

**KORELASI ANTARA TINGKAH LAKU, MAKROPATOLOGI
DAN HISTOPATOLOGI PADA IKAN KAKAP PUTIH
(*Lates calcarifer*) YANG TERINFEKSI VIRUS
Viral Nervous Necrosis (VNN)**

SKRIPSI

Diajukan Oleh :

**DESY NURRAHMA DHANI
NIM. 160703060
Mahasiswa Program Studi Biologi**



**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI AR-RANIRY
DARUSSALAM-BANDA ACEH
2022/1443 H**

LEMBAR PENGESAHAN
KORELASI ANTARA TINGKAH LAKU, MAKROPATOLOGI
DAN HISTOPATOLOGI PADA IKAN KAKAP PUTIH
(*Lates calcarifer*) YANG TERINFEKSI VIRUS
Viral Nervous Necrosis (VNN)

SKRIPSI

Diajukan Kepada Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Ar-Raniry Banda Aceh
Sebagai Beban Studi untuk Memperoleh Gelar Sarjana (S-1)
dalam Ilmu Biologi

Oleh :
Desy Nurrahma Dhani
NIM. 160703060
Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi
Program Studi Biologi

Disetujui Untuk Dimunafasyahkan Oleh :

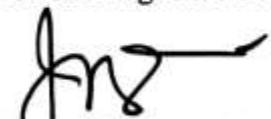
Pembimbing I


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 201906861

Pembimbing II


Ilham Zulfahmi, M. Si
NIDN. 1316078801

Mengetahui,
Ketua Program Studi


Muslich Hidayat, M. Si
NIDN. 2002037902

LEMBAR PENGESAHAN
KORELASI ANTARA TINGKAH LAKU, MAKROPATOLOGI
DAN HISTOPATOLOGI PADA IKAN KAKAP PUTIH
(*Lates calcarifer*) YANG TERINFEKSI VIRUS
Viral Nervous Necrosis (VNN)

SKRIPSI

Telah diuji Oleh Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry dan Dinyatakan Lulus
Serta diterima sebagai Salah Satu Beban Studi Program Sarjana (S-1)
dalam Ilmu Biologi

Pada Hari/ Tanggal : Sabtu, 21 Agustus 2021
12 Muharram 1443 H
di Darussalam, Banda Aceh

Panitia Ujian Munaqasyah Skripsi :

Ketua,


Arif Sardi, M.Si
NIDN. 201906861

Sekretaris,


Itham Zulfahmi, M. Si
NIDN. 1316078801

Penguji I,


Ayu Nirmala Sari, M. Si
NIDN. 2027028901

Penguji II,


Syafrina Sari Lubis, M. Si
NIDN. 2025048003

Mengetahui:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh,



Dr. Azhar Amsal, M. Pd
NIDN. 2001066802

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/ SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desy Nurrahma Dhani
NIM : 160703060
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Skripsi : Korelasi Antara Tingkah Laku, Makropatologi
Dan Histopatologi Pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)
Yang Terinfeksi Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN).

Dengan ini menyatakan bahwa dalam penulisan skripsi ini, saya:

1. Tidak menggunakan ide orang lain tanpa mampu mengembangkan dan mempertanggung jawabkan ;
2. Tidak melakukan plagiasi terhadap naskah orang lain;
3. Tidak menggunakan karya orang lain tanpa menyebutkan sumber asli atau tanpa izin pemilik karya;
4. Tidak memanipulasi dan memalsukan data;
5. Mengerjakan sendiri karya ini dan mampu bertanggung jawab atas karya ini.

Bila dikemudian hari ada tuntutan dari pihak lain atas karya saya dan telah melalui pembuktian yang dapat dipertanggungjawabkan dan ternyata memang ditemukan bukti bahwa saya telah melanggar pernyataan ini, maka saya siap dikenai sanksi berdasarkan aturan yang berlaku di Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan tanpa paksaan dari pihak manapun.

Banda Aceh, 23 Juli 2021

Yang Menyatakan,



(Desy Nurrahma Dhani)

ABSTRAK

Nama : Desy Nurrahma Dhani
NIM : 160703060
Program studi : Biologi
Judul : Korelasi Antara Tingkah Laku, Makropatologi Dan Histopatologi Pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) Yang Terinfeksi Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN).
Tanggal sidang : 21 Agustus 2021
Tebal skripsi : 59 Halaman
Pembimbing I : Arif Sardi, M.Si
Pembimbing II : Ilham Zulfahmi, M.Si
Kata kunci : Tingkah Laku, Makropatologi, Histopatologi, Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*), *Viral nervous necrosis*.

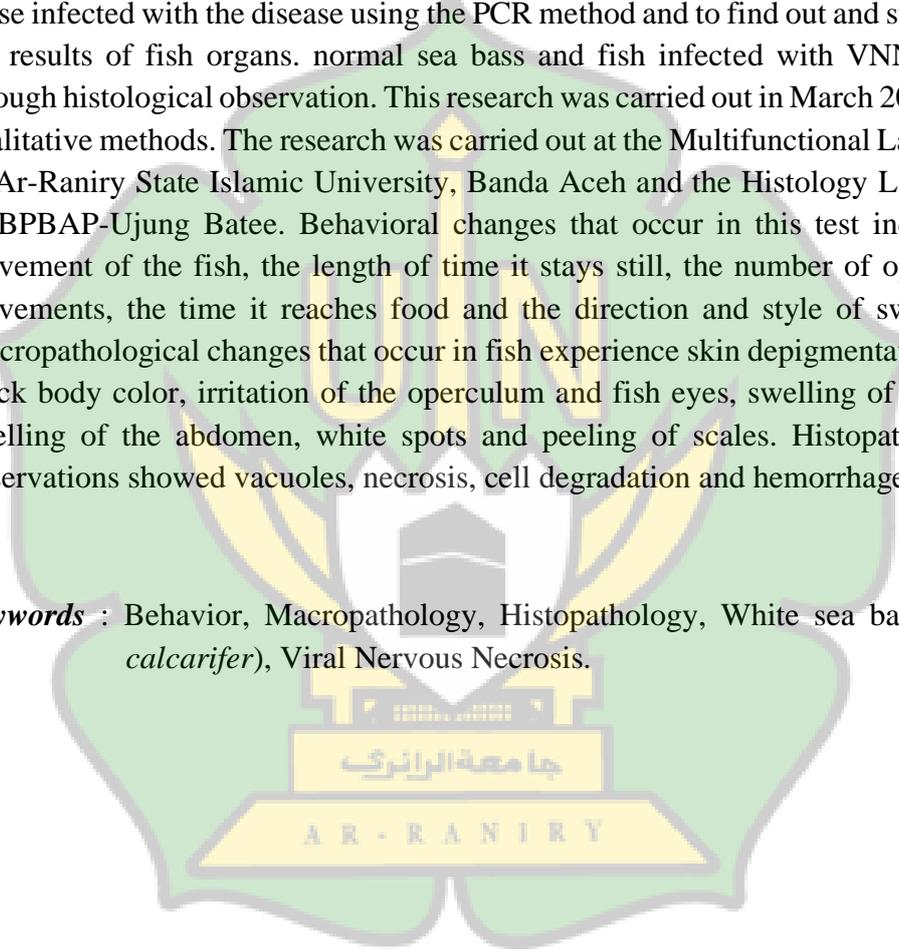
Ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu komoditas ikan unggulan Indonesia. Meningkatnya upaya intensifikasi budidaya ikan kakap putih yang disertai dengan penurunan kualitas perairan menyebabkan ikan tersebut rentan terkena penyakit, salah satunya adalah infeksi virus. Salah satu jenis infeksi virus pada kakap putih yaitu *Viral nervous necrosis*. Infeksi virus VNN pada ikan kakap putih mengakibatkan mortalitas kematian mencapai 100%. Tujuan penelitian ini dilakukan ialah untuk melihat dan mengetahui pola tingkah laku dan makropatologi ikan kakap putih normal dan ikan yang telah terinfeksi penyakit VNN, untuk memperkuat hasil validasi perbandingan ikan kakap putih normal dan yang terinfeksi penyakit melalui metode PCR dan untuk mengetahui dan memperkuat hasil organ ikan kakap putih normal dan ikan yang terinfeksi penyakit VNN melalui pengamatan histologi. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2021 dengan menggunakan metode secara kualitatif. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Multifungsi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh dan Laboratorium histologi BPBAP- Ujung Batee. Perubahan tingkah laku yang terjadi pada pengujian ini diantaranya pergerakan ikan, lamanya berdiam diri, jumlah gerakan operculum, waktu raih pakan dan arah serta gaya renang. Perubahan makropatologi yang terjadi ikan mengalami depigmentasi kulit, warna tubuh gelap kehitaman, terjadi iritasi pada bagian operculum dan mata ikan, pembengkakan mata, pembengkakan abdomen, terdapatnya bintik- bintik putih serta terkelupasnya sisik. Pengamatan histopatologi terdapatnya vakuola, necrosis, degradasi sel dan hemoragi.

Kata kunci : Tingkah Laku, Makropatologi, Histopatologi, Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*), *Viral Nervous Necrosis*.

ABSTRACT

White sea bass (*Lates calcarifer*) is one of Indonesia's leading fish commodities. Increasing efforts to intensify sea bass cultivation accompanied by a decline in water quality have made the fish susceptible to disease, one of which is viral infections. One type of viral infection in sea bass is Viral nervous necrosis. VNN virus infection in sea bass results in motility mortality reaching 100%. The aim of this research was to see and determine the behavioral patterns and macropathology of normal white snapper fish and fish that had been infected with VNN disease, to strengthen the validation results of the comparison of normal white snapper fish and those infected with the disease using the PCR method and to find out and strengthen the results of fish organs. normal sea bass and fish infected with VNN disease through histological observation. This research was carried out in March 2021 using qualitative methods. The research was carried out at the Multifunctional Laboratory of Ar-Raniry State Islamic University, Banda Aceh and the Histology Laboratory of BPBAP-Ujung Batee. Behavioral changes that occur in this test include the movement of the fish, the length of time it stays still, the number of operculum movements, the time it reaches food and the direction and style of swimming. Macropathological changes that occur in fish experience skin depigmentation, dark black body color, irritation of the operculum and fish eyes, swelling of the eyes, swelling of the abdomen, white spots and peeling of scales. Histopathological observations showed vacuoles, necrosis, cell degradation and hemorrhage.

Keywords : Behavior, Macropathology, Histopathology, White sea bass (*Lates calcarifer*), Viral Nervous Necrosis.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji beserta syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Korelasi Antara Tingkah Laku, Makropatologi Dan Histopatologi pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi Virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN)”**. Shalawat dan salam penulis sanjungkan kepada Rasulullah SAW yang telah membawa manusia dari alam jahiliyah ke alam islamiah.

Skripsi ini merupakan suatu syarat untuk menyelesaikan kuliah Strata I (SI) di Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Ar-Raniry. Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini tentunya tidak terlepas dari banyak pihak yang membantu baik bimbingan maupun dorongan. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Amsal, M. Pd selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
2. Ibu Lina Rahmawati, M. Si selaku Ketua Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
3. Bapak Ilham Zulfahmi, M. Si selaku Dosen Pembimbing skripsi dan yang telah membimbing dan memberi dukungan serta nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Arif Sardi, M. Si selaku Dosen Pembimbing Akademik (PA) yang telah memberikan bimbingan, dukungan serta nasihat dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Seluruh Dosen dan Staf Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Banda Aceh.
6. Orang tua penulis, Ayah Mursal dan Ibu Saudah atas ketulusan kasih sayangnya, sehingga memberikan bantuan dalam bentuk moril dan materil berkat doanya untuk kesuksesan anaknya dalam menyelesaikan kuliah.
7. Kepada sahabat Mauriza Apriansyah, S.Si, Cut Nanda Riska, S.Si, Nilawati, Zumara Rahmatillah, S.Si, Nurliza Zaiyana, S.Si, Rani, Aul, Yuli, Dina metia, S.Si, Maya Sirul Rifka, S.Si, Said Dedi Suherman, S.Si, Nanda Zamzami, S.Si, Baihaqi, S.Si , M Radhi, M.Si, Razi Wahyuni, S.Si, Rizki

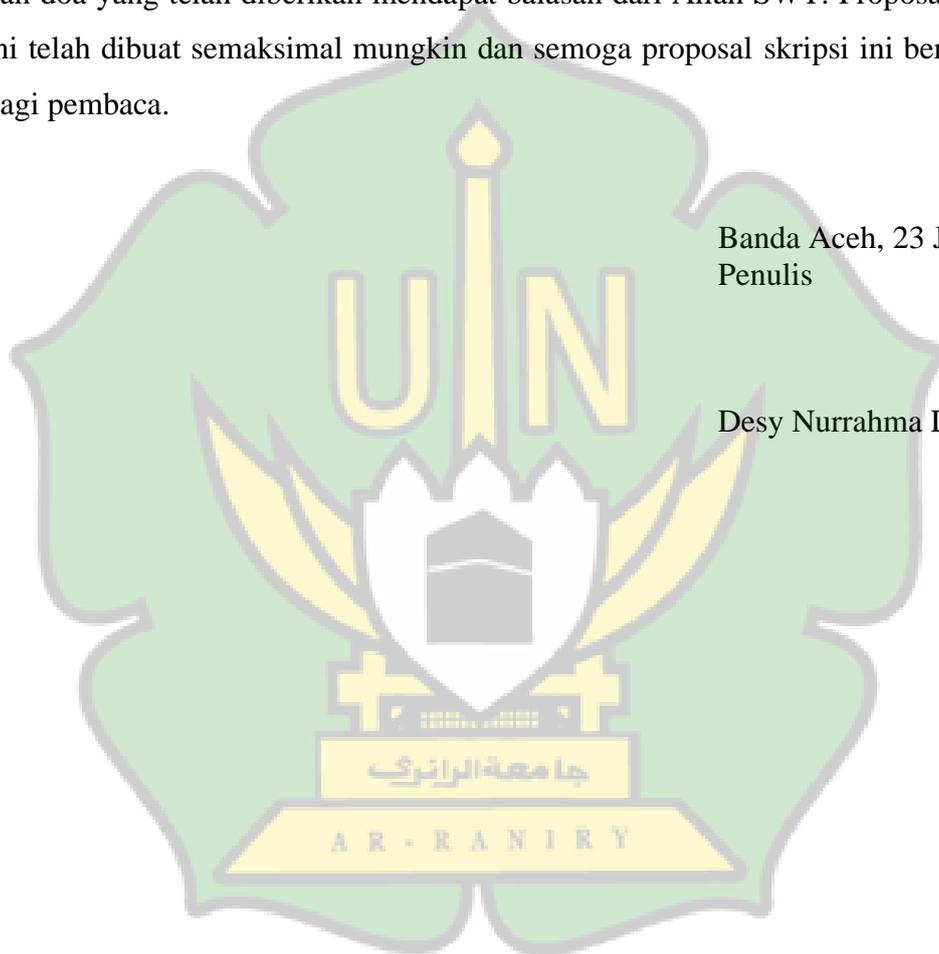
Nanda, S.Si, Mutiara, S.Si, dan Abrar yang memberikan semangat dan motivasi serta telah membantu penulis dalam menyelesaikan proposal skripsi ini.

8. Seluruh teman-teman seperjuangan di Biologi letting 2016 yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis mengucapkan terima kasih atas bimbingan dan dorongannya sehingga penulis dapat menyelesaikan Proposal Skripsi ini. Semoga segala bantuan dan doa yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT. Proposal skripsi ini telah dibuat semaksimal mungkin dan semoga proposal skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Banda Aceh, 23 Juli 2021
Penulis

Desy Nurrahma Dhani



DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH/ SKRIPSI.....	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	xiii
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah.....	2
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>)	4
II.2 Klasifikasi Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>)	5
II.3 Karakteristik Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	6
II.4 Habitat dan Siklus Hidup Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	7
II.5 Hama dan Penyakit pada Ikan.....	8
II.6 Penyakit Ikan pada Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	9
II.7 <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN).....	9
II.8 Pencegahan dan Pengobatan Penyakit pada Ikan	10
II.9 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	12
II.10 Histopatologi.....	14
BAB III METODE PENELITIAN	15
III.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
III.2 Koleksi sampel.....	15
III.3 Isolasi DNA	15
III.4 Uji Penularan VNN.....	16
III.5 Prosedur Penelitian	16
III.6 Histopatologi.....	17
III.7 Analisis data.....	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
IV.1 Hasil Penelitian.....	19
IV.1.1 Perubahan Tingkah Laku Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) Akiba Infeksi <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN).....	19
IV.1.2 Perubahan Makropatologi Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang Terinfeksi virus <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN).....	24

IV.1.3 Perubahan Histopatologi Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang Terinfeksi virus <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN)	26
IV.2 Pembahasan	27
IV.2.1 Perubahan Tingkah Laku Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang Terinfeksi Virus <i>Viral nervous necrosis</i> (VNN).....	27
IV.2.2 Perubahan Makropatologi Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang Terinfeksi Virus <i>Viral nervous necrosis</i> (VNN).....	31
IV.2.3 Perubahan Histopatologi Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang Terinfeksi Virus <i>Viral nervous necrosis</i> (VNN).....	32
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
V.1 Kesimpulan	36
V.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	42



