

**DETEKSI PCR TERHADAP *Myxobolus cerebralis* PADA IKAN SALMON CHUM
(*Oncorhynchus keta*) DAN IKAN KOMET (*Carassius auratus*)
DI KARANTINA JAWA TIMUR**

Fitriyatus Sulchah^{1,*}, Ahmad Khusairy², dan Sumaryam²

¹Balai Karantina Hewan Ikan dan Tumbuhan Jawa Timur, Jalan Raya Ir. H. Juanda No.26, Semabung,
Sidoarjo 61253, Jawa Timur, Indonesia

²Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Dr. Soetomo, Jalan Semolowaru No. 84,
Surabaya 60118, Jawa Timur, Indonesia

(Naskah diterima: 20 Januari 2026; Revisi final: 04 Maret 2026; Disetujui publikasi: 04 Maret 2026)

ABSTRAK

Myxobolus cerebralis merupakan patogen Myxozoa penyebab *whirling disease* pada ikan salmonid hasil budidaya dan liar, serta ditetapkan sebagai penyakit ikan wajib dilaporkan yang mengancam industri akuakultur global. Deteksi dini yang akurat sangat penting untuk mencegah masuk dan menyebarnya penyakit ini ke sistem budidaya di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi akurasi metode deteksi *M. cerebralis* secara makroskopis, mikroskopis, dan molekuler pada dua komoditas akuakultur yaitu *fillet* ikan salmon chum (*Oncorhynchus keta*) beku hasil impor dan jaringan kista dari ikan komet (*Carassius auratus*) hasil budidaya. DNA diekstraksi dari jaringan otot *fillet* ikan salmon chum dan jaringan kista ikan komet, masing-masing sebanyak 15 sampel, kemudian diamplifikasi menggunakan primer spesifik *M. cerebralis* (Tr 5-16m dan Tr 3-17). Hasil elektroforesis menunjukkan seluruh sampel (100%) negatif terhadap *M. cerebralis*. *Fillet* ikan salmon chum bebas dari lesi dan materi genetik target. Pada ikan komet, meskipun pemeriksaan mikroskopis mengonfirmasi keberadaan spora *Myxobolus* spp. (ukuran rata-rata $13,4 \pm 0,9 \mu\text{m} \times 9,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$), namun hasil negatif pada analisis PCR mengindikasikan infeksi disebabkan oleh spesies *Myxobolus* non-*cerebralis* yang bersifat endemik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa risiko introduksi *M. cerebralis* melalui produk *fillet* ikan salmon impor sangat rendah, dan kista pada ikan komet budidaya bukan disebabkan oleh patogen *M. cerebralis*. Hasil ini mendukung penerapan *risk-based surveillance* di pintu karantina dan menegaskan pentingnya deteksi dini patogen infeksi secara molekuler sebagai bagian integral dari sistem biosekuriti akuakultur nasional.

KATA KUNCI: karantina; *Myxobolus cerebralis*; PCR; *whirling disease*

ABSTRACT: *PCR Detection of Myxobolus cerebralis in Chum Salmon (Oncorhynchus keta) and Goldfish (Carassius auratus) at the East Java Quarantine Station*

Myxobolus cerebralis is a Myxozoan pathogen that causes whirling disease in both farmed and wild salmonids. The pathogen has been designated as a notifiable fish disease that poses a significant threat to the global aquaculture industry. Early detection with high accuracy is critical for preventing the introduction and transmission of this disease in aquaculture systems in Indonesia. This study aimed to verify the accuracy of detection methods for *M.*

*Korespondensi: Balai Karantina Hewan Ikan dan Tumbuhan Jawa Timur,
Jalan Raya Ir. H. Juanda No.26, Semabung, Sidoarjo 61253, Jawa Timur, Indonesia
Email: fs1vithree@gmail.com

cerebralis using macroscopic, microscopic, and molecular approaches in two aquaculture commodities: imported frozen chum salmon (*Oncorhynchus keta*) fillets and cyst tissue from cultured goldfish (*Carassius auratus*). DNA was extracted from 15 muscle tissue samples of chum salmon fillets and cyst tissue of goldfish and then amplified using *M. cerebralis*-specific primers (Tr 5-16m and Tr 3-17). The results of electrophoresis showed that all samples (100%) were negative for *M. cerebralis*. The chum salmon fillets were free from lesions and target genetic materials. In goldfish, although microscopic examination confirmed the presence of *Myxobolus* spp. spores (average size $13.4 \pm 0.9 \mu\text{m} \times 9.6 \pm 0.6 \mu\text{m}$), the negative PCR results indicate that the infection was caused by other *Myxobolus* species, which are likely endemic. These findings indicate that the transmission risks of *M. cerebralis* through imported salmon fillet products are negligible and that cysts found in farmed goldfish are not caused by *M. cerebralis*. Nonetheless, this study highlights the importance of risk-based surveillance at quarantine entry points and early molecular detection of infectious pathogens as an integral part of the national aquaculture biosecurity system.

KEYWORDS: *Myxobolus cerebralis*; PCR; quarantine; whirling disease

PENDAHULUAN

Myxobolus cerebralis merupakan parasit Myxozoa penyebab *whirling disease* pada ikan salmonid dan telah ditetapkan sebagai penyakit wajib dilaporkan (*notifiable disease*) oleh Organisasi Kesehatan Hewan Dunia (Antonio *et al.*, 1998; WOA, 2023) akibat dampak ekonomi dan ekologis yang sangat merugikan. Patogen ini menimbulkan ancaman global bagi industri akuakultur salmonid, dengan wabah di berbagai negara menyebabkan kerugian ekonomi signifikan dan gangguan ekosistem (Hedrick *et al.*, 1998). Sejak pertama kali dilaporkan di Jerman pada tahun 1903, penyakit ini telah menyebar ke Amerika Utara, Amerika Selatan, Oseania, dan sebagian Asia, terutama didorong oleh lalu lintas perdagangan internasional ikan hidup, telur, dan produk perikanan yang terinfeksi (Avila *et al.*, 2025; Fontes *et al.*, 2015).

