

STUDI KASUS INFEKSI *TILAPIA LAKE VIRUS* (TiLV) PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)

Isti Koesharyani^{*)#}, Lila Gardenia^{**)}, Zakiyah Widowati^{***)}, Khumaira^{****)}, dan Dita Rustianti^{****)}

^{*)} Pusat Riset Perikanan

^{**)} Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan

^{***)} Balai Uji Standar Karantina Ikan

(Naskah diterima: 11 Desember 2017; Revisi final: 29 Januari 2018; Disetujui publikasi: 29 Januari 2018)

ABSTRAK

Ikan nila atau *Oreochromis niloticus* merupakan ikan konsumsi masyarakat di Indonesia. Kasus kematian massal ikan nila terjadi di beberapa lokasi budaya di Jawa, Lombok, dan Sumatera yang disebabkan oleh infeksi *Orthomyxovirus*, dan disebut sebagai *Tilapia Lake Virus* (TiLV). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi adanya infeksi TiLV dengan metode *semi-nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) pada kasus kematian massal ikan nila. Lokasi pengambilan sampel di Desa Sigerongan Kecamatan Lingsar, Lombok, Nusa Tenggara Barat. Analisis deteksi RT-PCR menggunakan sampel organ otak, ginjal, limpa, dan hati, selanjutnya dilakukan sekuensing. Hasil pengamatan terhadap gejala klinis terhadap ikan nila *moribund* terlihat kondisi mata yang buram/katarak, serta cekung, abrasi kulit, serta perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap. Hasil analisis RT-PCR menunjukkan bahwa kejadian kematian massal pada ikan nila suspektif diakibatkan oleh infeksi RNA virus TiLV. Analisis sekuensing menunjukkan bahwa TiLV dari sampel ikan nila di Lombok mempunyai kesamaan identitas genetik 97% dengan TiLV asal Israel (*Genebank Accession Number* KU 751816.1).

KATA KUNCI: nila; TiLV; *seminested* RT-PCR

ABSTRACT: *Case study of tilapia lake virus (TiLV) infection on nila (Oreochromis niloticus). By: Isti Koesharyani, Lila Gardenia, Zakiyah Widowati, Khumaira, and Dita Rustianti*

Oreochromis niloticus is the main consumption fish commodity in Indonesia. The mortality cases of Nile tilapia have occurred in several culture sites in Java, Lombok, and Sumatra due to the infection of *Orthomyxovirus*, *Tilapia Lake Virus* (TiLV). The purpose of this study was to detect the presence of TiLV infection in mass mortality case of Nile tilapia culture using the *semi-nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR). Fish samples were sourced from Segerongan Village Lingsar District, Lombok, West Nusa Tenggara. For RT-PCR analysis, samples from fish brain, kidney, spleen, and liver were collected and treated for sequencing analysis. The visual observation on the moribund tilapia had found several specific clinical symptoms such as eye cataract with sunken eyes, skin abrasion, and darkened body coloration. The result of RT-PCR analysis showed that mass mortalities of tilapia fish had been suspectively caused by the infection TiLV RNA virus. The sequencing analysis showed that TiLV samples from Lombok have a genetic similarity of 97% with TiLV from Israeli (*Genebank Accession Number* KU 751816.1).

KEYWORDS: *nile tilapia; TiLV; seminested RT-PCR*

PENDAHULUAN

Ikan nila *Oreochromis niloticus* merupakan jenis ikan air tawar yang diintroduksi dari Afrika bagian timur pada tahun 1969. Ikan ini menjadi ikan budidaya yang populer di kolam-kolam air tawar di Indonesia. Produksi ikan nila di Indonesia terus meningkat sejak tahun 2009, yaitu mencapai 99.969 ton. Menurut

Jansen & Mohan (2017), produksi global dari ikan nila diperkirakan mencapai 6,4 juta metrik ton (MMT) dan pada tahun 2015. Ada tiga produsen nila terbesar yaitu Republik Rakyat Cina dari Cina (1,78 MMT), Indonesia (1,12 MMT), dan Mesir (0,88 MMT) (FAO, 2017a). Bangladesh, Vietnam, dan Filipina adalah produsen terkemuka lainnya. Menurut data produksi di Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya (DJPB) KKP, produksi ikan nila di Indonesia sejak tahun 2013 meningkat dari 914,78 ribu ton menjadi 999,64 ribu ton pada tahun 2014, kemudian pada tahun 2015 produksi nila mencapai 1,084 juta ton dengan nilai