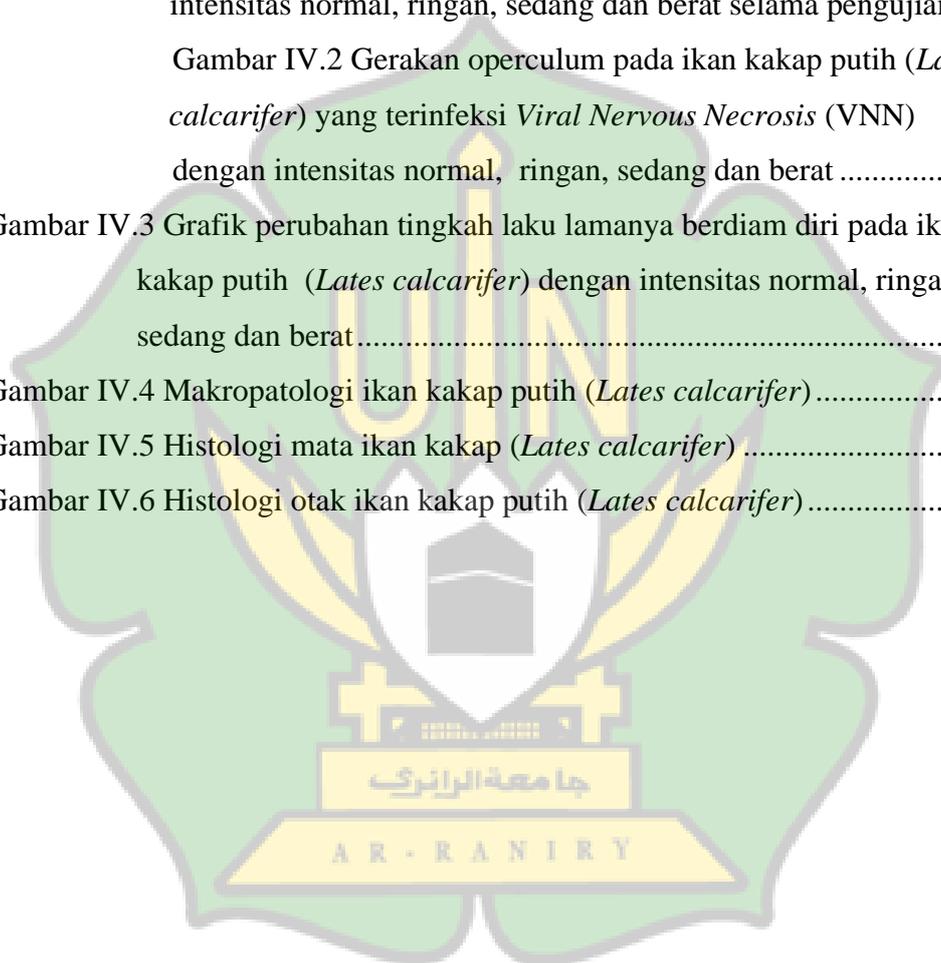
DAFTAR TABEL

Tabel III.1 Sekuens primer yang digunakan dalam menganalisis keberadaan VNN pada kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>)	15
Tabel III.2 Kualitas air pada pengujian injeksi virus VNN terhadap ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>)	17
Tabel VI.1 Makropatologi ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang terinjeksi <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN)	24



DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>)	5
Gambar II.2 Morfologi Ikan Kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	6
Gambar II.3 Siklus Hidup ikan Kakap Putih (<i>Lates calcarifer</i>)	7
Gambar II.4 Hasil elektroforesis virus <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN) pada ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>)	13
Gambar IV.1 Waktu raih pakan ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat selama pengujian	19
Gambar IV.2 Gerakan operculum pada ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>) yang terinfeksi <i>Viral Nervous Necrosis</i> (VNN) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat	21
Gambar IV.3 Grafik perubahan tingkah laku lamanya berdiam diri pada ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat.....	23
Gambar IV.4 Makropatologi ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	25
Gambar IV.5 Histologi mata ikan kakap (<i>Lates calcarifer</i>)	26
Gambar IV.6 Histologi otak ikan kakap putih (<i>Lates calcarifer</i>).....	27



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan	Nama	Pemakaian Pertama Kali Pada Halaman
BCIV	<i>Banggai Cardinal Iridovirus</i>	1
KHV	<i>Koi Herpes Virus</i>	1
VNN	<i>Viral Nervous Necrosis</i>	1
HPIK	Hama Penyakit Ikan Karantin	1
TiLV	<i>Tilapea lake Virus</i>	1
VER	<i>Viral Encephalopathy and Retinopathy</i>	10
BPBAP	Balai Perikanan Budidaya Air Payau	15
PBS	<i>Phospat Buffer Saline</i>	16
NBF	<i>Formalin Buffer Netral</i>	17
PEL	<i>pigmen epithelium</i>	32
RC	<i>rods and cones</i>	32
OLY	<i>outer nuclear layer</i>	32
OPL	<i>outer plexiform layer</i>	32
INL	<i>inner nuclear layer</i>	32
IPL	<i>inner plexiform layer</i>	32
GCL	<i>ganglion cell layer</i>	32
NFB	<i>nerve fiber layer</i>	32
LAMBANG		
%	Persen	1
g	Gram	4
°C	Derajat celsius	12
pH	Potential hydrogen	16
µm	mikrometer	17
DO	Dissolved oxygen	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram alir dan bahan kimia yang digunakan untuk proses jaringan pada <i>automatic tissue processor</i>	41
Lampiran 2 Diagram alir dan bahan kimia untuk pewarnaan <i>haematoxylin-eosin</i>	42
Lampiran 3 Proses ekstraksi sampel pengujian VNN.....	43
Lampiran 4 Proses pembuatan master mix secara umum	44
Lampiran 5 Proses pembuatan agarose pada tahap amplifikasi.....	45



BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu komoditas ikan unggulan Indonesia (Rizka & Diniarti, 2013). Selama tahun 2010-2015 ikan kakap putih menjadi satu dari empat jenis komoditas perikanan yang memiliki potensi ekspor tinggi disamping tuna, gurita, udang dan marlin. Pada tahun 2011, Indonesia menempati posisi keempat sebagai negara produsen ikan kakap terbesar dunia di bawah Taiwan, Malaysia dan Thailand, dengan total kontribusi sebesar 7.6% dari kebutuhan dunia atau 69.116 ton (Fishstat FAO, 2013).

Meningkatnya upaya intensifikasi budidaya ikan kakap putih yang disertai dengan penurunan kualitas perairan menyebabkan ikan tersebut rentan terkena penyakit, salah satunya adalah infeksi virus. Beberapa jenis infeksi virus pada kakap putih yaitu *Banggai Cardinal Iridovirus* (BCIV) (Devita & Isti, 2017), *Iridovirus* (Yanong *et al.*, 2016), *Koi Herpes Virus* (KHV) (Hari *et al.*, 2015), *Tilapia lake Virus* (TiLV) (Isti *et al.*, 2018) dan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) (Betutu, 2011). VNN disebabkan oleh infeksi Betanodavirus (Crane & Hyatt, 2011). Jenis penyakit ini memiliki tingkat kematian ikan yang tinggi. Oleh karenanya, pemerintah Indonesia menetapkannya sebagai Hama Penyakit Ikan Karantina (HPIK) Golongan I (Kepmen nomor 26 Tahun 2013). Selain ikan kakap putih, beberapa jenis ikan lain yang dilaporkan ikut terinfeksi terinfeksi VNN yaitu kerapu cantang (*Epinephelus* sp.) (Ahmad, 2019), bawal emas (*Trachinotus blochii*) (Ransangan *et al.*, 2011), kerapu merah (*Epinephelus akaraa*) (Gomez *et al.*, 2009) dan kerapu (*Epinephelus septemfasciatus*) (Kokawa *et al.*, 2008).

Saat ini, prevalensi VNN pada ikan kakap putih telah dilaporkan terjadi hampir di seluruh wilayah Asia terutama Taiwan, Malaysia, Thailand dan Indonesia (Ransangan *et al.*, 2012). VNN mampu menginfeksi larva, juwana hingga induk ikan dengan mortalitas hingga 100%. Penularannya dapat terjadi secara horizontal dan vertikal. Penularan horizontal yaitu melalui induk terhadap anaknya sedangkan penularan secara vertikal melalui lingkungan. Umumnya, Betanodavirus menyerang sistem saraf pusat, retina dan organ reproduksi. Gejala klinis yang terlihat pada ikan yang terinfeksi meliputi menurunnya nafsu makan, warna tubuh

pucat, serta cenderung menetap di dasar media pemeliharaan (Yanong *et al.*, 2016). Secara morfologi, dampak akut ikan terinfeksi VNN ditandai dengan adanya inflasi gelembung renang contohnya (Artanti & Putu, 2014), arah renang tidak terarah, hiperaktif dan menghentakkan kepala ke dasar bak (Yanong *et al.*, 2016). Sementara itu, dampak kronis yang ditimbulkan berupa adanya bintik-bintik putih pada tubuh dan warna kulit ikan menjadi gelap kehitaman (Asrazitah *et al.*, 2014).

Histologi merupakan salah satu tehnik yang dapat digunakan untuk mengevaluasi dampak negatif VNN pada ikan. Hingga saat ini, tehnik histologi telah banyak digunakan untuk menganalisa kesehatan ikan baik yang terpapar polutan (Mulyani, 2014), bakteri (Rusyidina *et al.*, 2014), virus (Rizka *et al.*, 2013) maupun parasit (Putu *et al.*, 2012). Pemeriksaan histopatologi pada ikan kerapu lumpur yang terinfeksi *Iridovirus* menunjukkan adanya pembengkakan sel pada pulpa limpa dan ginjal, hemoragi dan nekrosis (Ketut *et al.*, 2017). Infeksi *Koi Herpesvirus* (KHV), dilaporkan telah menyebabkan hiperlasia dan adesi insang, terjadinya *body inclusion* dan pembengkakan sel-sel epitel insang ikan Mas (Raden *et al.*, 2013). Infeksi VNN dilaporkan telah menyebabkan terjadinya inclusion body, nekrosis, vakuola dan hipertropi pada jaringan otak dan mata ikan kakap putih (Ely, 2015; Rangsangan & Manin, 2015). Sejauh ini, informasi terkait korelasi antara tingkah laku, makropatologi dan histopatologi ikan kakap putih yang terinfeksi VNN masih belum diungkap secara komperhensif. Oleh karenanya penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kolerasi tingkah laku, makropatologi dan histologi ikan kakap putih yang terinfeksi VNN. Hal ini juga bertujuan untuk memberikan pengetahuan dasar kepada masyarakat tingkatan intesitas VNN terhadap kakap putih pada saat budidaya dilakukan melalui data hasil penelitian.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana pola tingkah laku dan makropatologi ikan kakap putih normal dan ikan kakap putih yang terinfeksi penyakit VNN?
2. Bagaimana hasil perbandingan ikan kakap putih normal dan ikan kakap putih yang terinfeksi penyakit VNN melalui pengecekan PCR?
3. Bagaimana hasil perbandingan organ otak dan mata ikan kakap putih normal

dan ikan yang terinfeksi VNN melalui pengamatan histopatologi?

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang sudah dirangkum, tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk melihat dan mengetahui pola tingkah laku dan makropatologi ikan kakap putih normal dan ikan yang telah terinfeksi penyakit VNN.
2. Untuk memperkuat hasil validasi perbandingan ikan kakap putih normal dan yang terinfeksi penyakit melalui metode PCR
3. Untuk mengetahui dan memperkuat hasil organ ikan kakap putih normal dan ikan yang terinfeksi penyakit VNN melalui pengamatan histopatologi.

I.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian diatas, dapat disimpulkan manfaat penelitian berupa:

1. Dapat mengetahui perbedaan dasar ikan kakap putih normal dan ikan yang terjangkit penyakit VNN melalui pola tingkah laku dan makropatologi.
2. Dapat mengetahui keberadaan VNN melalui validasi metode PCR pada ikan kakap putih yang normal dan terinfeksi.
3. Dapat mengetahui perbedaan jaringan otak dan mata antara ikan Kakap Putih normal dan yang terinfeksi VNN.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Kakap putih (*Lates calcarifer*) merupakan salah satu komoditas ikan air payau yang sudah banyak di budidaya, meningkatnya minat masyarakat untuk mengonsumsi ikan kakap putih merupakan salah satu faktor pembudidayaan dilakukan. Ikan kakap putih memiliki nilai ekonomis yang tinggi, selain itu kandungan gizi yang tinggi membuat ikan ini sangat diminati oleh masyarakat. Ikan kakap putih tergolong kedalam ikan tipe A karena kandungan lemak rendah dan protein yang cukup tinggi, kandungan protein pada ikan kakap putih mencapai 20.0 g, energi 92 kalori, fosfor 200 miligram, 20 miligram kalsium, zat besi (Fe) 1.0 g, sedangkan kadar rendah lemak 0.7 g, serta 77.0 g air, 0% karbohidrat, dan abu 2.3 g (TKP1, 2019).

Ikan kakap putih telah menjadi salah satu ikan yang sudah banyak diminati oleh masyarakat. Selain memiliki kandungan gizi, ikan kakap putih juga memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Tingginya permintaan pasar terhadap ikan kakap putih membuat masyarakat melakukan budidaya terhadap ikan tersebut. Menurut Jaya *et al.*, (2012) menyebutkan budidaya ikan kakap putih untuk saat ini telah menjadi hal yang komersial dalam pembudidayaan untuk dikembangkan, karena hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor yaitu pertumbuhan ikan yang relatif cepat, mudah dipelihara, dan mempunyai toleransi terhadap perubahan lingkungan.

Proses perawatan dan pemeliharaan merupakan hal yang harus dipertimbangkan pada saat melakukan pembudidayaan atau dalam mengembangkan budidaya ikan kakap putih. Hal tersebut dapat dilihat dari beberapa faktor yang memengaruhi suatu keberhasilan budidaya, diantaranya pemberian pakan dan penebaran benih. Pemberian pakan sangat berpengaruh terhadap perkembangan pertumbuhan ikan kakap putih, pemberian pakan yang teratur dapat mengurangi resiko kematian pada ikan. Pakan yang diberikan harus mengandung kadar nutrisi yang tinggi, karena nilai nutrisi yang terkandung pada pakan dapat membantu proses metabolisme pada ikan dan pemeliharaan kesehatan tubuh. Pemberian pakan diberikan berdasarkan ukuran tubuh dan umur ikan, disamping itu pemberian vitamin harus berdampingan dengan pakan yang

diberikan. Hal tersebut bertujuan untuk menjaga kesehatan ikan dari serangan penyakit (Kkp.go.id, 2018).

Saat ini jenis pakan yang digunakan pada umumnya yaitu pakan alami dan pakan buatan. Penggunaan pakan buatan dianggap lebih efisien, hal tersebut dikarenakan pakan buatan (pellet) tidak tergantung pada musim, harga yang terjangkau, serta mudahnya pada saat penyimpanan. Sedangkan pakan alami dianggap lebih sulit didapatkan dan harga yang sangat mahal, hal tersebut dikarenakan penyediaan pembenihan rotifer memerlukan biaya yang tinggi pada saat proses kultur rotifer serta *Chorella* sp. Penebaran benih merupakan salah satu faktor yang memengaruhi keberhasilan budidaya ikan kakap putih, benih yang dibudidaya tidak mengalami cacat fisik serta terpapar oleh virus. Ukuran benih serta jumlah benih dalam suatu wadah juga sangat perlu diperhatikan untuk keberlangsungan perkembangan ikan kakap putih.

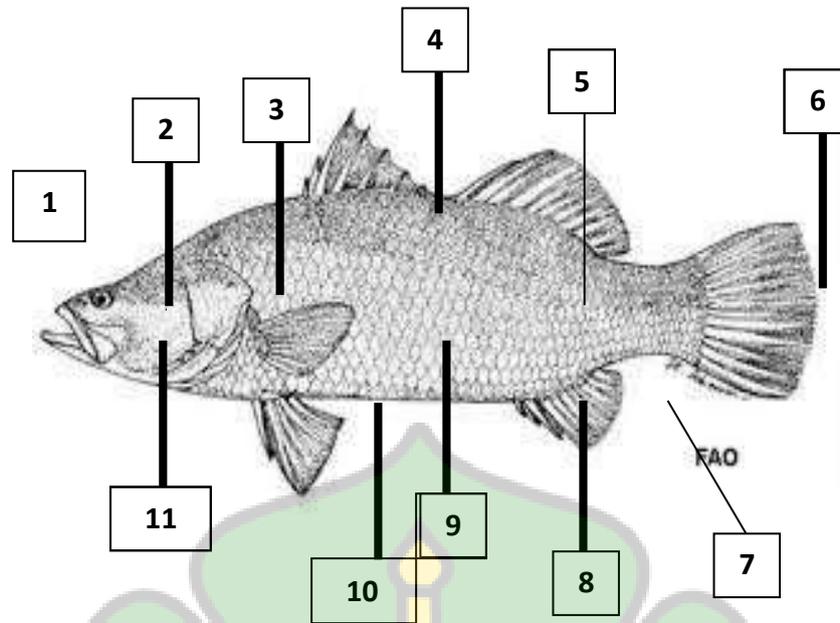


Gambar II.1 Ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) Hasil Penelitian 2021

II.2 Klasifikasi Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Adapun berikut klasifikasi ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) menurut (Itis.gov, 2021) sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Pisces
Sub Kelas	: Teleostei
Ordo	: Percemorphi
Famili	: Centropomidae
Genus	: Lates
Spesies	: <i>Lates calcarifer</i> (Bloch,1790)



Gambar II.2 Morfologi ikan kakap putih (*Lates calcarifer*)
(Kkp.go.id., 2014)

Keterangan :

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| 1. <i>Nasus</i> | 7. <i>Anal fin</i> |
| 2. <i>Oculus</i> | 8. <i>Vent</i> |
| 3. <i>Operculum</i> | 9. <i>Pectoral fin</i> |
| 4. <i>Spinousdorsal</i> | 10. <i>Ventral fin</i> |
| 5. <i>Lateralline</i> | 11. <i>Dentary bone</i> |
| 6. <i>Caudal fin</i> | |

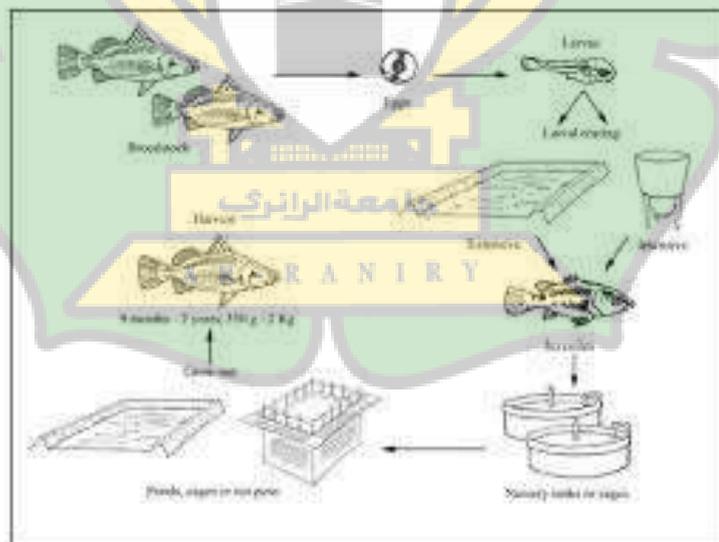
II.3 Karakteristik Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) memiliki bentuk morfologi berupa bentuk badan memanjang, ujung kepala lancip dan memiliki bentuk cekung dibagian atas kepala, batang sirip ekor lebar dan pada sirip ekor memiliki bentuk cembung. Bagian mulut ikan kakap putih memiliki bentuk morfologi berupa mulut yang lebar, gigi halus, dan memiliki duri yang kuat pada bagian *pre operculum*. Bagian morfologi bagian badan ikan dapat ditandai dengan adanya duri berukuran kecil pada *operculum*, kuping bergerigi diatas pangkal gurat sisi (*linea lateralis*), pada sirip punggung memiliki jari-jari keras dengan jumlah 7-9 sisir sedangkan jari-jari lemah memiliki jumlah sebanyak 10-11 sisir. Bagian sirip dada memiliki bentuk yang sangat pendek dan berbentuk bulat, terdapat lapisan sisik pada bagian sirip

punggung dan sirip dubur. Bagian sirip dubur memiliki bentuk bulat, memiliki jumlah jari-jari kuat sebanyak 3 sisir dan berjari lemah 7-8 sisir. Bagian morfologi sirip ekor, ikan kakap putih memiliki bentuk bulat serta memiliki tipe sisir besar. Ikan kakap putih dewasa memiliki bentuk warna tubuh kehijauan atau berwarna keabu-abuan dan pada bagian bawah memiliki warna keperakan bagi ikan yang habitatnya di air laut sedangkan pada air tawar berwarna keemasan (Razi, 2013).