Sebagai negara pengimpor produk perikanan besar yang mengimpor lebih dari 16.000 ton ikan salmon dan *trout* pada tahun 2022, Indonesia telah mengambil langkah preventif dengan menetapkan *M. cerebralis* sebagai penyakit ikan karantina (PIK) melalui Keputusan Kepala Badan Karantina Indonesia Nomor 677 Tahun 2025 (Badan Karantina

Indonesia, 2025). Meskipun risiko penularan melalui produk *fillet* beku dianggap lebih rendah dibandingkan ikan hidup, potensi kontaminasi silang spora atau residu jaringan tulang rawan yang terinfeksi pada produk olahan tetap menjadi perhatian serius dalam sistem biosekuriti nasional. Sampai saat ini, belum ada data ilmiah di Indonesia yang mengkaji secara komprehensif risiko masuknya patogen ini melalui produk impor, padahal ancaman terhadap ketahanan pangan dan keberlanjutan akuakultur nasional bersifat nyata.

Di sisi lain, realitas di tingkat budidaya ikan hias lokal menghadirkan tantangan diagnostik yang kompleks. Ikan komet (*Carassius auratus*) yang termasuk famili Cyprinidae, yang bukan Salmonidae, merupakan ikan hias air tawar populer hasil budidaya intensif di Indonesia. Pembudidaya sering menjumpai kista putih makroskopis pada insang, kulit, atau sirip ikan yang secara lokal umumnya dikaitkan dengan infeksi berbagai spesies *Myxobolus* endemik (Yanuhar *et al.*, 2021). Keberadaan gejala klinis yang mirip menimbulkan kekhawatiran akan kemungkinan salah identifikasi, di mana infeksi endemik dikhawatirkan sebagai wabah *M. cerebralis* patogen asing yang dapat mengancam industri budidaya lokal.

Ketepatan dan kecepatan diagnosis

menjadi kunci dalam tindakan karantina yang efektif untuk melindungi sumber daya akuakultur nasional. Metode konvensional untuk mendeteksi *M. cerebralis* memiliki berbagai kelemahan mendasar, seperti sensitivitas rendah pada infeksi dini, hasil yang subjektif, dan kesulitan dalam membedakan *M. cerebralis* dari spesies *Myxobolus* lainnya yang secara morfologis serupa. Oleh karena itu, diagnostik molekuler, khususnya teknik *polymerase chain reaction* (PCR), muncul sebagai solusi presisi. Teknik PCR telah diakui sebagai *gold standard* untuk deteksi *M. cerebralis* karena mampu mendeteksi DNA patogen dengan spesifisitas dan sensitivitas yang sangat tinggi. Penggunaan primer spesifik pasangan Tr 5-16m/Tr 3-17 yang menargetkan sekuens unik pada gen 18S rRNA *M. cerebralis* memungkinkan amplifikasi DNA target secara akurat dan selektif (Ksepka *et al.*, 2021).

Berdasarkan urgensi tersebut, penelitian ini menjadi yang pertama di Indonesia yang dirancang untuk menganalisis risiko masuknya patogen penyakit ikan karantina melalui komoditas impor sekaligus mengonfirmasi status infeksi pada ikan hias hasil budidaya lokal. Penelitian ini memiliki dua tujuan utama yaitu: (1) menganalisis keberadaan DNA *M. cerebralis* pada sampel *fillet* ikan salmon chum (*Oncorhynchus keta*) impor yang dipilih secara acak dari komoditas yang masuk melalui Karantina Jawa Timur, dan (2) menganalisis keberadaan DNA yang sama pada ikan komet (*C. auratus*) hasil budidaya lokal yang menunjukkan gejala kista makroskopis. Analisis ini penting untuk memberikan bukti empiris pertama mengenai keamanan produk impor serta efektivitas sistem deteksi dini dan biosekuriti di pintu karantina.

Penelitian ini akan mengonfirmasi akurasi metode deteksi *M. cerebralis* pada *fillet* ikan salmon chum impor dan ikan komet budidaya lokal menggunakan tiga metode pemeriksaan, yaitu makroskopis, mikroskopis, dan analisis PCR konvensional. Pemeriksaan makroskopis dilakukan untuk mengamati keberadaan lesi atau kista pada kedua jenis sampel. Pemeriksaan

mikroskopis dilakukan untuk mengonfirmasi keberadaan spora *Myxobolus* spp. pada jaringan kista ikan komet. Selanjutnya, metode PCR dengan primer spesifik digunakan untuk mendeteksi DNA *M. cerebralis* secara molekuler guna memperoleh konfirmasi definitif ada tidaknya patogen tersebut. Hasil penelitian ini diharapkan dapat membedakan secara jelas antara infeksi parasit endemik dan patogen karantina, serta mendukung sistem deteksi dan biosekuriti berbasis risiko di pintu karantina.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Karantina Ikan Biologi Molekuler, Balai Karantina Hewan Ikan dan Tumbuhan Jawa Timur, Indonesia. Penelitian ini menggunakan desain observasional deskriptif dengan pendekatan laboratoris yang dilaksanakan pada bulan Januari hingga November 2025.

