

# DETEKSI KOI HARPES VIRUS (KHV) PADA IKAN MAS KOI (*Cyprinus carpio L*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE APLIKASI *Polym erase Chain Reaction*(PCR)

Mashuri Masri<sup>1)</sup>, Arfan Arifuddin<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Dosen Pada Jurusan Biologi; <sup>2)</sup> Mahasiswa Pada Jurusan Biologi  
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar

**ABSTRACT:** *This thesis discusses the detection of koi harpes virus (KHV) in koi carp (Cyprinus carpio L) Application Method Using the Polymerase Chain Reaction (PCR). The purpose of this study is to determine the level of virus attacks causing harpesviridae group KHV Koi carp (Cyprinus carpio L.) using PCR applications in the Central Fish Karantian Hasanuddin Makassar. The research method used is descriptive with pictures PCR of Polaroid photographs. The results obtained with the results of attacks lightly infected 290 bp, the attack was infected with the results of 290 bp and 440 bp, with the result of severe infection attack 290 bp 440 bp and 630 bp.*

**Keywords:** *Koi Harpes Virus (KHV), Koi carp (Cyprinus carpio L) and PCR.*

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

**D**i Indonesia budidaya ikan air tawar berperan penting sebagai salah satu sumber protein bagi masyarakat. Budidaya laut merupakan salah satu yang penting untuk pendapatan luar negeri. Budidaya ikan air tawar terutama ikan mas (*Cyprinus carpio*), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan ikan patin (*Pegassius sp*) mengalami peningkatan produksi disemua Negara, karena ikan-ikan ini memiliki nilai jual bagi petani untuk mendapatkan keuntungan dengan teknik sederhana dan investasi kecil.

Koi Harpes Virus (KHV) adalah salah satu penyakit yang digolongkan sebagai penyakit utama di Indonesia oleh Komisi Nasional Kesehatan Ikan. Selain itu, KHV merupakan Hama Penyakit Ikan Golongan I sesuai Surat Keputusan Menteri kelautan dan Perikanan Nomor KEP.03/MEN/2010 tentang penetapan "Jenis-Jenis Hama dan Penyakit Ikan Karantina, Golongan, Media Pembawa dan Sebarannya".

Mengingat dampak yang ditimbulkan oleh serangan KHV mengakibatkan kerugian yang sangat besar dalam kegiatan produksi ikan mas, maka diperukan diagnosis secara cepat dan akurat dalam penanganan masalah diagnosis penyakit. Perkembangan iptek dalam bidang biologi molekuler dengan teknik polimerase

chain reaction (PCR) dapat membantu untuk mendeteksi virus secara cepat dan tepat. Teknik PCR pertama kali diperkenalkan oleh DR. Kary Banks Mullis pada tahun 1985 dan meraih hadiah nobel pada tahun 1993.

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini difokuskan pada aplikasi metode PCR, dengan judul Deteksi Koi Harpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas Koi (*Cyprinus carpio* L) Dengan Menggunakan Aplikasi Metode PCR.

### Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana metode aplikasi PCR (Polymerase Chain Reaction) dapat mendeteksi tingkat serangan KHV yang termasuk dalam golongan virus herpesviridae pada ikan mas koi (*Cyprinus carpio* L).

### Tujuan

Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mendeteksi tingkat serangan dari virus golongan herpesviridae yang menyebabkan KHV pada ikan mas koi (*Cyprinus carpio* L) dengan menggunakan metode aplikasi PCR di Balai Besar Karantina Ikan Hasanuddin Makassar.

### Manfaat Penelitian

1. Sebagai pilihan alternatif dalam mendeteksi virus secara dini dengan sensitivitas dan spesifitas dengan kecepatan tinggi.
2. Sebagai sumber informasi kepada masyarakat khususnya masyarakat pembudidaya ikan mas koi tentang bahaya penularan virus KHV, sehingga virus dapat dideteksi sedini mungkin dan juga dapat mengantisipasi kerugian yang akan ditimbulkan sebelumnya.
3. Sebagai bekal pengetahuan dan pengalaman tambahan kepada penulis dalam rangka pengembangan potensi diri.
4. Sebagai acuan dasar untuk rujukan penelitian selanjutnya.

