

**TEKNIK PENANGANAN PENYAKIT VIRUS PADA
IKAN DAN UDANG**
Modul Pembelajaran

**Indah Puspitasari
Tri Ari Setyastuti
Dwi Sukanto**



Diterbitkan oleh :
AMAFRAD Press
Badan Riset dan Sumber Daya Manusia
Kelautan dan Perikanan
Gedung Mina Bahari III, Lantai 6, Jl. Medan
Merdeka Timur,
Jakarta Pusat 10110
Telp. (021) 3513300 Fax: 3513287
Email : amafRADpress@gmail.com



Teknik Penanganan Penyakit Virus pada Ikan dan Udang

**Dilarang memproduksi atau memperbanyak seluruh atau sebagian dari buku
dalam bentuk atau cara apapun tanpa izin tertulis dari penerbit**

**©Hak cipta dilindungi oleh Undang-Undang No.28 Tahun 2014
All Rights Reserved**

TEKNIK PENANGANAN PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG

Modul Pembelajaran

Penulis :

**Indah Puspitasari
Tri Ari Setyastuti
Dwi Sukamto**

AMaFRaD  PRESS

Indah Puspitasari, Tri Ari Se

TEKNIK PENANGANAN PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG
Modul Pembelajaran

Penulis:

**Indah Puspitasari
Tri Ari Setyastuti
Dwi Sukamto**

Validator:

**Prof. Dr. Ir. Ketut Sugama, M.Sc., A.Pu.
Dr. Ir. Tri Heru Prihadi, M.Sc.
Dr. Desy Sugiani, S.Pi., M.Si.
Dr. Drh. Angela Mariana Lusiastuti, M.Si.
Dr. Drs. Djumbuh Rukmono, M.P.**

Perancang Sampul :

Indah Puspitasari

Jumlah halaman :

xii + 81 halaman

Edisi/Cetakan :

Cetakan pertama, 2020

Diterbitkan oleh :

**AMAFRAD Press
Badan Riset dan Sumber Daya Manusia Kelautan dan Perikanan
Gedung Mina Bahari III, Lantai 6, Jl. Medan Merdeka Timur No.16
Jakarta Pusat 10110
Telp. (021) 3513300 Fax: (021) 3513287
Email : amafradpress@gmail.com
Nomor IKAPI: 501/DKI/2014**

ISBN : 978-623-7651-56-7

e-ISBN: 978-623-7651-57-4 (PDF)

©2020, Hak Cipta Dilindungi oleh Undang-undang.

KATA PENGANTAR

Modul Pembelajaran *Teknik Penanganan Penyakit Virus pada Ikan dan Udang* ini terdiri dari Tujuh Kegiatan Belajar yang disusun berdasarkan salah satu kompetensi yang harus dimiliki oleh seorang Ahli Madya Perikanan lulusan Politeknik Kelautan dan Perikanan yang tertuang dalam Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor: 8/PERMEN-KP/2015 tentang Kurikulum Politeknik Kelautan dan Perikanan Edisi 2015.

Kegiatan Belajar disusun secara berurutan mulai dari; Deskripsi Modul Teknik Penanganan Penyakit Virus, Diagnosa Ikan Sehat dan Sakit, Metode Pengambilan Sampel Penyakit, Penyakit Virus pada Ikan dan Udang, Metode Identifikasi Penyakit Virus pada ikan dengan teknik PCR, Pengendalian Penyakit Virus pada Ikan dan udang serta Insidendi dan Prevalensi. Pada setiap Kegiatan Belajar terdapat indikator yang ingin dicapai, uraian materi, rangkuman serta penugasan. Evaluasi Modul Pembelajaran ini dilakukan pada setiap Kegiatan Belajar dalam bentuk Tes Formatif.

Modul ini diharapkan dapat menjadi salah satu perangkat dalam standarisasi pendidikan Diploma III pada Politeknik Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan.

Tim Penyusun

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada :Prof. Dr. Ketut Sugama, M.Sc., Prof. Dr. Ir. Sonny Koeshendrajana, Prof. Dr. Ir. Ngurah N. Wiadnyana, DEA., Dr. Singgih Wibowo, M.S, Dr. Ing Widodo S. Pranowo, M.Sc., Dr. Ir. I Nyoman Suyasa, M.S, dan Dr. drh. Angela Mariana Lusiasuti yang telah mengkoreksi dan memberikan masukan kepada Penulis sehingga modul Pembelajaran *Teknik Penanganan Penyakit Virus pada Ikan dan Udang* ini menjadi lebih sempurna dan penyajian materi modul yang lebih baik.

Ucapan terima kasih juga Penulis sampaikan kepada Kepala Pusat Pendidikan Kelautan dan Perikanan serta jajarannya atas bantuannya secara administratif dan teknis, Direktur Politeknik Kelautan dan Perikanan Sidoarjo dan rekan-rekan dosen serta tenaga pendidik khususnya dari program studi Teknik Penanganan Patologi Perikanan serta kepada para pakar dan akademisi atas masukan yang berharga bagi penyempurnaan materi modul ini serta atas bantuan dan kerjasamanya dalam penyusunan modul ini.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
UCAPAN TERIMAKASIH	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL	xiii
PETA MODUL	xv
GLOSSARIUM	xvii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
Kompetensi	1
Sub Kompetensi	2
BAB II	3
KEGIATAN BELAJAR 1	3
DASAR-DASAR VIROLOGI	3
2.1. Indikator	3
2.2. Uraian Materi	3
2.2.1. Pengertian Virus	3
2.2.2. Sifat Virus	3
2.2.3. Morfologi Virus	4
2.2.4. Reproduksi Virus	5
2.3. Rangkuman	7
2.4. Penugasan	8
2.5. Tes Formatif 1	8
BAB III	9

KEGIATAN BELAJAR 2	9
PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG	9
3.1. Indikator.....	9
3.2. Uraian Materi.....	9
3.2.1. Jenis-jenis Penyakit Virus pada Ikan	9
3.2.2. Jenis-Jenis Virus pada Udang	21
3.3. Rangkuman	26
3.4. Penugasan	27
3.5. Tes Formatif 2.....	27
BAB IV	28
KEGIATAN BELAJAR 3	28
DIAGNOSA IKAN/UDANG SEHAT DAN SAKIT.....	28
4.1. Indikator.....	28
4.2. Uraian Materi.....	28
4.2.1. Diagnosis ikan sehat dan sakit	28
4.2.2. Diagnosa udang sehat dan sakit.....	33
4.3. Rangkuman	39
4.4. Penugasan	39
4.5. Tes Formatif 3	39
BAB V	40
KEGIATAN BELAJAR 4	40
METODE PENGAMBILAN SAMPEL PENYAKIT IKAN.....	40
5.1. Indikator.....	40
5.2. Uraian Materi	40
5.2.1. Pengambilan sampel pada ikan.....	40
5.3. Rangkuman	43
5.4. Penugasan	43

5.5. Tes Formatif 4	44
BAB VI	45
KEGIATAN BELAJAR 5	45
METODE IDENTIFIKASI PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DENGAN TEKNIK PCR	45
6.1. Indikator.....	45
6.2. Uraian Materi.....	45
6.2.1. Metode identifikasi penyakit virus secara makroskopis	45
6.2.2. Metode identifikasi penyakit virus secara mikroskopis dan biologi molekuler	45
6.2.3. Metode identifikasi penyakit virus dengan teknik PCR	46
6.3. Rangkuman	53
6.4. Penugasan	54
6.5. Tes Formatif 5	54
BAB VII	55
KEGIATAN BELAJAR 6	55
PENGENDALIAN PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG.....	55
7.1. Indikator.....	55
7.2. Uraian Materi.....	55
7.2.1. Tindakan pencegahan	55
7.2.2. Tindakan penanganan	62
7.3. Rangkuman	64
7.4. Penugasan	64
7.5. Tes Formatif 6	64
BAB VIII	65
KEGIATAN BELAJAR 7	65
UKURAN FREKUENSI MORBIDITAS	65
8.1. Indikator.....	65
8.2. Uraian materi.....	65

8.2.1. Insidensi	65
8.2.2. Prevalensi.....	67
8.3. Rangkuman	68
8.4. Penugasan	69
8.5. Tes Formatif 7	69
PENUTUP.....	70
TES SUMATIF	71
KUNCI JAWABAN	72
DAFTAR PUSTAKA.....	76

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbedaan Ikan sehat dan sakit	28
Tabel 2. Konsentrasi gel agarose untuk memisahkan molekul DNA linear	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur Virus (bakteriofag).....	5
Gambar 2. Daur litik dan lisogenik virus	7
(Campbell, 2013)	7
Gambar 3. Ikan yang terkena Channel Catfish Virus Disease	10
Gambar 4. Ikan yang terkena <i>Spring Viramea Carp Disease</i> (SVCD)	11
Gambar 5. Lesi pada ikan rainbow trout yang terinfeksi dengan Infectious pancreatic necrosis (IPN) yang menular. (A) Distensi perut. (B) Cairan mukoid kuning di saluran pencernaan. (Zhu, et al., 2017).....	12
Gambar 6. Ikan dengan Lymphocystis / bintil putih	13
Gambar 7. Ikan terkena dropsy	14
(Shaoqi, 1989)	14
Gambar 8. Ikan rainbow trout di Iran terkena IHNV	16
Gambar 9. Gelembung renang yang mengembung.....	17
Gambar 10. Ikan Koi dengan gejala KHV.....	18
Gambar 11. Ciri morfologi luar ikan Estuary cod (<i>Epinephelus tauvina</i>) yang terinfeksi Iridovirus, (a) ulserasi dalam di jaringan otot dan (b) bisul merah di permukaan tubuh.....	20
Gambar 12. Limpa (spleen) yang membengkak pada Ikan kerapu yang terinfeksi.....	21
Gambar 13. Udang windu yang terkena IHHNV	22
Gambar 14. Udang yang terkena Yellowhead Disease (YHD) pada kelompok udang bagian kiri	23
Gambar 15. Udang terkena Taura Syndrome Virus (TSV)	24
Gambar 16. Carapace <i>Penaeus monodon</i> juvenile dengan WSSV	25
Gambar 17. Udang terkena IMNV	26
Gambar 18. Ikan yang mengalami Ulcer	30
Gambar 19. Ikan dengan bintik hitam abnormal.....	30
Gambar 20. Haemorrhage (perdarahan) pada sirip ekor dan dada serta hiperemia di sekitar mulut benih ikan nila (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) (Yildirim, dkk. 2006).....	31
Gambar 21. Ekor geripis pada ikan Koi.....	31
http://www.fishtanksandponds.co.uk/fish-health/finrot.html	31
Gambar 22. Ikan dengan sisik yang lepas.....	32
Gambar 23. Ikan mas (Carp) yang terinfeksi Carp Edema Virus (CEV)	32

Gambar 24. Ikan yang terserang Koi Herpes Virus (KHV) menunjukkan insang yang belang-belang dan mata cekung.....	33
Gambar 25. Perilaku renang benur yang sehat di baskom dtunjukkan ketika air diputar, benur sehat akan berenang berlawanan arah dengan putaran air.	34
(Chanratchakool, dkk, 1998)	34
Gambar 26. Udang yang sehat terlihat dari saluran pencernaan yang dipenuhi makanan (Chanratchakool, dkk, 1998)	35
Gambar 27. Perubahan warna menjadi hitam pada tungkai yang rusak.....	36
(Chanratchakool, dkk, 1998)	36
Gambar 28. Udang dengan carapace yang lunak (a,b)	37
Gambar 29. Warna merah pada ekor udang yang membengkak	38
Gambar 30. Warna merah dan biru abnormal pada udang	38
(Chanratchakool, dkk, 1998)	38
Gambar 31. Tiga tahap utama pada PCR	48
Gambar 32. Ilustrasi tahapan penggandaan undai DNA dalam proses PCR	49
Gambar 33. Proses Elektroforesis dan Visualisasi DNA pada UV transluminator.....	51
Gambar 34. Analisis kurva leleh dari uji real time PCR.	53
Gambar 35. Faktor yang berperan dalam timbulnya penyakit	57
Gambar 36. Jumlah patogen meningkat.....	58
Gambar 37. Perubahan lingkungan yang terjadi secara drastis	58

PETUNJUK PENGGUNAAN MODUL

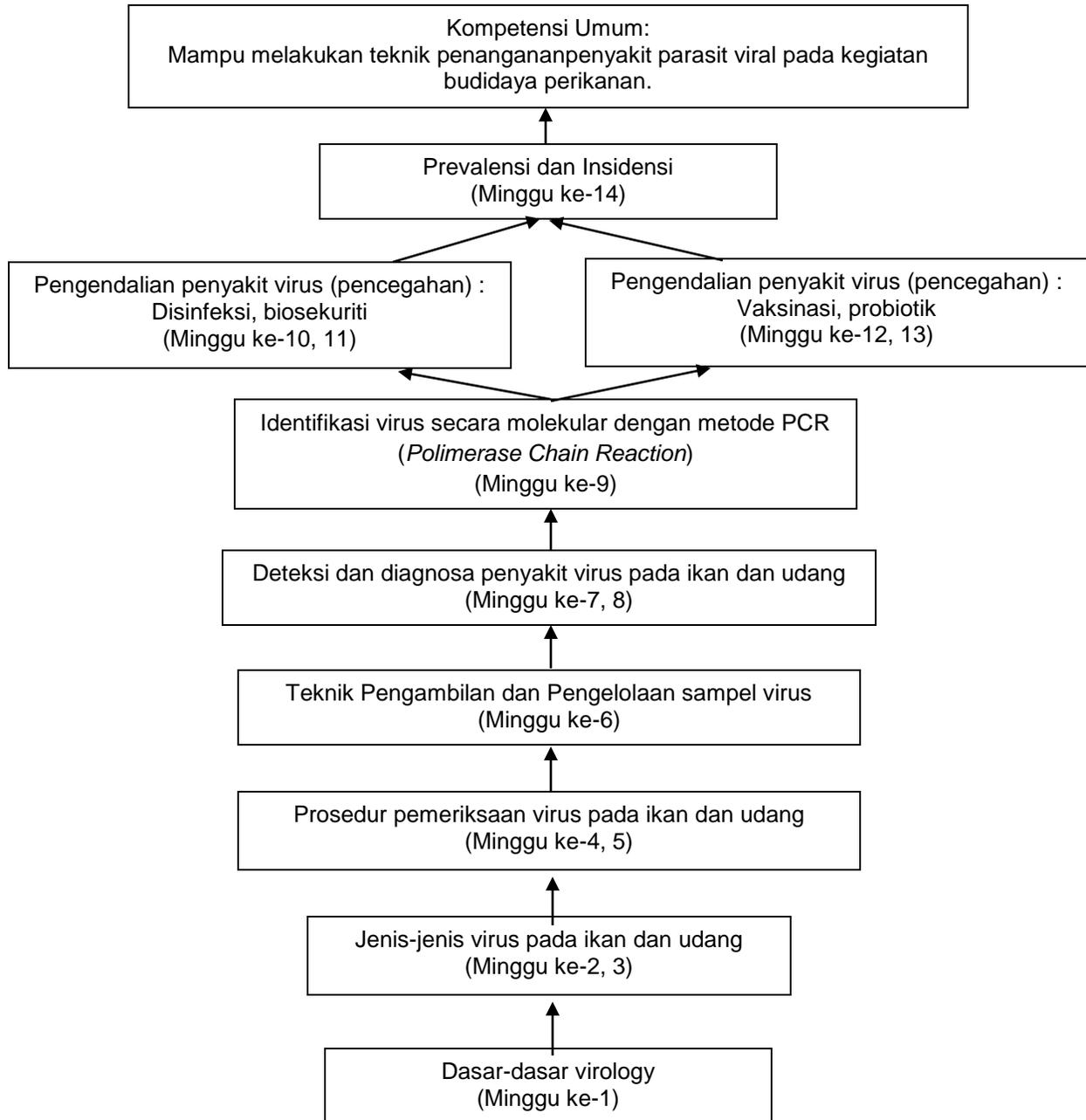
Modul ini disusun sebagai bahan pembelajaran dengan pendekatan siswa (Taruna) aktif dan Dosen berfungsi sebagai fasilitator. Melalui modul ini diharapkan Taruna kompeten dalam melakukan teknik penanganan penyakit viral pada ikan. Oleh karena itu, diharapkan Taruna dapat berinteraksi dengan modul yang dipergunakan dengan memperhatikan hal-hal sebagai berikut :

1. Bacalah modul ini secara berurutan
2. Pahami secara cermat mengenai deskripsi buku teks, tujuan pembelajaran, dan uraian materi.
3. Bila terdapat hal yang kurang dimengerti/dipahami, mintalah petunjuk kepada Dosen.
4. Kerjakan setiap tugas sesuai dengan petunjuk yang ada.
5. Kerjakan soal yang ada pada tes formatif di setiap kegiatan belajar.
6. Tunjukkan hasil kerja anda pada Dosen.
7. Untuk lebih memperluas wawasan, pelajari referensi yang berhubungan dengan modul ini.

Untuk kegiatan belajar yang terdiri dari praktikum, perhatikanlah hal-hal berikut ini:

1. Perhatikan petunjuk-petunjuk keselamatan kerja yang berlaku
2. Pahami setiap langkah kerja (Prosedur praktikum) yang baik.
3. Sebelum melaksanakan praktikum, identifikasi (tentukan) peralatan dan bahan yang diperlukan dengan cermat.
4. Gunakan alat sesuai prosedur pemakaian yang benar.
5. Untuk melakukan kegiatan praktikum yang belum dipahami, harus meminta ijin Dosen pengampu terlebih dahulu.

PETA MODUL



GLOSSARIUM

Ampilkon	potongan DNA atau RNA yang merupakan hasil dari amplifikasi/replikasi pada proses <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).
Inang	dalam biologi, adalah organisme yang menampung virus, parasit, partner mutualisme, atau partner komensalisme, umumnya dengan menyediakan makanan dan tempat berlindung
Outbreak	suatu kejadian dimana penyakit timbul melebihi jumlah normal pada suatu komunitas tertentu, pada area geografis atau musim tertentu.
Haemorhagi	atau pendarahan (bahasa Inggris: hemorrhage, exsanguination; bahasa Latin: exsanguinātus, tanpa darah) merupakan istilah kedokteran yang digunakan untuk menjelaskan ekstrasvasasi atau keluarnya darah dari tempatnya semula.
Edema	pembengkakan pada anggota tubuh yang terjadi karena penimbunan cairan di dalam jaringan. Edema menandakan adanya kebocoran cairan tubuh melalui dinding pembuluh darah.
Nekrosis	(dari bahasa Yunani νέκρωσις "kematian, tahap kematian, tindak pembunuhan" dari νεκρός "mati") adalah bentuk cedera sel yang mengakibatkan kematian prematur sel-sel pada jaringan hidup dengan autolisis
Exophthalmus	kondisi saat bola mata terlihat menonjol melebihi tulang orbital
Histopatologi	adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu.
Viral	bersifat menyebar luas dan cepat seperti virus
Lethargik	kondisi ikan berenang lambat, lemas
Lesi	keadaan jaringan yang abnormal pada tubuh
Ulcer	luka yang terbuka pada dinding (biasanya pada dinding lambung atau usus)
Petekial haemoragi	pendarahan level 1, ditandai dengan adanya bekas kecil pada kulit yang dibuat oleh pembuluh darah yang pecah.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Deskripsi Singkat

Penyakit viral pada budidaya ikan merupakan ancaman serius karena mampu menyebabkan kematian massal dalam waktu singkat. Karakter virus yang menyerang sel inang intraseluler, maka pengendalian virus sulit dilakukan. Oleh karena itu diperlukan kemampuan dalam pengendalian penyakit virus dalam keberhasilan kegiatan budidaya.

Teknik pengendalian penyakit terdiri dari pencegahan, monitoring sampai dengan penanganan penyakit viral pada ikan. Beberapa kemampuan yang perlu dimiliki oleh seorang teknisi budidaya yang ahli dalam menangani penyakit pada ikan dibahas pada modul ini.

Modul ini membahas mengenai ciri-ciri ikan sehat dan sakit, metode pengambilan sampel, metode identifikasi penyakit virus yang meliputi diagnosa makroskopis dan diagnosa mikroskopis, teknik penanganan penyakit virus serta teknik pengendalian penyakit virus pada ikan budidaya.

Mata kuliah prasyarat modul ini antara lain; Mikrobiologi, Biologi Molekuler, Penyakit Patogen pada Ikan serta Dasar-dasar Budidaya Perikanan. Taruna diharapkan telah menguasai beberapa mata kuliah tersebut sebelum mempelajari modul ini.

Kompetensi

Setelah mempelajari modul ini Taruna diharapkan mampu melakukan penanganan dan pengendalian penyakit virus pada ikan dan udang.

Sub Kompetensi

- a. Menjelaskan dasar-dasar virologi
- b. Menjelaskan ciri-ciri penyakit virus pada ikan dan udang
- c. Mengidentifikasi ikan dan udang sehat dan sakit
- d. Mengambil sampel penyakit virus ikan dan udang
- e. Melakukan prosedur identifikasi penyakit virus pada ikan dan udang
- f. Melakukan pencegahan penyakit virus pada ikan dan udang
- g. Melakukan perhitungan prevalensi dan insidensi

BAB II
KEGIATAN BELAJAR 1
DASAR-DASAR VIROLOGI

2.1. Indikator

Setelah mengikuti materi ini Taruna mampu:

- a. menjelaskan pengertian virus
- b. menjelaskan sifat virus
- c. menjelaskan morfologi virus
- d. menjelaskan reproduksi virus

2.2. Uraian Materi

2.2.1. Pengertian Virus

Menurut Pelczar dan Chan (1988) dalam Hakim (2013) virus adalah mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit dengan ukuran tubuh antara 25-300 nanometer, sehingga hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop electron. Virus tidak mempunyai perlengkapan metabolic sendiri dan tidak mampu membangkitkan energi atau mensintesis protein, sehingga kebutuhan pakan untuk memperbanyak diri sangat bergantung pada inangnya. Pada saat itulah virus menyebabkan kerusakan ataupun penyakit pada inangnya.

Menurut Pelczar dan Chan (1988) dalam Hakim (2013), virus dapat menular ke inang lain melalui lingkungan atau media lain dalam bentuk paket-paket gen berukuran mikro. Virus tersusun atas bahan genetis berupa DNA atau RNA saja dan bukan kedua-duanya, yang terkemas dalam selubung protein, sehingga bahan genetis tersebut terlindung ketika berada di luar inang sekaligus sebagai media untuk masuk ke dalam sel inang yang baru. Sampai saat ini, para peneliti belum menemukan dosis yang tepat untuk menyembuhkan penyakit virus pada ikan dan udang yang terserang virus. Hal ini terjadi karena dosis yang dapat membunuh virus akan dapat membunuh inangnya itu sendiri, sehingga penanganan terbaik adalah dengan melakukan tindakan pencegahan.

