

# PENGGUNAAN FORMALIN UNTUK PENGENDALIAN SAPROLEGNIASIS PADA TELUR IKAN NILA MERAH (*Oreochromis sp.*)

Sri Puji Astuti Wahyuningsih  
Laboratorium Biologi Reproduksi  
Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Airlangga - Surabaya

## ABSTRACT

*Saprolegniasis* was a primary fungal disease that attacks fish eggs and fish. This disease was caused by *Saprolegnia sp.* The infections of *Saprolegnia sp.* in fish eggs can be minimized with dip treatment in formalin solution. This research was the control of saprolegniasis on red nila eggs (*Oreochromis sp.*) with formalin. This research used 400 red nila eggs. It was dipped suspension of *Saprolegnia sp.* ( $OD_{550} = 0,5$ ) for 36 jam. The treatment was divided into four groups. Each group used 10 replication and each treatment with 10 eggs. The eggs in group 1 as control were not treated. The egg in-group 2, 3, and 4 were dipped formalin for five minute. The concentration of formalin in-group 2, 3, and 4 were 4 ml/L, 5 ml/L, and 6 ml/L. These data was taken after the treatment and the investigating parameter was the mean percentage of totally eggs that not infected by *Saprolegnia sp.* These data was analyzed by ANAVA and LSD at  $\alpha = 5\%$ . The results of this experiment showed that the increasing of formalin concentrations at each treatment caused significantly decreasing at the growth of *Saprolegnia sp.* on the red nila fish eggs. The control (1) group was not decreasing of the growth of *Saprolegnia sp.* The growth of *Saprolegnia sp.* in-group 2 decreased until 82%. The growth of *Saprolegnia sp.* in-group 3 decreased until 92%. The growth of *Saprolegnia sp.* in-group 4 decreased until 96%.

**Key words:** formalin, *Oreochromis sp.*, *saprolegniasis*

## PENGANTAR

Pada budidaya perikanan, ikan senantiasa hidup dalam lingkungan yang mengandung berbagai mikrobial patogen seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit. Saprolegniasis merupakan penyakit pada ikan dan telur ikan yang disebabkan oleh kapang *Saprolegnia* atau *watermolds* (Klinger dan Francis-Flyod, 1996). Menurut Afrianto dan Liviawaty (1992), *Saprolegnia* pada umumnya menyerang sebagian besar ikan air tawar, seperti ikan mas, gurami, tawes, gabus, dan lele. Arsyad dan Handarini (1991) dalam Rukmana (1997) menyatakan bahwa *Saprolegnia* merupakan salah satu hama dan penyakit yang sering menyerang ikan nila merah.

Kapang *Saprolegnia sp.* berbentuk benang, menyerupai kapas, berwarna putih sampai kelabu dan coklat (Klinger dan Francis-Flyod, 1996). Hifa *Saprolegnia sp.* berkoloni pada telur yang telah mati, menghasilkan miselia kusut yang berlebih sehingga mengakibatkan matinya telur hidup yang berada di sekitar telur mati tersebut. Hifa *Saprolegnia sp.* akan menghalangi masuknya air yang mengandung oksigen dalam telur, sehingga mengganggu pernapasan telur ikan (Bauer *et al.*, 1973 dalam Stoskopf, 1993).

Menurut Bruno dan Wood (1994), strategi yang paling efektif untuk kontrol dan pencegahan infeksi *Saprolegnia* adalah kombinasi pengelolaan dan teknik pembenihan yang bagus dengan pengobatan kimia. Khususnya selama periode 2–4 hari setelah pembenihan. Brown dan Gratzek (1980)

dalam Meyer (2002) menyatakan bahwa infeksi *Saprolegnia sp.* pada telur ikan dapat diminimalisasi dengan mengurangi bahan organik dalam air dan direndam dalam larutan antifungal. Beberapa larutan antifungal telah direkomendasikan, yaitu perendaman telur ikan dalam larutan *malachite green* dan atau larutan formalin.