Tabel. 1. Jenis Primer Pada KHV

Primer IQ 2000	Amplicon	Reference
F :5´-GATGAGCCAGGGCCATCGGGA-3´	270-290 bp	Gilda Lio 2009.
R: 5´-GTGTCGCCCCGGGAGACGTACCA-3´	330-352 bp	
F :5´-CGGAGGCGACCACAACTGAA-3´	420-440 bp	
R:5´-CTATCGTAGCAGCGGGAGTACG -3´	491-512 bp	
F :5´-CTCCCCGAGCAGGCCGATGACC-3´	610-630bp	
R :5´-CTACCAGTGCTCCTGGGTCTGGC-3´	721- 742bp	

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif.

### **Variabel Penelitian**

Variabel Penelitian ini adalah KHV (Koi Harpes Virus) Pada Ikan Mas Koi (*Cyprinus carpio L*).

### **Defenisi Operasional**

KHV adalah virus dalam golongan Harpesviridae yang menginfeksi ikan mas koi, di deteksi dengan menggunakan metode aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR), dengan melalui tahap denaturasi, annealing dan elongasi.

### **Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juni sampai dengan Juli 2010, di lakukan di Laboratorium Balai Besar Karantina Ikan Hasanuddin Makassar. Jalan. Landak Baru No. 7.

## **PROSEDUR KERJA**

### ***Alat dan Bahan***

#### a. Alat

Alat yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah centrifuge, micropipete, pastle, mesin elektroforesis, mesin PCR, gel dokumentasi, timer, dissecting set, nampan bedah, laminary air flow vertical cabinet, block heater, Analitikal balance, microwave, vortex, aquarium, Blower, batu aerasi, selang aerasi, filter aquarium, serok, Thermometer, sarung tangan, masker dan kamera.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam melakukan penelitian ini adalah ikan mas koi (*Cyprinus carpio L*) sebanyak 5 ekor, aquadest steril bebas pyrogen, agarose, PCR kit untuk KHV (primer Kit IQ ), lysis Buffer, etanol, ethidium bromide, TAE Buffer, tissue, microtube (1,5 ml, 1 ml, 0,5 ml), microtipe (putih, kuning, biru), EDTA 40x, es batu, aluminium foil.

Kriteria Sampel Yang Terinfeksi :

1. Serangan Infeksi Ringan
  - a. Insang Tidak Berwarna Putih
  - b. Mata Tidak Cekung Ke dalam
  - c. Kepala Tidak Mengalami lesi
  - d. Kulit Tubuh tidak mengalami hemoragik dan lesi
  - e. Hasil Uji PCR menunjukkan satu pita yaitu 290

## 2. Serangan Infeksi Sedang

- a. Insang Berwarna Putih
- b. Mata Tidak Cekung ke dalam
- c. Kepala Tidak mengalami lesi
- d. Kulit Tubuh mengalami hemoragik atau luntarnya warna kulit
- e. Hasil Uji menunjukkan dua pita yaitu 290 bp dan 440 bp Serangan

## 3. Serangan Infeksi Berat

- a. Insang Berwarna Putih
- b. Mata Cekung Ke Dalam
- c. Kepala Mengalami Lesi
- d. Kulit Tubuh Mengalami hemoragik atau luntarnya warna kulit
- e. Hasil Uji menunjukkan tiga pita yaitu 290 bp, 440 bp dan 630 bp.

### ***Cara Kerja***

- a. Ekstraksi Dengan Menggunakan Metode IQ 2000 (Metode Standar Pemeriksaan HPIK Golongan Virus (KHV), Pusat Karantina Ikan Departemen Perikanan dan Kelautan).

Mengambil bagian insang sampel ikan yang akan diuji sebanyak 0,04 gram, memasukkan ke dalam mikrotube sebanyak 1,5 ml. Menambahkan 500 µl Lysis buffer ke dalam mikrotube kemudian menghancurkannya dengan pastle. Memasukkan mikrotube ke dalam heating block pada suhu 95°C selama 10 menit kemudian disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm. Memindahkan 200 µl supernatan ke dalam mikrotube 1,5 yang baru dan menambahkan 400 µl dengan 95% etanol. Vortex, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit kemudian membuang etanol dan mengeringkan pellet. Melarutkan pellet dengan TAE buffer. Jika ingin mengimplikasi langsung, menginkubasi sampel pada suhu 56°C selama 15 menit. Vortex hingga bercampur.