Desain Penelitian

Dalam penelitian ini, sampel dibagi ke dalam dua kelompok yang dianalisis secara paralel dengan metode deteksi yang dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan molekuler dengan teknik PCR konvensional. Kelompok A terdiri atas 15 sampel *fillet* ikan salmon chum beku ($\leq -18^{\circ}\text{C}$) yang diimpor dari Amerika Serikat, yang dipilih secara acak sederhana berdasarkan proporsi volume impor. Kelompok B terdiri atas 15 ekor ikan komet hidup dari hasil budidaya di Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia. Benih ikan komet ini merupakan ikan lokal yang berasal dari Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia. Sampel ikan komet yang dikoleksi menunjukkan gambaran kista secara makroskopis pada insang dan berukuran ≥ 2 mm. Kelompok ini mewakili perbedaan diagnosis pada komoditas akuakultur lokal, dengan gejala mirip dapat memicu *symptom* palsu terhadap penyakit ikan karantina.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian diawali dengan pemeriksaan makroskopis pada semua sampel ikan yang terdiri atas *fillet* ikan salmon dan ikan komet hasil budidaya. Pada *fillet* ikan salmon, parameter pengamatan meliputi ada tidaknya lesi, perubahan warna, atau tanda degradasi. Pada ikan komet yang berkista dari hasil budidaya, dilakukan pengukuran dimensi dan penjelasan morfologi kista makroskopis serta dokumentasi foto. Ikan komet kemudian dieutanasia menggunakan minyak cengkih (100 mg L^{-1}) sebelum pengambilan jaringan kista secara aseptik. Tahap selanjutnya adalah pemeriksaan mikroskopis khusus untuk ikan komet di mana kista dieksisi, dihancurkan, dan diamati di bawah mikroskop (Olympus CX41, Jepang) dengan perbesaran bertingkat ($40\text{--}1000\times$) untuk mengonfirmasi keberadaan dan mendokumentasikan morfologi spora *Myxobolus* spp. Sampel kemudian diawetkan dalam etanol 70% (Merck, Jerman) dan disimpan dalam *deep freezer* (Sanyo, Jepang) pada suhu -80°C sebelum menjalani proses ekstraksi DNA, amplifikasi PCR, elektroforesis, dan dokumentasi.

Ekstraksi DNA dilakukan secara terpisah pada dua jenis jaringan target dengan bobot pasangan basa yang telah ditetapkan untuk memastikan konsistensi. Dari setiap sampel *fillet* ikan salmon chum, diambil 20 mg jaringan yang berpotensi mengandung sisa tulang rawan secara aseptik. Untuk ikan komet, sampel diambil sebanyak 20 mg dari jaringan yang secara visual memiliki kista.

Ekstraksi genom DNA dilakukan menggunakan *silica extraction kit* (GeneReach Biotechnology, Taiwan) mengikuti protokol pabrikan. Sebanyak 20 mg jaringan sampel dihomogenisasi dalam $900 \mu\text{L}$ GT Buffer (GeneReach Biotechnology, Taiwan). Homogenat kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 3 menit. Supernatan sebanyak $600 \mu\text{L}$ dipindahkan ke tabung baru yang berisi $40 \mu\text{L}$ silika (1 g mL^{-1}), kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex* (IKA, Jerman) dan disentrifugasi dengan

kecepatan 12.000 rpm selama 15 detik. Pelet silika yang terbentuk dicuci berturut-turut dengan $500 \mu\text{L}$ GT Buffer dan 1 mL etanol 70%, masing-masing dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex* dan disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 detik. Selanjutnya, pelet dilusi dengan $400 \mu\text{L}$ DEPC-treated ddH₂O dan diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Setelah disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 2 menit, supernatan yang mengandung DNA dipindahkan ke tabung baru sebanyak $200 \mu\text{L}$ sebagai produk akhir DNA

Pengamatan kualitas dan kuantitas DNA diukur menggunakan spektrofotometer (BioDrop, Inggris). Parameter yang diperiksa meliputi konsentrasi DNA ($\text{ng } \mu\text{L}^{-1}$), rasio kemurnian A260/A280 (target 1,8–2,0), dan A260/A230 (target $> 2,0$). Hanya ekstrak DNA yang memenuhi kriteria tersebut yang dilanjutkan ke tahap amplifikasi PCR.

Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan sepasang primer spesifik *M. cerebralis*, yaitu *forward* Tr 5-16m (5'-GCA TTG GTT TAC GCT GAT GTA GC-3') dan *reverse* Tr 3-17 (5'-GGC ACA CTA CTC CAA CAC TGA ATT TG-3') yang menargetkan gen 18S rRNA dengan ukuran produk yang diharapkan 415 bp. Komposisi campuran reaksi PCR disiapkan dalam volume total $25 \mu\text{L}$ yang terdiri atas $12,5 \mu\text{L}$ *master mix* $2\times$, $0,5 \mu\text{M}$ masing-masing primer (Tr 5-16m dan Tr 3-17), $2 \mu\text{L}$ *template* DNA ($50 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$), dan *nuclease-free water* hingga volume akhir.

Program amplifikasi PCR pada *thermal cycler* (Applied Biosystems, Amerika Serikat) meliputi denaturasi awal pada 95°C selama 5 menit, dilanjutkan dengan 35 siklus amplifikasi (denaturasi 95°C selama 30 detik, *annealing* 67°C selama 30 detik, dan elongasi 72°C selama 45 detik) serta elongasi akhir pada 72°C selama 7 menit. Setiap *batch* reaksi selalu menyertakan kontrol positif (DNA *M. cerebralis* referensi) dan kontrol negatif (*nuclease free water*) untuk memastikan validitas proses amplifikasi.

Produk PCR divisualisasikan dengan elektroforesis pada *gel* agarosa 1,5% yang diwarnai GelRed (100 V, 45 menit). Hasil dinyatakan positif jika terlihat pita spesifik pada ukuran 415 bp di bawah sinar UV. Data

dianalisis secara deskriptif kuantitatif (jumlah dan persentase sampel positif atau negatif) dan kualitatif (karakteristik morfologi serta interpretasi elektroforesis).

