

**ANALISIS KUALITAS AIR DAN HISTOPATOLOGI SALURAN PENCERNAAN
(USUS) IKAN NILA (*Oreochromis niloticus* Linn.) YANG TERINFEKSI VIRAL
NERVOUS NECROSIS (VNN) PADA KOLAM PEMELIHARAAN**

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

**Oleh :
ATIK APRILIA SUGIONO
NIM. 125080100111095**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

**ANALISIS KUALITAS AIR DAN HISTOPATOLOGI SALURAN PENCERNAAN
(USUS) IKAN NILA (*Oreochromis niloticus* Linn.) YANG TERINFEKSI VIRAL
NERVOUS NECROSIS (VNN) PADA KOLAM PEMELIHARAAN**

**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 :
ATIK APRILIA SUGIONO
NIM. 125080100111095**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2016**

SKRIPSI

ANALISIS KUALITAS AIR DAN HISTOPATOLOGI SALURAN PENCERNAAN
(USUS) IKAN NILA (*Oreochromis niloticus* Linn.) YANG TERINFEKSI VIRAL
NERVOUS NECROSIS (VNN) PADA KOLAM PEMELIHARAAN

Oleh:

ATIK APRILIA SUGIONO

NIM. 125080100111095

Telah dipertahankan di depan penguji

Pada tanggal 18 Juli 2016

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SK Dekan No.: _____

Tanggal : _____

Dosen Penguji I

(Dr. Ir. Mulyanto, M.Si)
NIP. 19600317 198602 1 001

Tanggal :

15 AUG 2016

Dosen Penguji II

(Dr. Ir. Umi Zakiyah, M.Si)
NIP. 19610303 198602 2 001

Tanggal :

15 AUG 2016

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

(Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, M.Si)
NIP. 19730404 200212 2 001

Tanggal : 15 AUG 2016

Dosen Pembimbing II

(Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS)
NIP. 19600505 198601 1 004

Tanggal :

15 AUG 2016



Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP

(Dr. Ir. Arning Wuljeng Ekawati, MS)
NIP. 19620805 198603 2 001

Tanggal:

15 AUG 2016

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam laporan skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan sepanjang sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya orang lain yang pernah ditulis atau diterbitkan kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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



Malang, 30 Mei 2016

Mahasiswa

Atik Aprilia Sugiono
NIM.125080100111095

UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmaanirrahim

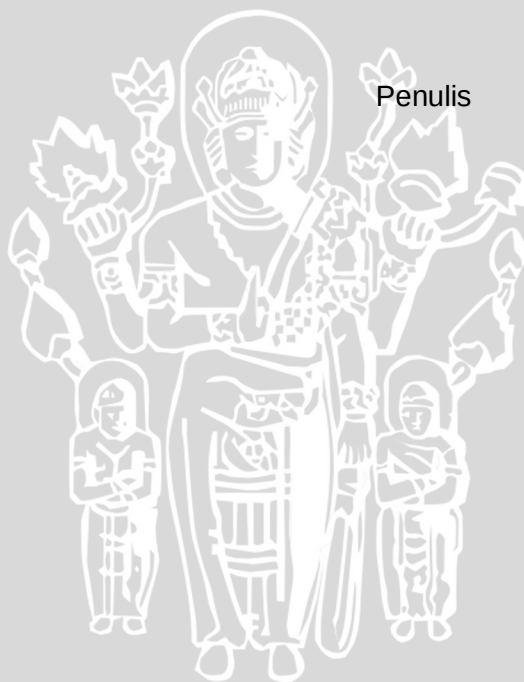
Alhamdulillah, puji syukur dipanjatkan kepada Allah SWT sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi. Sholawat serta salam dicurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah menjadi teladan bagi umatnya untuk terus menimba ilmu. Dengan penuh rasa syukur, saya sebagai penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Orang tua tercinta yang telah berjuang penuh demi membesarkan dan mendidik saya, serta untuk semua kasih sayang yang tak sempat tercurahkan.
2. Para Srikandi tercinta (Atik Oktarini Sugiono dan Atik Tri Pratiwi Sugiono yang tak pernah bosan untuk selalu memberikan nasehat serta mendo'akan saya serta Hanifah, Risa, Riski dan Arjuna yang selalu membuat saya tertawa saat lelah.
3. Ibu Dr. Uun Yanuhar, S. Pi, M. Si dan Bapak Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS selaku dosen pembimbing I dan dosen pembimbing II yang begitu sabar dan selalu menginspirasi dalam setiap bimbingan serta nasehat-nasehat terbaik yang diberikan.
4. Bapak Dr. Ir. Mulyanto, M. Si dan Ibu Dr. Ir. Umi Zakiyah, M. Si selaku dosen penguji atas ilmu yang disalurkan melalui kritik dan saran dalam membimbing penulis.
5. Saifudin Zuhri, yang senantiasa membantu dan memberikan semangat serta doa untuk segera menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Para sahabat: Sitti Sholehah, Shofiyah Rahmanyah, Anis Kurnia, Anik Purwaningsih dan Agaputra telah banyak memberi semangat dan dukungan dalam segala hal.

7. Sahabat dan kawan jauhku: Pricilia Mariska, Regina Purana dan Oktavia K. Dewi yang selalu memberikan ilmu, nasehat, dukungan dan doanya, serta untuk semua momen terindah yang pernah terukir bersama sebagai pengalaman berharga.
8. Teman-teman tim penelitian yang turut membantu dan memberikan dukungan hingga terselesaikannya penelitian ini.
9. Teman-teman MSP 2012 yang telah memberikan banyak dukungan dalam menyelesaikan laporan ini.

Malang, 30 Mei 2016

Penulis



RINGKASAN

ATIK APRILIA SUGIONO. Skripsi tentang Analisis Kualitas Air dan Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus) Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn.) yang Terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) Pada Kolam Pemeliharaan (di bawah bimbingan **Dr. Uun Yanuhar, S. Pi, M. Si** dan **Dr. Ir. Mohammad Mahmudi, MS**)

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) memiliki banyak keunggulan antara lain pertumbuhannya relatif cepat, toleransi terhadap lingkungan cukup tinggi, ukuran tubuh relatif besar, rasanya enak, daya kelangsungan hidup tinggi dan pemeliharanya mudah. Oleh karena itu, ikan nila merupakan spesies ikan air tawar yang banyak dibudidayakan. salah satu faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup ikan nila adalah air sebagai media hidup dan faktor penghambat pertumbuhan ikan nila adalah penyakit yang dapat disebabkan oleh virus, bakteri maupun jamur. Salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian masal pada ikan terutama pada stadia larva dan juvenil adalah penyakit yang disebabkan oleh *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Salah satu organ yang menjadi target infeksi adalah usus ikan nila. Dengan menggunakan metode PCR dapat diketahui secara pasti kondisi kesehatan ikan. Serta dengan pengamatan histopatologi dapat diketahui kerusakan-kerusakan yang terjadi didalam jaringan organ ikan.

Tujuan dari penelitian skripsi ini yaitu untuk mengetahui kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada kolam pemeliharaan dan untuk mengetahui histopatologi saluran pencernaan (usus) ikan nila yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN). Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – April 2016 di Laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang untuk pengujian kualitas air, laboratorium Penyakit Ikan dan Lingkungan UPT Pengembangan Budidaya Air payau (PBAP) Bangil untuk uji PCR.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif, yaitu suatu metode penelitian yang menggunakan suatu objek pada masa sekarang dengan membuat gambaran secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki. Selain itu, data pendukung yang digunakan meliputi data primer dan data sekunder. Ikan nila yang digunakan dalam penelitian berupa benih yang berukuran 5 – 10 cm. Ikan nila yang digunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah ikan nila yang ada di kolam pemeliharaan ikan nila. Sampel yang diduga terinfeksi VNN diperoleh dari pembudidaya tradisional di Kabupaten Blitar. Adapun gejala klinis yang ditunjukkan adalah tubuh berwarna kehitaman, gerakan renang tidak beraturan, mata menonjol keluar dan apabila sudah mati ikan akan mengambang akibat dari gelembung renang yang membesar.

Hasil dari kegiatan laboratorium yang dilakukan dari analisis kualitas air didapatkan nilai suhu berkisar antara 30 – 32°C, kecerahan sebesar 30 cm, pH memiliki nilai kisaran 6 – 8, DO berkisar antara 6,081 – 7,43 mg/L, CO₂ berkisar antara 11,986 – 19,976 mg/L, NH₃ berkisar antara 0,293 – 0,310 mg/L, NO₃ berkisar pada 1,092 – 1,139 mg/L, PO₄ berada pada kisaran 0,051 – 0,053 mg/L dan BOD₅ berkisar antara 3,579 – 3,986 mg/L. Dari hasil pengukuran kualitas air tersebut dapat dikategorikan bahwa perairan kolam pemeliharaan berada pada kondisi normal.

Sedangkan dari hasil analisis histopatologi usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) didapatkan 10 jenis kerusakan yang merusak jaringan usus ikan nila yaitu atrofi, degenerasi, edema, hemorag, hiperplasi, infiltrasi, inflamasi, vakuolisasi, nekrosis dan ulserasi. Perubahan degenerasi yang sering terjadi pada saluran pencernaan ikan terutama usus yaitu atrofi sel-sel epitel mukosa, nekrosis dan infiltrasi. Selain itu dapat juga terjadi perdarahan yang menyebabkan pembendungan pembuluh darah sehingga terjadi hemorag. Ulserasi menyebabkan mukosa terlepas dari sub mukosanya yang disertai pendarahan. Penyempitan sel-sel epitel dapat menyebabkan hiperplasia karena vili-vili usus akan menebal. Hal-hal ini bisa terjadi karena infeksi dari virus VNN yang telah diuji dalam skala laboratorium.

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa VNN dapat menginfeksi ikan dan merusak struktur organ saluran pencernaan (usus) ikan nila walaupun kondisi air sebagai media hidup ikan nila berada pada kisaran yang normal untuk pemeliharaan ikan. Saran yang dapat diberikan adalah sebaiknya para pembudidaya lebih waspada dalam penyebaran berbagai penyakit yang diakibatkan oleh virus dengan menjaga keseimbangan lingkungan dan pemberian pakan yang berkualitas serta perlu diadakannya penelitian lebih lanjut mengenai cara penanggulangan ikan yang terinfeksi agar tidak mengalami kematian.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alam, puji syukur saya panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan, rahmat, berkat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan Laporan Skripsi ini yang berjudul ***“Analisis Kualitas Air dan Histopatologi Saluran Pencernaan (usus) Ikan Nila (Oreochromis niloticus Linn.) yang Terinfeksi Viral Nervous Necrosis (VNN) pada Kolam Pemeliharaan”***. Laporan Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan dalam meraih gelar sarjana di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang.

Sebagai penulis, saya menyadari bahwa Laporan Skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat bersedia menerima kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan dalam penyusunan laporan selanjutnya sehingga tujuan yang diharapkan dapat tercapai, Amin.