- b. Amplifikasi Virus DNA (IQ Detection and Prevention System).

Menyiapkan Reagen First PCR dan Nested PCR, sampel DNA yang diperlukan pada proses percampuran reaksi. Menyiapkan kontrol positif dan negatif kontrol ( O atau yeast tRNA). Membuat campuran 8µl reagent first PCR sebagai berikut :

First PCR Pre Mix : 7,5 µl.

IQ Zygme DNA Polymerase 2 unit/µl : 0,5 µl

Pipet 8 µl RT-PCR reaksi ke dalam tube 0,2 ml. Menambahkan 2 µl sampel DNA atau larutan standar ke dalam campuran reaksi. Kemudian menyiapkan nested PCR mengamplifikasi seperti pada langkah pertama. Menambahkan 15 µl untuk setiap tube dengan komposisi sebagai berikut:

Nasted Pre Mixed reagent : 14 µl

IQ DNA Polymerse 2 unit/ µl : 1,0 µl

Vortex larutan hingga bercampur.

c. Electrophoresis

Menambahkan 5-10 µl “Campuran produksi amplifikasi-loading dye ke dalam satu persatu sumuran agarose.

Mengambil 5 µl DNA marker, memasukkan ke dalam sumuran agarose. Menghubungkan gel box dengan power supply sebelum dinyalakan. Memeriksa kembali electrode dan menggunakan 100-150 voltage (tidak boleh lebih dari 150 voltage).

Menghentikan electrophoresis ketika proses running memperlihatkan warna biru gelap telah mencapai 1/2 atau 2/3 dari gel. Staining dan Observasi Gel Rendam agarose hasil electrophoresis dengan larutan Ethidium Bromide (50µ/100 ml) ke dalam nampan plastic selama 10 menit pada suhu ruang.

Kemudian mengeluarkan agarose dan merendam dengan aquadest ke dalam nampan plastic selama 10 menit. Membaca hasil akhir dengan meletakkan gel UV trans-illuminator dan mengamati berat molekul DNA target yang terlihat dengan jelas dan berpandar berupa pita dengan membandingkan berat molekul target dengan berat molekul yang digunakan. Mendokumentasikan dengan gel dokumentasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