HASIL DAN BAHASAN

Penelitian ini menganalisis dua kelompok sampel akuakultur menggunakan metode pengujian bertingkat yaitu makroskopis, mikroskopis, dan PCR konvensional. Hasil pemeriksaan terhadap seluruh sampel menunjukkan pola yang sangat konsisten dan memberikan gambaran epidemiologis serta implikasi kebijakan yang jelas.

Hasil pemeriksaan makroskopis pada kedua kelompok sampel menunjukkan perbedaan yang jelas sesuai dengan asal dan jenis produknya. Pada *fillet* ikan salmon semua *fillet* memiliki warna khas dari ikan salmon (oranye sampai merah muda) yang seragam, tekstur *firm*, dan elastis saat ditekan, permukaan lembab tetapi tidak berlendir, serta aroma khas ikan salmon yang segar tanpa bau tengik atau busuk. Karakteristik lainnya dari sampel ikan salmon chum impor pada penelitian ini yaitu tidak menunjukkan adanya lesi, nodul, atau perubahan penampakan yang

mencurigakan. Temuan ini konsisten dengan karakteristik produk olahan hasil budidaya dari sistem produksi yang menerapkan standar keamanan pangan tinggi (Bartholomew & Reno, 2002). Sebaliknya, pada 15 ekor ikan komet hidup hasil budidaya di Tulungagung, semuanya menunjukkan keberadaan kista makroskopis pada filamen insang. Kista berwarna putih hingga kekuningan, berbentuk bulat atau oval, dengan diameter 2–10 mm dan jumlah rata-rata dua kista per ikan. Meskipun, membawa kista, ikan tetap aktif dan responsif, tanpa menunjukkan gejala klinis berupa gerakan *whirling* (berenang berputar), deformitas tulang belakang, atau gangguan neurologis lainnya yang menjadi patognomonik untuk *whirling disease* (Akram *et al.*, 2023; Sarker *et al.*, 2015). Penampakan kista makroskopis dari sampel ikan komet pada penelitian ini tersaji pada Gambar 1.

Pemeriksaan mikroskopis hanya dilakukan pada seluruh ikan komet lokal berkista ($n = 15$) yang menunjukkan adanya kista yang jelas pada filamen insang. Pemeriksaan mikroskopis mengonfirmasi keberadaan spora *Myxobolus* spp. Morfologi spora yang diamati berbentuk oval hingga eliptik dengan dua kapsul polar di anterior dan ukuran rata-rata $13,4 \times 9,6 \mu\text{m}$ sesuai dengan deskripsi umum untuk genus



Gambar 1. Performansi kista pada insang ikan komet hasil budidaya asal Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia, yang ditemukan melalui pengamatan makroskopis. a dan d. Kista *multiple*; b, c, dan e. Kista tunggal

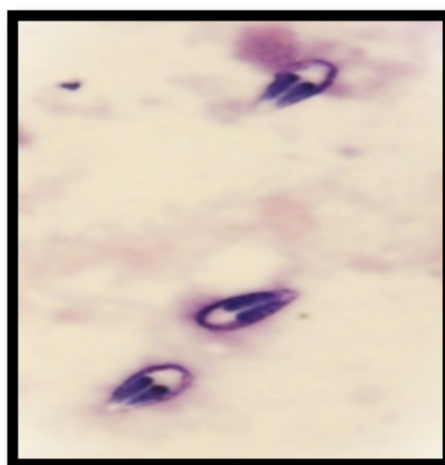
Figure 1. Macroscopic performance of cysts on the gills of farmed goldfish from Tulungagung, East Java, Indonesia. a and d. Multiple cysts; b, c, and e. Single cyst

Myxobolus serta konsisten dengan karakteristik yang dilaporkan pada infeksi *Myxobolus* spp. pada ikan karper dan ikan hias Cyprinidae di Asia (Wu *et al.*, 2019; Yanuhar *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2010). Berikut adalah morfologi spora *Myxobolus* spp (Gambar 2) yang telah diamati pada mikroskop trinokuler dengan perbesaran 400×.

Namun, karakteristik tersebut berbeda secara signifikan dari *M. cerebralis*, yang memiliki spora berukuran lebih kecil ($\approx 8-10 \mu\text{m}$) dengan morfologi yang khas (Bartholomew & Hallet, 2013; Sarker *et al.*, 2015; Skirpstunas *et al.*, 2006). Dengan demikian, parasit yang diisolasi dari ikan komet di Jawa Timur kemungkinan besar merupakan spesies *Myxobolus* lain yang secara alami menginfeksi ikan famili Cyprinidae dan telah dilaporkan sebagai bagian dari fauna parasit lokal di Indonesia (Yanuhar *et al.*, 2021). Beberapa spesies *Myxobolus* telah dilaporkan menginfeksi ikan famili Cyprinidae di Indonesia dan kawasan Asia. *M. koi* misalnya, telah diidentifikasi menginfeksi ikan koi (*Cyprinus carpio*) di Blitar, Jawa Timur, dengan ukuran spora $12,82 \pm 0,75 \mu\text{m} \times 7,09 \pm 0,84 \mu\text{m}$ (Nurekawati *et al.*, 2016; Priyono *et al.*, 2013). Sementara itu, *M. cultus* diketahui menginfeksi ikan mas koki dan pertama kali dideskripsikan di Jepang dengan siklus hidup melibatkan oligochaeta *Branchiura sowerbyi* sebagai

