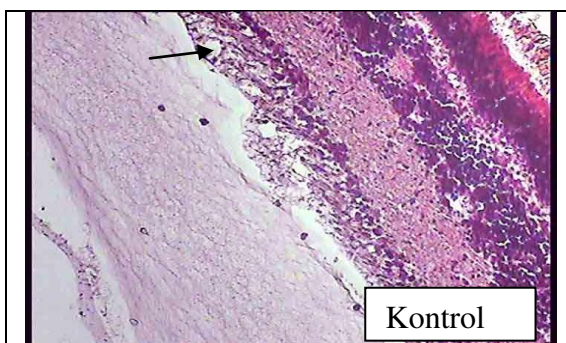


Gambar 9. Kerusakan bagian otak menunjukkan adanya *includi body*, dengan perbesaran 100X

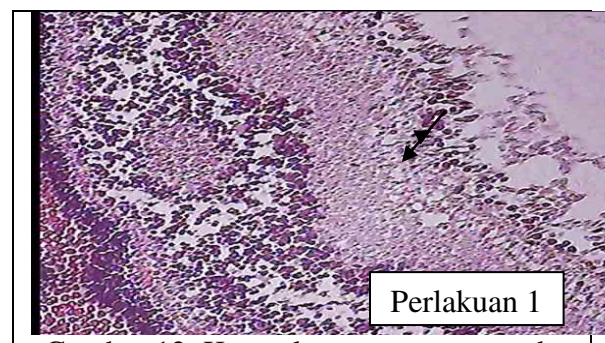


Gambar 10. Kerusakan bagian otak menunjukkan adanya I: *includi body* dan H: *hipertropy*, dengan perbesaran 100X

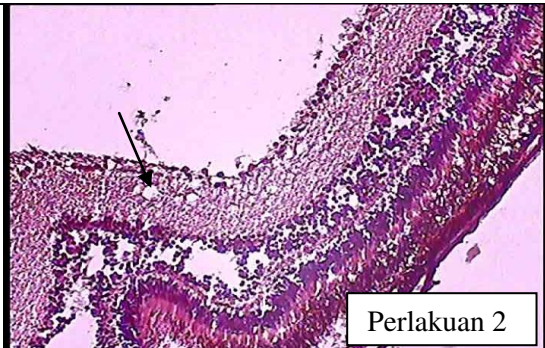
Ikan kerapu bebek yang menunjukkan gejala klinis terinfeksi VNN pada bagian otak untuk perlakuan kontrol, terjadi kerusakan *hipertropy* adalah sel mengalami pembesaran. Ikan perlakuan 1, terjadi kerusakan dengan terbentuk *vacuola*. Ikan perlakuan 2 terjadi kerusakan berupa *includi body*. *Includi body* adalah sel mengalami nekrosis dengan ditandai dengan titik-titik hitam dalam sitoplasma. Ikan perlakuan 3 mengalami kerusakan berupa *includi body* dan *hipertropy*. Ikerapu bebek yang nampak sehat dengan tingkah laku normal dilakukan pengamatan histopatologi pada organ mata dan otak. Histopatologi mata disajikan pada Gambar 11, 12, 13 dan 14.



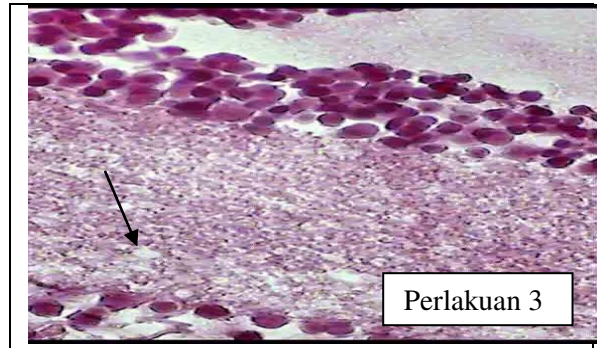
Gambar 11. Kerusakan organ mata pada bagian retina ikan kontrol menunjukkan *hipertropy* serta terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 400X



Gambar 12. Kerusakan organ mata pada bagian retina ikan perlakuan 1 menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

