

**IDENTIFIKASI DAN PREVALENSI KOI HERVES VIRUS PADA IKAN MAS
(*Cyprinus carpio*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE
PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)**

**IDENTIFICATION AND PREVALENCE KOI HERVES VIRUS IN *Cyprinus carpio*
USING PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION) METHOD**

Syarif Aprianto^{*1}, Rachimi² Eko Prasetio²

1. Staff SKIPM Pontianak, Jl. Arteri Supadio, Km.18, Kab.Kubu Raya

2. Staff Pengaja Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Muhammadiyah Pontianak

*Email: radiet59@gmail.com

ABSTRAK

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 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. Gejala Klinis Ikan Mas yang Terinfeksi KHV pada bagian insang ikan terjadi necrosis. Pemeriksaan virus dapat diidentifikasi dengan beberapa cara diantaranya menggunakan metode PCR (Polymerase chain reaction). 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. Pada pemeriksaan dan identifikasi KHV yang dilakukan saat penelitian antara lain pemeriksaan 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

Kata kunci : identifikasi, prevalensi, KHV, PCR

ABSTRACT

Carp (*Cyprinus carpio*) is a type of freshwater fish consumption. Carp is a freshwater fish that has important economic value and is widespread in Indonesia. In Pontianak, carp is a type of fish cage and pond culture, this fish is favored by farmers because besides being easy to grow, goldfish are resistant to changes in water quality very quickly. The virus is class one (1) HPIK (Quarantine Fish Disease) based on the fish quarantine decree no 26 of 2013. Clinical Symptoms of carp Infected by KHV on the gills of the fish occur necrosis. Virus examination can be identified in several ways including using the PCR (Polymerase chain reaction) method, also known as Cyprinid herpesvirus-3 (CyHV-3), is a virus that infects carp and koi in both aquaculture and wild environments. KHV identification carried out during the study included examination of clinical symptoms, examination of gill organs, identification of KHV, prevalence rate, spread of attacks and analysis of water quality. This is a series of KHV virus examination pathways in carp conducted at SKIPM Class I Pontianak.

Keywords: identification, prevalence, KHV, PCR.

PENDAHULUAN

Virus KHV 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 (Kurniaji, 2015).

Pemeriksaan virus dapat diidentifikasi 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).

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 permasalahan serius bagi pembudidaya ikan, sehingga identifikasi dan prevalensi KHV merupakan upaya deteksi dini yang sangat penting.

Metodologi penelitian

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.

Bahan yang digunakan adalah (a) 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 4⁰C, Lysis Buffer (200 reaksi/kit): 100ml/btl simpan disuhu ruang), (b) 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), (c) Sampel Ikan ikan mas yang berasal

dari lalulintas produk perikanan di wilayah kerja SKIPM Kelas I Pontianak, (d) TAE buffer yang berfungsi sebagai cairan elektrolit yang mengantarkan listrik dalam proses elektroforesis, (e) Agarose yaitu media dasar berupa agar yang berfungsi menjadi buffer/ media dalam peletakan pita DNA sampel dan control, (f) Larutan EtBr dan SYBR Green.

Sedangkan alat yang digunakan sesuai dengan acuan yaitu IQ-2000TM – KHV adalah (a) Thermal cycler dengan ukuran block sampel untuk tube 0,2ml, (b) Microcentrifuge (12000 rpm, d=5 to 8cm), (c) Kotak Electrophoresis berfungsi sebagai wadah penyimpanan agarose, (d) UV transilluminator Sebagai alat visualisasi hasil elektroforesis, (e) Vortex mixer sebagai alat untuk menghomogenkan sampel, (f) Heating block yaitu kotak pemanas untuk elektroforesis, (g) Micropipette sebagai alat untuk mengambil reagen maupun sampel, (h) Kamera polaroid digital berfungsi sebagai alat perekam data.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan rancangan time series menggunakan deret waktu selama 6 (enam) bulan serta keberadaan sampel 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). 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 1 berikut :

Tabel 1. Persentase jumlah ikan mas sampling yang dilalulintaskan di SKIPM Pontianak.

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

Prosedur Penelitian

Sesuai dengan pedoman standar pemeriksaan laboratorium SKIPM Kelas I Pontianak, ada beberapa tahapan yang dilakukan dalam proses identifikasi virus.

