

DETEKSI PENYAKIT TILV (*Tilapia Lake Virus*) PADA IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*) DENGAN METODE RT-PCR DI BALAI KIPM MEDAN I

DETECTION OF TILV (Tilapia Lake Virus) DISEASE IN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) WITH RT-PCR METHODS AT THE FISH QUARANTINE STATION FOR QUALITY CONTROL AND SAFETY OF FISHERY PRODUCTS IN MEDAN I

Mulana Sari Saragih^{1*)} dan Junaidi¹⁾

¹⁾Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Medan I

^{*)}alamat korespondensi: lana.saragih@gmail.com

Abstrak

Akhir-akhir ini di beberapa daerah terjadi kasus kematian pada budidaya ikan nila secara massal yang kemungkinan infeksi penyakit TiLV. Diagnosa TILV yang menyerang ikan nila dapat dilakukan secara dini menggunakan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) secara konvensional sehingga dapat diambil tindakan pencegahan khususnya pada benur ikan nila yang akan ditebar. Metode pemeriksaan tersebut mampu mendeteksi virus melalui keberadaan RNA virus. Tujuan penelitian adalah mengetahui efektivitas metode RT-PCR dalam mendeteksi penyakit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) di BKIPM Medan I. Metode penelitian menggunakan metode eksperimen bersifat kualitatif dilaksanakan di Laboratorium Biomolekuler di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM Medan I). Sampel ikan nila berasal dari tambak ikan nila di Kecamatan Porsea dan Laguboti, Toba Samosir, Sumatera Utara yang terdiri atas masing-masing 15 ekor ikan nila berumur 30 hari atau ikan nila yang sudah mengalami gejala klinis, kemudian dilakukan ekstraksi RNA sampel nila. Analisis deteksi RT-PCR menggunakan sampel organ otak, ginjal, limpa dan hati, selanjutnya dilakukan sekuensing. Data hasil amplifikasi dianalisis menggunakan metode deskriptif komparatif yaitu metode pembahasan yang memaparkan atau menggambarkan kegiatan yang dilakukan serta membandingkan dengan literatur. Hasil penelitian menggunakan metode RT-PCR terhadap sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dari kecamatan Porsea menunjukkan positif terinfeksi TILV dengan hasil elektroforesis pita RNA TiLV muncul pada 250 bp dan persentase infestasi sebesar 66,67%. Sedangkan ikan yang berasal dari kecamatan Laguboti tidak ada indikasi terserang penyakit TILV dengan persentase infestasi nila (*Oreochromis niloticus*) yang terserang penyakit *Tilapia Lake Virus* (TiLV) sebesar 0%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa RT-PCR efektif mendeteksi penyakit TILV pada ikan nila.

Kata Kunci : Nila; Seminested RT-PCR; TiLV.

Abstract

Lately in some areas there have been cases of death in the cultivation of tilapia fish en masse which is likely to be an infection of TiLV disease. TILV that attacks tilapia can be quick diagnosed with RT - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) method. This examination method detect the virus through the presence of its RNA. The purpose of this study is to determine the effectiveness of RT-PCR method in detecting disease in tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the Fish Quarantine Station for Quality Control and Safety of Fishery Products in Medan I (BKIPM Medan I). Qualitative research method was conducted in BKIPM Medan I.

Tilapia sample were taken from tilapia pond in Porsea and Laguboti, Toba Samosir, North Sumatera. Fifteen tilapias were taken from each pond. The sample criteria was 30 days old tilapia or tilapia that shown clinical symptom. RT-PCR method was perform at sample brain, kidney, and liver. The result from RT-PCR than analyzed and compared with the literature. The results of the study using the RT-PCR method on samples of tilapia (*Oreochromis niloticus*) from Porsea sub-district showed positive infected with TiLV with the results of electrophoresis rna band TiLV appeared at 250 bp and the percentage of infestation of 66.67%. While fish from Laguboti subdistrict there is no indication of TiLV disease with the percentage of tilapia infestation (*Oreochromis niloticus*) affected by Tilapia Lake Virus (TiLV) disease by 0%. While fish from Laguboti subdistrict there is no indication of TiLV disease with the percentage of tilapia infestation (*Oreochromis niloticus*) affected by Tilapia Lake Virus (TiLV) disease by 0%. So it can be concluded that RT-PCR effectively detects TiLV disease in tilapia fish.