Malang, 30 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	1
1.3 Hipotesis Penelitian	5
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Kegunaan Penelitian	6
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian	7
2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i> Linn.)	8
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Ikan Nila	8
2.2 Viral Nervous Necrosis (VNN)	9
2.2.1 Taksonomi dan Morfologi VNN	11
2.2.2 Transmisi dan Infeksi VNN	13
2.3 Histologi dan Histopatologi	17
2.3.1 Perubahan Histologi Ikan	21
2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)	26
2.5 Saluran Pencernaan Ikan Nila	27
2.6 Kualitas Air	29
2.6.1 Suhu	29
2.6.2 Kecerahan	30
2.6.3 pH	31
2.6.4 Amonia	32
2.6.5 Karbondioksida (CO ₂)	32
2.6.6 Oksigen Terlarut (DO)	32
2.6.7 Nitrat (NO ₃)	33
2.6.8 Orthofosfat (PO ₄)	34
2.6.9 Biological Oxygen Demand (BOD ₅).....	35
2.6.10 Chemical Oxygen Demand (COD)	36

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian	37
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	37
3.3 Metode Penelitian	37
3.3.1 Data Primer	38
3.3.2 Data Sekunder	39
3.4 Pengambilan Sampel	40
3.5 Analisa <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	40
3.6 Analisa Kualitas Air	40
3.6.1 Suhu	40
3.6.2 Kecerahan	41
3.6.3 pH	41
3.6.4 Amonia	41
3.6.5 Karbondioksida (CO ₂)	42
3.6.6 <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	42
3.6.7 Nitrat (NO ₃)	43
3.6.8 Orthofosfat (PO ₄)	44
3.6.9 <i>Biological Oxygen Demand</i> (BOD ₅)	44
3.6.10 <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	45
3.7 Preparasi dan Proses Pembuatan Irisan jaringan Usus Ikan Nila	46
3.8 Analisis Histopatologi	47

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian	48
4.2 Teknik Pengambilan Sampel	58
4.2.1 Lokasi Pengambilan Sampel	49
4.2.2 Pengambilan Sampel Ikan Nila	49
4.2.3 Pengambilan Sampel Kualitas Air	52
4.3 Analisis Kualitas Air	52
4.3.1 Suhu	53
4.3.2 Kecerahan	54
4.3.3 pH	55
4.3.4 <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	56
4.3.5 Karbondioksida (CO ₂)	58
4.3.6 Amonia	60
4.3.7 Nitrat (NO ₃)	61
4.3.8 Orthofosfat (PO ₄)	63
4.3.9 <i>Biological Oxygen Demand</i> (BOD ₅)	64
4.3.10 <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	65
4.4 Analisis Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus)	67
4.5 Hubungan Antara Lingkungan dan Infeksi VNN	75

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	77
5.2 Saran	78

DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN.....	83



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Karakteristik Ikan Terinfeksi VNN	16
2. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air	52



DAFTAR GAMBAR

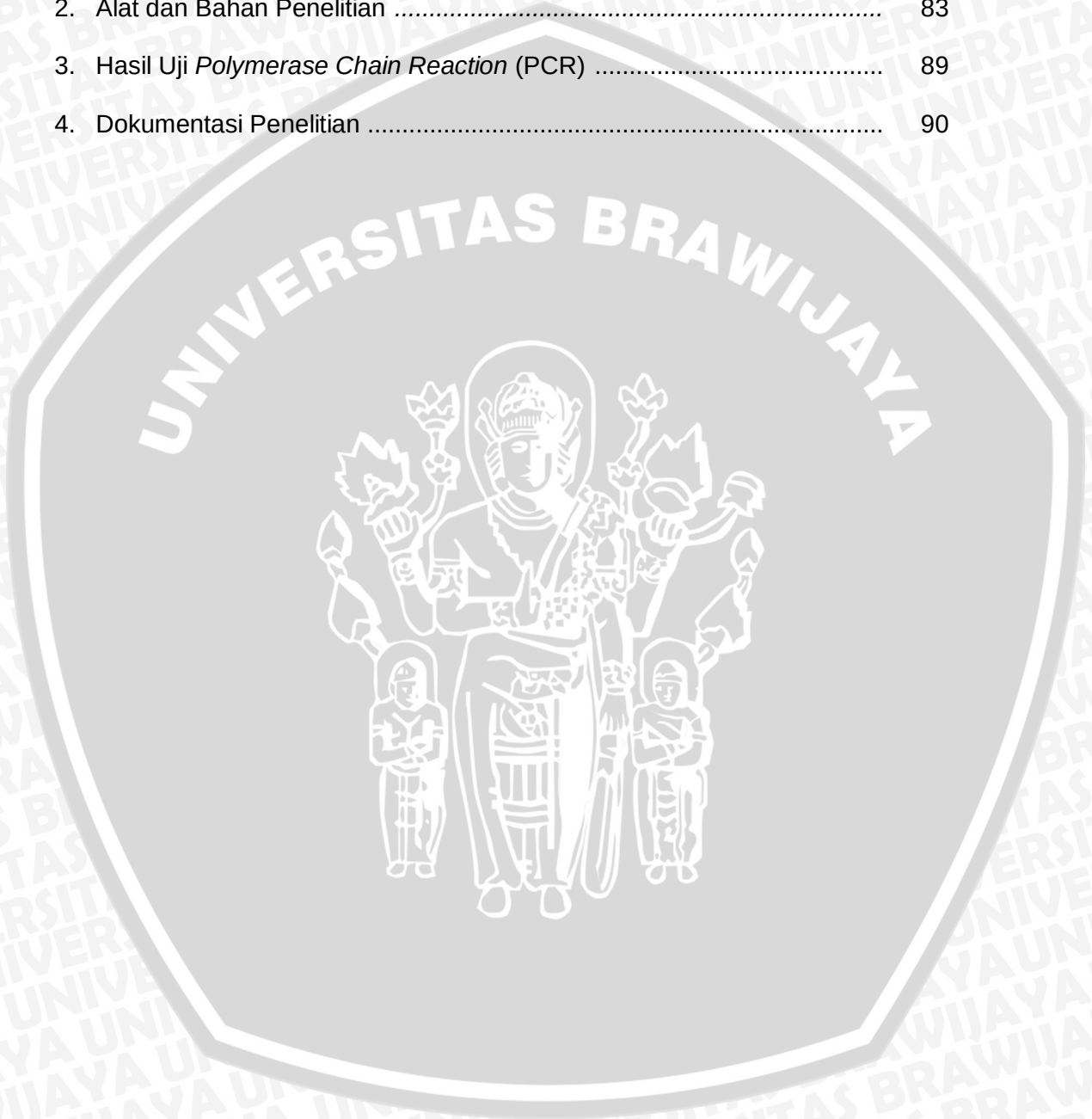
Gambar	Halaman
1. Kerangka Pikir Penelitian	5
2. Ikan Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	10
3. Betanodavirus.....	13
4. Inflamasi	21
5. Edema	22
6. Hemorage.....	23
7. Atrofi	23
8. Degenerasi	24
9. Vakuolisasi	25
10. Infiltrasi	25
11. Ulserasi	26
12. Lokasi Pengambilan Sampel	50
13. Sampel Ikan Nila	51
14. Grafik Suhu	54
15. Grafik pH	56
16. Grafik <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	58
17. Grafik Karbondioksida (CO ₂)	59
18. Grafik Amonia (NH ₃)	61
19. Grafik Nitrat (NO ₃)	62
20. Grafik Orthofosfat (PO ₄)	63
21. Grafik <i>Biological Oxygen Demand</i> (BOD ₅)	65
22. Grafik <i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	66
23. Usus Ikan Nila. A. Mikrofil, B. Sub Mukosa, C. Mukosa (Haloi, 2013)	68
24. Usus Ikan Nila Kontrol ; A. Mikrofil, B. Sub Mukosa, C. Mukosa	68

25. Usus Ikan Nila yang Terinfeksi VNN. (1.) A. Atrofi, D. Hemorage, I. Vakuolisasi, (2.) B. Degenerasi, C. Edema (3.) A. Atrofi, B. Degenerasi & C. Edema, (4.) C. Edema, D. Degenerasi & G. Nekrosis. (5.) C. Edema, D. Hemorage & E. Hiperplasi, (6.) A. Atrofi, E. Hiperplasi & F. Infiltrasi .. 69
26. (7.) F. Infiltrasi, E. Hiperplasi & G. Nekrosis, (8.) F. Infiltrasi & H. Inflamasi, (9.) D. Hemorage, I. Vakuolisasi & H. Inflamasi, (10.) J. Ulserasi & I. Vakuolisasi, (11.) C. Edema, H. Inflamasi & G. Nekrosis (12.) D. Hemorage, H. Inflamasi, G. Nekrosis & I. Vakuolisasi 70



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Peta Lokasi Penelitian	82
2. Alat dan Bahan Penelitian	83
3. Hasil Uji <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	89
4. Dokumentasi Penelitian	90



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan spesies ikan air tawar yang memiliki beberapa keunggulan antara lain pertumbuhannya relatif cepat, toleransi terhadap lingkungan cukup tinggi, ukuran tubuh relatif besar, rasanya enak, daya kelangsungan hidup tinggi dan pemeliharaannya mudah. Oleh karena itu, ikan nila menjadi komoditas utama pada sektor perikanan khususnya dalam budidaya air tawar. Namun tidak menutup kemungkinan, kesehatan dan lingkungan dari ikan nila tersebut juga perlu diperhatikan dengan baik supaya kemungkinan adanya penyebaran penyakit yang dapat menghambat pertumbuhan ikan nila serta menyebabkan kematian dapat diminimalisir (Elyana, 2011). Salah satu faktor yang mempengaruhi kelangsungan hidup ikan nila adalah air sebagai media hidup dan faktor penghambat pertumbuhan hidup ikan nila adalah penyakit yang dapat disebabkan oleh bakteri, virus dan jamur.

Kualitas air sebagai faktor yang berperan penting pada media hidup ikan harus memiliki sifat yang cocok bagi kehidupan organisme perairan, karena kualitas air dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan makhluk-makhluk hidup di air. Selain itu juga mempengaruhi jenis biota yang dibudidayakan karena kualitas air dapat dijadikan sebagai faktor pembatas. Manajemen kualitas air dalam kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan pengecekan kesehatan sebelum dibudidayakan dibutuhkan untuk memonitoring kondisi lingkungan hidup dan ikan berada pada kondisi baik. Kualitas air akan mempengaruhi faktor fisika, kimia dan biologi perairan (Mas'ud, 2014).

Perkembangan budidaya ikan nila (*Oreochromis niloticus*) tidak lepas dari bahaya penyakit yang dapat menyerang dan menggagalkan hasil budidaya. Menurut Syarief (2013), menjelaskan bahwa terjadinya penyakit dipengaruhi oleh

tiga faktor, yaitu adanya agen penyebab penyakit (parasit, bakteri, jamur dan virus) termasuk juga peningkatan patogenitas dari agen penyakit itu sendiri. Salah satu penyakit yang telah dilaporkan oleh para peneliti adalah *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang dapat menyebabkan kematian massal pada komoditas ikan laut seperti kerapu, terutama pada stadia larva dan juvenil (Sudaryatma, 2012). Lingkungan, inang dan penyakit akibat patogen merupakan 3 hal yang saling berkaitan, apabila lingkungan sebagai media hidup inang memiliki kondisi yang buruk akan meningkatkan pertumbuhan patogen, serta patogen akan tumbuh dan berkembang dengan adanya inang.

Penyakit *Viral Encephalopathy and Retinopathy* (VER) atau lebih dikenal *Viral Nervous Necrosis* (VNN) disebabkan oleh virus dari genus *Betanodavirus* yang termasuk golongan virus RNA, berbentuk icosahedral tanpa amplop berdiameter 25-30 nanometer (nm). Penyakit ini merupakan permasalahan serius pada budidaya ikan laut terutama kerapu dan kakap karena dapat menyebabkan kematian 50 – 100 % pada larva umur 10 – 20 hari (Prajitno, 2008). Hal tersebut dapat terjadi karena lingkungan laut mendapatkan banyak akumulasi limbah sehingga peluang meningkatnya pertumbuhan VNN lebih besar dan apabila hal ini terus terjadi akan menyebabkan kematian pada ikan-ikan yang terserang karena mengalami penurunan sistem imun sebagai akibat dari buruknya media hidup.

Viral Nervous Necrosis (VNN) ini umumnya menyerang sistem organ syaraf dan otak yang dapat menyebabkan kelainan pada ikan yang diserang (Putri, 2013). Menurut Prihartini (2015), VNN adalah penyakit yang umum di komoditas ikan laut, terutama ikan kakap dan kerapu yang tersebar ke berbagai negara seperti Eropa, Amerika Utara, Asia dan Australia. VNN juga dapat menyebabkan kematian yang tinggi terutama pada tahap larva dan juvenil. Namun, fakta menjelaskan bahwa VNN juga telah menginfeksi spesies ikan air tawar seperti ikan nila dan ikan guppy. Ikan nila masuk ke dalam daftar *Office International des*

Epizooties (OIE) sebagai salah satu spesies yang dapat terinfeksi oleh VNN seperti kakap, kerapu, bandeng dan guppy.

Ikan nila tergolong ikan omnivor cenderung herbivor yang dapat diketahui dari hasil analisis makanan dalam lambung yang terdiri dari fitoplankton, zooplankton dan seresah. Selain *Chlorophyceae* yang dimanfaatkan sebagai makanan, ikan nila juga mengonsumsi organisme makanan dari kelompok *Myxophyceae*, *Desmid*, *Crustacea*, *Rotifera*, *Protozoa* dan seresah. Pada umumnya ikan akan menyesuaikan jenis makanan dengan ukuran bukaan mulutnya. Ikan yang berukuran lebih besar akan memangsa makanan yang lebih besar dan melakukan spesialisasi terhadap jenis makanannya (Effendi, 1997). Buruknya kualitas air pada lingkungan akan mempengaruhi kondisi plankton sebagai pakan ikan. Oleh karena itu, ikan dapat terserang berbagai penyakit salah satunya berasal dari makanan yang dikonsumsi oleh ikan tersebut.

VNN umumnya menginfeksi stadia larva sampai yuwana dan menyerang sistem organ syaraf mata dan otak dengan gejala yang cukup spesifik karena ikan menampilkan tingkah laku berenang yang tidak normal (berputar-putar), nafsu makan menurun, warna kulit menghitam dan umumnya ikan berdiam di dasar (Yuasa *et al.*, 2001). Penyerangan VNN juga dapat menyebabkan perubahan patologi pada organ yang diserang. Adapun organ yang dapat terinfeksi selain syaraf mata dan otak adalah usus, hati dan otot. Berdasarkan adaptasi terhadap masuknya patogen, organ tubuh ikan akan mengalami perubahan dalam sel maupun jaringannya seperti adanya nekrosis dan degenerasi.