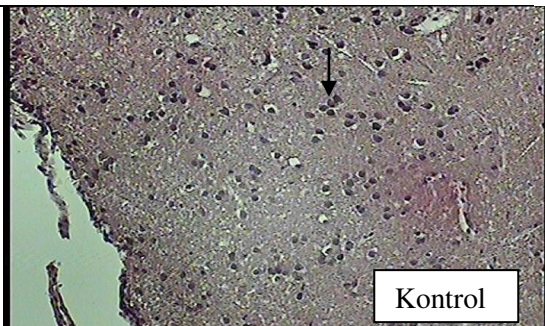


Gambar 13. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

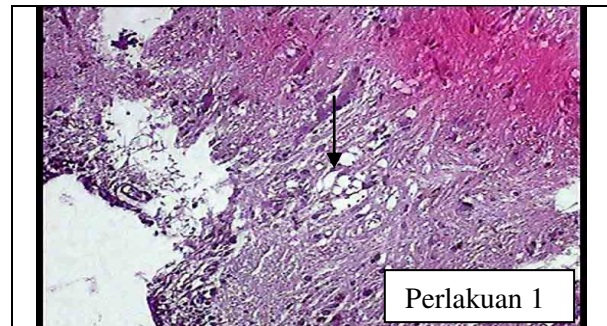


Gambar 14. Kerusakan organ mata menunjukkan terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 400X

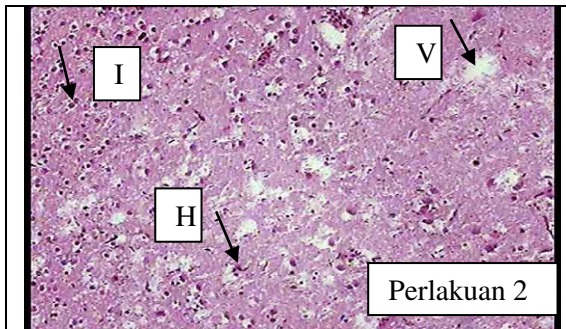
Ikan kerapu bebek dengan tingkah laku normal dilakukan histologi dan hasilnya menunjukkan pada bagian mata terjadi kerusakan untuk perlakuan kontrol, perlakuan 1, 2 dan 3 terbentuknya *vacuola*. Histopatologi bagian otak disajikan pada Gambar 15, 16, 17 dan 18.



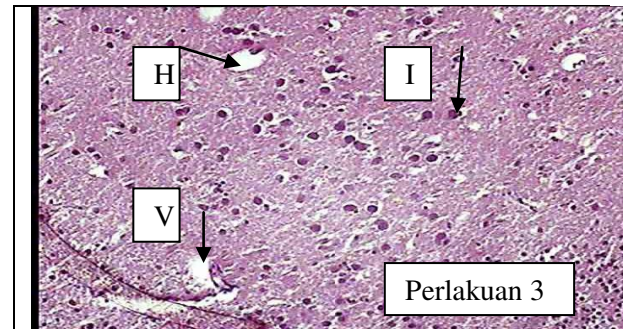
Gambar 15. Kerusakan bagian otak pada ikan kontrol menunjukkan adanya *inclusion body*, dengan perbesaran 100X



Gambar 16. Kerusakan bagian otak terbentuknya *vacuola*, dengan perbesaran 100X

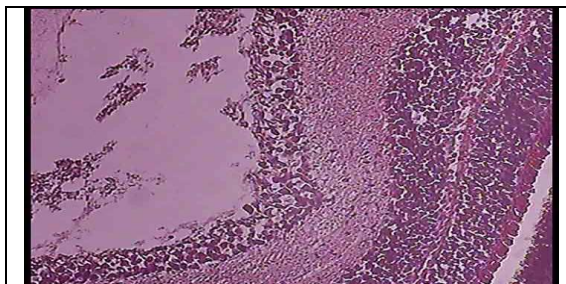


Gambar 17. Kerusakan bagian otak pada ikan adanya I; *includi body*, H; *hipertropy* dan terbentuknya V; *vacuola*, dengan perbesaran 100X

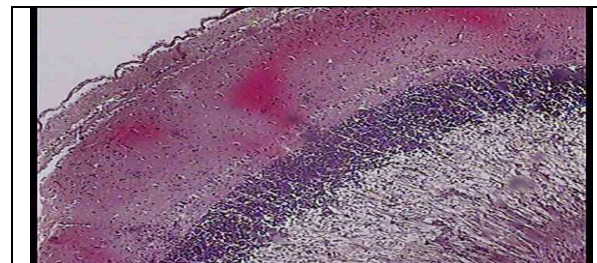


Gambar 18. Kerusakan bagian otak menunjukan adanya I; *includi body*, H; *hipertropy* dan terbentuknya V; *vacuola*, dengan perbesaran 100X