Key words : Tilapia, Seminested RT-PCR; TiLV.

PENDAHULUAN

Budidaya ikan air tawar merupakan salah satu komoditas yang mengalami peningkatan produksi. Menurut Kementerian Perikanan dan Kelautan (2019), produksi unggulan pada budidaya ikan air tawar terus mengalami peningkatan sejak tahun 2012. Lebih lanjut, kegiatan ekspor–impor komoditas ikan air tawar setiap tahunnya juga mengalami peningkatan. Meningkatnya nilai total ekspor hasil perikanan dapat disebabkan adanya kegiatan ekspor hasil perikanan di Indonesia menuju ke berbagai Negara tujuan telah berkembang pesat. Komoditas budidaya ikan air tawar yang menjadi potensi unggulan dalam negeri, yaitu ikan lele, mas, nila, patin dan gurame (Nugroho dkk, 2017).

Menurut Rahmi (2012), ikan nila merupakan salah satu komoditas ekspor unggulan yang jumlah permintaannya semakin meningkat. Permintaan yang semakin meningkat tersebut terbukti dengan meningkatnya jumlah produksi ikan nila dari tahun ke tahun terus meningkat. Ada tiga produsen ikan nila terbesar di dunia yaitu Republik Rakyat Cina (1,78 MMT), Indonesia (1,12 MMT), dan Mesir (0,88 MMT) (FAO, 2017a).

Akhir-akhir ini di beberapa daerah terjadi kasus kematian pada budidaya ikan nila secara massal yang kemungkinan infeksi penyakit TiLV. Virus ini

merupakan genus dari famili Orthomyxoviridae, yang mereplikasi di inti sel pada jaringan ikan. Tilapia Lake Virus (TiLV) sendiri merupakan infeksi virus yang bersifat akut dan menyebabkan kerugian yang besar dalam waktu singkat. Virus ini dapat menyerang ikan air tawar dan menyebabkan kerugian besar dalam kegiatan budidaya (Koesharyani dkk, 2018). Menurut Ferguson dkk. (2014), terdapat penelitian yang menunjukkan bila strain ikan nila tertentu (secara genetik ikan nila jantan) mengalami tingkat kematian yang jauh lebih rendah (10-20%) dibandingkan dengan strain lainnya.

TiLV yang pertama kali dilaporkan terjadi di Israel menyebar ke Ekuador dan Kolombia (Eyngor et al., 2014; Bacharach et al., 2016) dan ke beberapa negara seperti Mesir (Fathi et al., 2017 dan Nicholson et al., 2017), Thailand (Dong et al., 2017a; 2017b; Surachetpong et al., 2017), serta India (Behera et al., 2017), serta Malaysia (Amal et al., 2017).

Di Indonesia sejak beberapa tahun belakangan ini TiLV merupakan salah satu jenis virus yang masuk kedalam HPIK gol I (Sumber: No.108/KEP-BKIPM/2017), sehingga berdasarkan uraian diatas perlu dilakukan pemeriksaan lebih lanjut untuk mengetahui adanya serangan TiLV pada ikan nila. Selain itu, penyakit lain yang dapat menyerang budidaya ikan nila walaupun kasus ini belum pernah

ditemukan di Indonesia adalah infeksi betanoda virus (RNA virus) yang biasa ditemukan pada ikan kakap/ kerapu. Betanoda virus ini menyerang larva ikan nila ukuran 0-7 setelah menetas (post-hatching larvae) dengan gejala adanya kerusakan jaringan pada bagian otak berupa vakuolasi (Bigarre et al., 2009).