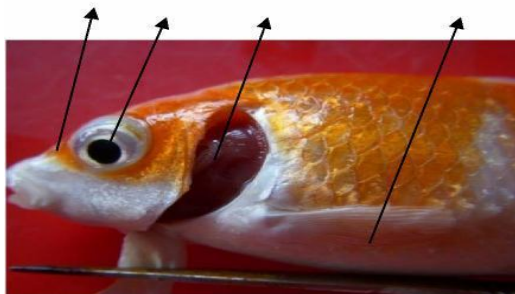
### A. Hasil Penelitian

#### 1. Pengamatan Morfologi



Gambar 6. Ikan Dalam Aquarium

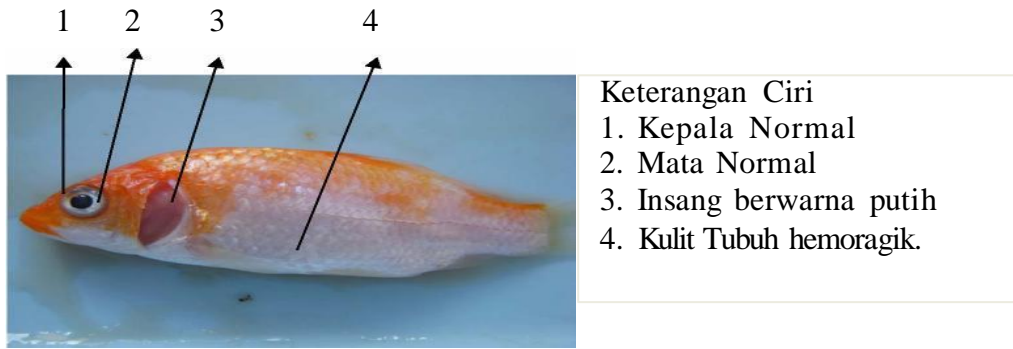
1      2      3                      4



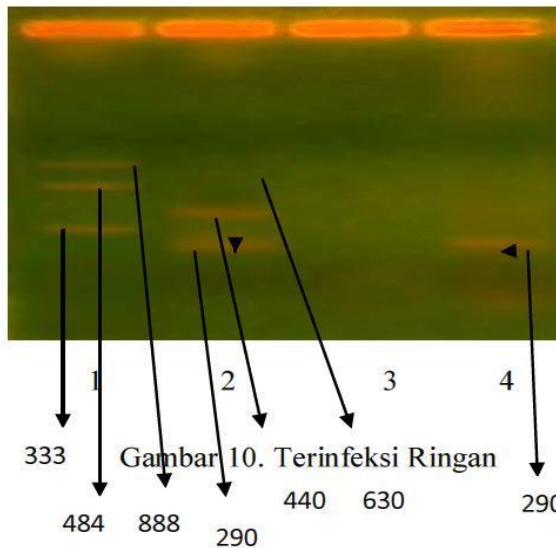
#### Keterangan Ciri

1. Kepala Normal
2. Mata Normal
3. Insang Normal
4. Kulit Tubuh Mengalami Pendarahan.

Gambar 7. Serangan Infeksi Ringan

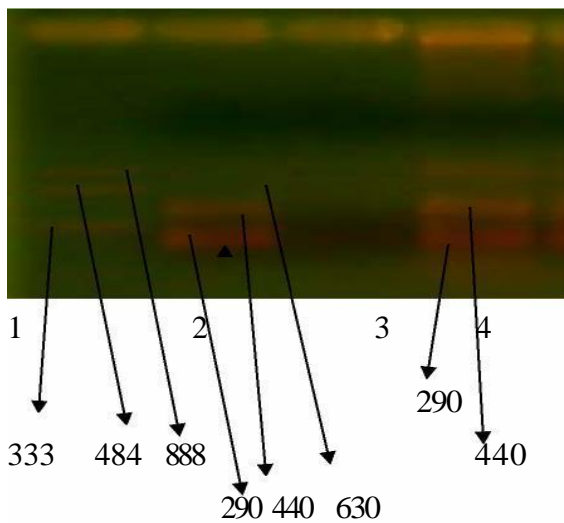


Gambar 8. Serangan Infeksi Sedang



**Keterangan**

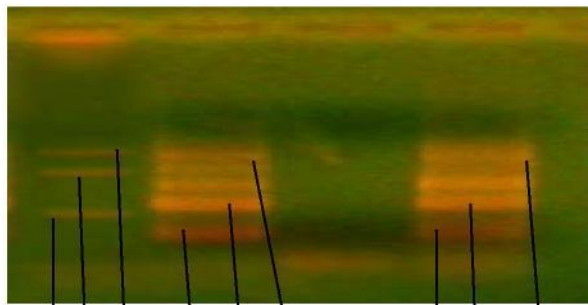
1. Marker (333, 484, 888)bp
2. Kontrol Positif(290, 440, 630)bp
3. Kontrol Negatif
4. Sampel (290 bp)



**Keterangan**

1. Marker (333, 484, 888)bp.
2. Kontrol Positif (290, 440 dan 630)bp
3. Kontrol Negatif
4. Sampel(290, 440)bp

Gambar 11. Terinfeksi Sedang



Keterangan

1. Marker (333, 484, 888)bp.
2. Kontrol Positif (290, 440 dan 630)bp
3. Kontrol Negatif
4. Sampel (290, 440, 630)bp

Gambar 12. Terinfeksi Berat

333  
484  
888  
290  
440  
630  
290  
440  
630

## PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan pada ikan yang terinfeksi KHV dari hari pertama pengambilan sampel hingga hari ke sepuluh dan disesuaikan dengan hasil uji PCR, maka dapat dikatakan bahwa ikan yang terlihat pada gambar 7 yang mengalami kematian pada hari kedua tidak memperlihatkan ciri-ciri KHV dimana ciri tersebut yaitu lembar-lembar insang yang berwarna putih pucat, tidak mengalami lesi dan hemoragik tetapi mengalami sedikit pendarahan pada bagian sirip, pendarahan pada sirip tersebut diperkirakan adanya infeksi sekunder yang terjadi yang disebabkan oleh bakteri dan selama masa pengamatan dalam aquarium memperlihatkan pergerakan yang tidak normal yaitu bergerak miring sejak hari pertama pengambilan sampel dan sering berenang ke permukaan seperti yang ditunjukkan pada gambar. Dan hasil foto PCR yang ditunjukkan pada gambar 10 menunjukkan hasil positif terinfeksi, hal ini dapat dilihat dari terbentuknya band di 290 bp berdasarkan marker (333, 484, 888) yang dipakai serta kontrol positif (290, 440, 630). Hal ini berarti bahwa ikan tersebut terinfeksi ringan. Ikan yang tidak memperlihatkan ciri yang jelas terinfeksi KHV namun dari hasil PCR terbentuk pada band 290 bp maka dapat diindikasikan ikan tersebut adalah positif carrier (pembawa yang dapat menulari). Terbentuknya pita pada posisi 290 bp mengindikasikan bahwa adanya virion yang terdapat di sampel dan adanya kesesuaian basa oligonukleotida yang dihasilkan berdasarkan primer yang digunakan dan sequencing DNA virus yang terdapat pada ikan yang terinfeksi, hanya saja virion tersebut dalam jumlah yang sedikit sehingga tidak terlalu memperlihatkan ciri infeksi.

