

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## PEMBERIAN VAKSIN DNA ANTI-KHV IKAN MAS DENGAN DOSIS BERBEDA TERHADAP BENIH IKAN KOI

Eni Kusri<sup>\*)#</sup>, Sri Nuryati<sup>\*)</sup>, Siti Zubaidah<sup>\*)</sup>, dan Lili Sholihah<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Balai Riset Budidaya Ikan Hias  
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16346

<sup>\*)</sup> Institut Pertanian Bogor  
Jl. Raya Dramaga, Babakan, Dramaga, Babakan, Kec. Dramaga, Bogor, Jawa Barat 16680

(Naskah diterima: 4 April 2019; Revisi final: 6 Agustus 2019; Disetujui publikasi: 6 Agustus 2019)

### ABSTRAK

Salah satu upaya penanggulangan wabah koi herpes virus (KHV) yang biasa menyerang ikan koi dan ikan mas adalah dengan pemberian vaksin DNA. Vaksin DNA dapat merangsang kekebalan spesifik dan kekebalan yang ditimbulkan relatif tinggi, serta aman digunakan. Penelitian ini bertujuan menguji beberapa dosis vaksin DNA terhadap benih ikan koi sehingga didapatkan dosis yang tepat yang dapat memberikan RPS (*relative percent survival*) dan imunitas terbaik. Perlakuan yang diberikan adalah vaksinasi dengan dosis berbeda melalui teknik injeksi secara intra muskular, yaitu perlakuan A (7,5 µg/100 µL), B (10 µg/100 µL), C (12,5 µg/100 µL), serta kontrol positif (ikan tidak divaksinasi tetapi diuji tantang) dan kontrol negatif (ikan tidak divaksinasi dan tidak diuji tantang). Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin dengan dosis berbeda mampu meningkatkan sintasan pada ikan koi, serta vaksin DNA dengan dosis 12,5 µg/100 µL mampu memberikan nilai sintasan ikan koi yang diinfeksi KHV sebesar 97,22% dan memberikan nilai RPS sebesar 95,83 ± 0,58%; serta memberikan gambaran sistem imun terbaik dibandingkan perlakuan lainnya.

**KATA KUNCI:** ikan koi; vaksin DNA; KHV; sintasan; dosis

**ABSTRACT:** *Treatment of DNA vaccines anti\_KHV goldfish with different dosage of koi fish seeds. By: Eni Kusri, Sri Nuryati, Siti Zubaidah, and Lili Sholihah*

*One of the alternatives to deal with the koi herpesvirus (KHV) infections in koi fish and common carp is through the use of DNA vaccine. DNA vaccines can stimulate a high level of specific immune responses and induced immunity and are relatively safe to be used. This research was aimed to determine the effective dose of DNA vaccine for the best relative percent survival (RPS) and immunity. The treatments consisted of different vaccine doses administered through intramuscular injection: treatment A (7.5 µg/100 µL), B (10 µg/100 µL), C (12.5 µg/100 µL), and the positive control (non-vaccinated fish but challenged by KHV test) and negative control (non-vaccinated fish and not challenged by KHV test). The results showed that the administration of the vaccine with different doses had increased the survival of koi fish across all treatments (excluding positive and negative controls). Vaccine dose of 12.5 µg/100 µL was considered as the best vaccine dose. The vaccine dose had produced the best survival value of 97.22% and resulted in the highest RPS values of 95.83 ± 0.58%. DNA vaccine is expected to be the future vaccine.*

**KEYWORDS:** koi fish; DNA vaccines; KHV; survival rate; dose

### PENDAHULUAN

Ikan hias koi (*Cyprinus carpio*) merupakan salah satu jenis ikan hias air tawar yang memberikan sumbangan besar bagi devisa negara dari sektor industri perikanan. Budidaya ikan hias ini sudah berkembang

pesat di masyarakat, bahkan di beberapa daerah telah menjadi sentra produksi ikan hias koi. Namun, dalam perkembangannya budidaya ikan hias koi tidak luput dari kendala produksi yang disebabkan oleh serangan penyakit. Salah satu wabah yang dapat merugikan pembudidaya bahkan sampai gulung tikar adalah serangan KHV (koi herpes virus). Wabah penyakit KHV menyerang ikan mas dan ikan hias koi sejak awal tahun 2002, sebagai salah satu penyebab adalah masuknya ikan koi impor pembawa virus KHV. Wabah

# Korespondensi: Balai Riset Budidaya Ikan Hias.  
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16346, Indonesia.  
Tel. + 62 21 7520482  
E-mail: [enikusrini1309@gmail.com](mailto:enikusrini1309@gmail.com)

KHV tersebut menyebar ke seluruh sentra budidaya ikan mas dan ikan koi, dan menyebabkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Akibatnya, aktivitas perdagangan ikan hidup dari satu daerah ke daerah lain terganggu.

Koi herpes virus (KHV) ini dapat menyebabkan gagal panen atau panen dini. Puluhan atau bahkan ratusan kasus kematian ikan mas dan koi akibat infeksi KHV tersebut hingga saat ini sangat meresahkan pembudidaya kedua jenis ikan tersebut, termasuk pelaku usaha lainnya. Infeksi KHV terjadi pada saat musim hujan atau pada saat suhu rendah yang berkisar 17°C-24°C. Penyakit ini sangatlah menular, menyerang semua stadia ikan, dan bersifat ganas sehingga dapat menyebabkan kematian massal sekitar 80%-100%. Menurut Hedrick *et al.* (2005), infeksi KHV ditandai dengan ciri eksternal, yaitu pembengkakan dan nekrosis pada filamen insang, produksi lendir berlebih ataupun perubahan warna kulit, sedangkan ciri internalnya adalah terjadinya pembengkakan pada limpa dan ginjal. Selain itu, biasanya diikuti oleh infeksi sekunder berupa luka atau bercak putih di permukaan tubuh yang disebabkan oleh *Aeromonas hydrophila* dan/atau *Flexibacter columnaris* (Mudjiutami *et al.*, 2009). Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi penyakit tersebut, di antaranya adalah pembentukan posko penanggulangan wabah, sarasehan, pelatihan daerah terinfeksi dengan Surat Keputusan Menteri Departemen Kelautan dan Perikanan Nomor 28 dan 40 tahun 2002, serta vaksinasi.

Vaksinasi yang pernah dilakukan untuk menanggulangi penyakit KHV adalah vaksin komersial yang berasal dari virus yang dilemahkan dan telah diproduksi oleh pabrikan. Namun, vaksin komersial ini memiliki beberapa kelemahan selain harga yang mahal, harus ekspor dari Israel, aplikasinya pada suhu dingin, dan sekarang statusnya sudah tidak ada di pasaran. Penemuan vaksin DNA yang diisolasi dari DNA anti virus KHV ikan mas telah berhasil diaplikasikan pada ikan mas (Nuryati *et al.*, 2010b).

Pada penelitian ini digunakan vaksin yang dibuat dari DNA anti virus KHV pada ikan hias koi. DNA vaksin tersebut diharapkan dapat efektif dalam mencegah serangan penyakit KHV yang setiap tahun selalu muncul terhadap ikan koi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap ikan mas di Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar (BBPBAT) Sukabumi, dengan penggunaan vaksin  $10^{-3}$  dapat meningkatkan sintasan ikan sebesar 73,33% lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya (Laelawati, 2008). Penelitian lainnya yang dilakukan di Institut Pertanian Bogor (IPB) telah membuktikan bahwa vaksinasi tiga kali seminggu memberikan kelangsungan hidup relatif 84,6% (Nuryati, 2015).