Secara umum, kerugian akibat adanya penyakit khususnya infeksi TiLV mengakibatkan kerugian sosial ekonomi dan dampaknya terhadap ketahanan pangan, tetapi tidak berdampak terhadap kesehatan manusia (Jansen & Mohan, 2017). TiLV sendiri sedang dipertimbangkan untuk masuk ke dalam daftar OIE, tetapi hingga saat ini TiLV tidak memenuhi semua kriteria untuk terdaftar sebagai mana dijelaskan dalam Bab 1.2. dari kode kesehatan hewan akuatik (OIE, 2016).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mendeteksi adanya infeksi TiLV pada komoditas ikan nila dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Virus yang menginfeksi ikan nila dalam jumlah sedikit dan belum menimbulkan gejala penyakit pada ikan nila dapat dideteksi dengan menggunakan alat PCR. Keberadaan virus dapat dilacak sejak dini karena bahan genetik virus yang jumlahnya sedikit dapat digandakan dengan PCR sehingga keberadaannya segera dilacak dan dapat diambil tindakan pencegahan khususnya pada benih ikan nila yang akan ditebar.

Teknik pemeriksaan virus menggunakan metode RT-PCR dimulai dari penerimaan dan pendataan sampel, nekropsi, fiksasi, ekstrasi, amplifikasi dan pembacaan hasil. Deteksi keberadaan DNA dilakukan pada akhir reaksi dan pengamatan keberadaan DNA hasil amplifikasi dilakukan di gel agarose setelah dilakukan proses elektroforesis. Tujuan penelitian ini sendiri adalah untuk mendeteksi adanya infeksi TiLV metode RT-PCR dalam mendeteksi penyakit TiLV pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dari kecamatan Porsea dan Laguboti kabupaten

Toba Samosir.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang diambil pada bulan Juni hingga Agustus Tahun 2020. Ikan uji berasal dari beberapa sentral budidaya di Kecamatan Porsea dan Laguboti kabupaten Toba Samosir, Sumatera Utara. Disetiap lokasi diambil sampel ikan sebanyak 15 ekor sampel ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) secara acak menggunakan alat tangkap serok. Organ target yang digunakan untuk isolasi RNA adalah otak, ginjal, hati dan mata. Otak, ginjal, hati dan mata dipisahkan dari ikan dengan menggunakan gunting bedah, kemudian difiksasi dengan alkohol 96%. Ikan yang diperoleh selanjutnya diperiksa secara morfologi dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium Biologi Molekuler Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Medan I.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : freezer (-20°C atau lebih rendah), heating block atau waterbath, laminar flow, mesin PCR, mikropipet berbagai ukuran 0,1 μ l – 1000 μ l, alat bedah pinset dan gunting, sentrifius, mini sentrifius, peralatan gelas, timbangan analitik dengan ketelitian 0,1 μ g. Sedangkan bahan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Agarose, Aquadest, Nuclease Free Water (NFW), Alkohol Absolut, Pewarna gel agar (*Ethidium bromida*), Kontrol Positif TiLV, Kontrol Negatif (ddH₂O), 100 bp ladder DNA marker (ready to use), Primer (Dong HT et al, 2017.) (ext-1:5'-TATGCAGTACTTCCCTGCC-3'; ME1 : 5'- GTTGGGCACAAGGCATCCTA-3', ME2 : 5;-TATCACGTGCGTACTCGTTCAGT-3'), TAE buffer 1 X, Acces Quick RT-PCR, AMV RT, Go Taq Green, Master Mix PCR, Reverse Transcription kit, Nuclease free water (NFW) filtered microcip berbagai ukuran 0,1 μ l – 1000 μ l. Pada deteksi penyakit TiLV pada ikan nila ini

sendiri, terdapat beberapa tahapan yang harus dilalui antara lain :

Fiksasi

Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan struktur sel dan jaringan agar tidak terjadi kerusakan paska kematian (No. 73/KEP-BKIPM/2017). Fiksasi sampel dilakukan dengan perendaman sampel menggunakan larutan ethanol 96%. Larutan ethanol akan langsung meresap dan mengawetkan DNA yang terdapat di dalam sel dengan cepat, sehingga kualitas DNA dapat terjaga dengan baik (Marwayana, 2015).