2.2.2. Sifat Virus

Menurut Tusihadi (2002), virus mempunyai sifat yang berbeda dengan mikroorganisme bersel tunggal. Perbedaannya antara lain :

- a. Diameter virus sangat kecil (< 300 nm).
- b. Virus tidak dapat tumbuh pada media mati.

- c. Virus hanya dapat bereproduksi dan berkembang biak di dalam inang.
- d. Virus hanya mempunyai materi genetik berupa DNA atau RNA saja, tidak pernah keduanya.
- e. Asam nukleat virus bersifat infeksius
- f. Virus tidak dapat melakukan metabolisme sendiri
- g. Virus tidak peka terhadap antibiotik.

2.2.3. Morfologi Virus

Virus paling sederhana terdiri dari molekul asam nukleat tunggal yang dibungkus oleh selubung protein (kapsid). Kapsid disusun oleh kapsomer-kapsomer yang satu sama lain terikat melalui ikatan nonkovalen membentuk kesimetrisan. Kapsid atau asam nukleat selanjutnya membentuk nukleokapsid. Pada virus yang lebih komplet kapsid dibungkus oleh amplop lipoprotein. Amplop virus diperoleh selama pendewasaan (Tusihadi 2002).

Untuk mengetahui struktur virus secara umum kita gunakan bakteriofage (virus T), strukturnya terdiri dari:

1) Kepala (Head)

Kepala virus berisi DNA dan bagian luarnya diselubungi kapsid. Satu unit protein yang menyusun kapsid disebut kapsomer.

2) Kapsid (Capsid)

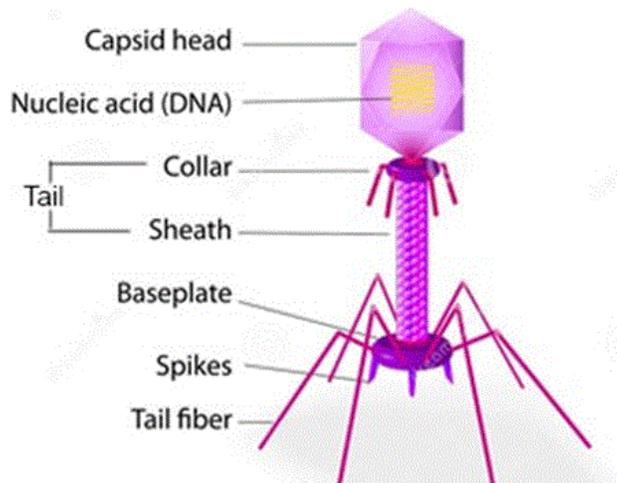
Kapsid adalah selubung yang berupa protein. Kapsid terdiri atas kapsomer. Kapsid juga dapat terdiri atas protein monomer yang terdiri dari rantai polipeptida. Fungsi kapsid untuk memberi bentuk virus sekaligus sebagai pelindung virus dari kondisi lingkungan yang merugikan virus.

3) Isi (Nucleic acid)

Berada di dalam kapsid berupa materi genetik yaitu DNA dan RNA. Virus hanya memiliki satu asam nukleat saja. Asam nukleat sering bergabung dengan protein membentuk nukleoprotein. Virus tumbuhan mengandung RNA dan DNA, virus hewan hanya RNA atau DNA saja, sedang virus bakteri berisi DNA (Pelczar,2008).

4) Ekor (Tail)

Ekor virus merupakan alat untuk menempel pada inangnya. Ekor virus terdiri atas tubus bersumbat yang dilengkapi benang atau serabut. Virus yang menginfeksi sel eukariotik tidak mempunyai ekor. Gambar Morfologi Virus dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Virus (bakteriofag)
(Mansour, 2017)

2.2.4. Reproduksi Virus

a. Daur Litik

Menurut Aulia (2013), virus berkembangbiak dengan replikasi (perbanyak diri) di dalam sel inang. Asam nukleat virus membawa informasi genetik untuk menjadikan semua makromolekul pembentuk virus di dalam sel inang sehingga virus baru yang terbentuk memiliki sifat yang sama dengan virus induk (Gambar 2).

Ciri yang menunjukkan virus dapat bereproduksi adalah begitu berinteraksi dengan sel inang, maka virion akan pecah dan sebertuk partikel-partikel turunan virus. Keberhasilan virus dalam bereproduksi tergantung pada jenis virus dan kondisi ketahanan sel inang. Reproduksi virus terdiri atas 5 tahap, yaitu adsorpsi, tahap penetrasi, tahap sintesis (eklifase), tahap pematangan, dan tahap lisis.

1) Tahap Adsorpsi

Virion (partikel lengkap virus) menempel pada bagian reseptor spesifik sel inang dengan menggunakan serabut ekornya. Reseptor merupakan molekul khusus pada membran sel inang yang dapat berinteraksi dengan virus. Molekul- molekul reseptor untuk setiap jenis virus berbeda-beda.

2) Tahap Penetrasi

Pada tahap penetrasi, selubung ekor berkontraksi untuk membuat lubang yang menembus dinding dan membran sel. Selanjutnya, virus menginjeksikan

materi genetiknya kedalam sel inang sehingga kapsid virus menjadi kosong (mati).

3) Tahap Sintesis

Pada tahap sintesis, DNA sel inang dihidrolisis dan dikendalikan oleh materi genetik virus untuk membuat asam nukleat (salinan genom) dan protein komponen virus.

4) Tahap Pematangan

Hasil sintesis berupa asam nukleat dan protein dirakit menjadi partikel partikel virus yang lengkap sehingga terbentuk virion-virion baru.

5) Tahap Lisis

Fag menghasilkan lisozim, yaitu enzim perusak dinding sel inang. usaknya dinding sel inang mengakibatkan terjadinya osmosis ke dalam sel inang, sehingga sel inang membesar dan akhirnya pecah. Partikel virus baru yang keluar dari sel akan menyerang sel inang lainnya.

b. Daur Lisogenik

Tahapan pada daur lisogenik hampir sama dengan daur litik, yaitu terdapat tahapan adsorpsi dan penetrasi, penyisipan gen virus, pembelahan sel inang.

1) Adsorpsi dan penetrasi

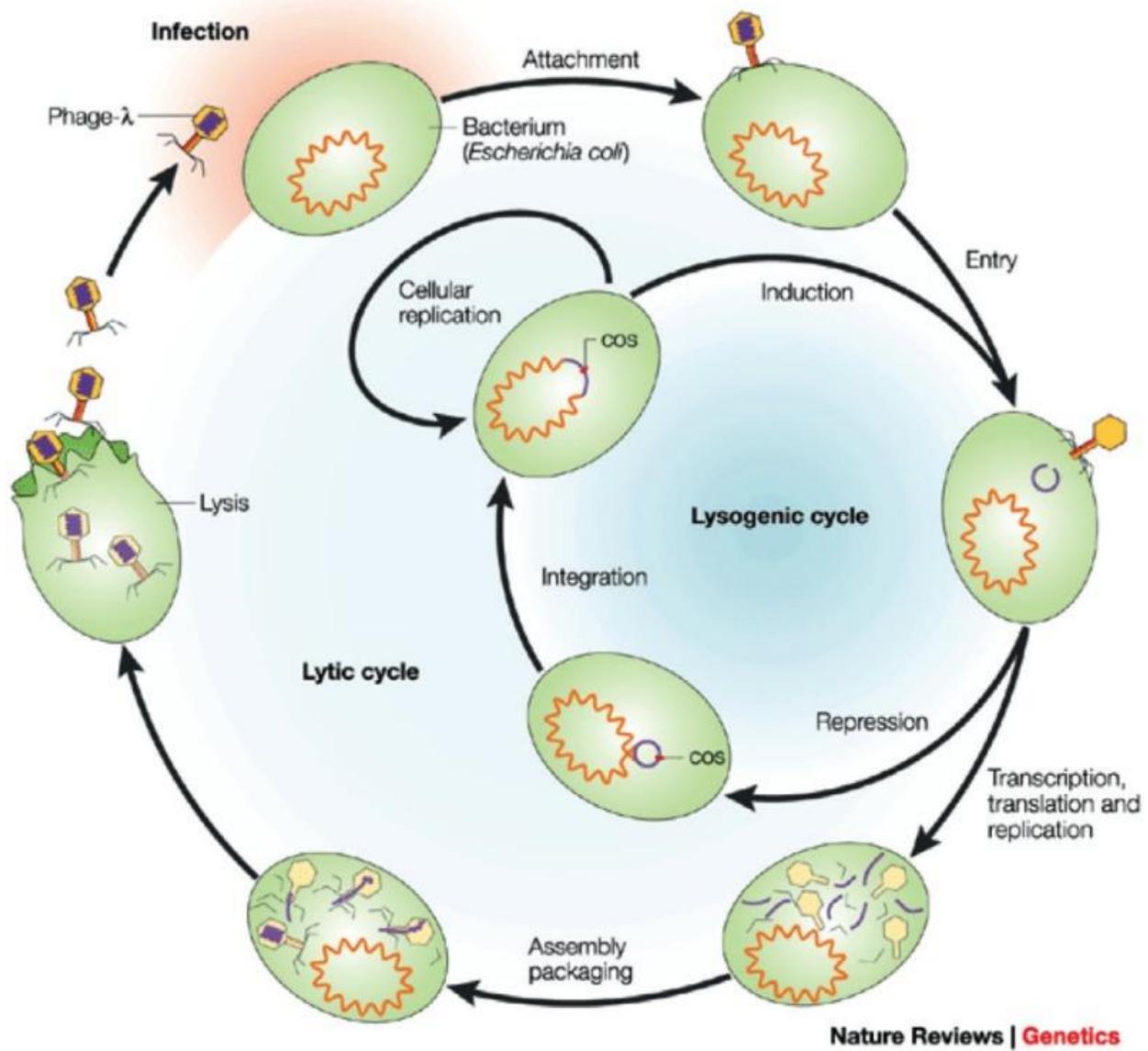
Virus menempel pada permukaan sel inang dengan reseptor protein yang spesifik lalu menghancurkan membran sel dengan enzim lisozim, virus melakukan penetrasi pada sel inang dengan menyuntikkan materi genetik yang terdapat pada asam nukleatnya kedalam sel.

2) Penyisipan gen virus

Pada daur lisogenik tidak terdapat tahapan sintesis/perakitan. Asam nukleat dari virus yang telah menembus sitoplasma sel inang kemudian menyisip kedalam asam nukleat inang. Tahap penyisipan tersebut membentuk provirus (pada bakteriofage disebut profage). Sebelum terjadi pembelahan sel, kromosom dan provirus bereplikasi.

3) Pembelahan sel inang

Sel inang yang telah disisipi kemudian melakukan pembelahan. Provirus yang telah bereplikasi akan diberikan kepada sel anakan dan siklus inipun akan kembali berulang sehingga sel yang memiliki profage menjadi sangat banyak.



Gambar 2. Daur litik dan lisogenik virus (Campbell, 2013)

Provirus akan masuk ke daur litik dalam kondisi lingkungan yang tepat.

2.3. Rangkuman

Virus adalah mikroorganisme yang tidak mempunyai perlengkapan metabolik sendiri dan tidak mampu membangkitkan energi atau mensintesis protein, sehingga kebutuhan pakan untuk memperbanyak diri sangat bergantung pada inangnya. Pada saat itulah virus

menyebabkan kerusakan ataupun penyakit pada inangnya. Virus yang masuk ke dalam sel inang tidak bersifat pathogen terhadap inang ketika berada pada tahap lisogenik, namun ketika memasuki daur litik, maka berubah menjadi bersifat pathogen bagi inang dan menimbulkan gejala sakit pada inang.

2.4. Penugasan

Buatlah tabel perbedaan antara daur litik dan lisogenik virus

2.5. Tes Formatif 1

- a. Apa yang dimaksud dengan virus?
- b. Jelaskan sifat-sifat virus
- c. Sebutkan struktur pembentuk virus
- d. Sebutkan tahapan daur litik virus
- e. Sebutkan perbedaan daur litik dan lisogenik virus

BAB III
KEGIATAN BELAJAR 2
PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG

3.1. Indikator

Setelah mempelajari modul ini, Taruna mampu:

- a. Menyebutkan jenis-jenis penyakit virus pada ikan
- b. Menyebutkan jenis-jenis penyakit virus pada udang
- c. Menyebutkan ciri-ciri klinis dari beberapa penyakit virus pada ikan dan udang

3.2. Uraian Materi

3.2.1. Jenis-jenis Penyakit Virus pada Ikan

Sebelum dapat melakukan teknik identifikasi penyakit, mahasiswa perlu mengetahui jenis penyakit virus yang biasa menyerang ikan. Berikut ini adalah jenis-jenis virus pada ikan :

a. Channel Catfish Virus Disease (CCVD)

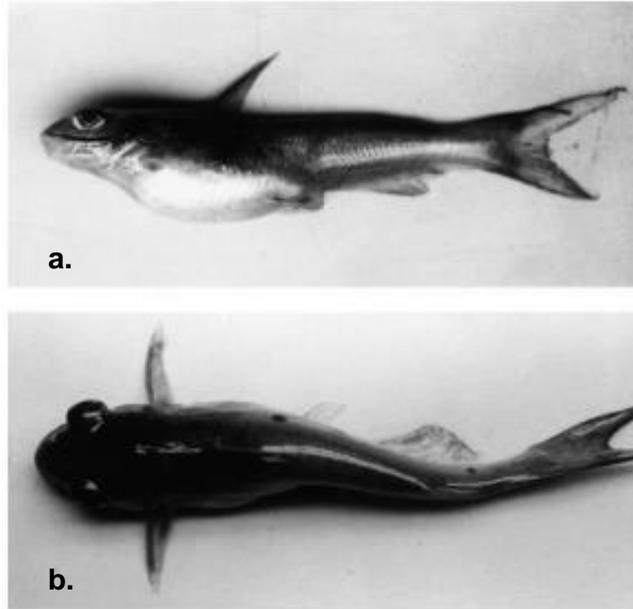
Channel catfish virus diseases adalah infeksi akut dan haemoragik oleh virus herpes. Penyakit ini dapat menimbulkan kematian massal. Inang alami yang diserang adalah golongan lele (Afrianto, dkk, 2015).

Tanda-tanda klinis (patologi) CCVD (Afrianto, dkk, 2015):

- hilangnya keseimbangan tubuh
- ikan bergerak berputar-putar dan tergantung vertikal
- mata menonjol (exophtalmus)
- perut menggembung atau distensi.

Ciri histopatologis (Afrianto, dkk, 2015) :

- terlihat adanya petekiae (pendarahan) pada sirip dan di sekitar abdomen
- pendarahan pada ginjal, kulit, organ dalam kulit, dan organ dalam
- insang terlihat pucat dan haemorhagi
- adanya kenaikan sel limfoid di dalam ginjal dan nekrosis di sekitar tubular ginjal
- nekrosis terdapat pula pada hati, limpa dan alat pencernaan
- haemorhagi, edema, dan nekrosis mucosal dan pelepasan sel di dalam usus.



Gambar 3. Ikan yang terkena Channel Catfish Virus Disease (Sano, et al., 2011)

Gejala klinis morfologi luar pada ikan *Channel catfish* pada fingerling. Bagian atas; tampilan lateral, gejala pada *fingerlings*. Bagian atas: tampak lateral, perut dan saluran urogenital buncit, pendarahan pada pangkal sirip. Bagian bawah: tampak dorsal, eksophthalmia, perut buncit dan pendarahan pada sirip anal (Sano, dkk., 2011).

b. Spring Viraemia of Carp (SVC)

Spring Viraemia of Carp (SVC) disebabkan oleh ssRNA Vesiculovirus (Rhabdoviridae), dikenal sebagai Spring Viraemia of Carp Virus (SVCV) atau Rhabdovirus carpio (RVC) (Fijan, 1999). SVC bersifat akut haemorrhagis dan menular. Penyakit SVC menyerang golongan ikan Cyprinids dan lebih spesifik pada Common Carp dan *Cyprinus carpio*. Penyakit ini biasanya imbul pada musim semi (Spring) dan dapat menyebabkan kematian pada semua umur ikan (Afrianto, dkk, 2015).

Gejala klinis dan patologis (Afrianto, dkk, 2015):

- Ikan berkumpul di bagian saluran pengeluaran
- warna ikan menjadi gelap
- pendarahan/petekiae haemorrhagi
- Mata menonjol (exophthalmus) abdominal dropsy.

- Apabila terjadi infeksi gelembung renang yang virusnya identik dengan virus SVC, dapat memperlihatkan gejala klinis/patogis, kehilangan berat badan dan keseimbangan, warna kulit menjadi gelap/berubah, degenerasi/pendarahan pada dinding gelembung udara.



Gambar 4. Ikan yang terkena *Spring Viraemia Carp Disease* (SVCD) (<http://www.sleloinvasives.org/about-invasives/general-invasive-species-list/spring-viraemia/>)

c. Infectious Pancreatic Necrosis (IPN)

Infectious pancreatic necrosis (IPN) disebabkan oleh virus yang sangat menular, Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) yang termasuk ke dalam golongan Birnaviridae. Virus ini merupakan *bi-segmented* dsRNA yang terdapat terutama pada air tawar, namun tampaknya memiliki toleransi terhadap air asin (OIE, 2000a).

Penyakit infeksi ini menyerang golongan ikan salmonis, terutama yang masih muda. Ikan muda yang sembuh dapat tahan terhadap penyakit ini, namun menjadi carrier. Penularan IPN dapat terjadi secara vertical melalui telur yang terinfeksi virus atau horizontal melalui air, urin, feces, sekresi seksual, atau melalui ikan mati/sakit yang dikonsumsi oleh ikan lain (Afrianto, dkk., 2015).

IPN juga diketahui menyerang ikan mas (*Cyprinus carpio*), diskus (*Symphysodon discus*), dan sidat (*Anguilla anguilla* dan *A. japonica*) sehingga sering disebut sebagai eel virus european (EVE) (Afrianto, dkk., 2015).

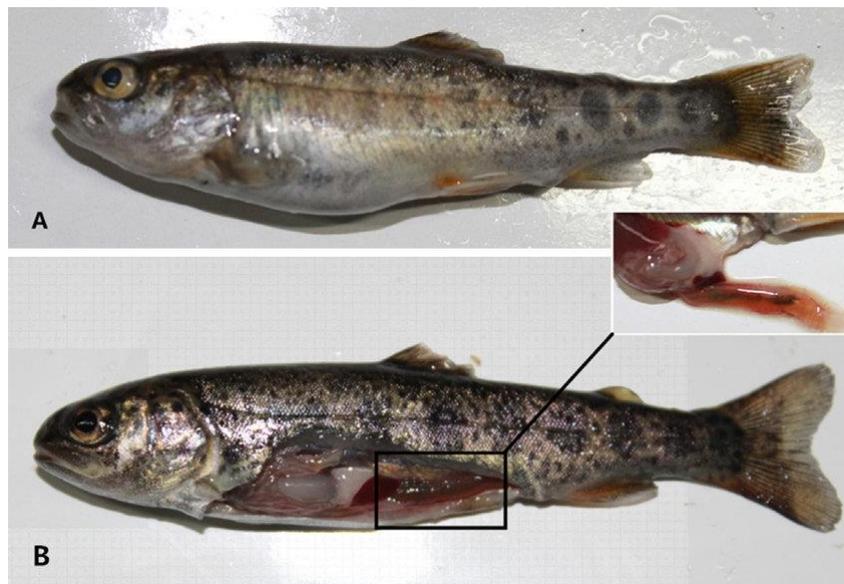
Masa inkubasi hanya 3-5 hari sebelum tanda klinis terlihat atau terjadi kematian massal. Tanda-tanda serangan IPN (Afrianto, dkk., 2015) :

- Terjadi kematian massal pada ikan muda.

- Warna tubuh ikan menjadi lebih gelap
- Bergerak berputar-putar
- *Exophthalmus*
- Perut membesar dan terdapat cairan visceral
- Pendarahan di daerah bawah perut/ventral termasuk di daerah sirip, hati
- Limpa pucat dan membesar, tidak terdapat makanan dalam perut dan usus biasanya mengandung eksudat mukoid yang kekuningan atau keputihan.

Tanda Histopatologi :

- *Necrotic lesions* dan ulcer pada pancreas, oesophagus dan lambung. Usus dapat kosong atau dipenuhi dengan mucus bening, dimana terdapat penyumbatan mucus berwarna kuning (Finfish diseases) (Bondad-Reantaso, dkk., 2001).



Gambar 5. Lesi pada ikan rainbow trout yang terinfeksi dengan Infectious pancreatic necrosis (IPN) yang menular. (A) Distensi perut. (B) Cairan mukoid kuning di saluran pencernaan.
(Zhu, et al., 2017)

d. Penyakit Bintil Putih

Penyakit bintil putih (*cauliflower*) adalah penyakit ikan yang disebabkan oleh virus Lymphocystis dari family iridovirus, berukuran 180-200 mikron sehingga sulit dideteksi menggunakan mikroskop biasa (Afrianto, dkk. 2015).

Tanda-tanda ikan terkena penyakit bintil putih (Afrianto, dkk., 2015):

- Pada awalnya terdapat bintil putih menyerupai *white spot*, yang dalam waktu beberapa minggu atau bulan dapat mencapai ukuran 0.5 cm atau lebih.
- Bintil yang tumbuh dapat berwarna putih, abu-abu atau merah jambu.
- Bintil muncul pada bagian sirip.
- Ikan yang terserang tidak menunjukkan kesulitan bernapas atau berenang ke sana-sini.
- Ikan yang terserang kadang kehilangan nafsu makan, sehingga terlihat kurus.

Tanda histopatologis penyakit bintil putih (Afrianto, dkk. 2015) :

- Sel ikan yang terinfeksi membesar 50 – 100.000 kali dari ukuran normal.
- Sel disekitar sel yang terinfeksi juga membesar, sehingga membentuk sekumpulan sel yang membesar. Kumpulan sel tersebut kemudian membentuk bintil putih.



