

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)  
YANG TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN)**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN  
JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Oleh:**

**DESTINE VALIDIA ELDIDA**

**NIM. 125080101111026**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)  
YANG TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN)**

**SKRIPSI**

**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**JURUSAN MANAJEMEN SUMBER DAYA PERAIRAN**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

**Oleh :**

**DESTINE VALIDIA ELDIDA**

**NIM. 125080101111026**



**PROGRAM STUDI MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN**

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2016**

SKRIPSI

GAMBARAN HISTOPATOLOGI OTOT IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)  
YANG TERINFEKSI VIRAL NERVOUS NECROSIS (VNN)

Oleh:

Destine Validia Eldida

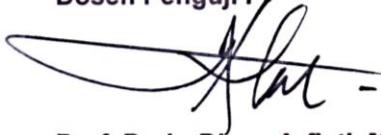
NIM. 125080101111026

Telah dipertahankan di depan penguji

Pada tanggal 19 Juli 2016

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Dosen Penguji I



Prof. Dr. Ir. Diana Arfiati, MS

NIP. 19591230 198503 2 002

Tanggal: 16 AUG 2016

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing I



Dr. Uun Yanuhar S.Pi, M.Si

NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal: 16 AUG 2016

Dosen Penguji II



Nanik Retno Buwono, S.Pi, MP

NIP. 19840420 201404 2 002

Tanggal: 16 AUG 2016

Dosen Pembimbing II



Dr. Asus Maizar S.H. S.Pi, MP

NIP. 19720529 200312 1 001

Tanggal: 16 AUG 2016

Mengetahui,  
Ketua Jurusan MSP



Dr. Ir. Arning Wilufeng Ekawati, MS

NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal: 16 AUG 2016

## PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul **“Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN)”** yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 12 Juni 2016

Mahasiswa

Destine Validia Eldida

NIM. 125080101111026

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar- besarnya kepada :

1. Allah SWT yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menyelesaikan laporan skripsi ini.
2. Terimakasih sebesar-besarnya saya persembahkan kepada Kedua orang tua saya serta kakak dan adik tercinta atas restu, dorongan serta doa yang tiada henti.
3. Ibu Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan hingga laporan skripsi ini terselesaikan.
4. Bapak Dr. Asus Maizar S.H. S.Pi, M.P selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan hingga laporan skripsi ini terselesaikan.
5. Teman-teman 1 Tim penelitian skripsi yaitu Eni, Aini, Feri, Yuli, Yeyen, Diki, Dyah, Zulfa, Suci, Anik, Atik, Vava, Nico, Anto, Fiqi, Anjar, Ima, Dayinta, Dini, Iqbal, Wima, Arrayan yang telah membantu.
6. Sahabat sekaligus saudara yaitu Mega, Tya, Dona, kiky, dan Titin yang selalu ada untuk memberikan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat tercinta saya yang selalu memberikan bantuan moril yaitu Drg. Preska damayanti dan Oky Yuniawati Amd. Kep.
8. Keluarga Borobudur yaitu Denny exo, Yudha jovemoriz, Reynardi Rizky, Aulia Rara, dan Risti mbak nyet yang selalu memberikan semangat.
9. Keluarga saya di malang yaitu keluarga EMX mas yose, mbak citra, kak freya dan mas odie yang telah memberikan semangat dan motivasi yang kuat untuk menyelesaikan skripsi ini dan semua pihak yang tidak dapat di sebutkan satu persatu.

## RINGKASAN

**DESTINE VALIDIA ELDIDA.** Skripsi tentang Gambaran Histopatologi Otot Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang Terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) (dibawah bimbingan **Dr. Uun Yanuhar S.Pi., Msi** dan **Dr. Asus Maizar S.H. S.Pi, MP**)

---

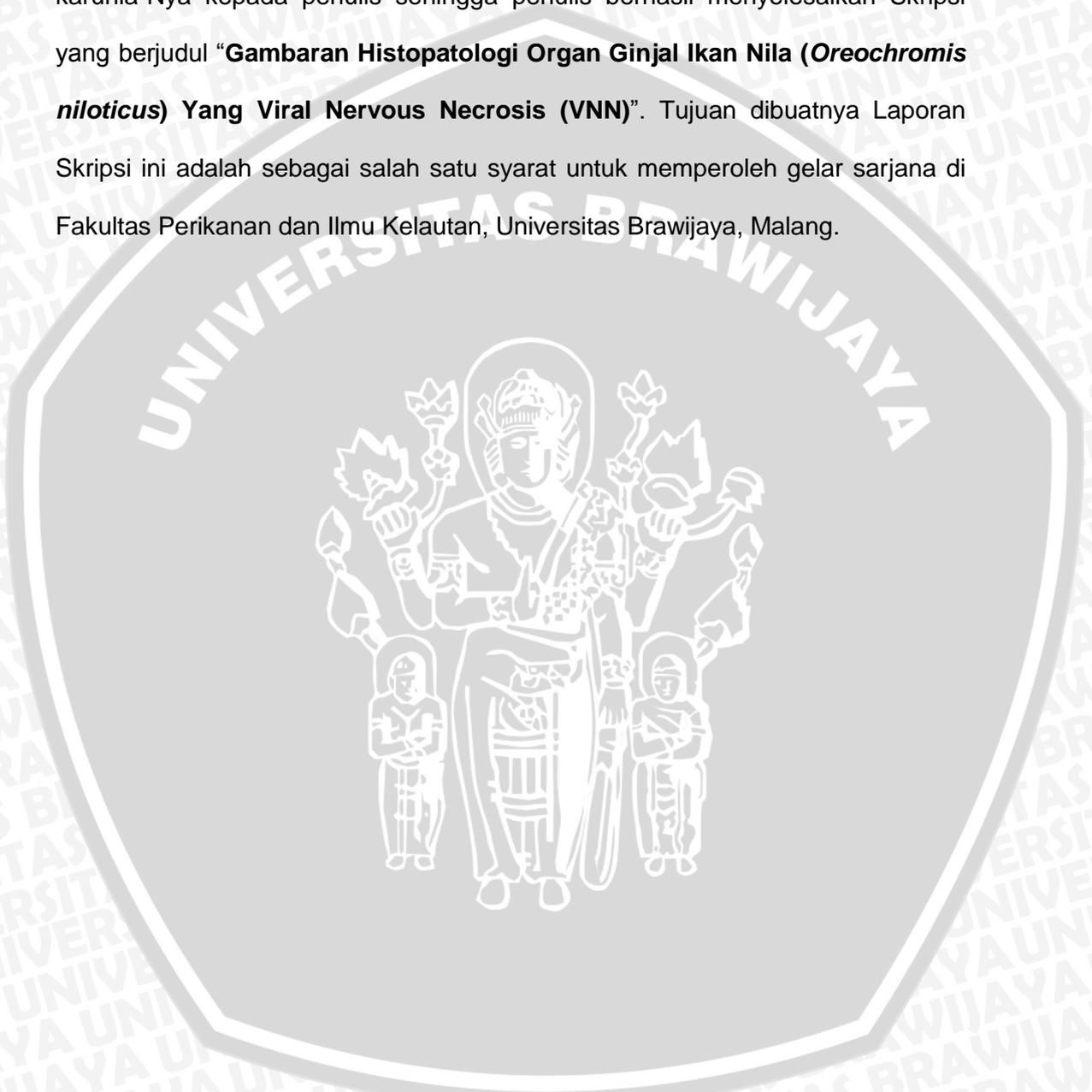
Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu spesies yang banyak dibudidayakan karena banyak diminati masyarakat. Otot atau daging ikan merupakan bagian yang umum dikonsumsi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi kualitas air pada kolam pemeliharaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) dan untuk mengetahui gambaran histopatologi pada otot ikan nila yang terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) yang dilakukan dengan menggunakan metode deskriptif. Sampel ikan diperoleh dari kolam pemeliharaan ikan nila di salah satu kolam pemeliharaan yang berada di desa krakal kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – April 2016. Analisa PCR dilakukan di Laboratorium Penyakit ikan dan Lingkungan UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil. Pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin dilakukan di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Pengamatan kualitas air dan pengamatan histopatologi dengan mikroskop cahaya dilakukan di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang dan di Laboratorium Penyakit Ikan dan Lingkungan BPBAP Bangil, Pasuruan.

Ikan nila yang mengalami gejala klinis diambil sebagai sampel dalam penelitian ini, setiap kali ulangan dilakukan pengambilan ikan sebanyak 3 ekor yang selanjutnya dipilih ikan yang benar-benar terinfeksi VNN dengan pemeriksaan gejala dan morfologi ikan. Pada pengamatan ikan pertama setelah pewarnaan HE ditemukan kerusakan berupa Nekrosa serabut otot, vakuolisasi dan Nekrosis. Pada pengamatan kedua ditemukan kerusakan berupa vakuolisasi dan infiltrasi radang sedangkan pengamatan ketiga ditemukan kerusakan berupa Nekrosis, Inflamasi, hemorage, dan Edema. Hasil pengamatan kualitas air didapatkan hasil untuk suhu, pH, Oksigen Terlarut, Karbondioksida dan TOM dengan kondisi normal yang telah sesuai dengan baku mutu kualitas air yang dikategorikan perairan dengan kondisi relatif baik. Hasil pengamatan kualitas air untuk pengukuran COD dan amonia dikategorikan dalam perairan tercemar sedang karena telah melebihi ambang batas baku mutu kualitas air.

Dalam pemeliharaan ikan nila sebaiknya lebih memperhatikan kualitas air pada kolam pemeliharaan dengan melakukan pemeriksaan secara rutin terhadap sumber air dan dengan membuat kolam pengendapan sebelum air digunakan untuk kegiatan budidaya. Kemudian lebih memperhatikan bibit ikan nila sebelum dilakukan penebaran ke dalam kolam budidaya, karena penularan virus biasanya berawal dari bibit yang telah terinfeksi dari induknya. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memberantas penyakit viral nervous necrosis (VNN).

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta karunia-Nya kepada penulis sehingga penulis berhasil menyelesaikan Skripsi yang berjudul "**Gambaran Histopatologi Organ Ginjal Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) Yang Viral Nervous Necrosis (VNN)**". Tujuan dibuatnya Laporan Skripsi ini adalah sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang.

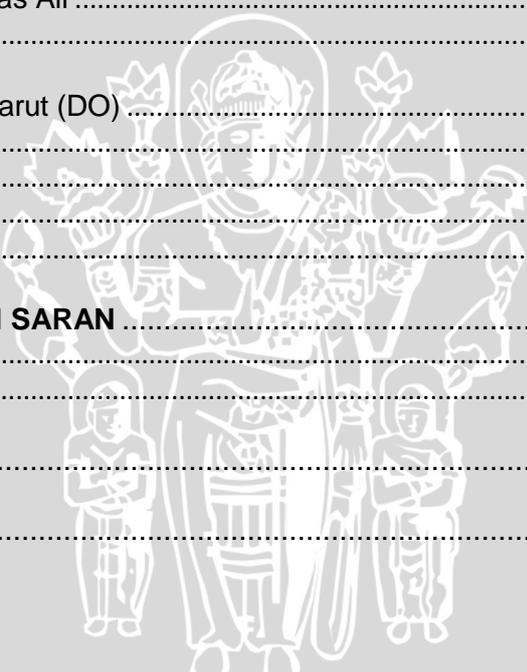


DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	iii
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
<b>1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat teoritis.....	3
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
2.1 Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	5
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	6
2.1.2 Habitat dan Kebiasaan Hidup Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	8
2.1.3 Otot Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ) .....	9
2.2 Virus pada Ikan .....	9
2.3 VNN (Viral Nervous Necrosis) .....	10
2.3.1 Taksonomi dan Morfologi.....	11
2.3.2 Epidemiologi infeksi VNN.....	12
2.3.3 Gejala Klinis VNN ( <i>Viral Nervous Necrosis</i> ).....	14
2.4 Histopatologi.....	15
2.4.1 Perubahan Patologi Otot Ikan Nila.....	16
2.5 Kualitas Air.....	22
<b>3. MATERI DAN METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
3.1 Materi Penelitian.....	27
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	27



3.3 Metode Penelitian.....	27
3.4 Teknik Pengumpulan Data.....	28
3.4.2 Data Sekunder.....	30
3.5 Metode Analisis Data.....	30
3.6.1 Pengambilan Sampel Ikan.....	31
3.6.2 Pengambilan Sampel Air.....	31
3.6.3 Analisa <i>Polymerase Chain reaction</i> (PCR).....	32
3.6.4 Histopatologi Organ Otot Ikan Nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	33
3.6.5 Analisa Kualitas Air.....	36
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian.....	40
4.1.1 Dekripsi Desa Krakal, Kecamatan Wlingi, Kabupaten Blitar.....	40
4.1.2 Deskripsi Umum Lokasi Pengamatan.....	41
4.2 Kondisi Morfologi Ikan Nila.....	42
4.3 Pemeriksaan VNN dengan analisa PCR.....	44
4.4 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Otot Ikan Nila yang terinfeksi VNN.....	46
4.5 Parameter Kualitas Air.....	50
4.5.1 Suhu.....	51
4.5.2 pH 53.....	54
4.5.3 Oksigen Terlarut (DO).....	54
4.5.4 Amonia.....	56
4.5.5 CO <sub>2</sub> .....	58
4.5.6 COD.....	60
4.5.7 TOM.....	61
<b>5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>64</b>
5.1 Kesimpulan.....	64
5.2 Saran.....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>70</b>



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Perubahan Patologi Pada Otot Ikan .....	17
Tabel 2. Gambaran morfologi ikan nila yang terindikasi infeksi VNN .....	44
Tabel 3. Hasil Pengamatan Suhu pada Kolam Pemeliharaan .....	51
Tabel 4. Hasil Pengamatan pH pada Kolam Pemeliharaan .....	53
Tabel 5. Hasil Pengamatan DO pada Kolam Pemeliharaan .....	55
Tabel 6. Hasil Pengamatan Amonia pada kolam pemeliharaan.....	57
Tabel 7. Hasil Pengamatan CO <sub>2</sub> pada Kolam Pemeliharaan.....	59
Tabel 8. Hasil Pengamatan COD pada Kolam Pemeliharaan .....	60
Tabel 9. Data Pengamatan TOM pada kolam pemeliharaan.....	62



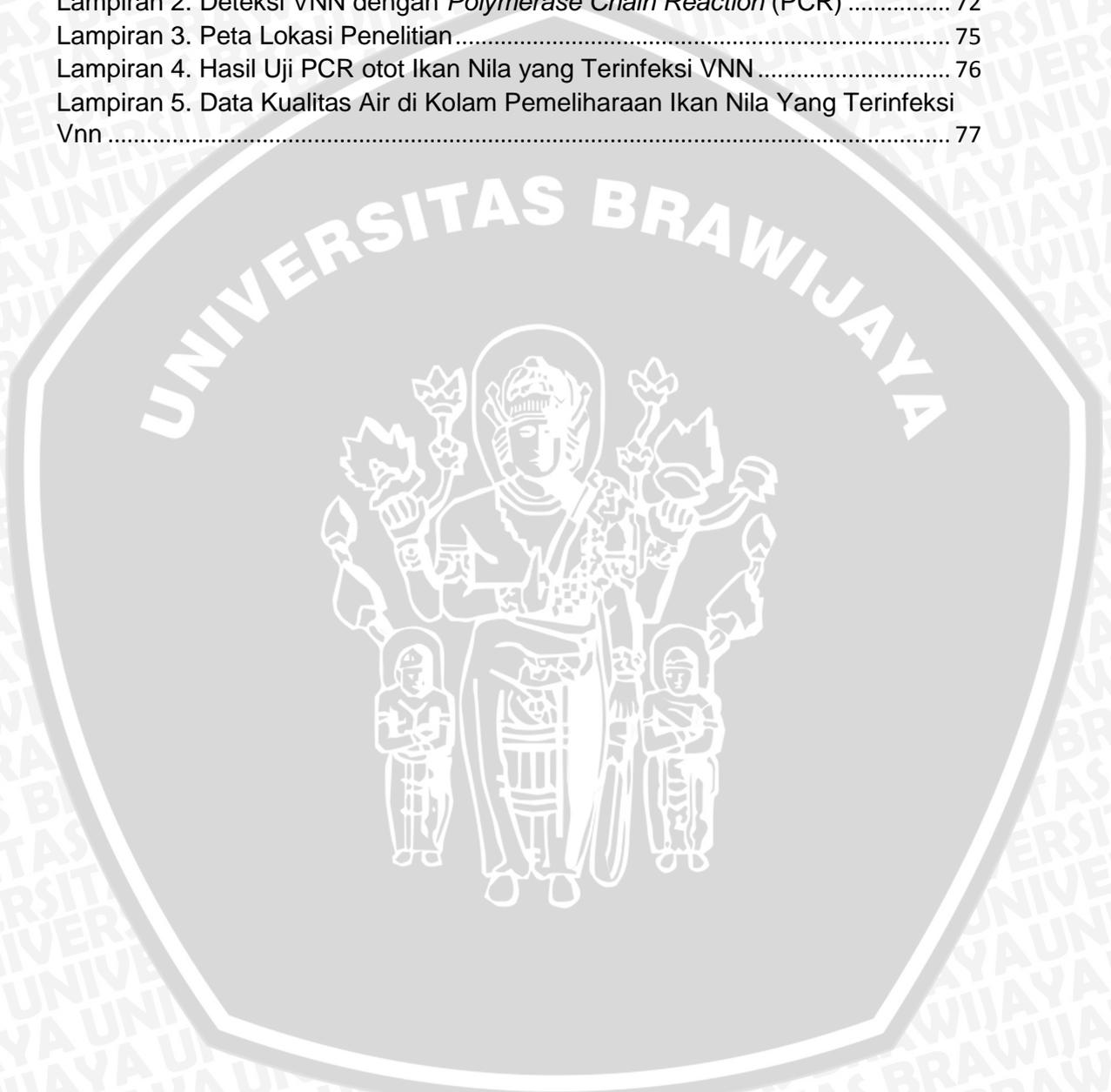
DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Ikan nila ( <i>Oreochromis niloticus</i> ).....	6
Gambar 2. Pola hubungan interaksi.....	14
Gambar 3. Kolam pemeliharaan ikan nila (Dokumentasi, 2016).....	42
Gambar 4. Kondisi Morfologi Ikan Nila yang Terinfeksi VNN.....	43
Gambar 5. Hasil pemeriksaan histopatologi otot .....	47
Gambar 6. Grafik Pengukuran suhu Kolam Pemeliharaan Ikan Nila.....	52
Gambar 7. Grafik Pengukuran pH Kolam Pemeliharaan Ikan Nila .....	53
Gambar 8. Grafik Pengukuran DO Kolam Pemeliharaan Ikan Nila .....	55
Gambar 9. Hasil Pengukuran Amonia pada Kolam Pemeliharaan .....	57
Gambar 10. Grafik pengukuran CO <sub>2</sub> dalam kolam pemeliharaan ikan nila .....	59
Gambar 11. Grafik pengamatan COD .....	61
Gambar 12. Grafik Pengamatan TOM.....	62



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian .....	70
Lampiran 2. Deteksi VNN dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	72
Lampiran 3. Peta Lokasi Penelitian .....	75
Lampiran 4. Hasil Uji PCR otot Ikan Nila yang Terinfeksi VNN .....	76
Lampiran 5. Data Kualitas Air di Kolam Pemeliharaan Ikan Nila Yang Terinfeksi Vnn .....	77



## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu spesies yang banyak dibudidayakan karena banyak diminati dan memiliki protein yang tinggi. Konsumsi ikan nila ini mengalami peningkatan yang signifikan dari tahun ke tahun. Ikan nila merupakan salah satu jenis ikan yang bernilai ekonomis tinggi. Namun, potensi yang besar dan prospek pengembangan yang begitu terbuka, bukan jaminan bahwa budidaya ikan akan berjalan mulus, tanpa permasalahan. Banyak masalah yang dihadapi oleh sektor budidaya ikan (Kordi & Ghufuran, 2004), tanpa terkecuali dengan budidaya ikan nila.

Dalam budidaya ikan, kualitas air sangat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan ikan. Kualitas air merupakan salah satu faktor yang mendukung keberhasilan budidaya ikan nila. Selain itu ketersediaan air dalam lingkungan budidaya harus di kelola dengan baik. Ketersediaan air harus selalu dijaga sehingga air kolam budidaya dapat terus diganti sesuai kebutuhan (Ciptanto, 2010). Selain menjaga ketersediaan air, dalam budidaya ikan juga harus dilakukan pengelolaan kualitas air dengan pengontrolan parameter kualitas air. Pada umumnya pengontrolan kualitas air terhadap parameter kimia dan fisika dengan analisis laboratorium (Kordi dan Tancung, 2010). Untuk parameter kimia diantaranya pH, oksigen terlarut (DO), ammonia, TOM, COD dan CO<sub>2</sub>. Sedangkan untuk parameter fisika yaitu suhu.