Vaksin DNA merupakan salah satu metode pencegahan penyakit melalui vaksinasi dengan prinsip kerja meningkatkan sistem kekebalan spesifik pada inang. Vaksin DNA diperkirakan menjadi vaksin masa depan karena memiliki beberapa keunggulan, yaitu mudah dikembangkan dan diproduksi, tidak menimbulkan infeksi, bersifat stabil sehingga memudahkan dalam penyimpanan dan mampu mengaktifasi sistem kekebalan tubuh baik humoral maupun seluler (Lorenzen & Lapatra, 2005; Nuswantoro *et al.*, 2012). Vaksin DNA cukup efektif mencegah penyakit viral *haemorrhagic septicaemia virus* (VHSV) pada ikan salmon (Lorenzen & Lapatra, 2005) dan KHV pada ikan mas dan koi (Nuryati *et al.*, 2010b; Zhou *et al.*, 2014a; Zhou *et al.*, 2014b) sehingga dapat menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi.

Penelitian ini bertujuan menguji beberapa dosis vaksin DNA terhadap benih ikan koi sehingga didapatkan dosis yang tepat yang dapat memberikan RPS dan imunitas terbaik.

## BAHAN DAN METODE

### Kultur Bakteri Pembawa Vaksin

Bakteri *Escherichia coli* pembawa vaksin DNA yang diisolasi dari DNA ikan mas (Nuryati *et al.*, 2010b; Zhou *et al.*, 2014a; Zhou *et al.*, 2014b) yang disimpan dalam gliserol pada suhu (-80°C) diambil menggunakan tusuk gigi steril dan digoreskan kuadran pada media m LB polipepton + ampisilin untuk mendapatkan koloni tunggal. Sel bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam, lalu disimpan pada suhu 4°C hingga akan digunakan. Untuk perbanyak plasmid, bakteri dikultur di media cair menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 240 rpm selama 16-18 jam dan selanjutnya dipanen.

Pemanenan bakteri dan *pelleting* bakteri bertujuan untuk memisahkan sel bakteri dengan media kultur. Sebanyak 20 mL bakteri hasil kultur dituangkan secara parsial ke dalam masing-masing *microtube* bervolume 1,5 mL; lalu disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm dan suhu 4°C selama 30 detik. Hasil *pelleting* bakteri dicuci dengan 1 mL PBS (*phospate buffer saline*) sebanyak tiga kali. Setelah dicuci dengan PBS, bakteri dimatikan dengan perlakuan panas pada suhu 80°C selama lima menit dan diresuspensi kembali dengan PBS sebanyak 1 mL kemudian diisolasi plasmidnya (Nuryati *et al.*, 2010b).

### Vaksinasi dan Uji Tantang

Ikan uji yang digunakan adalah benih koi hasil produksi di Balai Riset Budidaya Ikan Hias (BRBIH) Depok yang memiliki bobot rata-rata  $16,98 \pm 0,20$  g

dengan panjang rata-rata  $12,62 \pm 0,71$  cm sebanyak 240 ekor yang ditebar ke dalam 15 akuarium berukuran 45 cm x 40 cm x 40 cm, sehingga masing-masing akuarium diisi 15 ekor ikan uji. Ulangan yang digunakan untuk masing-masing perlakuan sebanyak empat ulangan, tiga ulangan digunakan untuk pengamatan sintasan dan RPS, sedangkan satu ulangan (ulangan keempat) digunakan untuk pengamatan gambaran darah. Kemudian vaksin yang digunakan adalah vaksin DNA anti-KHV hasil temuan Nuryati *et al.* (2010b; 2013). Sebelum divaksin benih ikan koi diadaptasikan terlebih dahulu terhadap kondisi lingkungan selama satu bulan, kemudian vaksin DNA diambil dengan *syring* dan diinjeksikan ke ikan sebanyak 0,1 mL dengan frekuensi satu kali.

Adapun rancangan perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

Perlakuan A: ikan diberi vaksin DNA secara intra muskular dengan dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$  sebanyak satu kali dan diuji tantang dengan filtrat KHV

Perlakuan B: ikan diberi vaksin DNA secara intra muskular dengan dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$  sebanyak satu kali dan diuji tantang dengan filtrat KHV

Perlakuan C: ikan diberi vaksin DNA secara intra muskular dengan dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$  sebanyak satu kali dan diuji tantang dengan filtrat KHV

Kontrol positif (K+): ikan tanpa diberi vaksin DNA dan diuji tantang dengan filtrat KHV

Kontrol negatif (K-): ikan tanpa diberi vaksin DNA dan tidak diuji tantang dengan filtrat KHV

Setelah ikan dipelihara selama 28 hari, perlakuan A, B, C, dan kontrol positif diuji tantang. Uji tantang dilakukan dengan menginjeksi virus aktif sebanyak 0,1 mL secara intra muskular (otot punggung) ke semua ikan uji (Nuryati *et al.*, 2010a). Masa uji tantang untuk melihat gejala klinis dan kelangsungan hidup ikan yang diberi vaksin DNA dilakukan selama 28 hari.

### Parameter Penelitian

#### Sintasan

Penghitungan jumlah ikan yang mati dilakukan pada awal terinfeksi KHV sampai akhir penelitian.

#### Sintasan relatif (*Relative Percent Survival*/RPS)

Kematian ikan dicatat sebelum dan sesudah uji tantang untuk menghitung kelangsungan hidup relatif (RPS).

$$RPS = 1 - \frac{(\% \text{ treatment mortality})}{\% \text{ control mortality}} \times 100$$

## HASIL DAN BAHASAN

### Sintasan dan *Relative Percent Survival* (RPS)

Sintasan pada penelitian ini diamati pada akhir pengamatan yaitu pada saat pasca uji tantang. Seperti ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1, penggunaan vaksin DNA dengan dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ;  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ; dan  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$  pada benih ikan koi menunjukkan nilai sintasan yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ), yaitu sebesar  $97,22 \pm 0,58\%$  dan RPS  $95,83 \pm 0,58\%$  yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif ( $33,33 \pm 2,0$ ).

### Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan selama masa uji tantang, yaitu selama 28 hari. Pengamatan dilakukan setiap dua kali sehari pada saat pemberian pakan, namun pada saat puncak infeksi (minggu ke-3) pengamatan dilakukan lebih sering karena khawatir terjadi kematian yang tidak terkontrol. Berdasarkan pengamatan tersebut, terlihat bahwa ikan yang sakit mengalami penurunan nafsu makan, kelainan tingkah laku dan perubahan fisik pada tubuhnya. Adapun gambaran gejala klinis secara visual dari tiap perlakuan disajikan pada Gambar 2.

Pada Gambar 2, terlihat beberapa gejala klinis yang muncul setelah ikan koi diuji tantang. Gejala klinis yang muncul antara lain: nekrosis pada insang, ulcer pada dorsal, mata cekung, dan insang pucat. Semua gejala klinis yang muncul diduga merupakan akibat serangan virus KHV. Selain itu pula, tersaji dalam Tabel 2 yang memperlihatkan perubahan tingkah laku ikan selama masa uji tantang. Hal tersebut di atas diperkuat dengan hasil uji PCR yang dilakukan pada ikan uji sebelumnya yang digunakan sebagai donor perbanyak virus (Gambar 3).

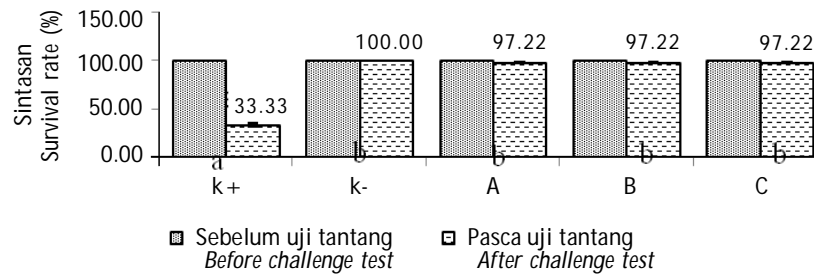
### Gambaran Darah

#### Total eritrosit

Nilai gambaran darah diamati sebanyak tiga kali (masa aklimatisasi, vaksinasi, dan uji tantang), nilai total eritrosit setiap perlakuan disajikan pada Gambar 4. Pengamatan terhadap jumlah total rata-rata eritrosit dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C ( $9,03 \pm 0,6 \times 10^5 \text{ sel}/\text{mm}^3$ ) pada masa uji tantang. Nilai terendah diperoleh pada perlakuan K(+) yaitu  $2,14 \pm 0,46 \times 10^5 \text{ sel}/\text{mm}^3$  pada masa aklimatisasi.