Korespondensi: Pusat Riset Perikanan. Gedung BRSDMKP 2, Jl. Pasir Putih II No. 2, Ancol Timur, Jakarta Utara 14430, Indonesia.
Tel. + 62 21 64700928
E-mail: istisugama@yahoo.com

ekspor sebesar 14,681 ton tetapi nilai ekspor menurun menjadi 11,879 ton pada tahun 2016. Kondisi penurunan ini kemungkinan ada hubungannya dengan kasus kematian massal akibat penyakit. Pada tahun 2016 kasus kematian massal terpantau terjadi di pembudidaya ikan di Lombok, dengan gejala menyerupai kasus infeksi virus TiLV yang pernah terjadi di Israel. Kondisi ini perlu diwaspadai karena saat ini bibit atau benih nila selain dari lokal juga diimpor dari beberapa negara lain seperti dari Thailand, Filipina, dan Amerika. Kegiatan impor benih sering menimbulkan masalah karena akan disertai pula impor penyakit. Kasus ini sama seperti kasus impor ikan hias yang juga disertai masuknya penyakit baru yang pada awalnya belum ada di Indonesia seperti Koiherpes virus (KHV) (Sunarto & Cameron, 2006). Hal yang sama juga terjadi kasus penyakit udang infectious myonecrosis virus (IMNV) pada budidaya udang di Situbondo, Jawa Timur tahun 2006 (Senapin *et al.*, 2007). Kondisi ini diduga karena adanya kegiatan impor baik benih maupun calon induk yang kurang terawasi. Akhir-akhir ini di beberapa daerah terjadi kasus kematian pada budidaya ikan nila secara massal yang kemungkinan infeksi penyakit TiLV. Virus ini merupakan genus dari famili Orthomyxoviridae, yang mereplikasi di inti sel pada jaringan ikan. TiLV yang pertama kali dilaporkan terjadi di Israel menyebar ke Ekuador dan Kolombia (Eyngor *et al.*, 2014; Bacharach *et al.*, 2016) dan ke beberapa negara seperti Mesir (Fathi *et al.*, 2017 dan Nicholson *et al.*, 2017), Thailand (Dong *et al.*, 2017a; 2017b; Surachetpong *et al.*, 2017), serta India (Behera *et al.*, 2017), serta Malaysia (Amal *et al.*, 2017). Di Indonesia sejak beberapa tahun belakangan ini sering terjadi adanya kasus kematian massal budidaya ikan nila terutama di Sumatera, Jawa, Bali, dan Lombok. Walaupun belum diketahui penyebab kematiannya, namun bila dilihat dari gejala klinis yang terlihat kemungkinan disebabkan oleh adanya infeksi virus. Tujuan penelitian ini adalah mendeteksi adanya infeksi TiLV dengan metode *Semi-Nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) pada kasus kematian massal ikan nila. Dengan demikian, kasus kematian ikan nila yang sering terjadi disentra budidaya dapat dideteksi secara dini agar mempermudah tindakan pencegahan.

BAHAN DAN METODE

Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Uji

Sampel didapat pada bulan Mei 2016, dengan terjadinya kasus kematian massal ikan nila jenis Anjani di Desa Sigerongan Kecamatan Lingsar, Lombok, Nusa Tenggara Barat. Sampel ikan *moribund/mati* diambil

beberapa organ berupa otak, hati, ginjal, dan limpa, kemudian disimpan dalam alkohol 90% untuk dilakukan pengujian di laboratorium.

Deteksi TiLV dengan Metode *Semi-nested Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

Pada masing-masing organ seperti otak, hati, ginjal, dan limpa yang didapat, diekstrak menggunakan Kit RNA *solution* dari IQ 2000 System, selanjutnya konsentrasi RNA diukur menggunakan Nanodrop. RNA kemudian diamplifikasi menggunakan spesifik primer untuk TiLV. Pasangan primer yang digunakan didesain oleh Eyngor *et al.* (2014) dan Tsofack *et al.* (2016), amplifikasi dilakukan secara *semi-nested* RT-PCR (Dong *et al.*, 2017a). Pada proses *semi-nested* RT-PCR dilakukan dengan menggunakan *primers forward* pada amplifikasi pertama. Adapun susunan sekuen primer yang dipakai dapat dilihat pada Tabel 1.