Koi dan ikan mas yang terserang KHV pada umumnya menunjukkan tanda putih pada selaput insang. Ikan seringkali berenang ke permukaan dan menunjukkan gangguan pernapasan. Tanda lainnya seperti mata tenggelam atau masuk, luka pada sekujur tubuh, lendir, yang berlebihan dan kulit yang pucat. Namun beberapa ikan yang terinfeksi bisa saja tidak menunjukkan tanda-tanda terlihat dengan kasat mata. Infeksi KHV ditandai terutama oleh adanya bercak merah atau kerusakan insang serta kematian massal ikan yang terserang. Selain itu biasanya diikuti oleh adanya infeksi sekunder berupa luka atau bercak putih di permukaan tubuh yang diinfeksi oleh bakteri bakteri seperti *Aeromonas hydrophilia* ataupun *Flexibacter columnaris* (Mudjiutami, 2007).

Bakteri *Aeromonas hydrophilia* dan *Flexibacter columnaris* merupakan bakteri yang bersifat gram negative, berbentuk batang, motil. Merupakan agensia penyebab hemoragik septicemia (*Bacterial Hemoragik Septicemia*, BHS) atau MAS (*Motile Aeromonas Septicemia*) pada beragam spesies ikan air tawar. Pada dasarnya kedua bakteri ini merupakan oportunist karena penyakit yang disebabkan nya mewabah pada ikan-ikan yang mengalami stress atau pada pemeliharaan dengan padat tebaran tinggi. Tanda-tanda klinis infeksi nya berupa adanya hemoragik pada kulit, insang, rongga mulut dan pendarahan pada bagian jaringan otot (Agus Irianto, 2006).

Sampel dikatakan terinfeksi positif ringan KHV tatkala pada sampel tersebut menunjukkan pita 290 pada foto hasil PCR. Hal ini berarti bahwa pada ikan tersebut terdapat virion didalam organ yang terinfeksi, namun dalam jumlah yang sedikit, para peneliti sering menggolongkan ikan tersebut sebagai carrier, yang artinya dapat menularkan ikan yang lain apabila berada dalam satu wadah yang sama dengan ikan yang sehat (tidak terinfeksi) (Agus Irianto, 2006)

Sampel yang terdapat pada gambar 8 adalah sampel yang mengalami kematian pada hari ke sepuluh. Pada sampel tersebut terlihat ikan mengalami hemoragik yaitu lunturnya warna pada kulit dan dibagian insang berwarna putih pada hampir pada semua lembar insangnya. Dan hasil dari PCR pada gambar 11 memperlihatkan ikan tersebut positif sedang, hal ini dapat dilihat dari terbentuknya dua pita yang muncul yaitu 290 bp dan 440 bp. Sebenarnya pada hasil foto PCR terbentuk 3 band namun band yang ketiga tersebut tidak sejajar dengan kontrol positif yaitu pada posisi 630 bp hanya sejajar dengan marker, dipastikan bahwa terbentuknya band ini dikarenakan oleh adanya kontaminasi pada alat atau kurang sterilnya alat yang digunakan dan teknik pengerjaannya yang kurang kehati-hatian. Tetapi tetap dapat diartikan bahwa terbentuknya dua pita mengindikasikan bahwa sampel tersebut terserang virion yang jumlahnya sedikit lebih banyak dari sampel yang pertama, dan adanya kesesuaian basa oligonukleotida yang dihasilkan pada primer dengan DNA virus pada ikan terinfeksi sehingga terbentuk dua band. Berbeda halnya dengan sampel pada gambar 9 yang mengalami kematian pada hari ke sembilan .pada sampel tersebut terlihat ikan mengalami hemoragik, dan insang memiliki warna putih pucat disemua bagian lembar insangnya, mata tenggelam atau masuk dan terjadi lesi atau luka pada bagian kepala, dan hasil PCR pada gambar 12