Kualitas air yang buruk menyebabkan budidaya ikan nila terganggu sehingga menimbulkan masalah dalam budidaya. Salah satu masalah dalam budidaya adalah adanya penyakit. Penyakit VNN disebabkan karena pengelolaan kualitas air yang buruk. Infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut atau parah dan virus ini dengan mudah menginfeksi



ikan yang stres akibat padat tebar yang tinggi dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya (Tanaka *et al.*, 1998 dalam putri *et al.*, 2013). Oleh karena itu perlu menjaga kualitas air agar tetap layak untuk budidaya. Prayitno (2002) menyatakan bahwa penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dapat menyebabkan kematian karena virus ini merusak saraf sentral pada ikan, sehingga berbagai rangsangan tidak mampu direspon dan keseimbangan dalam bergerak terganggu sehingga sulit berenang dan akhirnya ikan mengalami kematian.

VNN (*Viral Nervous Necrosis*) umumnya menyerang sistem organ syaraf mata dan otak yang dapat menyebabkan kelainan pada ikan yang diserang. Kelainan tersebut dapat ditunjukkan dengan tingkah laku berenang yang abnormal, berkurangnya nafsu makan, dan ikan berdiam di dasar. Oleh karena itu VNN juga disebut dengan VER (*Viral Encephalopathy and Retinopathy*). Yuasa *et al.* (2001) menjelaskan bahwa VNN umumnya menginfeksi stadia larva sampai yuwana dan menyerang sistem organ syaraf mata dan otak dengan gejala yang cukup spesifik karena ikan berdiam di dasar. Koesharyani *et al.* (2001) juga menambahkan nafsu ikan menurun dan banyak yang mati di dasar bak.

Menurut Asniatih (2013), pemeriksaan histopatologi pada ikan dapat memberikan gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Dalam penentuan penyakit pada ikan, diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan. Pada proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi. Untuk mengetahui perubahan patologi pada ikan yang terserang penyakit, perlu dilakukan pemeriksaan histologi untuk mendeteksi adanya komponen-komponen patogen yang bersifat infeksiif melalui pengamatan secara mikro anatomi terhadap perubahan abnormal tingkat jaringan. Menurut Priosoeryanto (2010),

insang, usus, dan otot merupakan organ yang sering terpapar oleh agen dan bagian penting dalam hubungannya dengan penyakit. Organ ini dapat mengalami perubahan patologi yang disebabkan oleh perubahan fisik dan kimiawi pada air.

Penelitian ini akan membahas mengenai status kualitas air dan gambaran histopatologi otot ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi VNN pada kolam pemeliharaan. Metode yang akan digunakan adalah dengan menggunakan metode analisis histopatologi dan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah yaitu bagaimana analisis kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dan gambaran histopatologi otot daging Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui status kualitas air dan gambaran histopatologi otot daging Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) pada kolam pemeliharaan ikan Nila yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

### 1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) serta struktur intramuscular khususnya otot daging ikan nila yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sehingga dapat melengkapi informasi ilmiah.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai petunjuk dalam mendiagnosa adanya serangan VNN dalam budidaya ikan Nila (*Oreochromis niloticus*), sehingga dapat menentukan langkah awal yang tepat dalam pencegahan ataupun penanggulangan secara dini terhadap organisme yang di budidaya.

#### 1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari hingga April 2016 di Desa Krakal Kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar untuk pengambilan sampel Ikan nila, Laboratorium Penyakit Ikan dan Lingkungan UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil untuk uji PCR, Laboratorium Anatomi dan Patologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang untuk pembuatan preparat histopatologi dengan pewarnaan HE dan Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya untuk uji kualitas air dan pengamatan Histopatologi ikan nila.

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila merupakan jenis ikan air tawar yang mempunyai nilai konsumsi cukup tinggi. Bentuk tubuh memanjang dan pipih ke samping dan warna putih kehitaman atau kemerahan. Ikan nila berasal dari Sungai Nil dan danau-danau sekitarnya. Sekarang ikan ini telah tersebar ke negara-negara di lima benua yang beriklim tropis dan subtropis. Di wilayah yang beriklim dingin, ikan nila tidak dapat hidup (Sugiarto, 1988). Ikan nila disukai oleh beberapa bangsa karena dagingnya enak dan tebal seperti daging ikan kakap merah (Sumantadinata, 1981).

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah ikan air tawar yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan merupakan ikan budidaya yang menjadi salah satu komoditas ekspor. Departemen Perikanan dan Akuakultur FAO (Food and Agriculture Organization) menempatkan ikan nila di urutan ketiga setelah udang dan salmon sebagai contoh sukses perikanan budidaya dunia. Ikan nila termasuk ikan air tawar yang mempunyai nilai ekonomis tinggi, memiliki kandungan protein tinggi dan keunggulan berkembang dengan cepat. Kandungan gizi ikan nila yaitu protein 16-24%, kandungan lemak berkisar antara 0,2-2,2% dan mempunyai kandungan karbohidrat, mineral serta vitamin. Ikan nila mempunyai pertahanan yang tinggi terhadap gangguan dan serangan penyakit. Namun demikian, tidak berarti tidak ada hama dan penyakit yang akan mempengaruhi kesehatan dan pertumbuhan ikan nila, terlebih pada fase benih (Mulia, 2006).

### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)



**Gambar 1.** Ikan nila (*Oreochromis niloticus*)

Menurut Saanin (1984), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) mempunyai klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Osteichthyes
Subkelas	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Subordo	: Percoidea
Famili	: Cichlidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i>

Ikan nila memiliki ciri morfologis yaitu berjari-jari keras, sirip perut torasik, letak mulut subterminal dan berbentuk meruncing. Selain itu, tanda lainnya yang dapat dilihat dari ikan nila adalah warna tubuhnya hitam dan agak keputihan. Bagian tutup insang berwarna putih, sedangkan pada nila lokal putih agak kehitaman bahkan kuning. Sisik ikan nila berukuran besar, kasar dan tersusun rapi. Sepertiga sisik belakang menutupi sisi bagian depan. Tubuhnya memiliki garis linea lateralis yang terputus antara bagian atas dan bawahnya. Linea

lateralis bagian atas memanjang mulai dari tutup insang hingga belakang sirip punggung sampai pangkal sirip ekor. Ukuran kepala relatif kecil dengan mulut berada di ujung kepala serta mempunyai mata yang besar (Kottelat et al., 1993).

Bentuk badan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) ialah pipih kesamping memanjang. Mempunyai garis vertikal pada badan sebanyak 9–11 buah, sedangkan garis-garis pada sirip berwarna merah berjumlah 6–12 buah. Pada sirip punggung terdapat juga garis-garis miring. Mata kelihatan menonjol dan relatif besar dengan bagian tepi mata berwarna putih. Badan relatif lebih tebal dan kekar dibandingkan ikan mujair. Garis lateralis (gurat sisi di tengah tubuh) terputus dan dilanjutkan dengan garis yang terletak lebih bawah (Susanto, 2007). Perbedaan antara ikan jantan dan betina dapat dilihat pada lubang genitalnya dan juga ciri-ciri kelamin sekundernya. Pada ikan jantan, di samping lubang anus terdapat lubang genital yang berupa tonjolan kecil meruncing sebagai saluran pengeluaran kencing dan sperma. Tubuh ikan jantan juga berwarna lebih gelap, dengan tulang rahang melebar ke belakang yang memberi kesan kokoh, sedangkan yang betina biasanya pada bagian perutnya besar (Suyanto, 2003)

Ikan nila dilaporkan sebagai pemakan segala (omnivora), pemakan plankton, sampai pemakan aneka tumbuhan sehingga ikan ini diperkirakan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali gulma air (Elyana, 2011). Ketika masih benih, makanan yang disukai ikan Nila adalah zooplankton (plankton hewani), seperti *Rotifera* sp., *Moina* sp. atau *Daphnia* sp. selain itu memakan alga atau lumut yang menempel pada benda-benda di habitat hidupnya. Ikan Nila dewasa ataupun induk pada umumnya mencari makanan di tempat yang dalam. Jenis makanan yang disukai ikan Nila dewasa adalah fitoplankton, seperti alga berfilamen, tumbuh-tumbuhan air, dan organisme renik yang melayang-layang dalam air (Amirudin, 2012).

### 2.1.2 Habitat dan Kebiasaan Hidup Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila merupakan ikan konsumsi yang umum hidup di perairan tawar, terkadang ikan nila juga ditemukan hidup di perairan yang agak asin (payau). Ikan nila dikenal sebagai ikan yang bersifat euryhaline (dapat hidup pada kisaran salinitas yang lebar). Ikan nila mendiami berbagai habitat air tawar, termasuk saluran air yang dangkal, kolam, sungai dan danau. Ikan nila dapat menjadi masalah sebagai spesies invasif pada habitat perairan hangat, tetapi sebaliknya pada daerah beriklim sedang karena ketidakmampuan ikan nila untuk bertahan hidup di perairan dingin, yang umumnya bersuhu di bawah 21 ° C (Harrysu, 2012).

Ikan nila mempunyai kemampuan tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14-38°C dengan suhu optimum bagi pertumbuhan dan perkembangannya yaitu 25-30°C. Pada suhu 14°C atau pada suhu tinggi 38°C pertumbuhan ikan nila akan terganggu. Pada suhu 6°C atau 42°C ikan nila akan mengalami kematian. Kandungan oksigen yang baik bagi pertumbuhan ikan nila minimal 4mg/L, kandungan karbondioksida kurang dari 5mg/L dengan derajat keasaman (pH) berkisar 5-9 (Amri, 2003). Menurut Santoso (1996), pH optimum bagi pertumbuhan nila yaitu antara 7-8 dan warna di sekujur tubuh ikan dipengaruhi lingkungan hidupnya. Bila dibudidayakan di jaring terapung (perairan dalam) warna ikan lebih hitam atau gelap dibandingkan dengan ikan yang dibudidayakan di kolam (perairan dangkal).

Pada perairan alam dan dalam sistem pemeliharaan ikan, konsentrasi karbondioksida diperlukan untuk proses fotosintesis oleh tanaman air. Nilai CO<sub>2</sub> ditentukan antara lain oleh pH dan suhu. Jumlah CO<sub>2</sub> di dalam perairan yang bertambah akan menekan aktivitas pernapasan ikan dan menghambat pengikatan oksigen oleh hemoglobin sehingga dapat membuat ikan menjadi

stress. Kandungan CO<sub>2</sub> dalam air untuk kegiatan pembesaran nila sebaiknya kurang dari 15 mg/liter (Sucipto dan Prihartono, 2005).

### 2.1.3 Otot Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Pada umumnya otot ikan mempunyai otot utama, yaitu otot polos, otot jantung, dan otot rangka (otot skeletal). Jika ditinjau dari sifatnya ada yang bersifat voluntary yaitu otot yang sifatnya dipengaruhi oleh kemauan syaraf sadar dan involuntary yaitu otot yang sifatnya tidak dipengaruhi oleh kemauan syaraf sadar (Rahardjo, 1985). Urat daging yang terdapat pada ikan seperti yang terdapat pada vertebrata lain pada prinsipnya terdiri dari tiga macam. Pertama ialah urat daging licin (*involuntary*) seperti urat daging yang terdapat pada usus yang kerjanya tidak di bawah rangsangan otak. Kedua ialah urat daging jantung merupakan urat daging khusus yang terletak antara urat daging licin dan urat daging bergaris. Urat daging ini juga bekerja tanpa di pengaruhi oleh kemauan otak. Dan yang ketiga ialah urat daging bergaris atau urat daging rangka karena kebanyakan menempel pada tulang. Macam urat daging ini bekerja di bawah rangsangan otak (*voluntary*) (Effendi, 1972).

### 2.2 Virus pada Ikan

Virus tidak dapat melakukan proses reproduksi sendiri. Virus merupakan seperangkat gen di dalam bungkus protein. Agar dapat hidup virus harus menempatkan dirinya dalam hal ini gen-gennya dalam tubuh inang untuk kemudian memperbanyak dirinya. Hasil penggandaan inilah yang akan menginfeksi sel-sel inangnya. Ukuran virus sangat kecil sekitar 0,0003 mm (Burgess et al, 1997). Hanya sedikit yang diketahui tentang virus yang dapat menimbulkan penyakit pada ikan. Sebagian besar virus yang dapat menimbulkan penyakit ikan menyerang ikan air tawar dan salmon (Burgess et al, 1997)

Penyakit akibat infeksi virus biasanya terjadi pada pembudidayaan dengan sumber air yang berasal dari perairan yang kaya akan bahan organik. Biasanya insidensi penyakit virus berkaitan erat dengan perubahan suhu air (Supriyadi, 2004). Biasanya infeksi virus menyebabkan mortalitas 100 % (Sunarto, 2004).

Beberapa penyakit akibat virus antara lain Channel Catfish Virus Disease (CCVD), Spring Viraemia of Carp (SVC), Infectious Pancreatic Necrosis (IPN), Infectious Haematopoietic Necrosis (IHN), Lymphocystis, Sleepy grouper disease (SGD) = Iridovirus, Viral Nervous Necrosis (VNN) = Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER), Herpesvirus cyprini / Koi herpesvirus (KHV). Sedangkan beberapa penyakit udang akibat infeksi virus antara lain Baculovirus Penaei Disease, Monodon Baculovirus Disease, Baculovirus Midgut-gland Necrosis Virus Disease, Yellowhead Disease, Hepatopancreatic Parvovirus, Taura Syndrome, Whitespot Disease, Lymphoid Parvovirus Disease, Type C Baculo Virus (Sunarto, 2004).

### **2.3 VNN (Viral Nervous Necrosis)**

VNN (*Viral Nervous Necrosis*) dikenal juga sebagai *Virus Encephalopathy and Retinopathy* (VER). Penyakit ini telah terdaftar dalam OIE (*Office International des Epizooties*) yang termasuk dalam salah satu penyakit yang mewabah hampir di seluruh dunia. Menurut Maeno *et al.* (2007). VNN merupakan virus penyebab penyakit retinopathy dan encephalopathy yang memiliki kisaran inang yang luas. Yang (2007) juga menyebutkan VNN (*Viral Nervous Necrosis*), yang karakternya adalah ikan berenang spiral dan vakuolisasi pada otak dan retina disebabkan oleh *Nervous Necrosis Virus* (NNV), dan merupakan patogen pada spesies ikan yang berekonomis tinggi di dunia. Menurut Prajitno (2008), penyakit *Viral Encephalopathy and Retinopathy* (VER) atau lebih dikenal *Viral Nervous Necrosis* (VNN) disebabkan oleh Nodavirus yang termasuk golongan virus RNA,

berbentuk *icosahedral* tanpa envelop berdiameter 25 – 30 nanometer (nm). Penyakit ini merupakan permasalahan serius pada budidaya ikan laut terutama ikan kerapu dan kakap karena dapat menyebabkan kematian 50 – 100% pada larva umur 10 – 20 hari.

### 2.3.1 Taksonomi dan Morfologi

Betanodavirus (keluarga Nodaviridae) adalah agen yang menyebabkan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada berbagai kegiatan budidaya ikan laut di seluruh dunia. Penyakit ini terjadi terutama sepanjang periode pembenihan larva dan proses budidaya ikan berlangsung (Gomez *et al.*, 2006).

Adapun klasifikasi VNN menurut Chi *et al.* (2001) sebagai berikut :

Kingdom	: Virus
Divisi	: RNA Virus
Class	: <i>Single stranded (+) RNA Virus</i>
Family	: Nodaviridae
Genus	: Betanodavirus
Spesies	: <i>Viral Nervous Necrosis</i>

Piscine nodavirus termasuk dalam genus Betanodavirus dari family Nodaviridae yang mengandung 2 *single-stranded, positive-sense, nonpolyadenylated RNAs*, RNA1 dan RNA2, yang nantinya mengkode struktur protein virus. Ukuran dari partikel virus ini berdiameter 25-32 nm (Mori *et al.*, 1992 dalam Azad *et al.*, 2005). Identifikasi virus penyebab VNN ini adalah anggota family Nodaviridae diperoleh dengan menyelidiki asam nukleat dan protein structural dari larva virus *Pseudocaranx dentex*.

Keluarga Nodaviridae terdapat 2 jenis yaitu jenis Alphanodavirus dan betanodavirus, kedua jenis ini sangat ganas dalam menginfeksi ikan. Betanodavirus (family Nodaviridae) adalah agen penyebab serangan *Viral*

*Nervous Necrosis* (VNN) pada budidaya ikan laut. Betanodaviruses adalah virus kecil, berbentuk bola, tidak punya kapsid dengan genome yang terdiri atas dua ikatan tunggal. Nodaviruses adalah virus icosahedral yang tidak dibungkus dengan suatu genome terdiri dari 2 RNAs ikatan tunggal. Piscine nodaviruses (betanodaviruses) telah menunjukkan infeksi pada lebih dari 30 jenis ikan laut terutama pada masa larva dan juvenile, dan infeksi yang umumnya mengakibatkan mortalitas yang tinggi (Maeno *et al.*, 2007).

Identifikasi penyebab virus adalah anggota dari keluarga Nodaviridae yang didapat dari investigasi asam nukleat dan struktur protein virus pada larva *Pseudocaranx dentex*. Nodavirus berbentuk kecil, *Non-enveloped* icosahedral dengan genom yang terdiri dari 2 single stranded RNAs (Mori *et al.*, 1992). Yang (2007) juga menjelaskan bahwa *Nervous Necrosis Virus* adalah anggota dari keluarga nodaviridae berdasarkan asam nukleat, struktur genom, kandungan protein dan hubungan serological. Beberapa NNV telah dideskripsikan struktur genomnya dengan beberapa perbedaan pada rangkaian nukleotida.

### 2.3.2 Epidemiologi infeksi VNN

Prajitno (2008) menjelaskan bahwa epidemiologi adalah studi tentang pola (dinamika dan distribusi) dan faktor penyebab (*determinant*) penyakit didalam suatu populasi. *Determinant* terdiri dari 3 faktor yaitu *agent*, *host* dan *environment*. Terjadinya suatu penyakit ditimbulkan oleh interaksi ketiga faktor tersebut. Jadi dalam memonitoring atau pemantauan penyakit atau sering disebut juga *surveillance*, ketiga faktor tersebut selalu dianalisis keterkaitannya satu sama lain supaya dapat disimpulkan faktor mana yang dominan dalam menimbulkan penyakit.

Transmisi dari virus ini dapat terjadi secara vertikal dan horizontal. Transmisi VNN secara vertical, dapat menyebar dari induk ke larva. Telur adalah

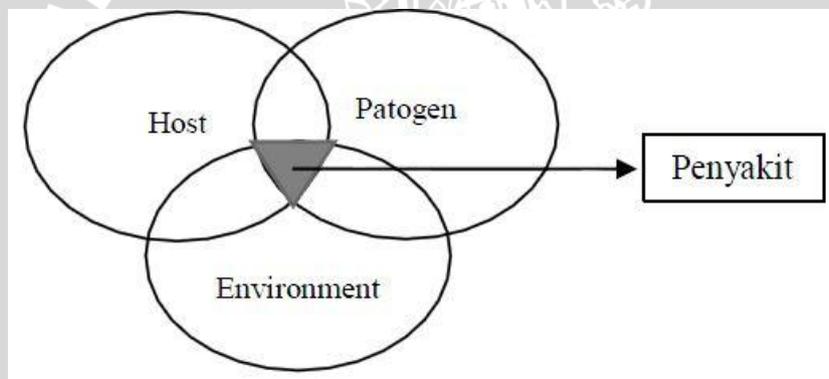
suatu sumber virus yang penting. VNN dapat dideteksi ada pada gonad, usus, perut, ginjal dan hati sebagai tempat inang mengeram. VNN menyebar dalam indung telur sehingga telur dapat menyebabkan transmisi vertikal dari virus ini. Kebiasaan makan dan makanan dari ikan dapat juga menjadi sarana penyebaran virus VNN baik itu antar spesies (Inter-Species) maupun sesama spesies (Intra-Species) baik secara klinis atau secara subklinis sehingga menyerang ikan.

Serangan VNN antar populasi pada budidaya ikan laut dapat terjadi dengan transmisi secara vertikal atau secara horisontal. Di Korea, gejala serangan VNN pertama kali dilaporkan menyerang budidaya ikan grouper (kerapu) (*Epinephelus septemfasciatus*). Kematian massal pada ikan red drum (*Sciaenops ocellatus*) yang dipelihara dipanti pembenihan berhubungan dengan betanodavirus (Chi, 2006).