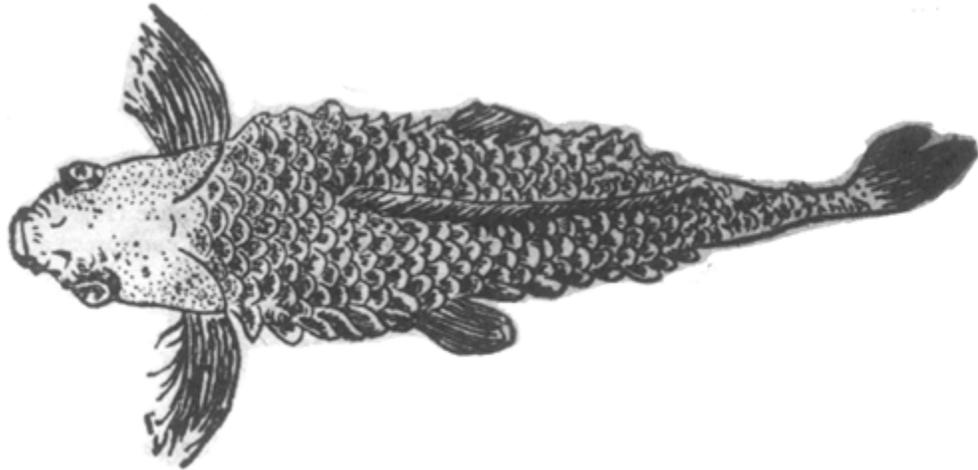
Gambar 6. Ikan dengan Lymphocystis / bintil putih (<https://gf.nd.gov/wildlife/diseases/lymphocystis>)

e. Dropsi

Penyakit Dropsi adalah penyakit ikan yang disebabkan oleh infeksi virus, bakteri aeromonas, myobakteri, atau internal parasite yang bersifat pathogen (*Hexamita* atau *Mitasporea cyprini*). Infeksi utama biasa terjadi lewat mulut (memakan kotoran yang terkontaminasi, kanibal terhadap ikan lain yang terinfeksi) (Afrianto, dkk., 2015).

Ikan yang berpenyakit dropsi memiliki gejala klinis antara lain (Afrianto, dkk., 2015):

- ikan mulai sulit membuat kotoran
- terjadi pembengkakan pada rongga tubuh ikan yang disebabkan oleh akumulasi cairan atau lender dalam rongga tersebut.
- Adanya pembengkakan menyebabkan ikan berbentuk seperti buah pinus, karena sisiknya yang berdiri.
- Ikan cenderung menurun kelincahannya
- Ikan cenderung berdiam diri
- Adanya gangguan pernapasan
- Adanya perubahan warna kulit menjadi pucat kemerahan



Gambar 7. Ikan terkena dropsy
(Shaoqi, 1989)

f. Penyakit Infectious Hematopoietic Necrosis (IHN)

Penyakit IHN merupakan penyakit yang bersifat akut dan sistemik. Penyakit ini menyerang organ penghasil darah, yaitu ginjal muka dan limpa (Afrianto, dkk., 2015).

Tanda-tanda klinis ikan terserang IHN (OIE, 2018):

- Terlihat lethargic
- Berkumpul di tepi kolam
- tubuhnya berwarna lebih gelap
- insang terlihat pucat
- anemia
- mata menonjol
- petekial haemorrhagi internal dan eksternal

Pada serangan yang lebih parah (Afrianto, dkk., 2015):

- pembengkokan tulang belakang/scoliosis atau lordosis pembengkakan abdomen
- pendarahan bawah kulit, ginjal, impa dan hati terlihat pucat

Perubahan perilaku (OIE, 2018):

- saat terjadinya *outbreak*, ikan terlihat letargik (lesu) dengan terlihat perilaku hiruk pikuk (bouts of frenzied), aktivitas abnormal, seperti berenang spiral dan memercikkan air. Beberapa ikan terlihat fesesnya menggantung pada anus. Pada beberapa ikan yang dapat bertahan hidup terlihat deformitas tulang belakang (Bootland & Leong, 1999).



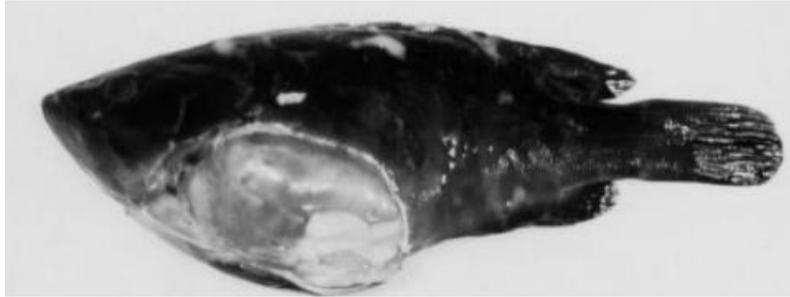
Gambar 8. Ikan rainbow trout di Iran terkena IHNV (Ahmadivand, 2017)

g. Viral Nervous Necrosis (VNN)

Penyakit VNN ditimbulkan oleh virus yang menginfeksi larva dan juvenile ikan laut. Gejalanya klinis (Afrianto, dkk., 2015) :

- Infeksi pada umur < 20 hari menunjukkan penurunan nafsu makan.
- Infeksi pada umur 20 – 40 hari, tingkah laku berenang yang abnormal, berenang didekat permukaan air dan banyak yang mati di dasar bak.
- Umur 2-4 bulan, cenderung berdiam diri di dasar kolam.

- Umur > 4 bulan, sering terlihat berenang mengambang di permukaan air, dan gelembung renang menggembung (Gambar 20).



Gambar 9. Gelembung renang yang menggembung (Sano, et al., 2011)

Di Indonesia, serangan VNN pertama kali diidentifikasi pada panti pembenihan kakap di Jawa Timur pada tahun 1997. Serangan berikutnya terjadi pada tahun 1998 dan menyebabkan kematian 100% pada ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*) (Afrianto, dkk., 2015). Virus VNN menginfeksi stadia larva sampai juvenile dan menyerang system organ syaraf mata dan otak (Sano, et al., 2011).

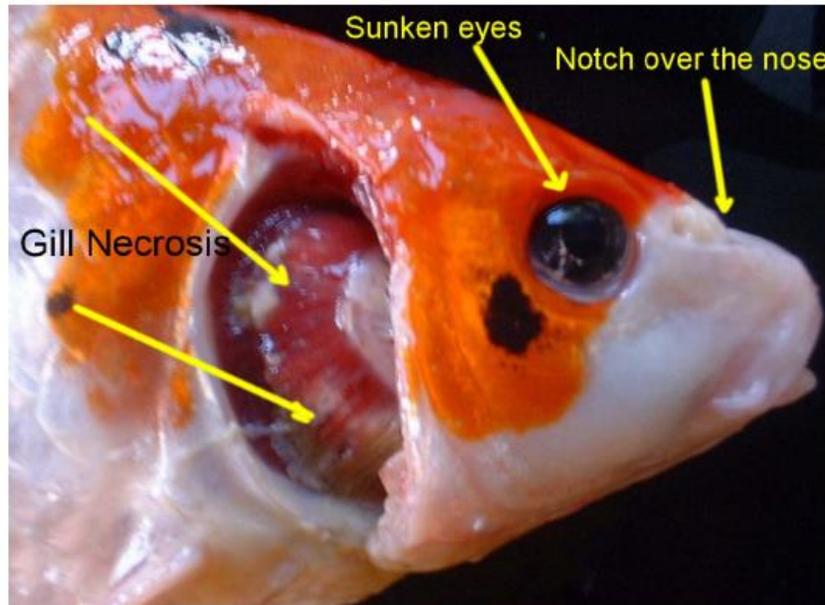
h. Koi Herpes Virus (KHV)

Perdagangan Koi dan ikan hias cukup kompleks dibandingkan dengan ikan konsumsi. Hal ini membuat penyakit KHV lebih sulit untuk dikendalikan, disebabkan oleh kehadiran ikan carier dan fakta bahwa ikan koi dapat hidup cukup lama (Sano, et al., 2011).

Serangan KHV mengakibatkan ikan kehilangan nafsu makan, gerakan ikan tidak normal dan megap-megap (operculum bergerak cepat), bercak putih pada insang yang selanjutnya berkembang menjadi geripis pada ujung lamella dan akhirnya membusuh perdarahan di sirip dan badan serta luka melepuh (Afrianto, dkk., 2015).

Kematian ikan yang terserang 1-5 hari setelah gejala awal. Kematian mencapai 100% dalam waktu singkat. Kematian massal akibat KHV terjadi pada temperatur air 17-25°C dan tingkat kematian akan menurun apabila suhu air berada di atas atau di bawah kisaran temperatur tersebut. Keganasan KHV ditunjukkan oleh waktu kematian yang berlangsung cepat setelah ikan menunjukkan tanda-tanda awal terinfeksi KHV. Selain itu, waktu penyebaran dan penularan KHV juga relatif sangat cepat (Afrianto, dkk., 2015).

Gejala klinis KHV adalah terjadi kerusakan pada insang, sedangkan gejala histopatologisnya terlihat pada perubahan *hyperplasia* dan *fusion* dari lamella sekunder insang dan teridentifikasi positif KHV menggunakan PCR.



Gambar 10. Ikan Koi dengan gejala KHV
(Griffiths, 2006)

i. Iridovirus

Iridovirus telah sering dihubungkan dengan kematian dan kerugian ekonomi pada ikan hias air tawar, termasuk Angelfish (*Pterophyllum scalare*), Gurami (*Trichogaster spp.*), swordtail *Xiphophorus hellerii*, Gurami kerdil (*Colisa lalia*), chromide cichlid (*Etroplus maculatus*), guppy (*Poecilia reticulata*), doctor fish (*Labroides dimidatus*), Moli (*Poecilia latipinna*) dan African lampeye (*Aplocheilichthys normani*) (Armstrong dan Ferguson 1989, Anderson, dkk. 1993, Hedrick dan McDowell, 1995; Rodger, dkk. 1997, Paperna, dkk. 2001, Sudthongkong, dkk. 2002 dalam Lyu, dkk., 2006), seperti juga ditemukan pada berbagai macam spesies ikan air laut (Inouye, dkk. 1992; Bloch dan Larsen, 1993; Chua, dkk. 1994; Matsuoka, dkk. 1996; Nakajima, dkk. 1998; Jung dan Oh, 2000 dalam Lyu, dkk., 2006). Iridovirus ini menjadi sering ditemukan dimana-mana karena penyebarannya terjadi melalui perdagangan ikan hias.

Sedangkan di Indonesia, kasus kematian masal yang disebabkan oleh Iridovirus ditemukan pada ikan kerapu lumpur di Medan Sumatera Utara (Koesharyani, dkk., 2001), di pantai benih Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol (Mahardika, dkk., 2001). Kasus kematian massal pada ikan kerapu lumpur pernah terjadi pada jaring

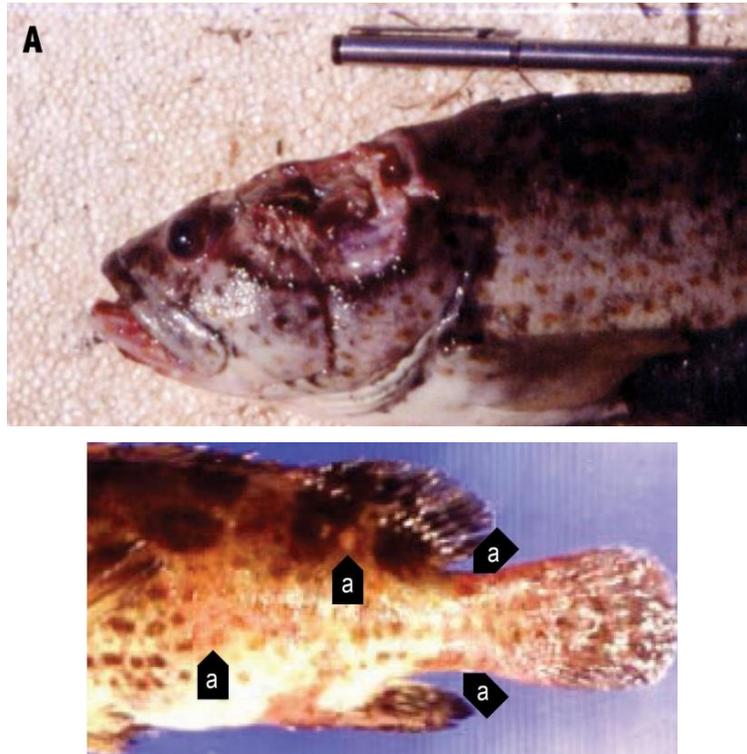
tancap (pen cage) di Medan, Sumatera Utara (Koesharyani et al., 2001), di panti benih Balai Besar Riset Perikanan Budidaya Laut, Gondol (Mahardika et al., 2001), serta di Batam (Novriadi, 2015).

Terdapat tiga virus dalam keluarga Iridoviridae (iridovirus) yang dapat menyebabkan penyakit pada ikan bersirip. Ranavirus dan megalocytivirus adalah patogen yang baru-baru ini ditemukan menginfeksi ikan. Kedua virus tersebut menyebabkan penyakit yang sistemik, penyebarannya global dan mempengaruhi diversitas inang. Berbeda dengan keduanya, Lymphocystivirus menyebabkan lesi pada permukaan dan jarang menyebabkan kerugian ekonomi. Ranavirus Epizootic Haematopoietic Necrosis Virus (EHNV) dari Australia adalah iridovirus pertama yang menyebabkan kematian epizootic pada ikan bersirip. Seperti ranavirus lainnya, virus ini tidak memiliki kekhususan inang. Virus yang berbeda tetapi berkerabat dekat, virus lele Eropa, terjadi pada ikan bersirip di Eropa, sedangkan ranavirus yang sangat mirip terjadi pada amfibi di Eropa, Asia, Australia, Amerika Utara, dan Amerika Selatan. Virus-virus ini dapat dibedakan satu sama lain dengan perbedaan yang dilestarikan dalam urutan gen protein kapsid utama, yang memberikan informasi pada pembuat kebijakan di Organisasi Dunia untuk Kesehatan Hewan serta untuk meminimalkan penyebaran virus melintasi batas antar negara. Namun, informasi epidemiologi yang terbatas dan variasi ekspresi penyakit menimbulkan kesulitan dalam merancang strategi pengambilan sampel untuk surveilans (pemantauan penyakit). Masih ada ketidakpastian seputar taksonomi dari beberapa ranavirus putatif seperti Singapore grouper iridovirus dan Santee-Cooper ranavirus, keduanya menyebabkan penyakit serius pada ikan, dan kebingungan berlanjut dengan penyakit yang disebabkan oleh megalocytiviruses. Sumber epidemi global penyakit yang disebabkan oleh iridovirus sistemik pada ikan bersirip dan amfibi tidak pasti, tetapi tiga kemungkinan dibahas: perdagangan ikan pakan, perdagangan ikan hias, reptil dan amfibi dan kemunculan dari inang reservoir yang tidak diketahui terkait dengan perubahan lingkungan. (Whittington, 2010)

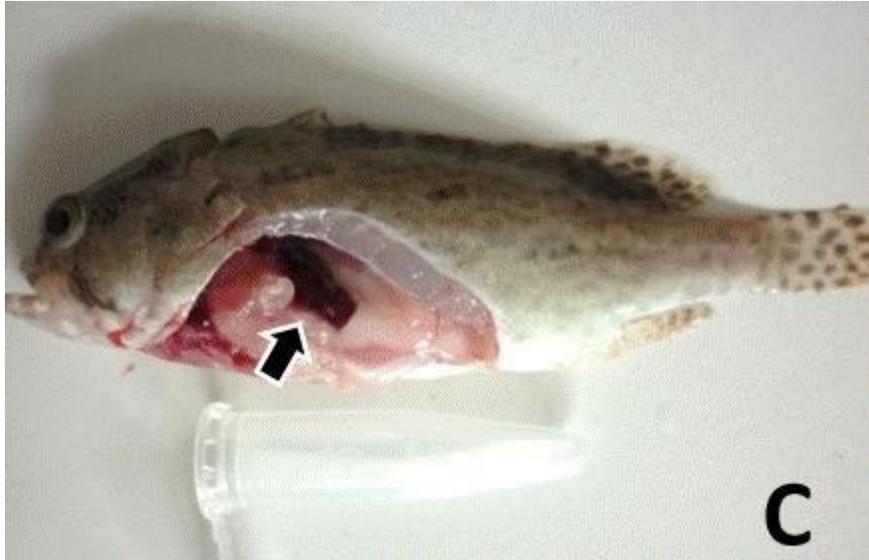
Infeksi iridovirus ini secara anatomi ditandai dengan pembengkakan pada organ limpa (*spleenomegally*) dan secara histopatologi ditandai adanya sel-sel yang membesar (*heteromorphic balloon cells*) (Mahardika, 2003). Menurut Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry (2012), tanda patologis secara makroskopis (*gross morphology*) adalah; Warna tubuh menghitam, insang pucat dan limpa membesar serta adanya tanda-tanda infeksi sekunder seperti ulserasi dalam

atau lesi papular. Sedangkan tanda patologis mikroskopis antara lain; nekrosis pulpa limpa dan miokardium serta adanya nekrosis dan reduksi pada jaringan hematopietik.

Agen penularnya adalah Grouper Iridovirus (GIV). Sinonimnya termasuk Taiwan Grouper iridovirus (TGIV) dan Singapore Grouper Iridovirus (SGIV).



Gambar 11. Ciri morfologi luar ikan Estuary cod (*Epinephelus tauvina*) yang terinfeksi Iridovirus, (a) ulserasi dalam di jaringan otot dan (b) bisul merah di permukaan tubuh. (Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2012)



Gambar 12. Limpa (spleen) yang membesar pada Ikan kerapu yang terinfeksi Iridovirus (Grouper Iridovirus/GIV) (Murwantoko, dkk., 2018)

3.2.2. Jenis-Jenis Virus pada Udang

Terdapat 5 penyakit virus yang berdampak signifikan pada budidaya udang penaeid yang terdaftar dalam OIE (*World Organization for Animal Health*), diantaranya: *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV), *Yellow Head Virus* (YHV), *Taura Syndrome Virus* (TSV), *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), dan *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV).

a. *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV)

IHHN disebabkan oleh IHHNV yaitu suatu parvovirus yang termasuk dalam genus *Brevidensovirus*, gamili *Parvoviridae* dan juga disebut sebagai *Penaeus stylirostris densovirus* (PstDNV). Gejala klinis penyakit ini antara lain : pada udang muda dan juvenile mengalami pertumbuhan yang tidak normal, kulit udang berwarna putih mengkilap terutama pada bagian sendi abdomen, warna tubuh kebiru-biruan, pertumbuhan rostrum cacat pada salah satu sisi. IHHNV menginfeksi jaringan ectodermal dan mesodermal, dan jarang terdeteksi pada jaringan derivat endoderm seperti sel epitel mukosa saluran pencernaan dan hepatopankreas.

Media pembawa antara lain; Blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*), Brown shrimp (*Penaeus aztecus*), Brown shrimp (*Penaeus californiensis*), Giant river prawn (*Macrobranchium rosenbergii*), Giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*), Gray Shrimp (*Penaeus semiculatus*), Kuruma prawn (*Penaeus japonicus*), Northern pink shrimp

(*Penaeus duorarum*), Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), Western white shrimp (*Penaeus occidentalis*), White shrimp (*Penaeus setiferus*).



Gambar 13. Udang windu yang terkena IHHNV
(<http://gis.bkipm.kkp.go.id/edis/?mod=virus&id=Mjg=>)

b. **Yellow Head Virus (YHV)**

Infeksi secara alami terjadi pada *Penaeus monodon*, namun telah dilakukan penelitian pada *P. japonicas*, *P. vannamei*, *P. setiferus*, *P. aztecus*, *P. duorarum* dan *P. stylirostris*. *Penaeus merguensis* menunjukkan gejala resisten terhadap penyakit ini. *Palaemon styliiferus*, *Euphasia* spp. (krill), *Acetes* spp. dan udang-udang kecil lain ditemukan sebagai carrier virus ini.

Gejala klinis dan kematian akibat YHD ditunjukkan pada hari ke 2 – 4 setelah terdapat gejala nafsu makan tinggi yang kemudian diikuti dengan menurunnya nafsu makan. Mortalitas yang disebabkan oleh YD dapat mencapai 100% dalam 3-5 hari. Ikan yang terinfeksi berkumpul di tepian kolam atau dekat permukaan. Warna Hepatopankreas berubah (*discoloured*) sehingga menyebabkan cephalothorax terlihat berwarna kuning, yang merupakan asal nama penyakit ini. Tampilan warna tubuh udang secara keseluruhan adalah pucat abnormal. Post larvae (PL) hari 20-25 dan udang yang lebih tua terlihat dapat terkena penyakit ini, sedangkan udang < PL 15 tampak resisten.

Virion YHD ditemukan pada jaringan hepatopankreas, sel darah, dan jaringan hematopoietic, jantung dan organ limfoid, epitel insang, jaringan penghubung,

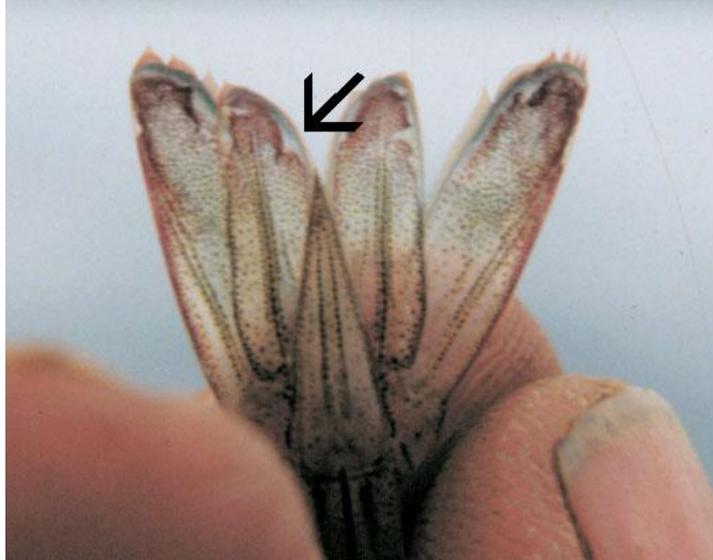
epidermis su-kutikular, otot, selubung (capsule) ovarium, jaringan syaraf, dan sel ganglial, dinding saluran pencernaan (Khanobdee *et al.* 2001).