inang perantara (Yokoyama *et al.*, 2012). Spesies lainnya seperti *M. wulii* juga telah dilaporkan menginfeksi ikan mas koki pada otot dorsolateral dan hepatopankreas (Wang *et al.*, 2024; Zhang *et al.*, 2010). Di berbagai wilayah Indonesia, infeksi *Myxobolus* spp. pada ikan famili Cyprinidae telah terdokumentasi di Jawa Timur dan Jawa Tengah (Handayani *et al.*, 2014; Humaira, 2025), dengan ukuran spora pada ikan komet umumnya 1-2 μm lebih panjang dibandingkan *M. cerebralis*, namun secara morfometri tidak menunjukkan perbedaan signifikan antarwilayah (Handayani *et al.*, 2014). Identifikasi definitif hingga tingkat spesies dari parasit yang ditemukan pada penelitian ini memerlukan analisis lebih lanjut menggunakan sekuensing DNA, misalnya dengan menggunakan primer universal ERIB1 dan ERIB10 yang menargetkan gen 18S rRNA (Barta *et al.*, 1997), untuk memastikan posisi taksonominya dalam genus *Myxobolus*. Infeksi oleh spesies-spesies ini umumnya tidak menyebabkan *whirling disease*. Identifikasi definitif hingga tingkat spesies tetap memerlukan konfirmasi molekuler, sesuai standar taksonomi Myxozoa terkini (Atkinson *et al.*, 2018).

Pengujian berikutnya menggunakan metode PCR yang dilakukan pada kedua jenis sampel. Hasil ekstraksi DNA mengonfirmasi



Gambar 2. Morfologi spora *Myxobolus* spp. yang ditemukan pada ikan komet hasil budidaya asal Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia

Figure 2. Spore morphology of *Myxobolus* spp. found in farmed goldfish derived from Tulungagung, East Java, Indonesia

bahwa seluruh sampel dari kedua kelompok ikan baik *fillet* ikan salmon impor (Kelompok A) maupun jaringan ikan komet lokal (Kelompok B) memiliki kualitas yang memadai untuk analisis PCR. Pada Kelompok A, konsentrasi DNA rata-rata tercatat sebesar 88,7 ng μL^{-1} dengan rasio kemurnian A260/A280 sebesar 1,89 dan A260/A230 sebesar 2,18, yang mengindikasikan kontaminasi protein dan senyawa organik yang sangat minimal. Sementara itu, Kelompok B menunjukkan konsentrasi DNA rata-rata yang sedikit lebih rendah, yaitu 79,4 ng μL^{-1} , dengan rasio kemurnian yang tetap optimal (A260/A280: 1,91; A260/A230: 2,15). Perbedaan konsentrasi ini diduga disebabkan oleh tingginya kandungan bahan non-DNA dalam jaringan kista yang menjadi sampel. Secara keseluruhan, semua sampel dinyatakan murni, bebas kontaminan signifikan, dan layak untuk diproses dalam tahap amplifikasi PCR berikutnya. Hasil PCR menunjukkan bahwa

seluruh sampel ($n = 30$) (100%) memberikan hasil negatif pada analisis PCR dengan primer spesifik *Tr* untuk *M. cerebralis*. Tidak ada satupun sampel yang menunjukkan pita spesifik pada posisi 415 bp yang terdeteksi, baik pada sampel *fillet* ikan salmon maupun jaringan kista ikan komet (Gambar 3), sementara kontrol positif menunjukkan amplifikasi yang optimal. Kontras antara hasil negatif pada sampel dan hasil positif pada kontrol mengonfirmasi validitas prosedur PCR yang digunakan.

Analisis hasil pengujian pada kedua kelompok sampel yang terdiri atas *fillet* ikan salmon dan ikan komet (Tabel 1) merangkum dan mengungkapkan dua pola hasil yang berbeda secara signifikan. Pada kelompok *fillet* ikan salmon chum beku impor, seluruh sampel memberikan hasil negatif baik secara makroskopis maupun melalui uji molekuler menggunakan PCR dengan primer spesifik. Hal ini mengindikasikan tidak adanya

Tabel 1. Hasil pengujian *M. cerebralis* pada sampel *fillet* ikan salmon dan ikan komet dengan metode makroskopis, mikroskopis, dan *polymerase chain reaction*

Table 1. Results for *M. cerebralis* detection on salmon *fillet* and goldfish samples examined through macroscopic, microscopic, dan *polymerase chain reaction* methods

Media pembawa Carrier agent	Hasil pemeriksaan makroskopis (kista/lesi/nodul) Results for macroscopic examination (cysts/lessions/ nodules)	Hasil pemeriksaan mikroskopis (<i>Myxobolus</i> spp.) Results for microscopic examination (<i>Myxobolus</i> spp.)	Hasil metode PCR spesifik (<i>M. cerebralis</i>) Results for specific PCR method (<i>M. cerebralis</i>)
<i>Fillet</i> ikan salmon chum beku (Amerika Serikat) <i>Frozen chum salmon (United States of America)</i>	Negatif (0%) <i>Negative (0%)</i>	Tidak dilakukan <i>Not examined</i>	Negatif (0%) <i>Negative (0%)</i>
Ikan komet hasil budidaya (Tulungagung) <i>Farmed goldfish (Tulungagung)</i>	Positif (100%) <i>Positive (100%)</i>	Positif (100%) <i>Positive (100%)</i>	Negatif (0%) <i>Negative (0%)</i>
Kontrol positif <i>Positive control</i>	-	-	Positif <i>Positive</i>
Kontrol negatif <i>Negative control</i>	-	-	Negatif <i>Negative</i>
$n = 30$			

Keterangan: n = jumlah sampel.