Ekstraksi RNA

Proses ekstraksi RNA dilakukan menggunakan ekstraksi RNA (Gene Reach Biotechnology Corp) dengan metode sesuai dengan protokol yang tersedia. Organ otak, ginjal, hati dan mata ikan nila seberat 25 mg dan 500 μ l RNA Extraction Solution dicampur dalam mikrotube 1,5 mL kemudian digerus hingga homogen dan di inkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 100 μ l CHCl₃ dan di vortex selama 20 detik lalu di inkubasi pada suhu ruang selama 3 menit. Dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 15 menit dan pindahkan supernatan sebanyak 200 μ l ke dalam mikrotube baru ukuran 1,5 ml lalu ditambahkan 200 μ l isopropanol.

Dilanjutkan dengan vortex dan sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Di buang isopropanol dan di cuci pellet dengan alkohol 75 % sebanyak 500 μ l lalu di sentrifugasi pada kecepatan 9000 rpm selama 5 menit. Dibuang alkohol dan di keringkan pellet. Dilarutkan pellet dengan DEPC ddH₂O dan RNA siap di gunakan.

Amplifikasi PCR

Kegiatan amplifikasi ini bertujuan untuk menggandakan DNA yaitu melalui 2 kali proses amplifikasi, pada amplifikasi pertama atau First Step PCR dibutuhkan komponen yaitu: GoTaq Green sebanyak 12 μ l dan Enzyme RT (AMV) sebanyak 0,5 μ l, primer Ext 1 (10 μ M) sebanyak 1 μ l, primer ME 1 (10 μ M) sebanyak 1 μ l,

primer ME 2 (10 μ M) sebanyak 1 μ l, DNA Template 4 μ l, ddH₂O 5,5 μ l, sehingga didapatkan volume total sebanyak 25 μ l.

Setelah itu dilakukan pengaturan suhu dan siklus thermocycler, yaitu tahap reverse transcription (50°C) selama 30 menit sebanyak 1 siklus, pre-heat (94°C) selama 2 menit sebanyak 1 siklus, tahap denaturation (94°C) selama 30 detik sebanyak 30 siklus, tahap annealing (60°C) selama 30 detik sebanyak 30 siklus, tahap extension (72°C) selama 30 detik sebanyak 30 siklus, dan tahap final elongation (72°C) selama 5 menit sebanyak 1 siklus.

Nested PCR dilakukan setelah PCR tahap pertama selesai. Proses amplifikasi pertama akan menghasilkan produk First PCR atau yang biasa disebut *amplicon*, dan sebanyak 1-2 μ l produk amplicon ini akan digunakan sebagai sampel untuk amplifikasi kedua dari metode Nested PCR. Pada nested PCR, digunakan formulasi bahan master mix hingga 25 μ l yaitu Primer ME 1 (10 μ M) sebanyak 1 μ l, primer ME 2 (10 μ M) sebanyak 1 μ l, GoTaq Green sebanyak 12,5 μ l, template (DNA) sebanyak 2 μ l dan DNase-free water sebanyak 8,5 μ l.

Kemudian dilakukan pengaturan suhu dan siklus thermocycler, yaitu tahap reverse transcription (94°C) selama 2 menit sebanyak 1 siklus, tahap denaturation (94°C) selama 30 detik sebanyak 25 siklus, tahap annealing (60°C) selama 30 detik sebanyak 25 siklus, tahap extension (72°C) selama 30 detik sebanyak 25 siklus, dan tahap final ekstensi (72°C) selama 5 menit sebanyak 1 siklus. Proses amplifikasi kedua atau Nested PCR ini merupakan proses akhir dari kegiatan amplifikasi TILV dan kemudian akan dilakukan proses selanjutnya yaitu elektroforesis.