Ikan kerapu bebek dengan tingkah laku normal dilakukan histologi dan hasilnya menunjukkan pada bagian otak terjadi kerusakan ikan kontrol, terbentuk *includi body*. Ikan perlakuan 1, terjadi kerusakan dengan terbentuknya *vacuola*. Ikan perlakuan 2 dan 3 terjadi kerusakan berupa *includi body*, *hipertropy* dan telah terbentuk *vacuola*. Bagian otak dan mata ikan kerapu bebek yang tidak mengalami kerusakan jaringan atau histopatologi disajikan pada Gambar 19 dan 20.



Gambar 19. Histologi organ mata, dengan perbesaran 100X

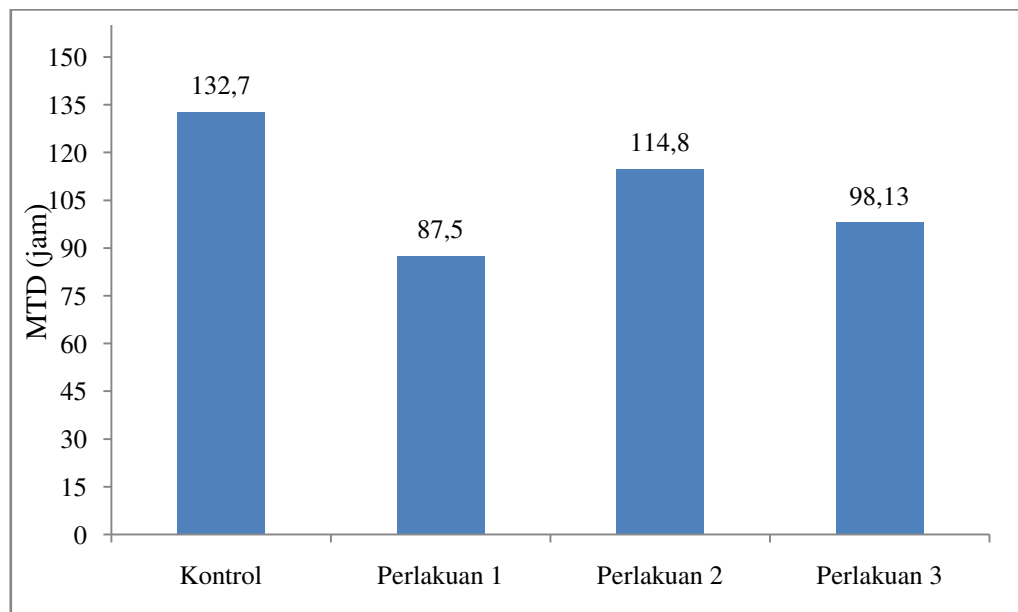


Gambar 20. Histologi otak, dengan perbesaran 100X

Histopatologi mata dan otak pada ikan kerapu bebek yang menunjukkan gejala klinis dan tampak sehat dengan tingkah laku normal terdapat kerusakan. Histopatologi yang terjadi, yaitu nekrosis (terjadi kematian sel) dimulai dari adanya *includi body* dalam sitoplasma, *hipertropy* (terjadinya pembesaran sel) dan sampai terbentuknya *vacuola* (rongga-rongga kosong). Menurut Azad, *et al.* (2005), histopatologi adalah indikator yang paling penting dalam infeksi *Nodaviridae*. Organ mata dan otak yang mengalami kerusakan, karena adanya virus *Nodaviridae* yang merusak jaringan syaraf dengan ciri khas abnormalitas dengan tahapan adanya *includi body* dalam sitoplasma, lalu terjadinya

hipertropy kemudahan akan membentuk *vacuola*. Jaringan dalam tahapan *intracytoplasmic vacuolation* akan dibarengi dengan degenerasi sel-sel. *Vacuola* yang telah terbentuk akan mengganggu sistem kerja otak. Gambar 19 dan 20 pada jaringan normal bagian mata dan otak tidak menunjukkan adanya ruang-ruang kosong atau *vacuola*, seperti pada bagian mata dan otak ikan kerapu yang terinfeksi VNN.