Saluran pencernaan pada ikan juga dapat menjadi sasaran penyebaran virus didalam tubuh ikan yang ditularkan dari makanan yang dikonsumsi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yaitu plankton. Kondisi perairan yang buruk dapat menginfeksi plankton sebagai pakan alami sehingga mengandung virus kemudian dikonsumsi oleh ikan nila yang ada pada kolam pemeliharaan tersebut. Organisme

perairan dapat hidup dan berkembang biak apabila kebutuhan biologinya dapat terpenuhi. Menurut Chi (2006), bahwa persebaran dan transmisi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan terjadi secara vertikal maupun horizontal. Secara vertikal, VNN dideteksi ada pada organ gonad, usus, lambung, ginjal dan hati induk yang karier (pembawa). VNN akan berkembang pada ovarium sehingga akan menginfeksi telur yang ada di dalam ovarium dan menyebabkan terjadinya transmisi secara vertikal. Adapun persebaran horizontal, ikan yang positif terinfeksi VNN akan menginfeksi ikan lain yang negatif VNN, terutama ikan yang dibudidayakan dalam satu lokasi.

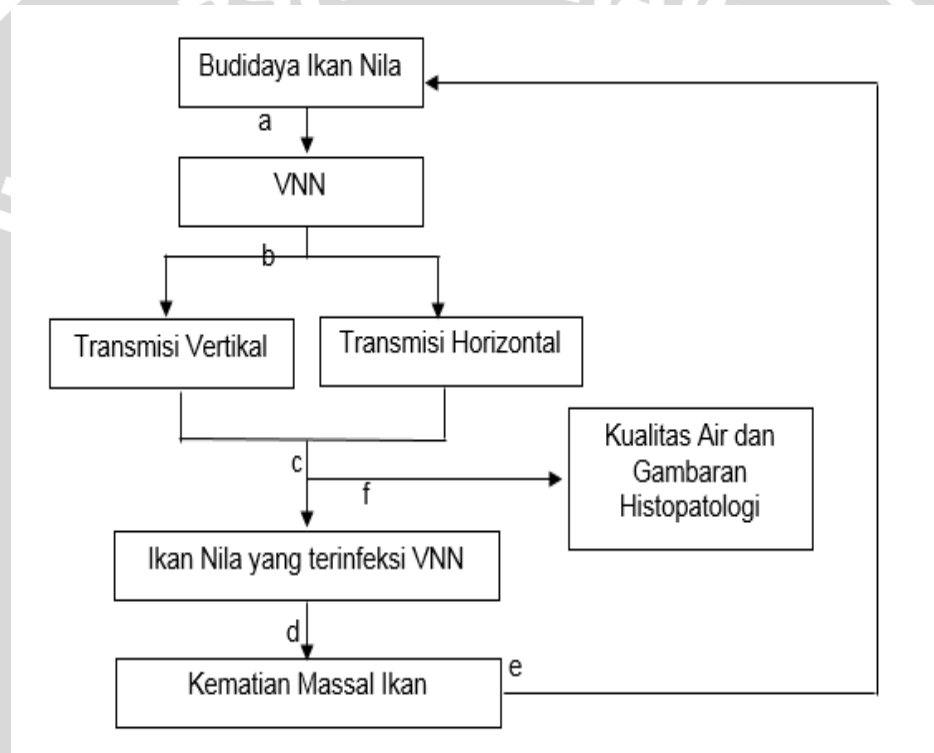
Teknik PCR merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengetahui adanya suatu penyakit yang disebabkan oleh virus. Untuk virus DNA terdiri dari 3 proses yaitu ekstraksi DNA virus, amplifikasi DNA dan deteksi DNA dengan menggunakan elektroforesis. Sedangkan untuk virus RNA, ekstraksi RNA merupakan transkripsi ke DNA sebelum amplifikasi DNA dan elektroforesis (Yuasa *et al.*, 2003). Dan menurut penjelasan Novriadi (2014), gejala klinis umum pada ikan yang terinfeksi VNN adalah menunjukkan perilaku berenang yang tidak normal, hilang nafsu makan, warna tubuh yang kelihatan lebih gelap dan terkadang ikan mengapung dikarenakan adanya pembengkakan gelembung renang pada saat ikan telah mati.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kondisi kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila yang terinfeksi VNN. Serta, untuk mengetahui gambaran histopatologi pada saluran pencernaan (usus) ikan nila. Dimana ikan nila yang digunakan telah diuji melalui PCR dan positif terserang VNN. Hasil dari penelitian ini nantinya dapat dijadikan sebagai bahan informasi dasar dan acuan dalam pencegahan dan penanganan adanya serangan penyakit yang berasal dari virus dalam upaya menjaga lingkungan dan kesehatan ikan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahan penelitian yaitu:

- Bagaimana kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).
- Bagaimana karakteristik ikan infeksi dan gambaran histopatologi saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).



Gambar 1. Bagan Alir Permasalahan

Keterangan:

- Budidaya ikan nila merupakan salah satu kegiatan perikanan yang banyak dipilih masyarakat untuk menghasilkan suatu keuntungan ekonomi. Namun, penyakit VNN menghambat aktivitas tersebut apabila tidak segera ditangani.
- VNN adalah salah satu penyakit yang diakibatkan oleh virus dan dapat merugikan petani ikan karena dapat menyebabkan kematian hingga 100%.

- c. Transmisi atau persebaran VNN terbagi menjadi 2 yaitu transmisi vertikal memiliki sifat menurun dari indukan karier (pembawa) dan transmisi horizontal yang berasal dari kontak langsung ikan yang pada satu lokasi maupun dari pakan yang dikonsumsi oleh ikan mengandung virus.
- d. Ikan nila yang terinfeksi VNN merupakan ikan yang memiliki ketahanan tubuh rendah yang dapat diakibatkan oleh ikan yang mengalami stres sebagai akibat dari kondisi lingkungan maupun adanya *outbreak* (wabah).
- e. Kematian massal ikan adalah salah satu kejadian yang sangat dikhawatirkan oleh para petani ikan dan menyebabkan kerugian yang besar bagi budidaya perikanan ikan nila. Ikan yang terinfeksi akan dengan cepat mengalami perubahan keseimbangan sehingga menunjukkan adanya gejala-gejala klinis
- f. Kualitas air dan gambaran histopatologi ikan merupakan identifikasi yang dilakukan untuk mengetahui kondisi dari lingkungan dan kesehatan ikan nila yang ada didalamnya. Kualitas air diduga merupakan salah satu faktor lingkungan yang memiliki pengaruh terhadap transmisi VNN sedangkan gambaran histopatologi merupakan

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang diharapkan dengan adanya penelitian analisis kualitas air dan pengamatan terhadap histologi saluran pencernaan (usus) ikan nila dapat terwujud adalah:

- Untuk mengetahui kualitas air pada kolam pemeliharaan ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).
- Untuk mengetahui karakteristik ikan terinfeksi dan gambaran histopatologi saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian analisis kualitas air dan pengamatan terhadap histologi saluran pencernaan (usus) ikan nila yaitu sebagai berikut:

a. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai petunjuk dalam mendiagnosa adanya serangan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada kolam pemeliharaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*), sehingga dapat menentukan langkah awal yang tepat dalam penanggulangan secara dini terhadap organisme budidaya.

b. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan mengenai kualitas air dan gambaran histopatologi dari perubahan jaringan usus pada saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi penyakit *Viral Nervous Necrosis* (VNN) melalui analisis histologi.

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari – Mei 2016 di desa Krakal Kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar untuk pengambilan sampel ikan nila dan kualitas air, laboratorium Lingkungan dan Bioteknologi Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang untuk analisis kualitas air, laboratorium Penyakit Ikan dan Lingkungan UPT Pengembangan Budidaya Air Payau (PBAP) Bangil untuk uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan Laboratorium Anatomi dan Patologi Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang untuk pembuatan preparat jaringan organ usus ikan nila.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan jenis ikan air tawar. Pada mulanya, ikan nila berasal dari perairan tawar di Afrika. Di Asia sendiri penyebaran ikan nila pada mulanya berpusat di beberapa negara seperti Filipina dan Cina. Dalam perkembangan selanjutnya, ikan nila meluas dibudidayakan di berbagai negara, antara lain Taiwan, Thailand, Vietnam, Bangladesh dan Indonesia. Pengembangan ikan nila di perairan tawar di Indonesia dimulai tahun 1969. Jenis atau strain ikan nila yang pertama kali didatangkan ke Indonesia adalah ikan nila hitam asal Taiwan. Tahun 1981 didatangkan lagi jenis atau strain ikan nila merah hibrida. Kedua jenis ikan nila ini telah meluas dibudidayakan di seluruh wilayah perairan nusantara (Rukmana, 1997). Ada tiga jenis ikan nila yang merupakan ikan produktif dan banyak dibudidayakan masyarakat, terutama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia yaitu ikan nila lokal, nila GIFT dan nila merah (Amirudin, 2012).

Pada genus *Oreochromis*, induk ikan betina mengerami telur dan larvanya dalam rongga mulut serta mengasuh anak-anaknya sendiri (Elyana, 2011). Suyanto (2002), juga berpendapat bahwa ikan nila adalah nama khas Indonesia yang diberikan oleh pemerintah melalui Direktur Jenderal Perikanan. Ikan nila disukai oleh masyarakat karena dagingnya tebal dan enak. Ikan nila merupakan salah satu ikan air tawar yang mudah dibudidayakan, namun kesehatan dan pertumbuhan ikan nila juga dipengaruhi oleh beberapa faktor dan salah satunya adalah faktor air sebagai media hidup (lingkungan) ikan nila.

Lingkungan tumbuh (habitat) yang paling ideal untuk ikan nila adalah perairan tawar yang memiliki suhu antara 14 – 38°C atau suhu optimal 25 – 30°C, pH optimal untuk perkembangbiakan dan pertumbuhan ikan ini adalah 7 – 8

(Rukmana, 1997). Menurut Amirudin (2012), ikan nila memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya sehingga dapat dipelihara di dataran rendah yang berair payau hingga dataran tinggi yang berair tawar. Habitat hidup ikan nila cukup beragam dari sungai, waduk, rawa, sawah, kolam hingga tambak.

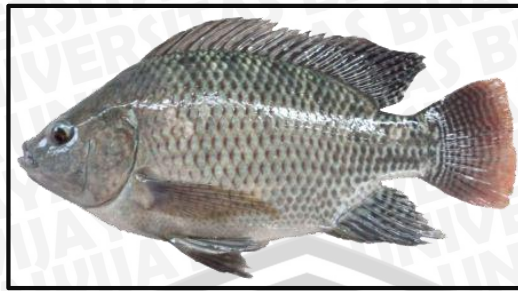
Menurut Amirudin (2012), ikan nila tergolong herbivora cenderung omnivora karena itulah ikan ini sangat mudah dibudidayakan. ketika masih benih, makanan yang disukai ikan nila adalah plankton baik fitoplankton maupun zooplankton. Menurut (Elyana, 2011), hasil dari analisis makanan dalam lambung yang terdiri dari fitoplankton, zooplankton dan seresh. Adapun fitoplankton pada lambung ikan nila didominasi oleh kelompok *Chlorophyceae*, *Myxophyceae* dan *Desmid*. Sedangkan zooplankton didominasi oleh *Rotifera*, *Crustacea* dan *Protozoa*.

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi Ikan Nila

Berikut adalah klasifikasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menurut Suyanto (2002) adalah sebagai berikut:



Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Classis	: Osteichthyes
Sub Class	: Acanthopterygii
Ordo	: Percomorphi
Sub Ordo	: Percaide
Familia	: Cichilidae
Genus	: <i>Oreochromis</i>
Spesies	: <i>Oreochromis niloticus</i> Linn.



Gambar 2. Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) (Suyanto, 2002).

Pada Gambar 2 menunjukkan gambaran morfologi ikan nila. Berdasarkan morfologinya, kelompok ikan nila (*Oreochromis niloticus*) memang berbeda dengan kelompok Tilapia. Secara umum, bentuk tubuh ikan nila memanjang dan ramping dengan sisik berukuran besar berbentuk ctenoid. Bentuk matanya besar dan menonjol serta bagian tepi berwarna putih. Gurat sisi (*linea lateralis*) terputus di bagian tengah tubuh kemudian berlanjut lagi, tetapi letaknya lebih ke bawah dibandingkan letak garis yang memanjang di atas sirip dada. Jumlah sisik pada gurat sisi 34 buah. Sirip punggung, sirip perut dan duburnya memiliki jari-jari lemah tetapi keras dan tajam seperti duri. Sirip punggung dan sirip dada berwarna hitam, sedangkan pinggir punggung berwarna abu-abu atau hitam (Khairuman dan Amri, 2008 dalam Elyana, 2011).

