

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

DAFTAR ISI

TINJAUAN ULANG (REVIEW)**TINJAUAN TENTANG KOPEPODA PARASIT DI INDONESIA**

[A Review of Parasitic Copepods in Indonesia]

Conni Sidabalok 1

MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)**IDENTIFIKASI ALEL GEN *Xa7* PADA PLASMA NUTFAH PADI LOKAL
PAREKALIGOLARA MELALUI UJI SEGREGASI FENOTIPE DAN GENOTIPE**[Identification of *Xa7* Alleles Gene in Landrace Parekaligolara by Phenotype and Genotype
Segregation Analysis]

Dwinita W Utami, TS Kadir dan A Nasution 15

**ADAPTASI OSMOTIK TUMBUHAN MANGROVE *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh.
DAN KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) TERHADAP STRES SALINE**[Osmotic Adaptation of Mangrove *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh. and
Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) against Saline Stress]

BP Naiola 23

**KEANEKARAGAMAN JENIS TUMBUHAN PEMAKAN SERANGGA DAN LAJU
FOTOSINTESISNYA DI PULAU NATUNA**

[Diversity of Insectivorous Plants and Its Photosynthesis Rate In Natuna Island]

Muhammad Mansur 33

**ANALISIS IMUNOGENISITAS PROTEIN GRA1 DARI HASIL KLONING GEN *GRA1*
TAKIZOIT *Toxoplasma gondii***[Immunogenicity Analysis of GRA1 Protein derived from clone bearing *GRA1* Genes collected
from *Toxoplasma gondii* Tachyzoite]

Didik T Subekti, WT Artama, SH Poerwanto, E Sulistyaningsih dan Yulia Sari 43

**KOI HERPES VIRUS SEBAGAI PENYEBAB KEMATIAN MASSAL PADA *Cyprinus carpio*
koi DI INDONESIA**[Koi Herpes Virus The Causative Agent of Sporadically Mortality of *Cyprinus carpio koi* in
Indonesia]

S Oetami Madyowati, Sumaryam, A Kusyairi dan H Suprpto 53

**ANALISIS PERUBAHAN POLA GENETIKEMPAT GENERASI MANGGIS (*Garcinia man-
gostana* L.) BERDASARKAN MARKA ISSR**[Analysis of Genetic Pattern Changes among Four Generations of Mangosteen (*Garcinia man-
gostana* L.) Based on ISSR Marker]

Siti Noorrohmah, Sobir dan D Efendi 59

**PENGARUH BEBERAPA PAKET PEMUPUKAN DAN AMELIORASI TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN HASIL TANAMAN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
DI KAWASAN PENGEMBANGAN LAHAN GAMBUT (PLG)**[Effect of Amelioration and Fertilization Packages on Growth and Yield Peanut (*Arachis hypo-
gaea* L.) in the Area Peatland Development (PLG)]

Siti Nurzakiah, Koesrini dan Khairil Anwar 67

**KOI HERPES VIRUS SEBAGAI PENYEBAB KEMATIAN MASSAL
Cyprinus carpio koi DI INDONESIA ***
[Koi Herpes Virus the Causative Agent of Sporadically Mortality of
Cyprinus carpio koi in Indonesia]

Sri Oetami Madyowati^{1✉}, Sumaryam¹, A Kusyairi¹ dan Hari Suprpto²

¹Faculty of Agriculture University of Dr Soetomo Jln Semolowaru No. 84 Surabaya Indonesia; ²Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Airlangga, Jl. Mulyorejo Kampus C Surabaya 60115 Indonesia.

