

EFEKTIVITAS PENGGUNAAN VAKSIN DNA DALAM PAKAN PADA IKAN MAS YANG DIINFEKSI KOI HERPESVIRUS

Effectiveness of DNA Vaccine in Feed to Koi Herpesvirus-Infected Common carp

Sri Nuryati¹, Siti Khodijah¹, Alimuddin¹, dan Mia Setiawati¹

¹Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
E-mail: sri_nuryati606@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menentukan frekuensi pemberian vaksin DNA koi herpesvirus (KHV) yang menghasilkan kelangsungan hidup tinggi pada ikan mas yang diinfeksi KHV. Frekuensi pemberian vaksin yaitu vaksinasi satu kali seminggu (K1), vaksinasi dua kali seminggu (K2), vaksinasi tiga kali seminggu (K3), ikan tidak divaksin dan diuji tantang KHV (K4), dan ikan diinjeksi dengan larutan *phosphate buffered saline* (K5). Pemberian pakan dilakukan 2 kali sehari secara satiasi. Mortalitas pada K1; K2; K3; dan K4 masing-masing adalah 33,33±5,77; 20,00±10,00; 6,67± 5,77; dan 43,33±5,77%, sedangkan kelangsungan hidup relatif (RPS) K1; K2; dan K3 masing-masing adalah 23,07±13,32; 53,84±23,07; 84,60±13,32%. Disimpulkan bahwa pemberian pakan mengandung vaksin DNA anti-KHV dengan frekuensi tiga kali dalam satu minggu efektif meningkatkan kelangsungan hidup ikan mas yang diinfeksi KHV.

Kata kunci: ikan mas, koi herpesvirus, pakan, vaksin DNA

ABSTRACT

This study aims to examine the frequency of koi herpesvirus (KHV) DNA vaccine administration which obtained high survival rate on koi herpesvirus-infected carp. In this study, vaccination was performed by feeding fish with artificial diet containing anti-KHV DNA vaccine. Frequency of vaccine administration tested were vaccination once a week (K1), vaccination twice a week (K2), vaccination three times a week (K3), positive control: the fish were not vaccinated but challenged with KHV (K4), and negative control: fish were injected with phosphate buffered saline solution (K5). Feeding was performed twice a day at satiation. The mortality rate on K1, K2, K3, and K4 were 33.33±5.77, 20.00±10.00, 6.67± 5.77, dan 43.33± 5.77 %, respectively. While the survival rate on K1, K2, and K3 were 23.07±13.32, 53.84±23.07, 84.60±13.32 %, respectively. The results showed that vaccination three times a week offered the highest survival rate (84.6 %) and showed higher phagocytic activity compared to the other treatments. Hence, oral vaccination via the feed can effectively increase the survival rate of fish, and this can be as an alternative method to control KHV infection in carp.

Key words: common carp, koi herpesvirus, feed, DNA vaccines

PENDAHULUAN

Usaha budidaya ikan mas saat ini terkendala oleh infeksi koi herpesvirus (KHV) yang dapat menyebabkan kematian massal (80-100%). Infeksi KHV terjadi pada saat musim hujan atau pada suhu dingin, berkisar 17-24° C. Infeksi KHV ditandai dengan adanya bercak merah atau kerusakan pada insang serta kematian masal pada ikan (Hedrick *et al.*, 2005). Infeksi KHV biasanya diikuti oleh infeksi sekunder berupa luka atau bercak putih di permukaan tubuh yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* dan/atau *Flexibacter columnaris* (Mudjiutami *et al.*, 2007). Berbagai upaya telah dilakukan untuk menanggulangi infeksi KHV, di antaranya adalah vaksinasi dengan menggunakan vaksin *deoxyribonucleic acid* (DNA).