Selain itu, mata ikan nila menonjol agak besar dengan bagian tepi berwarna hijau kebiru-biruan, letak mulut terminal, posisi sirip perut terhadap sirip dada thorocis dan garis rusuk (*linea lateralis*) yang terputus menjadi dua bagian, letaknya memanjang diatas sirip dada. Bentuk badan ikan nila ialah pipih ke samping dan memanjang. Memiliki garis vertikal 9 – 11 buah, garis-garis pada sirip ekor berwarna merah sejumlah 6 – 12 buah. Pada sirip punggung terdapat juga garis miring. Badan relatif lebih tebal dan kekar dibandingkan ikan mujair. Garis lateralis (gurat sisi ditengah tubuh) terputus dan dilanjutkan dengan garis yang terletak lebih bawah (Susanto (1991) dalam Rustidja (1998)).

2.2 Viral Nervous Necrosis (VNN)

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 hampir ada di seluruh dunia. Menurut Maeno *et al.* (2007), VNN merupakan virus penyebab penyakit *retinopathy* dan *encephalopathy* yang memiliki kisaran inang yang luas termasuk salah satu penyakit yang mewabah hampir di seluruh dunia dan terdaftar dalam OIE (*Office International des Epizooties*).

Viral Nervous Necrosis (VNN) merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus dari genus *Betanodavirus*, famili *Nodaviridae*, berbentuk ikosahedral, dengan diameter 23 – 25 nm, tidak mempunyai amplop dan genomnya terdiri atas 2 untai ganda RNA sense positif. RNA1 berukuran besar (110 kDa) yang menyandikan *RNA-dependent RNA polymerase/RdRp*, dan RNA2 ukuran kecil (40-42 kDa) yang menyandikan coat protein (Mori *et al.*, 1992; Comps *et al.*, 1994; Chi *et al.*, 2001). Menurut penelitian Nishizawa *et al.* (1995), betanodavirus diklasifikasikan menjadi 4 genotipe berdasarkan hasil analisis filogenetik molekuler dan sekuensing nukleotida dari gen protein kapsid dan kesamaan dari RNA2, yaitu: tipe *striped jack nervous necrosis virus* (SJNNV), *tiger puffer nervous necrosis virus* (TPNNV), *barfin flounder nervous necrosis virus* (BFNNV) dan *redspotted grouper nervous necrosis virus* (RGNNV).

Viral Nervous Necrosis (VNN) menjadi penyakit serius yang menyerang lebih dari 30 jenis spesies ikan laut di seluruh dunia selama lebih dari 20 tahun terakhir (Muroga, 2001 dalam Oh *et al.*, 2012). Yang (2007) juga menyatakan bahwa *Viral Nervous Necrosis* (VNN), yang karakternya adalah ikan berenang spiral dan vakuolisasi pada otak dan retina disebabkan oleh *Viral Nervous Necrosis* (VNN), dan merupakan patogen pada spesies ikan yang berekonomis tinggi di dunia. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) menyerang larva pada beberapa

spesies ikan, diantaranya Japanese parrotfish, kakap, sea bass, turbot dan kerapu bintik merah (*Epinephelus akaara*). *Viral Nervous Necrosis* menyebabkan kematian yang tinggi pada larva dan postlarva, sehingga menyebabkan kerugian pada pembenihan, yang kemudian menyebabkan penurunan ekonomi yang serius bagi industri akuakultur.

Di Indonesia, ikan nila merupakan salah satu komoditas yang banyak dibudidayakan dan telah diperkenalkan ke seluruh daerah. Dugaan bahwa VNN telah menginfeksi spesies air tawar yang berasal dari VNN yang menginfeksi spesies laut, sehingga ikan air tawar dapat bertindak sebagai pembawa dan penerima virus. Ikan nila merupakan salah satu ikan yang memiliki kemampuan beradaptasi pada perubahan lingkungan dan dapat hidup diperairan payau maupun asin. Sehingga dapat memungkinkan adanya transmitter VNN oleh ikan nila yang berasal dari lingkungan laut (Prihartini, 2015).

VNN adalah penyakit yang umum di komoditas ikan laut, terutama ikan kakap dan kerapu yang tersebar ke berbagai negara seperti Eropa, Amerika Utara, Asia dan Australia. VNN dapat menyebabkan kematian yang tinggi terutama pada tahap larva dan juvenil. Fakta lain menjelaskan bahwa VNN juga menginfeksi spesies ikan air tawar seperti ikan nila dan ikan guppy. Salah satu fakta kuat yaitu ikan nila masuk ke dalam daftar *Office International des Epizooties* (OIE) sebagai salah satu spesies yang dapat terinfeksi oleh VNN seperti kakap, kerapu, bandeng dan guppy (Prihartini, 2015).

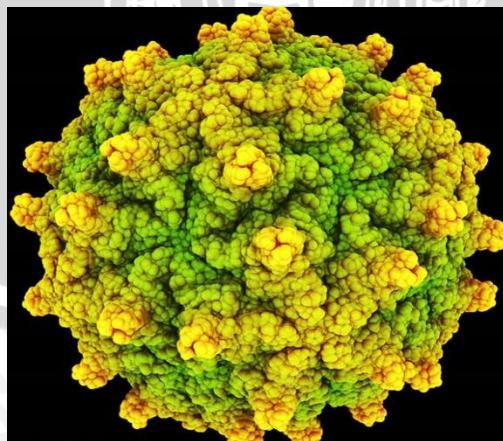
Gejala klinis yang tampak pada ikan bervariasi tergantung dengan umur, dimana pada ikan umur 2 – 4 bulan ikan yang terinfeksi VNN memperlihatkan kondisi ikan tampak diam/tidur di dasar jaring, penurunan nafsu makan sehingga ikan nampak lesu, sedangkan ikan yang terinfeksi VNN di atas umur 4 bulan akan terlihat berenang tidak beraturan (berputar-putar) dan apabila sudah mati ikan akan mengambang di atas permukaan air yang disertai dengan perbesaran

gelembung renang. Selain itu, ikan yang terinfeksi VNN secara histopatologi memperlihatkan adanya gangguan syaraf dan perubahan jaringan berupa nekrosis sel dan vakuolisasi pada jaringan syaraf pusat (*spinal cord*) dan retina (Koeshariyani *et al.*, 2006).

2.2.1 Taksonomi dan Morfologi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

Betanodavirus (keluarga *nodaviridae*) adalah agen yang menyebabkan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) atau *Virus Encephalopathy and Retinopathy* (VER) pada berbagai kegiatan budidaya ikan laut dan tawar diseluruh 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
Divisio	: RNA Virus
Class	: <i>Single stranded (+) RNA Virus</i>
Family	: <i>Nodaviridae</i>
Genus	: <i>Betanoviridae</i>
Spesies	: <i>Viral Nervous Necrosis</i>



Gambar 3. Betanodavirus (Gomez *et al.*, 2006)

Pada Gambar 3 dapat dilihat gambaran morfologi betanodavirus. Identifikasi virus penyebab VNN ini adalah anggota family Nodaviridae diperoleh dengan menyelidiki asam nukleat dan protein struktural dari larva virus *Pseudocaranx dentex*. Keluarga Nodaviridae terdapat dua 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. Betanodavirus adalah virus kecil, berbentuk bola, tidak punya kapsid dengan genome yang terdiri atas dua ikatan tunggal. Nodavirus merupakan virus icosahedral yang tidak dibungkus dengan suatu genome terdiri dari 2 RNAs ikatan tunggal. Piscine nodavirus (betanodavirus) telah menunjukkan infeksi pada lebih dari 30 jenis ikan laut terutama pada masa larva dan juvenil dan infeksi yang umumnya mengakibatkan mortalitas yang tinggi (Maeno *et al.*, 2007).

2.2.2 Transmisi dan Infeksi VNN

Siklus hidup mengenai *Betanodavirus* tidak begitu diketahui. Infeksi percobaan yang dilakukan oleh peneliti yang berbeda, diketahui bahwa virus ini kebanyakan menginfeksi inang melalui epithelium usus dan sistem saraf peripheral dan dengan cepat akan mencapai jaringan syaraf pusat yang kemudian menunjukkan gejala klinis dan dapat menyebabkan kematian inang atau bisa bertahan hidup untuk beberapa tahun (Johansen *et al.*, 2004).

Mekanisme masuknya VNN kedalam tubuh ikan itu berbeda-beda. Keberadaan virus pada masing-masing organ biasanya tergantung pada jalur infeksi. Menurut Grotmol *et al.* (2009), distribusi VNN yang diuji tentang virus dengan cara perendaman pada larva menunjukkan hasil bahwa virus terdeteksi dengan menggunakan metode IHC pada usus arteri, *spiral cord* dan otak dan juga di retina, hati serta insang. Sehingga dapat disimpulkan bahwa piscine nodavirus

dapat bereplikasi di organ lain selain sistem syaraf, meskipun jaringan syaraf merupakan jaringan target utama.

Pada ikan striped jack, dimana pada taraf awal infeksi, virus VNN terdeteksi pada sel-sel epitel sisik dan sel-sel epitel usus bersamaan dengan sel-sel syaraf pada CNS (Central Nervous System). Diterangkan lebih lanjut, bahwa virus dapat membuat akses menuju CNS melalui saraf-saraf perifer dengan 2 cara, yaitu melalui jaringan *automatic nerves* yang menuju saluran pencernaan dan melalui jaringan syaraf sensorik dan atau motorik yang menuju sel-sel epitel pada kulit (Nguyen *et al.*, 1996). Infeksi alami yang disebabkan oleh VNN termasuk dalam tingkat akut/parah, dan terjangkitnya penyakit ini sangat hebat ketika virus menyerang pada ikan yang stress akibat kepadatan yang tinggi dan temperatur air yang tinggi dalam sistem budidaya (Tanaka *et al.*, 1998).

VNN umumnya menginfeksi stadia larva sampai yuwana dan menyerang sistem organ syaraf mata dan otak dengan gejala yang cukup spesifik karena ikan menampilkan tingkah laku berenang yang tidak normal dan umumnya ikan berdiam di dasar (Yuasa *et al.*, 2001). Koesharyani *et al.* (2001) menambahkan bahwa nafsu makan ikan menurun dan banyak yang mati di dasar bak. Di Indonesia dilaporkan bahwa *Viral Nervous Necrosis* (VNN) telah menyerang sebagian besar budidaya ikan dengan tingkat kematian 100%. Gejala yang ditimbulkan adalah dengan ikan berputar-putar atau *whirling*, terjadi *sleeping dead* atau ikan berada di dasar seperti mati serta adanya gejala tingkah laku yang tidak wajar (Yuasa *et al.*, 2000).

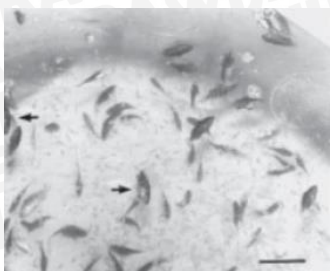
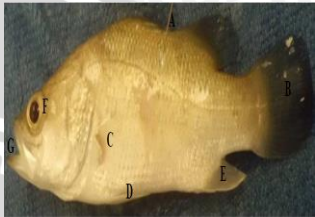
Jaringan syaraf dan mata adalah jaringan yang menjadi target utama infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN), tetapi VNN juga dapat menginfeksi jaringan lain. Infeksi VNN menyebar ke jaringan lain pada bermacam-macam spesies ikan dan umur (Comps *et al.*, 1996 dalam Chi *et al.* 2001). Ikan yang terinfeksi VNN sering disertai juga dengan vakuolisasi yang kuat pada sistem syaraf pusat

(*Central Nervous System*, CNS) dan retina (Thiery *et al.*, 2006). perilaku ikan yang terinfeksi menunjukkan gejala-gejala antara lain nafsu makan berkurang, gerakan melemah, berenang tidak normal (berputar-putar), pembesaran gelembung renang pada beberapa spesies ikan, dan warna menjadi kehitaman (Chi, 2006).

Transmisi persebaran *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada ikan terjadi secara vertikal maupun horizontal. Secara vertikal, VNN dideteksi ada pada organ gonad, usus, lambung, ginjal dan hati induk yang karier (pembawa). VNN akan berkembang pada ovarium dan yang menampung telur sehingga dapat menyebabkan persebaran secara vertikal. Sedangkan persebaran horizontal adalah ikan yang positif terinfeksi VNN akan menginfeksi ikan lain yang negatif VNN, terutama ikan yang dibudidayakan dalam satu lokasi (Chi, 2006).