menunjukkan terbentuknya tiga pita yaitu 290 bp, 440 bp dan 630bp. Secara kasat mata terlihat band yang terbentuk adalah 5 band namun band yang sesuai dengan kontrol positif yaitu 3 pita, dipastikan dua pita lain yang terbentuk tersebut akibat dari kontaminasi alat yang digunakan atau dalam hal ini kurang sterilnya peralatan yang digunakan dan juga teknik pengerjaan yang kurang hati-hati, tetapi tetap dapat dipastikan bahwa tingkat serangan tersebut berat, hal ini berarti jumlah virion yang menyerang jauh lebih banyak dari pada virion yang menyerang pada ikan yang terinfeksi ringan maupun sedang, sehingga memperlihatkan ciri infeksinya.

Sampel yang diidentifikasi sebagai infeksi positif sedang KHV adalah sampel yang secara morfologi memperlihatkan kondisi ikan mengalami hemoragik pada bagian kulit berupa lunturnya zat warna kulit, dan pada hasil pengujian PCR memperlihatkan pita 290 bp dan 440 bp, posisi band tersebut telah menandakan bahwa adanya virion yang menginfeksi insang lebih banyak dari pada ikan yang terinfeksi ringan dan dibuktikan dengan adanya lembar-lembar insang yang berwarna putih pucat hampir disemua lembar insangnya. Sedangkan untuk tingkat serangan infeksi berat berupa hemoragik, adanya lesi ataupun luka, lendir kering disekitar bagian tubuh ikan dan mata tengge lam atau masuk. Timbulnya hal tersebut kemungkinan diindikasikan adanya serangan bakteri pada ikan tersebut sebagai manifestasi infeksi sekunder, hasil uji PCR memperlihatkan tiga pita yaitu 290 bp, 440 bp, 630 bp. Terbentuknya band tersebut menandakan bahwa terdapatnya virion dalam jumlah yang sangat banyak menyerang sampel tersebut dan kemudian teramplifikasi. Hal lain yang dapat ditandai juga sebelum melakukan uji PCR adalah insang yang seluruhnya berwarna putih dan mengalami kematian kurang dari delapan atau sepuluh hari setelah terinfeksi (Gilda Lio, 2006). Timbulnya suatu penyakit pada ikan dapat disebabkan tiga faktor, yaitu kondisi tubuh ikan yang kurang baik, lingkungan kolam yang kurang baik dan patogen atau hewan lain pembawa penyakit. Ketiga factor tersebut mempunyai hubungan yang erat sekali sebab bila salah satu factor terjadi maka serangan penyakit pasti terjadi. Sakit pada ikan yaitu suatu keadaan yang abnormal yang ditandai dengan penurunan kemampuan ikan secara gradual dalam mempertahankan fungsifungsi fisiologik normal. Pada keadaan tersebut ikan dalam kondisi tidak seimbang fisiologisnya serta tidak mampu beradaptasi atau menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan. Timbulnya kondisi tersebut disebabkan oleh adanya stress yang terjadi, stress yang terjadi karena belum adanya proses adaptasi ikan dengan lingkungan barunya, dapat juga akibat infeksi patogen yang dapat berupa virus, bakteri, fungi atau parasit. Sakit pula dapat pula di defisiensi atau mal nutrisi dan keadaan lingkungan kolam ataupun aquarium yang tidak bersih (Agus irianto, 2006)

Penularan KHV terjadi secara horizontal diantara ikan mas dan ikan koi dengan masa inkubasi 4 – 5 hari atau lebih dari hari tersebut dan lamanya sakit 24-48 jam (perakut). Tertularnya ikan tersebut diakibatkan oleh adanya kontak individu yang terkena penyakit dengan individu yang sehat dalam satu

tempat, sehingga mengakibatkan individu yang sehat terinfeksi, penularan juga dapat terjadi melalui air yang memang mengandung banyak bibit penyakit dan kondisi lemah yang terjadi pada ikan. Dinamika infeksi penyakit pada ikan lebih disebabkan karena lingkungan air yang memfasilitasi penyebaran agensia penyebab penyakit (Farida Indrawati, 2010).