Vaksinasi merupakan salah satu metode pencegahan penyakit melalui peningkatkan sistem kekebalan spesifik pada inang. Vaksin DNA memiliki beberapa keunggulan, diantaranya adalah mudah dikembangkan, mudah diproduksi, tidak menimbulkan infeksi, bersifat stabil sehingga memudahkan dalam penyimpanan, serta mampu mengaktivasi sistem kekebalan tubuh baik humoral maupun seluler (Lorenzen dan Lapatra, 2005). Vaksin DNA telah dilaporkan cukup efektif untuk mencegah penyakit *viral haemorrhagic septicaemia virus* (VHSV) pada ikan salmon (Lorenzen dan

Lapatra, 2005), dan KHV pada ikan mas (Nuryati *et al.*, 2010a) sehingga dapat menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi.

Pemberian vaksin DNA melalui injeksi terbukti mampu meningkatkan kelangsungan hidup ikan mas sebesar 96,67% (Nuryati *et al.*, 2010b). Vaksinasi melalui injeksi membutuhkan waktu dan tenaga yang relatif banyak. Penanganan juga berisiko menyebabkan ikan stres. Metode vaksinasi melalui pakan diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif untuk dilakukan oleh pembudidaya. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan pengujian efektivitas pemberian vaksin DNA melalui pakan komersial dengan frekuensi berbeda serta pengaruhnya terhadap kelangsungan hidup ikan mas yang diuji tantang dengan virus KHV.

MATERI DAN METODE

Perbanyakkan Bakteri Pembawa Vaksin DNA

Bakteri *Escherichia coli* DH5a pembawa vaksin DNA penyandi glikoprotein virus KHV yang dikonstruksi oleh Nuryati *et al.* (2010b) diperbanyak menggunakan media Luria Bertani cair. Plasmid DNA yang digunakan sebagai vaksin selain mengandung gen penyandi glikoprotein virus KHV juga mengandung promoter β -aktin dari ikan medaka (asal Jepang) sehingga gen glikoprotein bisa ditranskripsi di tubuh ikan mas. Biakan diinkubasi pada suhu 37° C selama

16 jam. Sel bakteri disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 30 detik, dicuci 3 kali dengan *phosphate buffered saline* (PBS), dan selanjutnya disimpan dalam pada suhu -80°C hingga akan digunakan.

Vaksinasi

Sel bakteri diinaktivasi dengan inkubasi pada suhu 80°C selama 5 menit. Bakteri diresuspensi dengan PBS sebanyak 1 ml. Bakteri 10^8 cfu/ml yang mengandung vaksin DNA dicampurkan dengan kuning telur sebanyak 1-2% volume bakteri, kemudian dicampurkan ke pakan dengan jumlah pakan sebanyak 5% dari biomassa ikan. Kuning telur berfungsi sebagai pengikat (*binder*). Pakan didiamkan pada suhu ruang sampai kering. Pencampuran pakan buatan dengan bakteri pembawa vaksin DNA dilakukan sesaat sebelum pemberian pakan perlakuan (Yulianti, 2011).

Ikan yang digunakan adalah ikan mas (bobot sekitar 10 g/ekor) yang bebas KHV. Ikan uji merupakan ikan sehat, tidak terserang bakteri, dan tidak ada tanda-tanda penyakit. Langkah yang perlu dilakukan untuk menyeleksi ikan yang tidak membawa virus adalah dengan mengadaptasikan ikan pada suhu rendah (18°C) selama dua minggu, setelah itu diamati munculnya gejala klinis atau tanda-tanda ikan terserang penyakit atau ikan masih dalam kondisi normal. Ikan yang membawa virus KHV (*carrier*) akan menunjukkan gejala terinfeksi virus tersebut karena virus KHV aktif pada suhu $18-24^{\circ}\text{C}$ (Hutoran *et al.*, 2005). Ikan dipelihara di dalam 20 akuarium yang berukuran $45 \times 40 \times 35\text{ cm}^3$ dengan kepadatan 10 ekor/akuarium. Akuarium diisi air dengan ketinggian 30 cm.

Selama masa pemeliharaan, ikan diberi pakan komersial dengan frekuensi 2 kali sehari yaitu pagi dan sore secara satiasi. Sebelum divaksin, ikan dipuasakan selama satu hari. Masa vaksinasi hanya dilakukan selama satu minggu, setelah itu dilakukan pemeliharaan selama 28 hari. Penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan dengan masing-masing tiga kali ulangan, dan satu ulangan dibuat khusus untuk analisis indeks fagositosis.