Formalin adalah larutan formaldehid dengan konsentrasi 37% dalam air. Percampuran formaldehid dengan air menyebabkan ikatan ion tidak stabil sehingga formalin mudah berubah menjadi paraformaldehid yang beracun. Untuk menghambat terbentuknya paraformaldehid dan ikatan ion yang tidak stabil dilakukan penambahan metanol 10–15% (Fitzpatrick, *et al.*, 1995).

Formaldehid yang terkandung dalam formalin mampu digunakan sebagai disinfektan. Formaldehid dapat mematikan jaringan dengan cara mendenaturasi protein sehingga jaringan kehilangan fungsi biologisnya (Anonim, 2003). Penggunaan formalin harus hati-hati karena konsentrasi yang tinggi dapat membahayakan lingkungan, hewan, dan manusia (Fitzpatrick *et al.*, 1995). Menurut Floyd (1996), penggunaan formalin yang aman untuk manusia dan ikan adalah: (1) formalin disimpan di daerah yang terlindung panas dan dingin, (2) jika temperatur air lebih dari 21 °C, maka konsentrasi formalin dikurangi karena toksisitasnya meningkat pada air dengan suhu tinggi, (3) konsentrasi formalin tidak melebihi 10 mg/L jika digunakan untuk pencegahan parasit pada ikan yang dikonsumsi seperti ikan bandeng, lele, gurami, dan nila.

Penelitian ini mencoba menggunakan formalin dengan berbagai konsentrasi untuk pengendalian saprolegniasis pada telur ikan nila merah (*Oreochromis sp.*).

## BAHAN DAN CARA KERJA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Reproduksi, Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Airlangga. Penelitian selama 6 bulan, bulan Januari sampai Juli 2003.

### Bahan

Bahan penelitian berupa telur ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) yang diperoleh dari Balai Pembibitan Ikan; Umbulan; Pasuruan; Jawa Timur; media pembiakan *Saprolegnia sp.* (sukrosa dektrose, dipotasium fosfat, magnesium sulfat, potasium klorida, agar dan akuades), dan antibiotik (klorampenikol 1% dan *pore megal* 0,35%).

### Cara Kerja

#### Kultivasi *Saprolegnia sp.*

Jarum ose dioleskan pada kulit ikan yang terinfeksi *Saprolegnia sp.* Kapang disuspensi dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml akuades. Suspensi dituang dalam cawan petri yang berisi media agar yang ditambah antibiotik 2 tetes. Cawan Petri yang berisi suspensi diinkubasi pada suhu ruang sampai terbentuk spora. Kapang *Saprolegnia sp.* diambil dan disuspensi lagi berulang kali sampai didapatkan kultur murni. Kultur yang telah murni diperbanyak pada medium agar miring.

#### Tahap uji pendahuluan

Tahapan uji pendahuluan meliputi uji dilusi, uji difusi, uji fenol, dan uji ketahanan telur. Uji dilusi menggunakan metode pengenceran dalam tabung, uji ini dilakukan untuk menentukan nilai *Minimum inhibitory concentration* (MIC), yaitu konsentrasi minimal formalin yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan kapang secara *in vitro*. Suspensi *Saprolegnia sp.* ( $OD_{550} = 0,5$ ) ditumbuhkan pada media cair yang mengandung formalin konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 dan 4 ml/L. Selanjutnya setelah 3 hari dilakukan penyaringan suspensi kapang dengan kertas saring dan kemudian dioven pada suhu 100 °C, selanjutnya diukur berat keringnya.

Uji difusi menggunakan metode cakram kertas (*paper diffusion method*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan formalin dalam menghambat pertumbuhan *Saprolegnia sp.* Suspensi *Saprolegnia sp.* ( $OD_{550} = 0,5$ ) dikultur dalam media padat. Selanjutnya, *paper disc* dicelupkan dalam malachite green konsentrasi 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 dan 4 ml/L. *Paper disc* yang telah mengandung

formalin dimasukkan dalam kultur. Setelah 5 hari, zona hambatan pertumbuhan dari jamur diukur dengan jangka sorong.