Gambar 14. Udang yang terkena Yellowhead Disease (YHD) pada kelompok udang bagian kiri (<http://gis.bkipm.kkp.go.id/edis/?mod=virus&id=MzE=>)

c. *Taura Syndrome Virus (TSV)*

Udang yang terinfeksi TCV pada fase akut ditandai adanya warna tubuh yang memucat dan pembesaran kromatofor serta menyebabkan ekor kipas dan pleopod berwarna lebih merah dibandingkan dengan bagian tubuh lainnya. Selain itu, udang yang terserang TSV memiliki kulit lunak, usus kosong dan sering terjadi pada fase akhir dari siklus moulting. Penyakit TSV terdiri dari 3 fase, yaitu : akut, transisi, dan kronis. Penyakit ini dapat menyebabkan mortalitas yang tinggi sampai 90%.



Gambar 15. Udang terkena Taura Syndrome Virus (TSV)
(<http://gis.bkipm.kkp.go.id/edis/?mod=virus&id=Mzl=>)

d. *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*

WSSV pertama kali dilaporkan menyebabkan kematian massal pada Udang WIndu (*Penaeus monodon*) pada budidaya di Cina (Republic of China) pada tahun 1992. Kemudian menyebar ke Jepang pada 1993, dan ke negara asia lainnya di tahun 1994. *Outbreak* WSSV pertama kali teramati di Indonesia pada tahun 1996. WSD sekarang merupakan penyakit endemic di Indonesia dan telah menjadi ancaman penting bagi budidaya udang nasional, yang menyebabkan kematian massal pada bulan awal masa pemeliharaan.

WSSV merupakan virus yang termasuk dalam genus Whispovirus dan merupakan anggota family imaviridae. Virus ini merupakan virus non-occluded, berbentuk batang sampai elip, dengan dameter 380 nmm dan dikategorikan sebagai virion terbesar di antara virion yang menyerang udang.



Gambar 16. Carapace *Penaeus monodon* juvenile dengan WSSV (Lightner, 1996)

e. *Infectious Myonecrosis Virus (IMNV).*

Udang yang terserang IMNV menunjukkan nekrosis (kerusakan) berwarna putih keruh pada otot/daging menyerupai guratan, terutama pada otot perut bagian guratan, terutama pada otot perut bagian atas (abdomen) dan ekor. Pada beberapa kasus, kerusakan daging keruh ini berubah menjadi kemerahan sehingga menyerupai warna udang rebus. Jaringan udang yang menjadi target utama serangan IMNV adalah otot skeletal, jaringan ikat, hemosit, dan sel-sel parenkim organ limfoid. Udang yang terinfeksi menjadi sekarat dan terjadi kematian yang tinggi dan berlanjut selama beberapa hari. Kematian dari penyakit IMN berkisar dari 40% sampai 70% dalam budidaya (Manual of Diagnostic Test of Aquatic Animals, 2012). Media pembawa/inang : Blue shrimp (*Litopenaeus stylirostris*), Giant tiger shrimp (*Penaeus monodon*), Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (<http://gis.bkipm.kkp.go.id/edis/?mod=virus&id=Mzg=>).



Gambar 17. Udang terkena IMNV
(<http://gis.bkipm.kkp.go.id/edis/?mod=virus&id=Mzg=>)

3.3. Rangkuman

- Penyakit virus pada ikan sangat cepat menular, terutama pada ikan koi, atau ikan hias karena perdagangannya tidak semudah mengendalikan perdagangan ikan konsumsi.
- Beberapa penyakit virus pada ikan antara lain : Cannel Catfish Virus Diseases (CCVD), Spring Viramea of Carp (SVC), Infectious Pancreatic Necrosis (IPN), Penyakit bintil putih, Dropsi, Penyakit infectiooous Haematopoetic necrosis (IHN), Viral Nervous Necrosis (VNN), Koi Herpes Virus (KHV) serta Iridovirus.
- Penyakit virus yang sering dijumpai pada udang antara lain : *Infectious Hypodermal* dan *Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV), *Yellow Head Virus* (YHV), *Taura Syndrome Virus* (TSV), *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), dan *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV).
- Gejala klinis ikan yang terkena penyakit virus pada umumnya dapat dilihat dari nafsu makan yang berkurang, maupun aktivitas renang.
- Penyakit virus baru terlihat jelas gejalanya secara morfologi bila sudah dalam kondisi parah.

3.4. Penugasan

Carilah 2 artikel mengenai penyakit virus yang ditemukan pada ikan dan udang budidaya, kemudian buat resumanya, yang terdiri dari; sejarah penyakit, penyebab penyakit, jenis inang dan gejala klinisnya.

3.5. Tes Formatif 2

- a. Sebutkan beberapa jenis penyakit virus pada ikan.
- b. Sebutkan beberapa jenis penyakit virus pada udang.

BAB IV
KEGIATAN BELAJAR 3
DIAGNOSA IKAN/UDANG SEHAT DAN SAKIT

4.1. Indikator

Setelah mengikuti materi ini Taruna mampu :

- a. Identifikasi perilaku ikan sehat dan sakit
- b. Identifikasi ciri morfologi ikan sehat dan sakit
- c. Identifikasi organ ikan sehat dan sakit
- d. Melakukan tahapan pemeriksaan ikan sehat

4.2. Uraian Materi

4.2.1. Diagnosis ikan sehat dan sakit

Sampling penyakit ikan dilakukan ketika terjadi kematian mendadak, timbul gejala penyakit, laju kematian yang semakin bertambah, program monitoring penyakit serta penyelidikan suatu penyakit (Fish Sampling Guidelines, 2017). Oleh karena itu, sebelum melakukan sampling penyakit ikan, seorang pembudidaya harus mampu membedakan ikan yang sehat dan ikan yang sakit seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbedaan Ikan sehat dan sakit

Ciri/parameter	Ikan sehat	Ikan sakit
Aktivitas renang	Berenang aktif, merespon cepat	Berenang melambat, respon lambat
Perilaku makan	Nafsu makan baik	Nafsu makan kurang
Warna tubuh	Warna cerah dan mengkilat	Warna kusam, gelap, atau warna memudar
Permukaan tubuh	Carapace/sisik menempel kuat pada daging	Abnormalitas bentuk permukaan carapace pada udang dan sisik pada ikan
Bentuk tubuh	Ukuran normal	Kurus, Hydropsy
Organ	Organ internal sehat dan normal.	Penyakit yang berbeda memberikan kerusakan yang berbeda pada organ

Sumber : Agriculture, Fisheries and Conservation Department (2009)

Menurut Agriculture, Fisheries and Conservation Department (2009), terdapat dua tahapan pemeriksaan kesehatan ikan yang dapat dilakukan saat melakukan

monitoring ikan yang dibudidayakan yaitu 1) Pengamatan perilaku ikan, 2) Pemeriksaan kesehatan secara mendetil.

1) Pengamatan perilaku ikan

Beberapa perilaku ikan yang dapat diamati antara lain pada perilaku makan yang berubah seperti berkurangnya jumlah pakan yang dikonsumsi oleh ikan, atau perilaku berenang yang tidak normal.

- Perilaku renang *abnormal*

Perilaku renang *abnormal* merupakan gejala yang ditunjukkan seperti; berenang dengan posisi tubuh horizontal terhadap permukaan air, menggosokkan tubuh pada dasar atau pinggiran kolam/tambak, meloncat dari air serta berenang berputar atau kehilangan keseimbangan didalam air.

- Perilaku makan

Pemberian pakan secara teratur akan membuat ikan datang pada waktu pemberian pakan. Bila ikan tidak memberikan respon pada saat pemberian pakan, perlu diwaspadai adanya penurunan kesehatan ikan (Lesmana, 2002)

Berkurangnya jumlah makanan yang dikonsumsi oleh ikan merupakan gejala awal pada banyak penyakit ikan. Informasi berkurang atau bertambahnya jumlah makanan yang dikonsumsi dapat diperoleh dari *feeding record* yang harus dimiliki oleh setiap pembudidaya ikan.

2) Pemeriksaan kesehatan secara detil

Jika perilaku ikan yang abnormal tidak berhubungan dengan factor lingkungan, maka dilakukan pengamatan secara mendetil. Contohnya memeriksa permukaan tubuh, sirip dan sang dan periksa apakah terdapat parasit pada permukaan tubuh. Luka yang terdapat pada sirip dan permukaan tubuh merupakan gejala yang paling jelas menunjukkan terdapat penyakit pada tubuh ikan (Agriculture, Fisheries and Conservation Department, 2009).

Beberapa gejala abnormal pada permukaan tubuh dan sirip ikan antara lain:

- a. *Ulcer/borok*



Gambar 18. Ikan yang mengalami Ulcer
(Agriculture, Fisheries and Conservation Department, 2009).

- b. *Dark body tone/* warna sisik/kulit yang lebih gelap dari warna sisik normal. Warna lebih gelap dapat berupa bintik hitam, kemungkinan karena melanoma (Gambar 2).



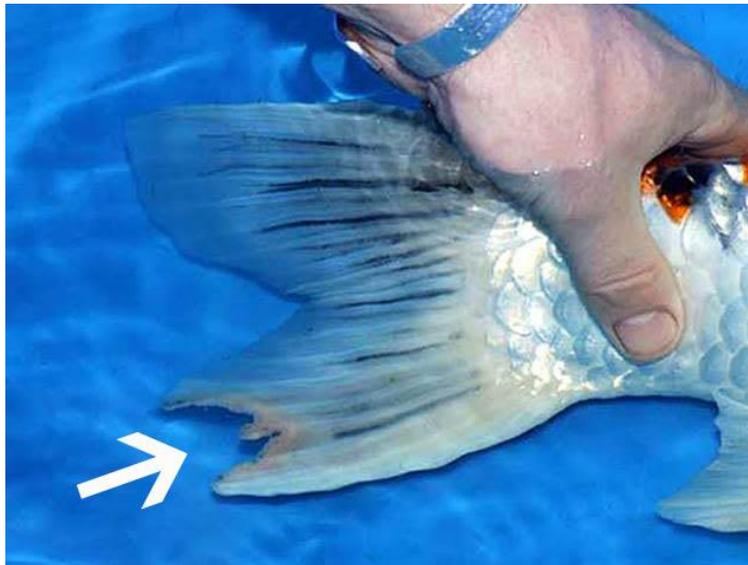
Gambar 19. Ikan dengan bintik hitam abnormal
(Smith, dkk., 2002).

c. *Haemorrhagi*/pendarahan



Gambar 20. Haemorrhage (perdarahan) pada sirip ekor dan dada serta hiperemia di sekitar mulut benih ikan nila (*Oreochromis niloticus* L.) (Yildirim, dkk., 2006).

d. *Tail-rot*/ekor geripis



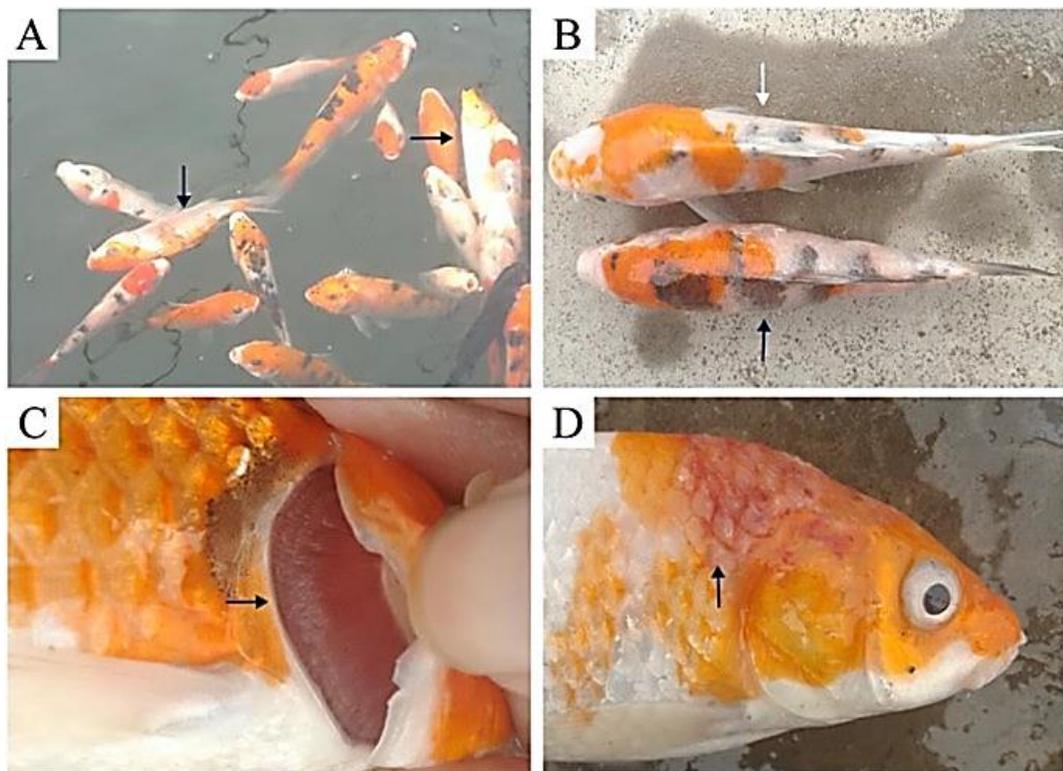
Gambar 21. Ekor geripis pada ikan Koi
<http://www.fishtanksandponds.co.uk/fish-health/finrot.html>

e. *Loss of scales/sisik lepas (scale drop)*



Gambar 22. Ikan dengan sisik yang lepas
(<https://smartaquariumguide.com/fish-shed-scales/>)

f. *Oedema/edema* : (biasa juga disebut dropsy atau *Ascites*) akumulasi cairan pada rongga peritoneal menyebabkan pembengkakan pada bagian abdomen.



Gambar 23. Ikan mas (Carp) yang terinfeksi Carp Edema Virus (CEV) (ditunjukkan oleh panah), memiliki gejala perilaku yang diam didasar kolam seperti tidur / koi sleeping diseases (A), terjadi pembengkakan pada bagian abdomen (B), necrosis pada lamellae insang (C) dan tubuh bagian dorsal (D).
(Rehman, dkk., 2020).

- g. Borok/luka pada insang. Pemeriksaan dilakukan pula terhadap insang. Saat terjadi abnormalitas pada insang seperti; warna insang pucat, terdapat borok.



Gambar 24. Ikan yang terserang Koi Herpes Virus (KHV) menunjukkan insang yang belang-belang dan mata cekung (Hartman,dkk., 2013)

4.2.2. Diagnosa udang sehat dan sakit

Pengamatan secara kasar (*gross observation*)

Pengamatan secara kasar dari gejala klinis pada udang dapat dilakukan dengan mudah oleh pembudidaya di lapangan dengan menggunakan peralatan yang terbatas. Walaupun pada banyak kasus harus dilakukan diagnose lebih lengkap di laboratorium. Pengamatan ini dapat berguna untuk melengkapi hasil diagnose secara laboratorium, sebagai “sejarah kasus”.

Pengamatan secara kasar yang akurat dapat membantu pengambilan keputusan tindakan yang dilakukan dapat mengurangi maupun mencegah penyebaran penyakit. Beberapa tindakan pencegahan tersebut antara lain; pemusnahan, isolasi stok yang terkena penyakit, penanganan atau evaluasi terhadap sistem budidaya (pola pemberian pakan, kepadatan populasi, pemupukan kolam, dll). Hal tersebut dapat dilakukan sambil menunggu hasil diagnose laboratorium untuk mencegah penyebaran dan kematian lebih lanjut.

a. Perilaku umum

Perubahan perilaku pada udang dapat ditemukan jika pembudidaya sering melakukan pengamatan terhadap komoditas udangnya. Oleh karena itu, pencatatan

hasil pengamatan atau monitoring perlu dilakukan. Beberapa perilaku yang perlu diperhatikan pada udang antara lain :

- aktivitas abnormal pada siang hari : udang lebih aktif pada malam hari dan masuk ke air yang lebih dalam pada siang hari.
- Berenang ke atau mendekati tepian permukaan tambak
- Meningkatnya konsumsi pakan diikuti dengan FCR (*Feed Conversion Ratio*) yang meningkat .
- Berkurangnya jumlah konsumsi pakan.
- FCR dan rasio perbandingan panjang - berat yang kurang dari normal, udang terlihat kurus.
- Berenang lemah – lethargy (lethargy juga dialami udang ketika suhu air atau kandungan DO air rendah, sehingga harus segera ditangani untuk mencegah terjadinya penyakit).



Gambar 25. Perilaku renang benur yang sehat di baskom dtunjukkan ketika air diputar, benur sehat akan berenang berlawanan arah dengan putaran air. (Chanratchakool, dkk, 1998)

b. Mortalitas

Ketika terjadi kematian secara bersamaan, bergantian, maupun menyebar ke kolam lain, maka perlu dilakukan pemeriksaan laboratorium terhadap komoditas udang tersebut serta kondisi kualitas air media budidaya.

c. Perilaku makan

Berkurangnya nafsu makan maupun hasil pengamatan saluran pencernaan udang yang kosong merupakan indikator terjadi masalah dalam budidaya udang tersebut. Gambar 14. menunjukkan saluran pencernaan (usus) yang penuh terisi makanan, menunjukkan udang yang sehat.



Gambar 26. Udang yang sehat terlihat dari saluran pencernaan yang dipenuhi makanan (Chanratchakool, dkk, 1998)

d. Pengamatan permukaan tubuh

1) Kolonisasi dan erosi

Timbulnya kolonisasi pada cangkang (kutikula) dan insang dari krustasea adalah proses yang terus terjadi dan biasanya dikontrol oleh perilaku *grooming*. Munculnya beberapa organisme yang menempel di permukaan kutikula (seperti parasite yang merusak inangnya, atau organisme komensalis yang tidak memberikan dampak negative bagi inangnya) menunjukkan adanya potensi penyakit. Terjadinya erosi pada kutikula atau appendage (tungka) seperti kaki, ekor, antennae, rostrum, atau hilangnya atau patahnya tungkai, dengan atau tanpa timbulnya warna hitam (melanisasi) pada ujung tungkai yang lepas merupakan salah satu indikasi adanya penyakit. Patahnya antennae merupakan gejala awal yang harus diperhatikan. Pada udang yang sehat, panjang antennae adalah 1/3 dari panjang tubuh (Bondad-Reantaso, 2001).



Gambar 27. Perubahan warna menjadi hitam pada tungkai yang rusak
(Chanratchakool, dkk, 1998)

2) Pelunakan kutikula, spot (timbul titik) dan kerusakan

Pelunakan kutikula pada saat selain moulting, dapat merupakan indikasi adanya infeksi. Kerusakan atau luka pada carapace memberikan kesempatan bagi organisme patogen untuk menginfeksi dan menyebabkan udang sakit. Beberapa penyakit seperti White Spot Diseases (WSD), menunjukkan adanya infeksi dan kerusakan pada carapace udang sehingga timbul bintik-bintik putih (Bondad-Reantaso, 2001).



Gambar 28. Udang dengan carapace yang lunak (a,b)
(Chanratchakool, dkk, 1998)

3) Warna

Warna tubuh udang adalah indikator yang baik untuk melihat kesehatan udang. Kebanyakan kurstasea menjadi berwarna kemerahan ketika terinfeksi orang berbagai organisme maupun ketika terpapar bahan beracun, terutama yang mempengaruhi hepatopankreas. Hal ini disebabkan oleh pelepasan pigmen karotenoid (warna kuning-oranye) yang pada udang normal tersimpan pada hepatopankreas. Namun perubahan warna ini tidak dapat digunakan untuk menentukan jenis penyakit spesifik. Diagnosa lebih lanjut di laboratorium diperlukan untuk mengetahui jenis penyakitnya. Warna kuning pada cephalothorax biasanya dihubungkan dengan yellowhead disease, warna kemerahan pada insang dapat diduga disebabkan oleh infeksi virus, *white spot diseases* yang disebabkan oleh virus atau bakteri (Bondad-Reantaso, 2001).

Namun, perlu diketahui bahwa tidak selalu warna merah pada tubuh udang pada udang merupakan indikasi penyakit, karena terdapat pula udang yang hidup di perairan dalam dan memiliki warna tubuh yang merah (Bondad-Reantaso, 2001).



Gambar 29. Warna merah pada ekor udang yang membengkak (Chanratchakool, dkk, 1998)



Gambar 30. Warna merah dan biru abnormal pada udang (Chanratchakool, dkk, 1998)

4.3. Rangkuman

- Ciri ikan maupun udang yang sehat ataupun sakit dapat dilihat dari; aktivitas renang, warna tubuh, permukaan tubuh, bentuk tubuh, asupan makanan dan organ yang terdapat kerusakan.
- Dua tahapan pemeriksaan kesehatan ikan dan udang yang dapat dilakukan saat melakukan monitoring ikan udang yang dibudidayakan yaitu 1) Pengamatan perilaku, 2) Pemeriksaan kesehatan secara mendetil.
- Beberapa gejala abnormal pada permukaan tubuh dan sirip ikan antara lain (SFCD, 2009): *Ulcer* (borok), *Dark body tone* (warna sisik yang lebih gelap dari warna sisik normal), Tumor, *Haemorrhage* (pendarahan), *Tail-rot* (ekor geripis), *Loss of scales* (sisik lepas), *Protruding eyes/mata* menonjol (keluar), *Oedema* (pembengkakan pada jaringan kulit yang terisi oleh cairan).

4.4. Penugasan

- 1) Lakukan pengamatan perilaku ikan pada kolam pembesaran, catat bila terdapat perilaku yang abnormal, menandakan ikan sakit.
- 2) Catat bila terdapat perilaku ikan yang menunjukkan ikan sakit.
- 3) Ambil ikan yang memiliki gejala sakit, gambar morfologi serta gejala klinis yang tampak pada ikan tersebut.

4.5. Tes Formatif 3

- a. Sebutkan ciri-ciri ikan sehat dan sakit
- b. Sebutkan ciri-ciri udang sehat dan sakit
- c. Sebutkan dan jelaskan tahapan pemeriksaan kesehatan pada ikan/udang.