Perlakuan pada penelitian ini adalah Frekuensi pemberian vaksin yaitu vaksinasi satu kali seminggu (K1), vaksinasi dua kali seminggu (K2), vaksinasi tiga kali seminggu (K3), ikan tidak divaksin dan diuji tantang KHV (K4), dan ikan diinjeksi dengan larutan PBS (K5). Pemberian pakan yang mengandung vaksin dilakukan 2 kali sehari secara satiasi.

Uji Tantang

Uji tantang dilakukan tiga minggu setelah vaksinasi dengan menyuntikkan filtrat KHV koleksi Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Tawar, Sukabumi (Nuryati *et al.* 2010a). Penyuntikan berdasarkan LC50 (*lethal concentration*) sebanyak 0,1 ml/ekor yaitu pada konsentrasi 10^{-2} secara intramuskular. Pengamatan pascauji tantang dilakukan selama 30 hari untuk melihat gejala klinis dan kelangsungan hidup ikan.

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis dilakukan setiap hari pada saat pemberian pakan selama masa vaksinasi, dan pasca-uji tantang. Pengamatan gejala klinis meliputi respons makan, tingkah laku ikan, dan kelainan kondisi fisik ikan.

Aktivitas Fagositosis

Prosedur pengujian aktivitas fagositosis dilakukan menurut Anderson dan Siwicki (1993). Pengamatan dilakukan seminggu sekali, tiga kali setelah vaksinasi dan tiga kali setelah uji tantang. Metode perhitungan indeks fagositosis dilakukan dengan cara mengambil sampel darah sebanyak 50 μl , kemudian dimasukkan ke dalam *microtube* bervolume 1,5 ml. Suspensi *Staphylococcus aureus*, yang sebelumnya dibiakkan di media *tryptic soy broth* (TSB), disentrifugasi dan dicuci dengan PBS dan selanjutnya dilarutkan dalam PBS (10^8 sel/ml), ditambahkan sebanyak 50 μl ke dalam tabung yang berisi sampel darah tersebut. Campuran sampel darah dan bakteri dihomogenkan dan diinkubasi dalam suhu ruang selama 20 menit. Sebanyak 50 μl dibuat sediaan ulas darah, dan dikering-udarkan, difiksasi dengan metanol 96% selama lima menit, dan dikering-udarkan. Preparat direndam dalam pewarna *Giemsa* 70% selama 15 menit, dicuci dengan air mengalir serta dikeringkan dengan tisu. Preparat diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 20x. Jumlah sel yang menunjukkan proses fagositosis (sel darah putih yang sedang memfagosit *Staphylococcus aureus*) dihitung dari 100 sel fagosit yang teramati.

Pengamatan Histologis

Pengambilan sampel ikan mas dilakukan pada hari ke-6 pasca-infeksi KHV sebanyak 1 ekor setiap perlakuan. Organ yang diambil untuk preparat histologis adalah insang dan ginjal. Cara preparasi histologis adalah insang ikan mas difiksasi dengan menggunakan larutan Bouin's selama 24 jam, kemudian diganti dengan alkohol. Preparasi meliputi fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *embedding*, *blocking*, pemotongan serta pewarnaan Hematoksin-Eosin. Preparat histologis diamati dengan mikroskop.

Pengamatan histopatologi bertujuan membuktikan bahwa ikan sakit disebabkan oleh serangan KHV. Hal ini ditinjau dari adanya gejala kelainan histopatologi (terjadinya hiperplasia pada insang, nefritis pada interstitial ginjal dan badan inklusi) ikan yang muncul setelah dilakukan uji tantang.

Analisis Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air dalam penelitian ini meliputi suhu harian yang diamati pada pagi dan sore hari, pengukuran pH, oksigen terlarut, dan $\text{NH}_3\text{-N}$ yang dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan. Pergantian air akuarium sebanyak 50% dilakukan setiap dua hari. Penyifonan dilakukan setiap hari agar kualitas air tetap terjaga.