Elektroforesis

Amplicon yang didapat dari hasil nested amplifikasi dianalisa lebih lanjut dengan elektroforesis pada gel agarosa 1% setelah sebelumnya diberi pewarnaan dengan 0,05% ethidium bromide untuk menunjukkan hasil dari TILV pada ikan

nila. Sampel yang muncul dengan menggunakan pembanding DNA Marker. Produk PCR diamati pada gel agarose 1% dalam 1x buffer TBE. Kemudian didokumentasikan dengan UV

transiluminator. Sekuen pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi TiLV dengan metode semi-nested RT PCR pada ikan nila dapat dilihat pada tabel 1 dibawah.

Tabel 1. Sekuen pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi TiLV dengan metode semi-nested RT PCR pada ikan nila

Nama Primer	Sekuensi	bp	Referensi
Ext-1	TATGCAGTACTTTCCCTGCC	415	Eyngo <i>et al.</i> (2014)
ME 1	GTTGGGCACAAGGCATCCTA		
ME2	TATCACGTGCGTACTCGTTCACT	250	Tsofack <i>et al.</i> (2016)

HASIL

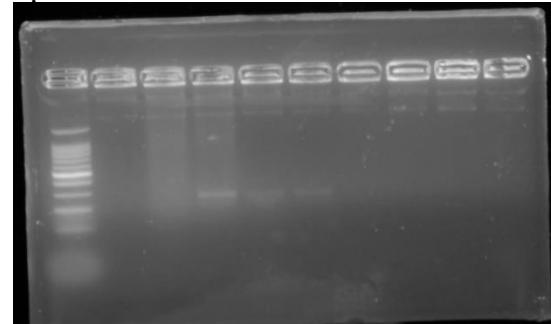
Dari Hasil Pengujian sampel Ikan Nila yang di ambil dari dua wilayah berbeda yaitu kecamatan Porsea dan Laguboti kabupaten Toba Samosir pada sampel ikan nila umur 30 hari, didapat hasil pengujian yang menunjukkan Positif *Tilapia Lake Virus* (TiLV) pada sampel ikan Nila yang berasal dari kecamatan Porsea, sedangkan sampel ikan nila yang berasal dari kecamatan Laguboti terdeteksi negatif *Tilapia Lake Virus* (TiLV). Dari hasil uji terhadap sampel yang ada pada semi nested dengan 250 bp menunjukkan hasil yang signifikan terhadap munculnya *Tilapia Lake Virus* (TiLV).

Analisis semi-nested selanjutnya dilakukan untuk menentukan lebih pasti ada tidaknya organ yang terpapar oleh TiLV, mengingat metode tersebut dapat meningkatkan sensitivitas deteksi. Hasil analisis menunjukkan bahwa pada organ hati, ginjal dan limpa terlihat terjadi infeksi virus TiLV dengan adanya pita DNA dengan berat molekul 250 bp.

Pada first step PCR amplikon yang dielektroforesis dikatakan positif jika terbaca atau terdapat pita tunggal pada 415 bp dan untuk nested PCR dikatakan positif jika terbaca atau terdapat pita tunggal pada 250 bp hal ini menunjukkan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diuji tidak bebas dari serangan *Tilapia Lake Virus* (TiLV).

Pada (gambar 1) terlihat bahwa sumur 1 adalah DNA Marker ladder 100 bp, sumur 2 dan 3 adalah kontrol negatif,

sumur 4 adalah kontrol positif sedangkan sumur 5 sampai sumur 10 adalah sampel yang di uji menunjukkan adanya pita DNA TILV. Sampel A2, A3 (gambar 1) dinyatakan positif terinfeksi TILV dan sampel A1 dinyatakan tidak terinfeksi TILV. Sesuai dengan pendapat Natividad *et al.*, 2006 bahwa sampel yang terinfeksi oleh *Tilapia Lake Virus* jika pada jalur DNA genom muncul pita DNA pada 250 bp.