Pada budidaya ikan laut khususnya ikan kerapu, penyakit ikan juga merupakan permasalahan yang meresahkan. Tercatat 2 jenis virus yang sangat merugikan yaitu iridovirus dan VNN. *Viral Nervous Necrosis* (VNN) merupakan penyakit virus yang menginfeksi stadia larva dan juvenil ikan laut dan merupakan penyakit yang berbahaya bagi usaha pembenihan ikan (Sugiarti, 2005). Namun fakta lain menyatakan menjelaskan bahwa infeksi dari *Viral Nervous Necrosis* (VNN) juga dapat menyerang ikan air tawar seperti pada ikan guppy (Hedge *et al.*, 2003). Adapun karakteristik ikan air laut dan ikan air tawar yang terinfeksi VNN dapat dilihat pada **Tabel 1. Karakteristik Ikan Terinfeksi VNN** berikut:

No.	Jenis Ikan	Gejala	Kualitas Air	Gambar
1.	Kerapu Tikus (<i>Cromileptes altivelis</i>)	Warna tubuh menggelap, berenang berputar (<i>whirling</i>), sleeping dead, berenang tidak normal	• Suhu: 27 – 29 °C • Salinitas: 30 – 33 ppt • DO: 4 – 4,9 ppm • pH: 7 – 7,8	 (Andriyani, 2012)

2.	Kerapu Macan (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>)	Berenang berputar (<i>Whirling</i>), sleeping dead, gelembung renang membesar	Terkontrol (Suhu 24,5 – 26 °C)	 (Johnny <i>et al.</i> , 2007)
3.	Kakap (<i>Lates Carcarifer</i>)	Berdiam di dasar, berenang berputar dan terbalik, gerakan lemah, nafsu makan menurun, mortalitas	Terkontrol (Suhu : 25 – 27 °C)	 (Sonida, 2014)
4.	Guppy (<i>Poecilia reticulata</i>)	Lesu, ikan berenang berputar, sleeping dead, terjadi mortalitas	Terkontrol (Suhu: 27 – 29 °C)	 (Hasoon, 2011)
5.	Nila (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Nafsu makan menurun, berenang abnormal, berwarna kehitaman, sleeping dead dan ikan yang mati mengapung di permukaan	Terkontrol (Suhu 25 °C)	 (Eyngor <i>et al.</i> , 2014)

2.3 Histologi dan Histopatologi

Histologi berasal dari kata histo dan logos. Histo berarti jaringan dan logos berarti ilmu, sehingga histologi adalah ilmu yang mempelajari sel, organ dan jaringan tubuh secara mikroskopik. Histologi sangat diperlukan dalam mempelajari struktur jaringan normal suatu organ atau alat tubuh lain baik struktur anatomi maupun fisiologi. Hal ini sangat penting dalam mengenali suatu kondisi patologi

yang merupakan akibat suatu penyakit dan perubahan-perubahan seluler. Ilmu yang mempelajari kelainan patologi (abnormal) suatu jaringan disebut histopatologi (Panigoro *et al.*, 2007).

Histologi berarti suatu ilmu yang menguraikan struktur dari hewan secara terperinci dan hubungan antara struktur pengorganisasian sel dan jaringan serta fungsi-fungsi yang mereka lakukan. Jaringan merupakan sekumpulan sel yang tersimpan dalam suatu kerangka struktur atau matriks yang mempunyai suatu kesatuan organisasi yang mampu mempertahankan keutuhan dan penyesuaian terhadap lingkungan di luar batas dirinya. Sekumpulan jaringan akan membentuk organ yang memiliki fungsi di dalam tubuh organisme (Bavelander dan Ramaley, 1988).

Perubahan histologi lebih peka dan terjadi lebih awal. Hal itu memberikan penilaian baik dari kesehatan ikan maupun efek polusi pada masing-masing parameter biokimia. Perubahan histopatologi diintegrasikan dengan pengaruh dari berbagai macam sumber stress (patogen mikrobial, kandungan toksik, nutrisi dan kondisi lingkungan yang kurang baik) (Marchand *et al.*, 2009). Analisa histopatologi dapat digunakan untuk mengetahui gambaran kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ yang menjadi target utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, daging dan usus (Dutta, 1996). Tahapan analisis histologi pada ikan menurut Setyawan (2009) adalah sebagai berikut:

- 1) Pengambilan jaringan ikan. Pada sampel ikan yang masih kecil dapat langsung difiksasi tanpa dipotong. Pada ikan yang berukuran besar diambil jaringan tertentu yang akan diamati dan dimasukkan ke dalam larutan fiksasi.
- 2) Fiksasi. Larva atau ikan berukuran kecil difiksasi dengan larutan PFA 4% dalam medium *Phosphate buffered saline* (PBS). Sampel dimasukkan ke dalam botol yang sudah berisi larutan fiksatif dengan perbandingan antara sampel dengan larutan adalah 1 : 20. Kemudian disimpan selama 24 jam

dalam refrigerator. Setelah 24 jam kemudian sampel diambil dan dicuci dengan PBS selama 5 menit sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sisa-sisa PFA sebelum ke tahap selanjutnya. Ikan yang berukuran relatif besar difiksasi dengan larutan Bouin's selama 1 minggu dalam suhu kamar. Selanjutnya sampel dicuci dalam larutan alkohol 70% hingga warna kuning hilang, kemudian sampel disimpan dalam alkohol 70% hingga pemrosesan lebih lanjut. Sampel yang berukuran besar harus melalui prosedur dekalsifikasi dalam larutan 5% trichloroacetid acid selama 24 jam untuk melunakkan struktur tulangnya.

- 3) Dehidrasi. Sampel yang sudah difiksasi kemudian dimasukkan berturut-turut ke dalam larutan berikut: Alkohol 70%, Alkohol 80%, Alkohol 90%, Alkohol Absolut I, Alkohol Absolut II, masing-masing selama 45 menit, kemudian dilanjutkan ke proses penjernihan.
- 4) Penjernihan (*clearing*). Sampel dari proses dehidrasi dimasukkan ke dalam larutan alkohol : xylol 1 : 1 dan 1 : 3 selama 30 menit, kemudian Xylol I dan Xylol II masing-masing 30 menit.
- 5) Infiltrasi. Sampel yang sudah dijernihkan dalam xylol di infiltrasi secara bertahap dalam campuran xylol : paraffin 3 : 1 ; 1 : 1 dan 1 : 3 masing-masing selama 30 menit, dilanjutkan dengan paraffin murni sebanyak 2 x 60 menit. Seluruh rangkaian infiltrasi dilakukan dalam inkubator pada temperatur 58 – 60° C.
- 6) Penanaman sampel (*Embedding*). Parafin dicairkan di dalam inkubator pada temperatur 60°C. Cetakan berukuran 2 x 2 x 2 cm diisi dengan paraffin cair, bagian bawah cetakan didinginkan di atas balok es sehingga paraffin pada dasar cetakan agak memadat. Sampel diletakkan di atas paraffin yang agak memadat tersebut sesuai dengan orientasi irisan yang direncanakan, kemudian ditempelkan holder yang telah diberi label sesuai dengan kode

sampel. Cetakan paraffin selanjutnya dibiarkan dalam temperatur ruang agar paraffinnya memadat.

- 7) Pengirisan (*sectioning*) dan peletakan pada gelas obyek. *Water bath* disiapkan dengan suhu 40 – 50°C dan disiapkan wadah berisi air dingin. Kemudian bok yang sudah didinginkan dipasang di mikrotom yang sudah diatur pada ketebalan 4 – 7 μm . Putaran mikrotom dibuat konstan sampai blok yang berisi sampel jaringan teriris. Setelah itu irisan dipindahkan ke dalam baskom yang berisi air dingin, kemudian ditempelkan pada gelas obyek yang sudah dilapisi gelatin dan diberi kode sama dengan blok yang di iris. Selanjutnya dicelupkan ke dalam air hangat dalam *water bath* agar irisan mengembang. Kemudian ditiriskan untuk dilakukan pewarnaan.
- 8) Pewarnaan. Selanjutnya sampel dipindahkan dan direndam dalam haematoksilin selama 15 menit hingga tahap perendaman dalam eosin selama 2 – 5 menit.
- 9) Peletakan (*mounting*) merupakan proses perekatan gelas penutup dengan zat perekat supaya sediaan jaringan tidak rusak. Peletakkan ini dilaksanakan setelah proses diatas kemudian angkat contoh sediaan dan keringkan pada suhu kamar dan parafin dibersihkan. Setelah preparat kering, ditetesi dengan bahan perekat entelan. Penempelan gelas penutup diusahakan tidak ada gelembung udara. Selanjutnya jaringan siap diamati di mikroskop.
- 10) Pengamatan mikroskop. Pengamatan hasil untuk diagnosis dengan metode komparasi di bawah mikroskop cahaya pada pembesaran 100 – 1000 kali.

Hampir semua sel dan jaringan organ tidak memiliki warna. Sehingga dibutuhkan metode pewarnaan agar dapat mengamati strukturnya. Metode pewarnaan yang umum digunakan di dalam laboratorium histopatologi adalah dengan menggunakan metode pewarnaan HE yang terdiri dari zat warna utama hematomksilin dan eosin. Selain itu, preparat jaringan juga diberi pengawet.

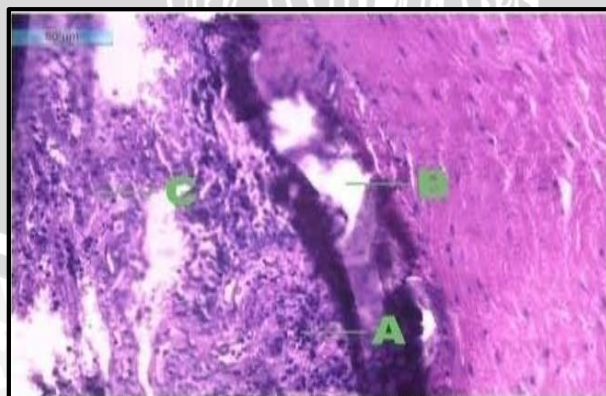
Pengawetan sampel dilakukan dengan menggunakan formalin 10%. Material diletakkan dalam rangkaian alkohol yang konsentrasinya meningkat. Lalu di-*clearing* menggunakan xylol. Sampel dimasukkan ke dalam paraffin. Dari paraffin blok lalu dipotong sampai ketebalan 0,6 μm dengan mikrotom. Potongan tersebut diwarnai dengan hematoksilin dan eosin. Irisan tipis kemudian diperiksa menggunakan mikroskop cahaya (Velcheva *et al.*, 2010).

2.3.1 Perubahan Histopatologi Ikan

Ikan hidup di lingkungan yang dinamis dan senantiasa melakukan kontak dengan patogen baik secara langsung maupun tidak langsung dan salah satunya adalah virus yang memiliki kemampuan untuk menginfeksi ikan. Virus merupakan agen infeksi yang hanya dapat melakukan multiplikasi dalam sel inang, baik inang definitif maupun inang antara. Infeksi virus dapat menimbulkan berbagai macam penyakit dan menyebabkan perubahan struktur sel maupun jaringan pada organ spesies yang terinfeksi. Infeksi virus tersebut akan merangsang pertahanan tubuh inang, misalnya terbentuknya antibodi (Smail and Munro, 1989).

Berdasarkan adaptasi terhadap masuknya patogen, tubuh ikan akan mengalami beberapa perubahan histopatologi. Perubahan tersebut dapat berupa:

1. Inflamasi

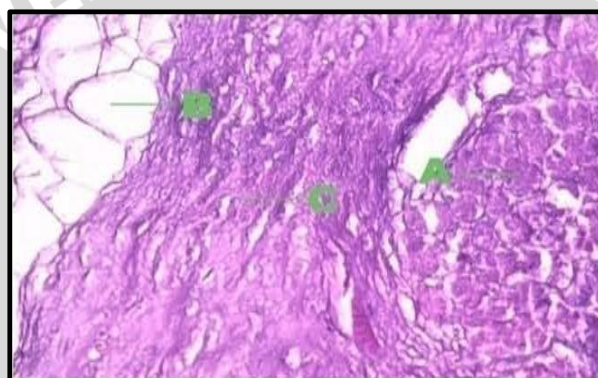


Gambar 4. Inflamasi (Haloi *et al.*, 2013).

Pada Gambar 4 dapat dilihat beberapa jenis kerusakan pada saluran pencernaan (usus), Gambar A menunjukkan adanya kerusakan sel yaitu inflamasi.

Kerusakan lainnya juga dapat dilihat pada gambar B dan C yaitu edema. 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) (Roberts, 2001). Penyebab inflamasi bisa disebabkan oleh virus, bakteri, parasit, trauma panas iradiasi dan bahan toksik. Sedangkan inflamasi hemoragik biasanya ditandai oleh kehadiran dari sejumlah besar eritrosit dan komponen-komponen darah lain pada permukaan organ atau di dalam eksudat (plumb, 1994).

2. Edema



Gambar 5. Edema (Haloi et al., 2013).