#### Total leukosit

Pengamatan terhadap jumlah total rata-rata leukosit (Gambar 5) dalam darah ikan koi pada



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)

Description: \* Different letters show significantly different results ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine  $12.5 \text{ mg}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish not vaccinated but KHV challenged), K- (fish not vaccinated and not KHV challenged)

Gambar 1. Nilai sintasan ikan koi sebelum dan sesudah uji tantang dengan KHV.

Figure 1. The survival value of koi fish before and after the KHV Challenge test

Tabel 1. Sintasan relatif (RPS) ikan koi yang diberi vaksin DNA anti-KHV dengan dosis berbeda (N=240)

Table 1. Relative percentage of survival rate of koi fish treated with different doses of anti-KHV DNA vaccine

Perlakuan Treatments	Mortalitas Mortality (%)	RPS (%)
A (dosis $7,5 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ ) / A ( $7.5 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ )	$2.78 \pm 0.58$	$95.83 \pm 0.58^a$
B (dosis $10 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ ) / B ( $10 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ )	$2.78 \pm 0.58$	$95.83 \pm 0.58^a$
C (dosis $12,5 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ ) / C ( $12.5 \mu\text{g}/100 \text{ mL}$ )	$2.78 \pm 0.58$	$95.83 \pm 0.58^a$
K+ (kontrol positif/positive control)	$66.67 \pm 2.0$	0
K- (kontrol negatif/negative control)	0	100

Keterangan: Huruf superskrip di belakang nilai standar deviasi yang berbeda pada setiap kolom menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Description: The superscript of the different standard deviation values shows a significantly different effect ( $P < 0.05$ )

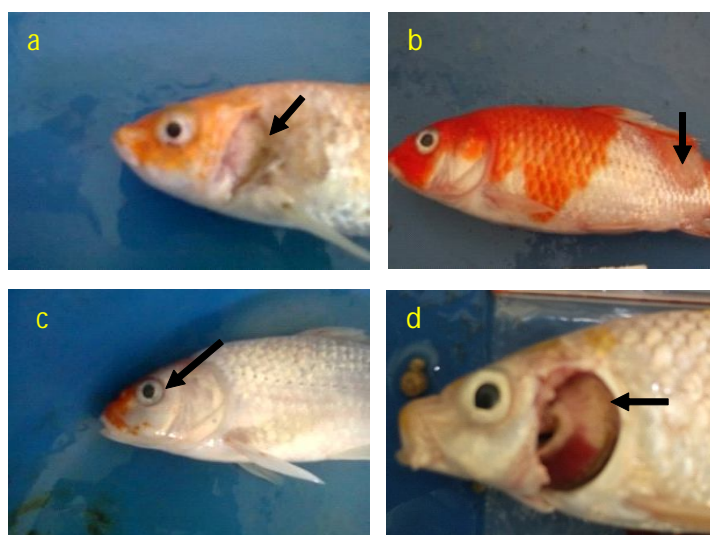
perlakuan yang berbeda, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $63,27 \pm 0,25 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$  pada masa vaksinasi. Nilai terendah terdapat pada K(-) yaitu  $13,3 \pm 2,96 \times 10^4 \text{ sel}/\text{mm}^3$ ; pada aklimatisasi. Dari analisis statistik ragam (ANOVA) dan uji lanjut Tukey ( $P < 0,05$ ) diperoleh hasil pada masa uji tantang nilai perlakuan K(+) dan A berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan perlakuan K(-), B, dan C yakni jumlah total leukosit lebih rendah dari ketiga perlakuan.

### Kadar Hematokrit

Pengamatan terhadap nilai hematokrit (Gambar 6) dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda, menunjukkan nilai yang berfluktuasi. Nilai tertinggi terdapat pada perlakuan K(-) yaitu  $35,97 \pm 0,54\%$  pada masa uji tantang. Nilai terendah yaitu  $19,9 \pm 1,27\%$  pada perlakuan K(+) pada masa aklimatisasi.

### Kadar Haemoglobin

Pengamatan terhadap nilai haemoglobin dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda (Gambar

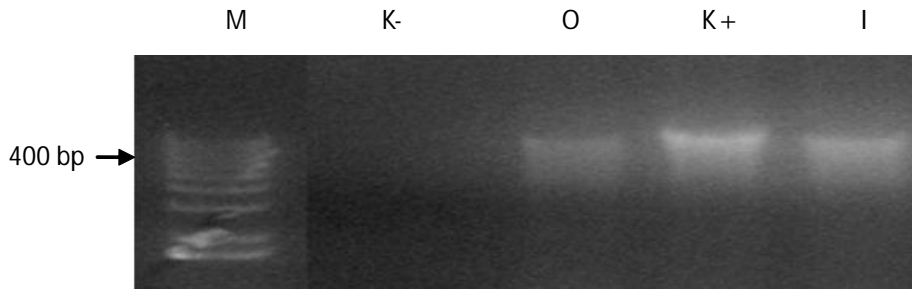


Gambar 2. Gejala klinis ikan koi yang terserang KHV; a) insang nekrosis dan geripis, b) ulcer di bagian dorsal, c) mata cekung, dan d) insang pucat.

Figure 2. Clinical symptoms of koi infected by KHV; a) necrotic and flaky gills, b) dorsal ulcer, c) sunken eyes, and d) pale gills

Tabel 2. Gejala klinis harian tiap perlakuan pasca uji tantang  
 Table 2. Daily clinical symptoms of each post-test treatment challenge

Perlakuan Treatments	Gejala klinis Clinical symptoms
A	Memasuki minggu ke-2 nafsu makan mulai berkurang, dan hari ke-19 banyak pakan yang tak termakan Entering the 2 <sup>nd</sup> week, appetite began decreasing, and the 19 <sup>th</sup> day, a lot of feed that was not consumed
B	Hari ke-11 permukaan akuarium berbusa dan nafsu makan berkurang, hari ke-12 ikan menyendiri di tepian, hari ke-25 ikan berenang di permukaan dan lambat The 11 <sup>th</sup> day, the surface of the aquarium was foaming and appetite reduced, the 12 <sup>th</sup> day, the fish swam alone on the aquarium side, the 25 <sup>th</sup> day the fish swam on the surface and slow
C	Hari ke-11 permukaan akuarium berbusa dan nafsu makan berkurang The 11 <sup>th</sup> day, the surface of the aquarium was foaming and appetite reduced
K(+)	Memasuki minggu ke-2 ikan mulai lemah, insang mulai berwarna pucat, hari ke-11 permukaan akuarium berbusa dan nafsu makan berkurang, hari ke-15 pergerakan melambat, hari ke-17 ikan banyak menyendiri, minggu ke-3 dan ke-4 mulai banyak terjadi kematian Entering the 2 <sup>nd</sup> week, the fish started to weaken, the gills began turning pale, the 11 <sup>th</sup> day the surface of the aquarium was foaming and appetite reduced, the 15 <sup>th</sup> day the movement of fish slowed down, the 17 <sup>th</sup> day the fish swam alone and, the 3 <sup>rd</sup> and 4 <sup>th</sup> weeks, mortality started to occur
K(-)	Hari ke-13 ikan sering menyendiri di pojok akuarium, hari ke-16 ikan banyak menyendiri di dasar akuarium Day 13 <sup>th</sup> fish often swam alone in the corner of the aquarium, the 16 <sup>th</sup> day many fish were alone in the bottom of the aquarium