Gambar 1. Hasil deteksi TILV dengan menggunakan metode PCR. Marker 100 bp, 1. Kontrol negatif; 2. Kontrol negatif; 3. Kontrol positif; 4. kecamatan Porsea; 5. kecamatan Porsea; 6. kecamatan Porsea; 7. kecamatan Laguboti; 8. kecamatan Laguboti; 9. kecamatan Laguboti.

Hasil dari identifikasi menunjukkan bahwa ikan yang berhasil dari kecamatan Porsea menunjukkan positif TILV. Terdapat ikan yang tidak menunjukkan gejala klinis tetapi terdapat pita (band) yang spesifik dengan TILV atau terhadap kontrol positifnya, yaitu di 250 bp. Metode deteksi TILV dilakukan dengan metode double step atau nested.

Berdasarkan hasil pemeriksaan

ditemukan dua sampel kolam dari enam sampel kolam yang teridentifikasi adanya infeksi TiLV pada benih ikan nila. Tilapia Like Virus merupakan virus yang sering menyerang ikan dari golongan Tilapia, seperti ikan nila *Sarotherodon (Tilapia) liargalilaeus*, *tilapia* budidaya *Oreochromis niloticus* dan ikan nila hibrida komersial (*O. niloticus* X *O.*

aureus) (Bacharach *et al.*, 2016; Ferguson *et al.*, 2014; Eyngor *et al.*, 2014). Koesharyani dkk, (2018) juga menyatakan, TiLV dapat menyerang ikan nila. Hal ini membuktikan bahwa ikan nila rentan terserang TiLV. Berikut merupakan hasil uji identifikasi TiLV pada sampel ikan yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Tabel hasil uji identifikasi TiLV pada sampel ikan

No	Asal Kecamatan	Jenis dan No Sampel	Parameter Uji	Hasil Uji
1	Porsea	Benih Nila, A1	TILV	(+) TILV
2	Porsea	Benih Nila, A2	TILV	(+) TILV
3	Porsea	Benih Nila, A3	TILV	(-) TILV
4	Lagubotti	Benih Nila, A4	TILV	(-) TILV
5	Lagubotti	Benih Nila, A5	TILV	(-) TILV
6	Lagubotti	Benih Nila, A6	TILV	(-) TILV

Keterangan: (-): hasil uji negatif; (+): hasil uji positif TILV

Berdasarkan hasil penelitian pada benih nila ditemukan adanya adanya infeksi TiLV. Virus TiLV dapat dengan mudah menyerang ikan stadia benih karena pada stadia benih sistem imun pada tubuh ikan belum berkembang secara sempurna. Hal ini sesuai dengan pendapat Tatang, (2014) pada fase benih organ-organ yang berperan dalam sistem pembentukan antibodi masih belum sempurna, sehingga benih nila mudah terserang penyakit. Pertahanan umum pada benih hanya bersifat pertahanan non spesifik, sehingga apabila terdapat serangan virus maka sistem imun belum bisa melawan virus yang masuk (Ode, 2013). Ikan yang terinfeksi virus dapat menyebabkan penularan penyakit terhadap ikan yang lain. Ikan yang dalam kondisi stress akan lebih rentang terserang penyakitnaga.

Persentase ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terserang penyakit *Tilapia Lake Virus* (TiLV) sampel dari Kecamatan Porsea sebesar 66,67 %, dan kecamatan Laguboti sebesar 0 %, ini berarti terdapat indikasi ikan yang terserang penyakit. Ikan yang terindikasi terserang *Tilapia Lake Virus* (TiLV) warna kulit tubuh gelap atau menghitam, adanya luka pada kulit, pembengkakan rongga perut, mata

mengalami exophthalmia dan buram atau katarak (Koesharyani dkk, 2018). Namun, pada ikan sampel penelitian tidak terlihat adanya kerusakan fisik, hanya menunjukkan perubahan tingkah laku, seperti pergerakan tidak aktif dan lamban. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Dong *et al.*, (2017) gejala klinis infeksi TiLV di Thailand pada ikan nila ditandai dengan nafsu makan menurun, warna tubuh menjadi pucat, berkelompok di dasar bak, pergerakan lamban, tidak aktif, dan pada akhirnya mengalami mortalitas.