Didalam perkembangan larva, vakuolasi pertama yang perlu diamati mengenai tulang belakang, pada spina (sirip punggung), kerusakan pada gelembung renang, kemudian keadaan dalam otak, dan didalam retina, ditandai pada tulang belakang terdapat titik lokasi awal untuk perkembangbiakan VNN. (Nguyen et al., 1996) Secara alami, larva ikan muda yang terserang virus dapat dideteksi dalam epitelial sel kulit dan epitelium yang berhubungan dengan usus (intestinal), yang secara bersamaan dengan sel syaraf Central Nervous System (CNS) sebagai tahap awal infeksi atau peradangan oleh VNN. Neurotropisme dari indikasi serangan virus VNN itu mungkin memperoleh akses ke sistem saraf pusat (CNS) lewat saraf perifer, misalnya lewat hubungan saraf otomatis pada organ pencernaan, juga lewat sensor dan berhubungan dengan saraf motorik pada epitelium dari kulit. (Dennis et al, 2006).

### 2.3.3 Gejala Klinis VNN (*Viral Nervous Necrosis*)

Gejala klinis umum VNN pada beberapa jenis ikan antara lain perilaku ikan terserang berenang tak menentu, dan ikan mengapung dengan perut diatas disebabkan oleh pembengkakan gelembung renang (swim bladder), warna tubuh terlihat lebih gelap dan selera makan berkurang. Kematian (mortalitas) kumulatif mencapai 34% dan 56% selama 10 minggu. Ikan yang terkena infeksi VNN biasanya memperlihatkan keadaan gangguan saraf yang berhubungan dengan vacuolisasi (kerusakan) kuat sistem nerves pusat dan retina (Thie´ry, et. all, 2006). Kemampuan virus untuk menyebabkan penyakit, terjadi melalui interaksi antar virus, inang dan lingkungan (Gambar 2).



**Gambar 2.** Pola hubungan interaksi antara patogen penyakit, inang dan lingkungan (Lio-Po *et al.*, 2001).

Menurut Prajitno (2008), diagnosa gejala 1 berdasarkan gejala klinis. ikan yang terserang vnn menunjukkan gejala gangguan sistem saraf seperti berenang tidak beraturan dan berputar dan terbalik (*Whirling*), warna ikan menjadi lebih gelap pada ikan kerapu dan lebih terang pada ikan kakap, kurus, luka, gelembung renang mengembung dan mata mengalami kebutaan. Biasanya ikan yang terserang VNN menunjukkan salah satu atau gabungan dari beberapa gejala klinis tersebut diatas, tetapi kadang-kadang tidak menunjukkan gejala klinis sama sekali. Tingkat keganasan (virulensi) dan serangan kematian karena

VNN tergantung pada umur ikan dan ikan kecil biasanya lebih rentan dengan tingkat kematian lebih tinggi dibandingkan ikan besar. Oleh karena itu larva ikan harus di tes terhadap VNN sebelum dilalu lintaskan atau di tebar di karamba. Diagnosa level 2 berdasarkan hispatologis. Kerusakan jaringan yang khas karena serangan VNN adalah vakuolisasi di retina mata dan sistem saraf. Diagnosa level 3, berbasis biologi molekuler dan isolasi virus. Isolasi virus dilakukan antara lain: dengan kultur sel SSN-1 (striped snakehead) atau teknik Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

#### **2.3.4 Diagnosis Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)**

Saat ini telah dikembangkan berbagai metode diagnosis virus diantaranya metode konvensional seperti histopatologi, dotblot, hibridisasi, in situ dan PCR dan RT-PCR. Metode diagnosis dengan PCR mungkin merupakan salah satu metode yang cepat dan menjanjikan tingkat akurasi yang tinggi dibandingkan metode lain. Sampel dapat disiapkan dalam awetan alkohol 70% dalam potongan kecil (0,5 cm), untuk PCR dan penggunaan formalin 10% untuk pemeriksaan histopatologi (Nguyen, 1997).

Pemeriksaan virus dapat dilakukan dengan teknik PCR (Polymerase Chain Reaction). Untuk virus RNA diperiksa dengan RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction). Sampel yang digunakan untuk pemeriksaan virus disimpan dalam alkohol 70 % (untuk virus DNA) atau Alkohol 80 % + Glicerol 20 % (untuk virus RNA) dan disimpan dalam refrigerator (Sunarto, 2004).

#### **2.4 Histopatologi**

Histopatologi merupakan suatu studi penyakit mencakup fungsional dan perubahan morfologi serta reaksi yang berkembang pada organisme akibat infeksi agen dan kekurangan nutrisi (Plumb, 1994). Pemeriksaan histopatologi

pada ikan dapat memberikan gambaran perubahan jaringan ikan yang terinfeksi penyakit. Dalam penentuan penyakit pada ikan, diagnosa penyakit merupakan langkah awal yang perlu diterapkan. Pada proses diagnosa penyakit infeksi pada ikan, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu, tanda-tanda klinis yang meliputi tingkah laku, ciri-ciri eksternal maupun internal serta perubahan patologi.

Faktor yang menyebabkan respon histopatologi ikan adalah adanya zat penyebab iritasi yang terus menerus masuk ke dalam sel atau jaringan dan kemudian dapat mempengaruhi kehidupan organisme (Moyes, 2006 dalam Widayanti, dkk., 2010). Menurut Mahasri (2011), melalui pengamatan histopatologi akan didapatkan perubahan sel, jaringan dan organ yang terinfeksi sehingga dapat diketahui perbedaan sel, jaringan dan organ yang terinfeksi dan tidak terinfeksi. Struktur jaringan normal maupun abnormal dapat dipelajari secara mikroskopik dalam bentuk preparat jaringan. Preparat ini dibuat melalui proses histopatologi.

#### 2.4.1 Perubahan Patologi Otot Ikan Nila

Priosoeryanto *et al.* (2010) menyatakan bahwa perubahan histopatologi yang terjadi pada otot ikan yaitu perubahan-perubahan yang melibatkan pertumbuhan berlebihan, pertumbuhan tidak sempurna, atau pola pertumbuhan abnormal pada jaringan otot. Perubahan secara histopatologi yang terjadi yaitu atropi, degenerasi, dan edema.

Ningrum (2006) menjelaskan bahwa perubahan patologi pada *musculus* ikan berupa :

1. Pembengkakan sel (edema)

Merupakan tingkat awal degenerasi berupa pembengkakan dan kekeruhan sitoplasma serta timbulnya banyak granula dalam sitoplasma yang melebihi jumlah normal.

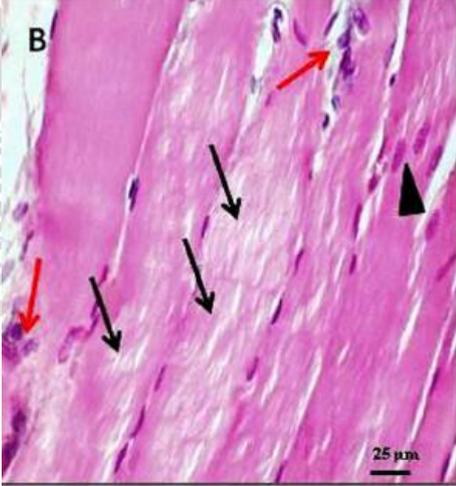
2. Hiperplasia

Terjadi proliferasi sel terus menerus, sehingga menyebabkan bersatunya serabut-serabut otot yang berdekatan.

3. Tingkat kematian sel (nekrosis)

Nekrosis merupakan kematian yang terjadi secara cepat pada bagian yang terbatas pada suatu jaringan hewan yang masih hidup, bersifat permanen dan terjadi pada stadium akhir. Perubahan patologi pada otot ikan dapat dilihat pada Tabel 1.

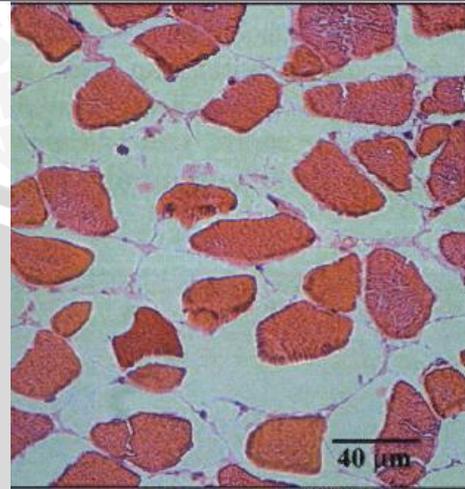
**Tabel 1.** Perubahan Patologi Pada Otot Ikan

No.	Perubahan Histologi	Gambar
1.	<p><b>Inflamasi</b>, merupakan suatu respon pertahanan jaringan yang rusak dan responnya ditandai dengan <i>color, rubor, tumor, dolore dan function laeso</i> (panas, merah, bengkak, sakit dan kehilangan fungsi) (Roberts, 2001). Inflamasi ditunjukkan pada panah merah yang ditandai dengan munculnya warna kemerahan pada sel.</p>	

(Musumecia et. al., 2016)

No.	Perubahan Histologi	Gambar
-----	---------------------	--------

2. **Edema**, adalah suatu akumulasi cairan yang abnormal didalam rongga-rongga tubuh atau di dalam ruang-ruang interstitial dari jaringan dan organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan dan biasanya mengindikasikan adanya suatu ketidakseimbangan tekanan hidrostatik atau kesalahan pada tekanan osmotis darah, peningkatan permeabilitas pembuluh kapiler, limfe obstruksi atau disfungsi ginjal (Hibiya and Fumio, 1995). Perubahan edema pada gambar disamping berupa rongga antar serabut otot.



(Priosoeryanto,2010)

3. **Infiltrasi Radang**, adalah masuknya sel-sel radang ke dalam jaringan sebagai respon karena adanya penyakit atau agen toksik. Perubahan histopatologi akibat infestasi sel radang ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel radang pada jaringan normal. Adanya sel dan jaringan yang mengalami kerusakan,

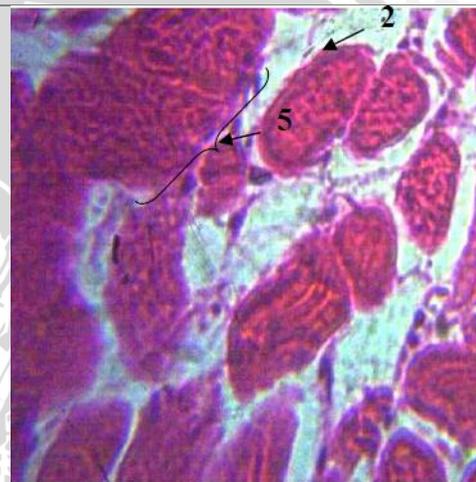


(Prihartini, 2015)

No.	Perubahan Histologi	Gambar
-----	---------------------	--------

maka sel radang akan keluar dari pembuluh darah dan menuju ke daerah yang terinfiltrasi tersebut, sehingga jaringan pembuluh darah banyak dijumpai vakuola (Thomson, 1984).

**4. Hiperplasia**, merupakan penambahan dari suatu bagian tubuh karena adanya peningkatan jumlah sel (Robert, 2001). Hiperplasia ditunjukkan pada panah no.5 yang menunjukkan bersatunya otot-otot yang berdekatan. Hal ini ditandai dengan membesarnya serabut otot.

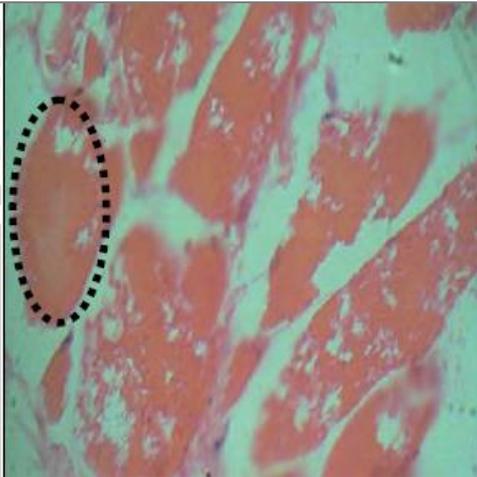
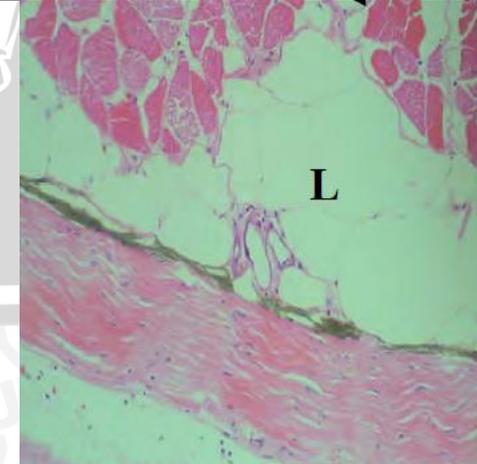


(Ningrum,2006)

**5. Atropi**, adalah berkurangnya ukuran dari suatu bagian tubuh akibat adanya pengurangan ukuran atau jumlah dari sel-sel yang ada dan proses terjadinya biasanya lambat (Plump,1994). Atropi sel otot ditunjukkan dengan panah hitam, tampak pada sel otot berwarna lebih merah.



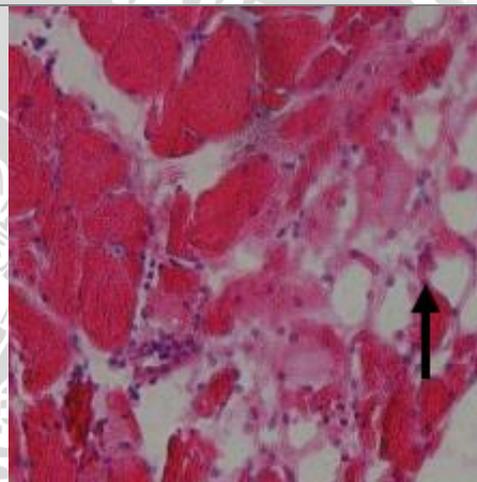
(Prisoeryanto, 2010)

No.	Perubahan Histologi	Gambar
6.	<p><b>Degenerasi Hyalin</b>, merupakan keadaan serabut otot yang menunjukkan penampilan homogen dan menyerap pewarnaan eosin secara dominan. Serabut otot yang mengalami degenerasi hyalin akan lebih mudah rusak dibandingkan serabut otot yang normal. Nukleus otot pada serabut otot normal yang berada di sekitar otot yang mengalami hyalinasi terkadang mengalami hiperplasia. Beberapa serabut otot yang terlihat normal di sekitar serabut yang terhyalinasi sering memperlihatkan pemisahan longitudinal yang frekuensi (Hibiya, 1995).</p>	
(Susanto, 2008)		
7.	<p><b>Degenerasi Lemak</b>, Degenerasi lemak terjadi karena akumulasi lipid dan gangguan metabolisme lemak karena kekurangan enzim lipase intraseluler atau asupan nutrisi yang mengandung lemak yang tinggi. Lemak pada otot ini merupakan salah satu faktor yang</p>	
		(Susanto, 2008)

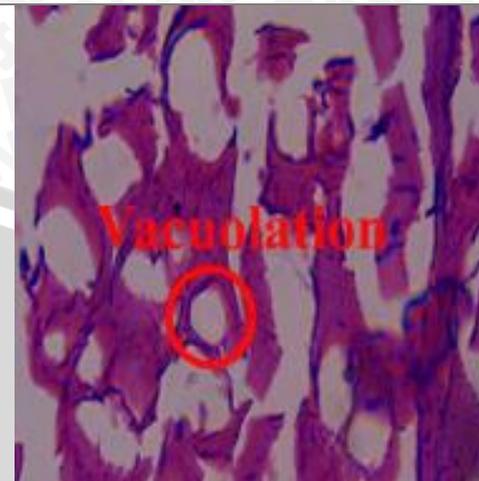
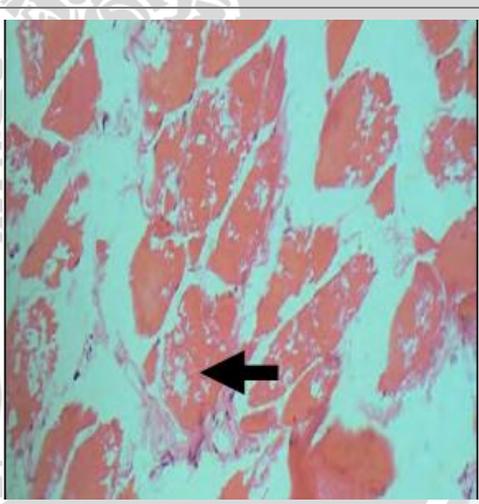
No.	Perubahan Histologi	Gambar
-----	---------------------	--------

mempengaruhi rasa daging ikan. Degenerasi lemak juga dapat terjadi karena penyakit infeksi, ketidakseimbangan nutrisi dan beberapa bahan toksik (Susanto, 2008). Degenerasi lemak ditunjukkan pada huruf L.

**8. Nekrosis**, adalah kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversible. Nekrosis dapat disebabkan oleh trauma, agen-agen biologis (virus, bakteri, jamur dan parasit) dan agen-agen kimia (Plumb, 1994). Gambaran mikroskopis dari peristiwa nekrosis, berupa perubahan warna jaringan menjadi lebih pucat dan perubahan konsistensi jaringan menjadi lebih lunak.



(Priyatna, 2011)

No.	Perubahan Histologi	Gambar
9.	<p><b>Vakuolisasi.</b> Penampakkannya terlihat pada bentuk inti yang tampak membesar dan bergelembung serta khromatinnya jarang dan tidak eosinophil (kemerahan). Vakuolisasi ini disebabkan oleh perubahan keseimbangan cairan dalam sel akibat bertambahnya cairan (Mitchell <i>et. al.</i>, 2006). Ditandai dengan terbentuknya vakuola (ruang kosong) pada sel.</p>	 <p>(Rajkumar <i>et.al.</i>, 2016)</p>
10.	<p><b>Nekrosa Serabut Otot,</b> Nekrosa serabut otot merupakan kelainan yang terjadi berupa lisisnya sel-sel otot yang terlihat menjadi lubang-lubang. Nekrosa serabut otot dapat terjadi karena iskemia atau berhentinya suplai darah ke suatu jaringan otot, kekurangan nutrisi dan penyakit infeksius (Susanto, 2008).</p>	 <p>(Susanto, 2008)</p>

### 2.5 Kualitas Air

Kualitas air yang baik adalah yang mampu memenuhi kondisi fisika, kimia dan biologi yang optimal. Dalam penelitian ini parameter kualitas air yang di analisis yaitu Suhu, pH, DO (Oksigen Terlarut), Amonia, CO<sub>2</sub>, TOM dan COD.

### 2.5.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam budidaya ikan, karena suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme ikan. Menurut Effendi (2003), peningkatan suhu menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme dan respirasi organisme air, dan selanjutnya mengakibatkan peningkatan konsumsi oksigen. Setiap ikan mempunyai suhu ideal yang berbeda-beda untuk dapat tumbuh dan berkembang dengan baik. Kisaran suhu optimal bagi kehidupan ikan di perairan tropis adalah antara 28 – 32°C (Kordi dan Tancung, 2010). Sedangkan suhu yang optimum bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup ikan nila yaitu berkisar antara 28-32°C (Yanti, 2013)

*Viral Nervous Necrosis* (VNN) atau betanodavirus dapat menginfeksi pada daerah beriklim tropis, sub tropis, atau pada daerah yang bersuhu dingin. Suhu optimal untuk betanodavirus bervariasi tergantung pada strain virus dan spesies ikan. Menurut Putri *et al.*, 2013 menyatakan bahwa suhu optimal pertumbuhan VNN adalah sebesar 27 – 28°C.

### 2.5.2 pH

Derajat keasaman atau pH air menunjukkan aktivitas ion hidrogen dalam larutan tersebut dan dinyatakan sebagai konsentrasi ion hidrogen (dalam mol per liter) pada suhu tertentu (Kordi dan Tancung, 2010). Setiap organisme dalam budidaya memiliki kisaran toleransi pH yang berbeda-beda. Menurut Effendi (2003), sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7 – 8,5. Nilai pH sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, misalnya proses nitrifikasi akan berakhir jika pH rendah.

Setiap ikan memiliki nilai pH yang optimal, karena pH yang optimal dapat mempengaruhi perkembangan ikan. pH yang terlalu asam atau terlalu basa mengakibatkan tubuh ikan tidak resisten terhadap penyakit. Menurut Nugroho

(2013), keasaman (pH) yang tidak optimal dapat menyebabkan ikan stress, mudah terserang penyakit, produktivitas dan pertumbuhan rendah. Ikan nila dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 6,5 – 9.

