

LAPORAN PENELITIAN SKRIPSI

**IDENTIFIKASI DAN PREVALENSI VIRUS KHV (*KOI HERVES VIRUS*) PADA
IKAN MAS (*CPYRINUS CARPIO*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE PCR
(*POLYMERASE CHAIN REACTION*)**



OLEH

SYARIF APRIANTO

NIM : 151110058

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONTIANAK
PONTIANAK**

2019

RINGKASAN

SYARIF APRIANTO. IDENTIFIKASI DAN PREVALENSI VIRUS KHV (*KOI HERVES VIRUS*) PADA IKAN MAS DENGAN MENGGUNAKAN METODE PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION). Dibimbing oleh Ir. RACHIMI, M.Si dan EKO PRASETIO, S,Pi.MP

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah sejenis ikan konsumsi air tawar. Ikan mas atau Ikan karper (*Cyprinus carpio*) adalah ikan air tawar yang bernilai ekonomis penting dan sudah tersebar luas di Indonesia. Di Pontianak sendiri ikan mas adalah jenis ikan budidaya keramba serta kolam, ikan ini digemari para pembudidaya karena selain mudah untuk pembesarannya ikan mas tahan terhadap perubahan kualitas air yang sangat cepat

Virus merupakan HPIK (Hama Penyakit Ikan Karantina) golongan satu (1) berdasarkan Kepmen karantina ikan no 26 tahun 2013. Pemeriksaan virus dapat diidentifikasi dengan beberapa cara diantaranya menggunakan metode PCR (Polymerase chain reaction).

Pada pemeriksaan dan identifikasi KHV yang dilakukan saat penelitian antara lain pemeriksaa gejala klinis, pemeriksaan organ insang, identifikasi KHV, tingkat prevalensi, penyebaran serangan dan analisa kualitas air. Inilah rangkaian alur pemeriksaan virus KHV pada ikan mas yang dilakukan di SKIPM Kelas I Pontianak

Hasil dari identifikasi di dapatkan prevalensi tertinggi pada bulan Mei dan Juni. Prevalensi tertinggi tersebut di karenakan terjadinya perubahan musim dan dilakukan pemantauan HPIK (Hama dan Penyakit Ikan Karantina) guna deteksi dini penyebaran virus.

Kata Kunci :Ikan Mas, *Virus KHV*

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Identifikasi Dan Prevalensi Virus KHV (*Koi Herpes Virus*) Pada Ikan Mas Dengan Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Nama : SYARIF APRIANTO

NIM : 151110058

Program Studi: Budidaya Perairan

Fakultas : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Di setujui oleh :

Pembimbing I

Ir.Rachimi, M.Si
NIDN. 0029046802

Pembimbing II

Eko Prasetyo, S.Pi., MP
NIDN. 1112048501

Penguji I

Eka Indah Raharjo, S.Pi., M.Si
NIDN. 11102107401

Penguji II

Tuti Puji Lestari, S.Pi., M.Si
NIDN. 1121128801

Mengetahui:

Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan

Universitas Muhammadiyah Pontianak

Dr.Ir.Eko Dewantoro, M.Si
NIDN. 0027096509

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA
PELIMPAHAN HAK CIPTA***

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul “Identifikasi Dan Prevalensi Virus KHV (*Koi Herpes Virus*) Pada Ikan Mas Dengan Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Muhammadiyah Pontianak

Pontianak, Agustus 2019

Materai 6.000

Syarif Aprianto
NIM. 151110058

© Hak Cipta Milik Universitas Muhammadiyah Pontianak, Tahun 2019

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan Universitas Muhammadiyah Pontianak.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin Universitas Muhammadiyah Pontianak.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah sejenis ikan konsumsi air tawar. Ikan mas atau Ikan karper adalah ikan air tawar yang bernilai ekonomis penting dan sudah tersebar luas di Indonesia. Di Indonesia, ikan mas mulai dipelihara sekitar tahun 1920-an. Ikan mas yang terdapat di Indonesia merupakan ikan mas yang dibawa dari Cina, Eropa, Taiwan dan Jepang. Selain itu "ikan mas punten" dan "ikan mas majalaya" merupakan hasil seleksi di Indonesia. Sampai saat ini sudah terdapat 10 ikan mas yang dapat diidentifikasi berdasarkan karakteristik morfologisnya.

Di Pontianak sendiri ikan mas adalah jenis ikan budidaya keramba serta kolam, ikan ini digemari para pembudidaya karena selain mudah untuk pembesarnya, ikan mas tahan terhadap perubahan kualitas air yang sangat cepat. Selain itu permintaan konsumsi untuk komoditi ikan mas sangatlah tinggi di wilayah Pontianak. Hal itu dapat dibenarkan dengan meningkatnya permintaan ikan mas pada rumah makan di Pontianak serta restoran- restoran yang berada di Pontianak.

Virus merupakan HPIK (Hama Penyakit Ikan Karantina) golongan satu (1) berdasarkan Kepmen karantina ikan no 26 tahun 2013. Gejala Klinis Ikan Mas yang Terinfeksi KHV pada bagian insang ikan terjadi necrosis. Posisi ikan miring saat diam atau bahkan terbaring di dasar wadah. Selalu diam disudut wadah Berenang tidak stabil/miring . Sering kepermukaan atau kesumber oksigen/aerasi. Kadangkala diam dengan kondisi vertical pada posisi kepala diatas dan bagian caudal dibawah. Pada kondisi tertentu ikan akan tampak berenang mundur. Awal infeksi akut akan menunjukkan ikan membuka tutup mulut dengan cepat. Sirip punggung tertutup, mata cekung ke dalam dan memutih. Terjadi geripis pada bagian sirip caudal, pendarahan (septicemia) pada bagian pinggir tutup insang dan mulut terdapat luka pada tutup insang. Saat dipegang tampak lemas dan tidak berontak. Inilah gambaran kondisi dari gejala klinis pada ikan mas yang terserang KHV yang ditemukan pada pemantauan HPIK (Ardana Kurniaji, S.Pi 2015).

Pemeriksaan virus dapat diidentifikasi dengan beberapa cara diantaranya menggunakan metode PCR (Polymerase chain reaction). Peran

karantina ikan sebagai garda terdepan menjaga masuk dan tersebarnya hama dan penyakit ikan karantina yaitu salah satunya dengan mendeteksi secara dini jenis penyakit ikan seperti virus. Tindakan yang dilakukan oleh pemerintah dan lembaga terkait ini untuk menekan penyebaran virus dengan melakukan deteksi penyakit menggunakan metode PCR. Metode PCR sendiri adalah metode deteksi cepat karena metode PCR bisa mendapatkan hasil yang akurat. Selain itu untuk pemeriksaan virus sendiri memang menggunakan metode PCR Konvensional dan dianggap sangat praktis. Sebelum lebih jauh melakukan pemeriksaan PCR, terlebih dahulu kita lakukan pemeriksaan klinis pada ikan di lokasi pemantauan untuk melihat kondisi fisik ikan. Melalui UPT SKIPM Pontianak, setiap media pembawa ikan yang masuk dan keluar di wilayah Kalimantan Barat, wajib untuk melakukan pemeriksaan virus. Hal ini bertujuan untuk mencegah tersebar luasnya penularan virus yang merupakan HPIK Gol I. Sampel yang dinyatakan positif terinfeksi virus akan ditolak untuk masuk ke wilayah Kalimantan Barat atau bahkan harus dimusnahkan.

KHV yang juga dikenal sebagai Cyprinid herpesvirus-3 (CyHV-3) merupakan virus yang menginfeksi ikan mas dan ikan koi pada lingkungan budidaya maupun alam liar. KHV merupakan penyakit yang menyebabkan kerugian besar bagi pembudidaya/ petani ikan mas. Oleh karena itu perlu adanya pengendalian yang cepat dan akurat untuk meminimalisir berkembang dan menyebarnya pada suatu daerah khususnya perairan yang berada di Pontianak. Adanya tingkat kebutuhan serta konsumsi ikan mas yang tinggi di wilayah Pontianak, peneliti berminat untuk melakukan pemeriksaan virus yang dapat menyerang pada komoditi ikan mas tersebut. Salah satu virus yang biasa dan bisa menyerang ikan mas yaitu Koi herpes virus (KHV).

1.2 Rumusan Masalah

Pada tahun 2017 di wilayah kabupaten singkawang dan mempawah terjadi kematian masal pada komoditi ikan mas dan ikan nila. Kematian terindikasi di sebabkan oleh HPIK Gol I yaitu virus KHV. Selain itu kematian masal yang terjadi sangat amat merugikan bagi para petani ikan dan menyebabkan anjolnya harga ikan mas pada saat itu. Jumlah kematian yang

cukup besar menjadi alasan peneliti untuk melakukan identifikasi penyebab kematian, untuk mendeteksi serta mencegah secara dini sebab dari kematian.

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi serangan virus KHV pada ikan mas dengan menggunakan metode PCR. Kemudian manfaat dari penelitian agar memudahkan dan membantu akurasi dalam identifikasi penyakit ikan secara ilmiah dengan metode PCR membantu meningkatkan produktifitas ikan mas dengan pencegahan dini serta mengidentifikasi kemungkinan serangan virus KHV pada saat pemeliharaan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biologi Ikan Mas

2.1.1. Klasifikasi Ikan Mas

Klasifikasi mas menurut Khairumam (2008) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Sub Kingdom	: Metazoa
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Actinopterygii
Subkelas	: Pisces
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Cypriniformes
Subordo	: Cyprinoidae
Famili	: Cyprinidae
Genus	: Cyprinus
Spesies	: <i>C. carpio</i>



Gambar 2.1.1. Ikan Mas (Sumber: Santoso, 2011)

2.1.2. Morfologi Ikan Mas

Selama ini ikan mas dikenal sebagai komoditi dengan nilai ekonomi tinggi. Persebaran meliputi hampir semua wilayah Indonesia. Ikan yang juga dikenal dengan nama karper.