Amplifikasi pertama (*first round*) RT-PCR dilakukan dalam total volume 25 μL , masing-masing sampel menggunakan AMV reverse enzyme 0,5 μL ; Go Tag Green 12,5 μL ; *primers reverse* Nested ext-1; dan *forward* ME1 dengan konsentrasi 10 pMol masing-masing sebanyak 1 μL , template RNA (100 ng) sebanyak 2 μL , dan ddH₂O sebanyak 8 μL . Kemudian untuk analisis *semi-nested*, komposisi untuk bahan amplifikasi menggunakan Go Tag Green 12,5 μL dengan total volume 25 μL , masing-masing sebanyak 1 μL primer 7450/150R/ME2 dan ME1, 2 μL template c-DNA menggunakan hasil amplifikasi pertama. Amplifikasi dilakukan pada mesin thermalcycler T100 Biorad. Pada siklus amplifikasi RT-PCR pertama dan *semi-nested* adalah sebagai berikut: untuk proses sintesis c-DNA menggunakan *reverse enzyme* dilakukan pada suhu 50°C selama 30 menit, dilanjutkan dengan pre-denaturasi 94°C selama dua menit. Kemudian proses amplifikasi dilakukan sebanyak 30 kali siklus, dengan proses denaturasi, anaeling, dan elongasi: masing-masing pada suhu 94°C selama 30 detik, 60°C (30 detik), dan 72°C (30 detik). Pada proses terminasi digunakan suhu 72°C selama tujuh menit. Langkah berikutnya untuk siklus amplifikasi *semi-nested* menggunakan proses yang sama seperti amplifikasi pertama tetapi tanpa melakukan proses in-aktivasi *reverse enzyme*. Adapun target berat molekul untuk amplifikasi pertama adalah di 415 bp yang mengindikasikan bahwa sampel tersebut terinfeksi berat dan *semi-nested* di 250 bp yang merupakan indikator infeksi ringan. Hasil amplifikasi selanjutnya dielektroforesis pada 1,5% *agarose* dalam *buffer* 1x Tris-acetate-EDTA (TAE) dan didokumentasikan dengan gel dokumentasi.

Tabel 1. Sekuen pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi TiLV dengan metode semi-nested RT PCR pada ikan nila

Table1. The sequence of primer pairs for TiLV detection using the semi-nested RT-PCR on tilapia fish

Prime name	Sekuensi (5'-3') Sequence (5'-3')	Product size (bp)	Referensi Reference
Nestedext-1	TATGCAGTACTTTCCCTGCC	415	Eyngo <i>et al.</i> (2014)
ME1	GTTGGGCACAAGGCATCCTA		
7450/150R/ME2	TATCACGTGCGTACTCGTTCACT	250	Tsofack <i>et al.</i> (2016)

Filogenetik dan Similarity Indeks DNA Sekuens TiLV

Analisis DNA sekuens TiLV dilakukan di Balai Uji Standar Karantina, Badan Karantina Ikan Cilangkap, Jakarta. Sekuensing dilakukan pada bagian segmen 3 dari 10 segmen genom RNA TiLV dengan menggunakan primer ME1 dan Ext1 pada amplicon dengan target panjang segmen 415 bp. Komposisi reaksi sekuensing adalah BDT (2.5X) 2 µL, Seq Buffer (5X) 3 µL, Seq primer tunggal (10 µM) 3.2 pmol (≈1 µL), DNA template 10 ng/100 bp (≈ 1-2 µL), *nuclease free water* hingga volume akhir reaksi sebesar 20 µL, *Thermal cycle* amplifikasi yang digunakan sesuai dengan Tabel 2. Hasil amplifikasi kemudian dianalisis pada *sequencer ABI 3130 CE*. *Similarity* sekuens nukleotida TiLV atau *Nucleotide Sequence similarity* dilakukan dengan mensejajarkan DNA sekuens pada GenBank dengan program BLASTN *database* atau *nucleotide blast* pada (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Analisis filogenetik sekuens DNA TiLV dari ikan nila di Lombok dilakukan dengan membandingkan DNA sekuens TiLV yang sudah terdaftar di Genbank, menggunakan *software Neighbor-joining BIOEDIT MEGA Vesion 7*.

HASIL DAN BAHASAN

Kematian massal ikan nila strain "Anjani" telah terjadi pada bulan Mei 2016 di kelompok pembudidaya

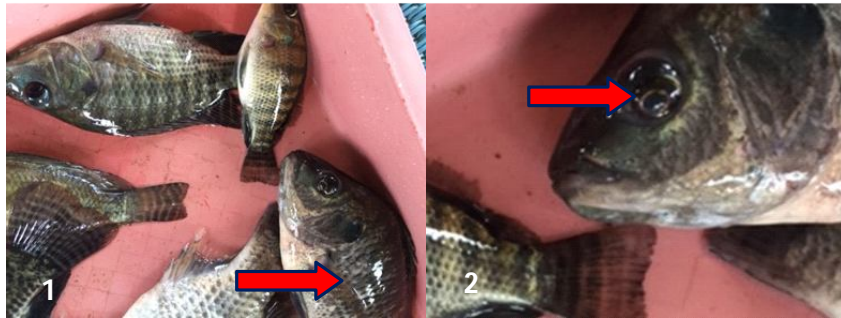
Embung Biru Desa Sigerongan Kecamatan Lingsar Kabupaten Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat. Bila dilihat dari gejala klinis ikan yang terinfeksi, serta tingkat kematian ikan yang sangat tinggi (70%-100%) mengindikasikan bahwa kematian massal tersebut terjadi akibat infeksi virus. Adapun secara fisik gejala yang terlihat adalah warna kulit bagian tubuh merubah menjadi lebih gelap atau menghitam, adanya luka pada kulit, pembengkakan rongga perut, sedangkan pada bagian mata mengalami *exophthalmia* dan buram/katarak (Gambar 1.)