Note: n = Number of samples.

kontaminasi *M. cerebralis* pada produk olahan yang diperiksa. Sebaliknya, pada kelompok ikan komet hidup dari budidaya lokal, seluruh sampel positif mengandung kista secara makroskopis dan spora *Myxobolus* spp. secara mikroskopis, namun hasil uji PCR spesifik untuk *M. cerebralis* adalah negatif 100%. Kondisi yang kontras ini membuktikan secara definitif bahwa infeksi pada ikan komet diduga disebabkan oleh spesies *Myxobolus* lainnya yang merupakan bagian dari fauna parasit endemik pada ikan Cyprinidae, bukan oleh patogen penyakit ikan karantina *M. cerebralis*.

Ketidaksesuaian 0% antara hasil mikroskopis (positif *Myxobolus* spp.) dan PCR (negatif *M. cerebralis*) ini justru membuktikan spesifisitas tinggi dari diagnostik molekuler. Primer yang digunakan telah dirancang untuk menargetkan sekuens unik pada gen 18S rRNA *M. cerebralis* dan tidak mengamplifikasi sekuens DNA dari spesies *Myxobolus* lainnya (Ksepka *et al.*, 2021).

Validasi Spesifisitas Pengujian Molekuler

Analisis tingkat kesesuaian antarmetode pengujian mengungkapkan dua pola yang jelas yaitu terdapat kesesuaian sempurna (100%) antara hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Semua sampel ikan komet yang positif berkista secara visual juga terbukti mengandung spora *Myxobolus* spp. di bawah mikroskop. Hal ini mengonfirmasi bahwa kedua metode tersebut konsisten dan dapat saling memperkuat sebagai alat skrining awal untuk mendeteksi infeksi *Myxobolus* secara umum. Ketidaksesuaian total (0%) antara hasil mikroskopis dan pengujian PCR, seperti yang disajikan dalam Tabel 2, justru menegaskan spesifisitas tinggi dari uji molekuler. Primer yang digunakan dirancang secara spesifik untuk sekuens unik *M. cerebralis* dan tidak mengamplifikasi sekuens DNA spesies lain. Dengan demikian, data pada Tabel 2 mengonfirmasi bahwa validitas dan spesifisitas metode PCR yang digunakan dalam membedakan patogen penyakit ikan

karantina dari parasit sejenis yang morfologis serupa. Untuk memahami reliabilitas dan spesifisitas masing-masing metode, dianalisis tingkat kesesuaian hasil antarmetode tersebut. Dengan demikian, analisis ini menegaskan sinergi antara metode skrining (makroskopis atau mikroskopis) dan metode konfirmasi molekuler (PCR). Analisis lebih lanjut mengenai kesesuaian hasil ketiga metode pada ikan komet disajikan dalam Tabel 2.

Risiko Introduksi *M. cerebralis* melalui Produk Olahan Impor

Hasil negatif 100% pada *fillet* ikan salmon chum impor dari Amerika Serikat merupakan data penting yang pertama kali dilaporkan di Indonesia. Hasil ini mengindikasikan bahwa risiko introduksi *M. cerebralis* melalui produk *fillet* ikan salmon chum impor yang beredar di pasar Indonesia melalui pintu masuk Karantina Jawa Timur sangat rendah. Rendahnya risiko ini didukung oleh beberapa faktor yaitu (1) penerapan sistem kesehatan ikan dan sertifikasi kesehatan yang ketat di negara pengekspor (misalnya Amerika Serikat dan Kanada), (2) proses pengolahan *fillet* yang secara efektif membuang lebih dari 99% jaringan pembawa spora (terutama tulang rawan kepala dan tulang belakang), dan (3) efek inaktivasi spora selama penyimpanan beku jangka panjang dalam rantai distribusi (Bartholomew & Reno, 2002).

Oleh karena itu, data yang diperoleh memberikan landasan ilmiah yang kuat untuk mengoptimalkan pendekatan pencegahan melalui karantina yang berbasis risiko. Hasil penelitian ini memungkinkan alokasi sumber daya karantina yang lebih efisien, dengan memusatkan pengawasan pada komoditas berisiko tinggi seperti ikan hidup, telur ikan atau produk mengandung tulang rawan, sehingga efektivitas perlindungan biosekuriti nasional tetap terkendali

Konfirmasi Infeksi *Myxobolus* spp. non-*M. cerebralis* pada Ikan Komet (Hasil Budidaya)

Tabel 2. Analisis kesesuaian hasil pengujian untuk mendeteksi keberadaan *M. cerebralis* pada ikan komet hasil budidaya asal Tulungagung, Jawa Timur, Indonesia ($n = 15$)

Table 2. Concordance analysis of test results to detect the presence of *M. cerebralis* in farmed goldfish derived from Tulungagung ($n = 15$)

Perbandingan metode <i>Comparison of methods</i>	Hasil sama <i>Same results</i>	Hasil berbeda <i>Different results</i>	Tingkat kesesuaian <i>Concordance level</i>	Interpretasi <i>Interpretation</i>
Makroskopis vs Mikroskopis <i>Macroscopic vs microscopic methods</i>	15	0	100%	Metode skrining konsisten mengidentifikasi kista atau spora <i>Screening methods were consistent to identify cysts or spores</i>
Mikroskopis vs PCR <i>Microscopic vs PCR methods</i>	0	15	0%	PCR berhasil membedakan <i>M. cerebralis</i> dari <i>Myxobolus</i> spp. lainnya <i>PCR succeed to distinguish M. cerebralis from other Myxobolus spp. species</i>

Tabel 3. Perbandingan karakteristik *M. cerebralis* dan *Myxobolus* spp.

Table 3. Comparison of characteristics between *M. cerebralis* and *Myxobolus* spp.