Kelainan usus edema pada usus dapat dilihat pada Gambar 5 yang ditandai dengan huruf B menunjukkan adanya akumulasi cairan pada bagian sub mukos usus. Terdapat juga kerusakan lainnya yang ditunjukkan dengan A dan C yaitu kerusakan sel serta pembentukan ruang kosong akibat kerusakan jaringan. Edema adalah suatu akumulasi cairan yang abnormal di dalam rongga-rongga tubuh atau di dalam ruang-ruang interstitial dari jaringan dan organ - organ yang dapat mengakibatkan kebengkakan dan biasanya mengindikasikan adanya suatu ketidakseimbangan tekanan hidrostatik atau kesalahan pada tekanan osmotik darah, peningkatan permeabilitas pembuluh kapiler (Hibiya and Fumio, 1995).

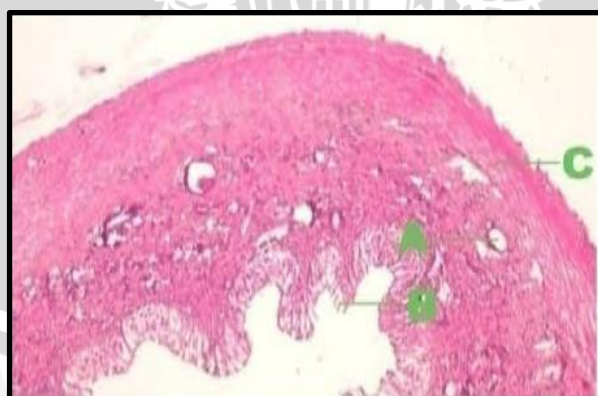
3. Kongesti dan Hemorage



Gambar 6. Hemorage (Haloi et al., 2013).

Kongesti adalah tanda-tanda awal sebelum terjadinya hemorage. Pada Gambar 6 yang ditandai dengan huruf B dapat dilihat kelainan pada usus yakni terjadinya kerusakan akibat kelimpahan pembuluh darah yang rusak berupa hemorage. Selain itu, juga terjadi kerusakan lainnya seperti A yaitu kerusakan jaringan pada bagian mikrofilid dan C yaitu kerusakan sel. Kongesti atau hiperemi adalah kelimpahan darah di dalam pembuluh darah pada bagian tertentu (Price dan Wilson, 2006), sedangkan hemoragi adalah suatu kondisi keluarnya darah akibat adanya kerusakan pada dinding vaskula (Smith dan Jones, 1961).

4. Atrofi, Hiperlasia dan Hipertropi

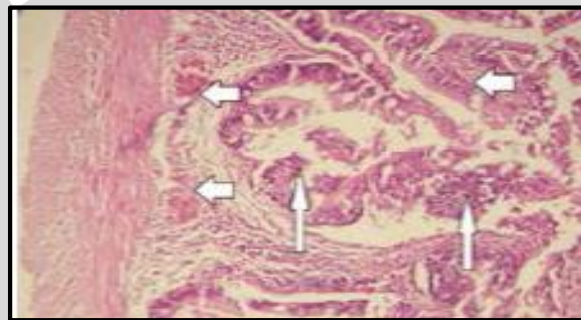


Gambar 7. Atrofi (Haloi et al., 2013).

Pada Gambar 7 yang ditandai dengan huruf C menunjukkan adanya penyempitan bagian jaringan organ akibat dari adanya gangguan pada perkembangan dan pertumbuhan yang disebut dengan atrofi. Terdapat juga jenis

kerusakan lainnya yaitu A yang disebut dengan vakuolisasi dan B yaitu bagian mikrofili mengalami kerusakan jaringan. Atrofi adalah berkurangnya ukuran dari suatu bagian tubuh akibat adanya pengurangan ukuran atau jumlah dari sel-sel yang ada, dan proses terjadinya biasanya kambat (Plumb, 1994). Hiperplasi merupakan penambahan dari suatu bagian tubuh karena adanya peningkatan dalam jumlah sel (Robert, 2001). Hipertropi adalah bertambahnya ukuran dari atau organ suatu bagian tubuh karena suatu peningkatan ukuran dari sel-sel individu, dan bisa diinisiasikan oleh agen infeksi (Plumb, 1994).

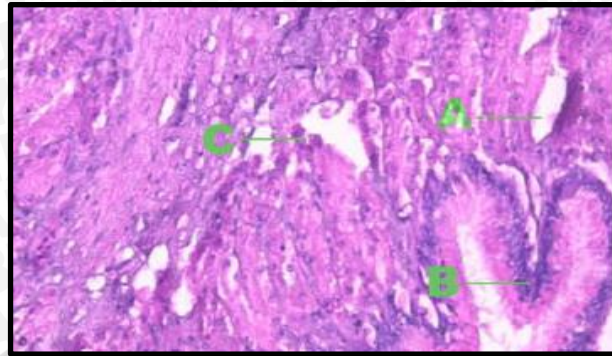
5. Degenerasi dan Nekrosis



Gambar 8. Degenerasi dan Nekrosis (ditunjukkan dengan panah panjang) (Gaber *et al.*, 2014).

Pada Gambar 8 terdapat dua panah, panah panjang menunjukkan adanya degenerasi dan panah pendek menunjukkan adanya nekrosis. Degenerasi dan nekrosis termasuk didalamnya ada degenerasi hialin, degenerasi lemak, degenerasi berbutir degenerasi dapat disebabkan oleh kekurangan material essensial maupun sumber energi yang dapat mengganggu metabolisme juga disebabkan oleh akumulasi substansi yang abnormal didalam sel-sel yang disebabkan oleh patogen seperti virus, bakteri dan parasit (Hibiya and Fumio, 1995). Menurut Plumb (1994), nekrosis adalah kematian sel-sel atau jaringan yang menyertai degenerasi sel pada setiap kehidupan hewan dan merupakan tahap akhir degenerasi yang irreversibel. Nekrosis dapat disebabkan oleh trauma, agen-agen biologis (virus, bakteri, jamur dan parasit) dan agen-agen kimia.

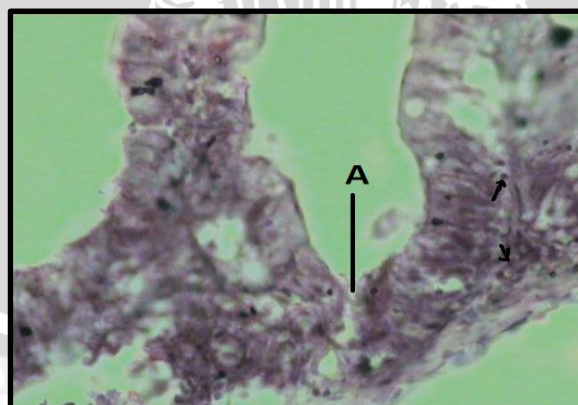
6. Vakuolisasi



Gambar 9. Vakuolisasi (Haloi *et al.*, 2013).

Vakuolisasi dapat dilihat pada Gambar 9 yang ditandai dengan huruf A, penampakkannya terlihat pada bentuk inti yang tampak membesar dan bergelembung, serta khromatinnya jarang dan tidak eosinofil (kemerahan). Pada gambar juga dapat dilihat kerusakan lainnya berupa B terjadinya kongesti dan C menunjukkan adanya kerusakan jaringan. Vakuolisasi inti disebabkan oleh perubahan keseimbangan cairan dalam sel akibat bertambahnya cairan. Otak yang mengalami gangguan ini, biasanya akan bertambah berat, membengkak dan menjadi lunak (Mitchell *et al.*, 2006).

7. Infiltrasi

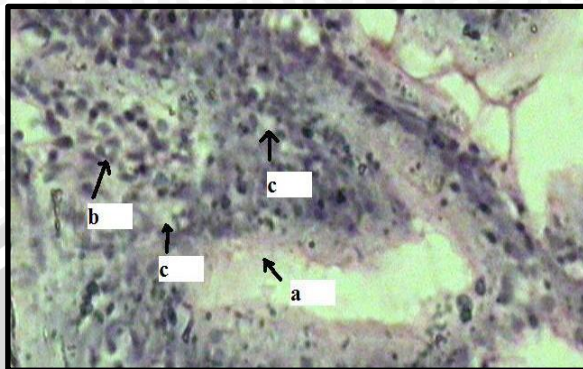


Gambar 10. Infiltrasi (Das, 2013).

Salah satu perubahan degeneratif yang terjadi di usus adalah infiltrasi yang ditunjukkan pada Gambar 9 (A) infiltrasi adalah suatu perubahan degeneratif yang menyebabkan kerusakan pada sel limfosit ke lapisan lamina propia dan sub

mukosa. Perubahan yang terjadi ditandai dengan adanya inflamasi kerusakan jaringan pada usus yang disebabkan oleh virus, parasit dan bakteri (Das, 2013).

8. Ulserasi



Gambar 11. Ulserasi (Das, 2013)

Pada Gambar 11 bagian a yang menunjukkan adanya ulserasi atau penebalan pada dinding usus. ulserasi pada sub mukosa terjadi bersamaan dengan vakuolalisasi yang menunjukkan inflamasi sel menjadi lebih tebal pada dinding usus bersamaan dengan munculnya beberapa vakuolalisasi. Selain itu juga terlihat jenis kerusakan lainnya yaitu b terjadinya kongesti (penyumbatan pembuluh darah) dan C yang menunjukkan tanda-tanda awal terjadinya ruang kosong (vakuolisasi). Ulserasi dapat disebabkan oleh penyebaran penyakit dari bakteri, virus dan juga parasit. Ulserasi merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan adanya ulkus dan berhubungan dengan kondisi usus yang meradang akibat adanya inflamasi. Hal ini dapat menyebabkan aktivasi abnormal dari sistem kekebalan tubuh di dalam usus. Apabila dalam kondisi yang berat dapat kehilangan darah akibat dari peradangan sehingga dapat menimbulkan kerusakan jaringan organ lainnya (Das, 2013).

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara in vitro. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Karry

Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Dengan diketemukannya teknik PCR di samping juga teknik-teknik lain seperti sekuensing DNA, telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya di bidang diagnosa penyakit genetik, kedokteran forensik dan evolusi molekular (Handoyo, 2001).

Proses PCR melibatkan beberapa tahap yaitu: (1) pra-denaturasi DNA templat; (2) denaturasi DNA templat; (3) penempelan primer pada templat (*annealing*); (4) pemanjangan primer (*extension*) dan (5) pemantapan (*post-extension*). Tahap (2) sampai dengan (4) merupakan tahapan berulang (siklus), dimana pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah DNA (Handoyo, 2001).

PCR adalah suatu teknik yang melibatkan beberapa tahap yang berulang (siklus) dan pada setiap siklus terjadi duplikasi jumlah target DNA untai ganda. Untai ganda DNA templat (*unamplified DNA*) dipisahkan dengan denaturasi termal dan kemudian didinginkan hingga mencapai suatu suhu tertentu untuk memberi waktu pada primer menempel (*anneal primers*) pada daerah tertentu dari target DNA. Polimerase DNA digunakan untuk memperpanjang primer (*extend primers*) dengan adanya dNTPs (dATP, dCTP, dGTP dan dTTP) dan buffer yang sesuai. Umumnya keadaan ini dilakukan antara 20 – 40 siklus. Target DNA yang diinginkan (*short "target" product*) akan meningkat secara konvensional setelah siklus keempat dan DNA non-target (*long product*) akan meningkat secara linier seperti tampak pada bagian di atas (Newton and Graham, 1994).

2.5 Saluran Pencernaan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Ikan nila tergolong ikan omnivora cenderung herbivora yang dapat diketahui dari hasil analisis makanan dalam lambung yang terdiri dari fitoplankton, zooplankton dan sereshah. Fitoplankton didominasi oleh kelompok *Chlorophyceae*, *Myxophyceae* dan *Desmid*. Sedangkan zooplankton didominasi oleh *Rotifera*,

Crustacea dan *Protozoa* (Satia, 2009). Makanan utama ikan nila baik jantan maupun betina adalah kelompok *Chlorophyceae* (*Mougeotia Zygeuma*, *Stichoccus*, *Oedogonium*, *Spyrogyra*, *Ulothrix*, *Mesotanium*, *Closterium*, *Pediastrum*, *Scenedesmus*, *Oocytis*, *Ankistrodesmus*, *Characium*), *Myxophyceae* (*Merismopedia*, *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Polycistis*), *Crustacea* (*Daphnia*), *Rotifera* (*Branchionus*), *Desmid* (*Desmidium*, *Penium*) dan seresah (Satia, 2009). Seluruh makanan yang dikonsumsi oleh ikan nila pada akhirnya akan melalui usus. Didalam saluran pencernaan inilah terjadi proses penyerapan sari-sari makanan yang nantinya juga akan berpengaruh pada kekebalan tubuh ikan. Kualitas makanan yang sehat akan memperkuat sistem kekebalan tubuh ikan dan begitu juga sebaliknya.