BAB V
KEGIATAN BELAJAR 4
METODE PENGAMBILAN SAMPEL PENYAKIT IKAN

5.1. Indikator

Setelah mempelajari modul ini, Taruna mampu :

- a. Menjelaskan metode sampling ikan dan udang
- b. Melakukan sampling ikan/udang yang akan dilakukan pengujian.
- c. Melakukan penyimpanan sampel ikan/udang

5.2. Uraian Materi

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam hal pengambilan sampel penyakit ikan (Department of Primary Industries Parks, Water & Environment, Tasmania. 2017) :

Alasan Pengambilan sampel :

- Adanya kematian mendadak pada ikan
- Adanya tanda penyakit pada ikan
- Meningkatnya mortalitas
- Kegiatan Pemantauan Penyakit
- Kegiatan Penyelidikan Penyakit

5.2.1. Pengambilan sampel pada ikan

a. Tipe ikan yang harus diambil sebagai sampel :

- Ikan yang masih hidup dan memiliki gejala berpenyakit
- Pilihlah ikan yang memiliki; *key lesions* atau ciri penyakit
- Jangan mengambil sampel ikan yang sudah mati; karena akan terlalu busuk saat diperiksa di laboratorium

b. Jumlah ikan yang harus diambil :

Setidaknya 5 ikan dengan tanda penyakit dari setiap kolam atau tambak. Sampel disimpan terpisah untuk setiap kolam.

c. Kualitas sampel :

- Sampling yang diutamakan adalah Ikan dan udang sakit namun masih hidup/*Moribund* (hampir mati).
- Jika memungkinkan ambil sampel setidaknya 5 ekor
- Jaga rasio antara jaringan dengan larutan fixative; 1 : 10
- Titik pengambilan sampel :
 - a. Internal : jantung, hati, ginjal anterior dan posterior, otak, *spleen*, pyloric caecae, usus
 - b. External : *skin lesions*, kulit yang melewati lateral line, insang, dan mata.

d. Hal yang harus diperhatikan pada saat melakukan sampling :

- Kualitas sampel akan mempengaruhi hasil
- Jangan menggunakan ikan yang sudah mati, karena perubahan jaringan setelah kematian akan mempengaruhi diagnosis
- Gunakan scapel bedah untuk memotong jaringan saat melakukan pengambilan sampel
- Saat menyimpan sampel dalam wadah penyimpanan, usahakan tidak sampai memenuhi wadah agar sampel tidak rusak.
- Pastikan seluruh jaringan terendam larutan pengawet berupa alkohol 90% atau formalin (*Buffered formaline*), sehingga kondisi jaringan tidak berubah.
- Berhati-hati saat menggunakan *buffered formalin*. Selalu gunakan masker, sarung tangan serta pelindung mata. Hal ini perlu dilakukan karena larutan pengawet tersebut bersifat racun saat terhirup, tertelan maupun mengenai kulit.

e. Pemeriksaan :

Pemeriksaan ikan harus dilakukan dengan hati-hati dan catat seluruh abnormalitas yang terlihat.

f. Pembedahan :

Ikan kecil

- Ikan dengan ukuran kurang dari 3 cm dapat langsung disimpan dalam larutan fiksatif seperti *Phosphate buffered formalin* (PBF). Dengan formula; 40% formaldehyde: 100 ml, Distilled water: 900 ml, Sodium dihydrogen phosphate

monohydrate: 4 g, Disodium hydrogen phosphate Anhydrous 6.5 g, pH 6.8, waktu fiksasi: 12 – 24 hours.

- Ikan dengan ukuran 4-10 cm, dipotong terlebih dahulu, buang operculum lalu disimpan

Ikan besar

- Potong sebagian tapis insang dan simpan dalam larutan fiksatif
- Bedah ikan dengan hati-hati
- Catat setiap abnormalitas pada anatomi internal ikan
- Ambil setiap jaringan yang tidak normal, setiap potongan tidak lebih dari 1 cm
- Jangan menghancurkan jaringan dengan *forceps* atau gunting
- Letakkan jaringan dalam suatu container penyimpanan, pertahankan volume larut fiksatif.

Sampel penyakit virus (Virology) (Department of Primary Industries Parks, Water & Environment, Tasmania. 2017) :

a. Perencanaan sampel

- Virus tumbuh pada sel ikan, namun harus dilakukan persiapan setidaknya 7 hari sebelum inokulasi.
- Ikan yang dijadikan sampel sebaiknya dalam bentuk utuh, atau dapat dalam bentuk potongan jaringan yang diambil di lapangan.
- Jika sample tidak langsung akan digunakan, maka sebaiknya disimpan pada freezer <-20°C.

b. Hal-hal yang perlu diperhatikan

- Penanganan yang tepat diperlukan bagi sampel yang akan dilakukan isolasi virus di lapangan.
- Jika sampel terkontaminasi, maka isolasi virus tidak dapat dicapai.
- Lakukan prosedur aseptik secara ketat dalam mengkoleksi sampel.
- Jangan melakukan pengambilan sampel diatas perahu, gunakan tempat yang tenang di lapangan atau laboratorium.
- Pertahankan agar sampel dalam kondisi dingin.
- Jangan mengekspos sampel pada sinar matahari.

c. Kualitas sampel

- Ikan yang belum mati lebih diutamakan digunakan sebagai sampel
- Jangan menggunakan ikan yang sudah mati

- Jika memungkinkan, gunakan 5 ekor ikan sebagai sampel

d. Pengambilan sampel

- Sampel sebaiknya diletakkan pada es, untuk diantarkan ke laboratorium
- Jika memiliki fasilitas yang memadai, maka sampel dapat diambil di lapangan. Hal ini dapat dilakukan untuk sampel ikan yang besar.
- Gunakan dua set alat bedah steril, satu set untuk membedah ikan (membuka rongga abdominal) dan satu set lagi untuk mengambil sampel jaringan.
- Sering melakukan desinfeksi dan membersihkan alat yang digunakan menggunakan iso-propyl alcohol.
- Untuk pengujian yang rutin, ambil sampel hati, ginjal dan empedu.
- Ukuran jaringan harus sekitar 5-10 mm³, seukuran kacang polong.
- Simpan setiap jaringan sampel pada tabung yang berisi media steril.
- Jangan mengumpulkan jaringan dari ikan yang berbeda kedalam satu tabung.
- Beri label pada tabung, dengan berisi keterangan tanggal pengambilan sampel dan nomer identifikasi ikan.

e. Pengiriman

- Tabung sampel berisi medium yang selalu disimpan dalam pendingin.
- Kemas segera dengan bongkahan es yang cukup untuk menjaga suhu sampel tetap pada 2-4°C
- Jika mengirimkan ikan utuh, kemas dalam wadah berisi es curah yang banyak.

5.3. Rangkuman

Pengambilan sampel merupakan tahapan yang penting dalam identifikasi penyakit ikan. Proses pengambilan sampel maupun penanganan sampel saat dibawa ke laboratorium dengan metode yang kurang tepat dapat mempengaruhi hasil pengujian pathogen.

5.4. Penugasan

- a. Lakukan pengamatan pada kolam budidaya ikan
- b. Ambil sampel ikan yang terlihat abnormal, lakukan pembedahan dan ambil organ yang terlihat abnormal.
- c. Amati organ tersebut menggunakan mikroskop/loop, lalu awetkan.
- d. Simpan sampel ikan tersebut didalam wadah berisi es curah.

- e. Beli label pada wadah tersebut, yang menunjukkan waktu pengambilan, jenis ikan dan jenis virus yang diuji.

5.5. Tes Formatif 4

- a. Sebutkan alasan dilakukannya pengambilan sampel ikan
- b. Sebutkan alat apa saja yang dibutuhkan dalam proses sampling penyakit ikan.

BAB VI
KEGIATAN BELAJAR 5
METODE IDENTIFIKASI PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DENGAN TEKNIK PCR

6.1. Indikator

Setelah mempelajari modul ini, Taruna diharapkan mampu :

1. Menyebutkan macam-macam metode identifikasi penyakit virus pada ikan dan udang
2. Menjelaskan prinsip dan tahapan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*)
3. Melakukan identifikasi virus dengan teknik PCR.

6.2. Uraian Materi

6.2.1. Metode identifikasi penyakit virus secara makroskopis

Identifikasi penyakit virus secara makroskopis dapat dilakukan dengan cara melihat atau mengamati secara langsung, baik penampilan maupun tingkah laku ikan hidup. Ikan yang sakit akan memperlihatkan gejala yang berbeda dari ikan sehat. Identifikasi secara makroskopis juga

Identifikasi penyakit secara makroskopis hanya dapat dilakukan terhadap penyakit parasit sedangkan penyakit bacterial maupun viral tidak cukup dengan identifikasi secara makroskopis, karena ukuran bakteri dan virus yang sangat kecil.

6.2.2. Metode identifikasi penyakit virus secara mikroskopis dan biologi molekuler

Diagnosa penyakit viral lebih sulit dibandingkan dengan diagnose penyakit yang lain, karena virus terlalu kecil untuk dideteksi dengan menggunakan mikroskop Cahaya; sedangkan mikroskop electron sangat mahal harganya. Dengan mikroskop elektro, virus dapat diamati. Sekarang telah dikembangkan teknik PCR dan umumnya digunakan untuk diagnose viral seperti halnya ELISA (*Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay*) dan FAT (*Fluorescent Antibody Technique*), yang lebih baik dibandingkan teknik yang lain baik ketepatan dan kecepatan serta mudah digunakan. Disisi lain, kultur virus merupakan teknik paling baik untuk deteksi virus, tapi membutuhkan waktu yang lama dan kultur sel untuk diagnosa membutuhkan teknik yang lebih tinggi, yang lebih dimungkinkan dilakuka oleh laboratorium perguruan tinggi (universitas). Berdasarkan pertimbangan tersebut, teknik PCR merupakan metode terbaik untuk diagnose virus.

6.2.3. Metode identifikasi penyakit virus dengan teknik PCR

PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu teknik untuk mensintesis dan mengamplifikasi fragmen DNA spesifik secara *in vitro* dengan menggunakan metode enzimatis yang diperantarai oleh primer. Prinsip dasar PCR yaitu sekuen DNA spesifik diamplifikasi menjadi dua kopi DNA, selanjutnya menjadi empat kopi dan seterusnya. Pelipat gandaan DNA tersebut membutuhkan enzim spesifik yaitu polymerase (Handoyo & Rudiretna, 2000).

Diagnosa virus yang menyerang perikanan budidaya dengan metode PCR dapat digunakan untuk mendeteksi virus DNA maupun RNA. Pada proses identifikasi virus tersebut perlu dilakukan proses ekstraksi DNA dan RNA terlebih dahulu sebelum tahapan amplifikasi dengan metode PCR. Hasil amplifikasi DNA selanjutnya dielektroforesis dan divisualisasi pada UV transluminator untuk mengetahui pita DNA yang merupakan produk dari PCR.

a. Ekstraksi Materi Genetik Virus (DNA dan RNA)

Prinsip ekstraksi materi genetik terdiri dari tiga tahapan utama yaitu proses lisis sel, pemisahan materi genetik dari bahan padat seperti protein serta pemurnian materi genetik. Metode untuk ekstraksi materi genetik dapat dilakukan secara manual maupun dengan menggunakan kit. Salah satu metode untuk ekstraksi DNA virus yang menginfeksi ikan yaitu metode *thermal lysis*. Prinsip metode *thermal lysis* merusak sel dengan menggunakan larutan buffer dan pemanasan suhu tinggi. Tahapan dari metode ini yaitu :

- Sampel jaringan yaitu insang atau ginjal ikan dipotong kecil dan digerus hingga halus.
- Penambahan larutan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pada sampel, kemudian diresuspensi dan pemisahan supernatant dan pellet melalui sentrifugasi.
- Penambahan buffer TE pada supernatan
- Pemanasan pada suhu tinggi (99°C) selama sekitar 3 menit (*Siwicki et al., 2006*)

Sementara itu untuk ekstraksi RNA dapat dilakukan dengan metode *Acid Guanidinium Thiocyanate-Phenol-Chloroform* (AGPC). Metode ini dapat digunakan untuk sampel dalam jumlah sedikit (3 mg jaringan atau 10^6 sel) dan sampel dengan jumlah banyak (30 gr). Pada metode AGPC, degradasi RNA oleh enzim ribonuklease

dapat dihambat oleh keberadaan larutan guanidinium. Prinsip ekstraksi RNA dengan metode AGPC yaitu:

- Perusakan/lisis sel menggunakan larutan denaturasi, sodium asetat, fenol, dan kloroform
- Presipitasi menggunakan larutan isopropanol
- Represipitasi menggunakan larutan denaturasi dan isopropanol
- Pencucian RNA menggunakan larutan etanol 75%
- Solubilisasi menggunakan larutan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) (Chomczynski & Sacchi, 1987).

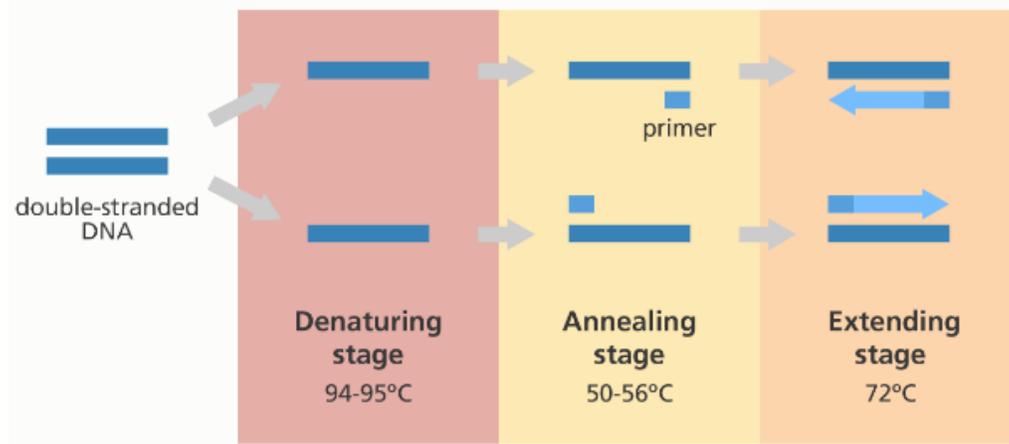
b. Amplifikasi DNA dan RNA Virus

Proses PCR melibatkan beberapa tahapan yaitu: pra-denaturasi, denaturasi, penempelan primer (*annealing*), pemanjangan primer (*extension/elongation*) dan pematangan (*post extension*). Tahap denaturasi sampai dengan *extension* merupakan tahapan berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA. Tahapan tersebut berulang sebanyak 20-40 kali siklus. (Handoyo & Rudiretna, 2000). Berikut penjelasan dari tahapan dalam siklus PCR :

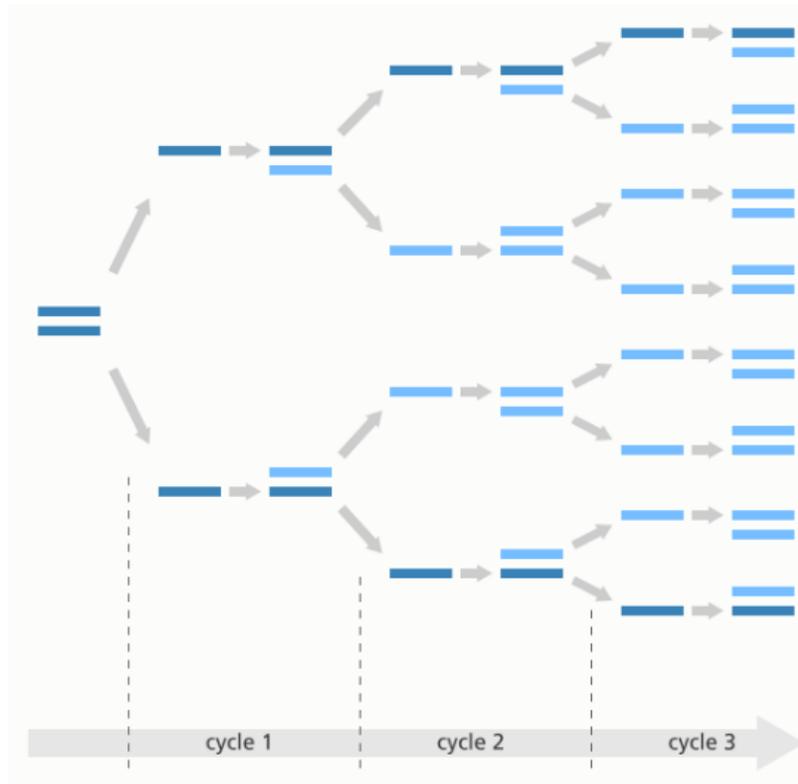
- 1) **Denaturasi** : Pemisahan DNA utas ganda (dsDNA) menjadi DNA utas tunggal (ssDNA) dengan perlakuan suhu tinggi, biasanya pada kisaran suhu 94-95°C. Proses denaturasi yang tidak sempurna dapat membuat DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat. Hal tersebut dapat menyebabkan kegagalan dalam proses PCR.
- 2) **Annealing** : tahap penempelan primer pada bagian utas DNA tunggal yang komplemen. Pengaturan suhu optimum pada tahapan annealing sangat berpengaruh pada proses penempelan primer. Umumnya kisaran suhu untuk annealing yaitu antara 50-56°C. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan primer tidak menempel pada DNA template, sedangkan suhu terlalu rendah dapat menyebabkan primer menempel pada bagian DNA non target sehingga DNA yang terbentuk memiliki spesifitas yang rendah.
- 3) **Extension** : proses pemanjangan untai baru DNA yang terjadi pada suhu 72°C. Kecepatan sintesis/pemanjangan nukleotida yaitu sebanyak 35-100 nukleotida/detik (Viljoen *et al.*, 2005).

Teknik PCR memiliki prinsip yang sama untuk semua sampel DNA. Terdapat 5 larutan yang harus disiapkan, diantaranya:

- a. Template DNA yang akan digandakan
- b. Primer, untai pendek dari DNA yang akan menginisiasi reaksi PCR, bertugas untuk berikatan pada sisi dari bagian DNA yang akan digandakan.
- c. Basa nukleotida DNA (dikenal juga sebagai dNTPs). Basa DNA (ACGT) adalah pembentuk DNA dan dibutuhkan untuk menyusun suatu untai baru DNA.
- d. Enzim Taq polymerase untuk menambahkan basa DNA yang baru
- e. Buffer untuk memberikan kondisi yang tepat pada reaksi.



Gambar 31. Tiga tahap utama pada PCR
(<https://www.yourgenome.org/facts/what-is-pcr-polymerase-chain-reaction>)



Gambar 32. Ilustrasi tahapan penggandaan undai DNA dalam proses PCR (<https://www.yourgenome.org/facts/what-is-pcr-polymerase-chain-reaction>)

Pada proses amplifikasi RNA terdapat beberapa tahapan yang berbeda dengan amplifikasi DNA. Struktur DNA yang berupa utas ganda membuat hasil ekstraksi DNA dapat langsung digunakan untuk amplifikasi, sedangkan RNA yang merupakan utas tunggal harus melalui dua tahapan dalam proses PCR yaitu RT-PCR (*Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction*) (tahap pertama) dan Nested PCR (tahap kedua). Proses RT-PCR bertujuan untuk sintesis RNA menjadi cDNA (*complimentary DNA*) untai tunggal agar dapat diamplifikasi menggunakan mesin PCR. cDNA yang terbentuk akan diamplifikasi lebih lanjut dengan Nested PCR. Pada tahap kedua ini jenis primer yang digunakan berbeda dengan tahap pertama dan bertujuan untuk mengamplifikasi sekuen nukleotida yang belum teramplifikasi pada tahapan pertama. Primer untuk Nested PCR akan menempel dengan produk PCR yang diperoleh pada tahap pertama dan menghasilkan produk PCR dengan ukuran yang lebih pendek daripada produk tahap pertama (Hewajuli & Dharmayanti, 2014; Fitriatin & Manan, 2015).

c. Elektroforesis Hasil Amplifikasi DNA

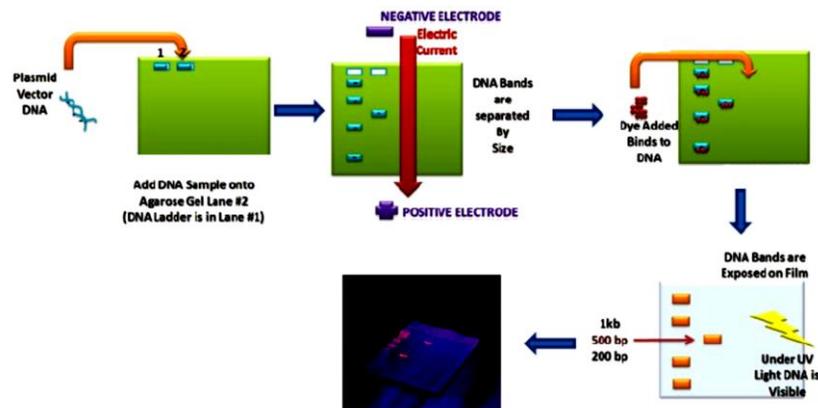
Elektroforesis merupakan proses pemisahan molekul bermuatan dalam sebuah medan listrik. Mobilitas relatif dari masing-masing molekul bergantung pada beberapa faktor diantaranya rasio muatan/massa, bentuk molekul, suhu serta porositas dan viskositas matriks yang dilalui molekul. Pada proses elektroforesis, molekul DNA yang bermuatan negatif akan bermigrasi DARI kutub negatif (katode) menuju ke kutub positif (anode). Aliran migrasi DNA ini ditentukan oleh berat molekul DNA. Matriks yang digunakan untuk pemisahan molekul DNA berdasarkan bentuk dan ukurannya yaitu gel agarose.

Agarose merupakan polimer alami dengan struktur linear yang diekstraksi dari rumput laut dan digunakan sebagai media untuk memisahkan asam nukleat berdasarkan ukurannya. Konsentrasi gel agarose yang digunakan bergantung pada ukuran fragmen DNA target yang akan diamati. Konsentrasi gel agarose yang digunakan untuk elektroforesis umumnya berkisar antara 0.2%-3%. Jika analisis bertujuan untuk memisahkan fragmen DNA yang berukuran besar maka umumnya digunakan agarose dengan konsentrasi rendah (Tabel 2). Peningkatan konsentrasi gel agarose akan menurunkan kecepatan migrasi sehingga pemisahan molekul DNA yang berukuran kecil akan menjadi lebih mudah. Selain itu peningkatan voltase juga dapat mempercepat pergerakan molekul DNA.

Tabel 2. Konsentrasi gel agarose untuk memisahkan molekul DNA linear (Magdeldin, 2012)

Konsentrasi agarose (%)	Kisaran ukuran DNA (bp)
0.2	5000-40000
0.4	5000-30000
0.6	3000-10000
0.8	1000-7000
1	500-5000
1.5	300-3000
2	200-1500
3	100-1000

Jenis buffer yang umumnya digunakan pada proses elektroforesis yaitu *Trisacetate* (TAE) dan *Tris-borate* (TBE) pada konsentrasi 50 mM (pH 7,5-7,8). Buffer TAE kurang stabil jika dibandingkan dengan TBE walaupun harganya lebih murah. Namun resolusi pita DNA yang dihasilkan oleh buffer TAE lebih bagus pada pemisahan elektroforetik pendek. Buffer TBE biasanya digunakan untuk elektroforesis gel poliakrilamid untuk DNA dengan berat molekul rendah (MW<2000).