Gejala klinis pada kasus kematian ikan nila di Lombok ini hampir sama seperti pada kasus kematian ikan nila yang terjadi di Israel dan Mesir, yaitu adanya kelainan pada mata, letargi atau lemas, serta gejala fisik lain seperti erosi kulit dan kematian massal lebih dari 80% (Eygnor *et al.*, 2014). Gejala adanya infeksi TiLV di Thailand dilaporkan bahwa ikan nila kehilangan kemauan memangsa pakan, warna tubuh menjadi pucat, berkelompok di dasar bak, pergerakan lamban, tidak aktif, dan pada akhirnya mengalami mortalitas (Dong *et al.*, 2017a). Kasus infeksi TiLV di Asia terutama di Thailand ternyata sudah ada sejak tahun 2012 ditunjukkan dari hasil analisis secara *semi-nested RT-PCR*, terdapat pada *yolk-sac larvae* red tilapia. Selain itu, infeksi TiLV ini juga menginfeksi ikan nila pada stadia *fingerling* (Dong *et al.*, 2017b). Kasus infeksi di

Tabel 2. Siklus suhu amplifikasi untuk DNA sequencing TiLV ikan nila

Table2. Thermal cycle amplification for DNA sequencing of TiLV of tilapia fish

Denaturasi awal Early denaturation		Kecepatan perubahan suhu Rapid thermal ramp						Hold	
Suhu Temperature	Waktu Time	Suhu Temperature	Waktu Time	Suhu Temperature	Waktu Time	Suhu Temperature	Waktu Time	Suhu Temperature	Waktu Time
25 siklus (25 cycles)									
96°C	1 menit 1 minute	96°C	10 detik 10 second	50°C	5 detik 5 second	60°C	4 menit 4 minute	4°C	~



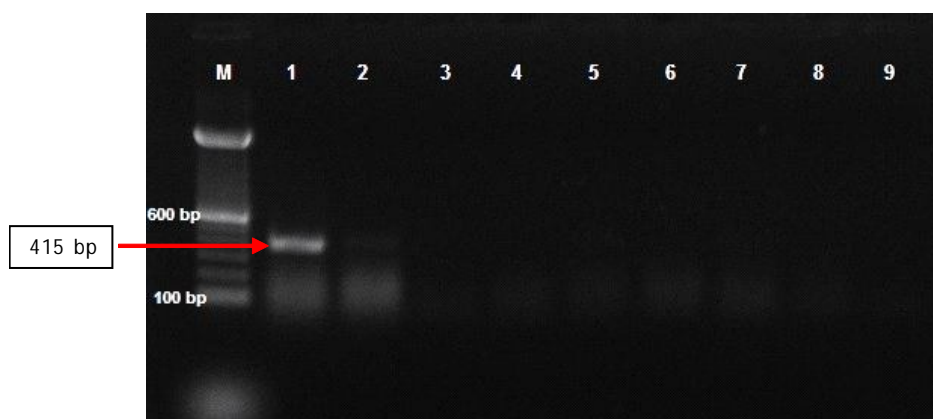
Gambar 1. Gejala klinis infeksi TiLV ikan nila Anjani di Desa Sigerongan Kecamatan Lingsar, Lombok (1. perubahan warna tubuh; 2. kerusakan pada mata).

Figure 1. Clinical symptoms of TiLV infection on Nile Anjani strain in Sigerongan Village Lingsar District, Lombok (1. changes body coloration; 2. eyes damages).

Lombok terjadi pada ikan nila ukuran 8-12 cm dan gejala klinis terindikasi infeksi virus dengan adanya kematian massal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari ke-4 jenis organ yang digunakan sebagai bahan uji ternyata organ otak adalah target infeksi TiLV. Hal ini terbukti dari hasil analisis RT-PCR dengan tampilan elektroforesis menunjukkan bahwa organ otak sudah terdeteksi pada tahap amplifikasi pertama (*first round*) yaitu terlihat adanya pita DNA yang sesuai target sebesar 415 bp. Dengan demikian infeksi virus TiLV lebih banyak terakumulasi dan berkembang di organ otak (Gambar 2). Penelitian yang telah dilakukan menggunakan *cell line culture*, TiLV ini hanya dapat hidup pada *primary tilapia brain cells* atau pada kultur sel

E-11 dan *cytopathic effect* dapat terlihat pada hari ke-5 sampai hari ke-10 *post infection*. Gambaran sel TiLV pada *electron microscopy* berbentuk *enveloped icosahedral* dengan diameter partikel 55-75 nm (Eyngor *et al.*, 2014).