### 2.5.3 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen merupakan salah satu gas yang terlarut dalam perairan. Kadar oksigen yang terlarut di perairan alami bervariasi, tergantung pada suhu, salinitas, turbulensi air, dan tekanan atmosfer. Semakin besar suhu dan ketinggian (altitude) serta semakin kecil tekanan atmosfer, kadar oksigen terlarut semakin kecil (Effendi, 2003). Kadar oksigen dalam air akan bertambah dengan semakin rendahnya suhu. Pada lapisan permukaan air, kadar oksigen lebih tinggi karena adanya proses difusi antara air dan udara bebas serta adanya proses fotosintesis. Bertambahnya kedalaman akan terjadi penurunan kadar oksigen terlarut karena proses fotosintesis semakin berkurang dan oksigen yang ada banyak digunakan untuk pernapasan dan oksidasi bahan-bahan organik dan anorganik (Odum, 1981).

### 2.5.4 Ammonia (NH<sub>3</sub>)

Amonia yang terukur di perairan berupa amonia total (NH<sup>3</sup> dan NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Amonia bebas tidak dapat terionisasi, sedangkan amonium dapat terionisasi. Di perairan alami, pada suhu dan tekanan normal amonia berada dalam bentuk gas dan membentuk kesetimbangan dengan gas amonium. Ikan tidak dapat bertoleransi terhadap kadar amonia bebas yang terlalu tinggi karena dapat mengganggu proses pengikatan oksigen di dalam darah. Kadar amonia di perairan alami biasanya kurang dari 0,1 mg/L. Amonia dapat menjadi toksik bagi organisme akuatik. Presentase amonia bebas meningkat dengan meningkatnya pH dan suhu perairan. Toksisitas amonia terhadap organisme akuatik meningkat dengan penurunan kadar oksigen terlarut, pH dan suhu (Effendi, 2003). Ada

beberapa hal yang dapat menyebabkan konsentrasi amonia meningkat antara lain membusuknya makanan ikan yang tidak termakan, menurunnya kadar oksigen terlarut pada kolam yang apabila oksigen terlarut berkisar antara 1-5 ppm mengakibatkan pertumbuhan ikan menjadi lambat sedangkan oksigen terlarut yang kurang dari 1 ppm dapat bersifat toksik bagi sebagian besar spesies ikan (Dauhan, 2014).

### **2.5.5 Karbondioksida (CO<sub>2</sub>)**

Kepekatan oksigen terlarut dalam air tergantung pada kepekatan karbondioksida yang ada. Konsentrasi karbondioksida yang tinggi dihasilkan dari proses respirasi dan pembongkaran bahan-bahan organik di dasar kolam (Sutisna dan Sutarmanto, 1995). Menurut Saman (2014), menyatakan bahwa Karbondioksida (CO<sub>2</sub>) dengan kadar 50 – 100 ppm bersifat racun bagi ikan dan dapat menyebabkan ikan mati. Batas kadar gas CO<sub>2</sub> yang bisa diterima ikan berkisar 5 ppm. Ini pun harus diimbangi dengan kadar oksigen yang cukup tinggi untuk menghindari resiko ikan kekurangan oksigen. Ikan akan menjadi aktif bernapas apabila CO<sub>2</sub> lebih mudah larut dari pada O<sub>2</sub>. Hal ini terlihat dari gerakan air di seputar insang.

### **2.5.6 TOM (*Total Organic Matter*)**

Bahan organik pada kolom air terdiri dari fraksi partiel dan terlarut. Komponen organik terlarut lebih mudah untuk mengalami mineralisasi, sementara komponen partikulat akan mengalami sedimentasi. Kondisi perairan waduk yang tergenang memberikan peluang TOM untuk mengendap, sehingga pada dasar waduk akan terjadi akumulasi bahan organik yang cukup tinggi. Tingginya akumulasi bahan organik pada sedimen akan meningkatkan penyerapan oksigen di hipolimnion (Lukman dan Hidayat, 2000).

Tingginya bahan organik akan mempengaruhi kelimpahan organisme, dimana terdapat organisme-organisme tertentu yang tahan terhadap tingginya kandungan bahan organik tersebut, sehingga dominasi oleh spesies tertentu dapat terjadi. TOM (*Total Organic matter*) menggambarkan kandungan bahan organik total dalam suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi, dan koloid (Perdana *et al.*, 2014).

### 2.5.7 COD (*Chemical Oxygen Demand*)

COD menggambarkan jumlah total oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik secara kimiawi, air yang dapat didegradasi secara biologis (*biodegradable*) maupun yang sukar didegradasi secara biologis (*non biodegradable*) menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  (Effendi, 2003). COD menunjukkan tingkat kebutuhan oksigen untuk penguraian bahan organik baik secara kimia maupun biologis atau menunjukkan jumlah total oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi semua bahan organik yang terdapat dalam perairan menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Sama halnya seperti BOD, nilai COD akan meningkat dengan semakin tingginya bahan organik yang terdapat di perairan (Asmara, 2005).

Johan (2001) menyatakan bahwa nilai COD merupakan ukuran atau salah satu parameter bagi pencemaran air oleh zat-zat organik secara alamiah dan zat tersebut tidak dapat dioksidasi melalui proses mikrobiologis. Kebutuhan oksigen kimiawi adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat-zat organik yang terdapat dalam air secara kimiawi menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ , nilai COD akan meningkat sejalan dengan meningkatnya nilai bahan organik di perairan. Nilai COD pada perairan yang tidak tercemar biasanya kurang dari 20 mg/l, sedangkan pada perairan tercemar dapat lebih dari 200 mg/l (Effendi, 2003).

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian ini yaitu mengenai analisis parameter kualitas air pada kolam ikan nila yang terinfeksi VNN. Parameter kualitas air yang diukur adalah parameter fisika dan parameter kimia. Untuk parameter fisika yaitu Suhu. Untuk parameter kimia yaitu meliputi pH, DO, ammonia, CO<sub>2</sub>, TOM, COD. Dalam mendiagnosis penyakit VNN pada penelitian ini menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan untuk analisis organ pada ikan menggunakan metode histopatologi.

#### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada lampiran 1.

#### 3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif dengan teknik *surveillance*. Penggunaan metode deskriptif dengan teknik *surveillance* dimaksudkan agar dapat menggambarkan suatu kondisi pada daerah tertentu dengan tidak melakukan perubahan terhadap variabel-variabel yang diteliti. Menurut Surakhmad (1998), metode deskriptif merupakan metode yang menggambarkan keadaan atau kejadian di suatu daerah tertentu. Pelaksanaan metode deskriptif tidak terbatas pada pengumpulan dan penyusunan data, tetapi meliputi analisa dan pembahasan tentang data tersebut, sehingga diharapkan dapat memberikan gambaran secara umum, sistematis, aktual, dan valid mengenai fakta dan sifat-sifat populasi daerah tersebut. Menurut Prajitno (2008), *surveillance* merupakan kegiatan yang secara sistematis mengumpulkan, menganalisa dan menyebarkan informasi untuk mendukung

pernyataan bahwa suatu populasi bebas dari infeksi atau penyakit, atau juga dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan penyakit yang bertujuan untuk pengendalian. FAO (2004) menyatakan bahwa teknik *surveillance* dapat menunjang kegiatan dalam pencegahan dini terhadap infeksi suatu penyakit, perencanaan kontigensi (perencanaan untuk kejadian yang tidak terduga) dan pengontrolan dalam mencegah penyebaran penyakit.

### 3.4 Teknik Pengumpulan Data

Terdapat dua sumber data yang akan menentukan proses pengumpulan data yang akan dilakukan yaitu data primer dan data sekunder. Data primer adalah data yang diperoleh langsung dari sumbernya atau pelaku kegiatan, diamati dan dicatat untuk pertama kalinya (Marzuki 1986). Data sekunder adalah data yang bukan diusahakan sendiri pengumpulannya oleh peneliti (Marzuki, 1986).

#### 3.4.1 Data Primer

Data primer dapat diperoleh melalui observasi atau pengamatan dan melakukan wawancara kepada pihak terkait. Data primer adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan langsung dilapangan oleh orang yang melakukan penelitian atau yang bersangkutan yang memerlukannya (Hasan, 2002). Menurut Surakhmad (1998), data primer adalah data yang diperoleh secara langsung terhadap gejala obyek yang diselidiki, baik dalam situasi yang sebenarnya maupun dalam situasi buatan khusus diadakan.

Kegiatan yang berlangsung selama penelitian antara lain pengukuran kualitas air kolam pemeliharaan, pembedahan organ dalam ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi VNN (*Viral nervous Necrosis*), pengamatan dan menganalisa hasil yang diperoleh berupa gambaran

histopatologi intramuscular ikan nila melalui analisis histopatologi dan uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

a. Observasi

Menurut Arikunto (2002), observasi merupakan pengamatan yang dapat meliputi kegiatan dengan menggunakan indera yang dimiliki oleh manusia yaitu penglihatan, penciuman, pendengaran, peraba, dan pengecap. Dalam Penelitian ini observasi dilakukan dengan mengamati dan mencatat secara langsung terhadap data pengambilan sampel. Observasi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengambilan sampel ikan nila yang terinfeksi VNN. Selain itu juga dilakukan pengukuran kualitas air pada sampel air kolam pemeliharaan.

b. Wawancara

Pengumpulan data dengan wawancara digunakan sebagai teknik pengumpulan data yang dilakukan oleh peneliti terhadap responden dalam jumlah sedikit. Teknik wawancara merupakan studi pendahuluan untuk menemukan permasalahan yang akan diteliti (Sugiyono, 2010). Wawancara ini dilakukan terhadap pemilik tambak atau kolam yang ikan budidayanya terinfeksi VNN.

c. Partisipasi Aktif

Partisipasi aktif adalah melakukan observasi dengan melibatkan diri atau ikut menjadi bagian dari lingkungan sosial atau organisasi yang akan diamati (Indiantoro dan Supomo, 1999). Partisipasi aktif ini dilakukan secara langsung dengan mengikuti seluruh kegiatan penelitian yang meliputi pengambilan sampel ikan yang terinfeksi VNN, pemeriksaan ikan dengan menggunakan metode PCR, pengukuran kualitas air yaitu pengukuran parameter kimia dan fisika, serta menguji organ dalam dengan menggunakan metode histopatologi.

### 3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang telah lebih dahulu dikumpulkan dan dilaporkan oleh orang di luar diri penyelidik sendiri, walaupun yang dikumpulkan itu sesungguhnya adalah data yang asli (Surakhmad, 1998). Menurut Hasan (2002), data sekunder adalah data yang diperoleh atau dikumpulkan oleh orang yang melakukan penelitian dari sumber-sumber yang telah ada. Data sekunder biasanya diperoleh dari perpustakaan atau dari laporan-laporan penelitian terdahulu. Data sekunder disebut juga data tersedia. Data sekunder didapatkan dari buku-buku literature, jurnal-jurnal penelitian maupun artikel dari situs internet.

### 3.5 Metode Analisis Data

Analisis data adalah kegiatan mengatur, mengurutkan, mengelompokkan, memberi kode atau tanda dan mengategorikan data sehingga ditemukan hasil data tersebut. Analisis data berguna untuk mereduksi kumpulan data menjadi perwujudan yang dapat dipahami melalui pendeskripsian secara logis dan sistematis sehingga fokus studi dapat ditelaah, di uji dan di jawab secara cermat dan teliti (Semma, 2008). Analisis data yang digunakan adalah untuk analisis infeksi virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*), analisa histopatologi organ otot ikan nila (*Oreochromis niloticus*) untuk mengetahui tingkat kerusakan jaringan otot serta data kualitas air dilakukan dengan membandingkan data kualitas air yang diteliti dengan nilai optimal parameter kualitas air untuk budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pengambilan Sampel Ikan

Pengambilan sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengambil sampel ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dengan menggunakan jaring. Pengambilan sampel ikan dilakukan berdasarkan pertimbangan bahwa ikan nila (*Oreochromis niloticus*) termasuk ke dalam kriteria ikan yang terindikasi VNN yaitu ikan berenang tak menentu, dan ikan mengapung dengan perut diatas disebabkan oleh pembengkakan gelembung renang (swim bladder), warna tubuh terlihat lebih gelap dan selera makan berkurang.
2. Mengambil sampel ikan sebanyak 3 kali ulangan pada kolam pemeliharaan dengan selang waktu 1 minggu sekali. Setiap ulangan dilakukan pengambilan sampel sebanyak 3 ekor.
3. Selanjutnya membawa sampel ikan nila yang telah di ambil ke laboratorium lingkungan dan bioteknologi perairan fakultas perikanan universitas brawijaya untuk aklimatisasi ikan.
4. Membedah organ ikan yang akan diamati histopatologi secepatnya. Organ yang diambil dalam penelitian ini yaitu otot daging ikan nila (*Oreochromis niloticus*).
5. Memasukkan organ yang telah diambil kedalam formalin 10% agar jaringan tetap awet untuk preparat histopatologi

#### 3.6.2 Pengambilan Sampel Air

Pengambilan sampel air dilakukan berdasarkan pertimbangan. Menurut Supratno (2006), penarikan sampel berdasarkan *purposive* atau berdasarkan pertimbangan merupakan bentuk penarikan sampel yang didasarkan kriteria-

kriteria tertentu yaitu karakteristik tanah (warna, jenis, atau secara visual), sumber airnya dan kegiatan budidaya. Penentuan lokasi berdasarkan pertimbangan tertentu antara lain seperti kemudahan menjangkau lokasi titik sampling, serta efisiensi waktu dan biaya.

Pengambilan sampel air dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan selang waktu 1 minggu sekali. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) dalam selang waktu yang berbeda serta untuk mengetahui kisaran kualitas air bagi pertumbuhan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi VNN (*Viral Nervous Necrosis*). Pengukuran parameter kualitas air pada penelitian ini dilakukan dalam dua metode yaitu, pengukuran secara langsung (*in situ*) dan analisis laboratorium. Dimana pengukuran secara langsung (*in situ*) meliputi : suhu, pH, CO<sub>2</sub>, dan DO. sedangkan analisis laboratorium yaitu : COD, amonia, dan TOM.

### **3.6.3 Analisa *Polymerase Chain reaction* (PCR)**

Prinsip kerja uji PCR adalah mengekstraksi DNA dari sampel. Berikutnya memperbanyak potongan-potongan DNA/RNA yang membawa informasi genetika tertentu, dan sebagai langkah terakhir adalah proses *elektroforesis* untuk melihat hasil produk PCR. Sampel yang diuji PCR sebaiknya dalam kondisi segar. Namun bila tidak memungkinkan sampel dapat disimpan dalam larutan alcohol 95 % (perbandingan 1:9,1 bagian sampel dengan 9 bagian alcohol 95 %) untuk kemudian dikirim ke laboratorium (Bebeja,2013). Analisa dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dalam penelitian ini dapat dilihat dalam Lampiran 2.

### 3.6.4 Histopatologi Organ Otot Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Menurut Prayitno (komunikasi pribadi, 2015), pertama-tama sampel ikan nila diambil dari setiap lokasi pengamatan, lalu ikan nila dibedah dengan cara digunting dari anal ke arah sirip dorsal sampai irisan ototnya terlihat. Setelah irisan otot terlihat, diambil otot yang terletak di dekat sirip dorsal dengan pinset, kemudian otot dimasukkan ke dalam botol film untuk diawetkan. Cara pengawetan sampel yaitu pertama-tama tiap sampel otot ikan nila diawetkan dalam botol film volume 25 ml yang telah diisi formalin 10% sebanyak 20 ml, lalu botol film ditandai dengan kertas label sebagai penanda sampel masing-masing stasiun. Sampel otot ikan nila kemudian dibawa ke Laboratorium Anatomi Rumah Sakit Syaiful Anwar Malang untuk dibuatkan preparat jaringannya, agar jaringan otot ikan nila dapat diamati di mikroskop. Pengawetan sampel dilakukan selama perjalanan dari lapang ke laboratorium.

Cara pembuatan preparat (*slide*) jaringan mengacu pada pernyataan menurut Angka, *et al.* (1990) yaitu :

1. Sampel disayat menggunakan pisau scalpel yang tajam agar jaringan otot tidak rusak. Ikan disayat membentuk persegi panjang dengan ketebalan 5 mm agar bahan fiksatif dapat meresap sempurna. Sampel jaringan yang diperoleh direndam dalam larutan fiksatif selama 48 jam, perendaman dilakukan sebanyak 15—20 kali volume jaringan dan dilanjutkan dengan dehidrasi.
2. Larutan fiksatif dibuang, kemudian alkohol 70% dimasukkan ke dalam botol film hingga jaringan terendam, selanjutnya organ diambil dari dalam botol film dan dibungkus menggunakan kain kasa lalu diikat menggunakan benang yang dibentuk seperti teth celup, agar memudahkan dalam proses pergantian alkohol setelah 24 jam. Organ yang dibungkus kain kasa diambil dan ditiriskan di atas kertas tissue lalu dimasukkan ke dalam botol berisi alkohol 80%, 90%, 95%

- masing-masing selama dua jam dan alkohol 100% selama 12 jam dengan cara yang sama. Perendaman dilakukan pada suhu ruang.
3. Proses *clearing* yaitu jaringan direndam dalam alkohol-xylol(1:1) selama 30 menit, dilanjutkan dengan xylol I, xylol II dan xylol III masing-masing selama 30 menit. Perendaman dilakukan pada suhu ruang.
  4. Tahap impregnasi, yaitu penggantian xylol dengan paraffin cair yang berlangsung di dalam oven dengan suhu 60 °C. Proses ini dilakukan dengan perendaman jaringan ke dalam xylol-parafin (1:1) yang diletakkan dalam gelas piala selama 45 menit.
  5. Jaringan yang telah di *embedding* dalam parafin cair lalu diblok (dicetak agar mudah dipotong) dengan parafin cair, kemudian dibekukan. Proses ini membutuhkan cetakan yang dapat dibuat dari kertas kaku, seperti kertas kalender dengan ukuran 2x2x2 cm. Parafin cair dituangkan ke dalam cetakan hingga memenuhi 1/8 bagian cetakan dan dibiarkan hingga sedikit membeku.
  6. Jaringan disusun dalam cetakan dengan bagian sayatan yang diperlukan menghadap dasar cetakan dan dituangi parafin cair hingga material jaringan terendam selanjutnya dibiarkan beku dalam suhu ruang selama 24 jam. Setelah parafin beku dengan sempurna, blok parafin dikeluarkan dari cetakan lalu dipotong tipis menggunakan silet bermata satu agar dapat disesuaikan dengan tempat blok pada alat pemotong.
  7. Pemotongan jaringan dimulai dengan meletakkan blok parafin yang mengandung preparat pada tempat duduknya di mikrotom. Pita-pita parafin yang awal tanpa jaringan dibuang hingga diperoleh potongan yang mengandung preparat jaringan. Hasil irisan diambil dengan jarum lalu diletakkan di permukaan air hangat dalam 45—50°C *waterbath* hingga mengembang setelah pita parafin terkembang dengan baik, pita parafin tersebut ditempelkan pada gelas objek yang telah diberi zat perekat.

8. *Dewaxing* yang dimulai dengan meletakkan gelas objek yang berisi jaringan dalam keranjang preparat yang ukurannya sesuai dengan gelas objek. Lilin akan terlepas dari jaringan dan jaringan akan tampak jernih selanjutnya dilakukan hidrasi yang merupakan proses memasukkan air ke dalam preparat jaringan pada gelas objek setelah proses *dewaxing*.
9. Jaringan pada gelas direndam dalam alkohol 100% dalam wadah perendaman, lalu secara berturut-turut dimasukkan ke dalam alkohol 95%, 90%, 80%, 70% dan 50% masing-masing selama dua menit dengan cara yang sama pula selanjutnya preparat jaringan direndam ke dalam akuades selama dua menit.
10. Preparat jaringan diberi pewarna hematoksilin-eosin. Preparat jaringan direndam dengan pewarna hematoksilin-eosin selama 7 menit kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kelebihan zat warna yang tidak diserap. Preparat jaringan direndam dengan pewarna eosin selama 3 menit dan dicuci dengan akuades. Preparat jaringan kemudian direndam dalam alkohol 70%, 85%, 90% dan 100% masing-masing dilakukan selama dua menit, selanjutnya preparat jaringan direndam dalam xylol I dan xylol II masing-masing dengan durasi selama dua menit.
11. Preparat jaringan yang telah diwarnai dapat dibuat preparat yang lebih awet dengan cara *mounting* menggunakan *mounting agent* seperti enthelan. Preparat jaringan ditutup dengan gelas penutup yang sudah ditetesi enthelan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40 °C selama 24 jam.
12. Preparat histologi diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran mulai dari 40 kali hingga 1000 kali sesuai dengan kejelasan objek.
13. Dokumentasi menggunakan foto untuk dijadikan bahan analisis deskriptif.



### 3.6.5 Analisa Kualitas Air

Adapun parameter kualitas air yang dianalisa pada penelitian ini antara lain kualitas air yang di analisis yaitu Suhu, pH, DO (Oksigen Terlarut), Amonia ( $\text{NH}_3$ ),  $\text{CO}_2$  (karbondioksida), TOM (*Total Organic Matter*) dan COD (*Chemical Oxygen Demand*).