II.4 Habitat dan Siklus Hidup Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Ikan kakap putih memiliki sifat kata dorm yaitu besar di air tawar dan kawin di air laut yang terdapat diseluruh di wilayah Pasifik Indo Barat dan Teluk Persia hingga sampai ke negara Asia Tenggara ke Australia. Ikan kakap putih umumnya dapat dijumpai pada habitat air sungai, danau, muara dan perairan pesisir. Ikan kakap putih memiliki karakter yang unik pada proses pemijahan yang dilakukan pada muara sungai, hilir atau sekitar tanjung pesisir. Proses pemijahan dilakukan berdasarkan musim, dimana hal tersebut dilakukan sesuai berdasarkan pasang surut air laut yang membantu penyebaran telur serta larva ke muara. Sedangkan pada saat ikan mulai dewasa, ikan kakap putih hidup pada habitat dengan kondisi air tawar (Schipp *et al.*, 2007).



Gambar II.3 Siklus Hidup ikan kakap putih (*Lates calcarifer*)
(FAO,2006)

II.5 Hama dan Penyakit pada Ikan

Penyakit merupakan suatu kondisi atau keadaan abnormal yang terjadi pada bagian- bagian tubuh atau organ tertentu, sehingga terdapat perbedaan karakteristik diantara bagian tubuh normal lainnya. Penyakit pada ikan adalah suatu kondisi dimana dapat menimbulkan gangguan dan menyebabkan kelainan, baik secara fisik maupun mental. Ikan dikatakan sakit/ kelainan apabila mengalami kecacatan baik secara anatomi maupun fisiologisnya. Penyakit ikan dibagi menjadi dua yaitu penyakit infeksi dan non-infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh parasit, bakteri, virus dan jamur, sedangkan penyakit non-infeksi disebabkan oleh hormon, stres, traumatik dan gangguan gizi pada pakan (Kkp.go.id, 2017). Faktor utama terjadinya penyakit pada ikan yaitu inang/organisme peliharaan (*host*), parasit atau mikro (*pathogen*) dan lingkungan (*environment*). Berdasarkan sumbernya penyakit dibedakan menjadi 3 kelompok yaitu hama, parasiter dan non parasit (Suwarsito dan Mustafidah, 2011).

Hama merupakan hewan yang berukuran besar hingga berukuran mikroskopis, hama dapat menimbulkan gangguan pada ikan, yang terdiri dari predator (pemangsa atau memangsa) dan *competitor* (penyaing). Hama dapat menyerang ikan melalui aliran air, udara, dan darat. Umumnya hama menyerang ikan pada saat masih kecil, pada saat populasi ikan mulai padat dan pada saat ikan mengalami penurunan sistem imun tubuh (Suwarsito dan Mufidah, 2011). Hama tambak adalah segala jenis hewan kecuali hewan yang dibudidayakan dan dianggap merugikan karena mengurangi produktivitas maksimal. Hama dapat menyebabkan hewan budidaya mengalami kematian karena proses makan memakan (predasi), terjadinya persaingan dalam pemanfaatan sumber energi atau menimbulkan kerugian dibidang fasilitas (Irfan, 2009). Parasiter merupakan suatu penyakit yang terjadi akibat adanya aktivitas parasit atau organisme lain yang dapat menyebabkan gangguan atau kelainan pada inangnya, seperti jamur, bakteri, virus, protozoa, cacing dan udang renik. Sedangkan non-parasiter merupakan penyakit yang

disebabkan oleh faktor lingkungan, pakan dan keturunan (Suwarsito dan Mufidah,2011).

II.6 Penyakit Ikan pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Virus merupakan mikroorganisme yang menginfeksi sel organisme biologis. Virus tidak memiliki perlengkapan seluler, oleh sebab itu virus menginfeksi sel atau organisme yang rentan. Virus memiliki kemampuan dalam penyalinan RNA atau DNA mulai dari 100- 200 protein secara kompleks. Virus memiliki bentuk dan ukuran yang beragam, virus memiliki bentuk diantaranya batang, bulat, peluru, dan benang. Sedangkan ukuran, virus memiliki ukuran yang bervariasi yaitu 18- 22nm. Virus mengandung asam nukleat yang terdiri atas protein, lipid, dan glikoprotein. Virus menggunakan enzim selular untuk mensintesis genom dan mRNA, beberapa jenis virus menggunakan ribosom selular Trna dan faktor translasi untuk mensintesis proteinnya. Berdasarkan klasifikasi, virus terdiri atas untaian DNA dan RNA. Virus DNA merupakan virus yang memiliki *double stranded*-DNA (untai ganda) namun juga bisa melakukan replikasi menjadi *single stranded*- DNA atau sering disebut untaian tunggal. Sedangkan virus RNA merupakan hasil transkrip dari satu fragmen DNA yang merupakan mononukleotida dan memiliki ribonukleat acid (Ocky & Iis, 2018).

II.7 Viral Nervous Necrosis (VNN)

Viral Nervous Necrosis (VNN) merupakan virus *single stranded* RNA yang mampu menyerang komoditas budidaya ikan kakap putih mulai stadia larva hingga juvenil dengan tingkat mortalitas mencapai 100% (Yuwanita dan Yanuhar, 2013). Penyakit ini disebabkan oleh *Piscine nodavirus* dari genus Betanodavirus (Lio-Pa dan de la pena, 2004). Berdasarkan taksonomi Betanodavirus tidak memiliki *envelope*, berbentuk spherical dan memiliki ukuran 25-30 nm. Genom Betanodavirus memiliki dua untaian tunggal molekul RNA postife-sense. Genom RNA1 memiliki ukuran segmen yang lebih besar yaitu 3,1 kb, berfungsi untuk mengkode polymerase RNA (RNA- dependent RNA polymerase). Sedangkan genom RNA2 memiliki segmen yang paling kecil dengan ukuran 1,4 kb, bertugas dalam mengkode protein terselubung (*coat protein*) (Gomes,2004).

VNN juga dikenal juga sebagai *Viral Encephalopathy and Retinopathy* (VER), *Fish encephalitis* atau *whirling disease* dan *spinning grouper disease*. *Piscine nodavirus* terdiri atas 4 genotip yaitu *Red- Spotted Grouper Nervous Necrosis Virus* (RGNNV), *Striped Jack Nervous Necrosis Virus* (SJNNV), *Barfin Flounder Nervous Necrosis Virus* (BFNNV) dan *Tigger Puffer Nervous Necrosis Virus* (TPNNV) (Lio-Po dan de la Pena, 2004). VNN menunjukkan gejala klinis pada ikan yang telah terinfeksi berupa arah berenang yang tidak beraturan, cenderung berenang pada dasar kolam, hiperaktif, posisi tubuh ikan miring pada saat berenang, nafsu makan menurun, warna tubuh pucat dan menghentakkan kepala keatas permukaan air secara sporadik. VNN menginfeksi bagian sistem saraf pusat, retina, serta organ reproduksi ikan. Penularan VNN dapat terjadi secara horizontal dan vertikal (Yanong, 2016). Induk dan benih yang terinfeksi VNN mengalami pembengkakan pada bagian gelembung renang dan mengalami gangguan pada retina dan pusat saraf dengan ditandai pola tingkah laku yang berbeda (Thierry *et al.*, 2006). VNN mampu menginfeksi ikan pada setiap fase hidupnya mulai dari stadia larva dan seluruh benih. Mortalitas kematian ikan yang telah terinfeksi mencapai 95-100% dan mampu menyerang ikan sehat lainnya dalam waktu 4 hari (Yanong, 2016).

Berdasarkan hasil penelitian Yuwanita *et al.*, (2018) ikan yang terinfeksi VNN memproduksi lendir secara berlebihan, produksi lendir dilakukan sebagai upaya bentuk pertahanan fisiologisnya. Namun produksi lendir lama- kelamaan akan berkurang dan tubuh akan terlihat pucat. Berdasarkan Hasil penelitian Ely *et al.*, (2015) dalam jurnalnya dengan judul “Pengaruh Jintan hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatologi ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* Buatan”, sampel ikan yang positif terinfeksi VNN tanpa diberi perlakuan terlihat mengalami kerusakan pada bagian otak berupa hemoragi, vakuola dan nekrosis.

II.8 Pencegahan dan Pengobatan Penyakit pada Ikan

Pencegahan dan pengobatan penyakit ikan awalnya hanya dilakukan dengan cara menggunakan bahan- bahan kimia/obat/antibiotik. Penggunaan bahan tersebut dalam waktu jangka panjang ternyata dapat menimbulkan dampak negatif baik pada lingkungan, ikan dan konsumen (Tauhid *et al.*, 2012a). Upaya lainnya yang pernah

dilakukan untuk pencegahan penyakit parasit dan bakteri pada ikan namun berdampak buruk pada lingkungan yaitu *sand filter* pada *intake water* (Canan *et al.*, 2016). Saat ini upaya yang telah dilakukan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit pada ikan yang terinfeksi VNN yaitu dengan cara pengelolaan lingkungan secara teratur atau melakukan perbaikan manajemen sistem pemeliharaan yang baik dan benar, selain lingkungan pakan merupakan salah satu faktor yang dapat berpengaruh terhadap keberadaan VNN, pakan yang memiliki kadar protein yang tinggi dapat membantu meningkatkan metabolisme dan dapat meningkatkan sistem imun (Seto *et al.*, 2019).

Upaya lainnya juga dapat dilakukan seperti pemberian vaksin, vaksin merupakan salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya infeksi penyakit VNN pada ikan Kakap Putih. Salah satu vaksin yang telah digunakan yaitu vaksin rekombinan, vaksin rekombinan merupakan hasil penyisipan gen virus kedalam vektor yang diekspresikan kedalam sel bakteri kompeten dan salah satu produk rekayasa genetika seperti DNA vaksin dan protein rekombinan. Namun penggunaan vaksin rekombinan masih menuai pro dan kontra karena dianggap dapat meninggalkan residu pada manusia serta biaya kloning yang sangat mahal. Walaupun demikian penggunaan vaksin rekombinan menjadi salah satu alternatif yang dapat digunakan untuk pencegahan penyebaran VNN, dikarenakan proses kultur yang tidak sulit dibandingkan vaksin aktif dan biaya pemeliharaan yang terjangkau serta mudah untuk diperoleh (Kusnaldi *et al.*, 2018).

Pengobatan ineksi VNN juga telah menggunakan beberapa bahan alami seperti ekstrak daun yang mengandung senyawa flavanoid, beberapa penelitian menyebutkan kandungan flavanoid sebagai bioaktif yang mengubah reaksi tubuh terhadap senyawa lain sehingga menjadi antivirus (Nita dan Slamet, 2012). Jenis tanaman yang telah dilakukan pengujian untuk menghambat pertumbuhan VNN yaitu ekstrak daun jambu biji, ekstrak jeruk lemon, dan biji jintan hitam. Berdasarkan pengujian yang dilakukan oleh Nita dan Slamet (2012) pengaruh ekstrak daun jambu biji untuk menginaktif VNN ternyata kurang efektif, hal tersebut diduga karena injeksi VNN dengan ekstrak daun jambu biji yang dilakukan secara bersamaan. Dugaan faktor lainnya yaitu dosis dan konsentrasi yang tidak dianggap rendah sehingga tidak mampu untuk menginaktif VNN secara

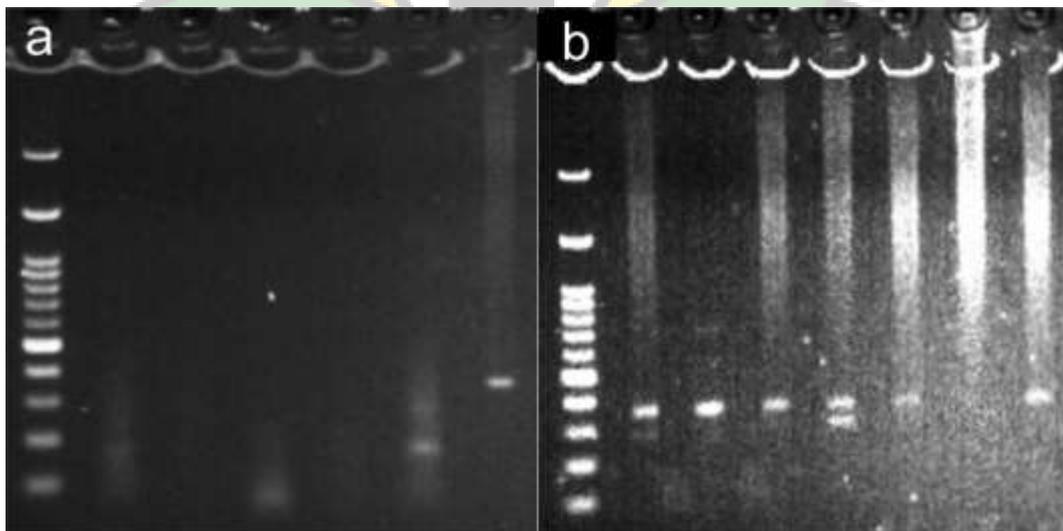
keseluruhan. Ekstrak jeruk lemon dan air hasil seduhan jeruk lemon dicampurkan dengan pakan pellet komersial, selanjutnya pakan pellet komersial yang mengandung 100g ekstrak daging jeruk lemon/kg pakan diberikan untuk ikan uji dan 100 mL air tawar steril/kg pakan tersebut diberikan kepada kelompok ikan kontrol selama 6 minggu. Berdasarkan hasil pengamatan dari perlakuan tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daging dan kulit jeruk lemon dapat meningkatkan hematokrit dan hemoglobin. Kadar leukosit menjadi meningkat, glukosa menjadi meningkat dan mampu menekan mortalitas infeksi penyakit VNN pada saat pemberian air seduhan jeruk lemon (Ketut *et al.*, 2020). Pencegahan lainnya juga dapat dilakukan dengan cara treatment menggunakan air tawar, ikan kakap putih direndam selama 30-45 menit dengan tujuan untuk meluruhkan parasit yang ada pada tubuh ikan.

II.9 Polymerase Chain Reaction (PCR)

PCR merupakan suatu metode amplifikasi yang dilakukan untuk memperbanyak untaian fragmen DNA dalam waktu yang singkat (Digran *et al.*, 2017). PCR pertama kali dikembangkan oleh Karry Mullis pada tahun 1983, PCR digunakan untuk mengidentifikasi organisme baik itu tumbuhan, hewan, bakteri dan virus dengan menduplikat fragmen DNA menjadi dua kali lipat secara enzimatik (Budi, 2015). PCR mampu menganalisis jutaan genom DNA dengan cepat dan mampu menyalin DNA dengan tepat sesuai dengan urutan untaian secara rinci (Mohammad *et al.*, 2016). Prinsip kerja PCR terdiri dari denaturasi, aneling dan polimerasi (Budi, 2015). Denaturasi merupakan tahapan proses pemisahan dua untai DNA dengan menggunakan suhu 90-97°C (Joshi *et al.*, 2011), tahapan kedua berupa aneling dimana suhu mulai diturunkan yaitu 5°C kemudian terjadi pen DNA polymerase yang sudah berkomplementasi dengan primer, dan extension atau polymerase pada saat prosesnya memerlukan suhu 72°C yang merupakan tahap akhir yang terjadi pada ujung primer dibaca oleh DNA polymerase dengan menambahkan basa-basa DNA komplementernya sehingga fragmen DNA dapat diperbanyak secara eksponensial (Shampo *et al.*, 2002). Saat proses denaturasi, aneling dan polimerasi dilanjutkan, primer berulang kali mengikat kedua template DNA untuk melengkapi untaian yang baru disintesis untuk menghasilkan DNA yang baru (Joshi *et al.*, 2011). Proses perbanyak untaian DNA umumnya terdiri

dari tujuh komponen utama yaitu template DNA, enzim DNA polymerase yang memiliki ketahanan terhadap panas, satu pasang primer, dNTP, kofaktor MgCl₂, larutan penyangga dan air. Proses perpindahan siklus pada PCR memerlukan waktu yang berbeda sesuai dengan mesin PCR tetapi umumnya proses denaturasi paling lama 30 detik, durasi annealing tergantung pada spesifikasi, panjang atau pendeknya primer yang dibuat dan waktu yang dibutuhkan lebih dari 15 detik dan kurang dari 1 menit, sedangkan polimerisasi membutuhkan waktu selama satu 1 menit dan ditentukan oleh panjangnya fragmen DNA yang dihasilkan untuk memperbanyak fragmen DNA dengan ukuran 1 kb (Budi, 2015). Pengecekan PCR dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu PCR konvensional dan *realtime*. PCR konvensional analisis hasil amplifikasi dilakukan dengan visualisasi pada agar elektroforesis. Penandaan fragmen pada PCR konvensional ditandai dengan *fluorescent dye* dan intensitas pita DNA dan dapat diukur menggunakan mesin digital densitometry. Sedangkan PCR *real time* hasil amplifikasi jumlah DNA dapat diukur dan dideteksi pada saat proses PCR berlangsung terutama pada fase eksponensial. Akumulasi amplifikasi DNA pada PCR *real time* menggunakan *probe* DNA *fluoresen* (Dean *et al.*, 2008).