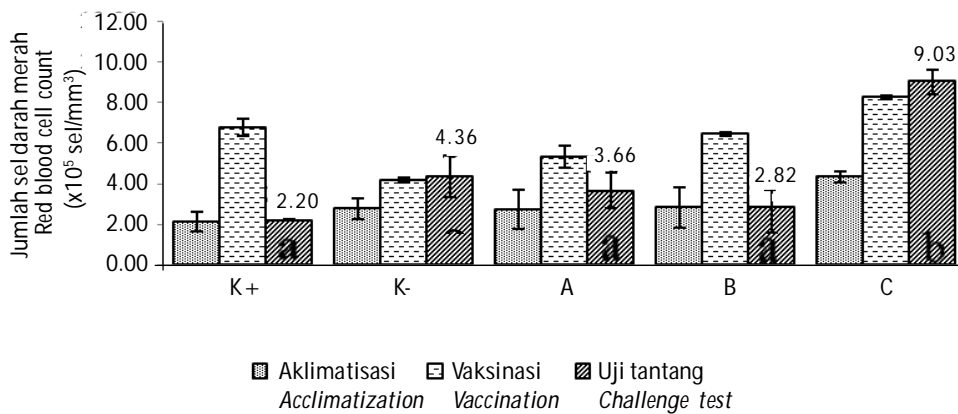


Keterangan: M: marker, K: kontrol negatif, O: sampel 1 (otak), K+ : kontrol positif, I: sampel-2 (insang). Amplifikasi DNA KHV dengan menggunakan primer sphl 5. F: 5'GAC ACC ACA TAT GCA AGG AG -3, R: 5'GAC ACA TGT TAC AAT GGT CGC-3, @Ziqma.

Description: M: marker, K: negative control, O: sample 1 (brain), K+ : positive control, I: sample-2 (gills). Amplification of KHV DNA using sphl 5 primer. F: 5'GAC ACC ACA TAT GCA AGG AG -3, R: 5'GAC ACA TGT TAC AAT GGT CGC-3, bermerk @Ziqma.

Gambar 3. Hasil uji PCR ikan koi yang terinfeksi KHV.

Figure 3. Test results of koi fish infected with KHV.



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

\*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)

Description: \* The letter on the different bar values showed a significantly different effect ( $P < 0.05$ )

\*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K + (fish not vaccinated but tested challenged), K- (fish were not vaccinated and not challenged)

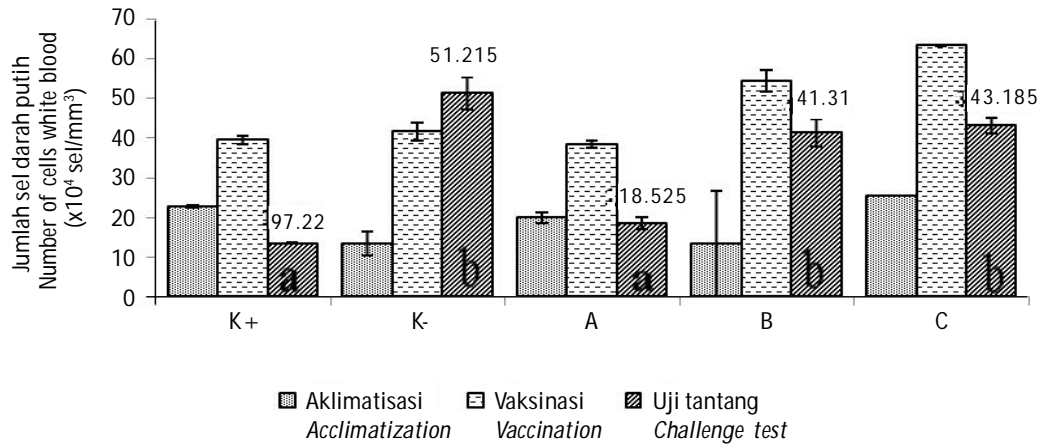
Gambar 4. Jumlah eritrosit dalam darah ikan koi dengan perlakuan vaksin yang berbeda.

Figure 4. Total of erythrocytes in the blood of koi fish with different vaccine treatments.

7), menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $9,65 \pm 0,49\%$  pada masa uji tantang. Nilai terendah terdapat pada perlakuan K(+) yaitu  $4,9 \pm 0,14\%$  pada masa aklimatisasi. Hasil masa uji tantang perlakuan K(+) berbeda nyata dengan perlakuan K(-), A, dan B, serta perlakuan C berbeda nyata dengan keempat perlakuan lainnya.

### Indeks Fagositik

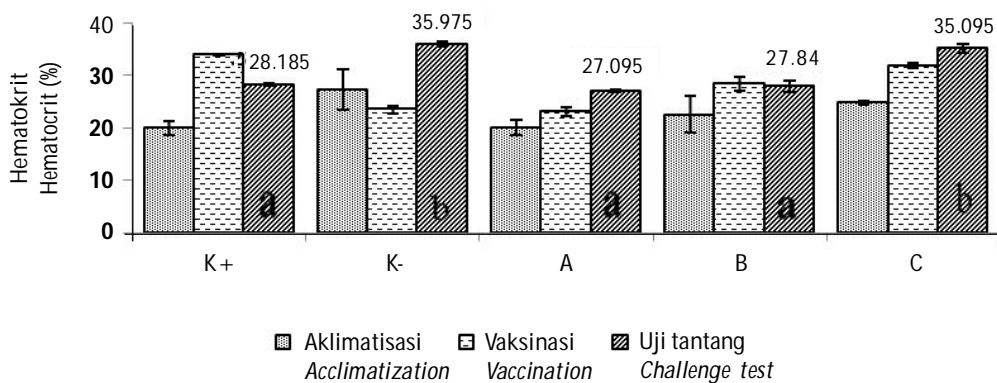
Pengamatan terhadap nilai indeks fagositik dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda, menunjukkan nilai yang berfluktuasi. Nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $41,5 \pm 0,7\%$  pada masa uji tantang (Gambar 8). Nilai terendah juga terdapat perlakuan C yaitu  $19,5 \pm 9,1\%$ ; pada masa aklimatisasi.



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)

Description: \* The superscript of the different standard deviation values on showed a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish not vaccinated but tested challenged), K- (fish not vaccinated and not challenged)

Gambar 5. Jumlah leukosit dalam darah ikan koi dengan perlakuan vaksin yang berbeda.  
 Figure 5. Total of leukocytes on the blood of koi fish with different vaccine treatments.



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)

Description: \* The superscript of the different standard deviation values on showed a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish not vaccinated but tested challenged), K- (fish not vaccinated and not challenged)

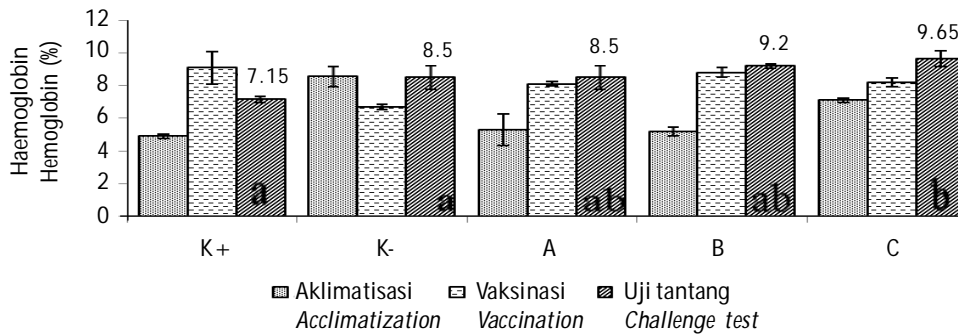
Gambar 6. Kadar hematokrit dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda.  
 Figure 6. Hematocrit levels on the blood of koi fish in different treatments.

Masa uji tantang K(+) dan perlakuan B berbeda nyata dengan perlakuan K(-) dan A, sedangkan perlakuan C pada masa uji tantang berbeda nyata dengan keempat perlakuan lainnya.