Karakteristik <i>Characteristics</i>	<i>M. cerebralis</i>	<i>Myxobolus</i> spp.
Inang utama <i>Main hosts</i>	Salmonidae (ikan salmon dan trout) <i>Salmonidae (salmon and trout)</i>	Cyprinidae (ikan mas, ikan komet, dan ikan karper) <i>Cyprinidae (common carp, goldfish, and carp)</i>
Lokasi infeksi <i>Target organs</i>	Tulang rawan kepala dan tulang belakang <i>Cartilage and spine</i>	Insang, kulit, dan sirip <i>Gills, skin, and fins</i>
Gejala klinis <i>Clinical signs</i>	Whirling, deformitas tulang, dan ekor hitam <i>Whirling, spinal deformities, and dark caudal fin</i>	Kista putih pada insang, umumnya tanpa gejala neurologis <i>White cysts on gills, commonly without neurological symptoms</i>
Ukuran spora <i>Spore size</i>	8-10 μm	13,4 \pm 0,9 μm \times 9,6 \pm 0,6 μm
Bentuk spora <i>Spore form</i>	Oval hingga bulat <i>Oval to circular</i>	Oval hingga ellipsoidal <i>Oval to ellipsoidal</i>
Hasil PCR primer spesifik <i>M. cerebralis</i> <i>Results of specific primer PCR of M. cerebralis</i>	Positif (teramplifikasi pada 415 bp) <i>Positive (amplified at 415 bp)</i>	Negatif (tidak teramplifikasi) <i>Negative (not amplified)</i>
Status di Indonesia <i>Status in Indonesia</i>	Patogen karantina, belum dilaporkan <i>Quarantine pathogens, not reported yet</i>	Endemik, umum ditemukan <i>Endemic, commonly found</i>

Ketidaksesuaian antara hasil mikroskopis (positif *Myxobolus* spp.) dan analisis PCR (negatif *M. cerebralis*) justru menjadi bukti definitif yang memiliki implikasi nyata, khususnya bagi budidaya ikan komet di Tulungagung. Hasil ini secara tegas mengonfirmasi bahwa kista yang umum dijumpai pada ikan komet setempat disebabkan oleh spesies *Myxobolus* spp. yang bersifat endemik, dan sama sekali bukan infeksi patogen penyakit ikan karantina *M. cerebralis*. Konfirmasi ini sejalan dengan spesifisitas inang *M. cerebralis* yang terutama menginfeksi Salmonidae dan jarang dilaporkan menginfeksi Cyprinidae seperti ikan komet (Hedrick *et al.*, 1998). Perbandingan karakteristik *M. cerebralis* dan *Myxobolus* spp. tertera pada Tabel 3.

Hasil riset ini menegaskan urgensi integrasi diagnostik molekuler (menggunakan PCR) ke dalam sistem surveilans penyakit ikan karantina. Secara metodologis, penelitian ini juga mengonfirmasi bahwa metode diagnostik molekuler dengan menggunakan primer spesifik (PCR) merupakan alat konfirmasi akhir yang penting dalam surveilans penyakit ikan, memastikan respons yang tepat dan berbasis bukti. Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1, metode makroskopis dan mikroskopis, meski berharga sebagai skrining awal, memiliki keterbatasan dalam identifikasi hingga tingkat spesies. PCR terbukti mampu membedakan dengan tegas antara patogen penyakit ikan karantina berbahaya dan parasit endemik yang mirip secara morfologi.

KESIMPULAN

Metode pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan hasil yang sesuai, yaitu seluruh ikan komet positif mengandung kista dan spora *Myxobolus* spp., sedangkan *fillet* ikan salmon impor negatif lesi. Sementara, hasil pengamatan dengan analisis PCR menggunakan primer spesifik *M. cerebralis* menunjukkan bahwa seluruh sampel (100%) negatif. Hal ini mengonfirmasi bahwa infeksi pada ikan komet disebabkan oleh spesies *Myxobolus* non-*cebralis* yang

bersifat endemik, bukan patogen karantina *M. cerebralis*, sekaligus menegaskan bahwa risiko introduksi patogen tersebut melalui produk impor sangat rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Balai Karantina Hewan Ikan dan Tumbuhan Jawa Timur atas fasilitas penelitian, serta Badan Karantina Indonesia atas dukungan pendidikan. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada para pembimbing dan tim teknis laboratorium atas bimbingan serta bantuan selama penelitian.

KONTRIBUSI PENULIS

FS: konseptualisasi, metodologi, investigasi, kurasi data, penulisan naskah awal, dan visualisasi. AK: analisis formal, validasi, penulisan ulasan, dan penyuntingan. S: analisis formal, penulisan ulasan, penyuntingan, dan administrasi. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi akhir naskah.

PERNYATAAN KONFLIK KEPENTINGAN DAN PENGGUNAAN ARTIFICIAL INTELLIGENCE (AI)

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

DAFTAR ACUAN

- Akram, N., El-Matbouli, M., & Saleh, M. (2023). The immune response to the myxozoan parasite *Myxobolus cerebralis* in salmonids: A review on whirling disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24), 17392. <https://doi.org/10.3390/ijms242417392>
- Antonio, D. B., Andree, K. B., McDowell, T. S., & Hedrick, R. P. (1998). Detection of *Myxobolus cerebralis* in rainbow trout and oligochaete tissues by using a nonradioactive in situ hybridization (ISH) protocol. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10(4), 338-347. <https://doi.org/10.1577/1548->