[✉]e-mail: oetamimadyo@yahoo.com

ABSTRACT

Virus was isolated from infected koi *Cyprinus carpio koi* with KHV and confirmed by polymerase chain reaction (PCR) and transmission electron microscope (TEM). Fish that were naturally living near koi pond such as catfish *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, koki *Carrasius auratus*, and komet *Macropinna microstoma* did not infected after the cohabitation test. Based on the results KHV was the agent responsible for mortality of million cultured koi in East Java Province Indonesia. Absolute mortality was occurred in koi between 48-72 h post infection, while other cyprinids family was not caused in mortality. Other fresh water fish such as catfish *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, koki *Carrasius auratus*, and komet *Macropinna microstoma* was not infected. Virus-like particles as found in gill of infected fish with KHV.

Key words: Koi Herpes Virus, *Cyprinus carpio koi*, absolute mortality, Polymerase Chain Reaction (PCR) dan transmission electron microscope (TEM) Polymerase Chain Reaction (PCR), Transmission Electron Microscope (TEM), virus-like particles

ABSTRAK

Penyebab utama kematian ikan koi adalah karena Koi Herpes Virus (KHV) yang bisa dideteksi dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dan transmission electron microscope (TEM). Dari hasil penelitian beberapa ikan air tawar yang sering hidup di sekitar kolam koi adalah lele *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, komet *Macropinna microstoma* dan koki *Carrasius auratus* tidak terinfeksi KHV. Hanya ikan koi saja yang mati (100%) dalam jangka waktu 48-72 jam akibat infeksi KHV sehingga inang dari KHV adalah ikan koi (*Cyprinus carpio koi*). KHV di luar tubuh inangnya hanya bertahan selama 4 jam di air dan lumpur yang diambil dari tempat budidaya koi. Juga ditemukan virus-like particles pada insang koi yang sakit karena terinfeksi oleh KHV.

Kata kunci: Koi herpes virus, *Cyprinus carpio koi*, kematian massal, Polymerase Chain Reaction (PCR), transmission electron microscope

PENDAHULUAN

Di Indonesia kematian massal ikan koi terjadi pada tahun 2002-2003 dengan kerugian yang sangat besar, sampai sekarang kematian tersebut masih sering terjadi secara sporadic. Kematian juga terjadi di Eropa, USA dan Israel (Bretzinger *et al.*, 1999; Neukirch *et al.*, 1999; Body *et al.*, 2000; Hedrick *et al.*, 2000). Penyakit tersebut diduga disebabkan oleh infeksi sistematis koi herpes virus (Hedrick *et al.*, 2000). Kematian dimulai dari hari ke 7-10 jika ikan tertular penyakit dari inang perantara dan kematian kumulatif sampai 100% terjadi selama 2-3 minggu (Hedrick *et al.*, 2000). Ikan yang terserang berwarna pucat dan berubah warna pada insang dan kulit, juga terjadi pada organ internal. Pengamatan mikroskopi pada liver, limpa dan ginjal menunjukkan nekrosis pada sel parenkima dan debris pada macrofage (Hedrick *et al.*, 2000). Inklusi intranuklear mungkin terdapat pada sel yang terinfeksi dan virion yang khas untuk infeksi herpesvirus terdapat pada sel tersebut (Bretzinger *et*

al., 1999; Body *et al.*, 2000; Hedrick *et al.*, 2000). Hedrick *et al.* (2000) berhasil mengisolasi KHV dari sirip ikan koi (KF-1) yang sama dengan virus yang terdapat pada jaringan yang terinfeksi. Selanjutnya juvenil koi yang diekspos dengan KHV dengan *bath challenge* tertular penyakit yang mirip dengan penyakit yang terjadi di alam. Sedangkan di Indonesia penyebab kematian sporadis tersebut belum banyak diketahui penyebabnya, apakah sama dengan yang terjadi di Eropa, USA dan Israel.