Analisis *semi-nested* selanjutnya dilakukan untuk menentukan lebih pasti ada tidaknya organ yang terpapar oleh TiLV, mengingat metode tersebut dapat meningkatkan sensitivitas deteksi. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada organ hati, ginjal, dan limpa terlihat terjadi infeksi virus TiLV dengan adanya pita DNA dengan berat molekul 250 bp. Hal ini merupakan indikasi bahwa TiLV belum banyak berkembang pada



Gambar 2. Hasil amplifikasi pertama RT-PCR nila *O. niloticus strain* Anjani dari organ uji yang berbeda (1 & 2: otak; 3 & 4: hati; 5 & 6: ginjal; 7 & 8: limpa; 9: negatif kontrol; M: marker 100 bp DNA ladder).

Figure 2. Amplification result on the first round RT-PCR on Nile *O. niloticus strain* Anjani from different organs (1 & 2: brain; 3 & 4: heart; 5 & 6: kidney; 7 & 8: spleen; 9: negative controls; M: 100 bp marker of DNA ladder).

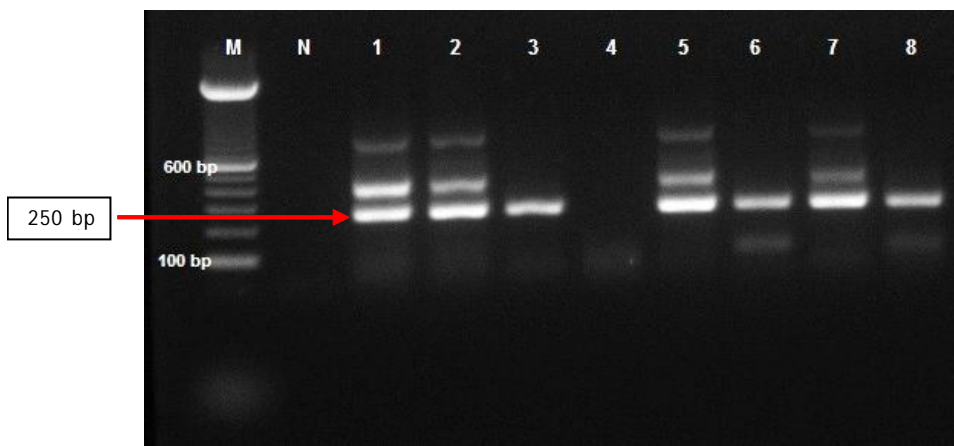
organ-organ tersebut dibandingkan pada otak. Kondisi tersebut dapat memberikan gambaran bahwa pada organ hati, limpa, dan ginjal baru terjadi infeksi awal TiLV. Dengan hasil analisis molekuler menggunakan *semi-nested* RT-PCR menunjukkan bahwa kematian ikan nila *O. niloticus strain* Anjani yang terjadi di Lombok secara suspektif disebabkan oleh adanya infeksi TiLV dengan stadium infeksi yang berbeda pada setiap organ (Gambar 3).

Pada deteksi ini tidak menggunakan positif kontrol, tetapi dari hasil analisis menunjukkan bahwa fragmen DNA berada pada target berat molekul 450 bp, sesuai dengan target *region* primer spesifik yang digunakan. Pada target berat molekul 415 bp menunjukkan bahwa ikan nila positif terinfeksi dengan tingkatan berat, sedangkan pada infeksi ringan DNA hasil amplifikasi terlihat pada berat molekul 250 bp. Pengujian *semi-nested* RT-PCR mempunyai sensitivitas yang lebih baik, seperti dilihat pada Tabel 3.

Analisis sekuensing dan pilogenetik kekerabatan TiLV dilakukan pada bagian segmen-3 dari 10 segmen genom RNA TiLV, karena segmen-3 ini merupakan pembeda (*encode region*) dengan genus *Orthomyxovirus* dari virus Influenza C PB1 yang hanya terdapat pada segmen-1. Dengan demikian, bagian segmen-3 ini digunakan untuk mengetahui sifat atau karakter genetik TiLV ikan nila asal Lombok. Hasil analisis sekuensing dan filogenetik menggunakan primer ME1 dan Ext1 pada amplikon 415 bp yang dianalisis dengan BIOEDIT MEGA Versi 7, menunjukkan bahwa TiLV yang berasal dari Lombok berada dalam satu kluster dengan

TiLV yang berasal dari India (Gambar 4), sehingga dapat dikatakan bahwa TiLV dari ikan nila India dan Lombok mempunyai kekerabatan yang dekat. Berdasarkan analisis *similarity* antara sekuens DNA dari TiLV ikan nila Lombok yang disejajarkan dengan sekuens DNA pada Gen Bank menunjukkan adanya kesamaan sebesar 97% dengan TiLV dari Israel (KU 751816 & KJ 605629), Thailand (KY 381578), dan India (MF 502419 dan MF 582636). Hal ini sesuai dengan pola sebaran TiLV yang berasal dari Israel, ke Asia Timur (India), dan Asia Tenggara (Thailand).