Penularan penyakit TiLV dapat melalui ikan yang telah terinfeksi ke ikan yang sehat melalui media air dalam 2 - 3 hari dengan tingkat kematian mencapai 50 % (Eyngor *et al.*, 2014). Penyakit ini banyak menyerang ikan pada suhu diatas 25°C dan puncak kematian missal pada suhu 30°C (Tsofack *et al.*, 2016). Indonesia yang memiliki iklim tropis yang sangat kondusif bagi perkembangan TiLV. Ikan uji pada penelitian ini dipelihara menggunakan sistem budidaya semi intensif dengan padat tebar tinggi. Faktor timbulnya wabah penyakit TiLV adalah suhu air dan kepadatan tinggi (No.73/KEP-BKIPM/2017).

Menurut Mugimba *et al.*, (2018)

TiLV tumbuh optimum pada suhu 28°C, sehingga pada suhu >25°C dapat menunjang TiLV untuk bereplikasi dan mempercepat infeksi pada inang. Kepadatan tinggi juga memicu timbulnya wabah penyakit TiLV. Hal ini karena padat tebar tinggi berisiko terhadap tingkat ketahanan hidup dan kerusakan fisik berupa luka pada kulit yang muncul akibat gesekan antar ikan dengan wadahnya (Suwandi dkk. 2013). TiLV dapat menyerang secara horizontal, sehingga apabila padat tebar pada kolam tinggi maka penularan pada ikan semakin cepat (No.108/KEP-BKIPM/2017).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menggunakan metode RT-PCR terhadap sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dari kecamatan Porsea menunjukkan positif terinfeksi TILV dengan hasil elektroforesis pita RNA TiLV muncul pada 250 bp dan persentase infestasi sebesar 66,67%. Sedangkan ikan yang berasal dari kecamatan Laguboti tidak ada indikasi terserang penyakit TILV dengan persentase infestasi nila (*Oreochromis niloticus*) yang terserang penyakit *Tilapia Lake Virus* (TiLV) sebesar 0%.

DAFTAR PUSTAKA

- Amal, M.N.A., Koh, C.B, Nurliyana, M., Suhaida, M., Nor-Amalina, Z., Santh, S., Diyana-Nadhirah, K.P., Yusof, M.T., Ina-Salwany, M.Y., & Zamri-Saad, M. (2017). A case of natural co-infection of Tilapia Lake Virus and Aeromonas veronii in a Malaysian red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) farm experiencing high mortality. *Aquaculture*, 485, 12-16. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.019>
- Bacharach, E., Mishra, N., Briese, T., Zody, M. C., Kembou Tsofack, J. E., Zamostiano, R., Lipkin, W. I. (2016). Characterization of a Novel Orthomyxo-like Virus Causing Mass Die-Offs of Tilapia. *mBio*, 7(2), e00431-16. <https://doi.org/10.1128/mBio.00431-16>
- Beheraa, B.K., Pradhanb, P.K., Swaminathanc, T.R., Soodb, N., Prasenjit Pariaa, Abhishek Dasa, Vermab, D.K., Kumarc, R., Yadavb, M.K., Devb, A.K., Paridaa, P.K., Dasa, B.K., Lalb, K.K., & Jenad, J.K. (2017). Emergence of Tilapia Lake Virus associated with mortalities of farmed nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India. *Aquaculture*, 484, 168-174. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.025>
- Bigarre, L., Cabon, J., Baud, M., Heimann, M., Body, A., Loeffrig, F., & Castric, J. (2009). Outbreak of betanodavirus infection in tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), in fresh water. *Journal of Fish Diseases*, 32, 667-673. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01037.x>
- Dong, H.T., Atagubac, G.A., Khunraea, P., Rattanarojponga, T., & Senapin, S. (2017b). Evidence of TiLV infection in tilapia hatcheries in Thailand from 2012 to 2017 reveals probable global spread of the disease. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.06.035>
- Dong, H.T., Siriroob, S., Meemetta, W., Santimanawong, W., Gangnonngiw, W., Pirarat, N., Khunrae, P., Rattanarojpong, T., Vanichviriyakit, R., Senapin, S (2017), Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture, advance online publication*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.019>
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Tsofack, J. E. K., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., Lev, M., Hurvitz, A., Galeotti, M., 7 Eldar, A. (2014). Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *Journal of Clinical*