Mengacu pada pemikiran di atas maka penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui penyebab kematian ikan koi dan mengetahui inang KHV yang sering menyerang ikan mas *Cyprinus carpio* dan koi *Cyprinus carpio koi* di Indonesia. Apakah sebenarnya KHV tersebut memang ada di lingkungan budidaya, misalnya menginfeksi ikan yang sering dibudidayakan bersama ikan koi dan beberapa ikan air tawar yang sering hidup di sekitar kolam yang bisa berperan sebagai inang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian-Perikanan Universitas Dr. Soetomo Surabaya, Tropical Diseases Center dan Laboratorium Perikanan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Mei sampai Oktober 2008

Pemeriksaan dengan TEM

Untuk konfirmasi adanya KHV dapat dilakukan dengan pemeriksaan Transmission Electron Microscopy (TEM) untuk melihat adanya partikel virus. Organ yang diambil untuk pemeriksaan TEM adalah organ yang luka karena KHV kemudian difiksasi dalam 2,5 persen glutaraldehyde dalam 0,2 Sorensen phosphate buffer (pH 7,2 selama 1 jam). Setelah beberapa lama dicuci, sampel kemudian difiksasi dengan 1 persen OsO₄ selama 1 jam. Kemudian tissue didehidrasi dalam alkohol yang mempunyai pengenceran berseri dan dimasukkan dalam resin. Ultrathin section dilakukan dengan ultramicrotome dan diwarnai dengan uranyl acetat dan lead citrate, diamati dengan JEOL.

Ekstraksi KHV DNA dari Koi

Usus koi diambil dan dicacah kemudian dihomogenisasi dalam lysis buffer (50 mM Tris-HCl, 10 mM NaCl, 2 % SDS, 10 mM EDTA, proteinase K 100 µg/ml) selama 3 at 56°C). DNA diekstraksi dengan menggunakan phenol seperti yang diuraikan oleh Sambrook *et al.* (1989). DNA dari koi dipakai sebagai template untuk amplifikasi PCR.

Amplifikasi PCR

Amplifikasi PCR dilakukan dalam 50 µl campuran reaksi yang mengandung 10mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,1 % Triton X-100, 0,2 mM each dNTP, 100 pmolof setiap primer, 1 unit Taq DNA polymease and 50 - 100 ng DNA templates, Campuran tersebut ditutup dengan satu tetes mineral oil, Amplifikasi dilakukan dalam DNA thermal cycles 95°C selama 5 menit dan kemudian 50 cycles (95°C selama 1 menit, 55°C selama 1 menit dan 72°C selama 1 menit) dan akhirnya 5 menit perpanjangan pada suhu 72°C sesudah 50 cycles, Hasilnya akan dianalisis pada 1,5 % agarose gel yang mengandung ethidium bromide 0,5 µg/ml.

Infeksi KHV

Satu gram ikan koi yang positive terinfeksi KHV kemudian dimasukkan kedalam akuarium yang berisi ikan air tawar yang sering hidup bersamaan dengan koi ialah ikan koki (*Carrasius auratus*), ikan komet (*Macropinna microstoma*), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan ikan lele (*Clarias batrachus*). Ikan dipelihara selama 14 hari dan dilakukan pengamatan. Terhadap ikan yang mati kemudian dilakukan test PCR untuk memastikan

bahwa kematian ikan tersebut disebabkan oleh infeksi KHV. Adapun langkah kerja dalam metode PCR adalah sebagai berikut:

Sampel ikan

Sampel ikan diambil dari ikan yang mati selama perlakuan dengan menunjukkan gejala klinis terkena KHV seperti pada organ insang terdapat bintik-bintik putih atau kulit melepuh (luka). Kemudian ikan dibedah dan diambil insangnya seberat 50 mg.

Ekstraksi DNA

Insang koi diambil 50 mg digerus dalam appendorf 2 ml. Lalu tambahkan 1 ml DNA ekstraktion kit (DNAzol, tri reagent), kemudian dikocok dan inkubasi selama 5 menit pada suhu kamar. Selanjutnya disentrifuge pada 14000 rpm selama 10 menit dan supernatan dipindah ke appendorf baru. Supernatan diencerkan dengan menambahkan 0,5 ml alkohol 100% dan dikocok, setelah itu disentrifuge 10000 rpm selama 5 menit. Pisahkan supernatan dari endapan kemudian tambahkan 1 ml alkohol 90% pada endapan, kocok lalu sentrifuge pada 10.000 rpm selama 5 menit (diulang sebanyak 3 kali). Pelet didiamkan pada suhu kamar selam 5-10 menit. Tambahkan 5-200 µl Nuclease Free Water (ddH₂O) dan siap digunakan untuk amplifikasi.