Indonesia yang selama ini masih bergantung pada benih impor terutama dari beberapa Negara Asia untuk memenuhi ekspor *fillet* nila ke USA dan Eropa ini, sangat memerlukan perhatian terutama dalam lalu lintas pemasukan ikan nila dari negara asing. Beberapa negara seperti Thailand sudah mendeteksi adanya TiLV sejak tahun 2012 (Dong *et al.*, 2017b) dan Selangor, Malaysia pun sudah diketahui adanya kasus infeksi TiLV (Amal *et al.*, 2017). Nampaknya, besar dugaan kemungkinan terjadinya kasus infeksi TiLV pada budidaya ikan nila yang ada di Lombok, adalah melalui impor benih. Oleh karena itu, persyaratan dan peraturan yang tegas untuk impor ikan atau udang budidaya harus bebas penyakit. Pada saat ini kasus infeksi TiLV pada ikan nila ternyata suspektif sudah menyebar ke beberapa lokasi budidaya selain di Lombok, TiLV juga menginfeksi di sentra budidaya ikan nila di Medan, Jambi, Bali, Brebes, Jogjakarta, Cirebon, dan beberapa daerah di Jawa Barat (anonim/ *personal* komunikasi). Penyakit lain yang dapat



Gambar 3. Hasil amplifikasi nila *O. niloticus strain* Anjani *semi-nested* RT-PCR pada organ uji yang berbeda (N: negatif kontrol; 1 & 2: otak; 3 & 4: hati; 5 & 6: ginjal; 7 & 8: limpa; M: marker 100 bp DNA ladder).

Figure 3. The result of *semi-nested* RT-PCR amplification on tilapia fish *O. niloticus* Anjani strain on different organs tested (N: negative control; 1 & 2: brain; 3 & 4: heart; 5 & 6: kidney; 7 & 8: spleen; M: 100 bp marker of DNA ladder).

Tabel 3. Hasil analisis *semi-nested* RT-PCR pada ikan nila *O. niloticus strain* Anjani dengan organ uji yang berbeda
 Table 3. *Result of semi-nested RT-PCR analysis on tilapia fish O. niloticus Anjani strain with different organs tested*

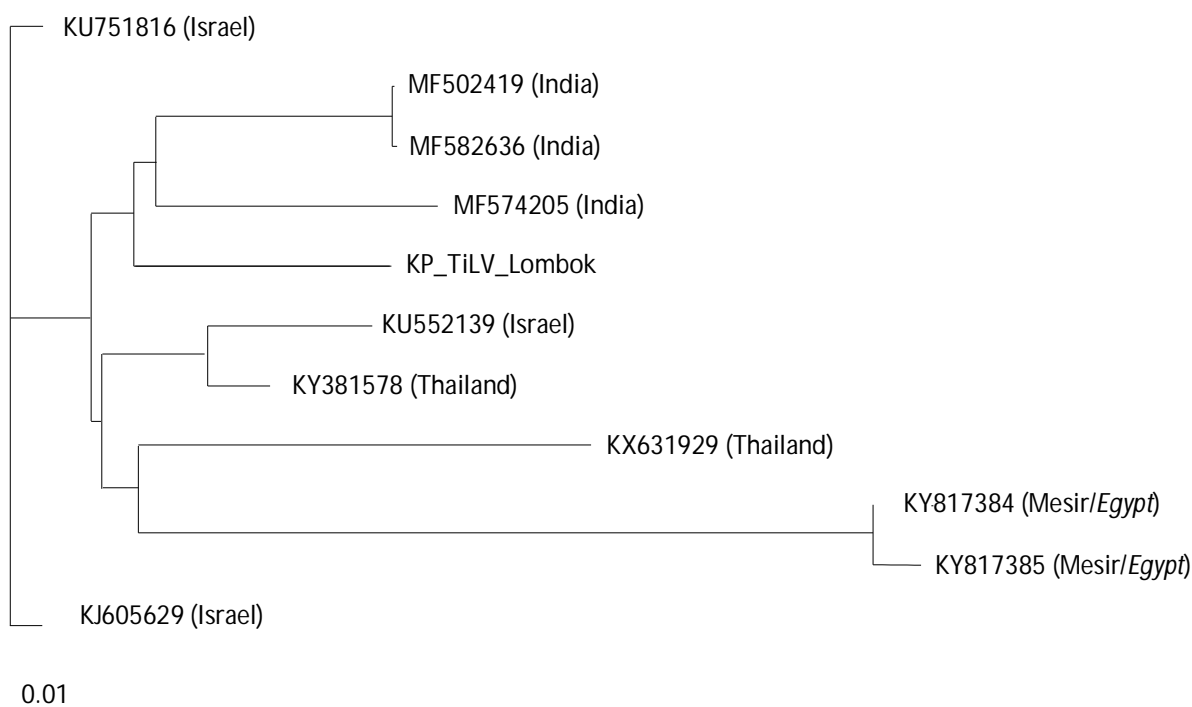
Organ	Hasil PCR (PCR result)	
	Primers	
	EXT-1 & ME-1 415 bp	ME-1 & ME-2 250 bp
Otak-1 (Brain-1)	Positif (Positive)	Positif (Positive)
Otak-2 (Brain-2)	Positif (Positive)	Positif (Positive)
Hati-2 (Liver-1)	Negatif (Negative)	Positif (Positive)
Hati-2 (Liver-2)	Negatif (Negative)	Negatif (Negative)
Ginjal-1 (Kidney-1)	Negatif (Negative)	Positif (Positive)
Ginjal-2 (Kidney-2)	Negatif (Negative)	Positif (Positive)
Limpa-1 (Spleen-1)	Negatif (Negative)	Positif (Positive)
Limpa-2 (Spleen-2)	Negatif (Negative)	Positif (Positive)