Adapun karakteristik morfologi ikan mas, sebagai berikut :

Secara umum ikan mas mempunyai tubuh bilateral simetris. Yang artinya tubuhnya terdiri dari dua belahan yang sama. Dan jika tubuh ikan ini cenderung

memanjang. Selain itu, ia juga memipih tegak atau dikenal dengan istilah compressed. Mulut ikan mas ada pada bagian tengah ujung kepala terminal atau berada tepat di ujung hidung. Mulut tersebut bias disembulkan atau di kenal dengan istilah protaktil. Pada wilayah bagian tubuh anterior mulut ikan terdapat dua pasang sungut. Adapun pada ujung dalam mulutnya, dijumpai gigi kerongkongan atau pharyngeal teeth. Gigi ikan mas ini terdiri atas tiga baris gigi geraham, (Khairumam 2002).



Gambar 2.1.2. Morfologi Ikan Mas (*Runny 2018*)

Umumnya hampir semua tubuh ikan mas tertutupi sisik. Namun perlu juga disebutkan, ada beberapa varietas yang sibuknya sedikit. Jika dicermati, sisik pada ikan mas cenderung berukuran besar. Sisik ini termasuk sisik jenis sikloid atau lingkarang. Sisik ini juga digolongkan sebagai Ctenoid yakni sisik dengan bentuk layaknya sisir. Bentuk ini lazim ditemui pada ikan dengan jari-jari sirip yang keras. Bentuk sirip ekor pada ikan mas dikenal dengan istilah emarginated yakni berpinggiran berlekut tunggal (Susanti, 2010)

Dorsal atau sirip punggung ikan mas agak memanjang. Bagian belakangnya memiliki jari kera dan bagian akhir yakni pada sirip ketiga juga ke empat, jari tersebut menjadi bergerigi. Letak sirip punggung pada ikan ini agak berseberangan dengan ventral atau permukaan sirip perutnya. Sirip perut ini cenderung dekat dengan sirip dada atau subabnormal. Pada sirip dada ikan mas, overculum dan prooverculum. Adapun sirip pada duburnya (anal) memiliki ciri layaknya sirip punggung. Berjari keras dan pada bagian akhirnya sirip berubah berigi (Susanti, 2010).

Pada linaleteralis /gurat isi/ garis rusuk ikan mas digolongkan lengkap. Linaliteralis ini ada pada pertengahan tubuh. Bentuk linateralis/ gurat isi/ garis lurus ikan mas melintang, mulai dari bagian tutup insang hingga ke ujung belakang area pangkal ekor. Organ insang ikan mas terdiri dari atas tapis insang, tulang lengkung insang serta lebar daun insang. Ikan mas tidak mempunyai lambung. Oleh sebab itu ia menggunakan lambung palsu. Lambung ini berfungsi untuk menampung makanan (Susanti, 2010)

Demikian klarifikasi dan morfologi ikan mas secara umum. Karakteristik ini bisa berbeda pada varian yang satu dan yang lain. Namun tidak merubah ciri morfologis umum ikan carper tersebut.

2.1.3. Sistem Kekebalan Tubuh Ikan

Sistem kekebalan tubuh pada ikan terbagi atas beberapa hal, diantaranya non spesifik dan spesifik. Mekanisme kekebalan non spesifik juga dikenal sebagai kekebalan secara alamiah (innate immunity), merupakan mekanisme pertahanan inang yang responnya tidak bergantung pada frekuensi kontak terhadap antigen tertentu. Berbeda dengan respon kekebalan spesifik (humoral mediated immunity maupun cellular mediated immunity) yang responnya sangat tergantung pada frekuensi kontak induk semang dengan antigen tertentu sebelumnya (sering pula disebut adaptive immunity). Meskipun demikian, beberapa fungsi dari sistem kekebalan non-spesifik juga terlibat dalam sistem kekebalan spesifik. Sistem pertahanan pada ikan akan terbentuk sempurna saat ikan telah dewasa. Pada benih ikan sistem kekebalan tubuh sudah terbentuk tetapi belum berfungsi optimal sehingga kurang efisien dalam menahan infeksi patogen. Pada tahap ini, ikan rentan terhadap penyakit. Sistem pertahanan non spesifik merupakan pertahanan tubuh yang terdepan ketika menghadapi paparan patogen karena memberikan respon langsung terhadap antigen. Sistem pertahanan tubuh non spesifik terdiri dari kulit dan selaput mukosa. Sistem pertahanan tubuh spesifik adalah sistem kekebalan tubuh khusus yang membuat limfosit peka untuk segera menyerang patogen tertentu (Supriyadi, H.; Tauhid dan G. Moekti. 1997)

Berikut adalah faktor faktor yang berperan pada sistem kekebalan tubuh ikan :

1. Suhu

Tubuh ikan sangat di pengaruhi suhu lingkungannya, untuk itu pertahanan tubuh ikan sangat dipengaruhi oleh perubahan suhu. Perubahan suhu yang turun naik secara signifikan mempengaruhi system kekebalan tubuh ikan sendiri. Suhu yang terlalu tinggi dapat menekan fungsi kekebalan dan suhu terlalu rendah juga dapat menjadi factor pembatas dalam proses metabolisme.

2. Kondisi Stres

Keadaan stress dapat mempengaruhi status kesehatan ikan. Stress dapat disebabkan oleh faktor biologis, kimiawi maupun fisik. Respon stress akan diikuti dengan penurunan kadar limfosit dalam darah, dan juga di dalam organ-organ limfoid.

3. Logam Berat

Logam berat yang cukup berbahaya dapat mempengaruhi system kekebalan tubuh bagi kehidupan ikan. Bahkan kontaminasi ringan unsur logam berat di lingkungan perairan akan dideposit oleh ikan-ikan induk kemudian dikonsentrasikan dalam minyak yang tersimpan dalam telur-telur mereka. Kontaminasi demikian pada akhirnya akan mematikan telur-telur tersebut pada saat berkembang sebelum menjadi larva, dan lain-lain

4. Keseimbangan Nutrisi

Kecukupan pakan (kualitas dan kuantitas) sesuai dengan kebutuhan optimal ikan sangat berpengaruh terhadap sistem kekebalan tubuh ikan. Kondisi ini juga sangat nyata terhadap optimalisasi pertumbuhan serta menjamin kualitas pangan asal ikan bagi kebutuhan konsumsi manusia.

5. Mikro nutrient

Anti oksidan seperti vitamin C dan E vitamin E (a-tocopherol) dan unsur imunostimulan lainnya seperti Glukan, Lipopolisakarida, dll.; dimana materi biologis tersebut telah terbukti dapat meningkatkan daya tahan tubuh ikan terutama sistem pertahanan non-spesifik (cellular immunity). Unsur-unsur imunostimulan tersebut telah terbukti sangat potensial sebagai unsur yang

memiliki pengaruh sangat baik (immunomodulatory) terhadap sistem kekebalan tubuh ikan apabila diberikan pada dosis yang tepat dan berkelanjutan. Kandungan unsur karotin dalam diet pakan ikan juga menunjukkan pengaruh yang baik terhadap status kesehatan ikan, terutama ikan-ikan berpigmen.

6. Immunomodulator

Seperti halnya mikro-nutrient, beberapa unsur yang bersifat immunostimulator seperti vitamin C dan E vitamin E (a-tocopherol) dan unsur imunostimulan lainnya seperti Glukan, Lipopolisakarida, muramil peptida, lipopolisakarida, juga telah terbukti sangat bermanfaat sebagai unsur immunomodulator; terutama sistem pertahanan non-spesifik.

2.2. Koi Herpes Virus (KHV)

Koi Herpes Virus (KHV) merupakan penyakit virus yang menyerang Pada ikan mas. KHV menyerang pada ikan mas konsumsi maupun ikan koi (*Cyprinus carpio*) sehingga ikan tersebut dikenal sebagai target inang spesifik KHV atau *specific host target*. KHV adalah virus yang dapat menyebabkan kerusakan insang yang diawali dengan memucatnya warna insang pada lembaran-lembaran insang. Insang tampak seperti berlumpur dan ada yang sampai membusuk, kadang-kadang diikuti geripis di pinggir insang. Biasanya kondisi ini diikuti dengan infeksi sekunder bakterial seperti kulit melepuh maupun luka borok di permukaan tubuh, kadang-kadang disertai pendarahan pada sirip/badan. Setelah dilakukan pembedahan maka tampak pada organ dalam seperti hati, limpa dan ginjal mengalami perubahan warna atau rusak. Gejala klinis lain yaitu nafsu makan berkurang selain gerakan ikan yang menjadi lambat dan sering muncul di permukaan air dalam keadaan megap-megap (Edwin Lutfi, 2018).

2.2.1. Morfologi Virus

Dalam tulisannya E. Liviawaty. (1992), menyatakan virus adalah mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit dengan ukuran tubuh antara 25-300 nanometer, sehingga hanya dapat di lihat dengan menggunakan mikroskop elektron. Virus tidak mempunyai perlengkapan metabolik sendiri dan tidak mampu membangkitkan energi atau mensintetis protein, sehingga kebutuhan

pakan untuk memperbanyak diri sangat bergantung pada inangnya. Pada saat itulah virus menyebabkan kerusakan ataupun penyakit pada inangnya .