Uji fenol dilakukan untuk menentukan lama waktu perendaman telur dalam formalin. Suspensi *Saprolegnia sp.* ( $OD_{550} = 0,5$ ) dimasukkan dalam larutan formalin konsentrasi 0, 4, 5, dan 6 ml/L dan larutan fenol konsentrasi 1:90 dan 1:100. Setelah 5, 10, dan 15 menit suspensi dikultur dalam media agar pada suhu 37 °C. Setelah 48 jam dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan *Saprolegnia sp.*

Uji ketahanan telur dilakukan untuk mengetahui daya tahan telur terhadap formalin. Telur nila merah direndam dalam formalin konsentrasi 0, 4, 5, dan 6 ml/L selama 5, 10, dan 15 menit. Kemudian diamati dengan kaca pembesar dan menentukan jumlah telur yang lisis pada tiap perlakuan.

#### Tahap perlakuan dan pengamatan

Kultur *Saprolegnia sp.* yang berspora dan konfluen dari agar miring ditambah dengan akuades dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm sampai mendapatkan nilai  $OD_{550} = 0,5$ . Sebanyak 400 telur ikan nila merah direndam selama 36 jam dalam suspensi kapang *Saprolegnia sp.* dalam air. Telur dibagi 4 kelompok perlakuan dan masing-masing 10 ulangan, yaitu perlakuan 1 sebagai kontrol (tanpa perendaman dalam formalin), perlakuan 2 perendaman dalam formalin konsentrasi 4 ml/L, perlakuan 3 perendaman dalam formalin konsentrasi 5 ml/L, dan perlakuan 4 perendaman dalam formalin konsentrasi 6 ml/L. Perendaman dalam formalin dilakukan selama 5 menit.

Setelah perlakuan, semua telur diambil dan dimasukkan dalam bak yang berisi air bersih. Pengamatan dilakukan setelah perlakuan selama 5 hari. Parameter yang diamati adalah jumlah telur ikan nila merah yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.* (telur sehat) dan telur yang terinfeksi *Saprolegnia sp.* (telur sakit). Telur sehat ditandai dengan permukaannya licin dan kenyal, sedangkan telur sakit ditandai dengan adanya filamen putih yang menempel di permukaan telur. Setelah itu dilakukan penghitungan persentase telur ikan nila merah yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.*

Rumus persentasi telur yang tidak terinfeksi =

$$\frac{\text{Jumlah telur sehat}}{10} \times 100\%$$

#### Analisis data

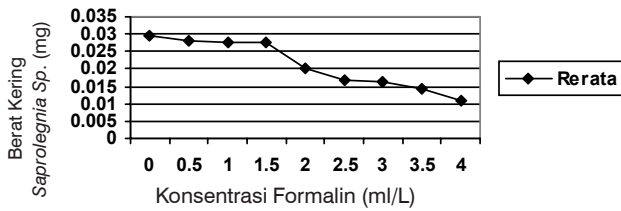
Data persentase jumlah telur yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.* dianalisis dengan uji *ANAVA* satu arah untuk

mengetahui ada tidaknya pengaruh formalin terhadap pertumbuhan *Saprolegnia sp.* Bila ada perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji BNT pada  $\alpha = 5\%$ .

**HASIL**

**Tahap Pendahuluan**

**Uji difusi**



**Gambar 1.** Rata-rata berat kering *Saprolegnia sp.* pada berbagai konsentrasi formalin

Pada konsentrasi formalin 1,5 ml/L mulai terjadi penurunan berat kering, sedangkan pada konsentrasi 2 ml/L terjadi penurunan berat kering cukup besar.