PCR adalah metode pendeteksian virus yang banyak dipakai baik untuk virus pada manusia, hewan maupun tumbuhan. Keunggulan PCR terletak pada kecepatan, spesivitas dan sensitivitasnya dalam mendeteksi mikroorganisme patogen, menjadikan teknik ini sebagai pilihan untuk deteksi ataupun diagnose penyakit. Selain itu PCR begitu spesifik karena dapat mendeteksi mikroorganisme pada tingkat DNANYA. Selain itu PCR juga sangat sensitif karena mampu mendeteksi satu partikel virus di dalam sel yang terinfeksi dengan cara meningkatkan jumlah DNA-nya sampai (Natsir, 2002).

Marker adalah sebuah penanda genetik berupa gen atau DNA urutan dengan lokasi yang dikenal pada kromosom yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sel-sel, individu atau spesies. Hal ini dapat digambarkan sebagai variasi (yang mungkin timbul karena adanya mutasi atau perubahan dalam lokus genomik) yang dapat diamati. Sebuah penanda genetik mungkin menjadi urutan DNA pendek, seperti urutan yang mengelilingi sebuah perubahan pasangan basa tunggal (polimorfisme nukleotida tunggal, SNP), atau panjang, seperti minisatellites. Fungsi marker adalah memainkan peran dalam rekayasa genetik, karena mereka dapat digunakan untuk memproduksi normal, protein berfungsi untuk menggantikan yang rusak. Bagian yang rusak atau cacat DNA akan dihapus dan diganti dengan identik, tetapi berfungsi, urutan gen dari sumber lain. (Wikipedia, 2010). Timbulnya suatu penyakit pada ikan dapat disebabkan tiga faktor, yaitu kondisi tubuh ikan yang kurang baik, lingkungan kolam yang kurang baik dan patogen atau hewan lain pembawa penyakit. Ketiga faktor tersebut mempunyai hubungan yang erat sekali sebab bila salah satu faktor terjadi maka serangan penyakit pasti terjadi. Sakit pada ikan yaitu suatu keadaan yang abnormal yang ditandai dengan penurunan kemampuan ikan secara gradual dalam mempertahankan fungsifungsi fisiologik normal. Pada keadaan tersebut ikan dalam kondisi tidak seimbang fisiologisnya serta tidak mampu beradaptasi atau menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan. Timbulnya kondisi tersebut disebabkan oleh adanya stress yang terjadi, stress yang terjadi karena belum adanya proses adaptasi ikan dengan lingkungan barunya, dapat juga akibat infeksi patogen yang dapat berupa virus, bakteri, fungi atau parasit. Sakit pula dapat pula di defisiensi atau mal nutrisi dan keadaan lingkungan kolam ataupun aquarium yang tidak bersih (Agus Irianto, 2006)

Penularan KHV terjadi secara horizontal diantara ikan mas dan ikan koi dengan masa inkubasi 4 – 5 hari atau lebih dari hari tersebut dan lamanya sakit 24-48 jam (perakut). Tertularnya ikan tersebut diakibatkan oleh adanya kontak individu yang terkena penyakit dengan individu yang sehat dalam satu

tempat, sehingga mengakibatkan individu yang sehat terinfeksi, penularan juga dapat terjadi melalui air yang memang mengandung banyak bibit penyakit dan kondisi lemah yang terjadi pada ikan. Dinamika infeksi penyakit pada ikan lebih disebabkan karena lingkungan air yang memfasilitasi penyebaran agensia penyebab penyakit (Farida Indrawati, 2010).

PCR adalah metode pendeteksian virus yang banyak dipakai baik untuk virus pada manusia, hewan maupun tumbuhan. Keunggulan PCR terletak pada kecepatan, spesivitas dan sensitivitasnya dalam mendeteksi mikroorganisme patogen, menjadikan teknik ini sebagai pilihan untuk deteksi ataupun diagnose penyakit. Selain itu PCR begitu spesifik karena dapat mendeteksi mikroorganisme pada tingkat DNANYA. Selain itu PCR juga sangat sensitif karena mampu mendeteksi satu partikel virus di dalam sel yang terinfeksi dengan cara meningkatkan jumlah DNA-nya sampai (Natsir, 2002).