Amplifikasi DNA

Memasukkan dalam appendorf 1 butir Master mix (d NTP, Tag polymerase, MgCl₂) lalu primer 1 µl, ddH₂O 23 µl, dan DNA template 1 µl hasil ekstraksi. Dihomogenase, lalu masukkan ke dalam thermocycler untuk melakukan amplifikasi DNA

Pemisahan produk PCR dengan Unit Elektroforesis Gel

Persiapan agarosa dengan memasang tangki elektroforesis, lalu tambahkan agar di dalam tangki elektroforesis, kemudian masukkan TAE encer ke dalam tangki elektroforesis. Ambil loading buffer sebanyak 2 µl diatas parafilm. Ambil marker sebanyak 1 µl. Ambil sampel produk PCR masing-masing sebanyak 10 µl. Campur marker dengan loading dye, lalu masukkan ke dalam sumur (1). Campur sampel produk PCR dan loading buffer diatas parafilm, lalu masukkan kedalam sumur (2). Campur kontrol positif dan loading buffer diatas parafilm, lalu masukkan ke dalam sumur (3). Campur kontrol negatif dan loading buffer diatas parafilm, lalu dimasukkan ke dalam sumur. Kemudian lakukan elektroforesis dengan voltase sebesar 120 volt selama 20 menit. Setelah selesai angkat gel agarosa, lalu rendam ke dalam EtBr selama 10 menit dan bilas dengan aquades.

Pengamatan hasil PCR

Setelah dielektroforesis, gel agarosa diamati hasilnya dengan menggunakan UV Transilluminator. Lalu didokumentasikan menggunakan kamera polaroid.

HASIL

Pada ikan yang terinfeksi oleh KHV ditemukan *viral-like particle* seperti gambar dibawah ini. Partikel ini (*viral-like particle*) tersusun rapi menyerupai sebuah mozaik dan tidak tak beraturan.

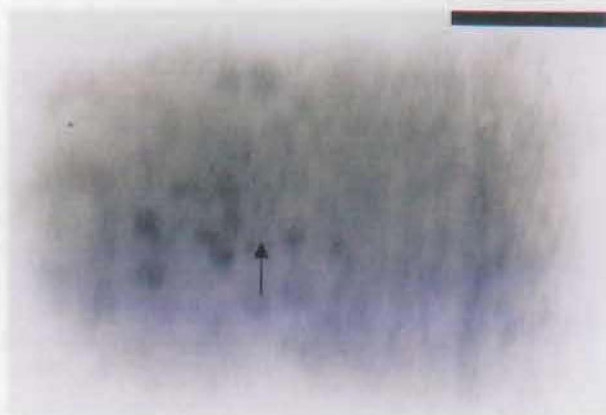
Pada ikan koi hasil sampling di Jawa Timur ditemukan bahwa infeksi koi tersebut memang disebabkan oleh KHV dengan bukti positif pada hasil analisis PCR dan disajikan pada gambar 2.