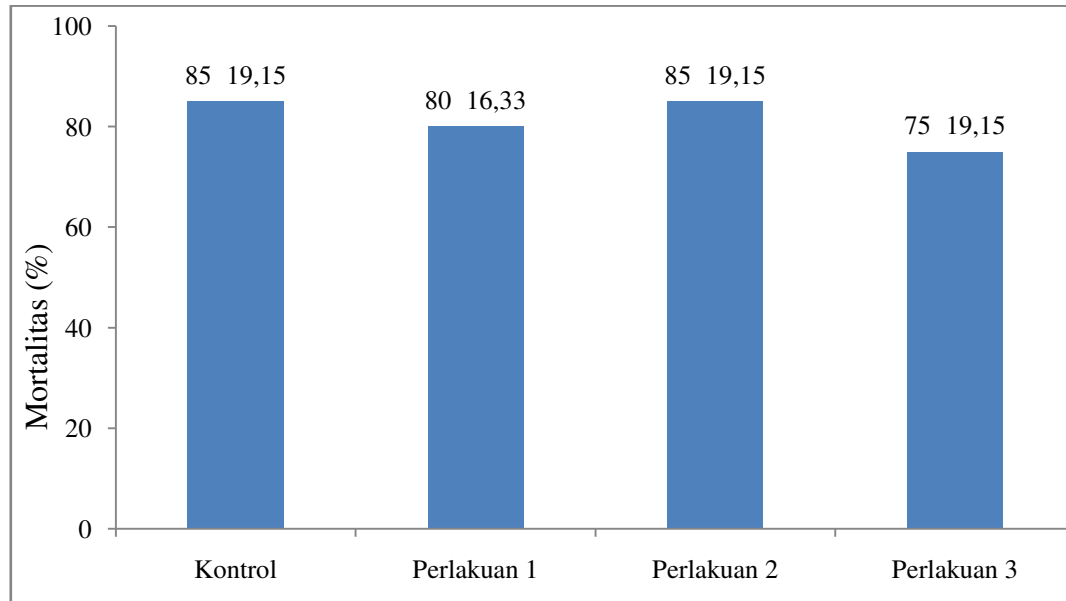
Rata-rata waktu kematian (*Mean Time Date*) ikan kerapu bebek setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Gambar 21



Gambar 21. Rata-rata waktu kematian ikan kerapu bebek setelah diinjeksi virus dan ekstrak daun jambu biji

Gambar 21 menunjukkan rata-rata waktu kematian yang paling lama pada ikan kontrol 132,7 jam, paling cepat pada perlakuan 1 selama 87,5 jam. Perlakuan 2 rata-rata kematian 114,8 jam dan perlakuan 3 98,1 jam. Ikan kontrol, yaitu hanya diinjeksikan VNN 0,1 ml/ekor menunjukkan waktu kematian paling lama dibandingkan perlakuan yang diinjeksikan VNN dan ekstrak daun jambu biji, tetapi perbedaan waktu kematian yang tidak signifikan hanya berselisih sekitar dua hari tidak memberikan keefektifan dari daun jambu biji. Hal ini diduga karena konsentrasi ekstrak daun jambu biji yang diberikan tidak mampu untuk menginaktivkan VNN. Pendugaan tersebut mengacu kepada Ayers *et al.*, (1998); Brul and Coote,(1999), mengungkapkan pengaruh antimikrobia bergantung pada konsentrasi dan semakin tinggi konsentrasi maka sifat bakterisidalnya juga semakin tinggi.