Usaha untuk bereproduksi dimulai dengan masuknya virus ke dalam sel inang. Pada saat itu, asam nukleat dari virus (RNA atau DNA) akan mengendalikan organ pencernaan dari sel inang untuk segera memproduksi asam nukleat yang dibutuhkan. Selain itu, virus juga akan memerintahkan pembentukan protein baru (capsid) yang berguna untuk membungkus asam nukleat sekaligus sebagai pembunuh organisme lain (Sukenda dan M.Yuhana. 2009).

Selain itu Subyakto Slamet, *et.al.* (2009), juga menjelaskan virus dapat menular ke inang lain melalui lingkungan atau media lain dalam bentuk paket-paket gen berukuran mikro. Virus tersusun atas bahan genetis berupa DNA atau RNA saja dan bukan kedua-duanya, yang terkemas kedalam selubung protein, sehingga bahan genetis tersebut terlindung ketika berada di luar inang sekaligus sebagai media untuk masuk ke dalam sel inang yang baru.

Dalam Taslihan A., *et.al.*(2013) virus mempunyai sifat serta ciri yang berbeda dengan *mikroorganisme* bersel tunggal. Ciri-ciri virus antara lain sebagai berikut:

1. Berukuran ultra *mikroskopis*.
2. Parasit sejati/*parasit obligat*.
3. Berbentuk oval, bulat, batang, huruf T, kumparan.
4. *Kapsid* tersusun dari protein yang berisi DNA saja atau RNA.
5. Dapat dikristalkan.
6. Aktivasnya harus di sel makhluk hidup.

Virus paling sederhana terdiri dari molekul asam *nukleat* tunggal yang dibungkus oleh selubung protein (*kapsid*). Kapsid disusun oleh *kapsomer* – *kapsomer* yang satu sama lain terikat melalui ikatan *nonkovalen* membentuk kesimetrisan. Untuk mengetahui struktur virus secara umum dapat dengan menggunakan *bakteriophage* (virus T), strukturnya terdiri dari:

1. Kepala

Kepala virus berisi DNA dan bagian luarnya diselubungi *kapsid*. Satu unit protein yang menyusun *kapsid* disebut *kapsomer*.

2. *Kapsid*

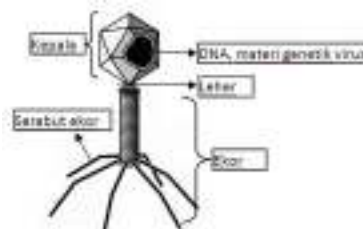
Kapsid adalah selubung yang berupa protein. *Kapsid* terdiri atas *kapsomer*. *Kapsid* juga dapat terdiri atas protein *monomer* yang terdiri dari rantai *polipeptida*. Fungsi *kapsid* untuk memberi bentuk virus sekaligus sebagai pelindung virus dari kondisi lingkungan yang merugikan virus.

3. Isi tubuh

Bagian isi tersusun atas asam inti, yakni DNA saja atau RNA saja. Bagian isi disebut sebagai *virion*. DNA atau RNA merupakan materi genetik yang berisi kode-kode pembawa sifat virus. Berdasarkan isi yang dikandungnya, virus dapat dibedakan menjadi virus DNA (virus T, virus cacar) dan virus RNA (virus *influenza*, HIV, H5N1). Selain itu di dalam isi virus terdapat beberapa enzim.

4. Ekor

Ekor virus merupakan alat untuk menempel pada inangnya. Ekor virus terdiri atas tubus bersumbat yang dilengkapi benang atau serabut. Virus yang menginfeksi sel *eukariotik* tidak mempunyai ekor.



Gambar 2.2.1. Morfologi virus Sumber: <http://pustaka.pandani.web.id>

2.2.2. Virulensi Penyakit KHV

Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) telah di diagnose pada ikan mas seperti halnya infeksi virus herpes lainnya, KHV di yakini berada dalam tubuh ikan mas yang terinfeksi, sehingga untuk kelangsungan hidupnya ikan mas tersebut berpotensi sebagai carrier virus. Amri dan Khairumam (2002) mengatakan bahwa ikan koi (*Cyprinus carpio*) lebih mudah terserang penyakit yang disebabkan oleh kondisi lingkungan hidup yang tidak stabil dan kondisi daya tahan tubuh ikan yang menurun. Serangan KHV dapat menyebar dengan beberapa cara seperti halnya herpes virus lainnya. Penyebaran dapat terjadi karena kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi.

Gejala klinis dari KHV adalah pergerakan bernafas dipermukaan, nekrosis insang, mata masuk ke dalam, dan sekresi mucus meningkat. Ikan yang terinfeksi kehilangan nafsu makan dan menunjukkan gerakan berenang yang tidak seimbang. Insang berwarna pucat serta membengkak sedangkan epitel kulit terkelupas serta terlihat lepuh pada kulit.



Gambar 2.2.2. Ciri ciri ikan mas terinfeksi KHV

(Donna Oc, Buku Saku Penyakit Ikan; milis-ipkani@googlegroups.com)

2.3. Metoda PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Berdasarkan data OIE (2003), teknik PCR dalam Dr.Kary Mullis (1985) dan mendapatkan hadiah nobel atas temuannya pada tahun 1993. System kerja mesin PCR dimaksudkan untuk memperjelas bagian dari DNA mikroorganisma patogen sehingga dapat mendiagnosa penyebab penyakit secara akurat sedini mungkin.

Polymerase Chain Reaction (PCR) atau reaksi berantai polimerase, merupakan perbanyakan untai DNA panjang tertentu secara *in vitro* menggunakan enzim polimerase. Reaksi memperbanyak DNA secara *in vitro* dengan memanfaatkan cara replikasi DNA dengan bantuan enzim DNA polimerase dan perubahan sifat fisik DNA terhadap suhu.

Menurut *Pelczar* dalam Hadioetomo (1993), DNA merupakan substansi dasar yang membawa informasi genetik yang akan menentukan fenotipe suatu organisme. Melalui PCR (*Polymerase Chain Reaction*), DNA akan dapat diperbanyak secara *in vitro* dengan bantuan enzim polimerase. Sebelum PCR dilakukan, terlebih dahulu harus dilakukan ekstraksi DNA dari genom sel. Sel

yang digunakan tersebut diantaranya dapat berasal dari hati, otot, sirip, darah, dan kaki renang.

Semua bagian tubuh ikan dapat dipergunakan sebagai sampel dalam uji PCR kecuali bagian yang keras (cangkang/rostrum) serta hepatopancreas karena disini merupakan organ yang kaya akan enzim sehingga dapat merusak DNA virus pada saat proses ekstraksi.

2.3.1. Prinsip Kerja PCR Konvensional

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan salah satu metode untuk mengidentifikasi penyakit infeksi. Teknik PCR didasarkan pada amplifikasi fragmen DNA spesifik di mana terjadi penggandaan jumlah molekul DNA pada setiap siklusnya secara eksponensial dalam waktu yang relatif singkat. Proses ini dapat dikelompokkan dalam tiga tahap berurutan yaitu denaturasi templat, annealing (penempelan) pasangan primer pada untai DNA target dan extension (pemanjangan atau polimerisasi), sehingga diperoleh amplifikasi DNA antara 10⁸ – 10⁹ kali (Kordi K. 2009).

Sampel yang di uji PCR sebaiknya dalam kondisi segar, tetapi bila tidak memungkinkan sampel dapat disimpan dalam larutan alkohol 96 % (absolut) hal ini bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan DNA / RNA.

Menurut BUSKIPM (2013), secara umum uji PCR di laboratorium dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

A. Ekstraksi DNA/RNA

DNA dari sel-sel sampel diekstraksi dengan larutan lysis buffer. Lysis buffer juga berfungsi untuk mengamankan hasil ekstraksi dari kerusakan akibat kerja enzim dNase. Hasil ekstraksi DNA di-sentrifus hingga diperoleh butiran atau pelet DNA. Sementara untuk mengekstraksi RNA digunakan RNA extraction solution. RNA extraction solution juga berfungsi mengamankan RNA dari kerusakan akibat kerja enzim-rNase (Pranawaty, et.al. 2012).

Sesuai dengan acuan yaitu IKM/5.4.5/SKI-SPO(IQ 2000TM-KHV) , setiap sampel yang berbeda memiliki tingkat konsentrasi DNA yang berbeda, dengan mengetahui asal sampel dapat ditentukan volume ddH₂O atau TE buffer yang

diperlukan untuk mengencerkan pellet. Untuk organ insang diperlukan pengambilan sampel uji sebanyak 200 μ l.

B. Amplifikasi

Buwono (2014) menjelaskan hasil ekstraksi DNA pada tahap pertama digandakan dengan bantuan enzim-enzim yang disebut sebagai primer. Satu jenis primer bertanggung jawab atas penggandaan satu jenis DNA tertentu sehingga primer satu jenis virus hanya dapat digunakan untuk deteksi virus tersebut saja. Proses penggandaan ini dikenal sebagai proses amplifikasi. Proses tersebut dilakukan pada kondisi suhu dan siklus penggandaan tertentu, yang dapat diatur pada mesin PCR (thermocycle). Proses ini disebut dengan reaksi rantai polimerase (polymerase chain reaction, PCR) karena merupakan siklus penggandaan yang berulang sehingga kegiatan ini seolah-olah merupakan suatu proses reaksi berantai.