Pada pemeriksaan patogenitas KHV pada ikan air tawar lain yang sering hidup bersama sama dengan koi tidak menunjukkan adanya kematian pada ikan tersebut. Bahkan ikan air tawar lainpun (lele, nila, komet dan koki) yang biasanya hidup bersama sama dengan koi dan mas juga tidak ada

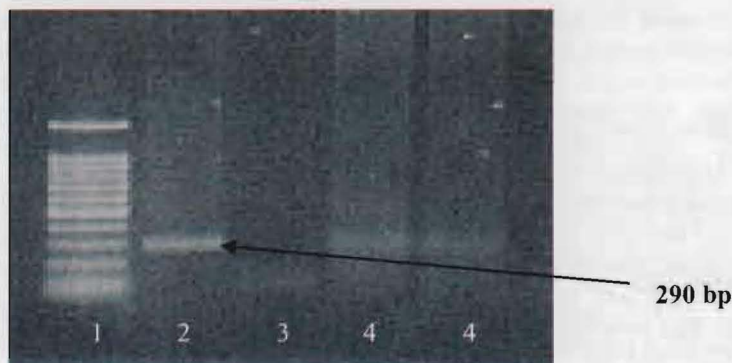
yang mati dengan infeksi buatan, tetapi koi mati dalam waktu 48-72 jam. Infeksi dengan pemberian ikan koi sakit karena KHV juga menyebabkan koi mati absolut dalam jangka waktu 48-72 jam sama dengan infeksi buatan secara suntik. Hasil tersebut disajikan pada tabel 1.

Persistensi KHV di luar tubuh inangnya hanya selama 4 jam yaitu pada air kolam yang telah steril pada suhu kamar, oleh sebab itu jika tidak segera dapat inang ia akan mati. Begitu juga di lumpur yang di ambil dari kolam yang telah steril pada suhu kamar kemudian diberi viruspun hasilnya sama dengan PCR air kolam. Jadi hasil tersebut memberikan gambaran bahwa di lingkungan perairan KHV memang hanya bisa bertahan hidup selama 4 jam. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Diagnosa yang sekarang dilakukan adalah pertama melihat gejala klinis yang terjadi pada ikan kemudian dilakukan uji histopatologi untuk melihat adanya proliferasi dari gill epithelia yang menunjukkan adanya degenerasi dan nekrosis dan adanya single intranuclear inclusion bodies adalah



Gambar 1. Hasil Transmission electron microscope (TEM) dari insang ikan koi yang terinfeksi oleh KHV. *Viral-like particles* tersusun seperti mozaik berupa bulatan hitam (tanda panah)



Gambar 2. Hasil PCR dari ikan koi yang terinfeksi oleh KHV. 1, marker ; 2, kontrol positif; 3, kontrol negatif; 4, sample yang positif terinfeksi KHV.

Tabel 1. Patogenesis dari KHV terhadap beberapa ikan air tawar yang sering hidup bersama dengan koi secara kohabitasi. Suhu rata-rata air pada waktu penelitian adalah 25°C.

Jenis ikan	Berat ikan (g)	Panjang ikan (cm)	Mati/tested
<i>Cyprinus carpio koi</i>	5,9	6,2	10/10
<i>Carrasius auratus</i>	5,4	5,5	0/10
<i>Macropinna microstoma</i>	5,2	5,6	0/10
<i>Oreochromis niloticus</i>	6,3	6,1	0/10
<i>Clarias batrachus</i>	4,9	6,5	0/10

Tabel 2. Persistensi KHV pada air kolam dan lumpur yang telah disterilkan dan ditempatkan pada suhu kamar.

Sampel air untuk PCR jam ke	Hasil PCR	Sampel lumpur untuk PCR jam ke	Hasil PCR
1	+	1	+
2	+	2	+
3	+	3	+
4	+	4	+
5	-	5	-
6	-	6	-
7	-	7	-
8	-	8	-
9	-	9	-
12	-	12	-
18	-	18	-
24	-	24	-

petunjuk yang penting. Virus dapat juga dikultur pada sel KF-1. Sekarang metode yang paling efisien adalah Polymerase Chain Reaction (PCR).