Analisis Data

Data kelangsungan hidup relatif dan aktivitas fagositosis diolah menggunakan *Microsoft Excel 2007*. Data histopatologi, gejala klinis, respons makan, dan kualitas air dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelangsungan Hidup Relatif (*Relative Percent Survival*= RPS)

Selama vaksinasi, tidak terjadi kematian pada ikan sehingga nilai kelangsungan hidup 100% pada semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa vaksin yang diberikan melalui pakan pada ikan bersifat aman dan tidak mengganggu kesehatan ikan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ellis (1988).

Secara umum mortalitas tampak menurun sedangkan kelangsungan hidup relatif meningkat dengan meningkatnya frekuensi pemberian vaksin (Tabel 1). Nilai RPS tertinggi ($P < 0,05$) diperoleh pada perlakuan K3 ($84,60 \pm 13,32\%$), sedangkan terendah adalah pada perlakuan K1 ($23,33 \pm 13,32\%$). Hal ini menunjukkan bahwa vaksinasi 3 kali selama satu minggu pemberian adalah optimum untuk meningkatkan daya tahan ikan mas terhadap infeksi KHV.

Tabel 1. Kelangsungan hidup relatif (RPS) ikan mas yang diberi vaksin DNA anti-KHV dengan frekuensi pemberian pakan berbeda

Perlakuan	Mortalitas (%)	RPS (%)
K1 (Vaksinasi satu kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV)	$33,33 \pm 5,77$	$23,07 \pm 13,32^a$
K2 (Vaksinasi dua kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV)	$20,00 \pm 10,00$	$53,84 \pm 23,07^{ab}$
K3 (Vaksinasi tiga kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV)	$6,67 \pm 5,77$	$84,60 \pm 13,32^b$
K4 (Tanpa vaksinasi, dan ikan diuji tantang dengan KHV)	$43,33 \pm 5,77$	-

^{a, ab, b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Pemberian vaksin melalui pakan merupakan metode yang praktis untuk diaplikasikan oleh pembudidaya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vaksinasi melalui pakan dengan frekuensi pemberian vaksin 3 kali dalam seminggu (perlakuan C) meningkatkan kelangsungan hidup ($93,33\%$) sekitar 65% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif yang tidak divaksin ($56,67\%$). Nilai RPS perlakuan K3 ($84,6\%$) sekitar 3,67 kali lebih tinggi daripada perlakuan K1 ($23,07\%$), dan sekitar 1,57 kali lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan K2 ($53,84\%$).

Dengan demikian, vaksinasi melalui pakan dengan frekuensi 3 kali dalam satu minggu efektif dalam meningkatkan daya tahan ikan mas terhadap infeksi KHV. Pemberian vaksin liposom melalui pakan telah dilaporkan mampu meningkatkan kelangsungan hidup ikan mas hingga 74% yang dipelihara selama 21 hari

(Miyazaki *et al.*, 2008). Metode vaksinasi melalui pakan ini diduga juga efektif bagi ikan mas untuk meningkatkan daya tahannya terhadap infeksi KHV.

Gen penyandi glikoprotein virus KHV dalam bakteri yang digunakan sebagai vaksin bisa ditranskripsi dalam tubuh ikan mas. Proses berikutnya adalah translasi sehingga dihasilkan glikoprotein virus KHV. Glikoprotein inilah sebenarnya yang menjadi benda asing yang menginduksi kekebalan ikan mas sehingga kekebalan ikan mas menjadi aktif terutama terhadap virus KHV.

Kelangsungan hidup ikan yang diberi vaksin 3 kali lebih tinggi dibandingkan dengan yang divaksin 1 dan 2 kali. Hal ini menunjukkan bahwa kekebalan ikan yang divaksin 3 kali lebih tinggi dibandingkan dengan yang divaksin 1 dan 2 kali. Respons kekebalan yang lebih tinggi tersebut terjadi karena persistensi vaksin DNA lebih tinggi daripada perlakuan lainnya. Hal ini didukung oleh Yuliyanti (2011) bahwa pemberian pakan bervaksin 2 kali dalam satu minggu menunjukkan persistensi DNA lebih tinggi daripada pemberian pakan bervaksin satu kali dalam satu minggu.