C. Elektroforesis Gel Agarose

Hasil uji PCR selanjutnya digunakan pada tahap ketiga, yaitu proses elektroforesis. Dengan bantuan buffer TAE atau TBE, DNA yang telah diklon pada tahap kedua dimasukkan ke dalam lubang-lubang kecil yang terdapat pada lempengan agar agarose 2%. Hasil proses elektroforesis akan menampilkan pita-pita DNA yang letaknya tersebar, tergantung pada berat molekulnya. Pita-pita DNA kemudian dibandingkan dengan posisi pita-pita pada lajur penanda DNA (DNA marker). Dari hasil proses elektroforesis ini dapat disimpulkan status sampel, terinfeksi virus atau bebas dari virus (Genereach Biotechnology Corp. 2013).

Keberhasilan pengujian sampel dengan metode PCR dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti faktor kontaminasi silang, umur reagen atau enzim yang dipakai, jumlah enzim yang dipakai, ketelitian saat poses ekstraksi, serta kondisi larutan buffer dan larutan etidium bromida yang dipakai. Agar kontaminasi silang dapat dihindarkan, sebaiknya operator pengujian PCR harus benar-benar terlatih dan teliti .

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu Dan Tempat

Penelitian ini dilakukan tahun 2019, bertempat di Laboratorium SKIPM Pontianak, Jalan Arteri Supadio KM.18 kabupaten Kubu Raya dengan lama penelitian 6 bulan dari bulan Januari sampai dengan Juni 2019.

3.2. Alat Dan Bahan

Alat dan bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini dengan metode PCR (Polymerase chain Reaction) Adalah:

A. Bahan :

1. Reagen ekstraksi DNA : *simpan sesuai petunjuk pada label
KIT Extraction DNA (200 reaksi/kit), terdiri dari
 - DTAB solution 125ml/btl simpan disuhu ruang
 - CTAB solution 25ml/btl simpan disuhu ruang
 - Dissolving solution 30ml/btl simpan disuhu 4⁰CLysis Buffer (200 reaksi/kit): 100ml/btl simpan disuhu ruang
2. KHV Amplifikasi Kit (200 reaksi/kit) : simpan disuhu -20⁰C First PCR PreMix 4 vials 450µl/vial, termasuk buffer, dNTPs, dan primer spesifik KHV Nested PCR PreMix 4 vials 840 µl/vial, termasuk buffer, dNTPs, dan primer spesifik KHV P(+) standard 1vial100µl/vial, 10⁴ copies/µl. (mengandung KHV DNA Plasmid standard) Yeast tRNA 1 vial 500 µl/vial, 40ng/µl Iqzyme DNA Polymerase 1vial 2U/µl, 360µl/vial 6x Loading dye 1 vial 1500 µl/vial DNA Marker 1 vial 100µl/vial, (848 bp, 630 bp & 333 bp)
3. Sampel Ikan ikan mas yang berasal dari lalulintas produk perikanan di wilayah kerja SKIPM Kelas I Pontianak
4. TAE buffer yang berfungsi sebagai cairan elektrolit yang mengantarkan listrik dalam proses elektroforesis
5. Agarose yaitu media dasar berupa agar yang berfungsi menjadi buffer/ media dalam peletakan pita DNA sampel dan control.
6. Larutan EtBr dan SYBR Green

B. Alat:

Sesuai dengan acuan yaitu IQ-2000TM – KHV, peralatan yang digunakan adalah:

1. Thermal cycler dengan ukuran block sampel untuk tube 0,2ml
2. Microcentrifuge (12000 rpm, d=5 to 8cm)
3. Kotak Electrophoresis berfungsi sebagai wadah penyimpanan agarose
4. UV transilluminator Sebagai alat visualisasi hasil elektroforesis
5. Vortex mixer sebagai alat untuk menghomogenkan sampel
6. Heating block yaitu kotak pemanas untuk elektroforesis
7. Micropipette sebagai alat untuk mengambil reagen maupun sampel
8. Kamera polaroid digital berfungsi sebagai alat perekam data

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan time series menggunakan deret waktu selama 6 (enam) bulan serta tidak dapat dipilih secara random. Jenis ini juga sering kali disebut sebagai post-hoc research yang berarti bahwa peneliti dapat melihat efek yang terjadi dari sebuah variabel setelah kejadian tertentu (Salkind, 2006:234). Sampel yang di gunakan yaitu sampel ikan mas pemantauan, yang dilalulintaskan serta rujukan di SKIPM Pontianak selama 6 (enam) bulan dari bulan Januari hingga Juni 2019. Pengambilan sampel uji di ambil secara lethal sampling sebagaimana pada table 3.3 berikut :

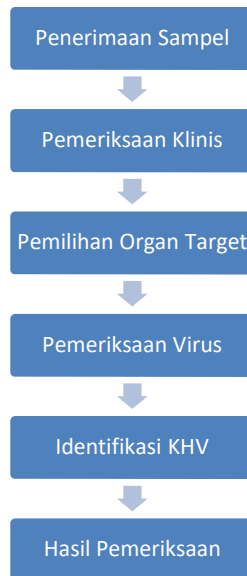
Tabel 3.3. Jumlah ikan mas yang diambil secara *lethal sampling*.

No.	Asal Sampel	Jumlah Sampel Uji
1.	Pemantauan	20%
2.	Lalulintas	5%
3.	Rujukan	5%

Sumber : Laporan Lalu Lintas SKIPM Kelas I Pontianak (2018)

3.4. Prosedur Penelitian

Sesuai dengan pedoman standar pemeriksaan laboratorium SKIPM Kelas I Pontianak, ada beberapa tahapan yang dilakukan dalam proses identifikasi virus. KHV, sebagaimana dapat dilihat pada gambar 3.4



Gambar 3.4. Diagram Alir Prosedur Identifikasi Virus KHV

3.4.1. Penerimaan Sampel

Sampel ikan yang diterima di laboratorium berasal dari sampel media pemantauan Hama dan Penyakit Ikan Karantina (HPIK) yang dilakukan SKIPM Pontianak pada bulan Januari sampai dengan Juni 2019. Selain itu sampel juga yang berasal dari media pembawa yang dilalulintaskan yang keluar dari wilayah Pontianak serta sampel rujukan dari petani ikan mas dan BBI (Balai Benih Ikan). Berdasarkan surat Keputusan Nomor 367/Kep-Bkipm/2014, sampel atau media yang akan dilalulintaskan diambil secara *lethal sampling*, artinya pemeriksaan sampel dapat dilakukan walaupun menyebabkan kematian pada sampel tersebut. Jika tidak ada data pemantauan maka digunakan metode ukuran contoh berdasarkan prevalensi sebesar 20% atau paling sedikit 5 % dari jumlah populasi yang terdapat dari sampel yang di lalulintaskan.

3.4.2. Preparasi sampel

Sampel ikan yang diterima terlebih dahulu dicuci dengan air bersih. Sampel yang berjumlah lebih dari satu harus dihomogenkan kemudian sampel disiapkan sesuai dengan organ target yang akan diperiksa, dengan prosedur sampel insang diambil secara utuh dari beberapa sampel dengan kode sampel yang sama, cacah kasar dengan pisau sekali pakai kemudian pindahkan ke dalam tube. Keputusan KEP- BKIPM Nomor 367 (2014).

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Gejala Klinis

Gejala Klinis Ikan Mas yang Terinfeksi KHV pada bagian insang ikan terjadi necrosis. Posisi ikan miring saat diam atau bahkan terbaring di dasar wadah. Selalu diam disudut wadah Berenang tidak stabil/miring. Sering kepermukaan atau kesumber oksigen/aerasi. Kadangkala diam dengan kondisi vertical pada posisi kepala diatas dan bagian caudal dibawah. Pada kondisi tertentu ikan akan tampak berenang mundur. Awal infeksi akut akan menunjukkan ikan membuka tutup mulut dengan cepat. Sirip punggung tertutup, mata cekung ke dalam dan memutih. Terjadi geripis pada bagian sirip caudal, pendarahan (septicemia) pada bagian pinggir tutup insang dan mulut terdapat luka pada tutup insang. Saat dipegang tampak lemas dan tidak berontak. Inilah gambaran kondisi dari gejala klinis pada ikan mas yang terserang KHV yang ditemukan pada pemantauan HPIK (Ardana Kurniaji, S.Pi 2015).

3.5.2. Pemeriksaan Organ Insang

Untuk identifikasi virus KHV pada ikan mas organ target yang diambil berupa insang pada ikan mas. Di ambilnya insang dikarenakan spesifik KHV menyerang pada insang ikan atau inang, sehingga ikan tersebut dikenal sebagai target inang spesifik KHV atau *specific host* target (Balai Riset Budidaya Ikan Hias)

Usaha isolasi virus dari otak, mata, limfa, hati, jantung, dan usus pernah dilakukan dan belum berhasil menunjukkan CPE, untuk itu dilakukanlah isolasi dengan menggunakan insang ikan karena organ target ini memiliki konsentrasi virus yang sangat tinggi. Keberhasilan isolasi virus dari jaringan organ insang ini, disebabkan konsentrasi virus di insang, dikatakan sangat tinggi yaitu 10^8 - 10^9 virus per 10^6 sel ikan (Gilad et al., 2004).