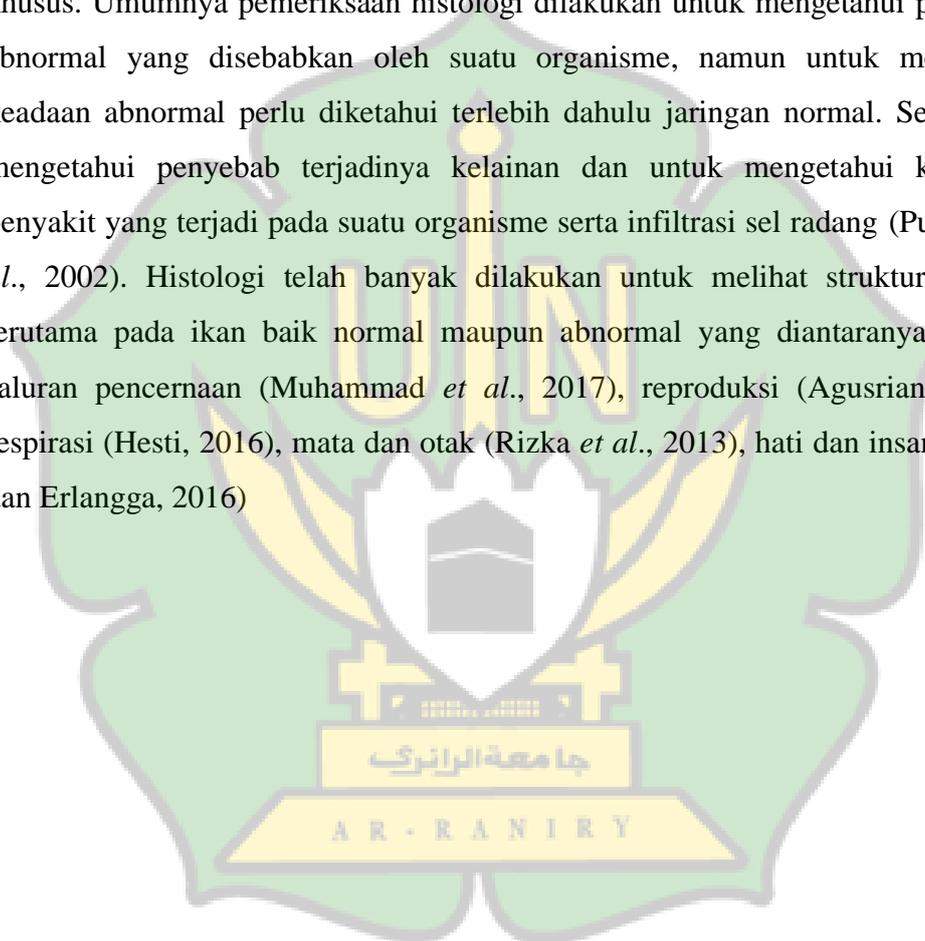
Berikut merupakan hasil pengujian PCR terhadap ikan normal dan ikan yang telah diinjeksi virus VNN pada kakap putih.



Gambar II.4 Hasil elektroforesis virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*). (a) negatif dan (b) positif ditandai dengan munculnya bens 570bp pada sampel uji.

II.10 Histopatologi

Histopatologi atau sering disebut teknik anatomi mikro merupakan ilmu yang mempelajari suatu organ atau bagian tubuh hewan maupun tumbuhan secara rinci. Pengamatan dilakukan dengan melihat jaringan-jaringan tertentu dari suatu organisme baik organ yang normal maupun abnormal (Perceka, 2011). Histologi menganalisis dan mengidentifikasi struktur jaringan dengan menggunakan mikroskop elektron untuk memvisualisasi jaringan yang diidentifikasi secara khusus. Umumnya pemeriksaan histologi dilakukan untuk mengetahui perubahan abnormal yang disebabkan oleh suatu organisme, namun untuk mengetahui keadaan abnormal perlu diketahui terlebih dahulu jaringan normal. Serta untuk mengetahui penyebab terjadinya kelainan dan untuk mengetahui klasifikasi penyakit yang terjadi pada suatu organisme serta infiltrasi sel radang (Purnomo *et al.*, 2002). Histologi telah banyak dilakukan untuk melihat struktur jaringan terutama pada ikan baik normal maupun abnormal yang diantaranya jaringan saluran pencernaan (Muhammad *et al.*, 2017), reproduksi (Agusriana, 2014), respirasi (Hesti, 2016), mata dan otak (Rizka *et al.*, 2013), hati dan insang (Jamin dan Erlangga, 2016)



BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret- April 2021. Sampel ikan diperoleh dari BPBAP (Balai Perikanan Budidaya Air Payau) Ujung Batee Aceh Besar. Penelitian dilakukan pada Laboratorium Multifungsi Zoologi Universitas Islam Negeri Ar-Raniry dan Laboratorium Histologi BPBAP Ujung Batee Aceh Besar.

III.2 Koleksi sampel

Sebanyak 20 ekor ikan kakap putih dengan kisaran panjang total 4-5 cm dan bobot 150-200 g diperoleh BPBAP (Balai Perikanan Budidaya Air Payau) Aceh Besar. Ikan dilakukan aklimatisasi selama 10 hari. Sampel ikan dipisahkan berdasarkan kondisi kesehatan ikan (ikan normal, ikan yang terinfeksi VNN dengan intensitas ringan, sedang dan ikan intensitas berat). Validasi terhadap kondisi ikan yang normal dan terinfeksi VNN dilakukan melalui uji PCR. Metode PCR yang digunakan mengacu pada penelitian Isti *et al.*, (2004). Secara singkat, tahapan metode PCR terdiri dari tahapan ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis. Organ yang diamati adalah mata dan otak, sedangkan spesifik primer yang digunakan tertera pada Tabel III.1 sebagai berikut :

Tabel III.1 Sekuens primer yang digunakan dalam menganalisis keberadaan VNN pada kakap putih (*Lates calcarifer*)

Jenis Virus	Susunan Primer 5'-3'	Ukuran Produk (bp)	Sumber
VNN	F2: CGT-GTC-AGT-CAT-GTGTCG-CT R3: CGA-GTC-AAC-ACG-GGT-GAA-GA NF2: GTT-CCC-TGTACA-ACG-ATT-CC NR3: GGA-TTT-GAC-GGG-GCT-GCT-CA	570	SNI

III.3 Isolasi DNA

Sampel ikan dipisahkan berdasarkan kondisi kesehatan ikan (ikan normal, ikan yang terindikasi terinfeksi VNN dengan intensitas ringan, sedang dan ikan yang terindikasi terinfeksi VNN dengan intensitas berat). Isolat VNN diperoleh dari ikan yang telah terjangkit virus VNN dan telah dilakukan pengujian PCR. Kemudian dilakukan proses ekstraksi pada inokulum untuk menghasilkan isolat

baru. Proses pembuatan isolat mengacu pada penelitian Nurbariah dan Kharuzrazi (2015), sebanyak 3g sampel dari sampel ikan digerus dan dicampurkan dengan 9ml *Phospat Buffer Saline* (PBS). Campuran tersebut kemudian disentrifuse pada kecepatan 3000rpm selama 30 menit, supernatan yang diperoleh disentrifuse kembali pada kecepatan 8000g selama 30 menit. Supernatan berikutnya kemudian disaring melewati filter 0,45µm. Larutan ini kemudian diencerkan menggunakan PBS (3:9) sebanyak tiga tingkatan sehingga didapatkan larutan inokulum virus dengan konsentrasi 20mg/ml.

III.4 Uji Penularan VNN

Proses injeksi VNN dilakukan pada hari pertama pengamatan, permukaan kulit ikan diusap dengan kapas yang telah dibasahi etanol 70% untuk dilakukan proses injeksi. Penyuntikan dilakukan pada pangkal ekor ikan dengan jumlah injeksi sebanyak 0,3 ml untuk ikan dengan intensitas ringan, 0,6ml untuk intensitas sedang dan 0,9 ml untuk intensitas berat pada setiap wadah sampel uji. Injeksi dilakukan pada jaringan otot bagian ekor ikan.

III.5 Prosedur Penelitian

Sebanyak masing-masing 5 ekor ikan kakap putih dengan kondisi normal, yang diinjeksi VNN dengan intensitas ringan, sedang dan terindikasi terinfeksi VNN dengan intensitas berat diletakkan dalam wadah yang berbeda. Wadah yang digunakan yaitu aquarium dengan volume 3,5 Liter air laut bersalinitas salinitas 31 ppt. Masa observasi berlangsung selama lima hari. Parameter pengamatan yang diamati meliputi perubahan tingkah laku, makropatologi dan histopatologi. Parameter pengamatan yang diamati meliputi pengecekan keberadaan VNN dengan menggunakan metode PCR, perubahan tingkah laku, makropatologi dan histopatologi. Pengamatan tingkah laku yang diamati berupa arah dan gaya renang ikan, tingkah laku berdiam diri, jumlah gerakan operculum ikan dan waktu menghabiskan pakan. Pengamatan makropatologi yang diamati meliputi perubahan warna tubuh, jumlah lendir dan kerusakan pada mata. Pengamatan tingkah laku dan makropatologi dilakukan setiap 24 jam. Kualitas air yang diamati pada 24 jam meliputi pH, oksigen terlarut, suhu dan salinitas. Pengujian kualitas air dapat dilihat pada tabel III.2 sebagai berikut :

Tabel III.2 Kualitas air pada pengujian injeksi virus VNN terhadap ikan kakap putih (*Lates calcarifer*)

Salinitas	DO	pH	Suhu
31 ppt	6, 61 mg/L	7,8	24°C

III.6 Histopatologi

Pada hari kelima, sebanyak masing-masing 2 ekor ikan kakap putih dari masing-masing perlakuan dikorbarkan dengan cara memotong bagian kepala ikan untuk kemudian diperoleh organ target berupa mata dan otak. Organ kemudian diawetkan dengan larutan (*Formalin Buffer Netral*) NBF 10% sebelum dianalisis lebih lanjut. Pembuatan preparat histologi mengacu pada metode Harini *et al.*, (2015). Secara singkat, preparasi histologi terdiri dari tujuh tahapan yaitu proses fiksasi, dehidrasi, *clearing*, infiltrasi paraffin, embedding, *cutting* dan pewarnaan. Fiksasi organ target dilakukan dengan menggunakan larutan NBF selama 24 jam. Dehidrasi organ target dilakukan dengan menggunakan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90% dan 100%). Sisa alkohol yang masih menempel kemudian dihilangkan (*clearing*) melalui perendaman dalam larutan xylol selama dua jam. Infiltrasi paraffin dilakukan pada suhu 58- 60°C. Penanaman organ dilakukan dengan menggunakan alat bantu paraffin embedding center (*Thermo Scientific Microm EC 350*, Amerika) Pemotong paraffin/sampel dilakukan dengan menggunakan semi *automatic rotary microtome* (*Thermo Scientific Microm HM 315*, Amerika) dengan ketebalan 5µm. Pewarnaan jaringan selanjutnya dilakukan dengan menggunakan *haematoxylin* dan *eosin* masing masing selama 15 menit. Observasi terhadap preparat histologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang telah dilengkapi dengan kamera (Olympus BX41, Jepang).

III.7 Analisis data

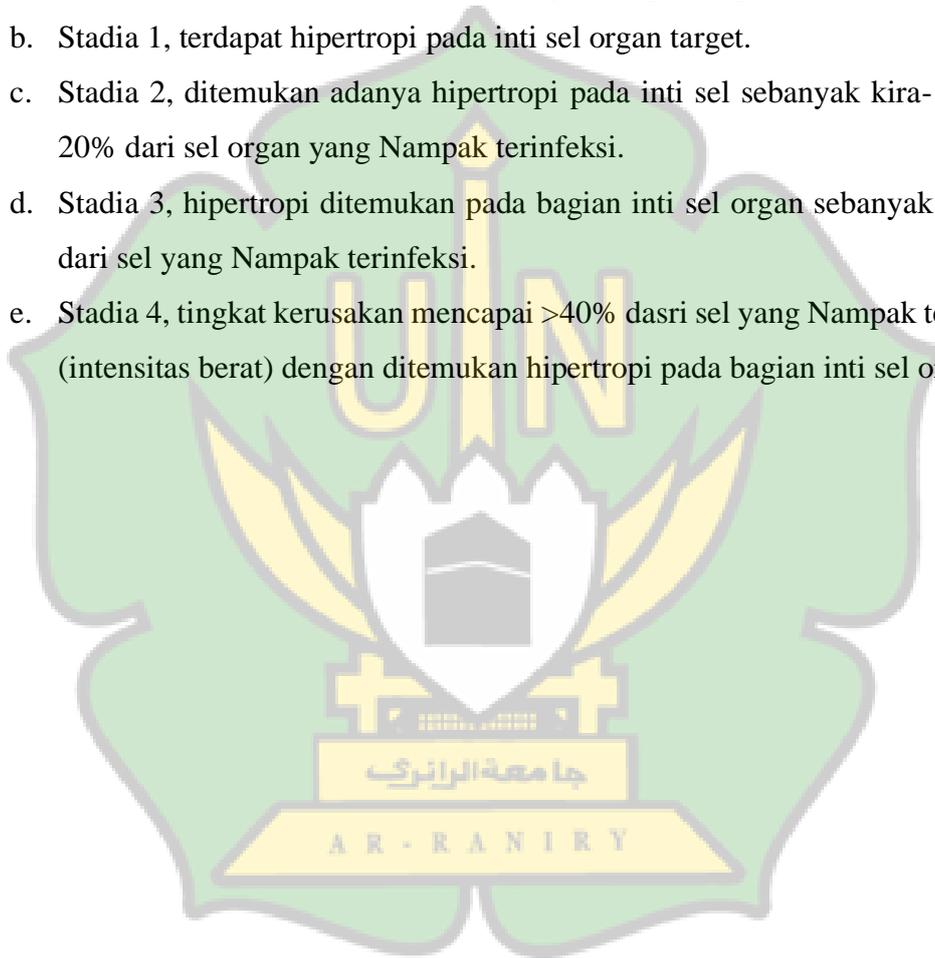
Data perubahan tingkah laku, makropatologi dan histopatologi dianalisis secara kualitatif dan semi kuantitatif. Secara kualitatif, data didasarkan pada perubahan tingkah laku, serta gambaran makropatologi dan histopathologi yang teramati. Sementara itu, analisis semikuantitatif dilakukan melalui metode metode *scaling/scoring* yang mengacu pada perubahan intensitas yang terjadi pada tingkah laku, makropatologi dan histopatologi. Presentase kerusakan yang terjadi pada

organ target mata dan otak dapat dianalisis tingkat kerusakan sel menurut Raza'l (2008) dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persentase Kerusakan} = \frac{\text{Jumlah sel yang rusak}}{\text{Jumlah sel analisis}} \times 100\%$$

Penentuan tingkat kerusakan infeksi virus menurut Niman (2002) dapat dianalisa sebagai berikut:

- a. Stadia 0, belum ditemukan kerusakan pada organ target
- b. Stadia 1, terdapat hipertropi pada inti sel organ target.
- c. Stadia 2, ditemukan adanya hipertropi pada inti sel sebanyak kira- kira 10-20% dari sel organ yang Nampak terinfeksi.
- d. Stadia 3, hipertropi ditemukan pada bagian inti sel organ sebanyak 30-40% dari sel yang Nampak terinfeksi.
- e. Stadia 4, tingkat kerusakan mencapai >40% dari sel yang Nampak terinfeksi (intensitas berat) dengan ditemukan hipertropi pada bagian inti sel organ.

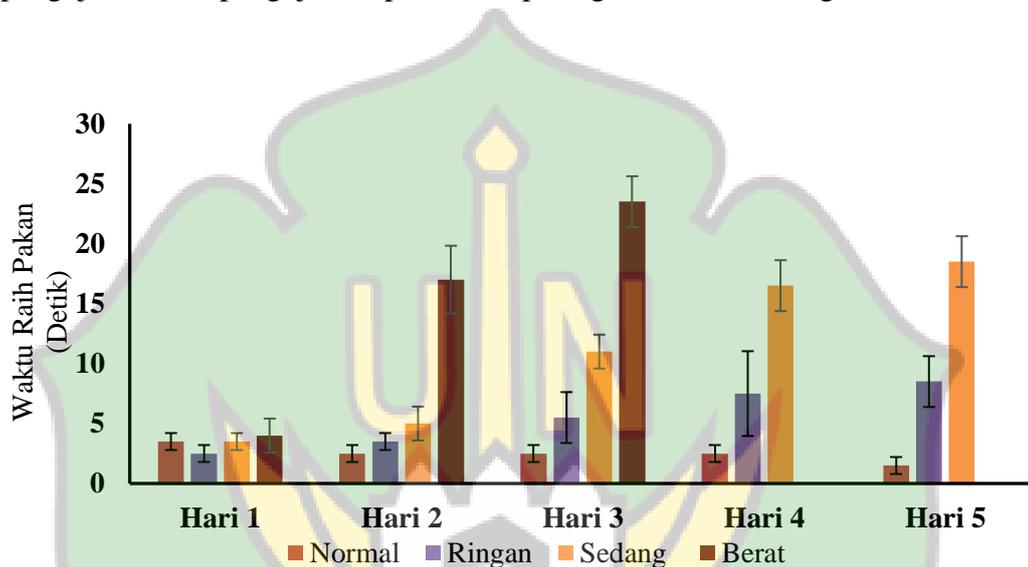


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

IV.1.1 Perubahan Tingkah Laku Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) Akibat Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada perubahan tingkah laku ikan kakap putih normal, ringan, sedang dan berat yang dilakukan selama lima hari pengujian. Hasil pengujian dapat dilihat pada gambar VI.1 sebagai berikut :



Gambar IV.1 Waktu raih pakan ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat selama pengujian.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama lima hari, dapat dilihat dari hasil grafik pengamatan bahwa ikan dengan intensitas normal lama waktu raih pakan yaitu 3,5 detik pada hari pertama pengujian, hari kedua, ketiga dan keempat ikan tampak lebih aktif dan cepat dalam meraih pakan yaitu selama 2,5 detik dan pada hari kelima pengujian ikan tampak lebih aktif dan cepat pada saat pakan diberikan yaitu selama 1,5 detik. Tidak adanya perubahan yang signifikan pada ikan dengan intensitas normal selama pengujian berlangsung.