- 8667(1998)010<0338:DOMCIR>2.0.CO;2
- Atkinson, S. D., Bartholomew, J. L., & Lotan, T. (2018). Myxozoans: Ancient metazoan parasites find a home in phylum Cnidaria. *Zoology*, 129, 66–68. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2018.06.005>
- Avila, B. W., Fetherman, E. R., Winkelman, D. L., & Baerwald, M. R. (2025). Genetics of wild, whirling disease resistant rainbow trout populations in Colorado. *Frontiers in Freshwater Science*, 3, 1500903. <https://doi.org/10.3389/ffwsc.2025.1500903>
- Badan Karantina Indonesia. (2025). *Keputusan Kepala Badan Karantina Indonesia Nomor 677 Tahun 2025 tentang Penetapan Penyakit Ikan Karantina*. Badan Karantina Indonesia.
- Barta, J. R., Martin, D. S., Liberator, P. A., Dashkevich, M., Anderson, J. W., Feighner, S. D., Elbrecht, A., Perkins-Barrow, A., Jenkins, M. C., Danforth, H. D., Ruff, M. D., & Profous-Juchelka, H. (1997). Phylogenetic relationships among eight *Eimeria* species infecting domestic fowl inferred using complete small subunit ribosomal DNA sequences. *Journal of Parasitology*, 83(2), 262–271. <https://doi.org/10.2307/3284453>
- Bartholomew, J., & Hallett, S. (2013). *Myxobolus cerebralis (whirling disease agent)*. CABI Compendium.
- Bartholomew, J. L., & Reno, P. W. (2002). The history and dissemination of whirling disease. In J. L. Bartholomew, & J. C. Wilson (Eds.), *Whirling disease: Reviews and current topics*. American Fisheries Society. <https://doi.org/10.47886/9781888569377.ch1>
- Fontes, I., Hallett, S. L., & Mo, T. A. (2015). Comparative epidemiology of myxozoan diseases. In B. Okamura, A. Gruhl, & J. L. Bartholomew (Eds.), *Myxozoan evolution, ecology and development* (pp. 317–341). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14753-6_17
- Handayani, R., Adiputra, Y. T., & Wardiyanto. (2014). Identifikasi dan keragaman parasit pada ikan maskoki (*Carassius auratus*) dan ikan mas (*Cyprinus carpio*) yang berasal dari Lampung dan luar Lampung. *Aquasains: Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan*, 2(2), 149-156.
- Hedrick, R. P., Adkison, M. A., El-Matbouli, M., & MacConnell, E. (1998). Whirling disease: re-emergence among wild trout. *Immunological Reviews*, 166(1), 365-376. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01276.x>
- Humaira, W. H. (2025). *Eksplorasi parasit pada ikan mas koki (Carassius auratus) dari penjual ikan local di Bogor* [Skripsi]. IPB University.
- Ksepka, S. P., Rash, J. M., Cai, W., & Bullard, S. A. (2021). Detection of *Myxobolus cerebralis* (Bivalvulida: Myxobolidae) in two non-*Tubifex tubifex* oligochaetes in the southeastern USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 143, 51–56. <https://doi.org/10.3354/dao03554>
- Nurekawati, A. D., Mahasri, G., & Yunus, M. (2016). Identifikasi *Myxobolus* sp. pada Famili Cyprinidae dengan metode molekuler di Provinsi Jawa Timur dan Jawa Tengah. *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 18(2), 172–185.
- Priyono, A., Kurniasih, Widayanti, R., & Nurekawati, A. D. (2013). Identification species of *Myxobolus* from gill of *Cyprinus carpio* in East Java. *Jurnal Veteriner*, 14(1), 31–36.
- Sarker, S., Kallert, D. M., Hedrick, R. P., & El-Matbouli, M. (2015). Whirling disease revisited: pathogenesis, parasite biology and disease interventions. *Diseases of Aquatic Organisms*, 114, 155-175. <https://doi.org/10.3354/dao>
- Skirpstunas, R. T., Hergert, J. M., & Baldwin, T. J. (2006). Detection of early stages of *Myxobolus cerebralis* in fin clips from rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18(3), 370–374. <https://doi.org/10.1177/104063870601800308>

- Wang, X., Cao, H., Wang, S., Lü, X., Wang, J., Zhang, W., Wang, P., & Xu, L. (2024). Morphological characteristic and molecular identification of *Myxobolus wulii* found in dorsolateral muscle and hepatopancreas of diseased goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Fisheries Research*, 46(1), 85–91. <https://doi.org/10.14012/j.cnki.fjsc.2024.01.009>
- WOAH. (2023). *Manual of diagnostic tests for aquatic animals*. World Organisation for Animal Health.
- Wu, W., Wang, Q. S., & Sato, H., & Zhang, J. Y. (2019). Morphological and molecular characterization of the muscle-infecting myxosporean *Myxobolus xinyangensis* sp. nov. from *Abbottina rivularis* in China. *Diseases of Aquatic Organisms*, 132, 171-179. <https://doi.org/10.3354/dao03317>
- Yanuhar, U., Hardiono, S. A., Junirahma, N. S., & Caesar, N. R. (2021). Profile of *Myxobolus* infection in koi fish (*Cyprinus carpio*) gill tissue from Land Pond, Nglegok, Blitar Regency. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 674, 012016. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/674/1/012016>
- Yokoyama, H., Grabner, D., & Shirakashi, S. (2012). Transmission biology of the Myxozoa. In Carvalho, E. D., David, G. S., & Silva, R. J. (Eds.), *Health and environment in aquaculture*. Intech. <https://doi.org/10.5772/29571>
- Zhang, J. Y., Yokoyama, H., Wang, J. G., Li, A. H., Gong, X. N., Ryu-Hasegawa, A., Iwashita, M., & Ogawa, K. (2010). Utilization of tissue habitats by *Myxobolus wulii* Landsberg & Lom, 1991 in different carp hosts and disease resistance in allogynogenetic gibel carp: redescription of *M. wulii* from China and Japan. *Journal of Fish Diseases*, 33(1), 57–68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01102.x>