**Diferensial Leukosit**

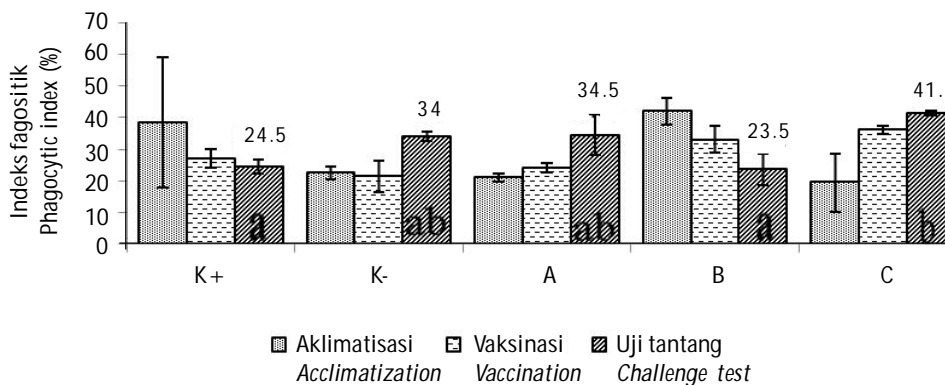
**Persentase monosit**

Pengamatan terhadap persentase jumlah monosit dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)  
 Description: \* The superscript of the different standard deviation values on showed a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish not vaccinated but tested challenged), K- (fish not vaccinated and not challenged)

Gambar 7. Kadar haemoglobin dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda.  
 Figure 7. The levels of hemoglobin on the blood of koi fish in different treatments.



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)  
 Description: \* The superscript of the different standard deviation values on showed a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish were not vaccinated but tested challenged), K- (fish were not vaccinated and challenged)

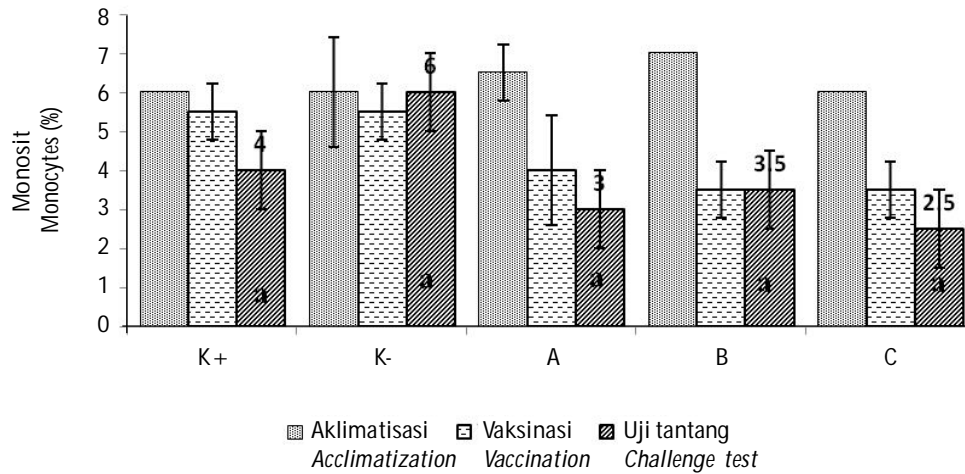
Gambar 8. Nilai indeks fagositik dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda.  
 Figure 8. Phagocytic index values on the blood of koi fish in different treatments.

tertinggi terdapat pada perlakuan K(-) yaitu  $6 \pm 0\%$  dan nilai terendah terdapat pada perlakuan C yaitu  $2,5 \pm 0,7\%$  pada masa uji tantang (Gambar 9) dan semua perlakuan tidak berbeda nyata.

### Persentase limfosit

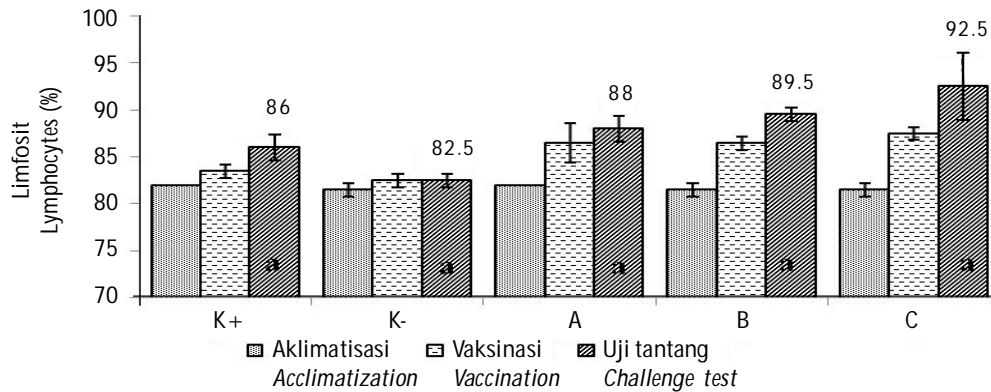
Pengamatan terhadap persentase jumlah limfosit dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $92,5 \pm 3,5\%$ ; sedangkan nilai terendah diperoleh perlakuan K(-) yaitu





Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)  
 Description: \* The superscript of the different standard deviation values on shows a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish were not vaccinated but tested challenged), K- (fish were not vaccinated and challenged)

Gambar 9. Jumlah monosit dalam darah ikan koi dengan perlakuan vaksin yang berbeda.  
 Figure 9. Total of monocytes on the blood of koi fish with different vaccine treatments.



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis  $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)  
 Description: \* The superscript of the different standard deviation values on shows a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose  $7.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose  $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose  $12.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish were not vaccinated but tested challenged), K- (fish were not vaccinated and challenged)

Gambar 10. Jumlah limfosit dalam darah ikan koi dengan perlakuan vaksin yang berbeda.  
 Figure 10. Total of lymphocytes on the blood of koi fish with different vaccine treatments.

82,5 ± 0% pada masa ujiantang (Gambar 10). Hasil pada masa ujiantang nilai persentase limfosit semua perlakuan tidak berbeda nyata.

### Persentase neutrofil

Pengamatan terhadap persentase jumlah neutrofil dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan K(-) dan C yaitu 12,5 ± 0,7% pada masa aklimatisasi dan vaksinasi, sedangkan nilai terendah diperoleh perlakuan K(-) yaitu sebesar 11,5 ± 0,7% pada masa ujiantang (Gambar 11). Hasil pada masa ujiantang nilai persentase neutrofil perlakuan K(+), K(-), dan A berbeda nyata dengan perlakuan B dan C.

### Histopatologi

Parameter histopatologi yang merupakan cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Penampang insang ikan yang terserang KHV tersaji pada Gambar 12.

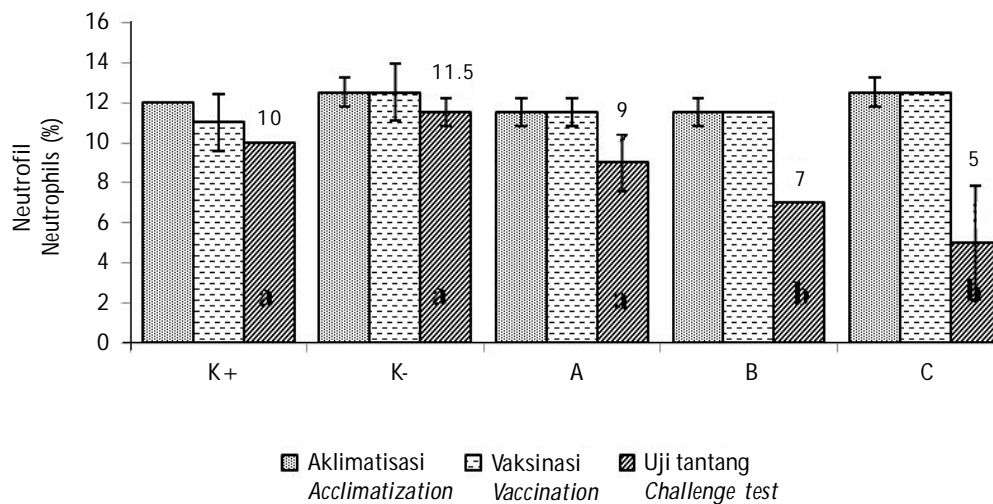
Hasil gambaran organ uji histologi menunjukkan hasil yang berbeda tiap perlakuannya. Perbedaan yang paling terlihat muncul pada kontrol positif dengan kontrol negatif di mana terlihat kondisi lamela insang

pada kontrol positif mengalami hiperplasia dan hipertropi.