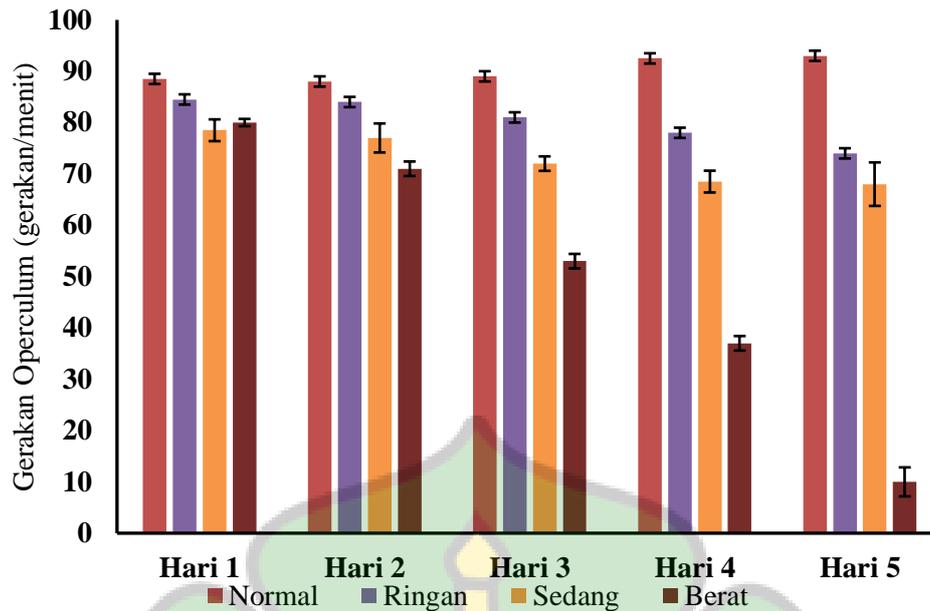
Hasil penelitian pada bak ikan dengan pengujian injeksi virus intensitas ringan yang dilakukan selama lima hari pengujian. Hasil grafik menunjukkan bahwa semakin hari ikan mengalami penurunan nafsu makan dimana lamanya dalam meraih pakan. Hari pertama menunjukkan ikan meraih pakan selama 2,5 detik, hari kedua ikan meraih pakan selama 3,5 detik, pada hari ketiga menunjukkan

peningkatan lamanya waktu dalam meraih pakan yaitu selama 5,5 detik, 7,5 detik pada hari keempat dan pada hari kelima ikan meraih pakan selama 8,5 detik.

Pengamatan yang dilakukan pada pengujian ikan dengan intensitas sedang menunjukkan perubahan yang signifikan, perubahan dapat diamati berdasarkan grafik 4.1. Hari pertama pengujian waktu raih pakan masih dikatakan normal yaitu selama 3,5 detik, pada hari kedua pengujian waktu raih pakan selama lima detik. Perubahan mulai terjadi setelah injeksi virus kedalam tubuh ikan. Hari ketiga pengujian ikan mulai menurun nafsu makan ditandai dengan lamanya ikan meraih pakan yaitu selama sebelas detik. Hari keempat dan kelima pengujian ikan menunjukkan gejala yang signifikan dalam meraih pakan dimana lamanya ikan meraih pakan 16,5 detik dan 18,5 detik.

Hasil pengamatan pada ikan dengan intensitas berat gejala lamanya dalam waktu raih pakan sudah mulai ditunjukkan bahkan pada hari kedua pengujian. Hilangnya nafsu makan lebih cepat dibandingkan tiga perlakuan lainnya diduga dari jumlah injeksi inoculum virus yang lebih banyak. Hari pertama pengujian waktu raih pakan diperoleh selama empat detik, pada hari kedua pengujian lamanya waktu raih pakan selama 17 detik, gejala menurunnya nafsu makan tampak pada 24 jam setelah injeksi virus dilakukan. Hari ketiga pengujian ikan mengalami penurunan nafsu makan yang meningkat dilihat dari waktu raih pakan selama 23,5 detik. Sedangkan pada hari keempat dan kelima ikan sudah tidak meraih pakan, ikan berdiam diri secara menyamping pada dasar aquarium dan ikan menjadi pasif.

Berdasarkan hasil pengujian pada tingkah laku gerakan operculum ikan, terdapat perbedaan gerakan pada setiap perlakuan ikan. Perubahan jumlah gerakan operculum dapat dilihat pada grafik 4.2 berikut ini.



Gambar IV.2 Gerakan operculum pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat.

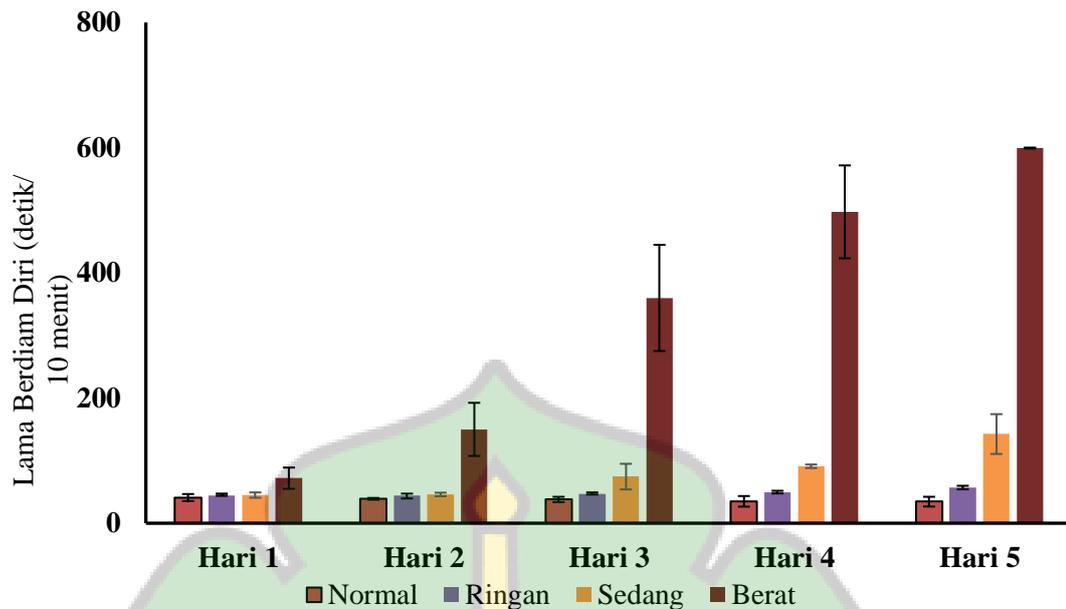
Berdasarkan hasil pengamatan dan pengujian yang telah dilakukan, diketahui bahwa jumlah gerakan operculum normal rata-rata permenit pada setiap perlakuan pada hari pertama pengujian sebanyak 88 kali pada perlakuan normal, 84 kali pada intensitas ringan, 78 kali pada intensitas ringan dan 80 kali untuk intensitas berat. Gerakan operculum pada perlakuan normal pada hari kedua pengujian sebanyak 88 kali selama satu menit dalam 10 menit pengujian. Hari ketiga pengamatan gerakan operculum sebanyak 89 kali, pada hari keempat terjadi peningkatan jumlah gerakan operculum sebanyak 92 kali dan pada hari kelima pengamatan gerakan operculum sebanyak 93 kali gerakan. Tidak adanya perubahan berupa ikan berdiam diri ataupun ikan tidak aktif ketika pengamatan jumlah operculum berlangsung.

Pengamatan gerakan operculum pada intensitas ringan pada hari kedua pengujian jumlah gerakan operculum yang diperoleh sebanyak 84 kali, hari ketiga pengamatan jumlah gerakan operculum 81 kali, sedangkan pada hari ke empat dan kelima jumlah gerakan operculum menurun menjadi sebanyak 78 dan 74 kali dalam satu menit. Penurunan jumlah gerakan operculum merupakan salah satu gambaran infeksi virus didalam tubuh ikan mulai melakukan proses replikasi, dimana ikan sudah menunjukkan gejala lemas dan lesu. Pengamatan yang dilakukan pada intensitas sedang pada hari kedua pengamatan jumlah operculum ikan sebanyak 77

kali dalam satu menit pengamatan, pada hari ketiga mengalami penurunan sebanyak 72 kali, sedangkan pada hari keempat dan kelima penurunan jumlah gerakan operculum semakin menurun menjadi 68 kali dalam satu menit.

Hasil pengamatan yang dilakukan pada intensitas berat menunjukkan perubahan yang signifikan terhadap ikan yang mengalami injeksi virus lebih banyak dibandingkan perlakuan ringan dan sedang. Virus VNN lebih cepat melakukan replikasi karena jumlahnya yang banyak didalam tubuh ikan tersebut. Ikan memberikan respon tubuh terhadap virus yang diinjeksi dengan melemahnya gerakan operculum yang disebabkan oleh faktor stress dan faktor system imun tubuh yang tidak mampu melawan terhadap serangan virus. Hari kedua pengamatan jumlah operculum menurun menjadi 71 kali dalam satu menit pengamatan, perubahan pada hari ketiga tampak signifikan dengan jumlah operculum menjadi 53 kali. Sedangkan pada hari keempat dan kelima ikan sudah terlihat lemah dan lesu, ikan hanya berdiam diri pada dasar aquarium tanpa melakukan pergerakan. Tidak adanya pergerakan membuat jumlah gerakan operculum menurun, jumlah gerakan operculum pada hari keempat hanya 37 kali dan pada hari kelima jumlah operculum hanya 10 kali pada saat pengamatan berlangsung. Jumlah gerakan operculum yang meningkat pada hari pertama, kedua dan ketiga pengamatan merupakan salah satu respon yang dilakukan oleh ikan untuk melawan benda asing dan ikan telah mengalami stress akibat virus yang telah masuk kedalam tubuh dengan melakukan pergerakan operculum dengan cepat.

Hasil pengujian yang dilakukan pada tingkah laku dengan parameter lama berdiam diri pada ikan kakap putih. Perubahan yang terjadi dapat dijadikan sebagai salah satu parameter dalam mendeteksi keberadaan virus VNN didalam tubuh ikankakap putih. Penyajian data dapat dilihat pada gambar 4.3 berikut ini.



Gambar IV.3 Grafik perubahan tingkah lakunya lamanya berdiam diri pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat.

Hasil pengujian yang telah dilakukan pada intensitas normal, ringan, sedang dan berat dengan parameter perubahan tingkah laku berupa lamanya berdiam diri pada ikan kakap putih terdapat perbedaan intensitas berdasarkan dengan intensitas pengamatan. Pengamatan terhadap intensitas normal tidak adanya perubahan, ikan terlihat aktif bergerak dan berkelompok. Selama peengujian ikan hanya berdiam diri selama 41 detik selama 10 menit pengamatan pada hari pertama pengujian, Pengamatan pada hari kedua ikan hanya berdiam diri selama 39 detik, pada hari ketiga ikan hanya berdiam diri hanya 38 detik. Pengamatan pada hari keempat dan kelima ikan hanya berdiam diri 35 detik dan pada hari kelima hanya 34 detik selama proses penelitian berlangsung. Ikan dengan intensitas normal lebih aktif bergerak dibandingkan dengan parameter ringan, sedang dan berat. Perubahan pada pengamatan intensitas ringan, ikan tidak banyak berdiam diri selama proses pengujian berlangsung. Berdiam diri ikan pada intensitas ringan hanya terjadi beberapa detik, diantaranya paengamatan hari pertama dan kedua ikan berdiam diri selama 44 detik, terjadi peningkatan pada hari ketiga ikan berdiam diri selama 46 detik, sedangkan pada hari keempat dan kelima ikan berdiam diri selama 49 dan 57 detik.

Hasil pengamatan pada intensitas sedang lamanya berdiam diri ikan terlihat mulai pasif dan lebih banyak berdiam diri pada dasar bak itu pada hari keempat pengujian. Ikan berdiam diri selama 91 detik bahkan 142 detik pada hari kelima pengamatan. Sedangkan pada pengujian dengan intensitas berat, ikan terlihat pasif pada hari kedua pengujian yaitu berdiam diri selama 150 detik dalam jangka waktu 10 menit pengamatan. Pada hari ketiga pengamatan ikan lebih terlihat makin lemah dan lesu, berdiam diri secara menyamping dan berada pada permukaan air dengan posisi perut menghadap keatas, posisi berdiam diri ikan selama 360 detik. Sedangkan pada hari keempat dan kelima ikan memang sudah tidak melakukan pergerakan, ikan berdiam diri selama proses pengamatan berlangsung yaitu dalam jangka waktu 10 menit. Ikan mengapung pada permukaan air dengan posisi perut keatas dan sebagian ikan menempel pada aerator air yang terlihat seolah-olah ikan sudah mengalami kematian.

IV.1.2 Perubahan Makropatologi Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

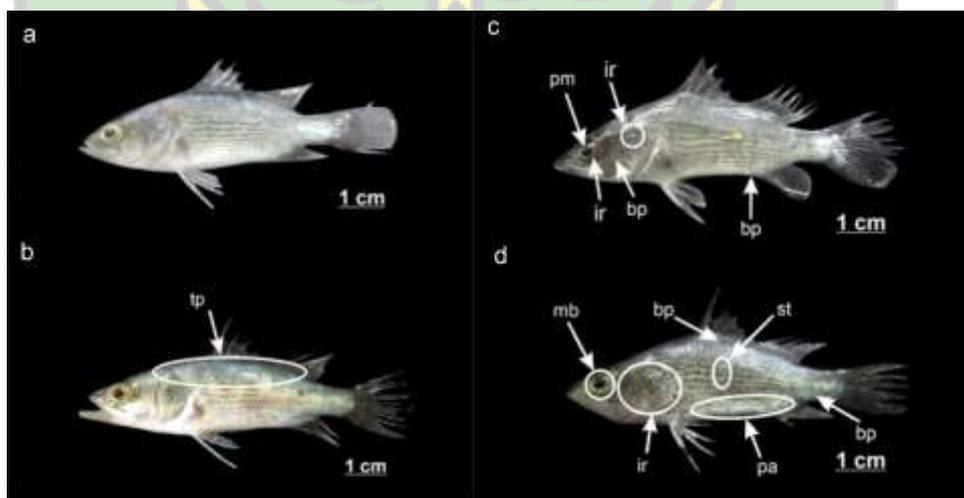
Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan pada perubahan makropatologi ikan kakap putih dengan perlakuan normal, injeksi virus dengan intensitas ringan, sedang dan berat terlihat perbedaan diantaranya pada warna tubuh, jumlah lender dan pada mata ikan kakap putih. Perubahan yang terjadi dapat diamati pada table IV.1 berikut ini

Tabel VI.1 Makropatologi ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Parameter	Normal (Hari ke 5)	Ringan (Hari ke 5)	Sedang (Hari ke 5)	Berat (Hari ke 5)
Warna Tubuh	<ul style="list-style-type: none"> Memiliki warna tubuh putih 	<ul style="list-style-type: none"> Memiliki warna tubuh putih keabu-abuan pada bagian dorsal 	<ul style="list-style-type: none"> Memiliki tubuh warna abu-abu kehitaman Terdapat bintik-bintik putih 	<ul style="list-style-type: none"> Memiliki tubuh warna gelap kehitaman Terdapat bintik-bintik putih diseluruh tubuh Terdapat iritasi pada operculum dan bagian perut sirip depan Sisik terkelupas

				<ul style="list-style-type: none"> • Pembengkakan abdomen
Lendir	<ul style="list-style-type: none"> • Tidak memiliki banyak mucus 	<ul style="list-style-type: none"> • Terdapat mucus yang sedikit berlebihan dibandingkan normal 	<ul style="list-style-type: none"> • Produksi mucus sudah berlebihan pada tubuh ikan. 	<ul style="list-style-type: none"> • Mucus yang diproduksi sudah sangat berlebihan
Mata	<ul style="list-style-type: none"> • Memiliki warna mata normal yaitu bening dan hitam pekat pada kornea mata 	<ul style="list-style-type: none"> • Memiliki warna yang masih terlihat normal 	<ul style="list-style-type: none"> • Mata sudah tampak pucat dan membesar • Pembengkakan mata 	<ul style="list-style-type: none"> • Kornea mata sudah tampak besar • Kelopak mata menjadi bengkak • Warna mata menjadi pucat

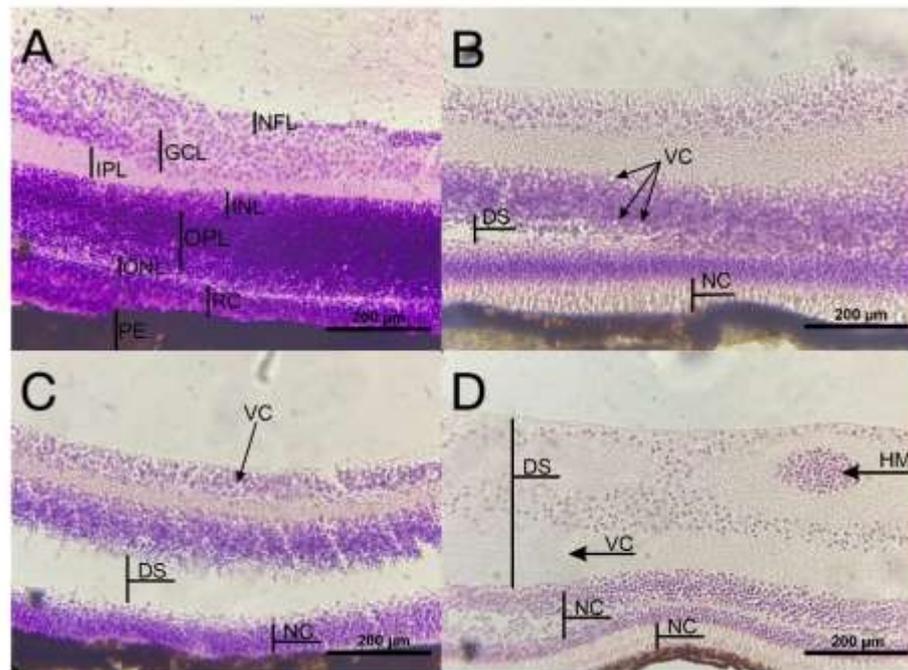
Hasil pengamatan gambaran makropatologi pada ikan kakap putih yang terinfeksi virus VNN dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat dapat dilihat pada gambar IV.4 berikut ini.



Gambar IV.4 Makropatologi ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) (a) normal. Ikan kakap putih yang terinfeksi VNN (b) dengan gejala ringan ditandai adanya tampilan tubuh berwarna pucat (tp) pada bagian dorsal. Ikan kakap putih yang terinfeksi VNN (c) dengan gejala sedang ditandai dengan adanya pembengkakan mata (pm) dan iritasi (ir) pada mata serta bintik-bintik putih (bp) pada bagian tubuh bagian abdominal. Ikan kakap putih yang terinfeksi VNN (d) dengan gejala berat ditandai dengan gejala mata membesar (mb), terjadinya pembengkakan, iritasi pada bagian operculum (ir), pembengkakan abdomen (pa), adanya bintik putih pada dorsal (bp) serta sisik yang terkelupas pada bagian abdominal (st).