Gambar 33. Proses Elektroforesis dan Visualisasi DNA pada UV transluminator (Magdeldin, 2012)

Visualisasi DNA dilakukan dengan menggunakan UV transluminator. Gel agarose hasil elektroforesis direndam terlebih dahulu dalam larutan *ethidium bromide* (EtBr). EtBr merupakan pewarna umum untuk visualisasi asam nukleat. Visualisasi DNA dilakukan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 500-590 nm (Magdeldin, 2012).

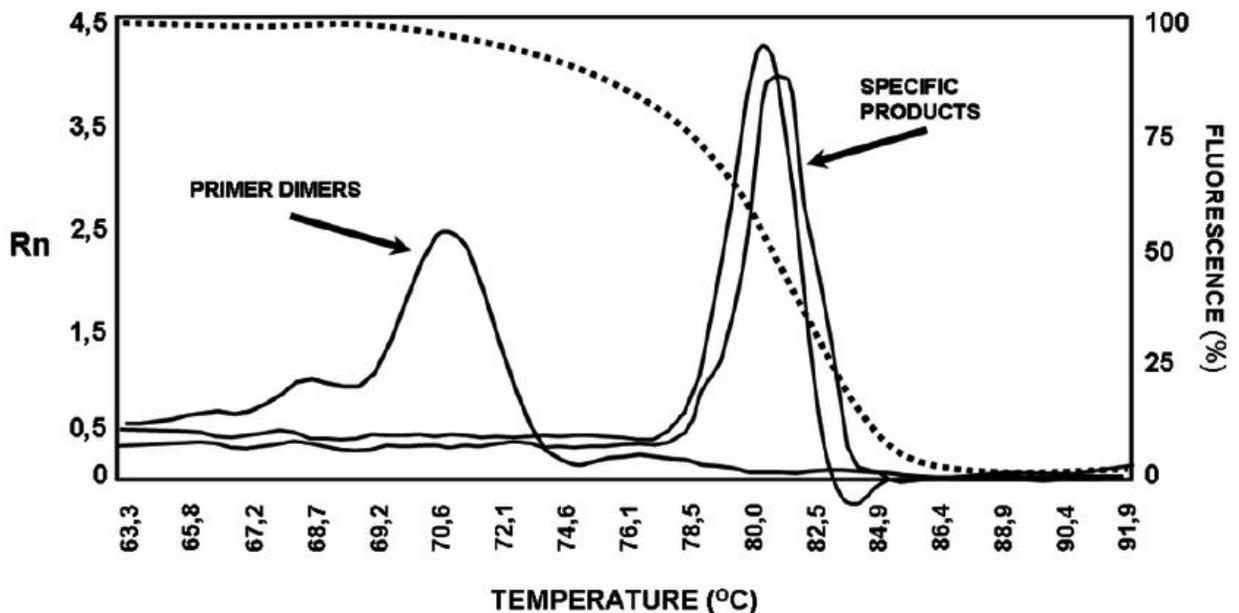
d. Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) konvensional dan *real time*

Proses pada tahapan PCR dapat dirangkum menjadi 3 tahapan; 1) pemisahan dsDNA pada suhu >90°C, 2) annealing primer pada suhu 50-75°C, dan 3) ekstension optimal pada suhu 72-78°C. Kecepatan perubahan suhu, lama waktu inkubasi pada tiap suhu dan jumlah setiap siklus diulang dan dikontrol oleh suatu alat yang disebut *thermal cycler* yang telah deprogram sesuai kebutuhan. Teknologi saat ini telah mengurangi waktu yang dibutuhkan secara signifikan dengan menggunakan *heating blocks* atau *fan-forced heated air flows* untuk mengatur reaksi setiap suhu secara elektronik. Sehingga PCR menjadi primadona dalam teknik yang berhubungan dengan sel dan biologi molekuler.

Kombinasi antara PCR dan metode deteksi (yang disebut PCR konvensional) telah digunakan untuk mendapatkan data kuantitatif dengan hasil yang dapat dipercaya. Namun, pendekatan ini membutuhkan banyak pekerjaan laboratorium dalam penanganan sample untuk mendapatkan ampikon yang mampu dievaluasi (4).

PCR konvensional mendeteksi DNA yang sudah diamplifikasi dengan mengandalkan tahapan elektroforesis yang mendeteksi asam nukleat dengan bantuan etidium bromide (EtBr) dan pengamatan visual atau *densitometric analysis* terhadap pita DNA setelah disinari oleh UV (5). Berbeda dengan PCR konvensional, Real-time PCR atau quantitative PCR (qPCR) merupakan salah satu metode paling sensitif untuk mendeteksi dan mengukur kuantitas mRNA (Joyce, 2002). Prinsip kerja qPCR adalah mendeteksi dan menguantifikasi reporter fluoresen. Sinyal fluoresen akan meningkat seiring dengan bertambahnya produk PCR (ampikon) dalam reaksi. Peningkatan jumlah ampikon yang signifikan pada fase eksponensial berhubungan dengan jumlah inisiasi gen target. Makin tinggi tingkat ekspresi gen target maka deteksi emisi fluoresen makin cepat terjadi (Arya et al., 2005). Terdapat dua jenis reporter fluoresen yang umumnya digunakan dalam qPCR, yaitu Taqman dan SYBR Green. SYBR Green akan berfluoresensi ketika berikatan dengan seluruh double-stranded DNA (dsDNA). Sinyal fluoresensi SYBR Green saat berikatan dengan dsDNA direkam setiap siklus sehingga menunjukkan banyak produk yang teramplifikasi selama reaksi berlangsung (Bustin, 2000 dalam Rahardianti dan Nur, 2017). Semakin banyak template pada awal reaksi, maka semakin sedikit siklus amplifikasi yang dibutuhkan untuk mencapai titik saat sinyal fluoresensi SYBR Green terdeteksi lebih tinggi dari ambang batas (threshold) fluoresensi yang ditentukan (Bustin, 2000; Nolan et al., 2006; Wong & Medrano, 2005 dalam Rahardianti dan Nur, 2017). Siklus saat sinyal fluoresensi pertama kali meningkat melebihi threshold ini disebut threshold cycle atau disingkat CT (Nolan et al., 2008; Schmittgen & Livak, 2008 dalam Rahardianti dan Nur, 2017). Karena interkalasinya dengan seluruh dsDNA, amplifikasi target dengan menggunakan SYBR Green harus diiringi dengan tahap melt curve agar spesifitas produk dapat dianalisis. DNA akan terdenaturasi pada suhu tertentu yang disebut melting temperature (T_m). Nilai T_m bergantung pada ukuran dan komposisi nukleotida. Sinyal fluoresensi akan dilepaskan ketika dsDNA terdenaturasi menjadi single-stranded DNA (ssDNA), sehingga data T_m dari setiap produk yang teramplifikasi dapat diketahui (Nolan et al., 2006 dalam Rahardianti dan Nur, 2017). Apabila amplifikasi produk telah spesifik, tahap melt curve

akan menghasilkan single peak dengan T_m yang identik. Contoh hasil qPCR dapat dilihat pada Gambar 29 berikut.



Gambar 34. Analisis kurva leleh dari uji real time PCR. Kisaran suhu disosiasi berkisar dari 63°C hingga 91,9°C. Garis putus-putus menunjukkan fluorensensi selama proses pemanasan; pada suhu rendah DNA dalam bentuk untai ganda dan memiliki 100% fluorensensi (sumbu kanan). Saat mereka memanaskan, untai yang didenaturasi menghasilkan lebih sedikit sinyal. Suhu di mana 50% untai dihibridisasi adalah T_m (suhu leleh), yang spesifik untuk setiap urutan, dalam hal ini adalah 81,5°C. Setelah pemrosesan matematis dari data tersebut (yang timbul dari perubahan fluorensensi vs. turunan suhu, dF / dT), diperoleh data fluorensensi spesifik, Rn (sumbu kiri). Jadi, ada dua puncak, puncak bawah di kiri, 72°C, sesuai dengan kurva disosiasi dimer primer yang dapat terbentuk selama reaksi. Puncak di sebelah kanan pada 81,5°C yang menunjukkan intensitas lebih tinggi, sesuai dengan kurva disosiasi dari dua produk amplifikasi spesifik yang diperoleh (Prada & Castellanos, 2013).

6.3. Rangkuman

- 1) Identifikasi penyakit virus sulit dilakukan karena ukuran virus yang sangat kecil. Pengamatan gejala klinis terhadap morfologi luar ikan maupun perilaku ikan biasa dilakukan untuk membantu diagnose awal penyakit virus. Namun, untuk mencapai tahap identifikasi, diperlukan mikroskop electron. Dikarenakan harga mikroskop electron yang mahal, maka identifikasi penyakit virus dilakukan dengan metode biologi molekuler, yaitu dengan teknik PCR.

- 2) Teknik PCR merupakan metode dalam biologi molecular yang berfungsi untuk menggandakan (Amplifikasi) potongan kecil dari DNA atau gen. Metode PCR memungkinkan untuk menciptakan ribuan bahkan jutaan kopi dari bagian DNA tertentu yang berasal dari DNA dalam jumlah sedikit.
- 3) Real time PCR (qPCR) lebih sensitive mendeteksi DNA dari pada PCR konvensional.

6.4. Penugasan

- a. Cari artikel yang membahas tentang penyakit virus pada ikan/udang dengan identifikasinya menggunakan metode PCR.
- b. Cari dan sebutkan dalam artikel tersebut :
 - 1) Jenis virus yang diidentifikasi
 - 2) Jenis ikan/udang sampel uji
 - 3) Organ target yang digunakan
 - 4) Primer yang digunakan
 - 5) Master mix yang digunakan,
 - 6) Proses/tahapan dan suhu yang digunakan pada proses amplifikasi dalam thermal cycler

6.5. Tes Formatif 5

- a. Sebutkan macam2 metode identifikasi penyakit virus pada ikan
- b. Jelaskan prinsip teknik PCR
- c. Sebutkan tahapan metode identifikasi dengan teknik PCR.

BAB VII
KEGIATAN BELAJAR 6
PENGENDALIAN PENYAKIT VIRUS PADA IKAN DAN UDANG

7.1. Indikator

Setelah mempelajari kegiatan belajar ini Taruna mampu:

- a. menjelaskan deskripsi pengendalian penyakit virus pada ikan & udang
- b. menjelaskan fungsi pencegahan penyakit virus pada ikan dan udang
- c. menjelaskan macam-macam tindakan pencegahan penyakit virus pada ikan dan udang?
- d. menjelaskan metode penanganan penyakit virus pada ikan dan udang?

7.2. Uraian Materi

Penyebab utama timbulnya penyakit adalah: 1) Kehadiran pathogen di lingkungan, 2) Imunitas stok ikan yang menurun, 3) Kualitas air yang buruk, 4) perubahan iklim, 5) malnutrisi. Pathogen seperti virus terdapat secara alami di perairan, namun ikan yang sehat memiliki kekebalan tubuh yang cukup untuk melawan pathogen tersebut. Ikan sehat dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan dan terhindar dari infeksi pathogen.

Jika ikan terinfeksi oleh virus, sangat sulit untuk diobati sehingga tindakan pengendalian yang paling tepat adalah dengan cara pencegahan. Pengendalian penyakit virus pada ikan selain tindakan pencegahan terdapat pula tindakan penanganan terhadap penyakit virus pada ikan.

7.2.1. Tindakan pencegahan

Beberapa tindakan pencegahan antara lain adalah dengan melakukan biosecurity untuk mencegah kehadiran pathogen di lingkungan, menjaga kualitas air media budidaya, penggunaan vaksin serta menjaga dan menambah imunitas ikan dengan imunostimulan atau vitamin.

a. Biosecurity

Biosecurity pada budidaya merupakan salah satu usaha untuk meminimalisir risiko masuknya penyakit dan menyebar pada biota di media budidaya. Termasuk didalamnya adalah untuk mengurangi stress pada ikan yang dapat menyebabkan ikan lebih mudah terkena penyakit.

Seorang pembudidaya harus menjaga lingkungan budidaya dengan baik dan mencegah adanya penurunan kualitas air serta menggunakan makanan yang sehat dan higienis untuk meningkatkan kemampuan ikan melawan penyakit serta mencegah penyakit masuk ke lingkungan perairan.

Hal yang perlu dilakukan untuk mencegah penurunan kualitas air (FAO, 2009):

- a. Jangan memberikan ikan terlalu banyak pakan (*over feed*) sehingga menghindari kontaminasi yang dapat disebabkan oleh materi organik yang berlebih pada dasar kolam.
- b. Segera ambil ikan yang sudah mati dalam tambak, atau keramba jaring apung, dan jaring lainnya.
- c. Hilangkan kotoran dan bahan organik yang menempel pada jaring secara berkala
- d. Bersihkan jaring sehingga bahan organik dapat dihilangkan dari area budidaya dengan menggunakan arus laut.

Beberapa cara menghilangkan pathogen pada air (FAO, 2009) :

- Desinfektan tambak dan peralatan budidaya secara berkala untuk menjaga agar tambak tetap bersih.
- Simpan pakan pellet kering dengan baik, simpan pada tempat yang sejuk, kering dan tertutup untuk mencegah pertumbuhan bakteri atau jamur secara *massive*.
- Simpan ikan rucah dengan baik (dalam freezer <-10°C).
- Pathogen dapat muncul dari ikan rucah yang disimpan tanpa dibersihkan atau dicuci dengan baik sebelum masuk freezer.
- Hal tersebut dapat meumbuhkan banyak pathogen dalam air.
- Beberapa pathogen dapat dihilangkan dengan *deep freezing*.
- Menggunakan ikan rucah segar dan bersih mencegah timbulnya pathogen.

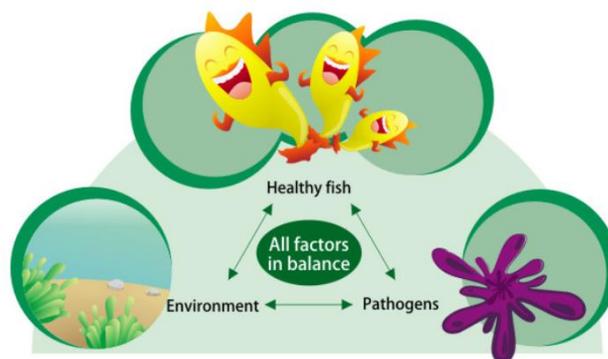
Kegiatan Biosekuriti yang dapat dilakukan pada budidaya ikan (Kassam, dkk., 2011):

- Menggunakan post larvae (PL) SPF (*Specific Pathogen Free*) yang bebas dari pathogen
- Gunakan system pengolahan air dengan modul reservoir.
- Gunakan Bird Scare lines – disemua tempat
- Gunakan pagar untuk mencegah masuknya kepiting (*Crab fence*)
- Kendalikan lalu lintas pekerja pada tahapan budidaya yang berbeda: stocking, pemanenen, pengambilan sampel.

- Tidak boleh memegang, menyentuh bahan dan peralatan budidaya, kecuali petugas yang diberi wewenang.
- Kurangi jumlah pekerja, menjadi: *stocing, harvest, sampling*.
- Gunakan bahan kimia atau keringkan dengan matahari untuk disinfektan semua peralatan.
- Edukasi masyarakat tentang biosekuriti
- Memperhatikan kebersihan lingkungan – adanya tempat perendaman mobil, kolam, air, perumahan, dll.
- Mengontrol lalulintas tamu, pekerja, teknisi, personil manajemen, dll. Untuk menghindari kontaminasi silang.

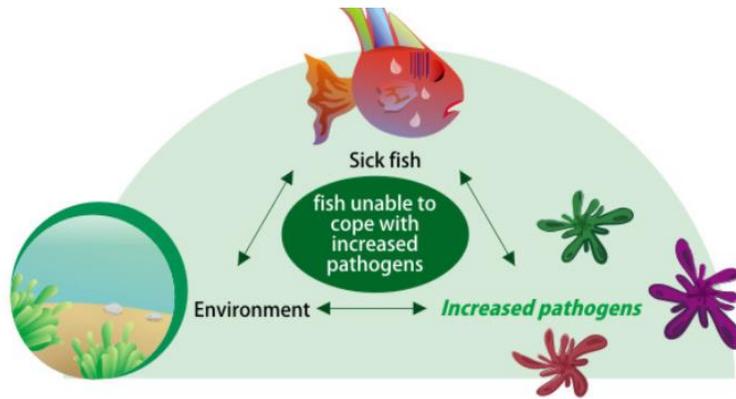
b. Menjaga Kualitas Air Budidaya

Patogen seperti penyakit virus, walaupun dalam konsentrasi stabil bahkan cenderung menurun, terdapat di semua badan air secara alami. Dalam kondisi lingkungan, keberadaan pathogen dan kesehatan ikan yang seimbang, maka tidak akan timbul suatu penyakit. Ikan yang sehat memiliki sistem kekebalan tubuh yang baik sehingga tidak terkena penyakit viral. Ikan yang sehat juga mampu beradaptasi dengan perubahan lingkungan sehingga terhindar dari infeksi penyakit (Gambar 1).

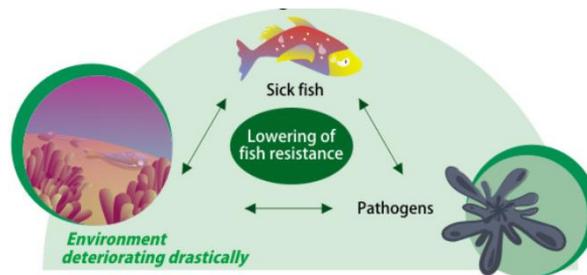


Gambar 35. Faktor yang berperan dalam timbulnya penyakit (AFCD, 2009)

Namun, ketika kelimpahan patogen di badan air meningkat dengan tajam karena faktor luar seperti masuknya pembawa (*carrier*) virus maupun menurunnya kualitas air serta daya tahan tubuh ikan yang menurun (Gambar 2 dan 3), maka ikan/udang tidak mampu mengatasi meningkatnya jumlah patogen tersebut, sehingga menjadi rentan terhadap infeksi patogen dan penyakit.



Gambar 36. Jumlah patogen meningkat (AFCD, 2009).



Gambar 37. Perubahan lingkungan yang terjadi secara drastis (AFCD, 2009).

Kualitas media budidaya merupakan salah satu faktor penting dalam keberhasilan budidaya ikan/udang. Salah satu upaya dalam menjaga kualitas air budidaya adalah dengan pemberian probiotik.

Budidaya yang bersifat intensif sangat penting dilakukan namun terdapat banyak masalah terutama yang berhubungan dengan kualitas air dan kesehatan ikan. Salah satu bahan yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah tersebut adalah probiotik. Probiotik mengandung mikroba menguntungkan yang dapat mengurai sisa metabolisme dan merangsang respon imun sehingga kesehatan ikan meningkat dan mempengaruhi pertumbuhan (Sumule, dkk., 2017).

Berbagai produk probiotik untuk aplikasi perikanan telah banyak dipasarkan dengan berbadai variasi penggunaannya, namun secara mendasar model kerja probiotik dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu (Irianto, 2003):

1. Menekan populasi mikroba melalui kompetisi dengan memproduksi senyawa-wenyawa antimikroba atau melalui kompetisi nutrisi dan tempat pelekatan di dinding intestinum.
2. Merubah metabolisme mikroba dengan meningkatkan atau menurunkan aktivitas enzim pengurai (selulase protease, amilase, dll).
3. Menstimulasi imunitas melalui peningkatan kadar antibody organisme akuatik atau aktivitas makrofag.

Probiotik dapat juga bekerja melalui mekanisme penguraian senyawa toksik yang berada di perairan seperti NH_3 , NO_2 , NO_3 , mengurai bahan organik, menekan populasi alga biru (Blue green algae), memproduksi vitamin yang bermanfaat bagi inang, menetralkan senyawa toksik yang ada dalam makanan serta perlindungan secara fisik inang dari patogen (Thye, 2005).

Probiotik sebagai agen pengurai (bioremediation) diantaranya adalah mikroorganisme seperti; *Nitrosomonas*, *Cellomonas*, *Bacillus subtilis*, dan *Nitrobacter*. Probiotik dapat digunakan secara langsung dengan cara ditebarkan ke air atau melalui media perantara makanan hidup (live food). Penggunaan probiotik di tambak akuakultur telah lama dilakukan seperti pemberian super NB yang merupakan koloni bakteri *Bacillus* yang mampu menguraikan senyawa nitrit dan super PS yang merupakan koloni bakteri sulfur khemoototrof seperti bakteri *Thiobacillus* yang mampu menguraikan senyawa H_2S yang bersifat toksik bagi udang (Khasani, 2007).

Beberapa probiotik yang beredar di pasaran antara lain; Actizyme yang mampu meningkatkan nilai nutrisi pakan, Aqua-10 Dry, Aqua Simba, dan EM4 (Effective Microorganism-4) yang berguna untuk memperbaiki kualitas air pemeliharaan serta telah banyak digunakan oleh para petambak udang (Khasani, 2007). Selain meningkatkan kualitas air, probiotik juga dapat meningkatkan kemampuan mencerna (*digestability*) makanan pada ikan/udang. Probiotik yang mengandung bakteri *Bacillus subtilis* telah terbukti mampu meningkatkan *digestability* pada ikan dan udang (Olmos, 2020).

c. Pemberian vaksin

Vaksin adalah suatu zat yang merupakan suatu bentuk produk biologi yang diketahui berasal dari virus, bakteri atau dari kombinasi antara keduanya yang dilemahkan. Vaksin diberikan kepada individu yang sehat guna

merangsang munculnya antibody atau kekebalan tubuh guna mencegah dari infeksi penyakit tertentu. Yang perlu digarisbawahi, imunisasi memberikan perlindungan kekebalan terhadap penyakit secara spesifik tergantung jenis vaksin yang diberikan (Kemenkes, 2016).

Penggunaan vaksin merupakan salah satu alternatif untuk mengendalikan infeksi penyakit virus karena vaksinasi dapat meningkatkan kekebalan tubuh ikan terhadap serangan penyakit baik kekebalan spesifik maupun kekebalan non spesifik yang pada akhirnya dapat meningkatkan kelangsungan hidup ikan.

Vaksinasi dirasakan sangat efisien karena dengan cara ini dapat diperoleh kekebalan hanya dengan sekali atau dua kali pemberian vaksin sampai ikan dapat dipanen. Keuntungan lain dari vaksinasi adalah tidak adanya efek samping pada ikan berbeda halnya dengan penggunaan antibiotik yang mana dapat berdampak negatif pada ikan (Supriyadi dan Rukyani 1990).