menyerang budidaya ikan nila walaupun kasus ini belum pernah ditemukan di Indonesia adalah infeksi betanoda virus (RNA virus) yang biasa ditemukan pada ikan kakap/kerapu. Betanoda virus ini menyerang larva ikan nila ukuran 0-7 setelah menetas (*post-hatching larvae*) dengan gejala adanya kerusakan jaringan pada bagian otak berupa vakuolasi (Bigarre *et al.*, 2009). Secara umum kerugian akibat adanya penyakit khususnya infeksi TiLV mengakibatkan kerugian sosial ekonomi dan dampaknya terhadap ketahanan pangan, tetapi

tidak berdampak terhadap kesehatan manusia (Jansen & Mohan, 2017). Antisipasi untuk menekan penyebaran infeksi TiLV ini adalah dengan melakukan eradikasi, serta sertifikasi kesehatan ikan. Ke depan pencegahan infeksi TiLV pada ikan nila perlu dikembangkan melalui vaksinasi untuk menekan penyebaran penyakit. Pembuatan vaksin dengan *cell line culture* menjadi pilihan, sehingga dapat meningkatkan produksi ikan nila sebagai sumber devisa negara di Indonesia.

Tabel 4. Perbandingan nukleotida dan sekuen asam amino TiLV Indonesia dengan Israel, Thailand, India, dan Mesir
 Table 4. *Comparison of nucleotide and amino acid sequences of TiLV Indonesia, Israel, Thailand, India, and Egypt*

Nukleotida yang diperiksa <i>Examined nucleotides (%)</i>	Nilai error <i>Error value</i>	Kemiripan identitas <i>Similarity identity (%)</i>	Negara <i>Country</i>	Inang <i>Host</i>
100	0	97	Israel: Sea of Galilee	KU751816
100	0	97	Israel: Sea of Galilee	KJ605629
100	0	97	Thailand	KY381578
100	0	97	India	MF502419
100	0	96	India	MF574205
97	0	97	India	MF582636
100	8E-177	95	Thailand	KX631923
85	2E-168	98	Israel	KU552135
58	3E-101	95	India	MF574206
59	8E-92	93	Egypt; farm-3	KY817385
59	4E-90	93	Egypt; farm-8	KY817384
48	2E-83	96	Israel	KU552139



Gambar 4. Gambaran filogenetik berdasarkan urutan nukleotida pada segmen-3 menggunakan *software* BIOEDIT-MEGA Versi 7, *strain* antara TiLV asal Lombok (KP TiLV Lombok) (tanda panah) dengan, Israel (KU751816, KJ605629, dan KU552139), Thailand (KY381578 dan KX631923), India (MF502419, MF574205, dan MF582636), Mesir (KY817385 dan KY817384).