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.

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).

Variabel Penelitian

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).

Pemeriksaan Organ Insang

Untuk identifikasi virus KHV pada ikan mas organ target yang diambil berupa insang pada ikan mas. Diambilnya 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).

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.

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).

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

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, kimia dan. Faktor fisika misalnya suhu, kecerahan dan kedalaman. Faktor kimia diantaranya pH, DO, CO₂ dan NH₃. Farid Mudlofar, dkk (2013).

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.

Hasil Dan Pembahasan

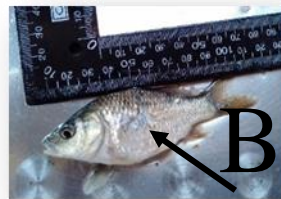
Berdasarkan hasil pengamatan selama penelitian mengenai identifikasi dan prevalensi virus KHV dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) di dapatkan beberapa virus KHV yang menunjukkan hasil positif. Dapat dilihat pada hasil dan pembahasan pada perhitungan prevalensi

Gejala Klinis

Parameter umum penentu ikan dalam keadaan sakit/ sehat adalah tingkah laku ikan (cara berenang, cara makan), dan abnormalitas tubuh (warna, bentuk, produksi lendir 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, diambil 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.



Ikan Mas Yang Sehat

Ikan Mas Yang Sakit

Gambar 1. Sampel Ikan Mas Pemantauan HPIK; A: Ikan Yang Norma (Sehat), B: Ikan Yang Terindikasi.

Beberapa ikan sampel menunjukkan adanya luka pada bagian insang yang diduga merupakan 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 (terliminir), 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.

Pemeriksaan Organ Insang

Untuk identifikasi virus KHV pada ikan mas penelitian, organ target yang diambil berupa insang. Di ambalnya 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 10⁸-10⁹ virus per 10⁶ sel ikan (Gilad et al., 2004).



Gambar 2. Insang Ikan sampel; C. Insang Ikan Mas Yang Sehat, D Yang Terserang KHV

Pada gambar 2, dapat dilihat perbedaan insang ikan mas yang sehat dan yang terindikasi terserang virus KHV, pada gambar D 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).

Identifikasi KHV

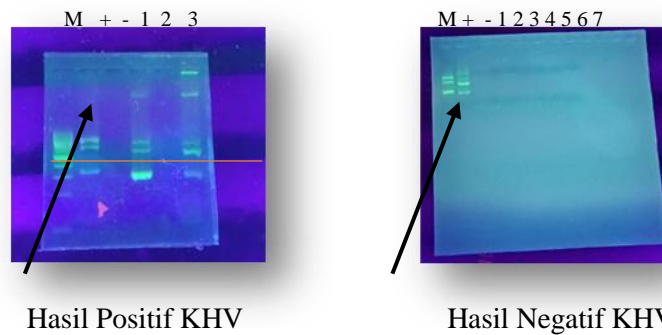
Koi Herpes Virus (KHV) atau yang dikenal juga dengan Cyprinid Herpes Virus 3 (CyHV-3) adalah jenis virus yang menginfeksi ikan mas dan dapat menyebabkan kematian massal (Hedrick *et al.*, 2008). Hasil deteksi pertama kali di Israel pada tahun 1998 dan selanjutnya di Amerika, wabah KHV dilaporkan telah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

Tabel 2. Hasil identifikasi uji KHV

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

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 tabel.4.3.

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 3 . Hasil Deteksi KHV dengan menggunakan metode PCR

Pada gambar 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. 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, antara, 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.

Tingkat Prevalensi Serangan Virus

Prevalensi pada ikan mas yang diuji oleh SKIPM Pontianak dapat dilihat seperti table 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 table 4.4 dapat diketahui jika pada bulan mei mengalami prevalensi tertinggi dan pada bulan januari, februari, 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 3. Prevalensi KHV

No	Bulan	Hasil Prevalensi
1	Januari	0%
2	Februari	0%
3	Maret	0%
4	April	0%
5	Mei	30%
6	Juni	14%

Terjadinya serangan KHV tersebut dikarenakan pada saat perubahan musim yang terjadi pada bulan mei dan juni 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 terserang virus KHV pada bulan mei dan juni, pada bulan tersebut dilakukan pemantauan HPI/HPIK dimana di ambil dari beberapa titik antara lain, kota Pontianak, kabupaten kuburaya, kabupaten mempawah, kota singkawang, kabupaten ketapang. Hal ini sesuai dengan Supriyadi, H.; Taukhid 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.