Dosis vaksinasi melalui pakan dengan nilai RPS tertinggi ($84,6\%$) pada penelitian ini adalah 3×10^8 cfu per ekor ikan. Dosis vaksin dalam penelitian ini tiga kali lebih tinggi daripada yang digunakan dalam vaksinasi ikan mas melalui perendaman; 10^8 cfu per ekor ikan (Nuswantoro *et al.*, 2012). Aplikasi vaksin DNA dengan metode injeksi (Nuryati *et al.* 2010a) tidak praktis untuk diaplikasikan secara massal. Selain itu, vaksin DNA juga identik dengan biaya tinggi karena perlu dilakukan isolasi plasmid DNA vaksin.

Gejala Klinis

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada saat vaksinasi ikan terlihat sehat dan tidak ada tanda-tanda ikan sakit. Gejala klinis pertama kali muncul adalah terjadinya penurunan nafsu makan pada ikan. Penurunan nafsu makan dilihat dari jumlah konsumsi pakan ikan pasca-uji tantang. Jumlah konsumsi pakan ikan cenderung menurun dari hari pertama hingga hari ke-21 pascauji-tantang. Ikan yang pertama kali mengalami penurunan nafsu makan adalah ikan pada perlakuan K2, kemudian K4, K1, dan K2. Penurunan jumlah konsumsi pakan terbesar terjadi pada perlakuan kontrol positif sebesar $45,91\%$. Hal ini terjadi hingga hari ke-21, dan terjadi peningkatan nafsu makan kembali pada hari ke-22 hingga akhir penelitian.

Perubahan tingkah laku ikan muncul pada ikan yang sakit, yaitu berenang di permukaan, kadang bergerombol di sekitar aerasi, dan diam di dasar akuarium. Perubahan tingkah laku ikan mulai muncul pada hari ke-6 pasca-uji tantang. Ikan yang pertama mengalami perubahan tingkah laku adalah ikan pada perlakuan K1 dan K2, kemudian disusul dengan perlakuan K4 dan perlakuan K3. Ikan yang sakit juga memiliki gerak refleks yang lambat dan respons gerak yang lemah. Pada hari ke-18, gerakan ikan sudah

mencapai puncak kondisi terlemah yang kemudian terjadi kematian. Ikan yang berhasil melewati kondisi tersebut mampu bergerak dengan normal kembali setelah hari ke-21.

Ikan yang terinfeksi KHV menunjukkan perubahan warna kulit, kerusakan pada sirip ekor, dan nekrosis pada insang. Produksi lendir pada ikan terinfeksi KHV juga lebih banyak, terjadi bercak merah pada bagian punggung yang kemudian dilanjutkan oleh kulit melepuh, keluar darah, dan nanah, sisik di sekitar anal rontok, sirip ekor dan dorsal geripis, hemoragi pada pangkal sirip ventral dan pectoral, serta anal, mata cekung, terjadi perubahan warna menjadi lebih gelap bergaris, insang bercabang, pucat, memutih seperti borok, dan akhirnya terjadi kematian.

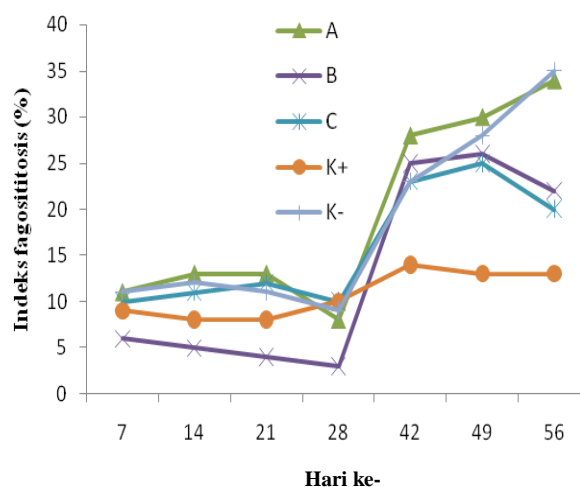
Perubahan fisik ikan mulai terlihat pada hari ke-5 pasca-uji tantang, yaitu nekrosis insang pada K2, kemudian disusul oleh K1 dan K4 pada hari ke-8. Pada hari ke-10, nekrosis mencapai 80% bagian insang untuk perlakuan K2 dan sekitar 30% pada perlakuan yang lain. Bercak pada punggung, dan kerusakan sirip ekor terjadi pada hari ke-12 disertai dengan kulit melepuh pada beberapa ekor ikan di akuarium perlakuan kontrol positif. Jumlah ikan yang mengalami kerusakan fisik semakin bertambah hingga mencapai puncak terparah pada hari ke-18 pasca-uji tantang. Hal tersebut terjadi pada K1, K2, K3, dan K4. Pada K2 dan K3 telah mengalami penyembuhan luka pada hari ke-21 pasca-uji tantang. Pada hari yang sama, masih ditemukan ikan yang mengalami luka dengan jumlah yang cukup banyak pada K1 dan K4.