Virus membutuhkan jaringan hidup untuk tumbuh dan berkembang. Oleh karena itu, virus akan menyerang jaringan ikan, berkembang biak dalam tubuh atau sel sehingga menimbulkan kerusakan atau penyakit. Penyakit yang disebabkan oleh virus sering memperlihatkan tanda-tanda seperti serangan bakteri. Dengan demikian, cara penanganannya sering dilakukan hampir sama seperti penyakit bakterial. Beberapa jenis virus diketahui dapat menyerang ikan-ikan peliharaan dan menimbulkan permasalahan serius (Effendi, 2003). Virus juga dapat berkembang di dalam saluran pencernaan baik dari bawaan induk ataupun berasal dari makanan yang dikonsumsi ikan nila dan mengandung virus. Sehingga apabila sistem kekebalan tubuh ikan tidak bagus maka pertumbuhan virus di dalam saluran pencernaan akan semakin cepat.

Serangan pada organ bagian dalam dapat diketahui apabila perut ikan membesar, kadang disertai sisik yang berdiri. Sering juga mengakibatkan perut ikan mengecil disertai kotorannya berdarah, apabila terjadi radang usus. Serangan pada gelembung renang dapat menyebabkan keseimbangan ikan tertangu. Gerakan berenangannya menjadi tidak terarah karena kadang mengarah ke atas, ke

bawah atau tidak beraturan (Effendi, 2003). Lambung ikan nila merupakan salah satu organ yang rentan terinfeksi oleh virus terutama virus yang menyebar melalui vertikal (bawaan dari induk) dan horizontal (penularan dari lingkungan).

Usus merupakan salah satu bagian sistem pencernaan yang memiliki peranan penting dalam penyerapan sari-sari makanan. Menurut Hoole *et al.*, (2001), usus adalah organ yang mudah terinfeksi oleh agen penyakit. Sebagai gambaran, patogen masuk melalui oral ke dalam usus sehingga bisa menyebabkan infeksi. Apabila terjadi infeksi maka akan timbul peradangan dan degenerasi. Pada kasus degenerasi usus yang berat, fungsi usus akan terhenti dan ikan akan mati.

2.6 Kualitas Air

Menurut Khairuman dan Amin (2008) dalam Elyana (2011), air merupakan media atau habitat yang paling vital bagi kehidupan ikan. Ikan nila memiliki toleransi yang tinggi terhadap lingkungan hidupnya, sehingga bisa dipelihara di dataran rendah yang berair payau hingga dataran tinggi yang berair tawar. Habitat hidup ikan ini cukup beragam, bisa hidup di sungai, danau, waduk, rawa, sawah, kolam atau tambak. Namun, ikan nila juga memiliki kriteria kualitas air yang baik untuk kehidupannya yang terdiri dari parameter fisika dan parameter kimia. Parameter fisika terdiri atas suhu dan kecerahan, parameter kimia meliputi pH, amonia, karbondioksida, oksigen terlarut, COD dan BOD₅.

2.6.1 Suhu

Suhu merupakan faktor pembatas utama habitat perairan karena jasad-jasad akuatik seringkali kurang dapat mentolerir perubahan suhu. Selain itu suhu akan menghasilkan sirkulasi dan stratifikasi air yang sangat berpengaruh terhadap kehidupan akuatik. Menurut Kristanto (2002), naiknya suhu air akan menimbulkan akibat sebagai berikut:

- Menurunnya oksigen terlarut dalam air
- Meningkatkan kecepatan reaksi kimia
- Mengganggu kehidupan ikan dan hewan lainnya
- Jika batas suhu terlampaui, ikan dan hewan lainnya mungkin akan mati.

Kebutuhan oksigen ikan terdiri dari dua aspek yaitu, kebutuhan lingkungan untuk spesies tertentu dan kebutuhan konsumtif yang sangat dipengaruhi keadaan metabolisme ikan (Zonneveld *et al.*, 1991). Menurut Peer and Kuthy (1981) dalam Green and Teichert-coddington (1993), menerangkan bahwa dibawah nilai ambang kelarutan oksigen, ikan nila akan menghemat energi dengan jalan mengurangi aktivitas.

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dapat tumbuh secara normal pada kisaran suhu 14 – 38° C. Pertumbuhan nila biasanya akan terganggu jika suhu habitatnya lebih rendah dari 14° C atau pada suhu di atas 38° C. Nila akan mengalami kematian jika suhu habitatnya 6° C atau 42° C (Elyana, 2011). Pendapat lain yaitu menurut Kordi dan Tancung (2007), menyatakan bahwa kisaran suhu yang optimal bagi kehidupan ikan adalah 28°C – 32°C.

2.6.2 Kecerahan

Kecerahan memiliki hubungan yang sangat erat dengan kekeruhan (turbiditas). Turbiditas (kekeruhan) merupakan kandungan bahan organik maupun anorganik yang terdapat di perairan sehingga mempengaruhi proses kehidupan organisme yang ada di perairan tersebut. Turbiditas sering disebut engan kekeruhan, apabila di dalam air media terjadi kekeruhan yang tinggi maka kandungan oksigen akan menurun, hal ini disebabkan intensitas cahaya matahari yang masuk ke dalam perairan sangat terbatas sehingga tumbuhan/fitoplankton tidak dapat melakukan proses fotosintesis untuk menghasilkan oksigen (Santoso, 2008). Kandungan lumpur yang terlalu pekat didalam air akan mengganggu

penglihatan ikan dalam air sehingga menjadi salah satu sebab kurangnya nafsu makan ikan. Selain itu benih yang masih berukuran sangat kecil akan terganggu pernapasannya karena lumpur ikut terpisah air dan tersangkut dalam insang (Kordi dan Tancung, 2007).

Kekeruhan yang baik adalah kekeruhan yang disebabkan oleh jasad-jasad renik atau plankton. Adapun tingkat kecerahan yang baik untuk kehidupan ikan adalah 30 – 40 cm yang diukur dengan menggunakan secchi disk. Apabila kedalaman kurang dari 25 cm, maka pergantian air harus cepat dilakukan sebelum fitoplankton mati berurutan yang diikuti penurunan oksigen terlarut secara drastis (Kordi dan Tancung, 2007).

2.6.3 pH

Nilai pH menggambarkan intensitas keasaman dan kebasaan suatu perairan yang ditunjukkan oleh keberadaan ion hidrogen. Sebagian besar biota akuatik sensitif terhadap adanya perubahan pH dan menyukai nilai pH sekitar 7 – 8,5. Nilai pH juga sangat mempengaruhi proses biokimiawi perairan, seperti nitrifikasi dan mempengaruhi toksisitas suatu senyawa kimia (Effendi, 2013). Pengaruh pH perairan dapat terjadi pada kelangsungan hidup dan pertumbuhan ikan. Tinggi rendahnya pH di luar kisaran toleransi ikan menyebabkan rendahnya bobot akhir dan pada nilai pH ekstrim bisa mengganggu ikan (Hepher dan Pruginin, 1981).

Pemeliharaan kolam budidaya pada pH 5 masih dapat ditolerir oleh ikan tapi pertumbuhan ikan akan terhambat. Namun ikan dapat mengalami pertumbuhan optimal pada pH 6,5 – 9,0. Sedangkan menurut Asmawi (1983), bahwa derajat keasaman yang masih dapat ditolerir ikan air tawar adalah 4,0.

Keadaan pH yang dapat mengganggu kehidupan ikan adalah pH yang terlalu rendah (sangat asam) atau sebaliknya terlalu tinggi (sangat basa). Setiap

jenis ikan akan memperlihatkan respon yang berbeda terhadap perubahan pH dan dampak yang ditimbulkannya pun berbeda. Ikan nila dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada lingkungan perairan dengan alkalinitas rendah atau netral. Pada lingkungan dengan pH rendah pertumbuhannya mengalami penurunan namun demikian ikan nila masih dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 5 – 10 (Dede *et al.*, 2001)

2.6.4 Amonia

Dalam ekosistem perairan senyawa ammonia dioksidasi menjadi nitrit, terutama oleh bakteri *Nitrosomonas* (Wetzel, 1983). Menurut Boyd (1990), menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ammonia dalam perairan akan menurunkan ekskresi ammonia oleh hewan akuatik. Akibatnya, tingkat ammonia dalam darah dan jaringan lain akan mengalami peningkatan. Hal ini akan mengakibatkan perubahan pH darah dan akan mempengaruhi reaksi enzimatik serta stabilitas membran pada hewan.

Efek lethal dari NH_3 adalah terjadinya penyempitan permukaan insang yang akan mengakibatkan kecepatan proses pertukaran gas dalam insang menjadi menurun. Selain itu, efek lethal ammonia juga bisa menyebabkan penurunan jumlah sel darah, penurunan kadar oksigen dalam darah, mengurangi ketahanan fisik dan daya tahan terhadap penyakit serta mengakibatkan kerusakan struktural berbagai jenis organ (Sutomo, 1989).

2.6.5 Karbondioksida (CO_2)

Karbondioksida merupakan gas yang sangat diperlukan dalam proses fotosintesis (proses penggabungan CO_2 dan H_2O secara biokimia dengan bantuan sinar matahari) sebagai energi oleh tumbuh-tumbuhan berklorofil untuk membentuk hidrat arang, di udara sangat sedikit jumlahnya kurang lebih 0,333% dan di dalam air melimpah mencapai 12 mg/L. sumber CO_2 dalam air adalah difusi

dari udara, proses dekomposisi bahan organik, air hujan dan air bah tanah maupun hasil respirasi organisme (Arfiati, 2001).

2.6.6 Oksigen Terlarut (DO)

Oksigen terlarut merupakan faktor terpenting dalam menentukan kehidupan ikan, pernapasan akan terganggu bila oksigen kurang dalam perairan. Menurut Kordi dan Tancung (2007), bahwa beberapa jenis ikan mampu bertahan hidup pada perairan dengan konsentrasi oksigen 3 ppm, namun konsentrasi oksigen terlarut yang baik untuk hidup ikan adalah 5 ppm. Pada perairan dengan konsentrasi oksigen dibawah 4 ppm, beberapa jenis ikan masih mampu bertahan hidup, akan tetapi nafsu makannya mulai menurun. Untuk itu, konsentrasi oksigen yang baik dalam budidaya perairan adalah antara 5 ppm – 7 ppm (Mas'ud, 2014).

Menurut, peningkatan suhu sebesar 1°C akan meningkatkan konsumsi oksigen sekitar 10%. Dekomposisi bahan organik dan oksidasi bahan anorganik dapat mengurangi kadar oksigen terlarut hingga mencapai nol. Semakin tinggi suhu, kelarutan oksigen semakin berkurang. Kelarutan oksigen dan gas-gas lain juga berkurang dengan meningkatnya salinitas. Di perairan tawar, kadar oksigen terlarut berkisar antara 15 mg/l dan di perairan umum berkisar antara 11 mg/l (Brown, 1987 dalam Effendi, 2003).

Sumber oksigen terlarut dapat berasal dari difusi oksigen yang terdapat di atmosfer. Difusi oksigen dari atmosfer ke dalam air dapat terjadi secara langsung pada kondisi air diam (stagnant). Namun pada hakikatnya difusi oksigen dari atmosfer ke perairan berlangsung relatif lambat, meskipun terjadi pergolakan masa air (Effendi, 2003).

2.6.7 Nitrat (NO_3)

Nitrat (NO_3) adalah bentuk utama nitrogen di perairan alami dan merupakan nutrisi utama bagi pertumbuhan tanaman dan alga. Nitrat nitrogen sangat mudah larut dalam air dan bersifat stabil. Senyawa ini dihasilkan dari

proses oksidasi sempurna senyawa nitrogen di perairan. nitrat dan amonium adalah sumber utama nitrogen di perairan. Kadar nitrat-nitrogen pada perairan alami hampir tidak pernah lebih dari 0,1 mg/liter. Kadar nitrat lebih dari 5 mg/liter menggambarkan terjadinya pencemaran antropogenik yang berasal dari aktivitas manusia dan kotoran hewan. Kadar nitrat-nitrogen yang lebih dari 0,2 mg/liter dapat mengakibatkan terjadinya eutrofikasi. Nitrat tidak bersifat toksik terhadap organisme akuatik (Effendi, 2003). Keberadaan nitrogen di perairan dapat berupa nitrogen anorganik dan organik. Nitrogen anorganik salah satunya adalah nitrat atau ion nitrat (NO_3^-), sedangkan nitrogen organik berupa protein, asam amino dan urea akan mengendap dalam perairan (Rudhiyufa, 2011).