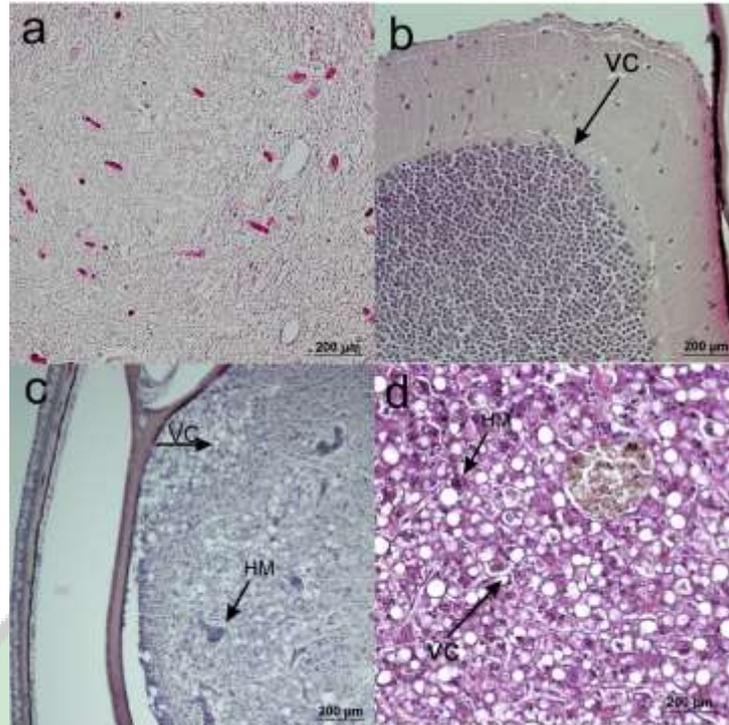
IV.1.3 Perubahan Histopatologi Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Hasil pengamatan histopatologi tingkat kerusakan pada mata ikan kakap putih pengujian infeksi virus dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat dapat dilihat pada gambar IV.5 berikut ini.



Gambar IV.5 Histologi mata ikan kakap (*Lates calcarifer*) (a) normal terdiri dari lapisan *pigment epithelium* (PE), lapisan kedua *rods dan cones* (RC), lapisan ketiga yaitu *outer nuclear layer* (ONL), lapisan keempat yaitu *outer plexiform layer* (OPL), kemudian lapisan kelima *inner nuclear layer* (INL), kemudian lapisan keenam *inner plexiform layer* (IPL), kemudian lapisan ketujuh yaitu lapisan *ganglion cell layer* (GCL) dan lapisan kedelapan yaitu *nerve fiber layer* (NFL), histopatologi mata ikan yang terinfeksi VNN (b) ringan ditandai dengan adanya vacuola (VC) dan nekrosis (NC) serta degradasi sel (DS), histopatologi mata ikan yang terinfeksi VNN (c) sedang ditandai dengan adanya vacuola (VC), nekrosis (NC) dan degradasi sel (DS) dan histopatologi mata ikan yang terinfeksi VNN (d) intensitas berat ditandai dengan adanya vacuola (VC), nekrosis (NC), degradasi sel (DS) dan hemoragi (HM).

Hasil pengamatan histopatologi otak ikan kakap putih yang mengalami kelainan akibat infeksi virus VNN dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat dapat diamati pada gambar IV.6 berikut ini.



Gambar IV.6 Histologi otak ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) (a) normal, histopatologi otak ikan (b) yang terinfeksi ringan terdapat vacuola (VC), histopatologi otak ikan (c) terinfeksi sedang dengan adanya vacuola (VC) dan hemoragi (HM) dan histopatologi otak ikan (d) terinfeksi berat ditandai dengan adanya vacuola (VC) dan hemoragi (HM).

IV.2 Pembahasan

IV.2.1 Perubahan Tingkah Laku Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi Virus *Viral nervous necrosis* (VNN)

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama pengujian diketahui bahwa perubahan tingkah laku pada ikan kakap putih normal dan terinfeksi mengalami perbedaan yang signifikan pada hari kedua sampai hari kelima pengamatan. Perubahan yang terjadi yaitu pada arah dan gaya renang, pergerakan ikan, jumlah gerakan operculum, waktu raih pakan dan lamanya berdiam diri. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Lestari dan Suryadartama (2014) menyatakan ikan kerapu yang terinfeksi virus VNN mengalami perubahan tingkah laku berupa ikan berputar-putar dan menghentakkan kepala ke dasar bak. Arah renang ikan yang abnormal seperti berputar-putar dan berenang secara vertikal disebabkan oleh VNN yang menyerang sistem saraf pusat ikan. Selain otak VNN

menginfeksi bagian retina ikan yang dapat menyebabkan iritasi dan pembengkakan mata.

Hasil pengamatan yang dilakukan pada arah dan gaya renang dengan intensitas normal tidak terjadinya perubahan. Namun, pada perlakuan injeksi virus dengan intensitas ringan, perubahan yang terjadi pada yaitu ikan sudah mulai memisahkan diri dari kelompok pada hari keempat pengamatan dan mulai terlihat berdiam diri pada hari kelima pengamatan. Perubahan yang terjadi pada intensitas sedang, terlihat ikan mulai berenang secara vertikal, berputar-putar pada dasar bak, menghentakkan kepala ke dasar aquarium dan mulai berdiam diri secara menyamping pada hari kelima pengamatan, akan tetapi masih melakukan sedikit pergerakan. Sedangkan pengamatan yang dilakukan pada ikan dengan intensitas berat mengalami perubahan di hari ketiga pengamatan, ditandai dengan ikan mulai berputar-putar pada dasar hingga ke permukaan aquarium dan menghentakkan kepala ke dasar wadah aquarium. Ikan terlihat masih berputar-putar dan sewaktu-waktu berdiam diri pada pagi hari keempat pengamatan, sedangkan pada hari kelima pengamatan ikan sudah tidak melakukan pergerakan dan mengapung pada permukaan aquarium dengan posisi terbalik.

Pengamatan pada pergerakan ikan normal, ringan, sedang dan berat mengalami perubahan dihari yang berbeda berdasarkan intensitas infeksi virus. Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan, ikan intensitas normal terlihat masih aktif hingga hari kelima pengujian dilakukan, tidak adanya perubahan yang signifikan atau tidak adanya gejala yang ditimbulkan. Ikan dengan intensitas ringan terlihat masih aktif namun dalam beberapa waktu ikan terlihat pasif/diam pada hari kelima pengujian, ditandai dengan ikan mulai berdiam diri. Ikan dengan intensitas sedang terlihat pergerakan mulai pasif pada hari keempat pengamatan, ikan mulai terlihat lebih banyak berdiam diri dari pada melakukan pergerakan. Sedangkan ikan dengan intensitas berat pergerakan mulai pasif pada hari ketiga pengamatan. Ikan terlihat lemas dan lebih banyak berdiam diri, pada hari keempat dan kelima ikan sudah tidak bergerak, hanya berdiam diri pada dasar aquarium dengan posisi badan menyamping.

Perubahan lainnya terjadi pada tingkah laku ikan kakap putih yaitu waktu raih pakan. Waktu raih pakan antara ikan normal, ringan, sedang dan berat mengalami perbedaan yang sangat jauh. Ikan dengan intensitas normal tidak terlalu mengalami perbedaan dalam waktu raih pakan. Selisih perbedaan yang terjadi hanya 1 detik, yaitu pada hari pertama 3,5 detik, hari kedua sampai hari keempat 2,5 detik sedangkan hari kelima 1,5 detik. Waktu raih pakan pada intensitas ringan terlihat perbedaan pada hari ketiga hingga hari kelima, dimana tampak perubahan dalam waktu raih pakan yang mulai melambat pada saat pakan diberikan yaitu pada hari kelima. Perubahan pada ikan intensitas sedang dalam waktu raih pakan mulai tampak pada hari kedua pengujian, waktu raih pakan ikan mulai melambat yaitu selama lima detik pada hari kedua, 11 detik pada hari ketiga, pada hari keempat perubahan dalam waktu raih pakan sudah mulai tampak signifikan yaitu selama 16,5 sedangkan pada hari kelima selama 18,5 detik. Sedangkan pada intensitas berat perubahan dalam waktu raih pakan terlihat pada hari kedua yaitu selama 17 detik, pada hari ketiga waktu raih pakan ikan selama 23,5 detik, sedangkan pada hari keempat dan kelima ikan sudah tidak memakan pakan yang diberikan. Waktu raih pakan ikan dapat dilihat pada grafik 4.1. Lamanya ikan dalam meraih pakan merupakan salah satu gejala akibat dari virus VNN, nafsu makan mulai menurun sehingga membuat sistem imun ikan menurun karena tidak adanya asupan nutrisi yang masuk kedalam tubuh ikan. Hilangnya nafsu membuat ikan terlihat lemas dan lesu dengan lebih banyak berdiam diri di dasar permukaan (Asrazitah *et al.*, 2014).

Pengamatan perubahan tingkah laku lainnya yaitu pada gerakan operculum ikan. Pengamatan operculum dilakukan selama satu menit dalam waktu 10 menit pengujian. Perubahan terjadi antar intensitas normal, ringan, sedang dan berat. Gerakan operculum pada ikan intensitas normal tidak terjadi perubahan, penurunan jumlah Gerakan operculum pada intensitas ringan tidak terjadi perubahan yang sangat tampak. Penurunan jumlah operculum yang signifikan terjadi pada intensitas sedang tampak mulai pada hari keempat dan kelima, yaitu masing-masing sebanyak 68,5 pada hari keempat dan 68 kali pada hari kelima. Sedangkan intensitas berat perubahan mulai tampak pada hari ketiga dimana jumlah operculum mulai menurun menjadi 53 kali, pada hari keempat gerakan operculum menjadi 37 kali dan pada hari kelima gerakan operculum menurun drastis hanya 10 kali

Gerakan dalam 10 menit. Data pergerakan operculum juga dapat dilihat pada grafik 4.2 berikut ini. Gerakan operculum pada awal injeksi VNN terlihat pergerakan lebih cepat, hal tersebut merupakan reaksi ikan untuk mempertahankan diri. Namun pada hari ketiga sampai kelima pengujian gerakan operculum mulai melemah. Lemahnya gerakan operculum pada ikan disebabkan karena ikan telah lemah dan lesu, ikan lebih banyak berdiam diri dibandingkan aktif bergerak.

Parameter pengamatan tingkah laku lainnya yaitu pada pengujian lamanya berdiam diri ikan selama proses pengamatan berlangsung yaitu selama 10 menit pengujian. Pengamatan pada intensitas normal ikan hanya berdiam diri selama 41 detik pada hari pertama pengamatan, 39 detik pada hari kedua pengamatan, 38 detik pada hari ke 3, 35 detik pada hari keempat dan pada hari kelima gerakan operculum 34,5 detik selama 10 menit pengujian. Pengamatan pada intensitas ringan juga diketahui bahwa ikan tidak terlalu lama berdiam diri, pada hari pertama dan kedua diketahui ikan hanya berdiam diri selama 44,5 detik, pada hari ketiga ikan berdiam diri 46,5 detik, pada hari keempat pengujian ikan berdiam diri selama 49 detik dan pada hari kelima ikan berdiam diri selama 57 detik. Pengamatan pada intensitas sedang terjadi perubahan yang signifikan pada setiap hari pengamatan selama lima hari pengujian. Hari pertama pengamatan intensitas sedang ikan berdiam diri selama 45 detik, pada hari kedua pengujian ikan berdiam diri selama 46 detik. Perubahan mulai tampak pada hari ketiga pengujian yaitu ikan berdiam diri selama 74,5 detik, dibandingkan hari pertama dan kedua. Hari keempat pengamatan ikan berdiam diri selama 91 detik dan pada hari kelima ikan berdiam diri selama 142,5 detik. Pengamatan pada intensitas berat ikan mengalami perubahan yang signifikan mulai hari kedua pengujian yaitu berdiam diri selama 150 detik dalam waktu 10 menit, pada hari ketiga pengujian ikan berdiam diri 360 detik. Pengamatan pada hari keempat ikan sudah tampak lesu dan hanya berdiam diri secara menyamping pada permukaan aquarium, sedangkan pada hari kelima ikan sudah tidak bergerak/ berdiam diri selama proses pengamatan berlangsung. Dari perubahan yang terjadi selama pengamatan ikan menunjukkan gejala yang amat signifikan pada intensitas sedang dan berat. Perubahan data tingkah laku lamanya berdiam diri dapat dilihat pada gambar IV.3. Perubahan tingkah laku yang terjadi selama pengamatan menunjukkan gejala yang ditimbulkan akibat VNN pada ikan kakap putih.

Pengamatan perubahan tingkah laku merupakan salah satu cara mendeteksi keberadaan VNN pada ikan.

IV.2.2 Perubahan Makropatologi Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi Virus *Viral nervous necrosis* (VNN)

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan pada ikan kakap putih ikan mengalami kelainan makropatologi berdasarkan intensitas pengujian. Gejala yang ditimbulkan setiap intensitas berbeda- beda dalam lima hari pengujian. Ikan dengan intensitas normal atau kontrol (a), tidak mengalami perubahan makropatologi selama pengujian berlangsung, karena tidak adanya injeksi virus yang dilakukan kedalam tubuh ikan. Perubahan makropatologi dapat diketahui terjadi pada ikan kakap putih injeksi virus dengan intensitas ringan (b) terjadi perubahan berupa tubuh berwarna pucat dibandingkan dengan ikan normal, pucatnya warna tubuh terlihat pada hari kelima pengujian dilakukan. Gejala yang ditimbulkan merupakan salah satu respon ikan dalam perlawanan terhadap virus. Perubahan makropatologi yang terjadi pada ikan dengan intensitas sedang (c) yaitu berupa adanya pembengkakan pada bagian mata ikan, dimana kelopak mata mulai membengkak, terjadinya iritasi pada bagian mata ikan dimana mata ikan mulai tampak memerah pada hari keempat perlakuan, adanya iritasi pada bagian luar operculum yang terjadi pada hari keempat pengujian, dan terdapat bintik- bintik putih pada bagian abdominal pada hari kelima pengujian. Kelebihan jumlah lendir juga terdapat pada ikan kakap putih dengan intensitas sedang, kelebihan lendir mulai tampak pada hari keempat pengamatan. Ikan mulai memproduksi lendir secara berlebihan untuk mempertahankan diri dari serangan virus. Sedangkan perubahan makropatologi pada intensitas berat (d) ditandai dengan munculnya bintik- bintik putih pada seluruh bagian tubuh ikan di hari ketiga pengujian, terjadinya pembesaran pada kornea mata dan terjadinya pembengkakan. Pembengkakan yang terjadi pada mata berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sudayartama dan Lestari (2014) menyatakan bahwa mata mendapatkan sirkulasi darah dari jantung dan pembuluh darah balik dari otak, dimana sirkulasi darah yang mengalir ke area kornea mata diduga telah mengandung bahan genetik virus VNN yang telah melakukan replikasi. Terdapatnya iritasi pada bagian luar operculum, terdapatnya sisik terkelupas bagian abdomen pada hari keempat

pengujian, serta terjadinya pembengkakan abdomen pada hari kelima pengujian. Kelebihan jumlah lendir juga terdapat pada ikan kakap putih dengan intensitas berat injeksi virus VNN, jumlah lendir mulai banyak diproduksi oleh ikan pada hari kedua setelah virus diinjeksi kedalam tubuh ikan. Produksi lendir secara terus menerus merupakan salah satu respon fisiologis yang dilakukan oleh ikan sebagai bentuk perlawanan terhadap benda asing yang masuk kedalam tubuh. Selanjutnya produksi lendir menurun drastis pada hari ke 3 dan tubuh ikan menjadi gelap kehitaman.

Berdasarkan hasil pengamatan yang diamati, perubahan makropatologi yang terjadi merupakan ciri-ciri dari serangan virus VNN terhadap ikan kakap putih. Hal tersebut telah diungkapkan dalam penelitian Rani *et al.*, 2018 yang menyatakan bahwa ikan kakap putih mengalami gejala klinis akibat VNN tubuh ikan mengalami perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap diakibatkan karena ikan mengalami stress, menurunnya nafsu makan yang disebabkan oleh faktor stress dimana otak hanya berkerja untuk meningkatkan sistem kekebalan imunitas dan tubuh mengalami depigmentasi dimana munculnya bintik-bintik putih diseluruh tubuh pada intensitas berat.

IV.2.3 Perubahan Histopatologi Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi Virus *Viral nervous necrosis* (VNN)

IV.2.3.1 Identifikasi Retina Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa retina ikan kakap putih terdiri atas tujuh lapisan meliputi lapisan pertama yaitu lapisan *pigmen epithelium* (PEL), lapisan *rods and cones* (RC), *outer nuclear layer* (OLY), *outer plexiform layer* (OPL), *inner nuclear layer* (INL), lapisan *inner plexiform layer* (IPL), *ganglion cell layer* (GCL) dan *nerve fiber layer* (NFB).

IV.2.3.2 Perubahan Histopatologi pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi *Viral nervous necrosis* (VNN)

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada histopatologi ikan kakap putih pada otak dan mata ikan. Diketahui sejumlah kerusakan yang terjadi akibat infeksi virus VNN yang diinjeksikan kedalam tubuh ikan. Kerusakan yang berhasil diidentifikasi diantara terdapat vacuola, sel mengalami degradasi, nekrosis, dan hemoragi. Perubahan yang terjadi pada jaringan organ menandakan adanya

kerusakan akibat infeksi virus *Viral nervous necrosis* (VNN). Gambaran infeksi virus yang menyebabkan kerusakan pada jaringan atau sel dapat mendeskripsikan secara spesifik sejauh mana virulensi virus terhadap inangnya, adanya perubahan atau suatu gejala yang ditimbulkan, sehingga dapat dilakukan pemetaan pathonomik virulensi VNN. VNN dapat menyerang pada sistem saraf dan retina, kerusakan yang disebabkan oleh virus pada mata dan otak hampir menyeluruh.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sudaryatama dan Lestari (2014) bahwa salah satu akibat dari infeksi virus VNN pada otak dan mata yaitu adanya vakuola pada jaringan. Adanya vakuola pada mata menyebabkan terjadinya iritasi pada mata, kornea mata membengkak, bahkan dapat menyebabkan kebutaan pada ikan. Hasil pengujian yang telah dilakukan tingkat intensitas ringan akibat injeksi virus yang menginfeksi diketahui terjadi pada lapisan ONL berupa degradasi sebagian sel, terjadinya nekrosis sel pada lapisan RC, dan terdapatnya vakuola dilapisan ONL dan OPL.

Hasil pengamatan menyatakan jumlah presentase kerusakan yang dialami oleh mata ikan kakap putih dengan intensitas ringan sebanyak 37,5%. Tingkat kerusakan yang terjadi pada jaringan mata ikan dengan intensitas sedang terjadi sebanyak 50%. Kerusakan yang terjadi pada lapisan RC, terdapat sel yang mengalami nekrosis, sedangkan lapisan ONL dan OPL mengalami degradasi sel, kehilangan lapisan sel tersebut dapat menjadi indikator infeksi yang disebabkan oleh VNN sudah hampir mengalami tingkat rusak parah. Kerusakan jaringan mata yang disebabkan oleh VNN dapat menyebabkan ikan mengalami kebutaan, dikarenakan ikan sudah kehilangan dua lapisan layernya. Tingkat kerusakan yang dialami pada pengujian intensitas berat dapat diketahui pada setiap layer mengalami degradasi dan sel terjadi nekrosis. Terdapatnya vakuola kecil namun hampir menyeluruh pada setiap lapisan dan hemoragi pada GCL dan INL. Tingkat kerusakan yang dialami oleh jaringan mata dengan intensitas berat hampir 100%.