Vaksinasi pada ikan dapat dilakukan melalui penyuntikan, perendaman, penyemprotan, dan melalui pakan. Dari keempat cara tersebut perendaman dinilai lebih praktis, karena dapat digunakan untuk memvaksin ikan dalam jumlah besar (Ward 1982). Selain itu melalui perendaman tingkat stres yang dialami ikan lebih kecil dibandingkan dengan cara penyuntikan atau penyemprotan sehingga metode perendaman sudah umum dilakukan oleh para pembudidaya ikan di Indonesia (Supriyadi dan Rukyani 1990).

Salah satu produk vaksin yang dapat menanggulangi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan adalah HydroVac® yang diproduksi oleh Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor. Berdasarkan hasil uji coba secara laboratoris maupun lapangan, aplikasi Vaksin HydroVac® terbukti efektif dalam pencegahan MAS pada ikan air tawar di Indonesia. Aplikasi Vaksin Hydrovac® dapat menekan tingkat kematian ikan akibat penyakit MAS sebesar 30-40%. Jika tanpa aplikasi vaksin, tingkat kematian yang diakibatkan MAS dapat mencapai 60-70% (Taukhid 2008). Ketersediaan Vaksin HydroVac® jumlahnya terbatas dan hanya dapat dibeli di Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar Bogor, sehingga para pembudidaya ikan dalam penggunaannya harus seefisien mungkin. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan vaksin tersebut melalui perendaman secara berkali-kali.

Namun, pada udang vaksinasi tidak dapat dilakukan. Hal tersebut dikarenakan udang tidak memiliki limfosit-sel darah putih yang dibutuhkan dalam proses pembentukan antibodi. Sistem imun pada udang berbeda dengan sistem

imun tubuh vertebrata. Pada vertebrata terdapat limfosit, sel darah putih yang berfungsi dalam sistem imun adaptif yang diperlukan dalam tahapan vaksinasi. Tahap pertama vaksinasi yaitu mengenali patogen dan membentuk antibodi dan sel memory pada infeksi pertama kemudian pada tahap kedua, sel memory pada sistem imun mamalia yang telah adaptif terhadap pathogen mampu memberikan respon imun pada infeksi pathogen kedua dan infeksi berikutnya sehingga hewan kebal terhadap pathogen tersebut. Udang tidak memiliki limfosit yang berfungsi sebagai sel memori. Sehingga, metode vaksinasi tidak efektif apabila diterapkan pada pencegahan penyakit virus pada udang.

d. Pemberian imunostimulan/vitamin

Pengendalian perluasan penyakit harus dilakukan sedini mungkin, agar tidak terjadi wabah penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi. Upaya pengendalian dapat dilakukan dengan pemakaian bahan kimia, namun pemakaiannya untuk jangka panjang dapat menimbulkan dampak negatif. Dampak ini bukan saja terhadap lingkungan perairan dan patogen-patogen yang menjadi resistensi, bahkan terhadap kesehatan konsumen dan antara lain berupa adanya residu antibiotik. Untuk menghindari hal itu, pengembangan ketahanan tubuh perlu dilakukan dengan imunostimulasi (imunisasi—vaksinasi) dan pemakaian imunostimulan yang ramah lingkungan. Secara laboratoris dan pada aplikasi lapangan terbatas, imunostimulasi dapat meningkatkan sintasan hidup ikan budidaya (Gina 1997; Alifuddin 1999; Alifuddin et al. 2001a, 2001b).

Seperti pada ikan, salah satu tindakan pencegahan penyakit yang dapat dilakukan bagi udang adalah pemberian Imunostimulan. Udang tidak memiliki sistem imun adaptif yang sama dengan hewan vertebrata, sehingga lebih mengandalkan sistem imun innatenya. Pemberian Imunostimulan dapat meningkatkan kemampuan sistem imun innate pada udang.

Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan mekanisme respon imunitas ikan (Anderson 1992), baik seluler maupun humoral (Alifuddin 1999). Lipopolisakarida (LPS) merupakan salah satu imunostimulan yang digunakan untuk stimulasi sel B. Kajita et al. (1990) telah mengevaluasi efek levamisole terhadap peningkatan aktivitas fagositik ikan rainbow

trout (*Onchorhynchus mykiss*). Anderson & Rumsey (1995) mengemukakan, bahwa *Candida utilis* dan *Saccharomyces cerevisiae* dapat meningkatkan produksi radikal oksidatif, aktivitas fagositik, produksi mieloperoksidase dan imunoglobulin plasma ikan rainbow trout. Berbeda dengan vaksin, imunostimulan tidak direspon ikan dengan mensintesis antibodi, melainkan peningkatan aktivitas dan reaktivitas sel pertahanan seluler ataupun humoral.

Imunostimulan yang sering dipakai untuk imunostimulasi adalah LPS (lipopolisakarida), dan 1,3 glukukan yang diperoleh dari *Saccharomyces cerevisiae*, dan Levamisol. Beberapa vitamin seperti vitamin A, B dan vitamin C juga dapat digunakan sebagai imunostimulan (Sohne et al. 2000 dan Galeotti 1998 dalam Alifuddin, 2002).

Seperti halnya dengan vaksin, imunostimulan dapat diberikan melalui injeksi, bersama pakan (per oral) dan perendaman (Anderson 1992). Dosis imunostimulan yang digunakan sebesar 100-200 ppm. Imunostimulan ini dapat diberikan secara terus menerus selama 1 minggu kepada larva ikan ketika masih dalam hapa pendederan; kemudian dihentikan pemberiannya, diberikan kembali pada minggu ke 3 selama satu minggu. Karena itu, pada tahap awal, imunostimulan diberikan melalui perendaman, dan pada pemberian selanjutnya dapat diberikan bersama pakan. Pemilihan cara aplikasi imunostimulan didasarkan atas kepraktisan dan efisiensi dalam kegiatan budidaya (Alifuddin, 2002).

7.2.2. Tindakan penanganan

Tindakan penanganan ikan/udang yang terkena virus biasanya dilakukan karantina, dipanen atau dimusnahkan agar tidak mengkontaminasi area sekitarnya. Penanganan penyakit virus pada ikan/udang sangatlah sulit, disebabkan oleh mekanisme penyebaran penyakit yang melalui air. Ketika air media budidaya telah terinfeksi virus, maka dalam waktu cepat virus tersebut akan tersebar/ menulari komoditas yang dipelihara dalam kolam tersebut.

Misalnya, pada penyakit WSSV, *outbreak* biasa terjadi pada bulan pertama budidaya, lebih sering ditemukan pada waktu diantara 20 – 30 hari setelah penebaran. Udang bisa juga terjangkit WSSV setelah 2 bulan pemeliharaan. Kematian massal dapat terjadi di kolam budidaya, dalam waktu 3 hari, dengan kerugian dapat mencapai 90%. Kerugian dapat diminimalisir dengan melakukan pemanenan awal ketika udang menunjukkan gejala awal penyakit virus maupun menunjukkan pola kematian.

Pada penyakit WSSV terdapat pola kematian yang ditunjukkan udang sebagai dasar keputusan penanganan yang harus dilakukan;

- **Hari ke-1** : mortalitas udang lebih dari 5 ekor udang → dilakukan pengujian WSSV menggunakan PCR
 - o Jika positif WSSV, maka segera lakukan pemanenan.
 - o Jika negative WSSV, tunggu hingga hari berikutnya.
- **Hari ke-2** : mortalitas terus terjadi, dengan jumlah yang lebih tinggi dari pada hari ke-1 → lakukan kembali pengujian WSSV terhadap udang dengan menggunakan metode PCR.
 - o Jika positive terinfeksi WSSV, maka segera di panen.
 - o Jika negative WSSV, maka tunggu hingga hari berikutnya.
- **Hari ke-3** : mortalitas terus terjadi dan lebih besar dari hari ke-2 → lakukan pemanenan.

Seperti pada kasus penyakit IMNV (*infectious myonecrosis virus*) pada udang. IMNV merupakan virus yang menyerang udang vaname pada beberapa tahun terakhir. IMNV atau yang lebih dikenal sebagai virus myo, pertama kali ditemukan di Brazil pada tahun 2003 dan masuk ke Indonesia pada tahun 2006. Di Indonesia kasus IMNV pertama kali ditemukan di Situbondo, Jawa Timur. Menurut Tang et al. (2005), gejala klinis yang umum terjadi ialah rusaknya jaringan dan adanya warna putih pada otot skeletal, dan mengakibatkan udang yang terinfeksi menjadi lemah. Coelho et al. (2009) menyatakan bahwa infeksi IMNV menimbulkan tingkat mortalitas di atas 60% pada udang dan dapat menyerang udang stadia post-larva (PL), juvenil, dan dewasa. Saat ini, belum diperoleh cara dan obat untuk mengendalikan virus ini. Berbagai bahan alami (obat herbal) diketahui memiliki efek antiviral yang digunakan dalam pengobatan infeksi viral baik di manusia maupun hewan terestrial, misalnya bawang putih, daun jambu biji, dan meniran. Di samping itu, obat herbal tersebut mempunyai kemampuan untuk meningkatkan sistem imun pada ikan. Marlinah (2003) menyatakan bahwa pemberian tepung meniran 20 mg/kg pakan menghasilkan kelangsungan hidup 70% pada benih udang yang terinfeksi virus white spot (WSSV). Meniran yang dipakai pada penelitian ini ditujukan sebagai immunostimulan untuk mengendalikan infeksi IMNV. Sidik & Subarnas (1993) menyatakan bahwa meniran mengandung senyawa kimia golongan corin, flavonoid, alkaloid triterpenoid, dan senyawa kimia lain. Senyawa kimia yang termasuk dalam golongan corin yaitu filantin dan hipofilantin memiliki efek anti hepatotoksik, antiinfeksi, dan antivirus.

7.3. Rangkuman

Pengendalian penyakit virus yang paling baik adalah melakukan pencegahan dengan menggunakan benih yang SPF (*Specific pathogen free*), bersertifikat, menerapkan biosecurity, pemberian vaksin, imunostimulan kepada ikan serta mengaplikasikan probiotik bagi ikan maupun lingkungan tempat hidupnya. Jika ikan tetap menunjukkan gejala terinfeksi penyakit virus, maka biasanya ikan langsung dipanen maupun dimusnahkan.

7.4. Penugasan

Lakukan identifikasi kebutuhan biosecurity pada stasiun lapang Pulokerto-Pasuruan.

7.5. Tes Formatif 6

- a. Jelaskan apa yang dimaksud dengan pengendalian penyakit virus pada ikan/udang
- b. Jelaskan fungsi pencegahan penyakit virus pada ikan/udang
- c. Sebutkan macam-macam tindakan pencegahan penyakit virus pada ikan/udang
- d. Jelaskan metode penanganan penyakit virus pada ikan/udang

BAB VIII
KEGIATAN BELAJAR 7
UKURAN FREKUENSI MORBIDITAS

8.1. Indikator

Setelah melakukan kegiatan belajar ini Taruna mampu :

- a. Menjelaskan definisi Insidensi dan Prevalensi
- b. Menjelaskan fungsi Insidensi dan Prevalensi dalam bidang penanganan penyakit virus pada ikan dan udang.
- c. Menghitung Insidensi dan prevalensi

8.2. Uraian materi

Morbidity didefinisikan sebagai setiap penyimpangan, subjektif atau objektif, dari keadaan fisiologis atau psikologis. Dalam praktiknya, morbidity meliputi penyakit, cedera, dan kecacatan. Selain itu, meskipun untuk pelajaran ini istilah tersebut mengacu pada jumlah orang yang sakit, istilah ini juga dapat digunakan untuk menggambarkan periode penyakit yang dialami orang tersebut, atau durasi penyakit tersebut (Last, 2001).

Ukuran frekuensi morbidity mencirikan jumlah hewan dalam suatu populasi yang menjadi sakit (insiden) atau sakit pada waktu tertentu (prevalensi).

8.2.1. Insidensi

Insidensi adalah sejumlah kasus baru yang muncul di dalam suatu populasi dalam satu jangka waktu tertentu. Tidak seperti prevalensi, insidensi merefleksikan risiko, atau kemungkinan hewan terjangkit penyakit dalam satu jangka waktu tertentu. Insidensi dapat dihitung dengan beberapa cara berbeda:

- Insidensi kumulatif (CI) atau risiko insidensi
- Tingkat insidensi (IR) (atau densitas insidensi)

Insidensi kumulatif adalah jumlah hewan yang terpapar penyakit pada satu waktu tertentu dibagi dengan jumlah hewan sehat yang rentan pada awal waktu tertentu. Semua tindakan-tindakan terkait insidensi hanya berdasarkan pada kasus-kasus penyakit baru pada masa yang dibutuhkan.

Contoh :

Budi membudidayakan 45 ekor ikan selama 7 hari ke depan. Dia menelpon dan mengatakan bahwa 8 ekor ikan sakit. Hewan yang rentan adalah hewan yang bebas penyakit pada awal periode. Pada awal periode 7 hari terdapat 45 ekor ikan namun 5 diantaranya telah didiagnosis sakit, maka saat ini tersisa 40 ekor ikan sehat.

Maka,

$$CI = \frac{8}{40(7 \text{ hari periode})} = 0,20 = 20\%$$

Perkiraan insiden mudah dilakukan apabila populasi hewan tidak berubah dari waktu ke waktu (tidak ada hewan baru yang datang dan pergi). Ini disebut "populasi tertutup". Sering kali populasi dapat berubah dari waktu ke waktu karena hewan baru datang atau beberapa hewan dijual atau dipindahkan. Ini disebut "populasi terbuka" atau "populasi dinamis".

Jika hewan lupa ditindaklanjuti selama periode waktu yang diperlukan, maka denominator harus disesuaikan agar dapat diperhitungkan. Prinsip-prinsip yang sama perlu diterapkan jika setiap hewan baru dimasukkan dalam populasi yang rentan pada satu periode waktu. Ada beberapa metode yang sering digunakan untuk menyesuaikan perhitungan populasi yang rentan dalam populasi terbuka.

Dua pendekatan yang sering digunakan untuk perkiraan insiden kumulatif dijelaskan berikut ini:

- Jumlah hewan yang bebas dari penyakit pada awal periode tindak lanjut untuk populasi tertutup (pendekatan paling mudah namun bisa saja bias jika ada banyak lalu lintas hewan).
- Ukuran populasi di pertengahan titik periode tindak lanjut untuk populasi terbuka yang dapat diperkirakan sebagai

$$\text{Average number at risk} = N_{\text{Start}} + \frac{1}{2}N_{\text{New}} - \frac{1}{2}(N_{\text{Lost}} + N_{\text{Cases}})$$

$$\text{Rata - rata jumlah yang rentan} = N_{\text{Start}} + \frac{1}{2}N_{\text{Baru}} - \frac{1}{2}(N_{\text{Hilang}} + N_{\text{Kasus}})$$

$$\text{Cumulative Incidence} = \frac{\text{Number of new diseased animal } \in \text{ the time period}}{\text{Average number of animals at risk at the mid point of the period}}$$

$$\text{Kumulatif Insiden} = \frac{\text{Jumlah of new penyakit animal } \in \text{ the time periode}}{\text{Rata - rata jumlah of hewan at risiko at the mid poin of the periode}}$$

Contoh :

Pada permulaan tahun ada 1000 ikan dalam populasi kepentingan, semua ikan ini bebas penyakit. Sebanyak 400 ikan telah dijual sepanjang tahun tersebut. Sepanjang tahun 20 ikan mati karena KHV.

$$N_{\text{Permulaan}} = 1000$$

$$N_{\text{Baru}} = 0$$

$$N_{\text{Hilang}} = 400$$

$$N_{\text{Kasus}} = 20$$

$$\text{Jumlah yang rentan} = 1000 - 0.5 \cdot 400 - 0.5 \cdot 20 = 790$$

$$\text{Insiden kumulatif} = 20/790 = 0.025 = 2.5\%$$

Nilai insidensi adalah jumlah kasus baru penyakit yang terjadi per unit hewan yang rentan selama periode tindak lanjut. Nilai insidensi memerlukan perkiraan hewan yang rentan dibandingkan dengan insidensi kumulatif.

Untuk populasi tertutup (tidak ada lalu lintas hewan yang masuk dan keluar), denominator adalah jumlah hewan bebas penyakit pada permulaan dikali dengan lama periode tindak lanjut (hari, minggu, bulan atau bahkan tahun)

Untuk populasi terbuka (ada lalu lintas hewan masuk dan keluar) kita harus menyesuaikan denominator untuk memperhitungkan lalu lintas. Sekali lagi cara paling mudah untuk melakukannya adalah dengan menambahkan setengah dari jumlah hewan yang ditambahkan ke populasi yang rentan selama periode tersebut dan mengurangi setengah jumlah yang meninggalkan populasi yang rentan, menggunakan pendekatan yang sama sebagaimana metode 2 yang telah dijelaskan diatas untuk insidensi kumulatif. Angka yang telah disesuaikan kemudian dikalikan dengan lama periode tindak lanjut.

Jika ada data tindak lanjut secara terperinci tentang individu hewan, kita dapat menghasilkan denominator waktu yang rentan bagi hewan dengan menghitung waktu rentan setiap individu hewan dan menjumlahkannya.

8.2.2. Prevalensi

Prevalensi adalah bagian dari studi epidemiologi yang membawa pengertian jumlah orang dalam populasi yang mengalami penyakit, gangguan atau kondisi tertentu pada suatu waktu dihubungkan dengan besar populasi dari mana kasus itu berasal.

Prevalensi sepadan dengan insidensi dan tanpa insidensi penyakit maka tidak akan ada prevalensi penyakit. Insidensi merupakan jumlah kasus baru suatu penyakit yang muncul dalam satu periode waktu dibandingkan dengan unit populasi tertentu dalam periode tertentu. Insidensi memberitahukan tentang kejadian kasus baru. Prevalensi memberitahukan tentang derajat penyakit yang berlangsung dalam populasi pada satu titik waktu (Timmereck, 2001). Dalam hal ini prevalensi setara dengan insidensi dikalikan dengan rata-rata durasi kasus (Lilienfeld dan Lilienfeld, 2001 dalam Timmerek, 2001).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi prevalensi. Faktor-faktor tersebut adalah: a) Kasus baru yang dijumpai pada populasi sehingga angka insidensi meningkat. b) Durasi penyakit. c) Intervensi dan perlakuan yang mempunyai efek pada prevalensi. d) Jumlah populasi yang sehat.

Prevalensi dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Fidyandini, dkk., 2012) :

$$Prevalensi = \frac{\text{Jumlah sampel ikan/udang yang terserang}}{\text{Jumlah sampel ikan/udang yang diperiksa}} \times 100\%$$

8.3. Rangkuman

Prevalensi dihitung untuk mendapatkan jenis penyakit yang paling banyak muncul pada suatu area serta bahan untuk menganalisa apakah penyakit tersebut dapat dikatakan epidemic pada daerah tertentu.

Insiden adalah langkah dinamis penyakit di mana prevalensi adalah langkah statis penyakit Insiden dan prevalensi saling berhubungan. Prevalensi penyakit dalam dalam suatu populasi yang rentan menunjukkan bahwa insiden kasus baru penyakit dan durasi penyakit dalam kasus individu: $Prevalensi = Insiden \times Durasi$ dalam konsidi tertentu.

Perubahan insiden atau durasi penyakit akan mengubah prevalensi. Nilai insiden biasanya lebih besar dari pada prevalensi apabila penyakit memiliki durasi yang singkat dan/atau fatal. Prevalensi biasanya lebih besar dari pada insiden apabila penyakit bersifat kronik.

Nilai insiden kumulatif (CI) memberikan perkiraan langsung kemungkinan seekor hewan mengalami kejadian penyakit dalam satu periode waktu. CI terkait dengan basis individu dan populasi.

Menghitung denominator (waktu yang rentan bagi hewan) untuk memperkirakan insiden khususnya apabila hewan masuk atau meninggalkan populasi selama periode kepentingan. Ada sejumlah cara untuk menghadapi masalah ini.

8.4. Penugasan

- a. Lakukan identifikasi penyakit pada ikan di beberapa tambak budidaya .
- b. Hitung prevalensi tiap jenis penyakit yang ditemukan pada setiap tambak.
- c. Tentukan jenis penyakit yang paling tinggi prevalensinya.

8.5. Tes Formatif 7

- a. Jelaskan apa yang disebut dengan insidensi dan prevalensi
- b. Jelaskan secara singkat fungsi perhitungan prevalensi penyakit pada perikanan budidaya

PENUTUP

Melalui pembelajaran berbasis modul, diharapkan akan membantu Taruna akan dapat belajar secara mandiri, mengukur kemampuan diri sendiri, dan menilai dirinya sendiri. Tidak terkecuali dalam memahami konsep dasar teknik penanganan penyakit virus pada ikan dan udang serta implementasinya. Semoga modul ini dapat digunakan sebagai referensi tambahan dalam proses pembelajaran pada kegiatan perkuliahan, baik teori maupun praktik. Taruna lebih mendalami materi lain di samping materi yang ada di modul ini melalui berbagai sumber, jurnal, maupun internet. Semoga modul ini bermanfaat bagi Taruna khususnya pada bidang Teknik Penanganan Penyakit Virus pada Ikan.

Tak lupa dalam kesempatan ini, penulis mohon saran dan kritik yang membangun terhadap, demi sempurnanya penyusunan modul ini di masa-masa yang akan datang. Semoga modul ini memberikan manfaat bagi Taruna dan pembaca budiman lainnya.

TES SUMATIF

1. Sebutkan faktor penyebab terjadinya penyakit.
2. Jelaskan alasan perlunya melakukan teknik penanganan penyakit virus pada ikan dan udang yang dibudidayakan
3. Jelaskan teknik penanganan penyakit virus pada ikan dan udang yang dibudidayakan.