#### a. Suhu

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran suhu menggunakan Termometer Hg adalah sebagai berikut:

- Memasukkan termometer Hg kedalam perairan dengan membelakangi matahari, dan ditunggu beberapa saat sampai air raksa dalam termometer berhenti pada skala tertentu.
- Mencatat dalam skala  $^{\circ}\text{C}$ .
- Membaca skala pada saat termometer masih di dalam air, dan jangan sampai tangan menyentuh bagian air raksa termometer.

#### b. pH

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran pH dengan menggunakan pH meter adalah sebagai berikut:

- Melakukan kalibrasi pH meter dengan menggunakan larutan buffer atau aquadest.
- Memasukan pH meter kedalam air sampel selama 2 menit.
- Menekan tombol "HOLD" pada pH meter untuk menghentikan angka yang muncul pada pH meter.

#### c. Karbondioksida ( $\text{CO}_2$ )

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran karbondioksida adalah sebagai berikut:

- Masukkan 25 ml air contoh ke dalam erlenmeyer, kemudian tambahkan 1-2 tetes indikator pp.

- Bila air berwarna merah muda (pink) berarti air tersebut tidak mengandung CO<sub>2</sub> bebas.
- Bila air tetap tidak berwarna, segera dititrasi dengan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,0454 N sampai warna menjadi merah muda (pink) pertama kali. Hitung dengan rumus:

$$\text{CO}_2 \text{ bebas} = \frac{v(\text{titran}) \times N(\text{titran}) \times 22 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

v : ml larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> untuk titrasi

N : Normalitas larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

22 : Nilai Mr CO<sub>2</sub>

1000 : Konsentrasi liter menjadi ml

Air sampel (ml) : Volume air sampel

#### d. Amonia (NH<sub>3</sub>)

Menurut SNI (2004) prosedur pengukuran kadar amonia air dapat adalah sebagai berikut :

- Mengambil 25 ml air sampel uji dan masukkan ke dalam erlenmeyer 50 ml.
- Menambahkan 1 ml larutan fenol, kemudian homogenkan.
- Menambahkan 1 ml natrium nitroprusid, kemudian homogenkan.
- Menambahkan 2,5 ml larutan pengoksidasi, kemudian homogenkan.
- Menutup erlenmeyer dengan plastik atau perefilm, dan biarkan hingga 1 jam.
- Memasukkan ke dalam cuvet ukur dengan spektrofotometer, membaca dan mencatat serapannya pada panjang gelombang 640 μm.

#### e. Dissolved Oxygen (DO)

Menurut SNI (1990), prosedur pengukuran oksigen terlarut atau *dissolved oxygen* (DO) adalah sebagai berikut:

- Mengukur dan mencatat volume botol DO yang akan digunakan
- Memasukkan botol DO ke dalam air secara perlahan-lahan dengan posisi miring dan diusahakan jangan sampai ada gelembung udara
- Menambahkan  $MnSO_4$  2 ml,  $NaOH$  +  $KI$  2 ml lalu bolak – balikkan botolnya sampai homogen
- Mengendapkan dan didiamkan selama kurang lebih 30 menit sampai terjadi endapan coklat
- Membuang air yang bening di atas endapan, dan menambahkan 1-2 ml  $H_2SO_4$  dan mengkocok sampai endapan larut
- Menambahkan 3-4 tetes amylum, diaduk dan dititrasi dengan  $Na$ -thiosulfat 0,025 N sampai jernih
- Mencatat volume titran
- Mengukur kadar oksigen yang terlarut dengan rumus sebagai berikut :

$$DO \text{ (mg/l)} = \frac{v(\text{titran}) \times N(\text{titran}) \times 8 \times 1000}{V \text{ botol DO} - 4}$$

Keterangan :

- v : ml larutan Natrium Thiosulfat untuk titrasi (ml)
- N : Normalitas larutan Natrium thiosulfat
- V : Volume botol DO (ml)

**f. Total Organic Matter (TOM)**

Menurut Hariyadi *et al.*,(1992) prosedur pengukuran *Total Organic Matter* (TOM) di adalah sebagai berikut :

- Mengambil sebanyak 50 ml air sampel.
- Memasukkan air sampel ke dalam erlenmeyer 250 ml.
- Menambahkan 10 ml  $H_2SO_4$  (1:4).

- Memanaskan sampel dalam pemanas air sampai suhu mencapai 70-80°C kemudian angkat.
- Apabila suhu telah turun menjadi 60-70°C, langsung menambahkan Na-oxalate 0,01 N perlahan sampai tidak berwarna.
- Mentitrasi dengan  $\text{KmnO}_4$  0,01 N sampai terbentuk warna (merah jambu/pink). Catatlah sebagai ml titran (x ml).
- Mengambil 50 ml aquadest dengan pipet volume dan melakukan prosedur (1-6). Kemudian mencatat titran yang digunakan sebagai (y ml) serta menghitung kadar TOM perairan dengan menggunakan rumus :

$$\text{TOM (mg/l)} = \frac{(x - y) \times 32,6 \times 0,01 \times 1000}{\text{ml air sampel}}$$

Keterangan :

x : ml titran untuk air sampel

y : ml titran untuk aquadest

31,6 : 1/5 dari BM  $\text{KMnO}_4$

0,01 : N  $\text{KMnO}_4$

#### g. **Chemical Oxygen Demand (COD)**

menurut Hariyad *et al.*, (1992) prosedur pengukuran *Chemical Oxygen*

*Demand* (COD) adalah sebagai berikut :

- Memanaskan sebentar COD reaktor ± 30 menit.
- Memasukkan sampel 2,5 ml.
- Menambahkan DS (*digestion solution*) 1,5 ml + SA (sulfuric acid) 3,5 ml, kemudian ditutup.
- Memasukkan tabung dalam COD reaktor, panaskan ± 2 jam.
- Setelah itu keluarkan dan dinginkan.
- Mengukur dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 μm.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Penelitian ini diambil dari desa Krakal Kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Penentuan lokasi pengambilan sampel didasarkan atas survei yang dilakukan di berbagai daerah di Jawa Timur terutama daerah yang banyak terdapat budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Kemudian dari hasil survei tersebut diperoleh satu lokasi dimana pada budidaya ikan nila yang sering mengalami kematian ikan dan terdapat gejala-gejala adanya infeksi VNN

#### 4.1.1 Dekripsi Desa Krakal, Kecamatan Wlingi, Kabupaten Blitar

Kabupaten Blitar merupakan salah satu daerah di propinsi Jawa Timur yang secara geografis terletak pada  $111^{\circ}25'$  –  $112^{\circ}20'$  BT dan  $7^{\circ}57'$  –  $8^{\circ}9'51''$  LS berada di barat daya ibu kota provinsi Jawa Timur-Surabaya dengan jarak kurang lebih 160 km. Kabupaten Blitar memiliki luas wilayah 1.588.79 km dengan tata guna tanah yaitu sebagai sawah, pekarangan, perkebunan, tambak, tegal, hutan, kolam ikan dan lain sebagainya. Kabupaten Blitar dipisahkan oleh aliran sungai Brantas sehingga menjadi Blitar Utara (daratan rendah lahan sawah dan beriklim basah) dan Blitar Selatan (lahan kering yang cukup kritis dan beriklim kering). Kabupaten Blitar memiliki rata-rata curah hujan tahunan 1.478,8 mm dengan curah hujan tertinggi 2.618,2 mm per tahun dan terendah 1.024,7 per tahun, sedangkan suhu tertinggi  $30^{\circ}\text{C}$  dan suhu terendah  $18^{\circ}\text{C}$ . Berdasarkan letak topografi dataran tertinggi di kabupaten Blitar mencapai 800 m (dpa) dan dataran terendah mencapai 40 m (dpa) (Dishubkominfo Blitar, 2015). . Lokasi penelitian dapat dilihat pada Lampiran 3.

Kabupaten Blitar memiliki 220 desa dan 28 kelurahan yang tersebar di 22 kecamatan. Salah satu kecamatan yang ada di kabupaten Blitar yaitu kecamatan Wlingi dengan lima kelurahan yaitu kelurahan Babadan, kelurahan Beru, kelurahan Klemunan, kelurahan Tangkil dan kelurahan Wlingi. Desa Krakal merupakan salah satu desa yang terletak di Kelurahan Klemunan.

Secara administratif desa Krakal berbatasan dengan wilayah sebagai berikut:

- Sebelah Utara : Desa Nangkan
- Sebelah Timur : Desa Ndoko
- Sebelah Selatan : Desa Tangkil
- Sebelah Barat : Desa Popoh

Apabila dilihat dari tata guna lahan desa Krakal merupakan daerah persawahan dan mayoritas pekerjaan masyarakat di desa Krakal yaitu sebagai petani. Selain itu, masyarakat di desa Krakal memanfaatkan lahan pertanian sebagai kolam budidaya ikan nila dan ikan koi.

#### 4.1.2 Deskripsi Umum Lokasi Pengamatan

Lokasi penelitian berada di salah satu kolam pemeliharaan ikan nila di daerah Blitar tepatnya di desa Krakal kecamatan Wlingi. Kolam pada lokasi pengamatan ini merupakan jenis kolam tradisional dengan sistem mina padi. Lokasi budidaya ikan nila tersebut terletak di area persawahan yang luas di sekitar pemukiman warga. Kondisi kolam budidaya masih alami karena konstruksi kolam tidak dilakukan modifikasi dimana semua bagian kolam terbuat dari tanah. Pengairan untuk kegiatan budidaya berasal dari sungai Lekso yang terdapat di sebelah barat kolam budidaya. Air yang digunakan untuk kegiatan budidaya dialirkan secara langsung dari sungai melalui inlet kolam tanpa melalui proses pengendapan dan penyaringan air.

Konstruksi kolam pada lokasi pengamatan yaitu memiliki luas kolam sekitar 40 m x 5 m dengan kolam yang cukup dangkal yaitu kedalaman kolam sekitar 25 cm. Posisi *inlet* kolam berada di dekat sungai kecil (di sebelah barat kolam) sebagai pemasok utama air untuk kegiatan budidaya. Sedangkan *outlet* berada di dekat aliran sungai kecil yang letaknya di tengah-tengah persawahan (di sebelah timur kolam) sebagai keluarnya air budidaya. Gambaran kolam budidaya ikan nila untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Kolam pemeliharaan ikan nila (Dokumentasi, 2016).

Ikan nila yang dibudidayakan pada lokasi penelitian merupakan ikan nila indukan dengan perbandingan padat tebar 3:1 (300 ekor betina: 100 ekor jantan). Proses pemeliharaan ikan nila dilakukan pada kolam tradisional, namun pemberian pakan tambahan seperti pellet masih dilakukan. Pemberian pakan dilakukan sebanyak 2 kali sehari yaitu pada waktu pagi dan sore. Jenis pakan yang diberikan yaitu pellet T78-2

#### 4.2 Kondisi Morfologi Ikan Nila

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diamati adalah ikan yang berasal dari budidaya ikan nila di desa Krakal kecamatan Wlingi. Berdasarkan ciri-ciri ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang didapatkan menunjukkan adanya gejala bahwa ikan tersebut terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Adapun gejala yang terlihat pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yaitu ikan berenang di

permukaan, berenang agak miring dan kehilangan keseimbangan, pergerakannya lemas, mata menonjol keluar dan berwarna merah kehitaman, tubuh berlendir serta warna tubuh tampak pucat dan beberapa ikan menunjukkan adanya penggelapan warna tubuh. Berikut merupakan ikan nila yang menunjukkan adanya gejala terinfeksi VNN (lihat Gambar 4.).



**Gambar 4.** Kondisi Morfologi Ikan Nila yang Terinfeksi VNN

Gejala klinis tersebut memiliki kesamaan seperti penelitian yang dilakukan oleh Wongsa *et al.*, (2005) pada ikan kerapu (*Epinephelus coloides*) yang terinfeksi VNN. Ikan yang terinfeksi virus ini menunjukkan gejala perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap, kehilangan nafsu makan dan berenang berputar-putar. Menurut Lio-Po dan de la pena (2004), menyatakan bahwa umumnya ikan yang terinfeksi oleh VNN akan menyebabkan ikan menunjukkan perilaku berenang yang tidak beraturan, pembengkakan pada gelembung renang, letargik, warna tubuh terlihat lebih gelap dan hilang nafsu makan. Ikan yang terkena infeksi VNN biasanya memperlihatkan keadaan gangguan saraf yang berhubungan dengan vacuolisasi (kerusakan) kuat sistem nerves pusat dan retina (Thie'ry, et. all, 2006). Gambaran morfologi ikan nila yang tampak terindikasi infeksi VNN dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Gambaran morfologi dan tingkah laku ikan nila yang terindikasi infeksi VNN

No.	Gejala	Ulangan		
		I	II	III
1.	Ikan Tampak Pucat	✓	✓	✓
2.	Ikan Berputar-putar	✓	✓	-
3.	Ikan berenang tidak beraturan	✓	✓	-
4.	Ikan berenang ke bawah	✓	✓	✓
5.	Ikan berada di dasar kolam	✓	✓	✓
6.	Mata menonjol dan terdapat selaput putih	✓	✓	✓

#### 4.3 Pemeriksaan VNN dengan analisa PCR

Berdasarkan gejala klinis yang tampak pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*), maka tahap selanjutnya yaitu dilakukan uji laboratorium dengan menggunakan analisa PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Hal ini bertujuan untuk mendeteksi adanya virus *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang menginfeksi ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Organ yang digunakan pada pemeriksaan PCR adalah otot daging. Pengambilan sampel organ tubuh ikan tersebut didasarkan bahwa *viral nervous necrosis* selain menginfeksi sistem syaraf (mata dan otak) inangnya, juga menyerang organ tubuh ikan lainnya. Menurut Nakai *et al.*, (2009) menyatakan bahwa berdasarkan hasil hispatologi, virus ini menyebabkan kerusakan sistem saraf pusat seperti otak, sumsum tulang belakang serta pada retina. Thierry *et al.*, (2006) menyatakan bahwa infeksi virus yang digolongkan kedalam genus Betanodavirus dan dalam family Nodaviridae juga akan menunjukkan karakteristik terjadinya vakuolisasi (kerusakan) kuat pada sistem

saraf pusat dan retina. Penelitian serupa yang dilakukan oleh Prihartini (2015) menjelaskan bahwa untuk mendeteksi DNA ikan nila yang terinfeksi VNN menggunakan base primer 294 bp. Komponen reaksi dan pengaturan analisa PCR yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada Penelitian Kurita *et al.*, (1998) yang menyatakan bahwa primer yang digunakan adalah sekuen genom DNA Red Seabream iridovirus (RSIV), dengan susunan Primer yaitu :

Forward 1F : 5-CTCAAACACTCTGGCTCATC-3

Reverse 1R : 5-GCACCAACACATCTCCTATC-3

Berdasarkan hasil deteksi VNN dengan metode PCR menggunakan primer spesifik RSIV menunjukkan bahwa ikan nila terbukti terinfeksi VNN. Berikut merupakan hasil pembacaan analisis PCR yang terlampir pada Lampiran 4 dengan keterangan hasil PCR organ otot:

1. Marker 100 bp
2. Kontrol positif VNN 294 bp
3. Kontrol negatif
4. Sampel organ otot positif VNN

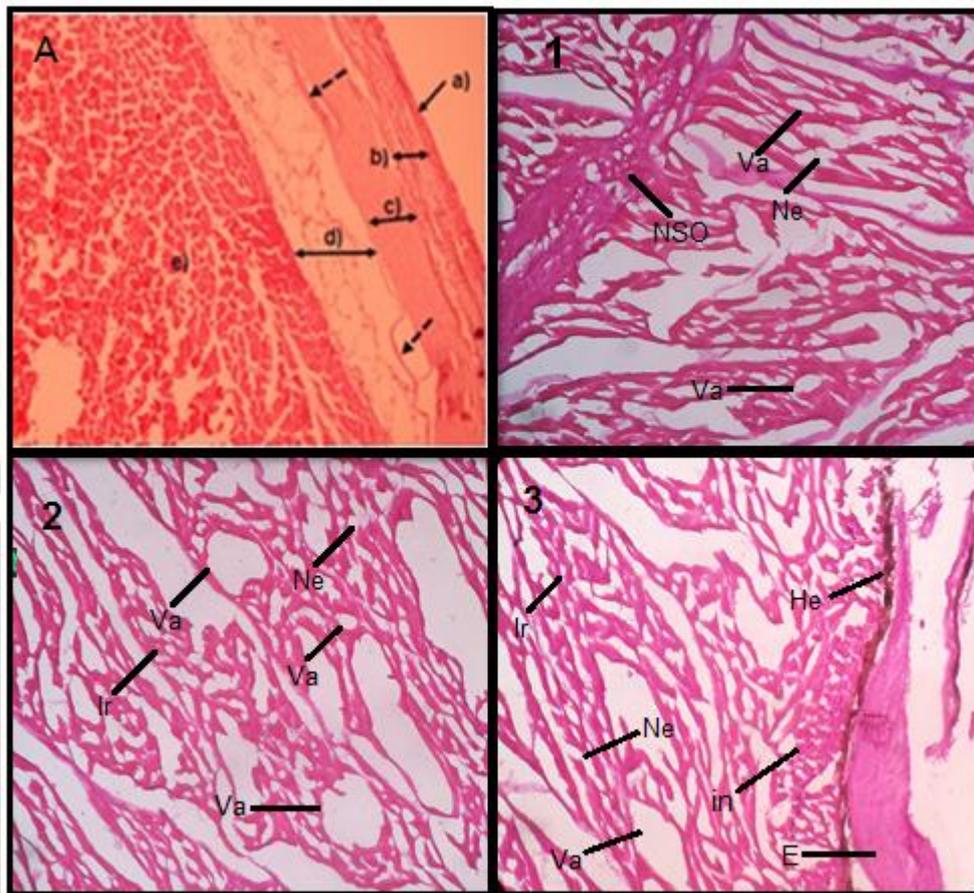
Hasil positif otot ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi VNN, hal ini dapat diketahui karena band sampel organ otot nomor 4 memiliki tinggi yang sejajar dengan band kontrol positif VNN pada nomor 2 yang menunjukkan berat molekul sebesar 294 bp berdasarkan marker 100 bp. Masri (2013), menjelaskan bahwa Marker adalah sebuah penanda genetic berupa gen atau DNA urutan dengan lokasi yang dikenal pada kromosom yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sel-sel, individu atau spesies. Hal ini dapat digambarkan sebagai variasi (yang mungkin timbul karena adanya mutasi atau perubahan dalam lokus genomik) yang dapat diamati. Sebuah penanda genetik mungkin menjadi urutan DNA pendek, seperti urutan yang mengelilingi sebuah perubahan

pasangan basa tunggal (polimorfisme nukleotida tunggal, SNP), atau panjang, seperti minisatellites. Fungsi marker adalah memainkan peran dalam rekayasa genetik, karena mereka dapat digunakan untuk memproduksi normal, protein berfungsi untuk menggantikan yang rusak.

#### 4.4 Hasil Pemeriksaan Histopatologi Otot Ikan Nila yang terinfeksi VNN

Otot merupakan organ yang sering terpapar oleh agen dan bagian penting dalam hubungannya dengan penyakit. Organ-organ ini dapat mengalami perubahan patologi yang dapat disebabkan oleh perubahan fisik dan kimiawi pada air (Priosoeryanto *et al.*,2010). Perubahan-perubahan patologi utama pada otot ikan adalah gangguan-gangguan terhadap perkembangan dan pertumbuhan akibat suatu respon terhadap infeksi, bahan toksik, atau iritan lain. Perubahan-perubahan ini dapat melibatkan pertumbuhan berlebihan, pertumbuhan tidak sempurna, atau pola pertumbuhan abnormal pada jaringan atau organ.

Pengamatan organ otot ikan nila yang terinfeksi VNN yang sebelumnya telah dipreparasi dan diwarnai dengan menggunakan pewarnaan hematoksilin dan Eosin dilakukan dengan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 100x. Hasil pengamatan secara histopatologi pada organ otot ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menunjukkan bahwa pada masing-masing sampel otot pada pengamatan 1, 2, dan 3 memperlihatkan adanya perubahan histopatologi yang bervariasi mulai dari perubahan ringan sampai perubahan yang berat. Perubahan histopatologi otot pada masing-masing pengamatan 1, 2 dan 3 akan disajikan pada Gambar 5 dengan perbandingan histopatologi otot normal.