- Microbiology*, 52(12), 4137–4146.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00827-14>
- Fathi, M., Dickson, C., Dickson, M., Leschen, W., Baily, J., Muir, F., Ulrich, K., & Weidmann, M. (2017). Identification of Tilapia Lake Virus in Egypt in nile tilapia affected by ‘summer mortality’ syndrome. Short communication. *Aquaculture*, 473, 430-432. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.014>
- Ferguson, H. W., Kabuusu, R., Beltran, S., Reyes, E., Lince, J. A., & del Pozo, J. (2014). Syncytial hepatitis of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): A case report. *Journal of Fish Diseases*, 37(6), 583–589. <https://doi.org/10.1111/jfd.12142>
- Food and Agriculture Organization [FAO] of the United Nations. (2017a). Global aquaculture production. Rome: FAO. <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-production/en>.
- Husna N , Kenconojati H, Ulkhaq F, Fasya H , Lantiani D, 2020, Pemeriksaan Tilapia Lake Virus (TiLV) Pada Komoditas Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*),
<https://www.researchgate.net/publication/346417116>
- Jansen, M.D., & Mohan, C.V. (2017). Tilapia lake virus (TiLV): Literature review. Penang, Malaysia: CGIAR Research Program on Fish Agri-Food Systems. Working Paper : FISH-2017-04.
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., & Jores, J. (2017). Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. Short Communication. *Journal of Fish Disease*, p. 1925-1928; doi: 10.1111/jfd.12650
- Nugroho, B.D., H. Hardjomidjojo, dan M. Sarma. 2017. Strategi Pengembangan Usaha Budidaya Ikan Konsumsi Air Tawar dan Ikan Hias Air Tawar pada Kelompok Mitra Posikandu kabupaten Bogor. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnalmpি/article/view/20003>
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2019. Konsumsi Ikan Masih Rendah. Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Keputusan Kepala Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Nomor 108/Kep-Bkipm/2017 tentang Analisis Risiko Penyakit Tilapia Lake Virus Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*). Keputusan Kepala Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Nomor 73/Kep-Bkipm/2017 tentang Petunjuk Teknik Surveilan Penyakit Tilapia Lake Virus. Keputusan Kepala Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Nomor 108/Kep-Bkipm/2017 tentang Analisis Risiko Penyakit Tilapia Lake Virus Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*).
- Koesharyani, I., L. Gardenia, Z. Widowati, Khumaira, dan D. Rustianti. (2018). Studi Kasus Infeksi Tilapia Lake Virus (TiLV) pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(1): 85-92. <https://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra/article/view/6202/0>
- OIE. (2016). Aquatic Animal Health Code (19th ed.). Paris: OIE. Retrieved from <http://www.oie.int/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/>
- Rahmi, 2012. Identifikasi Ektoparasit pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) yang Dibudidayakan pada Tambak Kabupaten Maros. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 1(1): 19-23. <https://journal.unismuh.ac.id/index.php/ocopus/article/view/437>
- Surachetpong, W., Janetanakit, T., Nonthabenjawan, N., Tattiyapong,

- P., Sirikanchana, K., & Amonsin, A. (2017). Outbreaks of Tilapia Lake Virus Infection, Thailand, 2015-2016. *Emerging Infectious Diseases*, 23(6), 1031-1033. <https://dx.doi.org/10.3201/eid2306.161278>; www.cdc.gov/eid
- Tsofack, J.E.K., Zamostiano, R., Watted, S., Berkowitz, A., Rosenbluth, E., Mishra, N., & Bacharach, E. (2016). Detection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in clinical samples by culturing and nested RT-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 10.1128/JCM.01808-16