Figure 4. *Phylogenetic tree showing the relationship based on segmen-3 nucleotide sequence of TiLV using BIOEDIT-MEGA Versi 7 software, between strain from Lombok (KP TLV Lombok) (red arrow) to Israel (KU751816, KJ605629, and KU552139), Thailand (KY381578 and KX631923), India (MF502419, MF574205, and MF582636), Egypt (KY817385 and KY817384).*

KESIMPULAN

Kasus kematian massal budidaya ikan nila di Lombok yang telah dideteksi dengan metode *semi-nested* RT PCR dan sekuensing menggunakan spesifik primer, secara suspektif disebabkan oleh infeksi TiLV. Sekuen DNA dari TiLV ikan nila Lombok mempunyai kesamaan sebesar 97% dengan TiLV dari Israel, Thailand, dan India.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan Kepada Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Mataram yang telah memberi kesempatan untuk mendapatkan sampel uji dan Balai Uji Standar Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan yang telah memberikan fasilitas pengujian dan analisis sehingga tersusunnya naskah publikasi ini.

DAFTAR ACUAN

Amal, M.N.A., Koh, C.B, Nurliyana, M., Suhaiba, M., Nor-Amalina, Z., Santh, S., Diyana-Nadhirah, K.P.,

Yusof, M.T., Ina-Salwany, M.Y., & Zamri-Saad, M. (2017). A case of natural co-infection of *Tilapia Lake Virus* and *Aeromonas veronii* in a Malaysian red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) farm experiencing high mortality. *Aquaculture*, 485, 12-16; <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.019>.

Bacharach, E., Mishra, N., Briese, T., Zody, M.C., Kembou Tsofack, J.E., Zamostiano, R., & Lipkin, W.I. (2016). Characterization of a Novel Orthomyxo-like Virus Causing Mass Die-Offs of Tilapia. *MBio*, 7, 1-7.

Beheraa, B.K., Pradhanb, P.K., Swaminathanc, T.R., Soodb, N., Prasenjit Pariaa, Abhishek Dasa, Vermab, D.K., Kumarc, R., Yadavb, M.K., Devb, A.K., Paridaa, P.K., Dasa, B.K., Lalb, K.K., & Jenad, J.K. (2017). Emergence of *Tilapia Lake Virus* associated with mortalities of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India. *Aquaculture*, 484, 168-174; <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.025>.

- Bigarre, L., Cabon, J., Baud, M., Heimann, M., Body, A., Lieffrig, F., & Castric, J. (2009). Outbreak of betanodavirus infection in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in fresh water. *Journal of Fish Diseases*, 32, 667-673; doi: 10.1111/j.1365-2761.2009.01037.x.
- Dong, H.T., Siriroo, S., Meemetta, W., Santimanawong, W., Gangnonngiw, W., Pirarat, N., Khunrae, K., & Senapin, S. (2017a). Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture*, 476, 111-118.
- Dong, H.T., Atagubac, G.A., Khunraea, P., Rattanarajponga, T., & Senapin, S. (2017b). Evidence of TiLV infection in tilapia hatcheries in Thailand from 2012 to 2017 reveals probable global spread of the disease; doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.06.035.
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Tsofack, J.E.K., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., & Eldar, A. (2014). Identification of a Novel RNA Virus Lethal to Tilapia. *Journal of Clinical Microbiology*, 52, 4137-4146.
- Fathi, M., Dickson, C., Dickson, M., Leschen, W., Baily, J., Muir, F., Ulrich, K., & Weidmann, M. (2017). Identification of Tilapia Lake Virus in Egypt in Nile tilapia affected by 'summer mortality' syndrome. Short communication. *Aquaculture*, 473, 430-432; <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.014>.
- Food and Agriculture Organization [FAO] of the United Nations. (2017a). Global aquaculture production. Rome: FAO. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>.
- Jansen, M.D., & Mohan, C.V. (2017). Tilapia lake virus (TiLV): Literature review. Penang, Malaysia: CGIAR Research Program on Fish Agri-Food Systems. Working Paper: FISH-2017-04.
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., & Jores, J. (2017). Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. Short Communication. *Journal of Fish Disease*, p. 1925-1928; doi: 10.1111/jfd.12650.
- Senapin, S., Phewsaiya, K., Briggs, M., & Flegel, T.W. (2007). Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. *Aquaculture*, 266, 32-38.
- Sunarto, A., & Cameron, A. (2006). Epidemiology and control of Koi herpes virus in Indonesia. *Proceedings of the 11th International Symp. on Vet. Epi and Eco*. www.sciquest.org.nz
- Surachetpong, W., Janetanakit, T., Nonthabenjawan, N., Tattiyapong, P., Sirikanchana, K., & Amonsin, A. (2017). Outbreaks of Tilapia Lake Virus Infection, Thailand, 2015-2016. *Emerging Infectious Diseases*, 23(6), 1031-1033; doi: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2306.161278>; www.cdc.gov/eid.
- Tsofack, J.E.K., Zamostiano, R., Watted, S., Berkowitz, A., Rosenbluth, E., Mishra, N., & Bacharach, E. (2016). Detection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in clinical samples by culturing and nested RT-PCR. *J. Clin. Microbiol.*; doi: 10.1128/JCM.01808-16.