### Kualitas Air

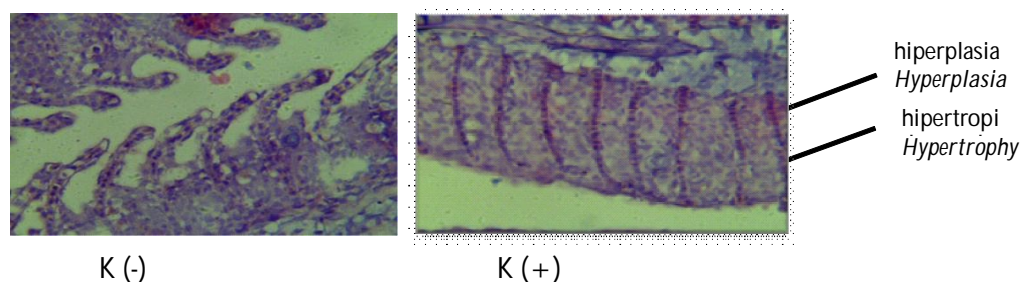
Parameter kualitas air yang paling berpengaruh dan merupakan faktor pemicu terhadap serangan KHV adalah suhu sehingga pengamatan terhadap parameter ini dilakukan setiap dua kali sehari, sedangkan untuk parameter lainnya diamati sebanyak tiga kali selama penelitian berlangsung. Data kisaran kualitas air disajikan dalam Tabel 3.

Pengamatan terhadap nilai kelangsungan hidup benih ikan koi dilakukan mulai dari awal masa vaksinasi hingga akhir masa ujiantang. Selama masa vaksinasi kondisi ikan terlihat baik dan memberikan nilai kelangsungan hidup 100% untuk semua perlakuan, hal ini membuktikan bahwa pemberian vaksin DNA aman untuk ikan. Sedangkan untuk pengamatan selama masa ujiantang (28 hari) perlakuan A, B, dan C menunjukkan nilai kelangsungan hidup yang sama dan tidak berbeda nyata, yaitu sebesar 97,22% lebih tinggi dibandingkan kontrol positif yang hanya sebesar 33,33%. Selain nilai kelangsungan hidup diamati pula nilai RPS, yaitu nilai kelangsungan hidup ikan-ikan yang divaksin yang dibandingkan dengan ikan kontrol positif. Nilai RPS



Keterangan: \* Huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ )  
 \*\* A (vaksin DNA dosis 7,5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (vaksin DNA dosis 10  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (vaksin DNA dosis 12,5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (ikan tidak divaksin tetapi diuji tantang), K- (ikan tidak divaksin dan tidak diuji tantang)  
 Description: \* The superscript of the different standard deviation values on shows a significantly different effect ( $P < 0.05$ )  
 \*\* A (DNA vaccine dose 7.5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), B (DNA vaccine dose 10  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), C (DNA vaccine dose 12.5  $\mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ), K+ (fish were not vaccinated but tested challenged), K- (fish were not vaccinated and challenged)

Gambar 11. Jumlah neutrofil dalam darah ikan koi dengan perlakuan vaksin yang berbeda.  
 Figure 11. Total of neutrophils on the blood of koi fish with different vaccine treatments.



Gambar 12. Histopatologi insang ikan kontrol negatif dan positif.  
 Figure 12. Histopathological examination of gill tissues of negative and positive fish controls.

Tabel 3. Kisaran parameter kualitas air selama penelitian  
 Table 3. The range of water quality parameters during the study

Perlakuan Treatments	Suhu Temperature (°C)	pH	Oksigen terlarut Dissolved oxygen (mg/L)	Alkalinitas Alkalinity (mg/L)	NH <sub>3</sub> (mg/L)	NO <sub>2</sub> (mg/L)	NO <sub>3</sub> (mg/L)	PO <sub>4</sub> (mg/L)
A (7.5 µg)	18-26	6-7.5	7.92-7.95	33.983-56.638	0.004-0.028	0.011-0.159	0.062-0.261	0.086-1.495
B (10 µg)	19-25.5	6-7.5	7.-65-8.06	33.983-56.683	0.007-0.030	0-0.161	0.148-0.484	0.001-1.351
C (12.5 µg)	18.5-26	6.5-7.5	7.6-7.67	45.310-56.638	0.006-0.035	0.007-0.158	0.014-0.160	0.004-1.745
K (+)	19.5-25.5	6.5-7.5	7.55-7.89	33.983-56.638	0.004-0.037	0.003-0.164	0.032-0.235	0.001-1.821
K (-)	18-26.5	7-7.5	7.52-8.34	45.310-56.638	0.001-0.151	0.001-0.151	0.080-0.174	0.006-1.663

untuk tiga perlakuan yang berbeda menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata, yaitu sebesar  $95,83 \pm 0,58\%$ . Hal ini membuktikan bahwa penggunaan vaksin DNA dapat meningkatkan sistem imun ikan sehingga memengaruhi pula daya hidupnya. Hal ini sesuai pendapat Naim (2004), yang menyatakan bahwa vaksin dapat menginduksi antibodi yang merupakan agen terpenting dari proteksi imun terhadap kebanyakan virus dan bakteri.

Pengamatan terhadap gejala klinis sudah dilakukan dari awal penelitian (masa aklimatisasi) yang bertujuan untuk memastikan bahwa ikan uji yang digunakan sehat dan bebas dari serangan bakteri, patogen ataupun virus. Hasil pengamatan selama masa aklimatisasi menunjukkan bahwa ikan dalam kondisi sehat sehingga siap diberikan perlakuan. Pengamatan juga dilakukan selama masa vaksinasi dan hasilnya menunjukkan bahwa ikan masih dalam kondisi sehat, yang dibuktikan dengan tidak terjadi kematian ataupun kelainan pada kondisi tubuh. Sedangkan pada masa uji tantang ikan mulai menunjukkan kelainan pada awal minggu kedua pascauji-tantang. Kelainan yang pertama kali muncul adalah penurunan nafsu makan yang diawali perlakuan A, kemudian disusul oleh perlakuan B, C, kontrol positif, dan kontrol negatif. Pada minggu ketiga kondisi ikan bertambah parah yang ditandai dengan produksi lendir yang berlebih.

Menurut Utami *et al.* (2013), pertahanan terluar tubuh disebut pertahanan barier epitel yaitu berupa kulit dan selaput lendir. Lendir, merupakan respons tanggap kebal ikan terhadap benda asing dalam hal ini adalah virus KHV aktif yang masuk ke dalam tubuh. Lendir tersebut berfungsi untuk menjerat benda asing sehingga keluar dari tubuh ikan. Kelainan gejala klinis lainnya terlihat pada saat terjadi kematian, pada perlakuan kontrol positif ikan mengalami kematian dengan kondisi terparah, yaitu mengalami nekrosis pada insang yang disertai infeksi sekunder yaitu tumbuhnya jamur di sekitar operculum. Pada perlakuan A ikan mati dengan kondisi terdapat ulcer di bagian dorsal. Pada perlakuan B ikan mati dengan kondisi insang pucat disertai titik putih, dan pada perlakuan C ikan mati dengan kondisi mata cekung. Gejala yang muncul menunjukkan gejala klinis dan perubahan fisik yang sama dengan beberapa penelitian lainnya mengenai KHV dan hal ini sesuai dengan pendapat Hedrick *et al.* (2005) yang menyebutkan bahwa tanda-tanda ikan koi yang terinfeksi KHV adalah terjadi perubahan warna tubuh, nekrosis pada filamen insang, dan produksi lendir yang berlebih. Adanya kematian pada perlakuan vaksin dikarenakan ikan sudah bersifat *carrier* KHV dan juga mengalami stres akibat penyuntikan. Hal ini sejalan dengan tulisan OATA (2001), ikan yang bersifat *carrier* KHV akan terjangkit

lagi apabila terjadi penurunan kondisi tubuh, serta fluktuasi suhu 24,5°C-28°C termasuk ke dalam rentang yang optimal untuk pertumbuhan KHV.