**Gambar 5.** Morfologi otot A. Otot normal: a) epidermis, b) *Stratum spongiosum*, c). *stratum compactum*, d) jaringan lemak, e) *muscle tissue*. (Yuliastri *et al.*, 2015); 1. Vakuolisasi (Va);Nekrosis (Ne);Nekrosis Serabut Otot (NSO). 2. Vakuolisasi (Va); Infiltrasi radang (Ir) dan Nekrosis (Ne). 3. Nekrosis (Ne);Hemorag (He); Inflamasi (in); Infiltrasi radang (Ir); Vakuolisasi (Va) dan Edema (E). Pengamatan dilakukan dengan mikroskop binokuler dengan perbesaran 100x.

Pada Gambar 5A menunjukkan otot normal yang tidak ditemukan adanya kerusakan. Yuliastri *et al.*(2015) menjelaskan bahwa pada ikan yang belum mengalami kerusakan, miofibril-miofibril masih bagus dan kompak. Miomer juga masih kompak dan teratur, sehingga aktif dan myosin juga terlihat *compatible* atau bersifat lentur. Sedangkan otot septum yang dimiliki juga terlihat kompak dan teratur, jaringan lemaknya juga masih kompak.

Berdasarkan pengamatan organ otot ikan nila yang terinfeksi VNN pada gambar diatas menunjukkan adanya kerusakan pada organ otot yang menunjukkan perbedaan pada organ otot normal pada gambar 5A. Kerusakan organ otot yang terinfeksi VNN menunjukkan adanya kerusakan berupa vakuolasi yang ditunjukkan dengan label Va terdapat pada semua pengamatan yaitu pengamatan pertama, kedua dan ketiga. Vakuolisasi di tandai dengan terbentuknya vakuola pada sel. Menurut Mitchell *et al.*, (2006) menyatakan bahwa penampakannya terlihat pada bentuk inti yang tampak membesar dan bergelembung serta kromatinnya jarang dan tidak eosinophil (kemerahan). Vakuolasi ini disebabkan oleh perubahan keseimbangan cairan dalam sel akibat bertambahnya cairan.

Pengamatan organ otot ikan nila yang terinfeksi VNN dengan kerusakan Nekrosis terdapat pada semua pengamatan yang ditandai dengan label Ne. Nekrosis ditandai dengan sel otot yang mengalami kerusakan dan serabut otot putus. Takashima dan Hibiya (1995) menjelaskan bahwa nekrosis menggambarkan keadaan terjadinya penurunan aktivitas jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa bagian sel satu demi satu dari satu jaringan sehingga dalam waktu yang tidak lama akan mengalami kematian. Kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap keidupan hewan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Gambaran sitoplasma yang mengalami nekrosis mencakup eosinophilia yang parah, hilangnya basophilia dan fragmentasi atau hyalinisasi dari komponen sitoplasma.

Pengamatan histopatologi ikan nila yang terinfeksi VNN ditemui pula kerusakan berupa nekrosa serabut otot pada pengamatan 2 yang diberi tanda NSO. Nekrosa serabut otot ini ditandai dengan sel atau jaringan yang terlihat berlubang-lubang. Susanto (2008), menjelaskan bahwa nekrosa serabut otot merupakan kelainan yang terjadi berupa lisisnya sel-sel otot yang terlihat menjadi

lubang-lubang. Nekrosa serabut otot dapat terjadi karena iskemia atau berhentinya suplai darah ke suatu jaringan otot, kekurangan nutrisi dan penyakit infeksius

Pengamatan histopatologi diatas juga ditemukan adanya kerusakan infiltrasi radang yang bertanda Ir yang ditemukan di pengamatan 2 dan 3. Infiltrasi radang ini ditandai dengan infiltrasi sel-sel radang pada jaringan normal. Thomson (1984), menjelaskan infiltrasi radang adalah masuknya sel-sel radang ke dalam jaringan sebagai respon karena adanya penyakit atau agen toksik. Perubahan histopatologi akibat infiltrasi sel radang ditandai dengan adanya infiltrasi sel-sel radang pada jaringan normal. Adanya sel dan jaringan yang mengalami kerusakan, maka sel radang akan keluar dari pembuluh darah dan menuju ke daerah yang terinfiltrasi tersebut, sehingga jaringan pembuluh darah banyak dijumpai vakuola.

Kerusakan berupa Hemorage ditemukan pada pengamatan 3 yang bertanda He. Hemorage ditandai dengan pendarahan pada jaringan. Hemoragi biasanya terjadi apabila kongesti sudah terlalu parah. Sudiono (2003) menjelaskan bahwa Hemoragi adalah keluarnya darah dari sirkulasi kardiovaskuler dan biasanya terdapat kerusakan pada susunan kardiovaskuler tersebut (arteri, vena, dan kapiler).

Pengamatan Histopatologi pada otot ikan nila yang terinfeksi vnn ditunjukkan dengan kerusakan berupa edema yang bertanda E pada pengamatan 3. Edema ditandai dengan pembengkakan sel karena adanya granula yang melebihi jumlah normal dalam sitoplasma. Priosoeryanto et al., (2010) menjelaskan edema merupakan suatu akumulasi cairan yang abnormal didalam rongga tubuh atau didalam ruang interstial dari jaringan dan organ yang menyebabkan kebengkakan. Putra (2014), menyatakan bahwa edema merupakan suatu kondisi dimana meningkatnya jumlah cairan dalam kopartemen

jaringan intereluler. Edema terjadi pada jaringan ikat longgar dan rongga-rongga badan. Penyebab dari edema adalah meningkatnya tekanan hidrostatik intraaskula yang menimbulkan perembesan cairan plasma darah keluar dan masuk kedalam ruang interstisium. Kondisi peningkatan tekanan hidrostatik sering ditemukan pembendungan vena (kongesti) dan edema merupakan resiko paska kongesti.

Kerusakan berupa inflamasi juga ditemukan pada pengamatan 3 yang bertanda In. Inflamasi ditandai dengan munculnya warna kemerahan pada sel. Roberts (2001), menjelaskan inflamasi merupakan suatu respon pertahanan jaringan yang rusak dan responnya ditandai dengan *color, rubor, tumor, dolore* dan *function laeso* (panas, merah, bengkak, sakit, dan kehilangan fungsi).

#### 4.5 Parameter Kualitas Air

Air merupakan kebutuhan utama dalam kegiatan budidaya perairan. ketersediaan air yang cukup dan kualitas air yang baik akan berdampak pada keberhasilan suatu usaha budidaya perairan. Sampel air pada kolam pemeliharaan ikan nila diambil pada jam 11.00 WIB dan dilakukan sebanyak 3 ulangan dalam minggu yang berbeda. Pengukuran kualitas air didasarkan pada siklus hidup plankton yang singkat yaitu antara 7 – 14 hari. Berdasarkan data kualitas air yang diperoleh maka dapat diketahui adanya dinamika kualitas air. Perbedaan nilai disetiap parameter dari minggu ke minggu, selanjutnya dapat dianalisa dan diketahui faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan organisme akuatik baik plankton maupun ikan nila. Kualitas air yang dianalisa yaitu suhu, pH, Oksigen Terlarut (DO), CO<sub>2</sub> (karbondioksida), Amonia, COD, TOM. Adapun hasil analisa kualitas air berdasarkan masing-masing parameter yang diukur dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### 4.5.1 Suhu

Pengamatan suhu dimaksudkan untuk mengetahui kondisi perairan dan interaksi antara suhu dengan aspek kesehatan habitat dan biota air lainnya. Suhu merupakan faktor pembatas yang penting untuk kehidupan organisme karena setiap organisme mempunyai kemampuan yang terbatas untuk mentolerir perubahan suhu yang terjadi pada lingkungannya. Organisme akan tumbuh dengan baik pada kondisi suhu yang optimal. Kondisi di bawah atau di atas suhu optimal akan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan organisme. Bahkan pada suhu yang ekstrem, organisme mungkin akan mengalami kematian (Wahyudi,1999). Data hasil pengamatan suhu pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Suhu pada Kolam Pemeliharaan

No	Pengamatan	Suhu (°C)
1.	Minggu 1	31
2.	Minggu 2	32
3.	Minggu 3	30
<b>Rata-rata</b>		31

Sedangkan grafik pengamatan suhu pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Grafik Pengukuran suhu Kolam Pemeliharaan Ikan Nila

Pada Pengukuran suhu diperoleh nilai pada pengamatan 1 sebesar 31 °C, pada pengamatan 2 sebesar 32 oC dan pengamatan 3 di peroleh nilai 30 °C. Dari hasil pengamatan tersebut diperoleh nilai rata-rata suhu sebesar 31 °C. Pada pengamatan 1 dan 2 nilai suhu tinggi disebabkan karena pada saat pengamatan cuaca dalam kondisi sangat cerah. Sedangkan pada pengamatan ke 3 mengalami penurunan dikarenakan pada saat pengamatan kondisi cuaca berawan. Sesuai dengan pernyataan Effendi (2003), yang menyatakan bahwa suhu perairan dapat mengalami perubahan sesuai dengan musim, letak lintang suatu wilayah, ketinggian dari permukaan laut, letak tempat terhadap garis edar matahari, waktu pengukuran dan kedalaman air.

Berdasarkan hasil pengukuran suhu pada kolam pemeliharaan ikan nila tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa suhu pada lokasi penelitian sudah baik dalam menunjang pertumbuhan dan perkembangan ikan nila. Sesuai dengan pernyataan Kordi (2010), bahwa suhu yang cocok untuk kegiatan budidaya biota air antara 23 hingga 32 °C. Berdasarkan Standart Nasional Indonesia (2009) menjelaskan bahwa baku mutu air untuk budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) berkisar antara 25-32 °C.

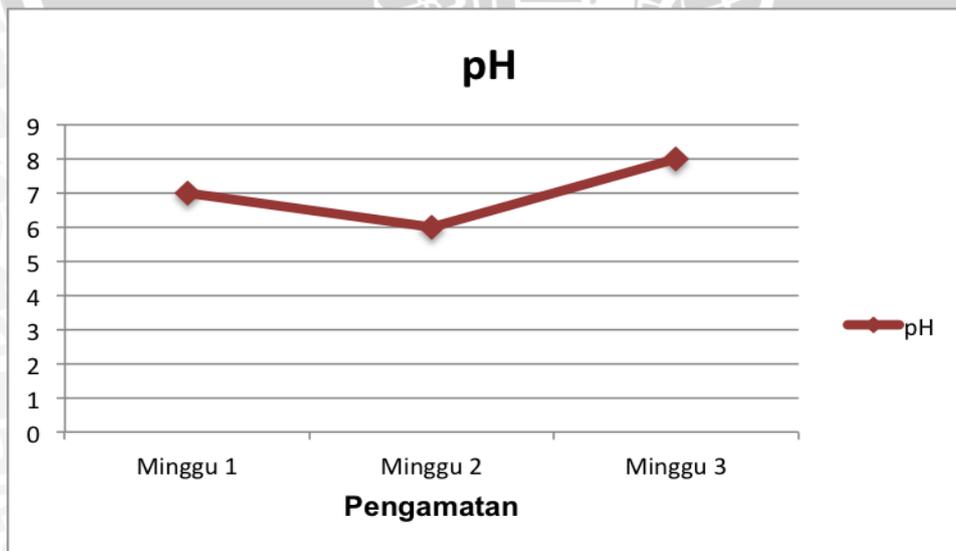
#### 4.5.2 pH

Derajat keasaman atau pH air merupakan salah satu sifat kimia air yang mempengaruhi pertumbuhan tumbuh-tumbuhan dan hewan air sehingga sering digunakan sebagai petunjuk untuk menyatakan baik buruknya suatu lingkungan air sebagai lingkungan hidup. Derajat keasaman juga mempengaruhi daya tahan organisme dimana pH yang rendah akan menyebabkan penyerapan oksigen oleh organisme akan terganggu (Johan dan Ediwarman, 2011). Data hasil pengamatan pH pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Pengamatan pH pada Kolam Pemeliharaan

No	Pengamatan	pH
1.	Minggu 1	7
2.	Minggu 2	6
3.	Minggu 3	8
<b>Rata-rata</b>		7

Sedangkan grafik pengamatan pH pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7.** Grafik Pengukuran pH Kolam Pemeliharaan Ikan Nila

Pada pengamatan pH diperoleh nilai pada pengamatan I sebesar 7, pada pengamatan II sebesar 6 dan pengamatan III di peroleh nilai 8. Dari hasil pengamatan tersebut diperoleh nilai rata-rata pH sebesar 7 dengan kisaran nilai pH sebesar 6-8. Maka berdasarkan hasil pengamatan tersebut nilai pH tersebut menunjukkan bahwa kondisi perairan tergolong baik untuk pertumbuhan dan perkembangan biota air tawar. Berdasarkan standar baku mutu air PP No. 82 Tahun 2001 (kelas II) pH yang baik untuk kegiatan budidaya ikan air tawar berkisar antara 6-9.

Kondisi perairan dengan pH yang terlalu rendah maupun pH terlalu tinggi akan membahayakan bagi kelangsungan pertumbuhan dan perkembangan biota air. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tatangindatu (2013), bahwa pH yang sangat rendah menyebabkan kelarutan logam-logam dalam air makin besar yang bersifat toksik bagi organisme air, sebaliknya pH yang tinggi dapat meningkatkan konsentrasi amoniak dalam air yang juga bersifat toksik bagi organisme air. Lamury (1990), mengkategorikan tingkat kesuburan perairan berdasarkan kisaran pH yaitu: 1) pH 5.5 – 6.5, tidak produktif, 2) pH 6.5 – 7.5 produktif dan 3) pH 7.5-8.5 sangat produktif.

#### **4.5.3 Oksigen Terlarut (DO)**

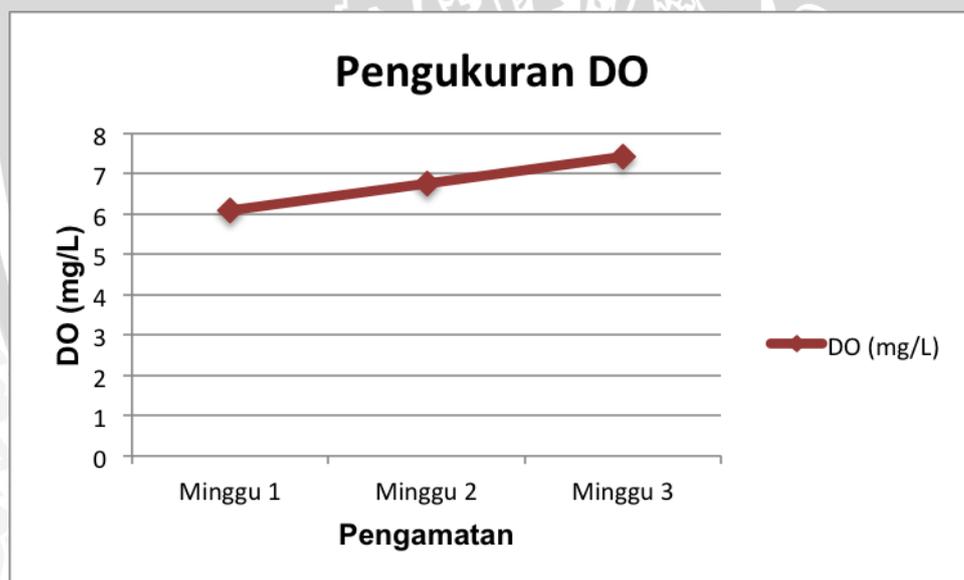
Oksigen terlarut merupakan parameter kualitas air yang paling penting. Penipisan konsentrasi oksigen biasanya menjadi penyebab utama dari kematian ikan secara mendadak. Mempertahankan rezim oksigen normal atau yang diinginkan pada kolam tidak membantu menjamin kesehatan ikan, tetapi mengindikasikan bahwa fungsi pada sistem kolam sesuai (Lannan *et al.*, 1983). Sumber oksigen terlarut dapat berasal dari difusi oksigen yang terdapat di atmosfer (sekitar 35%) dan aktivitas fotosintesis oleh tumbuhan air dan fitoplankton (Novotny dan Olem, 1994). Jasad-jasad renik dalam perairan dan ikan sangat bergantung pada tersedianya oksigen untuk bernafas dan proses

metabolismenya. Kandungan oksigen yang tidak mencukupi dapat menyebabkan penurunan daya tahan tubuh ikan (Cahyono, 2010). Data Pengamatan DO dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil Pengamatan Oksigen Terlarut pada Kolam Pemeliharaan

No	Pengamatan	DO (mg/L)
1.	Minggu 1	6,081
2.	Minggu 2	6,757
3.	Minggu 3	7,43
<b>Rata-rata</b>		6,757

Sedangkan grafik pengamatan DO pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8.** Grafik Pengukuran DO Kolam Pemeliharaan Ikan Nila

Pada pengamatan DO diperoleh nilai pada pengamatan minggu ke I sebesar 6,081 mg/L, pada pengamatan II sebesar 6,757 mg/L dan pengamatan III di peroleh nilai sebesar 7,43 mg/L. Dari hasil pengamatan tersebut diperoleh nilai rata-rata DO sebesar 6,757 mg/L. berdasarkan pengukuran DO tersebut menunjukkan bahwa nilai DO pada kolam pemeliharaan sangat baik untuk

kelangsungan kehidupan organisme budidaya. Hal ini didukung Standart Nasional Indonesia (2009), yang menjelaskan bahwa baku mutu oksigen terlarut yang disarankan untuk kegiatan budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) adalah lebih dari 3 mg/L. Wedemeyer (1996) mengungkapkan batas aman dibutuhkan untuk memenuhi peningkatan sementara laju konsumsi oksigen yang berkaitan dengan aktivitas renang, proses makan yang berlebihan dan peningkatan karbondioksida. Kisaran konsentrasi oksigen yang lebih aman dalam budidaya perairan antara 5 - 7 mg/l. Penurunan konsentrasi oksigen terlarut hingga di bawah 5 mg/l dapat menyebabkan gangguan pada sistem reproduksi, pertumbuhan, dan kematian organisme budidaya.

#### 4.5.4 Amonia

Sumber amonia dalam perairan adalah hasil pemecahan nitrogen organik (protein dan urea) dan nitrogen anorganik yang terdapat dalam tanah. Amonia dapat berasal dari dekomposisi biota akuatik yang telah mati yang dilakukan oleh mikroba dan jamur, proses ini disebut *amonifikasi*. Feses ikan merupakan limbah aktivitas metabolisme yang banyak mengeluarkan amonia. Amonia bersifat toksik terhadap organisme akuatik, artinya jika kadar amonia pada suatu perairan tinggi maka akan dapat mengganggu proses pengikatan oksigen oleh darah dan pada akhirnya dapat mengakibatkan kesulitan bernafas dan akhirnya mati (Purwanta, 2010).

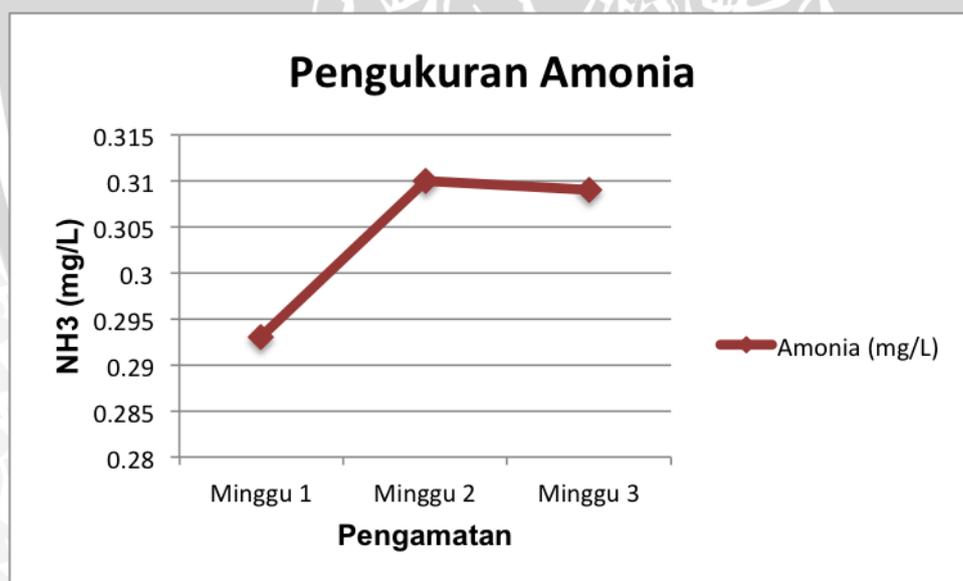
Amonia ( $\text{NH}_3$ ) di ekskresikan oleh banyak organisme akuatik dan terus diproduksi sebagai hasil dari dekomposisi ekskresi dari organisme mati. Persentase ammonia meningkat dengan meningkatnya nilai pH dan suhu perairan. Selain terdapat dalam bentuk gas, ammonia membentuk kompleks dengan beberapa ion logam. Ammonia juga dapat terserap ke dalam bahan-bahan tersuspensi dan koloid sehingga mengendap di dasar perairan. Hilangnya

amonia ke atmosfer juga dapat ditingkatkan oleh kecepatan angin dan suhu. Konsentrasi amonia dipengaruhi oleh pH, suhu air, salinitas, konsentrasi oksigen, dan konsentrasi natrium serta kesadahan (Wedemeyer, 1997). Data pengamatan amonia dapat di lihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Pengamatan Amonia pada kolam pemeliharaan

No	Pengamatan	Amonia (mg/L)
1.	Minggu 1	0,293
2.	Minggu 2	0,31
3.	Minggu 3	0,309
<b>Rata-rata</b>		0,304

Sedangkan grafik pengamatan Amonia pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Hasil Pengukuran Amonia pada Kolam Pemeliharaan

Pada penelitian ini diperoleh hasil nilai Amonia pada pengamatan minggu ke I sebesar 0.293 mg/l, pengamatan II sebesar 0.31 mg/l, dan pengamatan III sebesar 0.309 mg/l. Rata-rata nilai Amonia pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada penelitian ini adalah 0.304 mg/l. berdasarkan hasil

pengamatan nilai amonia pada kolam pemeliharaan ikan nila menunjukkan bahwa kadar amonia lebih tinggi melebihi dari ambang batas baku mutu kualitas air PP No. 82 Tahun 2001 kelas II yaitu sebesar 0.02 mg/l. Sejalan dengan pendapat McNelly et al., (1979) yang menyatakan bahwa kadar amonia pada perairan biasanya kurang dari 0,1 mg/l. Kandungan amonia yang tinggi disebabkan oleh adanya feses ikan, oksidasi zat organik secara microbial yang berasal dari buangan limbah domestik dan adanya kegiatan pertanian dan persawahan yang banyak memberikan masukan urea dari aktivitas pemupukan. Sehingga berdasarkan hasil pengukuran amonia, dikatakan tidak dapat menunjang kelangsungan pertumbuhan dan perkembangan organisme budidaya.