3.5.3. Identifikasi KHV Dengan Metode PCR

Prosedur identifikasi virus KHV pada ikan mas dengan PCR konvensional melalui tiga tahapan kegiatan, yaitu:

A. Ekstraksi

Ekstraksi ialah pemisahan DNA sampel dengan lemak agar mendapatkan DNA dari inang atau sampel ikan. DNA dari sel-sel sampel diekstraksi dengan larutan lysis buffer. Lysis buffer juga berfungsi untuk mengamankan hasil ekstraksi dari kerusakan akibat kerja enzim dNase. Hasil ekstraksi DNA di-sentrifus hingga diperoleh butiran atau pelet DNA. Sementara untuk mengekstraksi RNA digunakan RNA extraction solution. RNA extraction solution juga berfungsi mengamankan RNA dari kerusakan akibat kerja enzim-rNase (Pranawaty, et.al. 2012).

B. Amplifikasi

Proses amplifikasi bertujuan untuk memisahkan DNA ikan atau sampel dengan DNA virus, karena DNA virus itu adanya di dalam inang atau sampel ikan. Proses ini dilakukan secara bertahap dengan menggunakan enzim enzim yang disebut primer. Satu jenis primer bertanggung jawab atas penggandaan satu jenis DNA tertentu sehingga primer satu jenis virus hanya dapat digunakan untuk deteksi virus tersebut saja. Proses tersebut dilakukan pada kondisi suhu dan siklus penggandaan tertentu, yang dapat diatur pada mesin PCR (thermocycle). Proses ini disebut dengan reaksi rantai polimerase (polymerase chain reaction, PCR) karena merupakan siklus penggandaan yang berulang sehingga kegiatan ini seolah-olah merupakan suatu proses reaksi berantai.

C. Elektroforesis

Elektroforesis bertujuan untuk mengetahui sejauh mana molekul virus dapat berpindah dengan menggunakan bantuan kalor. Proses ini menggunakan bantuan medan listrik dialirkan pada suatu medium yang mengandung sampel yang akan dipisahkan.

3.5.4. Tingkat Prevalensi Serangan Virus

Prevalensi serangan virus KHV biasanya dapat dihubungkan dengan gangguan atau kondisi tertentu pada suatu tempo waktu dengan besar populasi atau sampel yang diambil dari beberapa titik. Dengan kata lain Prevalensi adalah konsep statistik yang mengacu pada jumlah kasus serangan penyakit yang hadir dalam populasi tertentu pada waktu tertentu, sedangkan insiden mengacu pada jumlah kasus baru yang berkembang dalam periode waktu tertentu (Ashkan Faeza).

Tingkat intensitas dan prevelensi mengacu kepada William and Bunkley (1996).

$$\text{Prevalensi (\%)} = \frac{\sum \text{ikan yang terserang virus}}{\sum \text{ikan yang diperiksa}} \times 100$$

3.5.5. Analisa Kualitas Air

Kondisi air sebagai media hidup ikan dan udang, harus disesuaikan dengan kondisi optimal untuk ikan atau udang yang dipelihara. Kualitas air tersebut meliputi kualitas fisika dan kimia. Faktor fisika misalnya suhu, kecerahan dan kedalaman. Faktor kimia diantaranya pH, DO dan NH₃ (Farid Mudlofar, dkk 2013).

3.5.6. Analisis data

Analisa data menggunakan analisis metode deskriptif yaitu metode dimana setelah data dikumpulkan kemudian data tersebut diklasifikasikan, dianalisis dan diinterpretasikan secara akurat sehingga diperoleh suatu data yang baik. Adapun data - data yang akan diamati dan dianalisis pada penelitian ini adalah data primer maupun data sekunder.

IV. HASIL DAN PEMBAHASANAN

Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian mengenai identifikasi dan prevalensi virus KHV dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) di dapatkan beberapa virus KHV yang menunjukkan hasil positif. Dapat dilihat pada hasil dan pembahasan pada perhitungan prevalensi

4.1. Gejala Klinis

Parameter umum penentu ikan dalam keadaan sakit/ sehat adalah tingkah laku ikan (cara berenang, cara makan), dan abnormalitas tubuh (warna, bentuk, produksi lender dan tubuh). Pengambilan keputusan ikan sehat/ sakit atau terserang penyakit dapat diperhatikan melalui gejala atau tanda karakteristik baik dari kelainan luar maupun organ dalamnya. Keputusan yang diambil harus secermat mungkin, baik secara individu maupun kelompok ikan (Sunarto, 2005.)

Gejala Klinis Ikan Mas yang didapatkan pada saat pemantauan HPI/HPIK menunjukkan gejala klinis seperti yang dijelaskan Kurniaji (2015). Pada saat pemantauan ditemukan beberapa ikan mas yang mengalami luka borok (ulcer) yang tertera pada gambar B. Pada luka tersebut terjadi kerusakan yang hampir sama dengan gejala klinis KHV, menurut keterangan dari petani ikan mas maupun pembudidaya lainnya di dapatkan bahwa biasanya luka tersebut dikarenakan gesekan atau benturan ikan terjadi pada saat ikan mas diberikan pakan.

Yosha (2003) juga mendapatkan bahwa virus KHV merusak sel epitel koi khususnya kulit dan insang. Pada sampel pemantauan juga di dapatkan ciri ciri seperti yang di jelaskan yosha (2003), bahwa kulit dan insang ikan mas mengalami kerusakan yang hampir seperti gejala klinis ikan mas yang terserang virus KHV. Dari kemungkinan kemungkinan ini, diambillah beberapa sampel ikan mas untuk uji lebih lanjut guna memastikan kebenaran serangan virus KHV. Secara umum, mekanisme serangan virus KHV melalui perairan yang mengalir dan melalui inang atau ikan mas yang telah lebih dahulu terserang. Serangan terjadi disaat kondisi iklim yang berubah ubah serta tidak stabil dan menyebabkan penurunan suhu, berkurangnya kadar oksigen dan membuat daya tahan tubuh ikan menurun.



Gambar 4.1 Salah Satu Sampel Ikan Mas Penelitian

A: Ikan Yang Normal (Sehat), B: Ikan Yang Terindikasi.

Inilah gambaran kondisi dari gejala klinis pada ikan mas yang terserang KHV yang ditemukan pada saat penelitian. Meskipun demikian gejala klinis yang ditemukan, masih perlu dilakukan uji lanjut guna memastikan apakah benar benar ikan mas tersebut positif KHV atau hanya luka biasa karena faktor lain yang terjadi pada saat pemeliharaan.

Begitu juga halnya dengan sampel ikan mas yang dirujukan, hampir sama seperti ikan mas saat pemantauan yang menunjukkan gejala klinis seperti luka pada bagian tubuh, luka pada bagian insang yang menunjukkan gejala klinis terserang KHV. Keadaan yang terjadi pada sampel ikan mas jurukan ini juga sesuai laporan oleh Yosha (2004) yang menyatakan bahwa ikan yang terserang KHV mempunyai 4 (empat) kemungkinan yaitu: a) tidak terinfeksi karena adanya kekebalan alami (natural immune), b) terinfeksi dan mati, c). terkena infeksi tetapi tetap bertahan hidup (survive) dan virus tersingkir (tereliminir), d) terinfeksi dan menjadi pembawa (carrier) penyakit. Hanya saja untuk menyimpulkan langsung ikan tersebut terserang KHV masih perlu uji lanjut guna mendapatkan hasil yang lebih akurat. Beda halnya pada ikan mas yang dilalulintaskan, kondisi ikan mas yang dilalulintaskan pada umumnya tampak sehat dan tidak menunjukkan sama sekali gejala klinis ikan mas yang terserang KHV. Tapi untuk mengikuti peraturan baku bahwa lalulintas ikan mas perlu di lakukan pemeriksaan HPI/HPIK (Laboratorium), untuk itu dilakukanlah pemeriksaan KHV untuk deteksi penyebaran agar terjaminnya komoditi yang dilalulintaskan yang berada di Pontianak khususnya.

Dari hasil sampel pemantauan HPIK, rujukan serta sampel lalulintas yang di dapatkan, gejala klinis pada penjelasan Ardana Kurniaji (2015) sedikit sekali kesamaan. Meskipun demikian, SKIPM Kelas I Pontianak tetap mengambil sampel dan melakukan pemeriksaan HPIK guna pendeteksian dini terhadap HPIK yang sudah tersebar maupun yang belum tersebar.

4.2. Pemeriksaan Organ Insang

Untuk identifikasi virus KHV pada ikan mas penelitian, organ target yang diambil berupa insang. Di ambilnya insang dikarenakan spesifik KHV menyerang pada insang ikan atau inang, sehingga ikan tersebut dikenal sebagai target inang spesifik KHV atau *specific host target* (Balai Riset Budidaya Ikan Hias).

Usaha isolasi virus dari otak, mata, limfa, hati, jantung, dan usus pernah dilakukan dan belum berhasil menunjukkan CPE, untuk itu dilakukanlah isolasi dengan menggunakan insang ikan karena organ target ini memiliki konsentrasi virus yang sangat tinggi. Keberhasilan isolasi virus dari jaringan organ insang ini, disebabkan konsentrasi virus di insang, dikatakan sangat tinggi yaitu 10^8 - 10^9 virus per 10^6 sel ikan (Gilad et al., 2004).



Gambar 4.2. Insang Ikan Yang Terserang KHV (Salah Satu Sampel Penelitian)

Pada gambar 4.2, dapat dilihat perbedaan insang ikan mas yang sehat dan yang terindikasi terserang virus KHV, pada gambar B terlihat bagian insang ikan mas terjadi necrosis atau kerusakan pada insang ditandai dengan kesulitan menghirup udara dan kondisi lemah.. KHV yang menyerang ikan mas menyebabkan kerusakan insang yang diawali dengan memucatnya warna insang pada lembaran-lembaran insang. Insang tampak seperti berlumpur dan ada yang sampai membusuk, kadang-

kadang diikuti geripis di pinggir insang. Biasanya kondisi ini diikuti dengan infeksi sekunder bakterial seperti kulit melepuh maupun luka borok di permukaan tubuh, kadang-kadang disertai pendarahan pada sirip/badan (Lili Sholichah - Balai Riset Budidaya Ikan Hias).