Ikan perlakuan K3 mengalami perubahan fisik dengan jumlah yang paling sedikit dibandingkan perlakuan K1, K2, dan K4. Beberapa penelitian terhadap ikan yang diinfeksi KHV pun menunjukkan gejala klinis dan perubahan fisik yang sama. Hedrick *et al.* (2005) menyebutkan bahwa tanda-tanda ikan koi yang terinfeksi KHV adalah terjadi perubahan warna tubuh, nekrosis pada filamen insang, mata cekung, dan produksi lendir yang berlebih. Demikian juga disebutkan oleh Sunarto *et al.* (2005), ikan mas yang terinfeksi KHV menunjukkan gejala respons ikan yang lemah, lesu, kehilangan keseimbangan dan megap-megap, kulit melepuh, terjadi pendarahan pada operkulum, sirip, ekor dan perut, serta terjadi kerusakan pada filamen insang.

Masa inkubasi virus pada penelitian ini tergolong cepat karena membutuhkan waktu hanya 5 hari. Masa inkubasi virus KHV tergantung pada kondisi lingkungan perairannya, terutama suhu air. Pada penelitian ini suhu air akuarium berkisar 17,0-23,5° C. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Antychowicz *et al.* (2005) bahwa gejala-gejala serangan KHV sering terjadi pada suhu berkisar 17-24° C, namun tidak menunjukkan adanya kematian pada suhu 17° C. Puncak gejala klinis terparah terjadi pada hari ke-18 pascauji-tantang. Nekrosis insang, dan luka-luka pada kulit punggung ikan pada saat ini mengalami puncak terparah yang menyebabkan banyaknya kematian ikan.

Aktivitas Fagositosis

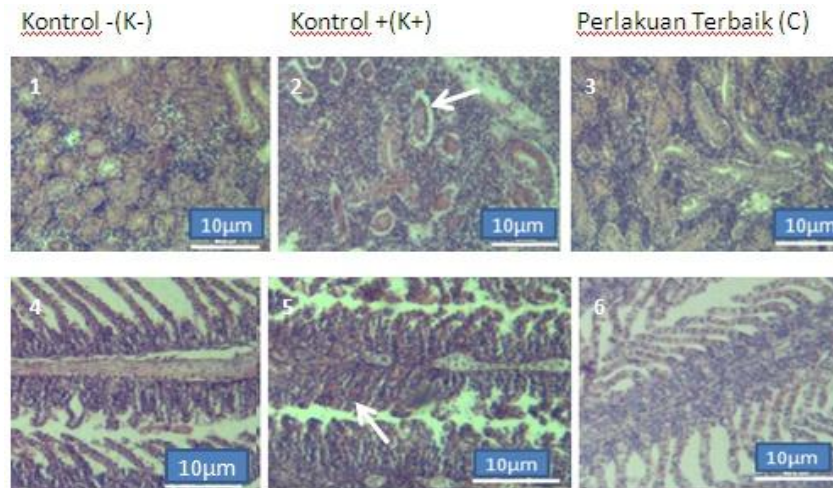
Respons imunitas ditunjukkan oleh peningkatan aktivitas fagositosis lebih tinggi pada ikan yang divaksin pasca-uji tantang dibandingkan dengan ikan yang tidak divaksin. Aktivitas fagositosis perlakuan K1 dan K4 memiliki kecenderungan peningkatan yang sama pasca uji-tantang, yaitu terus mengalami kenaikan hingga hari ke-56. Sementara itu, kelangsungan hidupnya mengalami penurunan hingga memasuki minggu ke-3 pasca-uji tantang (Gambar 1). Hal ini berbeda dengan perlakuan K2 dan K3, aktivitas fagositosisnya menurun pada hari ke-56 pasca-uji tantang dan kelangsungan hidupnya stabil pada minggu ke-3 hingga akhir percobaan. Hal ini diduga karena adanya reaksi antibodi yang timbul akibat pemberian vaksin.