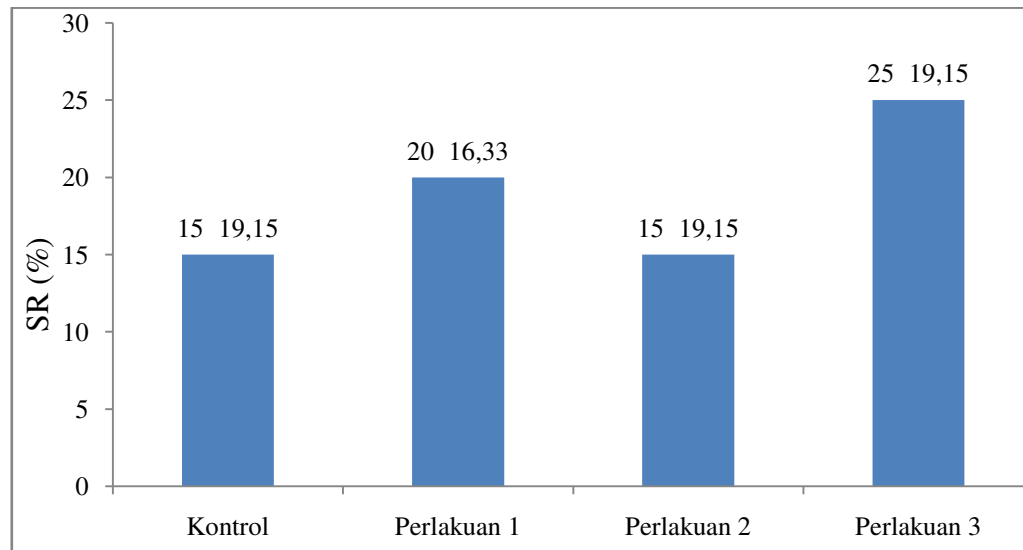
Tingkat mortalitas ikan kerapu bebek setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Gambar 22



Gambar 22. Tingkat mortalitas ikan kerapu bebek setelah diinjeksi virus dan ekstrak daun jambu biji

Gambar 22 menunjukkan tingkat mortalitas paling tinggi pada ikan kontrol dan perlakuan 2 sebesar 85% dengan standar deviasi 19,15. Perlakuan 1 jumlah mortalitas 80% pada standar deviasi 16,33 dan perlakuan 3 yang paling rendah 75% pada standar deviasi 19,15. Tingkat mortalitas yang tinggi pada ikan kontrol diduga karena kerja virus untuk mereplikasikan diri sangat cepat, sehingga mempercepat kerusakan jaringan otak dan mata. Jumlah kematian yang sama dengan ikan kontrol pada perlakuan 2, diduga ikan mengalami stres pasca penyuntikan, sehingga terdapat luka pada bagian punggung tempat dilakukannya injeksi. Menurut Aslianti (2001), ikan kerapu bebek yang mengalami luka pada bagian tubuhnya akan membuat ikan menjadi lemah sehingga mudah diserang penyakit dan akan berlanjut pada kematian dengan jumlah yang tinggi.

Nilai kelulushidupan ikan kerapu bebek setelah diinjeksi virus dan ditambahkan ekstrak daun jambu biji disajikan pada Gambar 23.



Gambar 23. Nilai kelulushidupan ikan kerapu bebek setelah diinjeksi virus dan ekstrak daun jambu biji

Gambar 23 menunjukkan nilai kelulushidupan paling tinggi pada perlakuan 3 sebanyak 25% pada standar deviasi 19,15. Perlakuan 1 sebanyak 20% pada standar deviasi 16,33 dan perlakuan 2 serta kontrol nilai kelulushidupan sama sebanyak 15% pada standar deviasi 19,15. Tingkat kelulushidupan kerapu yang rendah diduga karena sifat dari virus yang tidak dapat dimatikan dan bersifat aktif dalam sel inang yang mendukung kehidupannya. Hal tersebut menunjukkan infeksi VNN masih terjadi pada ikan kerapu bebek meskipun dengan penambahan ekstrak daun jambu biji, sehingga pemberian ekstrak daun jambu biji belum mampu sepenuhnya untuk mendenaturasi semua protein virus dan mencegah terjadinya replikasi virus. Menurut Aslianti (2001), ikan yang terserang VNN tidak dapat diobati karena VNN tergolong virus yang menyerang syaraf. Sifat VNN yang menyerang syaraf (otak dan mata) dapat menyebabkan gerak renang yang tidak normal, sehingga kondisi ikan menjadi lemah dan akan berlanjut pada tingkat kematian yang tinggi.