Virus KHV bisa terjadi melalui kontak langsung dengan ikan yang terinfeksi KHV melalui media air, lumpur, maupun cairan dari ikan yang terinfeksi. Virus pertama kali akan menyerang kulit dan insang. Biasanya dari kerusakan insang akan terbawa oleh air bila ikan tidak segera di buang ke darat dan akan menjadi agen pembawa virus (Petty dan Fraser 2005; St. Hilaire *et al.*, 2005; Eide *et al.* 2011).

4.3. Identifikasi KHV

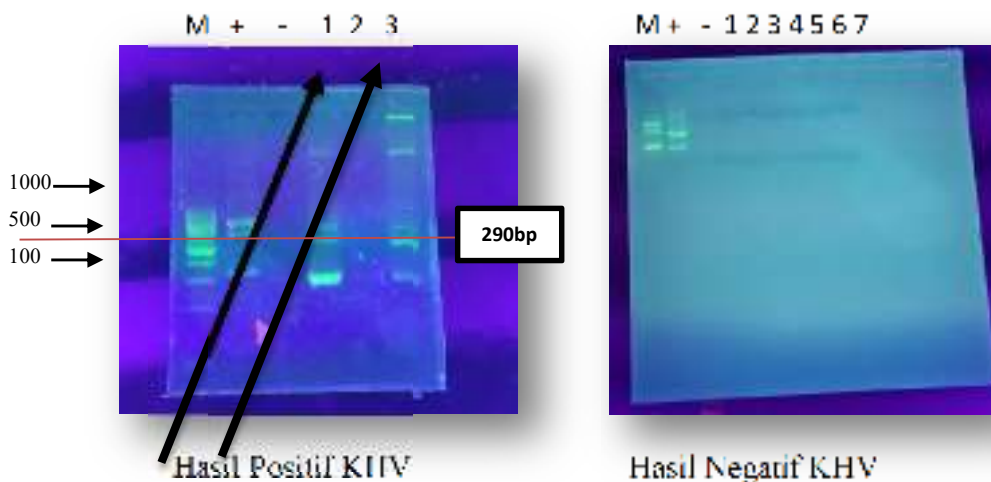
Koi Herpes Virus (KHV) atau yang dikenal juga dengan Cyprinid Herpes Virus 3 (CyHV-3) adalah jenis virus yang menginfeksi ikan mas dan dapat menyebabkan kematian massal (Hedrick *et al.*, 2008). Hasil deteksi pertama kali di Israel pada tahun 1998 dan selanjutnya di Amerika, wabah KHV dilaporkan telah tersebar di berbagai wilayah seluruh dunia. KHV masuk ke Indonesia pada tahun 2002 melalui perdagangan ikan lintas negara (Hedrick *et al.*, 2008).

Virus KHV yang di identifikasi dengan metode ini, yaitu deteksi menggunakan konvensional PCR diperoleh hasil tidak terdeteksi adanya infeksi KHV atau hasil yang diperoleh negative KHV pada bulan januari, februari, maret, april dan ditemukan positif 3 sampel yang positif KHV pada bulan mei dan 1 sampel yang positif KHV pada bulan juni seperti yang terlihat pada table.4.3

TABEL 4.3. HASIL UJI KHV JAN-JUNI 2019

No	Bulan	JUMLAH SAMPEL	Hasil Identifikasi	
			+	-
1	JANUARI	5	0	5
2	FEBRUARI	7	0	7
3	MARET	5	0	5
4	APRIL	5	0	5
5	MEI	10	3	7
6	JUNI	7	1	6

Menurut Warsito, et al. 2013 mengungkapkan bahwa identifikasi KHV berdasarkan isolasi virus dan uji PCR. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mengidentifikasi penyakit KHV dengan metode PCR sebagai bagian dari usaha pencegahan penyakit KHV pada SKIPM Kelas I Pontianak. Identifikasi KHV pada penelitian dengan menggunakan metode PCR ini juga dapat dilihat pada Gambar 4.3. Hasil pemeriksaan yang dianalisis dengan menggunakan gel agarose, divisualisasikan dengan UV pada gambar 4.3 adalah salah satu dari sampel yang menunjukkan hasil positif dan negatif KHV sebagai perbandingan untuk mengetahui sampel yang terserang KHV positif dan sampel yang negatif KHV.



Gambar 4.3 . Salah Satu Hasil Deteksi KHV menggunakan metode PCR

Pada gambar 4.3 dapat di lihat hasil positif yang di tunjukkan pada panah di nomor sampel 1 dan sampel 3. Ditunjukkan hasil positif, karena hasil sampel memperlihatkan garis sejajar dengan control positif (+) dan marker (M) yang berada di sebelah kiri sampel dengan 290bp. Sedangkan untuk gambar hasil negative KHV, pada sampel tidak menunjukkan garis sejajar dengan control positif (+) dan marker (M) sama sekali.

Hasil dari pengujian KHV dengan metode PCR yang menunjukkan hasil negatif pada bulan januari, februari, maret dan april, ini dikarenakan pada bulan bulan tersebut belum dilakukan pengambilan sampel pemantauan dan peralihan musim belum terjadi, sehingga tingkat stress pada ikan kurang dan pertahanan

tubuh terhadap infeksi KHV tinggi. Setelah waktu pengambilan sampel pada saat pemantauan sudah terjadi peralihan musim sehingga tingkat stress pada ikan tinggi pertahanan tubuh terhadap infeksi KHV juga menurun.

Pada umumnya kejadian infeksi penyakit terjadi pada saat peralihan musim panas ke musim penghujan, suhu air menurun dan terjadi peningkatan konsentrasi bahan organik dalam wadah pemeliharaan (kolam maupun danau). Kondisi ini menyebabkan stress yang berakibat menurunnya pertahanan tubuh terhadap penyakit pada beberapa ikan, antaranya, yaitu ikan mas. Jenis ikan ini sangat rentan terserang penyakit virus KHV. Cuaca yang tidak menentu yang disebabkan oleh perubahan iklim sebagai akibat dari pemanasan global menyebabkan musim penyebaran penyakit tidak menentu sepanjang tahun. Kondisi cuaca yang kadang-kadang hujan deras kemudian beralih menjadi sangat panas menyebabkan ikan mengalami stress. Hal ini sesuai dengan Gray et al (2002) yang mengatakan kondisi alam di Kalimantan barat yang mengalami perubahan tidak menentu dengan kondisi yang kadang kadang hujan deras kemudian beralih menjadi sangat panas.

4.4. Tingkat Prevalensi Serangan Virus

Prevalensi pada ikan mas yang diuji oleh SKIPM Pontianak dapat dilihat seperti tabel 4.4. Berdasarkan tabel tersebut maka dapat diketahui jika pada bulan mei mengalami prevalensi tertinggi dan pada bulan januari sampai dengan april mengalami prevalensi terendah. Virus KHV dapat menyerang ikan mas karena virus ini menyerang pada saat perubahan musim yang terjadi pada saat jadwal pemantauan yang dilakukan SKIPM Pontianak di bulan Mei dan Juni. Berdasarkan tabel 4.4 dapat diketahui jika pada bulan mei mengalami prevalensi tertinggi dan pada bulan januari, february, maret dan april tidak ditemukan ikan mas yang terserang virus KHV. Hal ini sesuai juga dengan Amri dan Khairumam (2002) mengatakan bahwa ikan mas lebih mudah terserang penyakit yang disebabkan oleh kondisi lingkungan hidup yang tidak stabil dan kondisi daya tahan tubuh ikan yang menurun.

TABEL 4.4. PREVALENSI SERANGAN KHV

No	Bulan	Hasil Prevalensi
1	JANUARI	0%
2	FEBRUARI	0%
3	MARET	0%
4	APRIL	0%
5	MEI	30%
6	JUNI	14,28%

Terjadinya serangan KHV yang tertinggi pada bulan mei dan juni tersebut dikarenakan terjadi perubahan musim serta membuat ikan mas mengalami stress yang membuat daya tahan tubuh menurun, serta memungkinkan KHV dapat menyerang ikan mas sehingga pada bulan mei tingkat prevalensi serangan virus KHV sangat tinggi yaitu 30% seperti pada tabel. Ikan mas yang terserang virus KHV pada bulan mei dan juni ditemukan pada saat pemantauan, karena pada bulan tersebut memang dilakukan pemantauan HPI/HPIK oleh SKIPM Kelas I Pontianak sesuai jadwal semester dimana di ambil dari beberapa titik antara lain, kota Pontianak, kabupaten kuburaya, kabupaten mempawah, kota singkawang, kabupaten ketapang. Hasil prevalensi pada bulan mei dan juni yang sangat tinggi tersebut yang menunjukkan hasil positif KHV yang hasil positif tersebut semuanya didapatkan dari sampel pemantauan HPI/HPIK yang dilakukan SKIPM Kelas I Pontianak. Dilakukannya pemantauan dan pengambilan sampel pada bulan mei dan juni dikarenakan pada bulan tersebut terjadi perubahan musim yang sangat signifikan yang dapat menyebabkan menurunnya daya tahan tubuh ikan dan dengan mudah dapat terserang penyakit khususnya virus KHV. Hal ini sesuai dengan Supriyadi, H.; Tauhid dan G. Moekti.)1997) bahwa sistem pertahanan tubuh (kekebalan) tubuh ikan khusus dapat membuat limposit menjadi peka untuk segera menyerang pathogen tertentu, karena lingkungan yang tidak sesuai dengan habitatnya.