Penyebaran Serangan

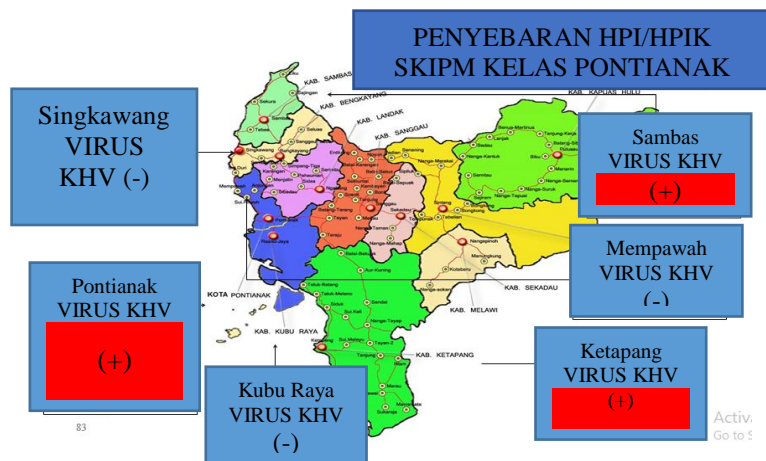
Data penyebaran KHV SKIPM Pontianak terdapat di sejumlah titik pada setiap daerah. Beberapa titik tersebut antara lain Kota Pontianak, Kabupaten Kubu Raya, Mempawah, Singkawang, Sambas dan Ketapang yang salah satu dari titik titik tersebut di temukan sejumlah kasus KHV. Dari masing masing titik sebaran 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. 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 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).



Gambar 4. Peta penyebaran virus KHV

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 5. Data Kualitas Air Pemantauan

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

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 0,1 ppm (Hernowo, 1995).

Oksigen terlarut juga menunjukkan nilai yang 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 (O²) di atas 4 ppm, PH 6,7-8,0 dan suhu air yang baik kisaran 25-29°C.

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 pada bulan Mei dan Juni mengalami prevalensi tertinggi pada bulan Januari, Februari, Maret dan April tidak ditemukan ikan mas yang terserang virus KHV. 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.

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. PCR Untuk Diagnosa Suatu Penyakit. Accessed april2008.
- Bataviase.co.id/node/10.Hasil Tes PCR.accesd (februari 2010)/ 10:00 Wib
- Beswandjarum.com/.../04. *Polymerase Chain Reaction* (PCR).Accessed (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 Identity 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
- 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 Fitriya T.R.,. 2015. Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. *Jurnal LenteraBio* Vol. 4 No. 1, Januari 2015: 87–92. Universitas Negeri Surabaya.
- 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.
- Koesharyani Isti dan Lila Gardenia. 2015. Metode deteksi cepat white spot syndrome virus (wssv) dan infectiuos myonecrosis virus (imnv) menggunakan portabel/mobile Polymerase chain reaction. *Media Akuakultur* Vol. 10 No. 1 Tahun 2015: 43-49. Pusat Penelitian Pengembangan Perikanan Budidaya. 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.
- Kordi K. 2009. Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan. Jakarta: PT Rineka Cipta
- PCR Station., 2009.Nested PCR.Hhtl://www.pcrstation.com/nested_pcr/accesed 26 april 2009/ 10:05 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 Deskriptifdan Induktif . Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Supriyadi, H.; Taukhiddan G. Moekti. 1997. Sistim 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 Haematopoitic 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. Pembenuhan Ikan Air Tawar. Kanisius, Yogyakarta.

<http://pustaka.pandani.web.id/2014/02/struktur-virus.html>

- Tauhid, 2010. Induksi Kekebalan Spesifik Pada Ikan Mas, *Cyprinus Carpio* Linn. Terhadap Infeksi Koi Herpesvirus (KHV) Melalui Teknik Kohabitasi Terkontrol. Universitas Padjajaran : 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 Wheler., 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.
- 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.