PEMBAHASAN

KHV adalah penyakit virus pada ikan mas dan koi yang sangat menular, dan kemungkinan menyebabkan kematian yang sangat besar pada budidaya ikan diatas. Ikan biasanya digunakan sebagai ikan konsumsi sedangkan ikan koi sebagai ikan hias karena warna dan bentuknya yang eksotik. Penyakit ini menjadi penting sejak infeksi yang hebat tahun 1998 (Hedrick *et al.*, 2000) yang terjadi di Amerika Serikat dan Israel. KHV digolongkan sebagai DNA virus yang termasuk family Herpesviridae berdasarkan morfologi dan genetik. Spesies dari cyprinid lain misalnya common goldfish *Carrasius auratus* dan grass carp *Ctenopharyngodon idella* terlihat tidak terinfeksi oleh KHV. KHV diyakini berada pada ikan yang terinfeksi selama hidup, sehingga ikan tersebut bisa beroeran sebagai inang. Infeksi KHV bisa menyebabkan kematian 80-100 % populasi dan ikan akan mudah terinfeksi pada suhu air 22-27°C (OATA, 2001). Ikan yang

terinfeksi bisa dari berbagai macam usia, tetapi pada test kohabitasi fry lebih sensitive dari usia dewasa (Pererlberg *et al.*, 2003).

Di Jawa Timur ikan koi yang terserang KHV menyebabkan kematian yang cepat, ikan yang terinfeksi KHV akan mati dalam 24-48 jam. Ronen (2003) melaporkan jika ikan berada pada suhu 22°C akan mati dalam 15 hari sesudah infeksi, ditandai dengan luka serius pada insang yang menyebabkan kematian yang tinggi. Ikan menjadi tidak bisa bernafas karena kerusakan insang, selain kematian oleh infeksi virus mortalitas yang tinggi juga disebabkan oleh kekurangan oksigen. Kekurangan oksigen menjadi faktor yang dapat mempertinggi kematian ikan koi dan mas walaupun ikan tersebut sebenarnya hidup pada daerah yang kaya oksigen. Umumnya kolam koi bukanlah kolam yang dalam dan hidup tidak jauh dari permukaan air sehingga sebenarnya koi dan mas selalu mendapat suplai oksigen yang banyak. Jika dilihat dari luar infeksi KHV ditandai oleh pendarahan pada insang, terbenamnya mata, luka pada kulit. Jika dilihat dengan mikroskop luka tersebut penuh dengan bakteri dan berbagai parasit sedangkan tanda dalam

adalah adesi pada rongga tubuh dan kerusakan organ dalam (Hedrick *et al.*, 2000; OATA 2001).

Dari hasil analisis PCR, ikan yang positif terinfeksi KHV, terlihat adanya kerusakan insang yang parah (pendarahan) sedangkan tanda-tanda lain misalnya luka di kulit tidak terlihat. Pada umumnya ikan yang sakit terlihat kehilangan nafsu makan, bahkan kadang terlihat kerusakan arah renang sebelum akhirnya mati. Yang sering terlihat adalah hilangnya warna ikan (ikan menjadi pudar warnanya) dan frekuensi pernafasannya menjadi cepat. Hal ini juga dilaporkan oleh Gray *et al.* (2002) disertai dengan adanya pembengkakan, pucat dan luka di kulit. Pada pemeriksaan histopatologi terjadi proliferasi massal di epitelium insang dengan perubahan degeneratif dan nekrosis dan adanya inklusi intraseluler pada sel yang terinfeksi. Pemeriksaan pada liver, limpa, ginjal dan saluran pencernaan menunjukkan adanya nekrosis pada parenchyma dan sejumlah macrophage dengan pecahan yang sel yang teringested.