Kerusakan yang terjadi pada jaringan otak yaitu terdapatnya vakuola diseluruh bagian otak ikan. Terdapatnya vakuola menyebabkan ikan hilang kontrol dalam pergerakan, berenang berputar-putar serta menghentakkan kepala ke dasar bak dan ikan terlihat lemah dan nafsu makan menurun. Hal tersebut disebabkan karena terdapatnya ruang-ruang kosong didalam jaringan otak serta saraf hanya

mengkode untuk produksi imun secara terus menerus. Banyaknya jumlah vakuola pada jaringan otak dapat menyebabkan ikan mengalami kematian karena sistem kerja otak yang sudah tidak sempurna.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, jumlah vakuola pada setiap jaringan baik mata maupun otak terdapat perbedaan yang signifikan. Pengujian virus dengan intensitas ringan tidak banyaknya ditemukan jumlah vakuola, hal tersebut diduga dari jumlah virus yang diinjeksi sedikit. Sehingga pengaruh virus terhadap jaringan tidak terlalu berkerja. Namun, jika hari pengamatan dilakukan penambahan, kemungkinan kerusakan yang terjadi bisa lebih parah. Karena virus terus melakukan replikasi dan memperbanyak diri sehingga pada akhirnya ikan mengalami kematian. Kerusakan pada bagian mata ikan yang terjadi diantaranya yaitu lapisan rods and cones terjadi necrosis pada sebagian sel, degradasi pada bagian outer plexiform layer pada sudut gambar, serta vakuola pada bagian inner nuclear layer. Hasil penelitian dapat dilihat pada gambar VI.6 (b).

Kerusakan yang terjadi pada mata ikan dengan intensitas sedang terdapat kerusakan bagaian pigment epithelium terdapat beberapa vakuola dan disetiap lapisan lainnya, terdapatnya nekrosis pada lapisan rods and cones dan terjadinya kehilangan atau nekrosis satu lapisan outer nuclear layer. Sementara kerusakan yang terjadi pada pengujian intensitas berat terdapat kerusakan parah dimulai pada lapisan pigment epithelium mengalami penipisan, terjadinya necrosis dan degradasi sel pada setiap lapisan. Hilangnya setiap lapisan yang ada pada mata ikan kakap menandakan tingkat parahnya kerusakan yang terjadi akibat virus VNN dan terjadinya hemoragi pada lapisan akhir yaitu nerve fiber layer.

Kerusakan hisopatologi pada otak ikan kakap putih ditandai dengan adanya vakuola disetiap perlakuan. Jumlah vakuola pada jaringan otak menjadi indikatro tingkat keparahan infeksi virus VNN. Selain vakuola kelainan yang terdapat pada jaringan otak yang terinfeksi virus VNN yaitu hemoragi, gambar 4.3 (c). tingkat kerusakan parah ikan terdapat pada perlakuan D dengan intensitas injeksi virus berat.

Hasil pengamatan selama pengujian diketahui bahwa adanya faktor lingkungan yang memengaruhi perkembangan VNN didalam tubuh ikan. Salah satu

faktor penyebab VNN dapat berkembang yaitu suhu, PH, DO dan salinitas. Faktor lainnya juga berpengaruh seperti pakan yang dikonsumsi dan system imunitas ikan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan:

1. Perubahan tingkah laku pada ikan dengan intensitas normal, ringan, sedang dan berat terdapat perbedaan pergerakan, dimana ikan normal lebih aktif, intensitas ringan ikan masih terlihat aktif, sedangkan ikan intensitas sedang dan berat ikan sudah pasif, nafsu makan menurun, jumlah gerakan operculum menurun, ikan lebih banyak berdiam diri di dasar dan dipermukaan dengan posisi perut menghadap ke atas.
2. Perubahan makropatologi pada ikan kakap dengan intensitas ringan tubuh berwarna pucat, ikan dengan intensitas sedang terdapat perubahan tubuh menjadi gelap kehitaman, terjadinya iritasi pada bagian mata dan bagian luar operculum dan terdapat bintik putih pada bagian abdominal. Sedangkan kerusakan makropatologi yang terjadi pada intensitas berat yaitu tubuh menjadi gelap kehitaman, produksi lendir berlebihan, bintik- bintik putih di seluruh bagian tubuh, terjadinya pembengkakan pada mata dan iritasi serta pembengkakan abdomen.
3. Kerusakan yang terjadi akibat VNN pada jaringan otak dan mata yaitu terdapatnya vacuola, nekrosis, degradasi sel dan hemoragi. Tingkat kerusakan dapat dilihat dari jumlah vakuola yang ada dalam jaringan, banyaknya lapisan nekrosis, terdapatnya hemoragi serta terjadinya degradasi sel.

V.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian korelasi antara tingkah laku, makropatologi dan histopatologi pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*) yang terinfeksi virus *Viral nervus necrosis* (VNN) ini diharapkan dapat dilakukan kelanjutan, yaitu dengan solusi untuk mencegah atau mengobati ikan yang terinfeksi oleh penyakit virus ini.

DAFTAR PUSTAKA

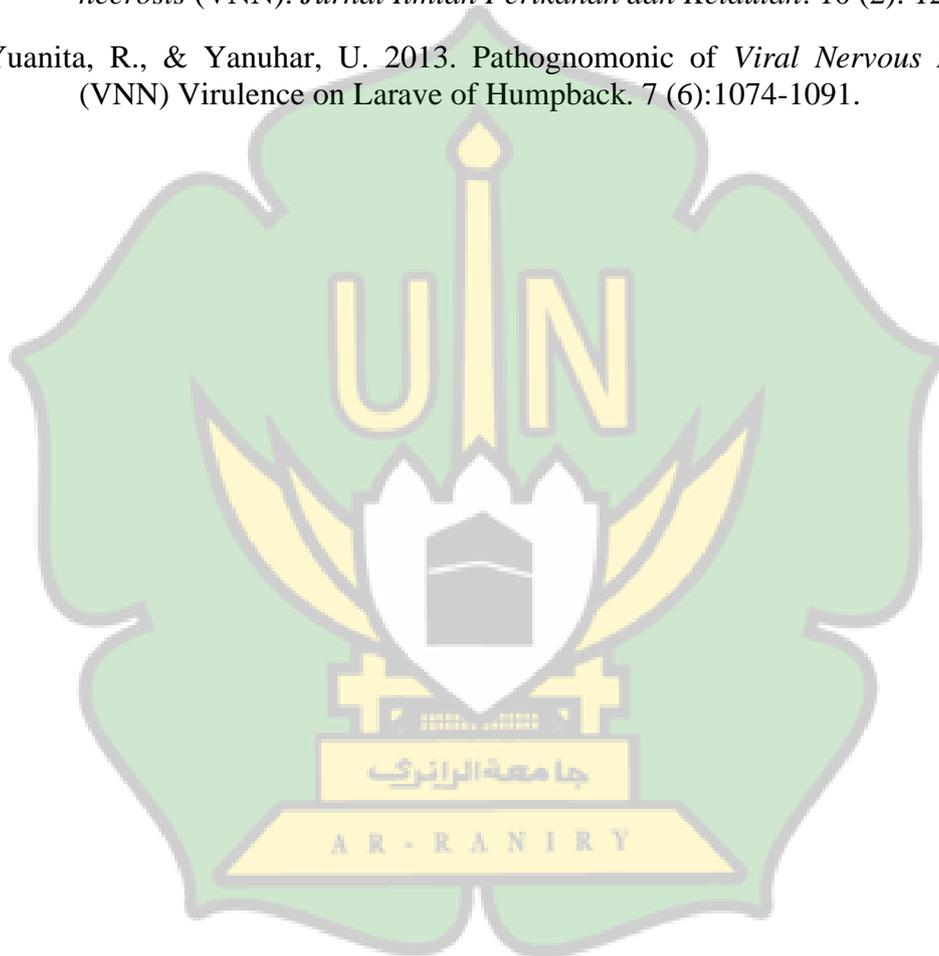
- Agusriana. 2014. Tingkat Kematangan Gonad Ikan Kerling (*Tortambroides*) di Daerah Aliran Sungai Jambak Meureubo Kecamatan Pante Ceureumen Pendekatan Histologi. *Skripsi*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Teuku Umar.
- Amalia, N., & Prayitno, B. S. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) untuk Menginaktif *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada Ikan Kerapu Bebek (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 1 (1): 264- 278.
- Anagha, J., Peer, V, Y., & Michoel, T. 2011. *Structural and Functional Organization of RNA Regulons in the Post- Transcription Regulatory Network of Yeast*. *Nucleic Acids Research*. 39 (21): 9108- 9117.
- Asrazitah, A, R. Julian, R. & Ahemad, S. 2014. First Report of *Megalocytivirus* (*Iridoviridae*) in *Grouper Culture* in Sabah, Malaysia. *International Journal Mikrobiology*. Appl, Sci. 3: 896- 909.
- Adriani, T, D., & Koesharyani, I. 2017. Infeksi Penyakit Ikan *Banggai Cardinal* (*Pterapogon kauderni*) dalam Rantai Perdagangan. *Jurnal Riset Akuakultur*.12 (3): 283-294.
- Berian, J., Fitri, A., & Isnaini. 2012. Laju Pertumbuhan Ikan Kakap Putih dengan Pemberian Pakan yang Berbeda. *Jurnal Maspari*. 3 (1): 56-63.
- Budiarto, R, B. 2015. *Polymease Chain Reaction* (PCR): Perkembangan dan Peranannya dalam Diagnostik Kesehatan. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. *Biotrends*. 6 (2): 29- 30.
- Crane, M., & Hyatt, A. 2011. *Viruses of Fish. An Overview of Significant Pathogens*. *Viruses*. 3: 2052- 2046.
- Ethistham, M., Wani, F., Kaur, P., & Nissar, S. 2016. *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Back to Basic. *Indian Journal of Contemporary Dentistry*. 4 (2).
- Fahrur, R.. 2013. *Penanganan Hama dan Penyakit Kelautan pada Ikan Kakap Putih*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Pusat Penyuluhan dan Perikanan Press. Jakarta.
- FAO. 2007. *The States of World Fisheries and Aquaculture 2006*. Rome: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
- Fathoni, A, A. 2019. Analisis Histopatologi Ikan Kerapu Cantang (*Epinepleus* sp.) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan *Treatment Dunaliella salina*. *Skripsi*. Universitas Brawijaya, Malang.

- Filtratin, E. & Manan, A. 2015. Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada Ikan dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (VNN). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7 (2):149.
- Fraga, D., Meulia, T., & Fenster, S. 2008. *Real Time-PCR*. Current Protocols Essential Laboratory Techniques.
- Gomez, D, K., Matsuoka, S., Mori, K., Okinaka, Y., Park S, C. & Nakai, T. 2009. Genetic Analysis and Pathogenicity of Betanodavirus Isolated from Wild Redspotted Grouper (*Epinephelus akaraa*) with Clinical Signs. *Arch Virol*. 154: 343- 346.
- Glenn, S., Bosmans, J., & Humphrey. 2007. Northern Territory Barramundi Farming Handbook. Departement of Primary Industri. *Fisheries and Mines*. Australia.
- Hardiyanti, H. 2016. Histologis Sistem Respirasi Ikan Lele Lokal (*Clarias batrachus*). *Skripsi*. Universitas Syiah Kuala.
- Irfan, A. 2009. Hama dan Penyakit pada Kultivan Ikan. <https://id.scribd.com/doc/21840132/hama-dan-penyakit>. Universitas Riau. Fakultas Perikanan Riau.
- Itis.gov, 2021. www.itis.gov., diakses Maret 2021.
- Jamin, J., & Erlangga, E. 2016. Pengaruh Insektisida Golongan Organ ofosfat Terhadap Benih Ikan Nila Gift (*Oreochromis niloticus*, *Bleeker*) Analisis Histologi Hati dan Insang. *Aquatic Science Journal*. 3 (2).
- Kabarnusa.com. 2017. <http://www.kabarnusa.com/2016/01/tuna-dan-kakap-dominasi-ekspor>
- Kokawa, Y., Takami, I., Nishizawa, T. & Yoshimizu M. 2008. *A Mixed Infection in Sevenband Grouper (Epinephelus septemfasciatus) affected with Viral Nervous Necrosis* (VNN). *Aquaculture*. 284: 41- 45.
- Koesharyani, I., Gardenia, L., Widowati, Z., Khumairaa, K. & Rustianti, D. Studi Kasus Infeksi Tilapia Lake Virus (TiLV) pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 13 (1): 85- 92.
- Kkp.go.id. 2018. <http://kp.go.id/bpblbatam/artikel/7696-teknik-pembesaran-ikan-kakap-putih-lates-calcarifer>.
- Kkp.go.id. 2017. Penanganan Penyakit pada Usaha Budidaya Ikan Laut. <https://www.djpb.kkp.go.id/index.php/mobile/arsip/file/599/leaflet-penyakit-ikan-laut.pdf/>.
- Lio-Po, G, D. & De La Pena, L.D. 2004. Viral disease. Diseases of culture Grouper. ESAFDEC envernment of Japan Fund. Lo, Benny K. Antybody Engineering. Method and protocols. Humana Press, 562 pp.

- Mahardika, K., Koesharyani, I., Prijono, A. & Yuasa, K. 2017. Infeksi Iridovirus pada Induk Kerapu Lumpur (*Epinephelus coiodes*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 9 (1): 49- 54.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Asih, Y., N., Muzaki, A., Giri. N, A, I. 2018. Aplikasi Vaksin Ivalen (VNN dan GSDIV) pada Pemeliharaan Larva Ikan Kerapu Sunu (*Plectropomus leopardus*). *Jurnal Riset Akuakultur*. 13 (4):337-346.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Satriani, E. M., & Zafran. 2020. Pemberian Ekstrak Jeruk Lemon (*Citrus limon*) pada Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*) dalam Pencegahan Infeksi VNN. *Journal of Fisheries and Marine Research*. 4 (2): 187- 193.
- Marc, A. S., & Kyle, A. R. “Kary B. Mullis- Nobel Laureate for Product to Replicate DNA”. Mayo Clinic Proceeding. *Biotrends*. 6 (2): 37.
- Muhammad, R, G., Mahludin, B., & Asda, R. 2019. Analisis Daya Saing Ikan Tuna di Provinsi Gorontalo. *Jambura Agribusiness Journal*. 1 (1):36-37.
- Mulyani, M, F, A. 2014. Uji Toksisitas dan Perubahan Struktur Mikroanatomi Insang Ikan Nila Larasati (*Oreochromis niloticus* Var.) yang Dipapar Timbal Asetat. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Novisa, E., Tarsim., & Harpeni, E. 2015. Pengaruh Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Histopatology Organ Kakap Putih (*Lates calcarifer*) yang Terinfeksi Viral Nervous Necrosis Secara Buatan. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*. 2 (3).
- Ontas, C., Baba, E., Kaplaner, E., Kucukaidin, S., Ozturk, M., & Ercan, D, M. 2016. *Antibacterial Activity of Citrus limon Peel Essential Oil and Argania spinosa Oil Against Fish Pathogenic Bacteria*. Mutla sitki Kocman University. Faculty of Fishiries. Departement of Aquaculture. Turkey.
- Perceka, M, L. 2011. Analisis Deskriptif Kemunduran Mutu Kulit Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Selama Penyimpanan Suhu Chilling Melalui Pengamatan Histologis. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 52 hal.
- Putri, R, R., Yanuhar, U. & Suryanto, M, A. 2013. Perubahan Struktur Jaringan Mata dan Otak pada Larva Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes altivelis*) yang Terinveksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan Pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM). *MSpi Student Journal*. 1 (1): 1- 10.
- Purnomo, R., Hartono, P., & Nirasari. 2002. *Pengelolaan Kesehatan Ikan Budidaya Laut*. Balai Budidaya Lampung.
- Ransangan, J. & Manin, B.O. 2012. Genome analysis of Betanodavirus from cultured marine fish species in Malaysia. *Veterinary microbiology*. 156: 16-44.

- Rani, Y., Rahardjo, S.S.P., & Effendi, V. I. A. 2019. Isoptahology of Brain, Eyes and Intestines in Cantang Grouper (*Epinephelus fuuscoguttatus* x *Epinephelus lanceolatus*) Exposed to Viral Nervous Necrosis Through the Addition *Dunaliella salina* on Dietary. *Russian Journal of Agriculture Socioeconomic Sciences*. 95 (11): 206- 213.
- Rizka, R, D, & Diniarti, N, A. 2013. Pengaruh Perubahan Salinitas Terhadap Pertumbuhan dan Sintasan Ikan Kakap Putih (*Lates callcarifer* Bloch). *Jurnal Kelautan*. 16 (1): 47- 56.
- Salikin, Q, R., Sartijo & Prayitno, B, S. 2014. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Mortalitas dan Histologi Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) yang Diinfeksi Bakteri *Aeromonas caviae*. *Jurnal of Aquaculture Management and Technology*. 3 (3): 43- 50.
- Sengagau, B. Uji Resisten Terhadap Virus VNN pada Beberapa Spesies Ikan Ekonomi. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 1 (1): 43- 48.
- Sudaryatama, E., P. & Lestari, T, A. 2014. Imunohistokimia Patogenesis *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Isolat Lapangan Bali yang diinfeksi pada Kerapu Macan Budidaya. *Jurnal Fakultas Kedokteran Hewan*. 2 (2): 54-61.
- Suprpto, H., Suwarno, S. & Pradana, S, M. 2015. Deteksi *Koi Herpesvirus* (KHV) pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diinfeksi Secara Buatan. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7 (1): 39-45.
- Suprobowo, D, O., & Kurniati, I. 2018. *Virologi*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Suwarsito & Mufidah, H. 2011. *Diagnosa Penyakit Ikan Sistem Pakar (Diagnosing Fish Deases Using Expert System)*. Universitas Puwerkerto. Pendidikan Geografi FKIP. 1 (4): 131.
- Schipp, G., Jerome B., and John H. 2007. *Northen Territory Barramundi Farming Handbook*. Department of Primary Industri, Fisheries and Mines. Australia.
- Tabel Komposisi R - R Pangan Indonesia, 2019. https://m.andrafarm.com/_andra.php?_i=daftartkpi&kmakan=GR030#Giz . Diakses 17 Maret 2021.
- Taukhid., Sumiati, T., & Adriyanto, S. 2018. Efektivitas Metode Aplikasi Vaksin Trivalen untuk Pencegahan Penyakit Bakteri Potensial pada Budidaya Ikan Air Tawar. *Jurnal Riset Akuakultur*. 13 (1): 67-76.
- Thiery, R., Cozien, J., Cabon, J., Lamor, F., Baud, M., & Schneeman, A. 2006. Induction of a Protctive Immune Response Against *Viral Nervous Necrosis* in the European Sea Bass *Dicentrarchus Labrax* by Using Betanodavirus Virus- Like Particles. *Journal of Virology*. 80 (20): 10201- 10207.