Selain daya tahan tubuh yang menyebabkan ikan mas dapat terserang virus pada saat perubahan musim, faktor lain yang terjadi disebabkan pada perubahan musim, air yang mengalir dari hulu ke hilir juga dapat menjadi penyebab. Karena

saat musim penghujan, air yang mengalir dari hulu ke hilir telah terjadi pencemaran dari limbah penambangan liar maupun pestisida, yang menyebabkan tidak stabilnya kualitas air sehingga ikan mas mengalami stres dan sakit serta mengakibatkan menurunnya daya tahan tubuh ikan bahkan sampai menyebabkan kematian. Hal ini juga seperti yang dikatakan Wudianto, 1994 bahwa pestisida yang sering digunakan sebagai pilihan utama untuk memberantas organisme pengganggu tanaman dan mempunyai daya bunuh yang tinggi, penggunaannya mudah serta hasilnya cepat diketahui, namun bila aplikasinya kurang bijaksana dapat membawa dampak pada pengguna, hama non sasaran, maupun lingkungan yang sangat berbahaya (Wudianto, 1994).

4.5. Penyebaran Serangan

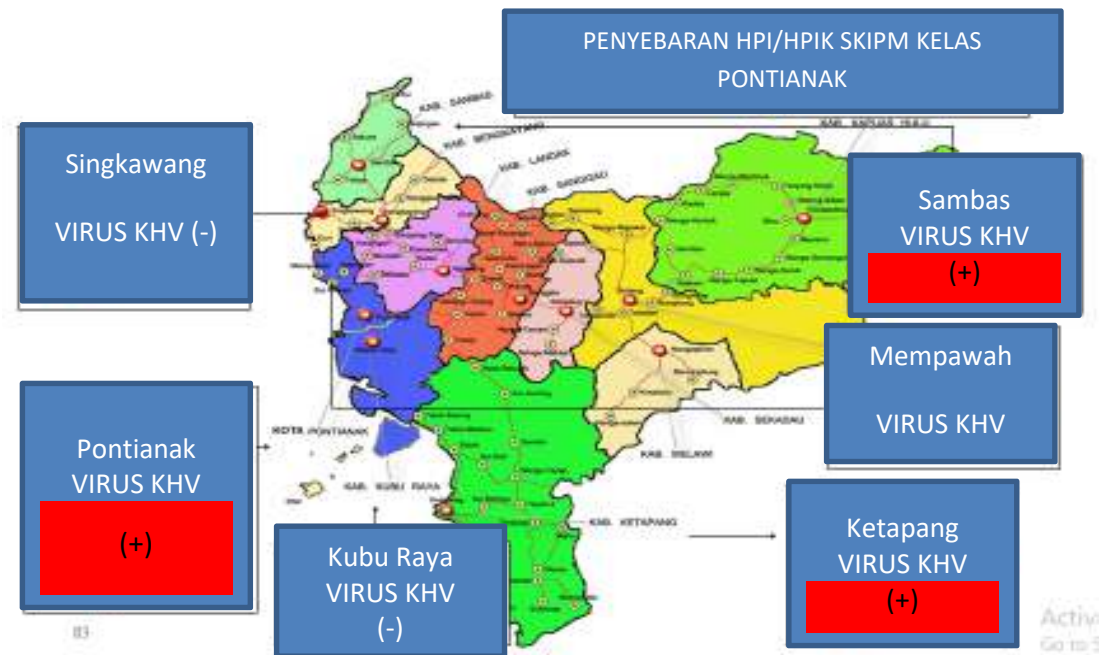
Data penyebaran KHV SKIPM Pontianak terdapat di sejumlah titik pada setiap daerah. Beberapa titik tersebut antara lain Kota Pontianak, Kabupaten Kubu Raya, Mempawah, Singkawang, Sambas dan Ketapang yang salah satu dari titik titik tersebut di temukan sejumlah kasus KHV. Dari masing masing titik sebaran serangan KHV, di ambil sampel guna mendeteksi serangan KHV secara dini. Dapat kita lihat tabel 4.5. penyebaran serangan KHV di beberapa titik yang telah di petakan oleh SKIPM Pontianak.

Tabel 4.5. Penyebaran KHV

No	Asal Sampel	Keterangan
1	Kota Pontianak	KHV +
2	Kab.Kubu Raya	KHV -
3	Mempawah	KHV -
4	Singkawang	KHV -
5	Sambas	KHV +
6	Ketapang	KHV +

Kemudian peta sebar pada gambar 4.5 menunjukkan serangan virus yang terdapat di beberapa wilayah yang terserang dan menginfeksi di beberapa pembudidaya ikan di Provinsi Kalimantan Barat (Laporan lalulintas, rujukan dan pemantauan SKIPM Pontianak 2019). Peta sebar ini sekaligus menunjukkan pengambilan sampel uji untuk pemeriksaan virus KHV saat penelitian yang

dilakukan. Beberapa wilayah yang pernah positif KHV terpetakan dengan kotak merah agar mudah untuk melakukan deteksi dini bila terjadi kasus kematian massal.



Gambar 4.5 Peta Sebar Penyakit Ikan (Virus KHV).

Keterangan: Pada Petak Yang Ditandai Dengan Warna Merah (+) Menunjukkan Bahwa Daerah Tersebut Positif KHV, Sedangkan Petak Yang Biru Menunjukkan Bahwa Daerah Tersebut Negatif KHV Dan Belum Pernah Terjadi Serangan Virus KHV.

4.6. Analisa Kualitas Air

Suhu dan perubahan lingkungan berperan penting dalam berkembangnya penyebaran penyakit HPIK khususnya virus. Karena pada saat turunnya suhu atau berubahnya kualitas air pada media budidaya, memberikan kesempatan HPIK atau penyakit berkembang dan menyebar dengan cara menyerang daya tahan tubuh inang atau ikan. Untuk itu guna meminimalisir tingkat penyebaran penyakit pada kan perlu memperhatikan dan menjaga kualitas air budidaya.

Kualitas air termasuk faktor yang paling menentukan dalam budidaya ikan mas. Sumber air yang baik dalam pembenihan dan pembesaran ikan mas berperan dalam

pemeliharaan ikan mas. Pada penelitian ini dibahas tentang analisa kualitas air, dan beberapa kualitas tersebut berupa suhu, oksigen terlarut serta PH. Dari nilai rata rata pemeriksaan kualitas air pada saat penelitian, dapat di lihat pada tabel 4.6

Tabel 4.6. Data Rata rata Kualitas Air Perbulan Pada Saat Penelitian

Bulan	Suhu (°C)	pH (Mg/l)	Do (Mg/l)	Amoniak (ppm)
Januari	29	8,4	6,3	0,5
Februari	28	7,9	6,0	0,5
Maret	27	7,7	6,2	0,5
April	27	7,4	6,8	0,6
Mei	24	6,3	6,5	0,9
Juni	24	6,8	6,6	0,9

Pada saat penelitian, sampel air di dapatkan langsung pada saat pemantauan HPIK di titik pengambilan sampel dan dilakukan pemeriksaan langsung agar dapat diketahui keadaan baik atau buruknya kualitas air dan langsung di informasikan kepada petani ikan atau pembudidaya. Alat yang di gunakan dalam pemeriksaan kualitas air yaitu dengan menggunakan DO meter, PH meter serta termometer. Pada bulan januari sampai dengan april kualitas air yang di periksa pada saat pemantauan HPIK menunjukkan hasil yang baik dari suhu kisaran 25-29°C, nilai tersebut dapat dikatakan optimal sesuai dengan pernyataan Herlina (2002) kualitas air yang paling berperan dalam pemeliharaan ikan mas dengan suhu air yang baik kisaran 25-29°C.

Sedangkan PH menunjukkan nilai dengan rata rata 6,3-8,4. Nilai ini dapat dinyatakan baik untuk budidaya berdasarkan pernyataan Hernowo (1995) yang menyatakan bahwa kualitas air termasuk faktor yang paling menentukan dalam budidaya ikan mas. Sumber air yang baik dalam pembenihan dan pembesaran ikan mas adalah pada suhu 25 – 30°C, oksigen terlarut (DO) di atas 3 ppm, pH 6,7 – 8,0, dan amoniak di atas 0,1 ppm seperti yang dikatakan (Hernowo, 1995).