Dimanakah sebenarnya virus berada didalam tubuh ikan, dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Pikarsky *et al.* (2004) diketahui bahwa ginjal merupakan tempat virus berkembang biak secara efisien. Lebih lanjut dikatakan DNA virus dapat dideteksi pada ginjal dan darah sesudah infeksi 3 dan 5 hari. Tetapi pada infeksi dengan bathing (perendaman) ternyata lebih efisien dibandingkan dengan kohabitasi (gesekan) Virus DNA pada ginjal bertambah pada 3 hari post injection (pi) sedangkan darah 5 pi. Virus DNA terdeteksi pada insang, gastrointestinal dan liver pada ikan yang diinfeksi buatan. Anehnya virus DNA tidak terdeteksi pada syaraf otak ditengarai virus DNA hanya ada dalam jumlah yang sedikit didalam otak koi yang diinfeksi buatan. Tetapi ini sebenarnya adalah ciri khusus dari herpesvirus yang tidak menimbulkan perubahan patologi pada infeksi primer, tetapi kemudian infeksi nyata pada sistem syaraf (Gray *et al.*, 2002).

Pada waktu percobaan patogenesis suhu air pada akuarium adalah 25°C sehingga sebenarnya suhu ini sangat cocok untuk infeksi KHV pada koi dan mas. Suhu tersebut stabil selama penelitian dilakukan sedangkan suhu paling dingin di sentra budidaya koi di beberapa daerah di Jawa Timur berkisar antara 22-23°C, sebenarnya suhu ini adalah batas bawah di negara yang mempunyai 4 musim seperti di Israel seperti rentang suhu antara 13-27°C yang dijelaskan diatas. Sebenarnya ledakan penyakit KHV yang terjadi pada tahun 2002 silam diduga berasal dari impor koi dari China, karena pada tahun tersebut juga terjadi kematian yang luar biasa pada

budidaya koi. Memang pada kenyataannya sekarang infeksi tersebut masih ada tetapi bersifat sporadis dan belum mengancam industri koi dan mas seperti pada tahun 2002 silam.

Peran temperatur pada penularan penyakit sangat penting pada hewan poikilothermik vertebrata (Ahne *et al.*, 2002). Suhu air diketahui mempunyai peran didalam serangan/ infeksi penyakit pada hewan air misalnya serangan virus dengan mempercepat replikasi virus didalam inang sambil menekan proses imun inang (Alcorn *et al.*, 2002), karena secara langsung suhu air akan mempengaruhi respon imun seluler dan humoral didalam tubuh ikan. Infeksi penyakit tersebut terjadi karena adanya pengaruh dari suhu air, jumlah virus walaupun bukan permasalahan utama selain suhu air. Koi dan ikan mas sangat peka terhadap jumlah virus yang sedikit (12 TCID₅₀ KHV/ml dan 1,2 TCID₅₀ KHV/ml) pada suhu 23°C kematian mencapai 90-95%, sedangkan pada suhu 18°C adalah 90% dan pada suhu 13°C tidak ada kematian (Gilad *et al.*, 2003). Pada suhu yang tinggi misalnya 23°C ikan yang terinfeksi akan cepat mati dengan rentang waktu 7-12 hari, tetapi jika suhu rendah misalnya 13°C kemungkinan virus akan bersifat dormant sehingga kematian tidak terdeteksi pada suhu ini.

KHV akan tetap hidup selama 4 jam didalam air menunjukkan bahwa virus ini sangat menular pada kolam (Pererlberg *et al.*, 2003), walaupun belum diketahui dengan sebenarnya bagaimana virus masuk kedalam ikan apakah lewat insang atau usus, tetapi kelihatannya KHV masuk kedalam ikan lewat insang kemudian mengadakan perbanyakan menyebabkan kerusakan sel lendir dan nekrosis. Kerusakan insang merupakan penyebab utama kematian ikan karena ikan tidak bisa bernafas dengan baik. Virus yang berkembang biak akan menyebar pada air dan kemudian akan menginfeksi ikan koi lain dan menyebabkan kematian. Virus ini menyebabkan interstitial nephritis pada ikan yang terinfeksi.