Efektifitas ekstrak daun jambu biji untuk menginaktifkan VNN pada ikan kerapu bebek dilihat dari hasil uji PCR, pengamatan histopatologi pada organ mata dan otak, rata-rata waktu kematian, mortalitas dan kelulushidupan. Hal tersebut mengindikasikan bahwa

ekstrak daun jambu biji tidak efektif dalam menghambat virus, walaupun penelitian Direkbusarakom, *et al.* (1997) menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki kemampuan sebagai antiviral pada udang dan pada penelitian Rosidah dan Wila (2012), ekstrak daun jambu biji bersifat sebagai antibakteri karena adanya kandungan tanin sebagai antibakteri yang mampu mempresipitasi protein, selain itu terdapat *flavonoid* dan saponin berfungsi sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi mikroorganisme dan sebagai antimikroba. Penyebab ekstrak daun jambu biji yang tidak efektif pada VNN diduga karena beberapa hal, yaitu jenis virus *Nodaviridae* ini tidak dapat dihambat dalam mereplikasikan diri yang menyerang sistem syaraf otak, fungsi dari antibakteri dalam waktu yang bersamaan belum tentu berperan sebagai zat antiviral dan fungsi dari antiviral pada kandungan daun jambu biji akan berbeda bila jenis pelarutnya berbeda.

Kualitas air untuk budidaya ikan kerapu disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter kualitas air untuk budidaya ikan kerapu

Parameter	Hasil Pengamatan	Kisaran Optimal
Salinitas (ppt)	31	28-35 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)
Suhu (°C)	28-30	28-32 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)
pH	7,99-8,11	7,8-8,3 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)
DO (mg/l)	4,59-5,86	> 5 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)
Amoniak (mg/l)	0,000-0,004	< 0,01 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)
Nitrit (mg/l)	0,000-0,014	< 1 (SNI : 01- 6488.3 – 2000)

Kualitas air untuk budidaya ikan kerapu selama penelitian dalam kisaran layak untuk kelangsungan hidup ikan kerapu dengan mengacu pada SNI 01- 6488.3 tahun 2000. Air yang digunakan 100% air laut dengan dilakukan tiga kali penyaringan menggunakan filter pada masing-masing bak tandon air. Sistem air yang digunakan *water flow* air terus mengalami siklus pergantian 24 jam dan setiap hari dilakukan penyiponan serta pergantian air mencapai 90%.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penggunaan ekstrak daun jambu biji kurang efektif dalam menginaktifkan virus VNN dengan melihat indikator sebagai berikut:

1. Hasil PCR ikan kerapu bebek sebelum diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji negatif, yaitu ikan kerapu bebek tidak terinfeksi virus dan setelah diinjeksi VNN dan ekstrak daun jambu biji hasil PCR positif, yaitu ikan kerapu bebek terinfeksi virus.
2. Tingkah laku dan gejala klinis ikan kerapu bebek yang terinfeksi VNN, yaitu *wierling*, berenang menengadah dan berdiam diri di dasar permukaan.
3. Histopatologi pada otak dan mata ikan kerapu bebek akibat infeksi VNN, yaitu adanya *inklusi body*, *hipertropy* dan terbentuk *vacuola*.
4. Rata-rata waktu kematian ikan kontrol 132,7 jam, perlakuan 1 87,5 jam, perlakuan 2 114,8 jam dan perlakuan 3 98,1 jam.
5. Tingkat mortalitas ikan kontrol dan perlakuan 2 85%, perlakuan 1 80% dan perlakuan 3 70%, serta tingkat kelulushidupan ikan kerapu bebek pada ikan kontrol dan perlakuan 2 15%, perlakuan 1 20% dan perlakuan 3 30%.
6. Nilai kualitas air secara uji fisika dan kimia layak untuk budidaya ikan kerapu bebek.

Saran

Ekstrak daun jambu biji berdasarkan penelitian menunjukkan hasil yang tidak efektif dalam menginaktivkan VNN, sehingga peneliti menyarankan untuk penggunaan daun jambu biji sebagai bahan vaksin untuk pencegahan VNN. Tingkatan konsentrasi dan dosis ekstrak herbal yang akan digunakan sebaiknya dilakukan uji pendahuluan untuk memastikan konsentrasi dan dosis yang efektif dalam tindakan pencegahan VNN.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggunadi, Monica. 2004. Uji Tapis *Taura Syndrome Virus* Pada Udang Putih (*Penaeus Vtliziznmei*) Dengan Metode *Re Verse Transcription Polymerase Chain Reaction* Di Balai Karantina Ikan Soekarno – Hatta. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Skripsi.
- Arifenie, Fitri Nur. 2011. Budidaya Ikan Kerapu, Ikan kerapu: Harga Tinggi, Budidaya Kian Menjanjikan [http:// /ikan-kerapu-harga-tinggi-budidaya-kian-menjanjikan-1-.htm](http://ikan-kerapu-harga-tinggi-budidaya-kian-menjanjikan-1-.htm). 13 Januari 2012. 19.21.
- Aslianti, Titik, Bedjo Slamet dan Gegar Sapta Prasetya. 2001. Aplikasi Budidaya Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* Di Teluk Ekas Kabupaten Lombok Timur.
- Azad, I.S., K.P. Jithendran, M.S. Shekhara, A.R. Thirunavukkarasu, and L.D de la Pena. 2005. Immunolocalisation Of Nervous Necrosis Virus Indicates Vertical Transmission In Hatchery Produced Asian Sea Bass (*Lates calcarifer* Bloch)—A Case Study. Central Institute of Brackishwater Aquaculture. Philippines.