Marker adalah sebuah penanda genetik berupa gen atau DNA urutan dengan lokasi yang dikenal pada kromosom yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sel-sel, individu atau spesies. Hal ini dapat digambarkan sebagai variasi (yang mungkin timbul karena adanya mutasi atau perubahan dalam lokus genomik) yang dapat diamati. Sebuah penanda genetik mungkin menjadi urutan DNA pendek, seperti urutan yang mengelilingi sebuah perubahan pasangan basa tunggal (polimorfisme nukleotida tunggal, SNP), atau panjang, seperti minisatellites. Fungsi marker adalah memainkan peran dalam rekayasa genetik, karena mereka dapat digunakan untuk memproduksi normal, protein berfungsi untuk menggantikan yang rusak. Bagian yang rusak atau cacat DNA akan dihapus dan diganti dengan identik, tetapi berfungsi, urutan gen dari sumber lain. (Wikipedia, 2010).

## **PENUTUP**

### **Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan:

1. Tingkat serangan infeksi ringan ditunjukkan dengan terbentuknya satu pita di 290 bp.
2. Tingkat serangan infeksi sedang ditunjukkan dengan terbentuknya dua pita yaitu 290 bp dan 440 bp.
3. Tingkat serangan infeksi berat ditunjukkan dengan munculnya tiga pita yaitu 290 bp, 440 bp, dan 630 bp.

### **Saran**

Sebaiknya diadakan uji lanjutan pada sampel yang terinfeksi ringan agar dapat dipastikan bahwa bakteri yang menginfeksi ikan yang menyebabkan luka tersebut atau pendarahan dapat diketahui dengan tepat sesuai analisa laboratorium, sehingga dapat diisolasi dan diidentifikasi.

## DAFTAR RUJUKAN

- Agus Darmawan. 2007. *Koi Harpes Virus Penyebab Kematian Massal Ikan Mas dan Koi*. Http//[www.juraganindor.com](http://www.juraganindor.com). Diakses : 5 Desember 2009.
- Agus Irianto 2005. *Patologi Ikan Teleostei*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Campbell, Reece and Mitchee. 2005. *Biologi*. Erlangga. Jakarta.
- Gilda Lio 2009. *Diagnosa, Pencegahan dan Pengendalian*. Departement A Aquaculture Asia Tenggara, Tigbauan Iloho. Filipina.
- Heru Susanto. 2008. *Panduan Memelihara Koi*. Swadaya. Jakarta.
- Kei Yuasa dkk. 2003. *Panduan Diagnosa Penyakit Pada Ikan*. Balai Budidaya Air Tawar. Jambi.
- Maskoeri Jasin .1992. *Zoologi Vertebrata*. Sinar Wijaya. Surabaya.
- Mudjiutami E, dkk. 2007. *Pengendalian Penyakit Pada Ikan Mas*. Departemen Perikanan dan Kelautan. Jakarta.
- Perelberg A. 2005. *Epidemiological Description of A New Viral Disease Affliccing Cultured Cyprinus carpio in Israel*. California State University. Amerika.
- Silvia T. Pratiwi. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Sri Sulandari S.pi.,M.Si dan M.Syamsul Arifin Zein Ir.,M.Si. 2003. *Panduan Praktis Laboratorium DNA*. Bidang Zoologi Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Septiana, dkk. 2008. *Metode Standar pemeriksaan HPIK Golongan Virus Koi Harpes Virus (KHV)*. Pusat Karantina Ikan. Jakarta.
- Sunarto A. 2005. *Prosedur pemeriksaan Virus Ikan Karantina*. Departemen Perikanan dan Kelautan. Jakarta.
- Syahriani. 2008. *Laporan Penelitian Ikan Mas*. Http//[www.ugm.ac.id](http://www.ugm.ac.id). Diakses : 24 Januari 2010.
- Syekh Saleh Ibn Abdul Asiz Ibn Muhammad Muhammad Al Syekh. 1971. *Tafsir AlQuran dan Terjemahannya*. Departemen Agama RI. Jakarta.
- Triwibowo Yuwono. 2005. *Biologi Molekuler*. Eralngga. Jakarta.
- Triwibowo Yuwono. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Andi. Yogyakarta.