Gambar 1. Aktivitas fagositosis ikan mas pasca vaksinasi dan diuji tantang (A= K1= vaksinasi satu kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV; B= K2= vaksinasi dua kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV; C= K3= vaksinasi tiga kali dalam satu minggu dan uji tantang dengan KHV; K+= K4= tanpa vaksinasi, dan ikan diuji tantang dengan KHV; K-= K5= tanpa vaksinasi, dan diinjeksi dengan PBS)

Histopatologi

Ginjal dan insang merupakan organ target dari virus KHV (Gambar 2). Ginjal K5 tidak menunjukkan nefritis pada interstitial sebagaimana kontrol K4 dan K3. Nefritis adalah kelainan yang muncul pada ginjal apabila terinfeksi KHV (Pikarsky *et al.*, 2004). Insang ikan K5 tidak mengalami hiperplasia sebagaimana K4. Hiperplasia merupakan kelainan yang menjadi ciri khas dari ikan yang terinfeksi KHV. Ginjal dan insang perlakuan K3 tidak menunjukkan kelainan sebagaimana K4. Kondisi ini menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap ketahanan ikan yang divaksin dari infeksi KHV. Santika (2007) dan Nuryati *et al.* (2008) mengemukakan bahwa pada ikan yang terinfeksi KHV ditemukan adanya hipertropi, hiperplasia, dan adanya badan inklusi di insang. Menurut Sunarto *et al.* (2005) pembentukan badan inklusi merupakan kondisi hipertopi pada inti yang disebabkan oleh penumpukan virion-virion dalam inti sel.



Gambar 2. Histopatologi ginjal (no 1-3) dan insang ikan (4-6). Gambar 1 dan 4= K5; Gambar 2 dan 5= K4; Gambar 3 dan 6= K3. Ginjal pada K4 mengalami nefritis pada bagian interstisial (tanda panah) sedangkan insang mengalami hiperplasia (tanda panah). Bar= 10 µm.