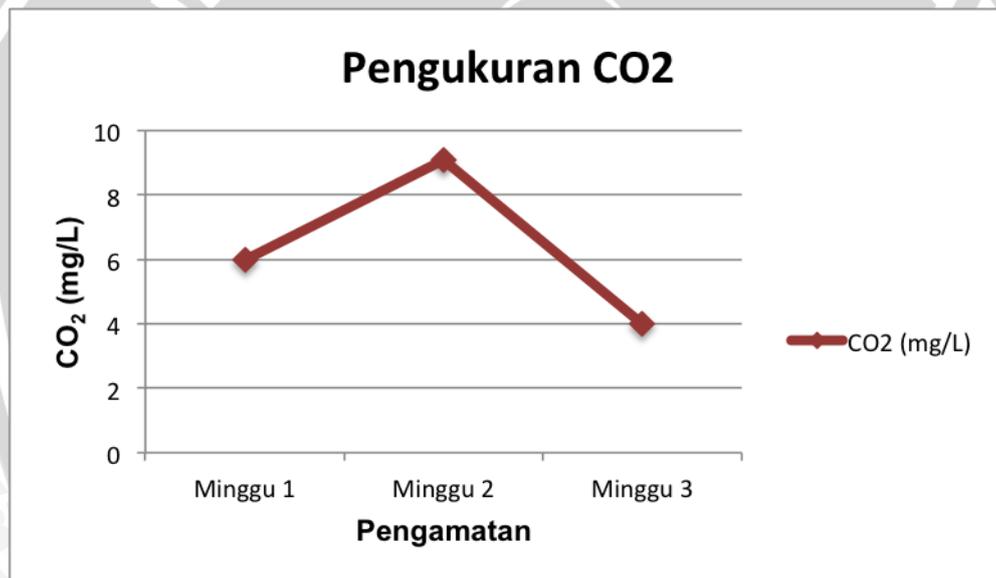
#### 4.5.5 CO<sub>2</sub>

Kandungan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) bebas adalah salah satu faktor kimia yang penting untuk kehidupan organisme, bahkan sebagai dasar semua bahan hidup. Sumber karbondioksida didalam air berasal dari udara dan tanah, tetapi jumlahnya sangat kecil, sebagian besar berasal dari proses penguraian bahan organic dan proses respirasi hewan dan tumbuhan air. Kandungan karbondioksida pada perairan alam yang belum tercemar, akumulasi karbondioksida tidak akan mencapai jumlah yang mematikan, karena mudah melepaskan diri ke udara ataupun bergabung dengan senyawa-senyawa lain (Carmudi, 2016). Data hasil Pengamatan CO<sub>2</sub> pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Pengamatan CO<sub>2</sub> pada Kolam Pemeliharaan

No	Pengamatan	CO <sub>2</sub> (mg/L)
1.	Minggu 1	5,99
2.	Minggu 2	9,08
3.	Minggu 3	3,99
<b>Rata-rata</b>		6,32

Sedangkan grafik pengamatan CO<sub>2</sub> pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Gambar 10.



**Gambar 10.** Grafik pengukuran CO<sub>2</sub> dalam kolam pemeliharaan ikan nila

Berdasarkan hasil pengujian CO<sub>2</sub> dalam kolam pemeliharaan ikan nila pada pengamatan minggu 1 diperoleh nilai sebesar 5,99 mg/l, pada pengamatan ke II di peroleh nilai sebesar 9,08 mg/l, dan pada pengamatan III sebesar 3,99 mg/l. Rata-rata nilai CO<sub>2</sub> dalam penelitian ini yaitu sebesar 6,32 mg/l. Dari hasil pengamatan CO<sub>2</sub> dapat disimpulkan bahwa pada lokasi penelitian sudah baik untuk kelangsungan kehidupan organisme air. Hal ini sesuai dengan baku mutu kualitas air UU NO. 82 Tahun 2001 kelas II bahwa nilai CO<sub>2</sub> berkisar antara 2-9

mg/l. Kordi dan Tancung (2010) menambahkan bahwa kadar karbondioksida sebesar 5 ppm didalam perairan masih dapat ditoleransi oleh hewan air akan tetapi kadar oksigen terlarut cukup tinggi. Kadar karbondioksida 50 – 100 ppm dapat mematikan ikan dan udang dalam waktu yang lama. Sedangkan kadar karbondioksida 100 – 200 ppm bersifat akut. Kadar karbondioksida di perairan berbanding terbalik dengan kadar oksigen terlarut. Namun apabila konsentrasi oksigen terlarut dalam kondisi maksimum, maka pengaruh karbondioksida dapat diabaikan.

#### 4.5.6 COD

Nilai COD menunjukkan kebutuhan oksigen yang diperlukan untuk menguraikan kandungan bahan organik dalam air secara kimiawi, khususnya bagi senyawa organik yang tidak dapat teruraikan karena proses biologis, sehingga dibutuhkan bantuan pereaksi oksidasi (Alaerts dan Santika, 1984). Data hasil pengamatan COD dapat dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Hasil Pengamatan COD pada Kolam Pemeliharaan

No	Pengamatan	COD (mg/L)
1.	Minggu 1	97,5
2.	Minggu 2	100
3.	Minggu 3	95
	<b>Rata-rata</b>	97,5

Sedangkan grafik pengamatan COD pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Grafik pengamatan COD

Berdasarkan hasil pengamatan COD dalam kolam pemeliharaan ikan nila pada pengamatan minggu 1 diperoleh nilai sebesar 97,5 mg/L, pada pengamatan ke II di peroleh nilai sebesar 100 mg/L, dan pada pengamatan III sebesar 95 mg/L. Rata-rata nilai COD dalam penelitian ini yaitu sebesar 97,5 mg/l. Dari hasil pengamatan COD dapat disimpulkan bahwa kondisi perairan dalam kolam pemeliharaan dalam kondisi tercemar sedang, maka tidak dapat menunjang kehidupan ikan nila dalam kolam pemeliharaan Desa Krakal. Effendi (2000), menyatakan bahwa nilai COD pada perairan yang tidak tercemar biasanya kurang dari 20 mg/l, pada perairan tercemar bisa melebihi 200 mg/l. Nilai COD tersebut berada diatas standart baku mutu kualitas air UU No. 82 Tahun 2001 (kelas II), bahwa nilai COD yang diperbolehkan adalah 25 mg/L.

#### 4.5.7 TOM

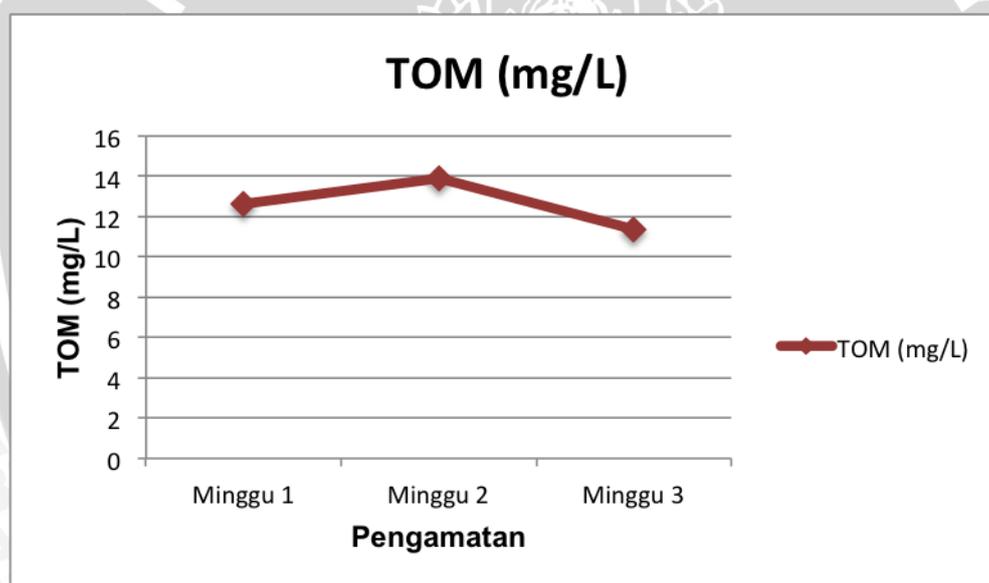
Bahan organik total (TOM) merupakan akumulasi bahan organik pada perairan yang digunakan sebagai indikator bahwa perairan tersebut layak untuk kegiatan budidaya. Bahan organik dimanfaatkan oleh bakteri pengurai dalam proses nitrifikasi. Proses ini terjadi pada kondisi aerob sehingga bakteri membutuhkan oksigen untuk menguraikan nitrit menjadi nitrat. Bilai bahan organik total yang terukur pada perairan menunjukkan nilai yang tinggi maka

harus diwaspadai karena dapat menyebabkan kematian pada ikan. Data pengamatan TOM dapat dilihat pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Data Pengamatan TOM pada kolam pemeliharaan

No	Pengamatan	TOM (mg/L)
1.	Minggu 1	12,640
2.	Minggu 2	13,904
3.	Minggu 3	11,376
<b>Rata-rata</b>		12,640

Sedangkan grafik pengamatan TOM pada kolam pemeliharaan ikan nila dapat dilihat pada Gambar 12.

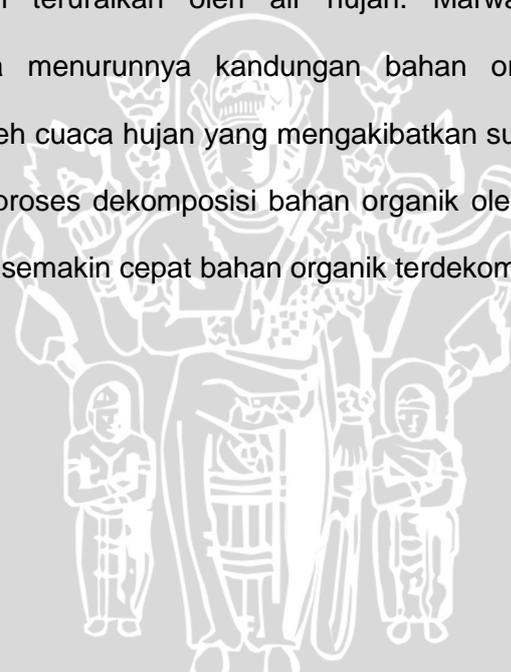


**Gambar 12.** Grafik Pengamatan TOM

Berdasarkan hasil pengamatan TOM dalam kolam pemeliharaan ikan nila pada pengamatan minggu 1 diperoleh nilai sebesar 12,640 mg/L, pada pengamatan ke II di peroleh nilai sebesar 13,904 mg/L, dan pada pengamatan III sebesar 11,376 mg/L. Rata-rata nilai TOM dalam penelitian ini yaitu sebesar 12,640 mg/l. Dari hasil pengamatan TOM dapat disimpulkan bahwa kondisi perairan kolam pemeliharaan ikan nila dalam kondisi relative baik. Hal tersebut

sesuai dengan PP No. 82 tahun 2001 yang menyatakan bahwa ambang batas maksimal bahan organik dalam perairan adalah sebesar 50 mg/L.

Penurunan kandungan bahan organik total pada pengamatan minggu ke-3 disebabkan oleh hujan yang terjadi sebelum melakukan pengukuran sehingga terjadi pengenceran bahan organik. Keadaan ini terjadi pada penelitian Kristiawan *et al.*, (2014), bahwa kadar bahan organik total pada pengamatan 1 lebih rendah dibandingkan dengan pada pengamatan kedua. Hal ini dikarenakan terjadi hujan pada saat pengamatan pertama sehingga bahan organik yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan hasil pengamatan kedua karena bahan organik sudah teruraikan oleh air hujan. Marwan *et al.*, (2015) menambahkan bahwa menurunnya kandungan bahan organik total salah satunya disebabkan oleh cuaca hujan yang mengakibatkan suhu menurun. Suhu dapat mempengaruhi proses dekomposisi bahan organik oleh bakteri. Semakin tinggi suhu maka akan semakin cepat bahan organik terdekomposisi.



## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

- Pengamatan parameter kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila didapatkan hasil untuk pengamatan suhu, pH, Oksigen Terlarut, Karbondioksida dan TOM dengan kondisi normal yang telah sesuai dengan baku mutu kualitas air yang dikategorikan perairan dengan kondisi relatif baik. Hasil pengamatan kualitas air untuk pengukuran COD dan amonia dikategorikan dalam perairan tercemar sedang karena telah melebihi ambang batas baku mutu kualitas air
- Pengamatan secara histopatologi otot ikan nila yang terkena VNN pada ikan pertama ditemukan kerusakan berupa Nekrosis, vakuolisasi dan nekrosa serabut otot. Pada ikan kedua ditemukan kerusakan berupa vakuolisasi dan infiltrasi radang. Pada ikan ketiga ditemukan kerusakan berupa edema, hemorage, inflamasi dan nekrosis.

### 5.2 Saran

Dalam pemeliharaan ikan nila sebaiknya lebih memperhatikan kualitas air pada kolam pemeliharaan dengan melakukan pemeriksaan secara rutin terhadap sumber air dan dengan membuat kolam pengendapan sebelum air digunakan untuk kegiatan budidaya. Kemudian lebih memperhatikan bibit ikan nila sebelum dilakukan penebaran ke dalam kolam budidaya, karena penularan virus biasanya berawal dari bibit yang telah terinfeksi dari induknya. Selain itu juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memberantas penyakit viral nervous necrosis (VNN).

## DAFTAR PUSTAKA

- Alaerts G dan Santika S.1987. *Metode Penelitian Air*. Surabaya : Usaha Nasional.
- Amiruddin, H., R. K. Dongoran, R. Nurhadi, dan L. Darto. 2012. Manajemen Induk Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes Altivelis*) Sebagai Upaya Optimalisasi Produksi Telur Berkualitas. Balai Budidaya Laut Ambon.
- Amri, K. Dan Khairuman, 2003. *Budidaya Ikan Nila Secara Intensif*. Agromedia Pustaka, Depok. 75 hlm.
- Asniatih., Idris, M., & Sabilu, K. 2013. Studi Histopatologi pada Ikan lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) yang Terinfeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Jurnal Mina Laut Indonesia. Vol. 03 No. 12, September 2013: (13-21).
- Azad, I. S., M. S. Shekhar, A.R. Thirunavukkarasu, M. Poornima, M. Kailasam, J. J. S. Rajan, S. A. Ali, M. Abraham, and P. Ravichandran. 2005. Nodavirus Infection Causes Mortalities in Hatchery Produced Larvae of *Lates calcarifier*. First Report From India. Dis Aquat Org. Vol. 63 : 113-118.
- Carmudi. 2016. Kualitas Faktor Kimia Perairan Kolam Ikan. [Http://Bio.Unsoed.Ac.Id/Sites/Default/Files/Kualitas%20faktor%20kimia%20perairan%20kolam%20ikan-.Pdf](http://Bio.Unsoed.Ac.Id/Sites/Default/Files/Kualitas%20faktor%20kimia%20perairan%20kolam%20ikan-.Pdf). Diakses Pada Tanggal 29 Mei 2016
- Chi, S. C., B. J. Lo, and S. C. Lin. 2001. Characterization of Grouper Nervous Necrosis Virus (GNNV). *Journal of Fish Disease*, 24, 3-13.
- Chi, S.C, 2006, *Piscine Nodavirus Infection in Asia*. Department of Life Science and Institute of Zoology. National Taiwan University
- Dauhan, Riska Emilia Sartika; Efendi, Eko., Dan Suparmono. 2014. Efektifitas Sistem Akuaponik Dalam Mereduksi Konsentrasi Amonia Pada Sistem Budidaya Ikan. *Jurnal Rekayasa Dan Teknologi Budidaya Perairan*. 3 (1)
- Effendie, Ichsan.1972. *Biologi Ikan* . Institut Pertanian Bogor : Fakultas Perikanan
- Elyana, P. 2011. Pengaruh Penambahan Ampas Kelapa Hasil Fermentasi *Aspergillus oryzae* dalam Pakan Komersial Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila(*Oreochromis niloticus* Linn.).[Skripsi]. Universitas Sebelah Maret. Surakarta.
- FAO.2004. *Surveillance And Zoning For Aquatic Animal Disease*. Publishing Management Service Information Division Fao. Rome. Italia
- Gomez, D. K., D. J. Lim, G. W. Baeck, H. J. Youn, N. S. Shin, H. Y. Youn, C. Y. Hwang, J. H. Park, and S. C. Park. 2006. Detection of Betanodaviruses

- in Apparently Healthy Aquarium Fishes and Invertebrates. *Journal of Veterinary Science*, 7 (4). 369-374.
- Hoole, D., D. Bucke, P. Burgess Dan I. Wellby. 2001. *Disease Of Carp And Other Cyprinid Fishes*. Blackwell Science Ltd: United Kingdom.
- Johan,Ti Dan Ediwarman. 2011. Dampak Penambangan Emas Terhadap Kualitas Air Sungai Singingi Di Kabupaten Kuantan Singingi Provinsi Riau. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 5 (2).
- Koesharyani, I., D. Roza., K. Mahardika, F. Jhonny, Cafran, dan K. Yuasa. 2001. *Penuntun Diagnosa Penyakit Ikan II. Penyakit Ikan Laut dan Krustacea di Indonesia*. Balai Penelitian Perikanan Laut Gondol-Singaraja. 49 pp.
- Kordi, K. M. Ghufran. 2004. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Cetakan Pertama. Jakarta: PT Rineka Cipta
- Kordi, M. G Dan Tancung A. B., 2005. *Pengelolaan Kualitas Air*. Penerbit Rineka Cipta. Jakarta. 208 Hal.
- Kottelat, M.A.J. Whitten, S.N. Kartikasari & S, Wirjoatmojo 1993. *Freshwater Of Westren Indonesia and Sulawesi*. London: Periplus Edition.
- Kurita, J., K. Nakajima, I., Hirono & T, Aoki. 1998. Polymerase Chain Reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathology*. 33:17-23.
- Kusumadewi, Made Rahayu. 2015. *Tingkat Biokonsentrasi Logam Berat Dan Gambaran Histopatologi Ikan Mujair (Oreochromis Mossambicus L) Yang Hidup Di Perairan Tukad Badung Kota Denpasar*. Tesis. Universitas Udayana : Program Studi Ilmu Lingkungan
- Lamury, F.R. 1990. *Variasi Mingguan Chlorofil –A Dan Kualitas Air Kolam Ikan Di Perhentian Marpoyan*. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Isdlam Riau. Pekanbaru. 87 Hal (Tidak Diterbitkan).
- Lio-Po, G. D., Lavilla, C. R., Cruz-Lacierda, E. R. 2001. *Health Management in Aquaculture*. Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Centre. Philipines: Tigbauan Ho ilo. hlm. 187.
- Maeno, Y., L. D. De La Pena, and E. R. Cruz-Lacierda. 2007. Susceptibility of Fish Species Cultured in Mangrove Brackish Area to Piscine Nodavirus. *JARQ* 41 (1), 95-99 (2007).
- Marchand, M. J., J. C. Van Dyk, G. M. Pieterse, I. E. Barnhoorn, and M. S. Bomman. 2009. Histopathological Alterations in the Liver of the Sharptooth Catfish *Clarias gariepinus* from Polluted Aquatic Systems in South Africa. *Environmental Toxicology*, 24 (2) : 133-147.
- Marzuki, 1986. *Metodologi Riset*. Fakultas Ekonomi. Universitas Islam Indonesia: Yogyakarta.