**Uji fenol**

**Tabel 1.** Hasil uji fenol

Lama perendaman (menit)	Replikasi	Hasil deteksi adanya <i>Saprolegnia sp.</i>						
		Konsentrasi formalin (ml/L)				Konsentrasi fenol		
		3	4	5	6	0	1:90	1:100
5	1	-	-	-	-	+	-	-
	2	+	-	-	-	+	-	-
	3	-	-	-	-	+	-	-
10	1	-	-	-	-	+	-	-
	2	-	-	-	-	+	-	-
	3	-	-	-	-	+	-	-
15	1	-	-	-	-	+	-	-
	2	-	-	-	-	+	-	-
	3	-	-	-	-	+	-	-

Keterangan: += ada pertumbuhan *Saprolegnia sp.*  
 = tidak ada pertumbuhan *Saprolegnia sp.*

**Uji ketahanan telur**

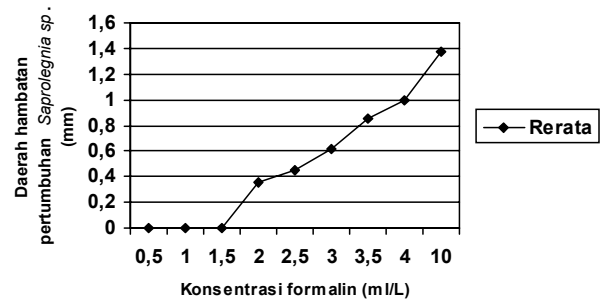
**Tabel 2.** Jumlah telur yang lisis

Lama perendaman (menit)	Replikasi	Jumlah telur yang lisis (biji) pada konsentrasi formalin			
		0 ml/L	4 ml/L	5 ml/L	6 ml/L
5	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
10	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
15	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0

**Uji difusi**

Pada konsentrasi formalin 0,5–1,5 ml/L tidak ada hambatan pada pertumbuhan kapang *Saprolegnia sp.*, sedangkan pada konsentrasi 2 ml/L mulai ada zona hambatan.

*Saprolegnia sp.* hanya tumbuh di media yang mengandung formalin 3 ml/L ppm, masa inkubasi 5 menit. Sebagai kontrol positif pertumbuhan kapang adalah konsentrasi fenol 0.



**Gambar 2.** Rata-rata daerah hambatan pertumbuhan *Saprolegnia sp.* pada berbagai konsentrasi formalin

Pada konsentrasi formalin 0, 4, 5, dan 6 ml/L dengan lama perendaman 5, 10, dan 15 menit tidak ada telur yang lisis dan mati.

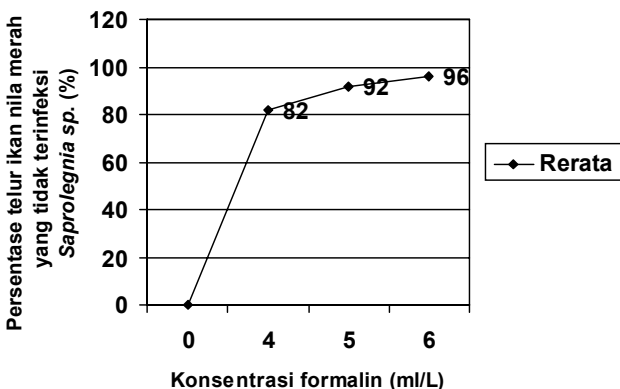
**Tahap Perlakuan**

**Tabel 3.** Persentase telur ikan nila merah yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.*

Replikasi	Persentase telur ikan nila merah yang tidak terinfeksi <i>Saprolegnia sp.</i> (%)			
	0 ml/L	4 ml/L	5 ml/L	6 ml/L
1	0	80	100	100
2	0	70	90	90
3	0	90	90	100
4	0	100	80	90
5	0	80	90	100
6	0	70	90	100
7	0	80	100	90
8	0	60	100	90
9	0	90	80	100
10	0	100	100	100
Rerata	0 a	82 b	92 c	96 c

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama tidak menunjukkan beda nyata pada taraf signifikansi 5%

Berdasarkan uji statistik didapatkan bahwa antara kontrol (0 ml/L) dengan konsentrasi 4, 5, dan 6 ml/L terdapat perbedaan yang nyata. Begitu juga antara konsentrasi 4 ml/L dibandingkan dengan konsentrasi 5 dan 6 ml/L. Sedangkan antara konsentrasi formalin 5 dengan 6 ml/L tidak ada beda nyata.