KESIMPULAN

Penyebab utama kematian ikan koi yang banyak terjadi adalah *Koi Herpes Virus* (KHV). Infeksi (patogenitas) terjadi hanya pada koi, sedangkan pada family cyprinid lain dan beberapa ikan air tawar yang sering hidup disekitar kolam ialah lele, nila, komet dan koki tidak terinfeksi. Hanya koi saja yang mati (100%) dalam jangka waktu 48-72 jam akibat infeksi KHV sehingga inang dari KHV adalah ikan koi (*Cyprinus carpio koi*). KHV di luar tubuh inangnya hanya bertahan selama 4 jam di air dan lumpur yang diambil dari tempat

budidaya koi. Juga ditemukan *virus-like particles* pada insang koi yang sakit karena terinfeksi oleh KHV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan hasil penelitian Hibah Penelitian Multi Tahun Ditjen Dikti (Hibah Pekerti) sehingga kami sampaikan terima kasih kepada pengelola DIPA 2008-2009 Ditjen Dikti yang telah membiayai penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Prof. Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr. sebagai Ketua Tim Peneliti Mitra (TPM) yang telah banyak membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana, serta kritik dan saran dalam penulisan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahne W, HV Bjorklund, S Essbauer, N Fijan, G Kurath and JR Winton. 2002. Spring viremia of carp (SVC) diseases of aquatic organism. *Journal Fish Disease* 25, 261-272.
- Alcorn SW, AI Murray and JR Pascho. 2002). Effect on rearing temperature on immune function in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. *Fish and Shellfish Immunology* 12, 303-304.
- Body A, F Loeffrig, C Charlier and A Collard. 2000. Isolation of virus-like particles from koi *Cyprinus carpio koi* suffering gill necrosis. *Journal European Association Fish Pathology* 20, 87-88.
- Bretzinger A, T Fischer-Scherl, M.Oumouna, R Hoffman and U Truyen. 1999. Mass mortality in koi *Cyprinus carpio koi* associated with gill and skin disease. *Journal European Association Fish Pathology* 19, 182-185.
- Gilad O, S Yun, KB Andree, MA Adkison, K Way, NH Willitz, H Berkovier and RP Hedrick. 2003. Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus and effect of the temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of General Virology* 84, 2661-2668.
- Gray ML, L Mulis, SE Patra, JM Groff and A Goodwin. 2002. Detection of koi herpesvirus DNA in tissue of infected fish. *Journal of Fish Disease* 25, 171-178.
- Hedrick RP, O Gilad, S Yun, J V Spangenberg, G D Marty, R W Nordhausen, SW Martin, AH Meek and P Willeberg. 2000. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *Journal Aquatic Anim Health* 12, 44-57.
- Hines RS, GW Wohlfarth, R Moav and G Hulata. 1974. Genetic differences in susceptibility to two diseases among strain of the common carp. *Aquaculture* 3, 187-197.
- Neukirch M, K Bottcher and S Bunajirakkul. 1999. Isolation of virus from koi with altered gill. *Journal European Association Fish Pathology* 19, 221-224.
- Ornamental Aquatic Trade Association - OATA. 2001. *Koi Herpes Virus (KHV)*, Washington, DC.
- Pererlberg A, M Smirnov, M Hutoran, Y Bejerano and M Kotler. 2003. Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Israeli Journal of Aquaculture* 55 (1), 5-12.
- Pikarsky E, A Ronen, J Abramowitz, B Levavi-Sivan, M Hutoran, Y Shapira, M Steinitz, A Pererlberg, D Soffer and M Kotler. 2004. Pathogenesis of acute viral disease in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology* 78, 9544-9551.
- Ronen A, and IC Liao. 2003. Effect of dissolved oxygen, temperature and salinity on the oxygen consumption of the grass shrimp. *Proceeding of the First Asian Fisheries Forum*, 641-643. JL Maclean, LB Dixon and LV Hosillos (Editors). Asian Fisheries Society. Manila. Philippines.
- Sambrook M, H Towbin, T Staehelin and J Gourdon. 1989. Electrophoresis transfer of protein from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Journal of Fish Disease* 76, 4350-4354.