- Wasito, R., Wuryastuti, H. & Sutrisno, B. 2013. Gambaran Histopatologi Insang Ikan Mas di Daerah Endemik *Koi Herpesvirus*. *Jurnal Veteriner*. 14 (3): 344- 340.
- Yanong, R, E, P. 2016. *Viral Nervous Necrosis (Betanodavirus) Infections in Fish. Departement of Fisheries and Aquatic Sciences. UF/IFAS Extension. University of Florida. 6pp.*
- Yuwanita, R., Nanik, R, B., & Handiya, F, E, P. 2018. Pengaruh *Dunaliella salina* Terhadap olimorfonuklear Leukosit Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus fuscoguttatus* x *Epinephelus lanceotalus*) yang diinfeksi *Viral nervous necrosis* (VNN). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 10 (2): 124 - 128.
- Yuanita, R., & Yanuhar, U. 2013. Pathognomonic of *Viral Nervous Necrotic* (VNN) Virulence on Larave of Humpback. 7 (6):1074-1091.



LAMPIRAN

Lampiran I. Diagram alir dan bahan kimia yang digunakan untuk proses jaringan pada *automatic tissue processor*.

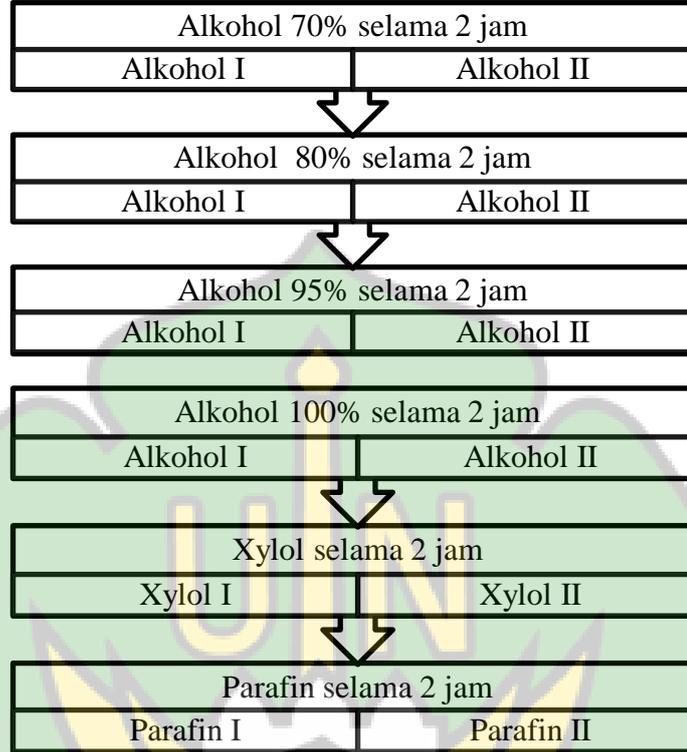


Diagram alir dan bahan kimia yang digunakan pada *automatic tissue processor*

Lampiran 2. Diagram alir dan bahan kimia untuk pewarnaan *haematoxylin- eosin*

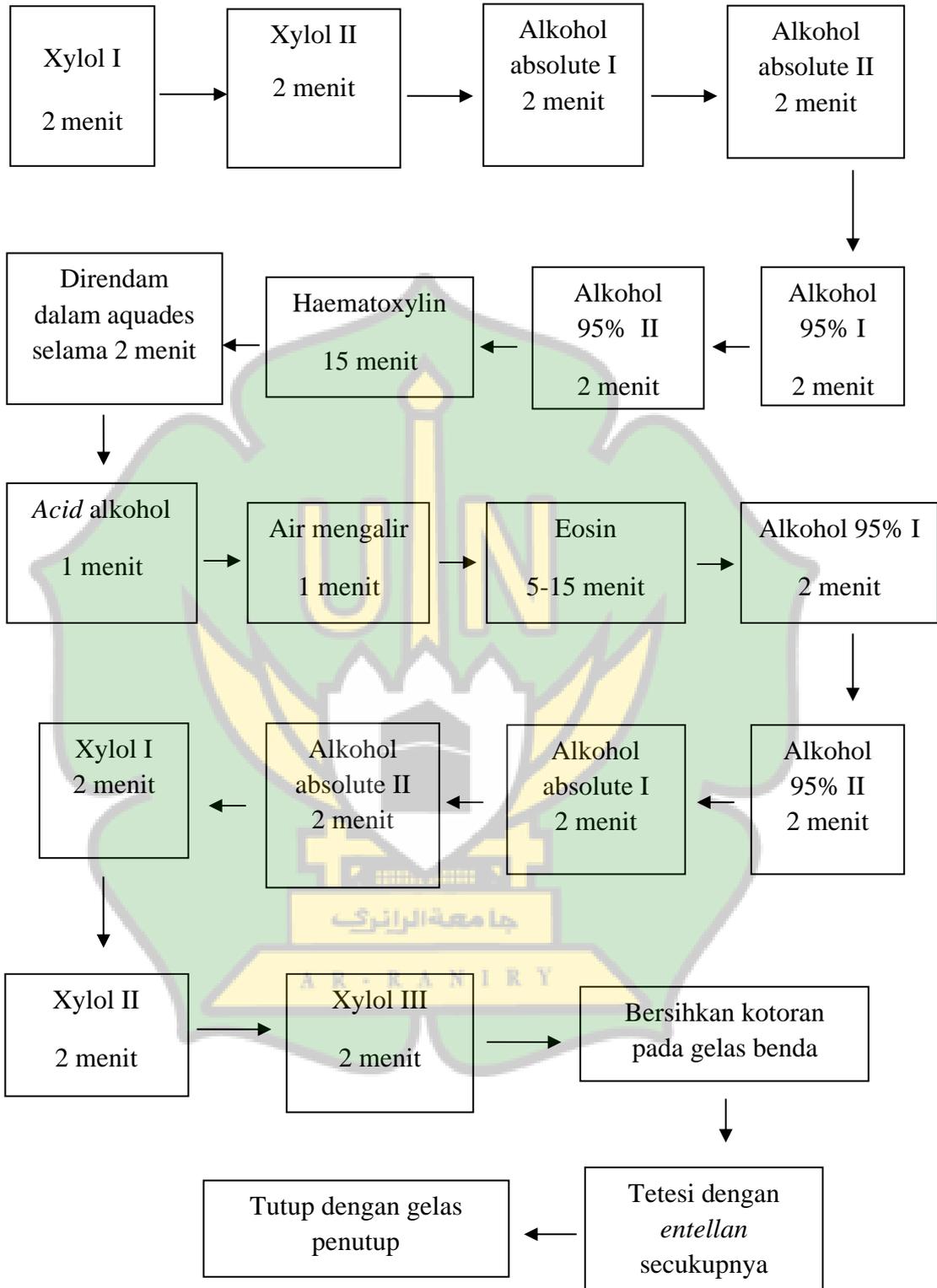


Diagram alir dan bahan kimia pewarnaan *haematoxylin- eosin*

Lampiran 3. Proses ekstraksi sampel pengujian VNN

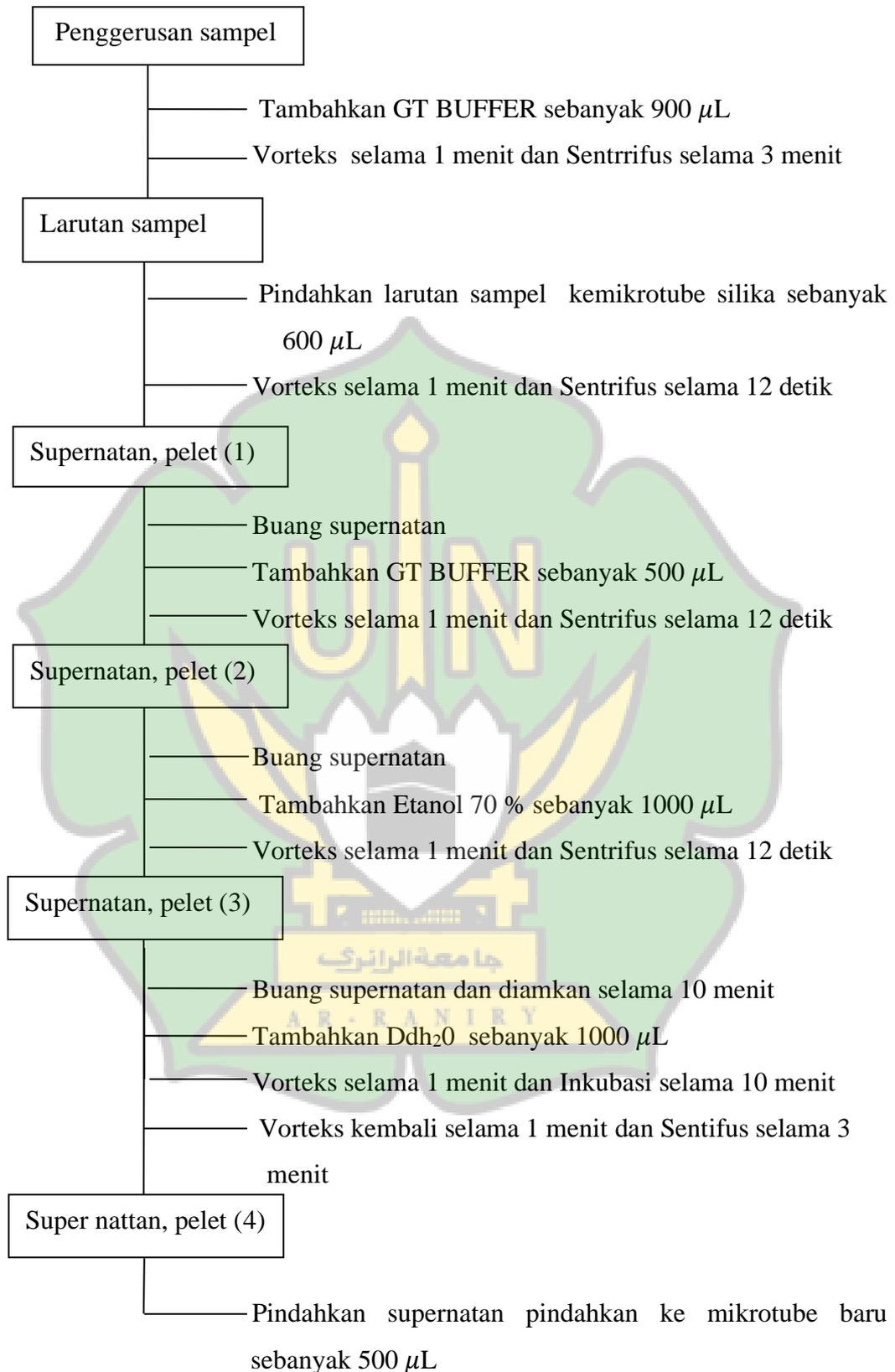
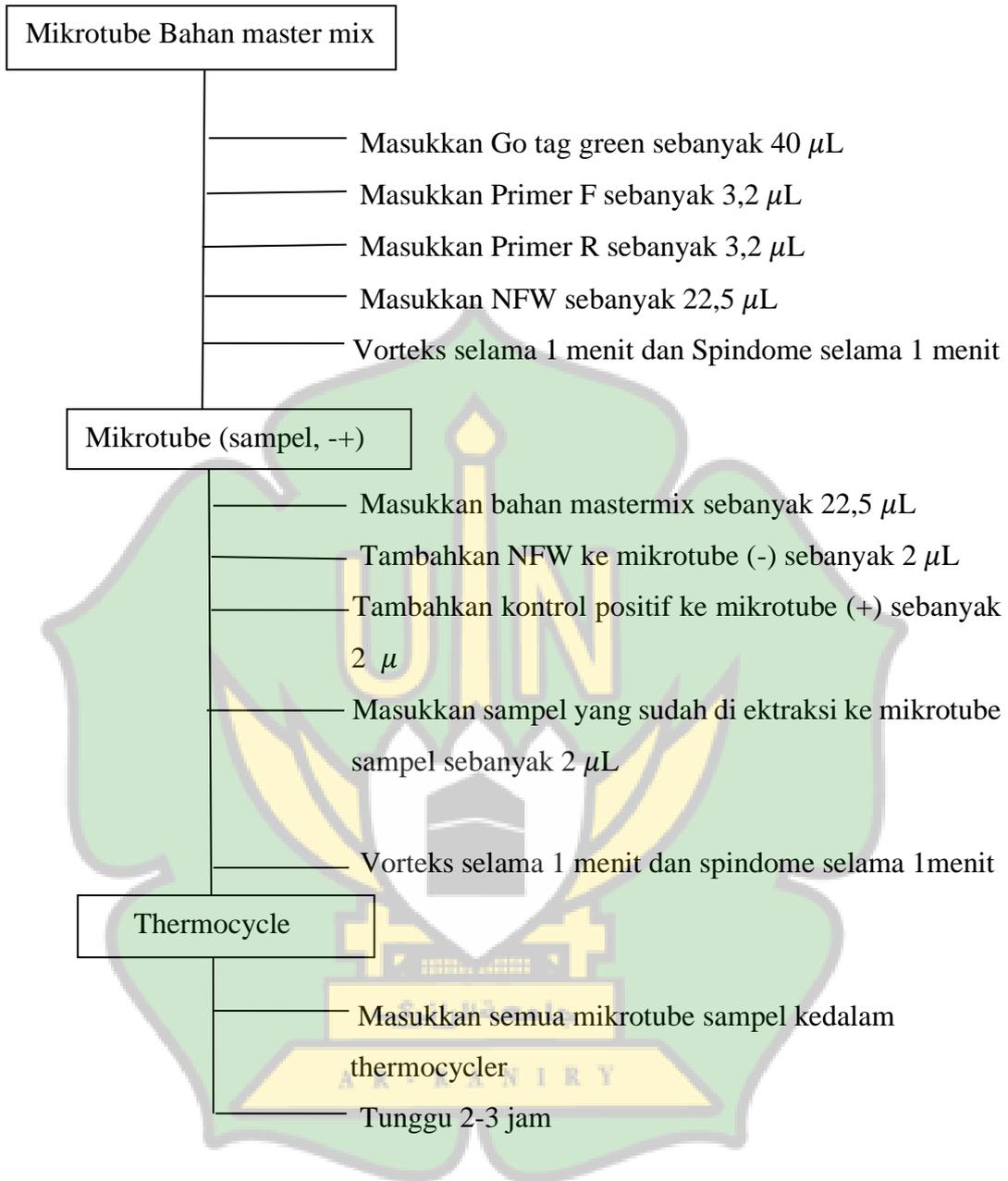


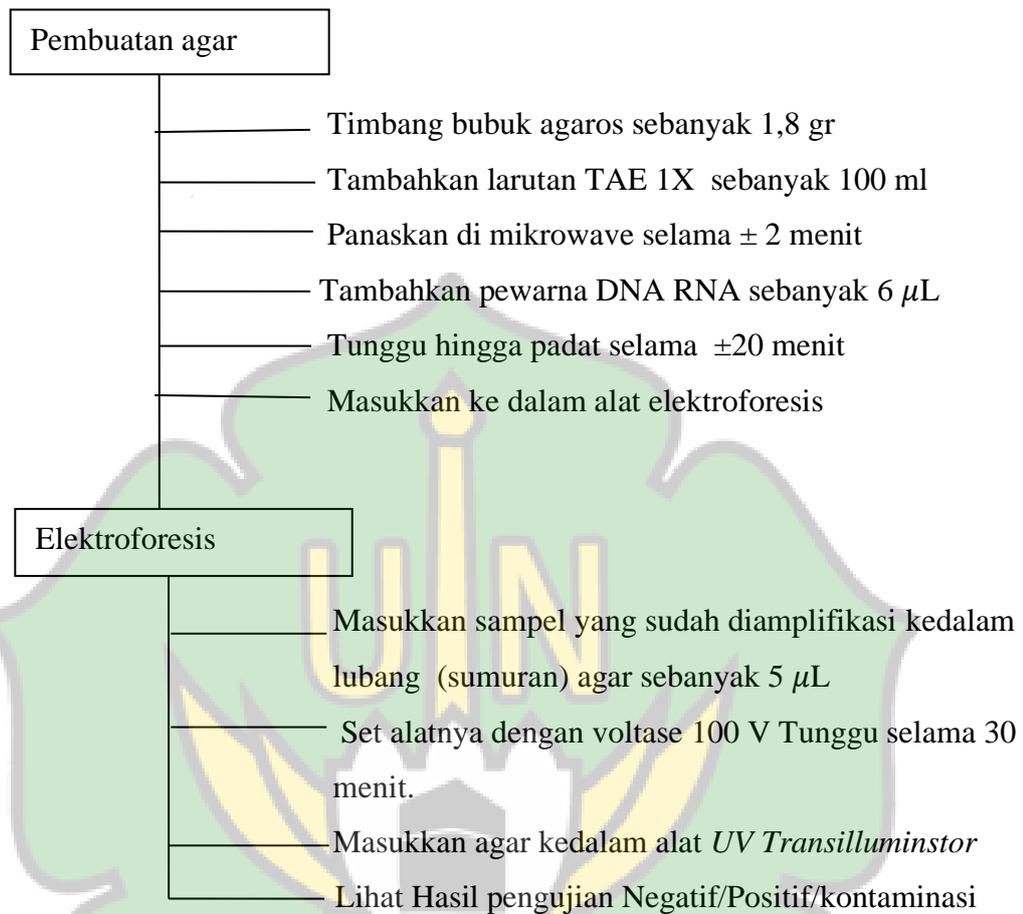
Diagram alir proses ekstraksi sampel pada pengujian VNN pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*)

Lampiran 4. Proses pembuatan master mix secara umum



Bagan Tahap Amplifikasi sampel pada pengujian VNN pada ikan kakap putih
(*Lates calcarifer*)

Lampiran 5. Proses pembuatan agarose pada tahap amplifikasi



Bagan tahapan elektroforesis pada pengujian VNN pada ikan kakap putih (*Lates calcarifer*)