Pada penelitian ini juga dilakukan analisis gambaran darah untuk melihat secara deskriptif pengaruh pemberian vaksin DNA dengan beberapa dosis berbeda. Pengamatan gambaran darah ikan selama penelitian dilakukan sebanyak tiga kali, yaitu pada masa aklimatisasi, vaksinasi, dan ujiantang yang meliputi jumlah total eritrosit, total leukosit, kadar hematokrit, kadar haemoglobin, indeks fagositik, dan differensial leukosit. Pemberian vaksin DNA (vaksinasi) terhadap ikan koi memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap gambaran darah ikan. Nilai total eritrosit tertinggi pada masa ujiantang diperoleh perlakuan C ( $9,03 \pm 0,6 \times 10^5 \text{ sel/mm}^3$ ) yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan keempat perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin dengan dosis tertinggi ( $12,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$ ) mampu memberikan ketahanan tubuh lebih baik dibandingkan perlakuan lainnya, sehingga ginjal sebagai penghasil darah mampu bekerja lebih optimal. Hal ini sejalan dengan penelitian Maswan (2009), pemberian vaksin DNA dengan dosis  $12,5 \text{ ig}/100 \text{ iL}$  pada ikan mas, menunjukkan nilai total eritrosit tertinggi yaitu  $16,8 \pm 1,6 \times 10^5 \text{ sel/mm}^3$  pada hari ke-70.

Pengamatan terhadap jumlah total leukosit dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda pula. Selama penelitian diketahui bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $63,27 \pm 0,25 \times 10^4 \text{ sel/mm}^3$  pada masa vaksinasi, sedangkan pada masa ujiantang nilai total leukosit cenderung turun untuk semua perlakuan kecuali perlakuan kontrol negatif. Menurunnya jumlah total leukosit perlakuan lainnya diduga karena pengaruh infeksi KHV yang diberikan (ujiantang), hal tersebut sejalan dengan pendapat Nuryati *et al.* (2010a), yang menyatakan bahwa secara umum tren penurunan jumlah leukosit pada ikan perlakuan dan ikan kontrol positif setelah ujiantang menunjukkan bahwa leukosit tersebut diduga aktif dan keluar dari pembuluh darah menuju jaringan yang terinfeksi.

Pengamatan terhadap nilai hematokrit (Gambar 6) dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda, menunjukkan nilai yang berfluktuasi. Pengamatan selama masa ujiantang menunjukkan bahwa kadar hematokrit perlakuan K- dan C menunjukkan nilai tertinggi, serta tidak berbeda nyata dan berbeda nyata dengan perlakuan K(+), A, dan B. Hal ini menggambarkan bahwa sistem pertahanan pada ikan perlakuan C mampu merespons lebih baik terhadap infeksi KHV dibanding perlakuan yang lain.

Pengamatan terhadap nilai haemoglobin dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda (Gambar 7), menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu sebesar  $9,65 \pm 0,49\%$  pada masa ujiantang. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian vaksin DNA dengan dosis tertinggi mampu memberikan pertahanan tubuh terbaik, sehingga insang tetap bisa optimal mengikat oksigen di udara dan tetap bisa menjaga nilai haemoglobin pada kisaran normal. Sesuai pendapat Maswan (2009), yang menyatakan bahwa kisaran kadar Hb normal ikan mas (6%-10%). Kadar Hb yang cenderung menurun diduga disebabkan kadar oksigen dalam darah menurun. Ikan yang terserang KHV akan sulit mendapatkan oksigen karena produksi lendir di insang yang berlebihan dan terjadi nekrosis pada insang.

Pengamatan terhadap nilai indeks fagositik dalam darah ikan koi pada perlakuan yang berbeda, menunjukkan nilai yang berfluktuasi. Nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu  $41,5 \pm 0,7\%$  pada masa ujiantang (Gambar 8). Nilai tertinggi yang diperoleh perlakuan C pada masa ujiantang menunjukkan respons tanggap kebal lebih baik dibanding perlakuan lainnya. Hal ini didukung pernyataan Nuryati *et al.* (2010a), bahwa nilai indeks fagositik yang tinggi pada perlakuan vaksinasi menggambarkan pula bahwa proses fagositosis yang terjadi dengan cepat berkontribusi dalam mekanisme penyajian antigen (*antigen presenting cells*) untuk merangsang respon sel limfosit.

Proses fagositosis dipengaruhi oleh persentase jenis darah leukosit masing-masing pada limfosit, monosit, dan neutrofil. Pada proses tersebut meliputi tahapan kemotaksis, pelekatan, tahap penelanan, dan pencernaan (Tizard, 1988). Pengamatan terhadap persentase jumlah monosit dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai tertinggi pada masa ujiantang terdapat pada perlakuan K(-) yaitu sebesar  $6 \pm 0\%$  (Gambar 9) dan secara umum nilai persentase monosit semua perlakuan tidak berbeda nyata. Nilai persentase monosit ini cenderung lebih sedikit daripada persentase limfosit karena memang dalam mengatasi serangan virus, monosit kurang dibutuhkan dan memiliki porsi hanya 1%-6% dari total sel darah putih.

Pengamatan terhadap persentase jumlah limfosit dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan C yaitu sebesar  $92,5 \pm 3,5\%$  pada masa ujiantang (Gambar 10); selain itu, diperoleh hasil bahwa pada masa ujiantang nilai persentase limfosit semua perlakuan tidak berbeda nyata. Selama masa ujiantang persentase sel limfosit cenderung meningkat dibanding pada masa vaksinasi untuk semua perlakuan. Peningkatan persentase

limfosit tersebut terkait dengan peran sel limfosit sebagai sel pertahanan tubuh. Pada dasarnya sel limfosit terdiri atas dua populasi: sel B dan sel T. Sel B mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menjadi sel plasma yaitu sel yang memproduksi antibodi. Sedangkan sel T sangat berperan dalam kekebalan berperantara sel (sel T sitotoksik) dan mengontrol respons imun (sel T supresor) (Kresno, 2001). Setelah terjadi pengikatan antigen dengan reseptor antigen sel limfosit, maka sel limfosit akan membelah dan berdiferensiasi menjadi sel efektor dan sel memori (Tizard, 1988).

Pengamatan terhadap persentase jumlah neutrofil dalam darah ikan koi, menunjukkan bahwa nilai tertinggi terdapat pada perlakuan K(-) dan perlakuan C yaitu sebesar  $12,5 \pm 0,7\%$  pada masa aklimatisasi dan vaksinasi (Gambar 11). Persentase sel neutrofil lebih sedikit dibanding sel limfosit dan cenderung menurun pada masa ujiantang, hal ini dimungkinkan karena fungsi neutrofil yang sesaat dan umurnya yang singkat, sejalan dengan pernyataan Takashima & Hibiya (1995) yang mengatakan bahwa fungsi neutrofil adalah untuk menahan serangan atau infeksi bakteri. Menurunnya jumlah neutrofil dalam darah disebabkan neutrofil sudah melakukan aktivitas fagositik di dalam sel dan neutrofil berumur pendek (Tizard, 1988).