- Masri, Mashuri. 2013. Deteksi Koi Harpes Virus (Khv) Pada Ikan Mas Koi (*Cyprinus carpio* L) Dengan Menggunakan Metode Aplikasi Polym Erase Chain Reaction(Pcr). *Jurnal Teknosains*. 7 (2) : 189-200.
- McNelly, R.N., Nelmanis, V.P. and Dwyer, L. 1979. Water Quality Source Book, A Guide to Water Parameter. Inland Waters Directorate, Water Quality Branch, Ottawa, Canada.
- Mitchell R.N, Kumar, Abbas, Fausto.2006. Pocket Companion To Robbin & Cotran Pathologic Basis Of Disease. Elsevier Inc. 905p.
- Mori. K.,T. Nakai, and K. Muroga. 1992. Properties of aNew Virus Belonging to Nodaviridae Found in Larval Striped Jack (*Pseudocaranx dentex*) with Nervous Necrosis. *Virology*, 187, 368-371.
- Ningrum, Purwanti Yoga.2006. Kandungan Logam Berat Timbal (Pb) Serta Struktur Mikroanatomi *Branchia*, *Hepar*, Dan *Musculus* Ikan Belanak (*Mugil Cephalus*) Di Perairan Cilacap. Skripsi.Surakarta : Universitas Sebelas Maret.
- Peraturan Pemerintah Ri No. 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Dan Pengendalian Pencemaran Air. Jakarta
- Plumb., J.A. 1994. Health Maintenance of Cultured Fishes, Principal Microbial Diseases. CRC press. Amerika. 239
- Prayitno, S. 2002. *Peran Budidaya Perairan Khususnya Penanganan Penyakit Ikan dalam Pengelolaan Sumberdaya Perikanan*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Prihartini, Novia Christy. 2015. Distribusi dan analisis Filogenetik RNA *Nervous Necrotic* pada benih nila (*Oreochromis* sp). Tesis. Universitas Brawijaya: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan.
- Prijanto, M. 1992. Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Diagnosis Human Immunodeficiency Virus (HIV).
- Priosoeryanto,B.P ; Ersas, I.M; Tiuria, R; Handayani, S.U. 2010.Gambaran Histopatologi Insang,Usus, Dan Otot Ikan Mujair (*Oreochromis Mosambicus*) Yang Berasal Dari Daerah Ciampea, Bogor.Majalah Ilmu Kehewan Indonesia. 2(1).
- Priyatna, Riza; Indarjulianto, Soedarmanto; Dan Kurniasih.2011.Infeksi *Aeromonas Salmonicida* Dari Berbagai Wilayah Di Indonesia Pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*).*Biota*.16 (2): 287-297.
- Putra, Defrianto Alfika. 2014. *Ram Jet Ventilation*, Perubahan Struktur Morfologi Dan Gambaran Mikroanatomi Insang Ikan Lele (*Clarias Batrachus*) Akibat Paparan Limbah Cair Pewarna Batik. Skripsi. Universitas Negeri Semarang : Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam
- Putri, R. R., U. Yanuhar dan A. M. Suryanto H. 2013. Perubahan Struktur Jaringan Mata dan Otak pada Larva Ikan Kerapu Tikus (*Cromileptes*

*altivelis*) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dengan Pemeriksaan *Scanning Electron Microscope* (SEM). *MSPi Student Journal*. 1 (1) : 1 – 10.

Rahardjo, M.F; Sjafei, D.S; Affandi, Ridwan; Sulistiono; Dan Hutabarat, Johannes. 2011. *Iktiology*. Bandung : Cv Lubuk Agung.

Rajkumar ; Kanipandia, N; Thirumurugan, R. 2016. Toxicity Assessment On Haematology, Biochemical And Histopathological Alterations Of Silver Nanoparticles-Exposed Freshwater Fish *Labeo Rohita*. *Appl Nanosci*. 6:19–29.

Razaí, Tengku said. 2008. Analisis Histopatologi Organ Insang dan Usus Ikan Kerapu Lumpur (*Epinephelus coioides*) yang diberi khamir Laut (Marine Yeast) sebagai imunostimulan. Tesis Program Pasca Sarjana. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya. Malang.

Robert RJ. 2001. *Fish Pathology*.WB.Saunders . USA

Rodrigues, Edison de Lara dan Fanta, E. 1998. Liver histopathology oh the Fish *Brachydanio rerio* Hamilton-buchman after acute exposure to sublethal Levels oh the organophospate dimethoate 500. *Revta bras. Zool*. 15 (2): 441 – 450

Saanin, H. 1984. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Jilid I. Jakarta: Bina Cipta

SNI. 2004. Air Dan Limbah Bagian 9. Cara Uji Nitrit (No<sub>2</sub>-N) Secara Spektrofotometri. Badan Standarisasi Nasional. Kementerian Pekerjaan Umum. Jakarta

Sudiono. 2003. *Ilmu Patologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.

Sugiarto. 1988. *Nila*. Penebar Swadaya. Jakarta. 105

Sumantadinata, Komar. 1981. *Pengembangan Ikan-Ikan Peliharaan di Indonesia*. Bogor: Sastra Hudaya

Sunarto, 2007. Bioindikator Pencemar Logam Berat Cadmium (Cd) Dengan Analisis Struktur Mikroanatomi, Efisiensi Fungsi Insang, Morfologi Dan Kondisi Cangkang Kerang Air Tawar (*Anodonta Woodiana Lea*). Disertasi S3 Universitas Airlangga. Surabaya.

Surakhmad. 1998. *Metode Penelitian Sosial*. Bandung PT. Remadja Rosdakarya.

Susanto, Dwi. 2008. Skripsi. Gambaran Histopatologi Organ Insang, Otot Dan Usus Ikan Mas (*Cyprinus carpio*) Di Desa Cibanteng. Institut Pertanian Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan.

Susanto, H. (2007). *Budidaya Ikan di Pekarangan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Suyanto, S.R., 2003. *Nila*. Penebar Swadaya. Jakarta. 105 halaman

Takasima, F. Dan T. Hibiya. 1995. *An Atlas Of Fish Histology: Normal And Pathological Features*. Edisi Kedua. Tokyo: Kondansha

Tanaka, S., H. Aoki and T. Nakai. 1998. Pathogenicity of the Nodavirus Detected From Diseased Sevenband Grouper *Epinephelus septemfasciatus*. Fish Pathol. 33 : 31 – 36.

Tatangindatu, Frits; N Kalesaran, Ocksta; Dan Rompas, Robert. 2013. Studi Parameter Fisika Kimia Air Pada Areal Budidaya Ikan Di Danau Tondano, Desa Paleloan, Kabupaten Minahasa. Budidaya Perairan. 1 (2) : 8-19

Thiery, R., J. Cozien, J. Cabon, F. Lamour, M. Baud, and A. Sohneemann. 2006. Induction of a Protective Immune Response Against Viral Nervous Necrosis in the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* by Using betanodavirus Virus-Like Particles. Journal of Virology. Vol. 80, No.20, p. 10201-10207.

Wedemeyer, G.A. 1996. *Physiology of Fish in Intensive Culture Systems*. Chapman and Hall, 115 Fifth Avenue, New York.

Yang, H, L. 2007. Fish Oral Vaccine That Can Induce Protective Immunity at the Early Post-Larvae Stage of Grouper. Institute of Biotechnology. Volume 1-07.

Yuasa, K, D. Roza, I. Koesharyani, F. Johnny, and K. mahardika. 2000. General Remarks on Fish Disease Diagnosis. Pp. 5-18. Textbook for the Training Course on Fish Disease Diagnosis. Lolitkanta-JICA Booklet No.12.

Yuliastri, Venny; Suwandi, Ruddy; dan Uju. 2015. Hasil penilaian organoleptic dan histologi lele asap pada proses pre-cooking. 18 (2)

Yuwono, Tribowo., 2006. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction. Penerbit Andi: Yogyakarta.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Pengukuran Kualitas Air

Parameter Fisika	Alat	Bahan
Suhu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thermometer Hg</li> <li>• Stopwatch</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Kolam</li> </ul>
Parameter Kimia	Alat	Bahan
Derajat Keasaman (pH)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kotak Standart pH</li> <li>• Stopwatch</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Kolam</li> <li>• pH Paper</li> </ul>
Oksigen Terlarut (DO)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Buret</li> <li>• Statif</li> <li>• Corong</li> <li>• Botol DO</li> <li>• Washing Bottle</li> <li>• Pipet Tetes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Kolam</li> <li>• MnSO<sub>4</sub> (2ml)</li> <li>• NaOH + Ki (2ml)</li> <li>• H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2ml)</li> <li>• Amilum (3 Tetes)</li> <li>• Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,025 N)</li> <li>• Kertas Label</li> <li>• Tissue</li> </ul>
Karbon dioksida (CO <sub>2</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erlenmeyer 100 ml</li> <li>• Buret</li> <li>• Statif</li> <li>• Botol Air 600 ml</li> <li>• Gelas Ukur 25 ml</li> <li>• Pipet Tetes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Kolam</li> <li>• Indicator PP</li> <li>• Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></li> <li>• Kertas Label</li> <li>• Tissue</li> </ul>
Amonia (NH <sub>3</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erlenmeyer 50 ml</li> <li>• Pipet Volume</li> <li>• Cuvet</li> <li>• Rak Cuvet</li> <li>• Spektrofotometer</li> <li>• Bola Hisap</li> <li>• Gelas Ukur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air Kolam</li> <li>• Larutan Nessler</li> <li>• Aquades</li> <li>• Tissue</li> </ul>
Chemical Oxygen Demand (COD)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gelas Ukur</li> <li>• Erlenmeyer</li> <li>• Pipet Tetes</li> <li>• COD Reaktor</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Digestion Solution (DS)</li> <li>• Sulfuric Acid (SA)</li> <li>• Tissue</li> <li>• Aquades</li> </ul>

TOM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erlenmeyer</li> <li>• Gelas ukur</li> <li>• Pipet tetes</li> <li>• Buret</li> <li>• <i>Hot plate</i></li> <li>• Statif</li> <li>• Bola hisap</li> <li>• <i>Thermometer Hg</i></li> <li>• Corong</li> <li>• <i>Washing bottle</i></li> <li>• Pipet volume</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air kolam</li> <li>• <math>KMNO_4</math></li> <li>• <math>H_2SO_4</math></li> <li>• Na-oxalate</li> <li>• Aquades</li> <li>• Tissue</li> </ul>
-----	--	---

**b. Analisa *Polymerase Chain Reaction (PCR)***

Alat	Bahan
<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Disetting set</i> ( gunting+pinset)</li> <li>- <i>Glass ware</i></li> <li>- Mikropipet</li> <li>- Eppendorff</li> <li>- Mikrotube</li> <li>- Tip mikropipet</li> <li>- Penggerus atau <i>pestle</i></li> <li>- Sentrifus</li> <li>- Inkubator</li> <li>- Vortex mixer</li> <li>- Minispin</li> <li>- Timbangan analitik</li> <li>- <i>Waterbath</i></li> <li>- <i>Thermalcycler</i>(GeneAmp® PCR System 9700)</li> <li>- <i>Encluser</i></li> <li>- <i>Electrophoresis horizontal</i></li> <li>- <i>Gel documentation</i></li> <li>- RNA/DNA spektrofotometer (<i>Gene Quant pro</i>)</li> <li>- Kamera Digital</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ethanol</li> <li>- Satu pasang primer VNN :               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Forward 2 (F2) : CGT GTC AGT CAT GTG TCG CT</li> <li>• Reverse 3 (R3) : CGA GTC AAC ACG GGT GAA GA</li> </ul>               (product size : 294 bp)             </li> <li>- Kontrol negatif</li> <li>- Kontrol positif</li> <li>- Marker</li> <li>- Reagen TRIzol® (invitrogen)</li> <li>- Kloroform</li> <li>- Isopropanol</li> <li>- Alkohol 75%</li> <li>- DEPC</li> <li>- <i>Staining solution</i> (6x loading dye)</li> <li>- Kertas parafilm</li> <li>- Agarose</li> <li>- Larutan TAE buffer</li> <li>- SyBr save (invitrogen)</li> </ul>

## Lampiran 2. Deteksi VNN dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

### 1. Ekstraksi RNA

Adapun prosedur ekstraksi RNA yaitu sebagai berikut :

- Memotong kecil-kecil bagian organ ikan nila seperti otak, mata, insang, ginjal, hati, usus dan otot.
- Menambahkan reagen TRIzol® sebanyak 500 µl kedalam eppendorff ukuran 1,5 ml.
- Memasukkan organ ikan nila tersebut kedalam eppendorff ukuran 1,5 ml sebanyak 20 – 30 mg dan digerus dengan *pestle*.
- Selanjutnya divortex selama 20 detik dan didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit.
- Menambahkan kloroform sebanyak 100 µl kedalam larutan tersebut dan divortex kembali selama 20 detik
- Kemudian larutan tersebut disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit.
- Sebanyak 200 µl supernatan dipindahkan ke mikrotube baru.
- Lalu menambahkan isopropanol sebanyak 200 µl dan divortex selama 20 detik.
- Larutan disentrifugasi kembali pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit.
- Supernatan kemudian dibuang dan pelet kemudian dicuci menggunakan 500 µl alkohol 75%.
- Pelet disentrifugasi pada kecepatan 9.000 rpm selama 5 menit.
- Alkohol kemudian dibuang dan pelet dikering-anginkan selama 10 menit.
- Melarutkan pelet dengan menambahkan 200 µl DEPC atau disesuaikan dengan banyaknya pelet.

- RNA siap digunakan atau apabila tidak langsung digunakan maka pelet harus disimpan pada freezer dengan suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  sampai akan digunakan kembali.
- Konsentrasi RNA dapat diukur menggunakan RNA/DNA spektrofotometer (*Gene Quant pro*).

## 2. Amplifikasi (*Reverse Transcriptase-Nested PCR*)

Adapun prosedur amplifikasi (*Reverse Transcriptase-Nested PCR*) yaitu sebagai berikut :

- Setelah ekstraksi RNA, selanjutnya proses amplifikasi dengan urutan proses *revers-transcriptase* PCR dilakukan menggunakan Access Quick-AMV® RT PCR (promega) diteruskan dengan *nested* PCR menggunakan Go Taq® Green Master Mix (promega) dengan primer yang sama.
- Proses reaksi dilakukan sesuai dengan protokol masing-masing kit, dengan konsentrasi akhir masing-masing primer  $2,5 \mu\text{M}$ .
- Memasukkan template RNA, kontrol positif dan kontrol negatif kedalam mesin PCR (*thermal cyclers*).
- Memastikan bahwa program yang akan dijalankan adalah VNN.
- Pengaturan suhu pada *thermal cyclers* sebagai berikut :

No	Reaksi	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	Waktu	Jumlah Siklus
1.	Inkubasi	45	30 menit	1
2.	Inaktivasi <i>Reverse-transcriptase</i>	94	2 menit	1
3.	Denaturasi	94	30 detik	40
4.	<i>Annealing</i>	60	30 detik	
5.	<i>Extention</i>	72	45 detik	
6.	<i>Final extention</i>	72	10 menit	1

### 3. Elektroforesis

Adapun prosedur elektroforesis yaitu sebagai berikut :

- Setelah proses amplifikasi selesai, mengambil 10  $\mu$ l setiap sampel dan menambahkan 2  $\mu$ l *staining solution* (6x *loading dye*) pada kertas parafilm, kemudian dihomogenkan.
- Selanjutnya sebanyak 10  $\mu$ l sampel dan marker dimasukkan pada sumuran gel agarose secara perlahan.
- Kemudian memasang tutup elektroforesis dan menghidupkan listrik dengan kekuatan 100 V, 400 mA selama 60 menit.
- Setelah selesai proses elektroforesis, gel kemudian diangkat.
- Merendam gel ke dalam buffer yang ditambahkan SyBr safe (invitrogen) selama 15 menit.
- Meletakkan gel pada gel documentation, lalu diamati dan didokumentasikan menggunakan kamera.
- Hasil positif VNN apabila terlihat garis perpendaran pita DNA (band) dengan ukuran 294 bp, dan hasil negatif apabila tidak terlihat garis perpendaran pita DNA (band) dengan ukuran 294 bp.

Lampiran 3. Peta Lokasi Penelitian

PETA LOKASI PENGAMATAN DI DESA KRAKAL, KECAMATAN WLINGI, KABUPATEN BLITAR, JAWA TIMUR



Lampiran 4. Hasil Uji PCR otot Ikan Nila yang Terinfeksi VNN



**ASLI**

**LABORATORIUM PENGUJI**  
**UNIT PELAKSANA TEKNIS PENGEMBANGAN BUDIDAYA AIR PAYAU BANGIL**  
**DINAS PERIKANAN DAN KELAUTAN PROVINSI JAWA TIMUR**  
 Jl. Perikanan Kalianyar No. 746 PO. BOX 6 Bangil - Pasuruan  
 Telp./Fax. (0343) 741654. E-mail: pbap\_bangil@yahoo.co.id

**LAPORAN HASIL UJI**  
*Report of Analysis*

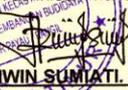
No.: 332 /LHU/UPT-PBAP/II/2016

Nama Pelanggan : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi  
*Customer Name*  
Pejabat yang dihubungi : -  
*Contact Person*  
Alamat : Malang  
*Address*  
Jenis Sampel : Organ Ikan Nila No.FPPS: 047/FPPS/UPT-PBAP/II/2016  
*Type of sample (s)*  
No. Sampel : 177 ( Otot daging Ikan Nila )  
*No. Sample*  
Tanggal Penerimaan : 16-02-2016 Tanggal Pengujian: 19-02-2016  
*Received Date* *Date of Analysis*

NO	PARAMETER <i>Parameters</i>	SATUAN <i>Units</i>	HASIL <i>Test Result</i>			SPESIFIKASI METODE <i>Method Specification</i>
			No. Sampel <i>No. Sample</i>	Gambar <i>Figure</i>	Keterangan <i>Note</i>	
1.	VNN	-	177		1. Marker 2. Kontrol Positif 3. Kontrol Negatif 4. Sampel Positif VNN	IKM/5.4.27/UPT PBAP (PCR)

**Catatan** : 1. Hasil uji ini hanya berlaku untuk sampel yang diuji.  
*Note* *These analytical results are only valid for the tested sample.*  
 2. Laporan Hasil Uji ini terdiri dari 1 (satu) lembar asli ( stempel **ASLI** ).  
*This Report of Analysis only 1 (one) page original ( ORIGINAL sign).*  
 3. Laporan Hasil Uji ini tidak boleh digandakan, kecuali secara lengkap oleh Manajer Administrasi atas seizin Manajer Puncak (stempel **COPY** ).  
*The Report of Analysis shall not be reproduced (copied) except the completed one by Administration Manager with written permission of the Top Manager ( COPY sign ).*

Bangil, 19 Februari 2016

An. Kepala UPT-PBAP Bangil  
 Manajer Teknis  
 Technical Manager  
  
**WIWIN SUMIATI, S.Pi**

Lampiran 5. Data Kualitas Air di Kolam Pemeliharaan Ikan Nila Yang Terinfeksi Vnn

a. DATA KUALITAS AIR

No	Parameter	Satuan	Pengamatan Minggu Ke-			Rata-rata	Baku Mutu
			1	2	3		
1	Suhu	°C	31	32	30	31	25 – 32 °C (SNI,2009)
2	pH	-	7	6	8	7	6,5 – 8,5 (SNI,2009)
3	DO	mg/L	6,081	6,757	7,43	6,757	≥ 3 mg/l (SNI, 2009)
4	CO <sub>2</sub>	mg/L	5,99	9,08	3,99	6,32	1 – 10 mg/l (Marion, 1998)
5	NH <sub>3</sub>	mg/L	0,293	0,31	0,309	0,304	≤0,02 mg/l (SNI,2009)
6	TOM	mg/L	12,640	13,904	11,376	12,640	≤50 mg/l (PP No. 82 tahun 2001)
7	COD	mg/L	97,5	100	95	97,5	≤20 mg/l tidak tercemar, ≤200 mg/l tercemar (Effendi, 2003)

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian

