



## GEJALA KLINIS DAN PERUBAHAN TINGKAH LAKU IKAN MAS (*Cyprinus carpio*) YANG TERINFEKSI KOI HERPESVIRUS (KHV)

### *Clinical Signs and Behaviour Signs of Common Carp Larvae (*Cyprinus carpio*) Infected Koi Herpesvirus (KHV)*

Ardana Kurniaji\*, Diana Putri Renitasari, Yunarty, Anton

Program Studi Teknik Budidaya Perikanan, Politeknik Kelautan dan Perikanan Bone

\*e-mail: ardana.kji@gmail.com

#### ABSTRAK

Ikan mas merupakan komoditas penting air tawar yang banyak dibudidayakan diberbagai lapisan masyarakat. Salah satu penyakit ikan mas yang sering dijumpai dalam kegiatan budidaya adalah Koi Herpesvirus (KHV). Pengetahuan terhadap perubahan morfologi dan tingkah laku dari ikan yang terinfeksi KHV sangat penting untuk mencegah kerugian kegiatan budidaya sejak dini. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati gejala klinis ikan mas yang diinfeksi KHV skala laboratorium. Pengamatan gejala klinis ikan yang terinfeksi KHV diamati setiap jam selama 7-14 hari setelah infeksi. Pengamatan dilakukan pada perubahan morfologi (*clinical signs*) dan tingkah laku ikan (*behaviour signs*). Konfirmasi kematian ikan mas akibat KHV dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan morfologi (*clinical signs*) ikan terinfeksi KHV berupa nekrosis pada insang, geripis pada bagian sirip caudal, terdapat luka (*ulcer*) pada *operculum*, pendarahan (*septicemia*) pada bagian pinggir (*operculum*) dan mulut, serta mata cekung ke dalam dan memutih. Adapun perubahan tingkah laku berupa ikan tampak lemas, nafsu makan menurun, berenang tidak stabil, posisi ikan miring di dasar wadah, selalu berada disudut wadah, sering ke permukaan atau titik aerasi, berenang tidak teratur (posisi kepala diatas dan caudal pada bagian bawah), sirip dorsal menutup dan pergerakan mulut lebih cepat. Hasil konfirmasi PCR menunjukkan bahwa ikan yang menunjukkan gejala klinis dan mati disebabkan KHV. Munculnya gejala klinis menjadi indikator untuk segera memberikan *treatment* mencegah kematian ikan.

**Kata Kunci:** Gejala klinis, ikan mas, koi herpesvirus, perubahan tingkah laku

#### ABSTRACT

Common carp is an important freshwater commodity that generally cultivated in various levels of society. One of the common carp diseases in aquaculture is Koi Herpesvirus (KHV). Knowledge of clinical signs and behaviour signs of KHV-infected fish is very important to prevent early losses in farmers. This study aimed to observe the clinical symptoms of common carp infected with KHV on a laboratory scale. Observations of clinical signs and behaviour signs of KHV-infected in fish were observed every hour for 7-14 days post-infection. Observation were done on clinical signs and behavior signs. PCR was used to confirm the death of carp caused by KHV. The result showed that the morphological changes (*clinical signs*) of KHV-infected in fish were necrosis of gills, flaking on the caudal fin, ulcers on the operculum, septicemia in operculum and mouth, and sunken eyes inward. Behavior changed of fish were lethargy, decreasing appetite, unstable swimming, fish position at bottom of aquarium, standing in corner of aquarium, frequent on surface or aeration point, swimming irregularly (stood in water column), the dorsal fin does not expand and mouth movements were faster. The results of the PCR confirmation showed that the clinical signs and behaviour signs were caused by KHV. The emergence of clinical symptoms is an indicator to immediately provide treatment to prevent fish death.

**Keywords:** Behaviour signs, clinical signs, common carp, koi herpesvirus

#### PENDAHULUAN

Ikan mas adalah jenis ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Budidaya ikan mas ini cenderung mudah akan tetapi kendala penyakit menjadi masalah besar bagi pembudidaya. Salah satu penyakit ikan mas

yang sering dijumpai dalam kegiatan budidaya adalah Koi Herpesvirus (KHV) (Setyorini et al., 2008). KHV ditemukan pada tahun 1996 yang menyerang ikan mas dan ikan koi pada famili cyrinid di beberapa negara di dunia seperti Uni Eropa, Afrika, Amerika, China, Jepang,

Malasya (Saselah *et al.*, 2012; Haramono *et al.*, 2007; Grimmitt *et al.*, 2006; Ilouze *et al.*, 2006). Pada tahun 2002 KHV dideteksi pertama kali di Indonesia tepatnya di Blitar Jawa Timur dan di Sulawesi Selatan 2005 (Sultan *et al.*, 2018; Mustaham *et al.*, 2006). Virulensi KHV cukup tinggi karena dapat menyebabkan kematian hingga 85-100% (Setyorini *et al.*, 2008). Kurniaji *et al.* (2020) menyatakan bahwa infeksi KHV pada ikan mas dapat berpengaruh pada kinerja darah ikan.

Beberapa kasus kematian ikan mas akibat infeksi KHV biasanya disebabkan karena pengaruh lingkungan yang tidak stabil terutama suhu air (Edi *et al.*, 2010). Kerugian yang ditimbulkan pada kegiatan budidaya ikan mas cukup besar. Transmisi yang cepat dengan kontak langsung ikan terinfeksi, melalui air dan substrat lain yang terkontaminasi menyebabkan KHV telah tersebar di berbagai daerah di Indonesia (Pikarsky *et al.*, 2004). Beberapa kasus kematian massal ikan mas yang ditemukan terjadi 7-10 hari pasca infeksi KHV (Hedrick *et al.*, 2000). KHV menyerang ikan mas dan ikan koi (Pradana *et al.*, 2015) dan menimbulkan gejala klinis berupa perubahan warna, nekrosis pada insang, dan kerusakan organ internal seperti ginjal, hati dan limfa (Hedrick *et al.*, 2000).

Berbagai upaya pencegahan telah dilakukan untuk meminimalkan resiko infeksi KHV diantaranya adalah penerapan biosekuritas yang ketat, pemberian immunostimulan, vaksinasi dan penggunaan obat-obatan lainnya (Dishon *et al.*, 2007). Hanya saja infeksi KHV terjadi dalam sel sehingga ikan berpotensi sebagai *carrier* virus dan pada kondisi tertentu dapat menyebabkan kematian. Infeksi KHV. Menurut Ronsmans *et al.* (2014) ikan mas sensitif dan permisif terhadap KHV pada semua tahap perkembangan dan kulit merupakan portal utama masuknya virus dalam tubuh ikan (Perelberg *et al.*, 2003; Kurniaji, *et al.*, 2018). Ikan mas yang terinfeksi KHV dapat diketahui dengan mengamati gejala klinis yang timbul. Pengetahuan terhadap perubahan morfologi dan tingkah laku dari ikan yang terinfeksi KHV sangat penting untuk mencegah kerugian kegiatan budidaya sejak dini. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati gejala klinis ikan mas yang diinfeksi KHV skala laboratorium.

## METODE

Pengamatan gejala klinis ikan dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Ikan dan Ruang Karantina Ikan, Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar Sukabumi, Jawa Barat. Adapun pengujian *polymerase chain reaction* (PCR) dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Reproduksi Ikan, Departemen

Budidaya Perairan, IPB. Penelitian merupakan bagian dari kegiatan penganganan virus KHV (*virus passage*) untuk mendapatkan isolate KHV yang memiliki virulensi lebih tinggi. Adapun tahapan pelaksanaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

### Persiapan Wadah dan Ikan Uji

Wadah yang digunakan dalam penelitian ini berupa akuarium yang telah dibersihkan dan disterilkan dari kontaminasi patogen. Air yang digunakan berasal dari air yang umumnya digunakan dalam budidaya ikan mas. Ikan uji yang digunakan adalah ikan mas (*C. carpio*) diperoleh dari pembudidaya lokal yang berada di Jawa Barat. Ukuran ikan beragam dari 200-300 gram. Ikan terlebih dahulu diaklimatisasi pada wadah yang telah disediakan. Selanjutnya ikan dipuasakan terlebih dahulu sebelum dilakukan penyuntikan filtrat KHV.

### Injeksi Filtrat KHV

Filtrat KHV yang digunakan berasal dari stok Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar Sukabumi, Jawa Barat. Injeksi filtrat KHV  $10^{-3}$  mengacu pada metode yang digunakan oleh Aonullah *et al.* (2016) yakni dilakukan secara intramuscular dengan dosis 0.1 - 0.2 mL/ikan menggunakan syringe 1 mL. Ikan yang telah diinjeksi filtrat KHV kemudian dimasukkan dalam akuarium yang telah disiapkan sebelumnya. Kepadatan ikan diatur sesuai dengan kepadatan optimal budidaya ikan mas. Akuarium yang berisi ikan kemudian diberikan sistem aerasi untuk memudahkan difusi oksigen.

### Observasi Gejala Klinis

Teknik observasi gejala klinis ikan dilakukan berdasarkan Bondad-Reantaso *et al.* (2004). Pengamatan gejala klinis ikan yang terinfeksi KHV diamati setiap jam selama 7-14 hari setelah infeksi (*day post-infection*). Pengamatan dilakukan pada perubahan morfologi dan tingkah laku ikan. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan kamera dan dicatat perubahan yang terjadi. Ikan yang mati dalam pengamatan dikeluarkan dari akuarium dan dikubur untuk menghindari kontaminasi.

### Konfirmasi dengan PCR

Ikan yang memiliki gejala KHV selanjutnya dikonfirmasi menggunakan PCR untuk mengetahui kebenaran infeksi KHV. Teknik PCR mengacu pada metode Yuasa *et al.* (2005). Pemurnian DNA menggunakan Puregene® *DNA Purification Kit* (Minneapolis, USA) dengan prosedur sesuai manual. Amplifikasi KHV dilakukan menggunakan *forward* 5'-GAC ACC ACA TCT GCA AGG AG-3' dan *reverse* 5'-GAC ACA TGT TAC AAT GGT

CGC-3'. Hasil PCR dielektroforesis di agarose 1% untuk melihat keberadaan gen KHV yang teramplifikasi pada berat molekul 0.296 kbp.

### Analisis Data

Data berupa gejala klinis ikan mas yang terbagi atas dua data yakni perubahan morfologi dan perubahan tingkah laku. Data yang diperoleh tersebut ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif. Hasil analisis diinterpretasikan dan dibandingkan dengan hasil studi pustaka. Data konfirmasi infeksi KHV dengan PCR dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui penyebab gejala klinis disebabkan infeksi KHV.



### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan morfologi (*clinical signs*) dan perubahan tingkah laku (*behaviour signs*) ikan mas yang terinfeksi KHV. Ada yang bersifat khas dan ada yang sama pada umumnya ikan sakit. Beberapa perubahan morfologi dan tingkah laku ikan sakit ini selanjutnya dibandingkan dengan ikan mas yang tidak terinfeksi KHV untuk mengetahui perbedaannya. Adapun hasil pengamatan gejala klinis ikan mas yang terinfeksi KHV adalah sebagai berikut:

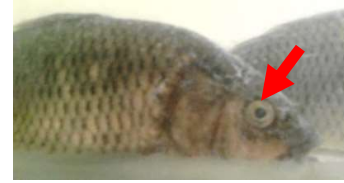
#### Perubahan Morfologi (*Clinical Signs*)

Hasil pengamatan pada morfologi ikan mas (*C. carpio*) yang terinfeksi KHV menunjukkan perubahan berupa nekrosis pada insang, geripis pada bagian sirip caudal, terdapat luka (*ulcer*) pada *operculum*, pendarahan (*septicemia*) pada bagian pinggir (*operculum*) dan mulut, serta mata cekung ke dalam dan memutih.

Tabel 1. Perubahan morfologi (*clinical signs*) ikan mas terinfeksi KHV

No.	Gambar
1	 Nekrosis pada insang
2	 Luka ( <i>ulcer</i> ) di <i>operculum</i>

3



Mata cekung dan memutih

4



Geripis pada sirip caudal

5



*Septicemia* pada mulut

Perubahan morfologi (*clinical signs*) yang ditunjukkan pada pengamatan ini sejalan dengan hasil observasi yang dilakukan penelitian sebelumnya. Ikan yang terinfeksi KHV mengalami nekrosis pada insang, pendarahan pada *operculum*, sirip, ekor dan abdomen, terjadi lesi pada kulit (Rukyani, 2002; Sunarto, 2004). Pembengkakan pada insang juga teramati diikuti perubahan warna dari filament, terdapat lesi lokal pada kulit (Hoffman et al., 2004), dan pendarahan di dasar sirip terutama sirip ekor (Hendrick et al., 2000). Gejala klinis lain yang umum ditemukan pada ikan mas yang terinfeksi KHV adalah mata cekung, bercak pucat pada kulit, hidung berlekuk, ikan kehilangan banyak mukosa sehingga bagian permukaan tubuh terasa kasar (Gray et al., 2002). Hal ini sejalan dengan Taukhid et al. (2004) kehilangan mukosa pada permukaan tubuhnya menyebabkan ikan akan terasa kasar saat dipegang dan mempermudah adanya infeksi sekunder.

Gejala klinis ikan mas yang diuji tangant dengan KHV muncul hari ke-2 pasca infeksi. Kondisi ikan melemah, anoreksia, insang pucat, timbul hemoragic di permukaan tubuh terjadi 90% pada hari ke-4 pasca infeksi. Adapun geripis pada sirip ekor teramati pada 7 hari pasca infeksi (Sulistiyowati et al., 2010).

OATA (2001) menyatakan bahwa gejala klinis yang timbul dari infeksi KHV berupa pendarahan pada insang, bercak pucat pada insang, mata cekung, ikan gelisah, adanya borok yang disebabkan oleh infeksi sekunder dan produksi lender insang berlebihan menyebabkan hyperplasia sehingga ikan sulit

bernafas. Terkadang disertai dengan sisik yang rontok dan ujung sirip geripis.

KHV merusak sel epitel kulit dan insang, ikan kehilangan mukosa dan terjadi kematian sel pada insang. Hal ini biasanya akan diikuti dengan infeksi sekunder dari patogen lain baik bakteri, jamur dan parasite (Yosha, 2003). Ditemukan adanya peningkatan jumlah bakteri dan parasite pada pemeriksaan mikroskopis dari biopsi insang yang terinfeksi KHV (Haenen *et al.*, 2004).

KHV merupakan virus yang menyerang ikan mas umumnya ditemukan pada insang sebagai organ targetnya (*specific organ target*). Insang yang terinfeksi KHV akan berubah warna karena mengalami kematian sel. Insang akan kesulitan membersihkan kotoran sehingga tampak berlumpur dan membusuk diikuti timbulnya geripis atau bagian pinggir insang rontok. Lesi pada insang menjadi parah dan perlahan menjadi putih. Bercak putih disebabkan karena nekrosis jaringan insang (Gray *et al.*, 2002). Patologi khas KHV adalah perubahan bahan insang yang mengalami hiperplasia dan hipertrofi sel epitel brachial, fusi lamella sekunder dan nekrosis jaringan (Hedrick *et al.*, 2000).

Penelitian Mustahal *et al.* (2006) menunjukkan bahwa ikan yang telah menunjukkan gejala klinis ini akan mengalami kematian hari ketiga pasca infeksi. Mortalitas yang terjadi pada hari ketiga pasca infeksi KHV bisa mencapai 40-80%. Kematian dapat terjadi sangat cepat setelah timbulnya gejala klinis mulai dari 24-48 jam. Ronen *et al.* menemukan bahwa 82% ikan mas terinfeksi KHV pada suhu 22°C mati dalam 15 hari pertama pasca infeksi.

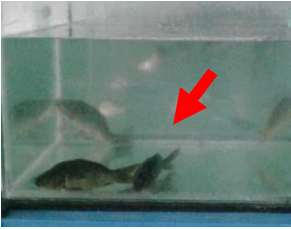
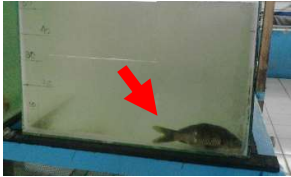
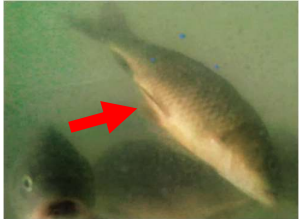

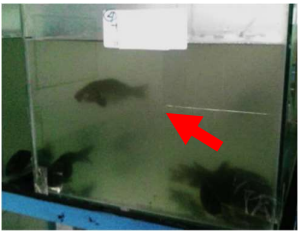
Ikan yang terinfeksi KHV sama halnya dengan ikan yang terinfeksi patogen pada umumnya. Terdapat 4 kemungkinan yang akan terjadi yakni ikan tidak terinfeksi karena adanya kekebalan alami (*natural immunity*), ikan terinfeksi dan mati, ikan terinfeksi tetapi tetap bertahan hidup dan virus akan dieliminasi, serta ikan terinfeksi namun tidak menunjukkan gejala karena bertindak sebagai pembawa (*carrier*) (Yosha 2003). Suhu permisif untuk infeksi KHV adalah 26-27°C. Suhu tersebut masuk pada kisaran optimal perkembangan KHV. Hal ini sejalan dengan Hedrick *et al.* (2000) bahwa KHV dapat menyebabkan kematian massal pada ikan mas dan koi pada suhu 18-27°C.

### Tingkah Laku (*Behaviour Signs*)

Hasil pengamatan pada perubahan tingkah laku (*Behaviour Signs*) ikan mas yang terinfeksi KHV menunjukkan beberapa tanda diantaranya ikan tampak lemas, nafsu makan menurun, berenang tidak stabil, posisi ikan miring di dasar wadah, selalu berada disudut

wadah, sering ke permukaan atau titik aerasi, berenang tidak teratur (posisi kepala diatas dan caudal pada bagian bawah), sesekali berenang mundur, sirip dorsal menutup dan pergerakan mulut lebih cepat. Adapun hasil pengamatan dan dokumentasi perubahan tingkah laku ikan terinfeksi KHV dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perubahan tingkah laku (*behavior signs*) ikan mas terinfeksi KHV

No.	Gambar
1	 Posisi ikan tampak miring
2	 Berada di sudut wadah
3	 Berenang tidak stabil/miring
4	 Kepermukaan air/titik aerasi
5	 Berenang Mundur

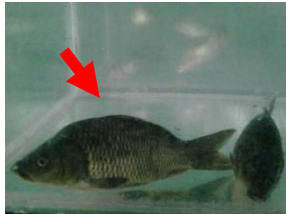


6



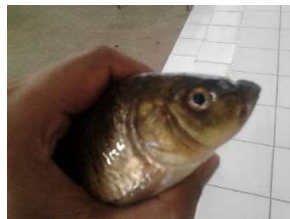
Posisi vertikal (caudal bagian bawah)

7



Sirip punggung tertutup

8



Saat dipegang ikan tidak berontak dan tampak lemas

9



Mulut bergerak cepat

Perubahan tingkah laku yang teramati dalam studi ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya. Perubahan tersebut diantaranya ikan bergerak lambat, berenang ke permukaan air (Sulistiyowati *et al.*, 2010), ikan berdiri di kolom air, berenang mengikuti arus air (Barnes, 2004), frekuensi pernafasan tinggi (Hoffman *et al.*, 2004), mengalami anoreksia dan sering ke titik aerasi (Bretzinger *et al.*, 1999), hiperaktif dan kehilangan keseimbangan sebelum terjadi kematian (Hedrick *et al.*, 2000).

Menurut Hartman *et al.* (2004) prilaku ikan yang terinfeksi KHV berenang mendekati permukaan dan tampak lesu karena mengalami gangguan pernafasan. Hal ini menyebabkan ikan kekurangan oksigen dan berenang tidak terkordinasi (Hartman *et al.*, 2004). Adanya kerusakan jaringan pada insang (nekrosis) dan produksi hyperplasia pada filamen insang menyebabkan ikan kesulitan dalam mengambil

oksigen terlarut (Hedrick *et al.*, 2000). Perubahan tingkah laku mulai ditunjukkan setelah 2 hari pasca infeksi. Gejala yang timbul umumnya berupa kecenderungan ikan berdiam di dasar akuarium, sebagian terlihat miring dan sebagian lagi berenang ke permukaan air (Sulistiyowati *et al.*, 2010).

Ikan yang telah menunjukkan gejala perubahan tingkah laku seperti ini dapat diwaspadai sebagai akibat dari infeksi KHV. Periode inkubasi KHV secara umum terjadi selama 7 hari dengan kematian yang bisa terjadi secara massal (NACA, 2002). Kasus penularan KHV pada budidaya ikan mas sangat cepat. Transmisi terjadi melalui kontak langsung dengan ikan terinfeksi, kontaminasi pada wadah atau air. Kondisi ikan mas yang dipelihara pada suhu 20°C sebelumnya menunjukkan tingkah laku normal, namun hari berikutnya menunjukkan tingkah laku yang lemas dan beberapa jam kemudian mati (Bretzinger *et al.*, 1999).

Pencegahan ikan terinfeksi KHV dapat dilakukan dengan memelihara ikan secara benar pada suhu diatas suhu permisif KHV yakni lebih dari 26°C. Ikan yang dipelihara dengan suhu air yang dinaikkan secara buatan dapat membatasi infeksi KHV dan menginduksi sistem kekebalan tubuh ikan dari KHV (Gilad *et al.*, 2003). Selain itu hal lain yang bisa dilakukan adalah vaksinasi (Nuryati *et al.*, 2010). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksin efektif melindungi ikan mas dari infeksi KHV yang patogenitasnya terjadi dalam sel (*intraseluler pathogenic*) (Aonullah *et al.*, 2016; Kurniaji *et al.* 2018).

Metode *screening* yang tepat sampai dengan saat ini adalah *Polymerasi Chain Reaction* (PCR). Metode ini membantu mendeteksi *carrier* KHV pada ikan mas sehingga direkomendasikan untuk digunakan (OATA, 2000). Hasil konfirmasi di laboratorium menunjukkan bahwa sampel ikan uji positif KHV pada berat molekul 0.296 kb. Hal ini menunjukkan bahwa ikan yang menunjukkan gejala klinis dan mati selama pengamatan disebabkan oleh KHV.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perubahan morfologi (*clinical signs*) ikan terinfeksi KHV berupa nekrosis pada insang, geripis pada bagian sirip caudal, terdapat luka (*ulcer*) pada *operculum*, pendarahan (*septicemia*) pada bagian pinggir (*operculum*) dan mulut, serta mata cekung ke dalam dan memutih. Adapun perubahan tingkah laku berupa ikan tampak lemas, nafsu makan menurun, berenang tidak stabil, posisi ikan miring di dasar wadah, selalu berada disudut

wadah, sering ke permukaan atau titik aerasi, berenang tidak teratur (posisi kepala diatas dan caudal pada bagian bawah), sesekali berenang mundur, sirip dorsal menutup dan pergerakan mulut lebih cepat.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Balai Besar Perikanan Budidaya Air Tawar Sukabumi, Jawab Barat dan Laboratorium Genetika dan Reproduksi Ikan, Departemen Budidaya Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor atas kesediannya membantu pelaksanaan penelitian dan menjadi tempat pengambilan data.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aonullah, A.A., Nuryati, S., Alimuddin, S. Murtini. (2016). Efficacy of koi herpesvirus DNA vaccine administration by immersion method on *Cyprinus carpio* field scale culture. *Aquaculture Research*, 1-8.
- Barnes, A. (2004). KHV- a challenge to the future of Koi. Abstract of paper presented at the International Workshop on Koi Herpesvirus held in London.
- Bondad-Reantaso, M. (2004). Disease profile: koi herpesvirus (KHV) or carp nephritis and gill necrosis virus (CNGV). Food and agricultural organization of the united nations. 19 Hal.
- Bretzinger, A., T. Fisher-Scherl, M. Ououna, R. Hoffman and U. Truyen. (1999). Mass mortalities in koi carp, *Cyprinus carpio*, associated with gill and skin disease. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 19(5): 182-185.
- Dishon, A., Davidovich, M., Ilouze, M., Kotler, M. (2007). Persistence of cyprinid herpesvirus 3 in infected cultured carp cells. *J Virology.* 81(9): 4828-4836.
- Gilad, O., Yun, S., Adkinson, M.A., Marty, G.D., Leutenegger, C.M., Bercovier, H. and Hedrick, R.P. (2002) Effect of water temperatures on the pathogenesis of koi herpesvirus (KHV), and development of an ELISA for KHV detection in previously exposed fish. Abstract of oral presentation, 2002.
- Gray, M., S. LaPatra, Groff and A. Goodwin. (2002). Detection of Koi Herpes virus DNA in tissues of infected fish. *J. Fish Dis.* 25: 171-178.
- Haenan, O.L.M. and M.Y. Engelsma. (2004). Global distribution of KHV with particular reference to Europe. Abstract of paper presented at the International Workshop on Koi Herpesvirus held in London on 12-13 February 2004.
- Hartman, K. H., Yanong, R. P. E., Petty, B. D., Francis-Floyd, R., Rings, A. C. (2004). Koi herpes virus disease. Department of Large Animal Clinical Sciences, University of Florida.
- Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S., Spangenberg, J. V., Marty, G.D., Nordhausen, R. W., Martin, S.W., Meek, A. H., and Willeberg, P. (2000). A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *Journal Aquatic Anim Health*, 12: 44-57.
- Hedrick, R.P., O. Gilad, S. Yun, J.V. Spangenberg, G.D. Marty, R.W. Nordhausen, M.J. Kebus, H. Bercover, A. Eldar. (2000). A herpes virus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *J. Aquat. Anim. Health*, 12: 44-57.
- Hoffman, R.W., El-Matbouli, M. and Soliman, H. (2004). Detection and isolation of KHV in Continental Europe. Abstract of paper presented at the International Workshop on Koi Herpesvirus held in London on 12-13 February 2004.
- Kurniaji, A., Nuryati, S., Alimuddin, Murtini, S. (2018). Maternal immunity response and larval growth of anti-CyHV-3 DNA vaccinated common carp (*Cyprinus carpio*) at different pre-spawning time. *Pak. J. Biotechnol*, 15(3): 689-698.
- Kurniaji, A., Nuryati, S., Alimuddin, Murtini, S. (2020). Gonad development and blood profile of anti-KHV DNA vaccinated common carp. *Aquaculture Indonesiana*, 21 (2): 49-55.
- Mustahal, Manijo, Kirana, C. (2004). Pengujian penyakit koi herpes virus (KHV) pada beberapa ikan budidaya. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 13 (1): 21-26.
- NACA/ACIAR. (2002). Report of the Emergency Disease Control Task Force on a Serious Disease of Koi and Common Carps in Indonesia. NACA, Bangkok, Thailand. 22 pp.
- Nuryati, S., Alimuddin, Sukenda, Soejoedono, R.D., Santika, A., Pasaribu, F.H., Sumantadinata. (2010). Construction of a DNA vaccine using glycoprotein gene and its expression towards increasing survival rate of KHV-infected common carp (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Natur Indonesia*, 13: 47-52.
- Ornamental Aquatic Trade Association (OATA). (2001). Koi herpesvirus (KHV). United Kingdom. 33 Hal.
- Pereberg, A., Smirnov, M., Hutoran, M., Diaman, A., Benjerano, Y., Kotler, M. (2003). Epidemiological description of a

- new viral disease afflicting cultured carp in Israel. *IJA-Bamidgeh*. 55 (1): 5-12.
- Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavisivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Perelberg, A., Soffer, D., & Kotler, M. (2004). Pathologogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *J. Virol.*, 78: 9,544-9,551.
- Pradana, M.S., Suwarno, Suprpto, H. (2015). Deteksi koi herpesvirus (KHV) pada ikan nila (*Oreocromis niloticus*) yang diinfeksi secara buatan. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 7(1): 39-45.
- Romans, M., Boutler, M., Rakus, K., Farnir, F., Desmecht, D., Ectors, F., Vandecan, M., Lieffrig, F., Melard, C., Vanderplasschen, A. (2014). Sensitify and permissivity of *Cyprinus carpio* to cyprinid herpesvirus 3 during the ealy stages of its development: importance of the epidermal mucus as an innate immune barrier. *Veterinary Research*, 45:100.
- Ronen, A., Perelberg, A., Abramovitz, J., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M. and Kotler, M. (2003). Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine* 21 (32): 4677-4684.
- Setyorini, N., A. Khusnah, L., Widajatiningrum. (2008). Kelangsungan hidup ikan koi (*Cyprinus carpio*) yang terinfeksi KHV (*Koi Herpes Virus*). Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil. 9 hal.
- Sulistiyowati, E., Yasin, St.S., Suharni, W., Setyaningsih, S. R. (2010). Preparasi antigen KHV untuk pencegahan infeksi KHV pada ikan Koi (*Cyprinus carpio*). *Indonesian Journal of Veterinary Science and Medicine*, 1 (2): 23-28.
- Sunarto, A. (2004). Response To Mass Mortality of carp: In Indonesian Experience. Fish Health Research Laboratory, Indonesia.
- Taukhid, A., I. Sunarto, H. Koesharyani, Supriyadi dan L. Gardenia. (2004). Strategi Pengendalian Penyakit Koi Herpes Virus (KHV) Pada Ikan Mas Dan Koi. Makalah pada Workshop Pengendalian Koi Herpes Virus (KHV) pada Budidaya ikan Air Tawar, Bogor 24 September 2004.
- Yosha, S. (2003). Update on Koi Herpesvirus (KHV) for the Koi Hobbyst. Insert to Koi USA magazine March/April 2003.
- Yuasa, K., Sano, M., Kurita, J., Ito, T. and Lida, T. (2005) Improvement of a PCR method with the Sph 1-5© 2016 primer set for the detection of koi herpesvirus (KHV). *Fish Pathology* 40, 37–39.