**Gambar 3.** Rata-rata persentasi telur ikan nila merah yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.* setelah perlakuan dengan formalin

**PEMBAHASAN**

**Tahap Pendahuluan**

**Uji dilusi**

Penghambatan pada pertumbuhan *Saprolegnia sp.* ditunjukkan dengan adanya penurunan berat kering.

Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin semakin rendah berat kering dari *Saprolegnia sp.* Hal tersebut menunjukkan bahwa daya hambat formalin terhadap pertumbuhan *Saprolegnia sp.* semakin besar. Pada konsentrasi 1,5 ml/L mulai terjadi penurunan berat kering, sedangkan pada konsentrasi 2 ml/L terjadi penurunan berat kering cukup besar. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut telah terjadi penghambatan pertumbuhan dari kapang *Saprolegnia sp.* Oleh karena itu, nilai MIC dapat ditentukan pada konsentrasi 2 ml/L.

**Uji difusi**

Berdasarkan Gambar 2 terlihat bahwa pada konsentrasi formalin 0,5–1,5 ml/L pertumbuhan *Saprolegnia sp.* pada kultur hampir tidak dapat dihambat. Sedangkan pada konsentrasi 2 ml/L terdapat zona hambatan sebesar 0,36 mm. Oleh karena itu, nilai MIC ditentukan pada konsentrasi 2 ml/L.

**Uji fenol**

Konsentrasi formalin ditentukan berdasar hasil uji dilusi dan difusi. Berdasar kedua uji tersebut bahwa konsentrasi minimum formalin untuk menghambat pertumbuhan *Saprolegnia sp.* sebesar 2 ml/L. Kemudian konsentrasi formalin ditingkatkan untuk pengujian selanjutnya, yaitu 3 ml/L, 4 ml/L, dan 6 ml/L.

Fenol pada konsentrasi 1:90 dan 1:100 digunakan sebagai kontrol positif dan merupakan konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa tidak ada pertumbuhan *Saprolegnia sp.* dalam media pertumbuhan yang mengandung fenol 1:90 maupun 1:100 dengan inkubasi 5, 10, dan 15 menit. Pada media yang mengandung formalin 3 ml/L, masa inkubasi 5 menit masih ada pertumbuhan kapang. Sedangkan pada konsentrasi 4 ppm dengan masa inkubasi 5, 10, dan 15 menit sudah tidak ada pertumbuhan kapang. Oleh karena itu konsentrasi formalin 4, 5, dan 6 ml/L dengan masa inkubasi 5 menit untuk digunakan percobaan selanjutnya.

**Uji ketahanan telur**

Berdasarkan Tabel 2 terlihat bahwa pada konsentrasi formalin 0, 4, 5, dan 6 ml/L dengan lama perendaman 5, 10, dan 15 menit tidak ada telur yang lisis dan mati dengan kenampakan permukaan telur licin dan kenyal. Hasil uji pendahuluan tersebut menunjukkan bahwa pada perlakuan tersebut masih aman digunakan untuk tahap perlakuan selanjutnya.