KUNCI JAWABAN

Kunci jawaban tes formatif KB 1

- a. virus adalah mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit dengan ukuran tubuh antara 25-300 nanometer, sehingga hanya dapat dilihat menggunakan mikroskop electron. Virus tidak mempunyai perlengkapan metabolic sendiri dan tidak mampu membangkitkan energi atau mensintesis protein, sehingga kebutuhan pakan untuk memperbanyak diri sangat bergantung pada inangnya.
- b. Sifat-sifat virus :
 - Diameter virus sangat kecil (< 300 nm).
 - Virus tidak dapat tumbuh pada media mati.
 - Siklus hidup virus di didalam inang.
 - Virus hanya mempunyai materi genetik berupa DNA atau RNA saja, tidak pernah keduanya.
 - Asam nukleat virus bersifat infeksiif
 - Virus tidak dapat melakukan metabolisme sendiri
 - Virus tidak peka terhadap antibiotic.
- c. Struktur virus :
Kepala (Head), Kapsid (Capsid), Isi (Nucleic acid), Ekor (Tail)
- d. Tahap daur litik :
Adsorpsi, Penetrasi, Sintesis, Pematangan, Lisis
- e. Perbedaan daur litik dan lisogenik;

Siklus Litik adalah siklus replikasi virus dimana sel inang akan mengalami lisis (mati) pada akhir siklusnya. Memiliki 5 tahapan, yaitu: adsorpsi → injeksi → sintesis → perakitan → litik. Pada daur litik tidak terdapat fase penggabungan dan pembelahan. Bersifat Non virulen. Waktu relatif singkat. Daur litik tidak dapat berubah ke daur lisogenik karena sel inang nya rusak/ mengalami lisis dan mati. Reproduksi terjadi secara bebas, tidak terikat pada kromosom inang Pada proses akhir, sel inang mengalami lisis dan mati DNA virus menghancurkan DNA sel, mengambil alih fungsi sel dan menghancurkan sel Virus bereplikasi dan menghasilkan keturunan bakteriofage Infeksi virus berlangsung menghasilkan virus ganas (virulent). Ada gejala infeksi virus

Siklus Lisogenik adalah siklus replikasi virus dimana sel inang tidak mengalami kematian pada akhir siklus, karena mempunyai virulensi. Memiliki 7 tahapan, yaitu:

adsorbs → injeksi → penggabungan → pembelahan → sintesis → perakitan → litik. Pada daur lisogenik terdapat fase penggabungan dan pembelahan. Bersifat Virulen. Waktu relatif lama. Daur lisogenik dapat berubah menjadi daur litik jika virulensi bakteri hilang. Reproduksi terikat pada kromosom inang. Pada proses akhir, bakteriofag masih dapat menjalankan aktivitas biasa seperti membelah DNA virus menyatu dengan DNA sel dan tidak merusak sel. Virus ini tidak menghasilkan keturunan. Replikasi berlangsung menghasilkan virus bersifat laten. Tidak ada gejala infeksi virus.

Kunci jawaban tes formatif KB 2

- a. Beberapa penyakit virus pada ikan antara lain : Cannel Catfish Virus Diseases (CCVD), Spring Viramea of Carp (SVC), Infectious Pancreatic Necrosis (IPN), Penyakit bintil putih, Dropsi, Penyakit infectiooous Haematopoetic necrosis (IHN), Viral Nervous Necrosis (VNN) dan Koi Herpes Virus (KHV).
- b. Penyakit virus yang sering dijumpai pada udang antara lain : *Infectious Hypodermal dan Hematopoietic Necrosis Virus* (IHHNV), *Yellow Head Virus* (YHV), *Taura Syndrome Virus* (TSV), *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), dan *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV).

Kunci jawaban Tes formatif KB 3

- a. Ciri ikan sehat antara lain; berenang aktif, merespon cepat, nafsu makan baik, warna tubuh (sisik) cerah dan mengkilat, sisik menempel kuat pada daging, ukuran normal, organ internal sehat dan normal.
- b. Ciri ikan sakit antara lain; Berenang melambat, respon lambat, Nafsu makan kurang, warna tubuh (sisikk) kusam, gelap, atau warna memudar, terdapat bercak/titik-titik putih, kurus, hydropsy, penyakit yang berbeda memberikan kerusakan yang berbeda pada organ
- c. Dua tahapan pemeriksaan kesehatan ikan dan udang yang dapat dilakukan saat melakukan monitoring ikan udang yang dibudidayakan yaitu 1) Pengamatan perilaku, 2) Pemeriksaan kesehatan secara mendetil.

Kunci jawaban tes formatif KB 4

- a. Beberapa alasan pengambilan sampel antara lain; Adanya kematian mendadak pada ikan adanya tanda penyakit pada ikan, meningkatnya mortalitas, kegiatan pemantauan penyakit, kegiatan penyelidikan penyakit
- b. Botol sampel, alcohol, es dan jaring.

Kunci jawaban tes formatif KB 5

- a. Metode Histopatologi, metode PCR, metode qPCR, metode electron mikroskop
- b. Prinsip teknik PCR adalah menggandakan DNA/RNA ikan/udang yang akan diperiksa apakah terdapat patogen atau tidak.
- c. Tahapan identifikasi dengan metode PCR; pengambilan organ target, ekstraksi, amplifikasi, elektroforesis dan dokumentasi dengan UV translumitor

Kunci jawaban tes formatif KB 6

- a. Pengendalian penyakit virus pada ikan merupakan tindakan pencegahan serta tindakan penanganan terhadap penyakit virus.
- b. Pada kegiatan budidaya Ikan/udang pada saat penyakit virus ditemukan terdapat pada ikan, maka dalam waktu dekat, biasanya dilakukan penanganan dengan cara dipanen. Hal ini disebabkan oleh penyakit virus yang mampu menyebar dengan cepat, sehingga dapat menyebabkan gagal panen. Sehingga tindakan yang paling sering dilakukan dalam pengendalian virus pada ikan/udang adalah dengan cara pencegahan.
- c. Beberapa tindakan pencegahan penyakit virus pada ikan/udang antara lain; memastikan benih yang akan ditebar bebas dari virus, mengendalikan kualitas air serta pengelolaan pakan agar ikan tidak stress, pemberian probiotik bagi air dan pakan ikan/udang, penambahan vitamin/ imunostimulan pada pakan ikan/udang serta pemberian vaksin bagi ikan.
- d. Metode penanganan penyakit virus pada ikan/udang antara lain dengan cara dipanen langsung bagi ikan/udang namun jika individu ikan yang sakit baru satu ekor, maka dapat dipisahkan terlebih dahulu ke wadah baru dan diberi treatment. Wadah yang berisi ikan lainnya diamati lebih intensif. Pemanenan total dapat dilakukan jika virus yang mengenai ikan/udang

Kunci jawaban tes formatif KB 7

- a. jumlah keseluruhan kasus penyakit yang terjadi pada suatu waktu tertentu di suatu wilayah
- b. informasi prevalensi suatu penyakit ikan atau udang yang dibudidayakan dapat menjadi dasar pembuatan aturan karantina dan pengembangan obat/vaksin serta pengendalian penyakit agar tidak menyebar ke lingkungan budidaya lainnya.

Kunci jawaban tes sumatif

1. Penyakit dapat terjadi jika; kualitas lingkungan perairan menurun, kekebalan tubuh ikan menurun serta adanya pathogen pada lingkungan perairan.
2. Teknik penanganan penyakit virus pada ikan dan udang yang dibudidayakan perlu dilakukan agar tidak terjadi penyebaran penyakit baik di dalam kolam budidaya itu sendiri maupun ke area lain.
3. Virus merupakan pathogen yang tidak dapat dibunuh dengan menggunakan antibiotic seperti halnya pada parasit maupun bakteri. Oleh karena itu hal yang paling penting dilakukan dalam teknik penanganan penyakit virus pada ikan/udang adalah tindakan pencegahan seperti pemberian probiotik pada lingkungan perairan maupun pada pakan, pemberian vitamin atau imunostimulan, serta melakukan biosekuriti yang baik pada kegiatan budidaya ikan/udang.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianto, E., Liviawati E., Jamaris, Z., Hendi. 2015. Penyakit Ikan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Agriculture, Fisheries and Conservation Department. 2009. Good Aquaculture Practice Series 4. Booklet. The Agriculture, Fisheries and Conservation Department. Hong Kong.
- Ahmadivand, S., Soltani, M., Mardani, K., Shokrpour, S, Hassanzadeh, R., Ahmadpoor, M., Rahmati-Holasoo, H., Meshkini, S. 2017. Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) outbreak in farmed rainbow trout in Iran: Viral isolation, pathological findings, molecular confirmation, and genetic analysis. *Virus Research*, Februari 2017, vol. 229. 17-23 pp.
- Alifuddin, M. 1999. Peran Imunostimulan (Lipopolisakarida, *Saccharomyces cerevisiae* and Levamisol) terhadap Peningkatan Respons Imunitas Ikan Jambal Siam (*Pangasius hypophthalmus*). Tesis. Program Studi Ilmu Imunostimulasi pada Hewan Akuatik 91 Perairan. Program Pascasarjana IPB, Bogor. 50 hal
- Alifuddin, M., N.B.P. Utomo & A.O. Sudradjat. 2001b. Pengembangan Imunostimulan untuk Meningkatkan Produksi Budidaya Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab.) di Tambak. Laporan Kemajuan Tahun I. RUK. LP-IPB dan BPPT, Jakarta. 25 hal
- Alifuddin, M., Waryat, A. Putra, D. Setyani & Soewidah. 2001a. Uji Adaptasi Usaha Penanggulangan Penyakit pada Budidaya Ikan Hias di DKI Jakarta.. Laporan Akhir Penelitian Kerjasama LP-IPB dengan BPTP/PAATP Wilayah DKI Jakarta. 26 hal.
- Alifuddin, M. 2002. Imunostimulasi pada Hewan Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 1(2): 87–92.
- Anderson, D.P. & G.L. Rumsey. 1995. Injection or immersion delivery of selected immunostimulants to trout demonstrate enhancement of non specific defence mechanisms and protective immunity, p: 413-426. In M. Sharif, J.R. Arthur & R.P. Subangsihe (Eds.), *Diseases in Asian Aquaculture II. Proceeding of Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture*. 25-29th October 1993. FHS-AFS.
- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, adjuvant and vaccine carrier in fish: Applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*, 21: 281-307.
- Arya, M., Shergill, I., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., & Patel, H. 2005. Basic principles of the real time quantitative PCR. *Expert Rev.*
- Australian Government Department of Agriculture, Fisheries and Forestry. 2012. *Aquatic Animal Diseases Significant to Australia: Identification Field Guide*, 4Th Edition, DAFF, Canberra.

- Bondad-Reantaso, M.G., McGladdery, S.E., East, I., and Subasinghe, R.P. (eds.) 2001. Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. FAO Fisheries Technical Paper No. 402, Supplement 2. Rome, FAO. 240 p
- Bootland L.M. dan Leong J.C. 1999. Infectious hematopoietic necrosis virus.in: fish diseases and disorders, volume 3: viral, bacterial and fungal infections. Woo P.T.K. dan Bruno D.W., eds. Cab international, oxon, UK, 57–121.
- Campbell A. 2013. The future of bacteriophage biology. *Nat Rev Gen* 4:471–7.
- Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S.J. FungeSmith, I.H. MacRae and C. Limsuan.1998. Health Management in Shrimp Ponds. Third Edition. Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries. Bangkok, Thailand. 152p.
- Chomczynski, P dan Sacchi, N. 1987. Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate-Phenol-Chloroform Extraction. *Analytical Biochemistry*. 162: 156- 59.
- Coelho MGL, Silva ACG, Nova CMVV, Neto JMO, Lima ACN, Feijo RG, Apolinario DF, Maggioni R, Gesteira TCV. 2009. Susceptibility of the wild southern brown shrimp (*Farfantepenaeus subtilis*) to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis (IHHN) and infectious myonecrosis (IMN). *Aquaculture* 294: 1–4.
- Department of Primary Industries Parks, Water & Environment, Tasmania. 2017. Field Sampling of Fish for Disease Investigation and Health Monitoring- Guidelines and Procedures Manual. Tasmanian Government. Tasmanian.
- Fidyandini, H.P., Subekti,S. dan Kismiyati. 2012. Identifikasi dan Prevalensi Ektoparasit pada Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) yang Dipelihara di Karamba Jaring Apung UPBL Situbondo dan di Tambak Desa Bangunrejo Kecamatan Jabon Sidoarjo. *Journal of Marine and Coastal Science*, 1(2), 91 – 112.
- Fijan, N. 1999. Spring viraemia of carp and other viral diseases and agents of warm-water fish, pp 177-244. Dalam : Woo, P.T.K and Bruno, D.W. (eds).Fish Diseases and Disorders. Vol 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI Publishing. Oxon. UK.
- Fitriatin, E dan Manan, A. 2015. Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada Ikan Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelaut*. 7 (2): 149-152.
- Gina, S. 1997. Gambaran Sistem Kekebalan Non Spesifik pada Ikan Gurame (*Osphronemus gouramy* Lac. 1973) Akibat Pemberian Imunostimulan. Tesis. Program Studi Sains Veteriner. Program Pascasarjana IPB, Bogor. 44 hal.

- Griffiths, D. 2017. Koi Herpes Virus (KHV) Clinical symptoms and diagnosis. (<http://www.koiquest.co.uk/KoiHerpesVirus1.pdf>)
- Handoyo, D. dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR) [General Principles and Implementation of Polymerase Chain Reaction]. *Unitas*. 9(1): 17-29.
- Hartman, K., Yanong, R., Petty, D., Francis-Floyd, R., dan Riggs, A. 2004. Koi Herpes Virus (KHV) Disease1. Fact Sheet VM-149. Department of Large Animal Clinical Sciences (College of Veterinary Medicine), Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. https://www.researchgate.net/publication/246620905_Koi_Herpes_Virus_KHV_Disease1 [accessed Nov 04 2020].
- Hewajuli, D.A dan Dharmayanti, N.L.P.I. Perkembangan Teknologi *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction* dalam Mengidentifikasi Genom *Avian Influenza* dan *Newcastle Diseases*. *Wartazoa*. 24(1): 16-29.
- Irianto, A. 2003. Probiotik Akuakultur. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta, 125 pp.
- Joyce, C. 2002. Quantitative PCR: A Review of Current Methodologies. From Methods in Molecular Biology vol. 193: RT-PCR Protocols. Edited by: J. O'Connell. Totowa: Humana Press Inc.
- Kajita, Y., M. Sakai., S.D. Atsuta & M. Kobayashi. 1990. The immunomodulatory effects of levamisole on rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss*. *Fish Pathol.*, 25: 93-98.
- Kassam, L., Subasinghe, R., Phillips, M. 2011. Aquaculture farmer organizations and cluster management: concepts and experiences. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No 563. Rome.
- Kathleen H. Hartman, Roy P.E. Yanong, Deborah B. Poudel, B. Denise Petty, Ruth Francis-Floyd, Allen C. Riggs, and Thomas B. Waltzek. 2013. Koi Herpesvirus Disease (KHVD). IFAS Extension, VM-149. University of Florida.
- Kemenkes. 2016. Vaksin Untuk Pencegahan, Serum Untuk Pengobatan. <http://www.depkes.go.id/pdf.php?id=16072800004> (diakses 21 Desember 2018)
- Khasani, I. 2007. Aplikasi Probiotik Menuju Sistem Budi Daya Perikanan Berkelanjutan. *Media Akuakultur*. Vol 2(2).
- Koesharyani, I., K. Mahardika, K. Sugama, and K. Yuasa. 2001. Iridovirus penyebab kematian pada budidaya ikan kerapu lumpur, *Epinephelus coioides*. Deteksi menggunakan polymerase chain reaction (pCR). Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan

- Pengembangan Sea Farming di Indonesia. Dep. Kelautan dan Perikanan bekerja sama dengan JICA, p.228-234.
- Last JM. A dictionary of epidemiology, 4th ed. New York: Oxford U. Press; 2001.
- Lesmana, D.S. 2003. Mencegah dan Menanggulangi Penyakit Ikan Hias. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.
- Liu,L.H., Yu,L.J., Fu,X.Z., Lin,Q., Liang,H., Niu,Y., Li, N. 2019. First report of megalocytivirus (iridoviridae) in cultured bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*, in China. Microbial Pathogenesis Volume 135, October 103617.
- Lyu,J.H., Jeong, J.B., Kim, H.Y., Jun, L.J., Cho, H.J., Lee, J.W., dan Jeong, H.D. 2006. Detection and distribution of iridoviruses in five freshwater ornamental fish species. Journal of Fish Pathology, 19(3): 197 ~ 206.
- Magdeldin, S. 2012. Gel Electrophoresis : Principles And Basics. Croatia. InTech.
- Mahardika, K., I. Koesharyani, A. Prijono, dan K. Yuasa. 2003. Infeksi Iridovirus pada Induk Kerapu Lumpur (*Epinephelus coioides*). Jurna Penelitian Perikanan Indonesia. Vol. 9 nomor 1, p.49-54.
- Mansour, N.M. 2017. Bacteriophages are natural gift, could we pay further attention!. Jurnal Food Microbiol Volume 1 Issue 1
- Mahardika, K., I. Koesharyani, K. Sugama, A. Prijono, and K. Yuasa. 2001. Studi histopatologi iridovirus pada *Epinephelus coioides* dan *Epinephelus bleekeri*. Prosiding Seminar Teknologi Budidaya Laut dan Pengembangan Sea Farming di Indonesia. Dep. Kelautan dan Perikanan bekerja sama dengan JICA, p.334--341.
- Marlinah. 2003. Pengaruh penambahan ekstrak meniran dalam pakan buatan terhadap kelangsungan hidup benih udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang diinfeksi virus white spot [Skripsi]. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Murwantoko, Sari, D.W.K., Handayani, C.R., Whittington, R.J. 2018. Genotype determination of megalocytivirus from Indonesian Marine Fishes. Biodiversitas. Vol. 19, No.5, September 2018 Pp 1730-1736 .
- NACA. 1989. Integrated Fish Farming in China. NACA Technical Manual 7. A World Food Day Publication of the Network of Aquaculture Centres in Asia and the Pacific, Bangkok, Thailand. 278 pp.

- Novriadi, R., Agustatik, S., Tanjung, D. 2015. Identifikasi keberadaan Nervous Necrosis virus dan Iridovirus pada budidaya ikan laut di wilayah kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Omni-Akuatika* Vol. XIV No. 20 Mei 2015 : 54 – 62.
- OIE - World Organization for Animal Health. (2009). *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2009*. OIE, Paris.
- OIE. 2018. *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. OIE. Paris.
- Olmos, J., Acosta, M., Mendoza, G. dan Pitones, V. 2020. *Bacillus subtilis*, an ideal probiotic bacterium to shrimp and fish aquaculture that increase feed digestibility, prevent microbial diseases, and avoid water pollution. *Archives of Microbiology* volume 202, pp. 427–435
- Prada, Jeanette & Castellanos, Jaime. 2013. Real time PCR. Application in dengue studies. *Colombia Medica*. 42. 243-258.
- Principles of Epidemiology in Public Health Practice, Third Edition. An Introduction to Applied Epidemiology and Biostatistics.*
- Rahardianti, R. dan Nur, E.M. 2017. AKURASI METODE REAL PCR UNTUK ANALISA EKSPRESI GEN PmVRP15-Prosiding Pertemuan Teknis Teknisi Litkayasa Lingkup BBPBAP Jepara Tahun 2017. BBPBAP Jepara pp.1-7.
- Rehman, T., Yin, L., Latif, M.B. *et al.* Current findings on carp edema virus, control challenges, and future outlook. *Aquacult Int* **28**, 2015–2026 (2020).
- Sano, M., Nakai, T. dan Fijan, N. 2011. Viral Diseases and Agents of Warmwater Fish dalam : Woo, P.T.K dan Bruno, D.W.(eds). *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd Edition. CAB International. UK., 198-207.
- Shameena, S. S., Krishnan, R., dan Deva G, V.S. 2018. General Principles of Vaccination and Vaccination Strategies in Aquaculture. *Aquaculture Times*, May-June 2018.
- Sidik, S. 1993. *Phyllanthus niruri* L, Kimia, Farmakologi dan Penggunaannya Dalam Obat Tradisional. Prosiding Seminar Meniran dan Kedawung 3– 4 Agustus 1993. Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia.
- Siwicki, A.K., Lepa, A., Malaczewska, J., Kazun, B., Kazun, K. dan Majewska E.T. 2006. *Isolation and identification of Carp Interstitial Nephritis and Gill Necrosis (CNGV) in fingerling common carp (Cyprinus carpio L)*. *Arch.Pol.Fish.* 14(2):157-167.
- Sukenda, Sri Nuryati,S., Sari, I.R. 2011. Pemberian meniran *Phyllanthus niruri* untuk pencegahan infeksi IMNV (*infectious myonecrosis virus*) pada udang vaname *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* 10 (2), 192–202.

- Sumule, F., Tobigo, J., Rusaini. 2017. Aplikasi probiotik pada media pemeliharaan terhadap pertumbuhan dan sintasan ikan nila merah (*Oreochromis* sp.). https://www.researchgate.net/publication/324721503_APLIKASI_PROBIOTIK_PADA_MEDIA_PEMELIHARAAN_TERHADAP_PERTUMBUHAN_DAN_SINTASAN_IKAN_NILA_MERAH_Oreochromis_sp [accessed Dec 20 2018].
- Sunarto, A. dan Cameron, A. 2006. Epidemiology and control of Koi herpes virus in Indonesia. Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics.
- Supriyadi, H. dan A. Rukyani. 1990. Imunoprofilaksis dengan Cara Vaksinasi pada Usaha Budidaya Ikan. Hal:64-70. Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar. Bogor. 227 hal.
- Tang KF, Pantoja CR, Poulos BT, Redman RM, Lightner DV. 2005. In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). Dis. Aquat. Org. 63: 261–265.
- Tauhid. 2008. Aplikasi Vaksin HydroVac Pada Perikanan Budidaya Air Tawar. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar. Bogor. 6 hal.
- Thye, C.T. 2005. Probiotik dalam ternakan udang. Hatchery Management Course. Malaysian Technical Cooperation Programme. Pusat Pengeluaran & Penyelidikan Benih Udang Kebangsaan Malaysia, 15 pp.
- Viljoen, GJ. Nel LH. dan Crowther, JR. 2005. Molecular Diagnostic PCR Handbook. Netherlands. Springer.
- Ward, P. D. 1982. The Development of Bacterial Vaccine for Fish.
- Whittington, Richard & Becker, Joy & Dennis, Michelle. (2010). Iridovirus infections in fish – critical review with emphasis on ranaviruses. Journal of fish diseases. 33. 95-122. 10.1111/j.1365-2761.2009.01110.x.
- Yildirim, M & Gunal, A. Caglan & Selvi, Mahmut & Ozkul, Ayhan & Erkoç, Figen & Koçak, Oner. (2006). Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. Environmental toxicology. 21. 614-20. 10.1002/tox.20225.
- Zhu, L., wang, X., Wang K., Yang Q., He J., Qin, Z., Geng, Y., Ouyang, P., dan Huang X.. 2017. Outbreak of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout in China. Acta Tropica 170, 63-69.