Secara umum perlakuan C (dosis vaksin tertinggi) menunjukkan hasil terbaik dibandingkan perlakuan lainnya, hal ini dapat dijadikan acuan gambaran kesehatan ikan. Hal tersebut sangat didukung oleh pendapat Wedemeyer (1977) yang menyatakan bahwa salah satu mekanisme kerja vaksin adalah mampu meningkatkan respons imun spesifik inang dan pengetahuan tentang sistem peredaran darah dapat membantu dalam memahami efek dari beberapa masalah kesehatan ikan, baik yang disebabkan penyakit menular maupun tidak menular.

Hasil pengamatan histologi menunjukkan perbedaan yang mencolok antara perlakuan K(+) dan K(-), yaitu terjadinya hiperplasia dan hipertropi pada insang K(+), sehingga filamen pada lamela insang membesar dan menyatu sehingga mengganggu respirasi ikan. Perbedaan kondisi histologi organ koi ini sangat dimungkinkan akibat aktivitas dari serangan virus KHV, karena pada perlakuan kontrol positif ikan tersebut diinfeksi virus tanpa vaksinasi. Hal ini sejalan dengan pendapat Tamba (2006) yang menyatakan bahwa hiperplasia dan hipertropi pada insang dapat menyebabkan pembengkakan antar lamela sehingga dapat mengganggu proses pertukaran gas dan terganggunya respirasi ikan. Rusaknya insang dan kurangnya suplai oksigen akan menyebabkan kematian ikan mas yang terinfeksi KHV.

Parameter kualitas air hanya merupakan data pendukung pada penelitian ini, adapun parameter yang diamati meliputi: suhu, pH, DO, alkalinitas,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ , dan  $\text{PO}_4$ , namun parameter kualitas air yang terpenting pada penelitian ini adalah suhu, karena merupakan faktor pemicu terjadinya serangan KHV dibandingkan dengan parameter kualitas air yang lain (OATA, 2001). Nilai kisaran suhu yang terukur selama penelitian yaitu  $18^\circ\text{C}$ - $26,5^\circ\text{C}$  dan dalam kisaran ini masih memungkinkan terjadinya perkembangan virus KHV. Selain itu, secara umum kondisi parameter kualitas air lainnya masih dalam kisaran yang dapat ditolerir oleh ikan (SNI, 1999); sehingga dapat dipastikan ikan uji murni sakit akibat perlakuan (infeksi KHV) dan bukan karena faktor lingkungan.

## KESIMPULAN

Vaksin DNA pada semua perlakuan uji mampu meningkatkan sintasan pada ikan koi, serta vaksin DNA dengan dosis  $7,5 \mu\text{g}/100 \mu\text{L}$  mampu memberikan nilai sintasan ikan koi yang diinfeksi KHV sebesar 97,22% dan memberikan nilai RPS sebesar  $95,83 \pm 0,58\%$ ; serta memberikan gambaran sistem imun terbaik dibandingkan perlakuan lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh APBN Riset Perikanan Budidaya Ikan Hias berkerjasama dengan Departemen Budidaya Perairan-FPIK-IPB. Terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya riset vaksinasi benih ikan koi ini.

## DAFTAR ACUAN

- Hedrick, R.P., Glad, O., Yun, S.C., McDowell, T.S., Walizek, T.B., Kelley, G.O., & Adkison MA. (2005). Initial isolation and characterization of a herpes-like virus (KHV) from koi and common carp. *Bull. Fish. Res. Agen. Supplement*, 2, 1-7.
- Kresno, S.B. (2001). Imunologi diagnosis dan prosedur laboratorium. Edisi ketiga. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta, 36 hlm.
- Laelawati, E. (2008). *Respon tanggap kebal ikan mas Cyprinus carpio terhadap koi herpes virus yang diberikan melalui injeksi dengan dosis berbeda*. Institut Pertanian Bogor. Bogor (ID), 68 hlm.
- Lorenzen, N. & LaPatra, S.E. (2005). DNA vaccine for aquaculture fish. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 24(1), 201-213.
- Maswan, N.A. (2009). *Pengujian efektivitas dosis vaksin DNA dan korelasinya terhadap parameter hematologi secara kuantitatif*. Institut Pertanian Bogor. Bogor, hlm. 19-33.

- Mudjiutami, E., Ciptoroso, Zainun, Z., & Rahmat, S. (2009). Pemanfaatan imunostimulan untuk pengendalian penyakit pada ikan mas. *Laporan Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar*. 9 hlm.
- Naim, R. (2004). Molecular medicine: vaksin DNA. Internet. Kompas. Diunduh 2012 Agustus 27. Tersedia pada: <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0407/20/ilpeng/1153089.htm>.
- Nuryati, S., Maswan, N.A., Alimuddin, Sukenda, Sumantadinata, K., Pasaribu, F.H., Soejoeno, R.D., & Santika, A. (2010a). Gambaran darah ikan mas setelah divaksinasi dengan vaksin DNA dan diuji tantang dengan koi herpesvirus. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 9(1), 9-15.
- Nuryati, S., Alimudin, Sukenda, Soejoedono, R.D., Santika, A., Pasaribu, F.H., & Sumantadinata, K. (2010b). Construction of a DNA vaccine using glycoprotein gene and its expression towards increasing survival rate of KHV-infected common carp, *Cyprinus carpio*. *J. Natur. Indo.*, 13, 47-52.
- Nuryati, S., Yuliyanti, & Alimuddin. (2013). Frekuensi dan persistensi vaksin DNA penyandi GP25 yang diberikan melalui pakan buatan pada ikan mas *Cyprinus carpio*. *J. Akua. Indo.*, 12, 151-157.
- Nuryati, S., Khodijah, S., Alimuddin, & Setiawati, M. (2015). Efektivitas penggunaan vaksin DNA dalam pakan pada ikan mas yang diinfeksi koi herpes virus. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 9(1), 33-37.
- Nuswantoro, S., Alimuddin, Yuhana, M., Santika, A., Nuryati, S., Zainun, Z., & Mawardi, M. (2012). Efikasi vaksin DNA penyandi glikoprotein koi herpes virus GP- 25 pada ikan mas stadia benih melalui perendaman. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 11(1), 76-85.
- Ornamental Aquatic Trade Association [OATA]. (2001). *Koi herpes virus (KHV)*. United Kingdom, 33 pp.
- Standar Nasional Indonesia [SNI]. (1999). Produksi induk ikan mas (*Cyprinus carpio*) strain sinyonya kelas induk pokok. Badan Standar Nasional: 01-6135-1999.
- Tamba, A. (2006). *Kerentanan dan gambaran darah ikan mas *Cyprinus carpio* yang terinfeksi koi herpes virus (KHV)*. Tesis. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tizard, I. (1988). Pengantar imunologi veteriner. Edisi ke-2. Partodirejo, M. & Hardjosworo, S. (Penerjemah). Terjemahan dari: *An Introduction to Veterinary Immunology*. Surabaya: Airlangga University Press, 496 hlm.
- Utami, D.T., Prayitno, S.B., Hastuti, S., & Santika, A. (2013). Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 2(4), 7-20.
- Wedemeyer, G.A. & Yasutake, W.T. (1977). Clinical methods for the assesment of the effect environmental stress on fish health. *Technical Papers of the U.S. Fish and Wildlife Service*. U.S. Department of the Interior Fish and Wildlife Service, 89, 1-17.
- Zhou, J-X., Wang, H., Li, X-W., Lu, W-L., & Zhang, D-M. (2014a). Construction of KHVCJ ORF25 DNA vaccine and immune challenge test. *J. Fish Dis.*, 37, 319-325.
- Zhou, J., Xue, J., Wang, Q., Zhu, X., Li, X., Wenliang, L., & Zhang, D. (2014b). Vaccination of plasmid DNA encoding ORF81 gene of CJ strains of KHV provides protection to immunized carp. *In Vitro Cell. Dev. Biol Animal.*, 50, 489-495.