## Tahap Perlakuan

Berdasarkan uji Anova terhadap jumlah telur yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang nyata antarkelompok perlakuan dengan nilai signifikansi 0,0 ( $\alpha = 5\%$ ). Selanjutnya, data dianalisis dengan uji BNT dan didapatkan bahwa antara kontrol (0 ml/L) dengan konsentrasi 4, 5, dan 6 ml/L terdapat perbedaan yang nyata. Begitu juga antara konsentrasi 4 ml/L dibandingkan dengan konsentrasi 5 dan 6 ml/L. Sedangkan antara konsentrasi formalin 5 dan 6 ml/L tidak ada beda nyata.

Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 3 terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi formalin semakin tinggi pula rerata jumlah telur ikan nila yang tidak terinfeksi *Saprolegnia sp.* Pada kelompok kontrol, semua telur terinfeksi *Saprolegnia sp.* Pada perendaman formalin 4 ml/L, rerata jumlah telur yang tidak terinfeksi kapang sebesar 82%. Pada perendaman formalin 4 ml/L, rerata jumlah telur yang tidak terinfeksi 92%. Sedangkan pada perendaman formalin 6 ml/L, rerata jumlah telur yang tidak terinfeksi 96%.

Hal tersebut menunjukkan bahwa perendaman telur dalam larutan formalin berpengaruh terhadap pengendalian saprolegniasis pada telur ikan nila merah (*Oreochromis sp.*) dan perbedaan konsentrasi formalin juga berpengaruh pada jumlah telur ikan nila yang tidak terinfeksi kapang. Penelitian ini memperkuat pendapat Anonim (2003) bahwa formalin dapat digunakan untuk pengobatan saprolegniasis karena formalin merupakan zat kimia yang bersifat toksik dan memiliki kelarutan yang tinggi dalam air. Formalin mudah masuk dalam sel atau jaringan secara osmosis. Kandungan formalin yang mampu digunakan sebagai fumigan adalah formaldehid. Formalin dapat membunuh kapang *Saprolegnia sp.* dengan cara mendehidrasi sel dan jaringan kapang sehingga cairan normal sel berubah menjadi gel. Di samping itu, formaldehid menyebabkan denaturasi protein sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel kapang.

Berdasarkan penelitian di atas menunjukkan bahwa konsentrasi formalin 4, 5, dan 6 ml/L dapat digunakan untuk pengendalian saprolegniasis pada telur ikan nila merah. Namun demikian, peneliti menyarankan penggunaan formalin 4 ml/L dengan pertimbangan risiko pencemaran yang ditimbulkan lebih kecil, di samping itu pada konsentrasi tersebut sudah mampu membebaskan telur dari kapang lebih dari 50%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah (1) formalin dapat digunakan untuk pengendalian saprolegniasis, (2) konsentrasi formalin yang efektif dan aman untuk pengendalian saprolegniasis adalah 4 ml/L.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami menyampaikan terima kasih kepada proyek penelitian DIK-UNAIR yang membiayai penelitian tersebut. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada Dian Kristanti, S.Si. yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini hingga selesai.

## KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2003. Looks at Formalin. <http://www.yahoo/formalin.com>.
- Fitzpatrick MS, Schreck CB, dan Chitwood RL, 1995. Evaluation of Three Candidate Fungicides for Treatment of Adult Spring Chinook salmon. *Prog. Fish-Cull.* 57: 153–155.
- Floyd RF, 1996. Use of Formalin to Control Fish Parasites. Department of Large Animal Clinical Sciences and Department of Fisheries and Aquatic Sciences, Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville.
- Klinger RE dan Francis-Flyod R, 1996. Fungal Disease Treatment. <http://www.petsforum.com/novalek/kpd26.htm>
- Meyer K, 2002. Saprolegnia, Osu Department of Fisheries & Wild Life. <http://www.hmsc.orst.edu/classes/MB492/saprokent/saprolegnia.htm>.
- Rukmana A, 1997. Ikan Nila Budidaya dan Aspek Agribisnis. PT. Kanisius, Yogyakarta.
- Stoskopf MK, 1993. Fish Medicine. WB Saunders Company, Philadelphia.

Reviewer: **Dr. MF. Raharjo**