Oksigen terlarut yang menunjukkan nilai optimal selama penelitian yaitu 6,0-6,8 sesuai dengan pernyataan Zonneveld, (1991) bahwa kandungan oksigen terlarut dalam air merupakan faktor penting bagi kehidupan ikan mas. Karena oksigen dibutuhkan dalam proses respirasi, proses pembakaran makanan untuk melakukan aktifitas, seperti aktifitas berenang, pertumbuhan, reproduksi dan lain lain serta di kuatkan dengan pernyataan Herlina (2002) bahwa kualitas air yang baik yang paling berperan dalam pemeliharaan ikan mas adalah oksigen terlarut (O_2) di atas 4 ppm, PH 6,7-8,0 dan suhu air yang baik kisaran 25-29°C serta kadar amonia diatas 0,1 ppm.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, virus KHV dapat menyerang pada ikan mas dalam keadaan dan kondisi apapun, terlebih pada keadaan ikan stres ataupun lemah. Pemeriksaan HPIK yang dilakukan oleh SKIPM Kelas I Pontianak di dapatkan hasil:

1. Pada bulan Mei dan Juni mengalami prevalensi tertinggi
2. Pada bulan Januari, Februari, Maret dan April tidak ditemukan ikan mas yang terserang virus KHV.
3. Pemeriksaan virus dari hasil sampel pemantauan, Lalu Lintas serta rujukan dilakukan dengan metode PCR. Tujuan dilakukan pemeriksaan HPIK pada SKIPM Kelas I Pontianak untuk memetakan sebaran HPIK yang berada di wilayah Kalimantan Barat khususnya di Pontianak, meningkatkan sistem informasi tentang HPIK, serta meningkatkan pengawasan lalulintas media HPI dan HPIK.
4. Hasil yang didapat pada salah satu pemeriksaan dengan menggunakan metode PCR bahwa terdapat beberapa sampel yang positif KHV yang tertera pada hasil identifikasi dengan garis 290bp. Hasil identifikasi tersebut terjadi pada prevalensi tertinggi di bulan Mei dan Juni.

5.2. Saran

Pemeriksaan secara berkala terhadap penyakit ikan terutama virus pada ikan mas pemantauan, yang dilalulintaskan maupun rujukan melalui SKIPM Kelas I Pontianak sangat penting sehingga adanya deteksi dini terhadap menyebarnya HPIK khususnya golongan virus agar tidak menyebar ke daerah lain. Perlunya kajian secara kusus untuk penanggulangan virus terhadap ikan mas yang dilalulintaskan melalui SKIPM Kelas I Pontianak.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, dan E. Liviawaty, E., 1992. Pengendalian Hama & Penyakit Ikan. Kanisius. Cetakan Pertama. 89 hal., Yogyakarta.
- Amri, K & Khairumam. 2002. Menanggulangi Penyakit Pada Ikan Mas dan Koi. PT Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Anonim, 2013, Intruksi Pemeriksaan Virus Dengan Metode PCR, Juknis PHPI, BUSKIPM, Jakarta.
- Anonim, 2013 Instruksi Manual Pemeriksaan Virus Dengan Metode PCR. Juknis PHPI. BUSKIPM. Jakarta.
- Anonim, 2007. Penyakit Ikan Karantina Golongan Bakteri. Pusat Karantina Ikan. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 66 hal.
- Anonim, 2013. Pedoman Pemantauan HPI/HPIK Pusat Karantina Ikan. PUSKARI. Jakarta.
- Anonim. 2012. IQ2000 irido instruction manual. GeneReach Biotechnology Corp. Taiwan.
- Anonim, 2009. Diagnosis Penyakit Viral. Universitas Gajahmada. Yogyakarta.
- Ardana Kurniaji, S.Pi 2015 Evaluasi Imunitas Material Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Menggunakan Vaksin DNA Anti KHV GP-25 Dengan Waktu Vaksinasi Pra-Pijah Berbeda
- [Audoyz.blogspot.com/2008_04_01 Archive.html](http://Audoyz.blogspot.com/2008_04_01_Archive.html). PCR Untuk Diagnosa Suatu Penyakit. Accesed april2008.
- Bataviase.co.id/node/10. Hasil Tes PCR. accsed (februari 2010)/ 10:00 Wib
- Beswandjarum.com/.../04. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Accesed (april 2010)/ 10:10 Wib
- Bing, D.H., Boles. C., Rehman, F.N., Audeh., M., Belmarsh, M., Kelley, B., dan Adams, C.P., 1996. Jembatan Amplifikasi System Fasasolid PCR Untuk Amplifikasi Dan Deteksi Perbedaan Alelik Dalam Salinan Gen Tunggal., *Prosiding*, Simposium Internasional Ketujuh Manusia, *Identifikasi Genetic Indentity Konferensi*.
- Burnie, David. 2008. Eyewitness Bird. New York: DK Publishing.

Defenisi Penyakit Dalam Patologi Ikan www.defishery.files.wordpress.com

David, B., 2013. *The Animal Book. A Visual Encyclopedia of Life on Earth* DK. Publish. ISBN.1465414576 (ISBN13: 9781465414571).

Edwin Lutfi. 2018 . Koi Herpes Virus Sapu Bersih Produksi Ikan Mas Di Indonesia. Balai Riset Budidaya Ikan Hias

Farid Mudlofar,dkk (2013). Analisa Usaha Pembesaran Ikan Mas (*Cyprinus Carpio*) Pada Keramba Jaring Apung Di Kelurahan Parit Mayor Kecamatan Pontianak Timur

Gilad O., Yun S., Zagmutt-Vergara FJ., Leutenegger CM., Bercovier H., Hendrick RP. 2004. Concentrations of a koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally infected *Cyprinus carpio* koi as assessed by real-time TaqMan PCR. *Dis Aqua Org* 60: 179-187.

Hadioetomo. R. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Hernowo. 2005. *Kualitas Air Pemeliharaan Ikan Air Tawar*. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Herlina. 2002. *Pembesaran Ikan Mas di kolam Air Deras*. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Khairuman. S. Dodi dan G. Bambang. 2008. *Budidaya Ikan Mas Secara Intensif*. Pt Agromedia Pustaka. Jakarta. 358 Hal.

Khairuman dan D. Sudenda. 2002. *Budidaya Ikan Mas Secara Intensif*. Agro Media Pustaka. Tangerang.

Kimball, J., 1983. *Biologi Jilid 2 Edisi kelima*, Erlangga, Jakarta.

Kordi K. 2009. *Penanggulangan Hama Dan Penyakit Ikan*. PT Rineka Cipta. Jakarta

Kary B. Mullis. 1985. *Amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Keputusan Kepala BKIPM. 2014. *Petunjuk Teknis Surveilen HPIK/ HPTT Di Unit Usaha Pembudidaya Ikan*. KKP. Nomor.367.

Lembar Informasi Pertanian (Liptan) Ip2tp Mataram. 2000. *Ikan Mas Rajadanu. Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi Pertanian Mataram No. 06/Liptan/2000*. Diterbitkan Nopember 2000 Agdex : 442. 4 Hal

- Manoppo. H., Magdalena. E.F., dan Kolopita., 2014. Respon Imun Krustase. Artikel Budidaya Perairan. Vol. 2 No. 2: 22 – 26.
- Mulyani Y., 2010. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi *Koi Herpes Virus (KHV)* Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). Jurnal Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- OIE. 2003. *Manual for Diagnostic Test Aquatic Animals*. Office International Des Epizootifs. Paris.
- PCR Station., 2009. Nested PCR. Hhtl://www.pcrstation.com/nested_pcr/accesed 26 april 2009/ 10:05 Wib
- PCR_ *Polymerase Chain Reaction*/ article.him.http://www.medicinet.coin./ 10:10 Wib
- Pelczar. M.J. dan Chan. E.S.C., 1998. Dasar-Dasar Mikrobiologi II Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pranawaty, Rina Novita, Ibnu Dwi Buwono, dan Evi Liviawaty. 2012 Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) konvensional dan Real-Time PCR untuk deteksi White Spot Syndrome Virus pada kepiting .Jurnal Perikanan Dan Kelautan Vol. 3 (4) : 61 – 74
- Santoso, A. 2011. Serat Pangan (Dietary Fiber) Dan Manfaatnya Bagi Kesehatan. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Unwidha Klaten.
- Susanti. M. N. I. 2010 Statistika Deskriptif dan Induktif . Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Supriyadi, H.; Taukhiddan G. Moekti. 1997. Sistem Kekebalan (Imunitas) pada Ikan.
- Sukenda, S. H. Dwinanti dan M. Yuhana. 2009. Keberadaan White Spot Syndrome Virus (WSSV), Taura Syndrome Virus (TSV) dan Infectious Hypodermal Haematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) Di Tambak Intensif Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* Di Bakauheni, Lampung Selatan. J. Akuakultur Indonesia Vol 8(2):1-8
- Sutarmanto, R. 1995. Pembenihan Ikan Air Tawar. Kanisius, Yogyakarta.
- Taukhid, 2010. Induksi Kekebalan Spesifik Pada Ikan Mas, *Cyprinus Carpio* Linn. Terhadap Infeksi Koi Herpesvirus (KHV) Melalui Teknik Kohabitasi Terkontrol. Universitas Padjadjaran : Bandung
- Taslihan, A., Ani. W., Retna. H. dan S.M. Astuti. 2004. Pengendalian Penyakit pada Budidaya Ikan Air Payau, Direktorat Jenderal Perikanan Balai Besar Budidaya Air Payau Jepara.

- Volk., Margaret ., Wesley dan Wheeler., 1990. *Virus Diseases*. Edisi kelima. Jilid 2. Erlangga. Jakarta.
- Thomas .D & Donald T. Campbell, 1979, *Quasi Experimentation Design & Analysis Issue for Field Settings*, Houghton Mifflin Company: Boston
- Levy,
- Williams, E. H., Jr. and L. Bunkley-Williams. 1996. Parasites of offshore big game fishes of Puerto Rico and the western Atlantic. Puerto Rico Department of Natural and Environmental Resources, San Juan, PR, and the University of Puerto Rico, Mayaguez, PR, 382 pp.
- Wudianto, R. 1994. *Petunjuk Penggunaan Pestisida*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Yosha, S. 2003. Update on Koi Herpesvirus (KHV) for the Koi Hobbyst. Insert to Koi USA magazine March/ April 2003.
- Zonneveld. 1991. *Prinsip Budidaya Ikan*. Gramedia Pustaka Nusantara, Yogyakarta.