- Chi, S.C., C F Lo, G H Kou, P S Chang, S E Peng and S N Chen. 1997. Mass Mortalities Associated With Viral Nervous Necrosis (VNN) Disease In Two Species Of Hatchery-Reared Grouper, *Epinephelus fuscogutatus* and *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel). *Journal of Fish Diseases* 1997, 20, 185–193. National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.
- Departemen Pertanian. 2008. Tanaman Yang Berkhasiat Mengatasi Demam Berdarah Dengue. *Warta Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*. Vol. 30.(6).
- Direkbusarakom, S., A. Herunsalee, M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura · 1997. Efficacy Of Guava (*Psidium Guajava*) Extract Against Some Fish And Shrimp Pathogenic Agents. *Diseases In Asian. Aquaculture III*.
- Johny, Fris *et al.*, 2010. Aplikasi Imunostimulan Untuk Meningkatkan Imunitas non-Spesifik Ikan Kerapu Macan, *Epinephelus fuscoguttatus* Terhadap Penyakit Infeksi Di Hatcheri. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi*. Balai riset Perikanan Budidaya Laut Gondol
- Prayitno, Budi S. 2002. Peran Budidaya Perairan Khususnya Penanganan Penyakit Ikan Dalam Pengelolaan Sumberdaya Perikanan. *Pidato Pengukuhan*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Puspitaningtyas, Dewi. 2006. Potensi Ekstrak Bawang Putih *Allium sativum* Untuk Menginaktifasi Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Masa (*Cyprinus carpio*). *Institut Pertanian Bogor*. Bogor. Skripsi.
- Rosidah dan Wila Mahita Afizia. 2012. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji Sebagai Antibakterial Untuk Menanggulangi Serangan Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Gurame (*Osphronemus Gouramy lacepede*). *Jurnal Akuatik*. Vol III. No. 1
- Roza D., Johnny, F., dan Tridjoko. 2004. Peningkatan Imunitas Yuwana Ikan Kerapu Bebek, *Cromileptes altivelis* Terhadap Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Dengan Cara Vaksinasi Melalui Perendaman. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Badan Riset Kelautan Dan Perikanan. Vol.10 (1).
- SNI : 01- 6488.2 – 2000. Benih Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*) Kelas Benih Sebar. Jakarta: Badan Standar Nasional (BSN).
- Sugianti, Budi. 2005. Pemanfaatan Tumbuhan Obat Tradisional Dalam Pengendalian Penyakit Ikan. *Makalah Pribadi Falsafah Sains (PPS-702)*. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Suherman, Herman. 2011. Kebijakan Dan Program Penyuluhan Kelautan Dan Perikanan Tahun 2011. *Rapat Kerja Penyuluh*. Malang.
- Sumaryam, Kusyairi, Sri Oetami, Hari Suprpto, Garry Cores de Vries. 2011. Kultur Sel Otak Dan Mata Ikan Kerapu (*Chromileptes Altivelis*) Untuk Replikasi Viral



Nervous Necrosis (VNN) [Cell Line *Chromileptes Altivelis* From Encephalon And Retina For Viral Nervous Necrosis (VNN) Replication]. Berita Biologi. Universitas Airlangga. Surabaya.

Suratmi, Sri Dan Ni Luh Tati Aryani. 2008. Kasus Infeksi Penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada Ikan Kerapu Di Pulau Bali. Buletin Teknik Literatur Akuakultur. Vol.7. (1).