KESIMPULAN

Pemberian pakan mengandung vaksin DNA anti-KHV dengan frekuensi tiga kali selama satu minggu pada dosis 3×10^8 cfu/ml per ekor ikan menghasilkan nilai kelangsungan hidup relatif tertinggi (84,6%) setelah diuji tantang dengan KHV.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrullah. 2004. Penggunaan Imunostimulan *Spirulina platensis* untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Koi (*Cyprinus Carpio*) terhadap Virus Herpes. **Tesis**. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anderson, D.P. and A.K. Siwicki. 1993. Basic haematology and serology for fish health programs. **Paper presented in Second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture "Aquatic Animal Health and Environment"**. Phuket, Thailand, 25-29th October. Thailand:85-202.
- Antychowicz, J., M. Reicherti, M. Matras, A.M. Bergamann, and O. Haenen. 2005. Epidemiology, pathogenicity and molecular biology of koi herpesvirus isolated in Poland. **Bull. Vet. Inst. Pulawy**. 49:367-373.
- Ellis, A.E. 1988. General Principle of Fish Vaccination. In **Fish Vaccination**. Ellis, A.E (Ed.). Academic Press, San Diego.
- Hayati, F.I. 2009. Efektifitas Vaksin DNA dalam Kelangsungan Hidup Ikan Mas yang Terinfeksi Koi Herpesvirus (KHV). **Skripsi**. Departemen Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hedrick R.P., O. Glad, C.S. Yun, T.S. McDowell, T.B. Walizek, Kelley O. Garry, B. Adkison, and A. Mark. 2005. Initial isolation and characterization of a herpes-like virus (KHV) from koi and common carp. **Bull. Fish. Res. Agen. Supplemen**. 17(2):1-7.
- Hutoran, M., A. Ronen, A. Parelberg, M. Ilouze, A. Dishon, T. Bejerano, N. Chen, and M. Kotler. 2005. Description of an as yet unclassified DNA virus from diseased *Cyprinus carpio* species. **J. Virol**. 79(4):1983-1991.
- Lorenzen, N. and S.E. Lapatra. 2005. DNA vaccine for aquaculture fish. **Rev. Sci. Tech. Int. Epiz**. 24 (1):201-213.
- Miyazaki, T., S. Yasumoto, Y. Kuzuya, and T. Yoshimura. 2008. A primary study on oral vaccination with liposomes entrapping koi herpesvirus (KHV) antigens against KHV infection in carp. **Diseases in Asian Aquaculture**. VI: 99-184.
- Mudjiutami, E., Ciptoroso, and Z. Zainun. 2007. Uji toleransi berbagai strain ikan mas terhadap KHV. **J. Budidaya Air Tawar**. 4(2):37-41.
- Nuryati, S., Alimuddin, R.D. Sukenda, Soejoedono, A. Santika, F.H. Pasaribu, K. Sumantadinata. 2010a. Construction of DNA vaccine using glycoprotein gene and its expression towards increasing survival rate of KHV-Infected Common Carp (*Cyprinus carpio*). **J. Natur Indonesia**. 13(1):47-52.
- Nuryati, S., N.A. Maswan, Alimuddin, Sukenda, K. Sumantadinata, F.H. Pasaribu, R.D. Soejoeno, A. Santika. 2010b. Gambaran darah ikan Mas setelah divaksinasi dengan vaksin DNA dan diuji tantang dengan koi herpesvirus. **J. Akuakultur Indonesia**. 9(1):9-15.
- Nuryati, S.P., Y. Giri, dan Hadiroseyani. 2008. Efektivitas ekstrak bawang putih *Allium sativum* terhadap ketahanan tubuh ikan Mas *Cyprinus carpio* yang diinfeksi koi herpesvirus (KHV). **J. Akuakultur Indonesia**. 7(2):139-150.
- Nuswanto, S. 2012. Efikasi vaksin DNA penyandi glikoprotein Koi Herpesvirus pada ikan mas stadia benih melalui perendaman. **Tesis**. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pikarsky, E., A. Ronen, J. Abramowitz, B. Lovali-Sivan, M. Hutoran, Y. Saphira, M. Steinitz, A. Parelberg, D. Soffer, and M. Kotler. 2005. Pathogenesis of acute viral disease induce in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. **J. Virol**. 78(17):9544-9551.
- Pokorova, D., T. Vesely, V. Piackova, S. Reschova, and J. Hulova. 2005. Current knowledge on koi herpesvirus (KHV): A Review. **Vet. Med.-Czech**. 50:139-147.
- Santika, A. 2007. Efektivitas Suplementasi Kromium-Ragi (Cr^{3+}) untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Mas terhadap Virus Herpes, pada Suhu Rentan KHV. **Tesis**. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Standar Nasional Indonesia. 1999. **Produksi induk ikan mas (*Cyprinus carpio*) Strain Sinyonya Kelas Induk Pokok**. Badan Standar Nasional, 01-6135-1999.
- Sunarto, A., A. Rukyani, and T. Itami. 2005. Indonesian experience on the outbreak of koi herpesvirus in koi and carp (*Cyprinus carpio*). **Bull. Fish Res. Agen Supplement**. 2:15-21.
- Yuliyanti. 2011. Persistensi Vaksin DNA Penyandi Glikoprotein 25 yang Diberikan Melalui Pakan Buatan pada Ikan Mas *Cyprinus carpio*. **Skripsi** Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.