Nitrat dihasilkan dari adanya konsentrasi amonia nitrogen yang tinggi pada perairan yang secara aerobik diubah menjadi dua bentuk yaitu nitrit dan nitrat. Penggunaan pupuk yang tinggi pada daerah pertanian akan meningkatkan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor dalam air melalui proses pencucian nutrisi (*leaching*). Nitrat, dalam jumlah yang banyak pada air minum dapat menyebabkan penyakit yang dikenal sebagai methemoglobinemia. Nitrat diukur dengan satuan mg/L dan diuji menggunakan bahan-bahan kimia (Ramachandra dan Solanki, 2007).

2.6.8 Orthofosfat (PO_4)

Menurut Effendi (2003) fosfat merupakan unsur yang esensial bagi tumbuhan dan alga akuatik serta sangat mempengaruhi tingkat produktivitas perairan. Dini (2011) menambahkan bahwa fosfat terjadi secara alami dalam batuan dan deposit mineral lainnya. Selama proses alami pelapukan, batuan secara bertahap mengurai sebagian ion fosfat yang larut dalam air. Fosfat memiliki tiga bentuk yaitu orthofosfat, metaphosfat (atau polifosfat) dan fosfat organik terikat. Bentuk orthofosfat diproduksi oleh proses alam dan ditemukan di limbah, sedangkan bentuk polifosfat digunakan dalam deterjen.

Pada perairan, bentuk poliphospat akan berubah menjadi bentuk ortophospat. Selain itu fosfat berasal dari kotoran manusia dan hewan, limbah industri, dan limpasan pupuk.

Fosfor terdapat diperairan alami dan pada perairan limbah yang serupa dengan fosfat yang mana diklasifikasikan sebagai orthofosfat. Larut dalam air, pada partikel, detritus atau dalam tubuh organisme air. Orthofosfat adalah salah satu bentuk dari fosfat yang secara langsung dimanfaatkan oleh alga. Fosfor adalah senyawa esensial untuk pertumbuhan organisme dan dapat menjadi faktor pembatas bagi produktivitas primer diperairan. Fosfat diukur dengan satuan mg/L dengan menggunakan metode standart didalam laboratorium (Ramachandra dan solanki, 2007).

2.6.9 Biological Oxygen Demand (BOD₅)

Biological Oxygen Demand (BOD₅) adalah banyaknya oksigen dalam ppm atau miligram/liter (mg/l) yang diperlukan untuk menguraikan benda organik oleh bakteri, sehingga limbah tersebut menjadi jernih kembali (Sugiharto, 1987). *Biological Oxygen Demand* atau kebutuhan oksigen biologi adalah jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme di dalam air lingkungan untuk memecah (mendegradasi) bahan buangan organik yang ada di dalam lingkungan air tersebut (Wardhana, 2007).

Menurut Alaerts dan Santika (1984) BOD (*Biological Oxygen Demand*) didefinisikan sebagai banyaknya oksigen yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk memecahkan bahan-bahan organik yang terdapat di dalam air. Pemeriksaan BOD diperlukan untuk menentukan beban pencemaran akibat air buangan penduduk atau industri, dan untuk mendesain sistem pengolahan biologis bagi air yang tercemar tersebut. Pemecahan bahan organik diartikan bahwa bahan organik ini digunakan oleh organisme sebagai bahan makanan dan energinya diperoleh dari proses oksidasi.

Berkurangnya oksigen selama oksidasi ini sebenarnya selain digunakan untuk oksidasi bahan organik juga digunakan dalam proses sintesa sel serta oksidasi sel dari mikroorganisme. Oleh karena itu uji BOD ini tidak dapat digunakan untuk mengukur jumlah bahan-bahan organik yang sebenarnya terdapat di dalam air, tetapi hanya mengukur secara relatif jumlah konsumsi. Pada suasana alkalis (pH tinggi) lebih banyak ditemukan amonia yang tidak terionisasi dan bersifat toksik (Effendi, 2003).

2.6.10 Chemical Oxygen Demand (COD)

Chemical Oxygen Demand atau kebutuhan oksigen kimia adalah salah satu reaksi penting yang terjadi didalam perairan yakni jumlah oksigen yang diperlukan agar bahan buangan yang ada di dalam air dapat teroksidasi melalui reaksi kimia. Nilai COD mencakup kebutuhan oksigen untuk reaksi biokimiawi, karena senyawa yang dapat dirombak oleh mikroorganisme dapat pula mengalami oksidasi lewat reaksi kimiawi (Effendi, 2003).

Pada prinsipnya pengukuran COD adalah penambahan sejumlah kalium bikromat ($K_2Cr_2O_7$) sebagai oksidator pada sampel (dengan volume diketahui) yang telah ditambahkan asam pekat dan katalis perak sulfat, kemudian dipanaskan selama beberapa waktu. Selanjutnya, kelebihan kalium bikromat ditera dengan cara titrasi. Dengan demikian kalium bikromat yang terpakai untuk oksidasi bahan organik dalam sampel dapat dihitung dan nilai COD dapat ditentukan. Kelemahannya, senyawa kompleks anorganik yang ada di perairan yang dapat teroksidasi juga ikut dalam reaksi (De Santo, 1978).

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

Materi pada penelitian ini adalah saluran pencernaan ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dan kualitas air yang akan dianalisis meliputi parameter fisika, parameter kimia dan parameter biologi. Parameter fisika meliputi suhu dan kecerahan, parameter kimia meliputi pH, *Dissolved Oxygen* (DO), karbondioksida (CO_2), amonia (NH_3), nitrat (NO_3), fosfat (PO_4), *Biological Oxygen Demand* (BOD_5) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Pada pengujian kualitas air kolam pemeliharaan ikan nila terdiri dari parameter fisika dan kimia yang meliputi suhu, kecerahan, pH, DO, CO_2 , Amonia, nitrat, fosfat, BOD_5 dan COD. Sedangkan pengujian sampel organ usus ikan nila adalah dengan menggunakan PCR yang selanjutnya preparat jaringan usus ikan nila akan diamati histopatologinya dengan menggunakan mikroskop. Alat dan Bahan yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

3.3 Metode Penelitian

Metode pengambilan data yang digunakan pada penelitian ini adalah metode deskriptif. Menurut Natzir (2009), metode deskriptif adalah suatu metode dalam meneliti suatu objek pada masa sekarang dengan membuat gambaran secara sistematis, faktual dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat serta hubungan antar fenomena yang diselidiki.

Dalam penelitian ini, diamati saluran pencernaan ikan nila yang berada pada kolam pemeliharaan tradisional di Kabupaten Blitar. Sampel ikan nila diambil dan diuji di laboratorium untuk mengetahui infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN)

yang terdapat pada ikan nila. Analisa dilakukan dengan analisa PCR. Sampel yang digunakan sebelumnya telah dianalisa morfologi untuk mengetahui tingkat infeksi pada ikan nila. Untuk melengkapi informasi kondisi lingkungan dilakukan analisa kualitas air pada saat sampling baik dari parameter fisika (suhu, kecerahan), parameter kimia (pH, ammonia, karbondioksida, oksigen terlarut, COD dan BOD₅).

3.3.1 Data Primer

Data primer adalah data yang langsung dikumpulkan oleh peneliti dari sumber yang dicatat untuk pertama kalinya (Yitnosumarto, 1992). Data primer dapat diperoleh dengan:

- a. Observasi yaitu pengamatan dan pencacatan secara sistematis terhadap gejala yang diselidiki (Surakhmad, 1995). Dalam hal ini secara langsung mengenai kualitas air dan kondisi saluran pencernaan (usus) ikan nila yang terinfeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) yang dilanjutkan dengan pengamatan histopatologi usus ikan nila.
- b. Wawancara yaitu interview yang merupakan cara pengumpulan data dengan jalan tanya jawab dengan beberapa pihak terkait yang dikerjakan secara sistematis dan berlandaskan pada tujuan penelitian. Dalam hal ini meliputi keadaan umum lokasi.
- c. Dokumentasi yaitu teknik pengumpulan data dengan cara mengumpulkan gambar dengan menggunakan kamera. Teknik ini berguna untuk memperkuat data-data yang telah diambil dengan menggunakan teknik pengambilan data sebelumnya. Pada penelitian ini dilakukan dengan mengambil gambar atau dokumentasi tentang kondisi kolam pemeliharaan ikan nila di Blitar dan pengamatan histopatologi kondisi saluran pencernaan serta hasil analisis kualitas air saat uji di laboratorium

3.3.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang telah lebih dahulu dikumpulkan dan dilaporkan oleh orang luar dari penyelidik sendiri, walaupun yang dikumpulkan itu sesungguhnya adalah data yang asli (Surakhmad, 1995). Data sekunder dalam penelitian ini meliputi data keadaan umum lokasi penelitian.

3.4 Pengambilan Sampel

Populasi sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah ikan nila yang ada di kolam pemeliharaan ikan nila milik warga Desa Krakal Kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar. Sampel ikan yang diduga terinfeksi VNN diperoleh dari pembudidaya tradisional di Kabupaten Blitar. Ikan yang diduga terinfeksi VNN atau menunjukkan gejala klinis spesifik terhadap VNN yaitu tubuh berwarna kehitaman, gerakan renang tidak beraturan, mata menonjol keluar, dan apabila sudah mati mengambang (gelembung renang membesar).

Sampel ikan nila yang terinfeksi VNN dari hasil pemeriksaan PCR, kemudian diamati perubahan secara makroskopis pada masing-masing organ. Pengamatan patologi anatomi didasarkan pada perubahan bentuk, ukuran dan warna organ-organ tersebut. Pemeriksaan histopatologi dilakukan untuk mengamati perubahan jaringan secara mikroskopis. Adapun prosedur pembuatan preparat histopatologi melalui 4 tahapan, yaitu fiksasi atau pengawetan jaringan, perlakuan jaringan, pemotongan jaringan dan pewarnaan jaringan.

Sampel organ pertama-tama dipotong dengan ukuran kira-kira 0,5 x 0,5 cm, lalu dilakukan fiksasi dengan menggunakan larutan Netral Buffer Formalin (NBF) 10% selama 24 jam. Sampel kemudian melewati proses pembuatan sediaan histopatologi (*dehidrasi, clearing, impregnasi*) di dalam alat *automatic tissue processor* dan dilanjutkan dengan proses *embedding* yaitu pembuatan blok

jaringan, pemotongan jaringan dengan *microtome* dan pewarnaan menggunakan hematoxylin-eosin (HE). Sediaan histopatologi kemudian dapat diamati dibawah mikroskop.

3.5 Analisa *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Sampel benih ikan nila yang di duga terinfeksi VNN akan di uji organ pencernaanya yaitu usus dengan menggunakan metode PCR. Deteksi dengan menggunakan PCR terdiri dari beberapa tahapan yaitu ekstraksi RNA, amplifikasi (*Reverse Transcriptase-Nested PCR*) dan elektroforesis. Alat dan bahan serta metode PCR dalam penelitian ini dapat dilihat dalam **lampiran 3**.

3.6 Analisis Kualitas Air

Pada pengambilan kualitas air di salah satu kolam tradisional pemeliharaan ikan nila dilakukan dengan menggunakan botol berukuran sekitar 600 ml yang sebelumnya telah dikalibrasi. Setelah itu sampel disimpan dalam *coolbox* yang berisi es. Sampel kemudian dibawa ke laboratorium untuk pengujian.

3.6.1 Suhu

Suhu merupakan salah satu parameter perairan yang sering diukur. Suhu air mempengaruhi sifat-sifat fisika, kimia perairan, maupun fisiologi ikan. Setiap organisme mempunyai suhu minimum, optimum dan maksimum untuk kehidupannya (Bloom, 1988). Menurut SNI (1990), adapun cara 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 °C

- Membaca skala pada dengan cara mengangkat termometer dan dibaca secara cepat angka pada skala termometer.

3.6.2 Kecerahan

Kemampuan cahaya matahari untuk menembus sampai ke dasar perairan dipengaruhi oleh kekeruhan (*turbidity*) air. Kekeruhan air sangat berpengaruh pada pertumbuhan biota budidaya. Kekeruhan dapat disebabkan zat-zat yang tersuspensi, seperti lumpur, senyawa organik dan anorganik serta plankton dan organisme mikroskopik lainnya (Kordi, 2005).

Menurut Bloom (1988), adapun pengukuran kecerahan adalah sebagai berikut:

- Memasukkan *secchi disk* secara perlahan-lahan ke dalam air hingga batas kelihatan dan dicatat kedalamannya (D1).
- Menurunkan *secchi disk* hingga tidak kelihatan, kemudian pelan-pelan ditarik lagi hingga batas nampak pertama kali dan dicatat hasil kedalamannya (D2).
- Memasukkan data ke dalam rumus berikut:

$$\text{Kecerahan (cm)} = \frac{D1+D2}{2}$$

3.6.3 pH

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

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

3.6.4 Ammonia

Menurut SNI (2004) prosedur pengukuran kadar amonia air dapat dilakukan dengan cara 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 .

3.6.5 Karbondioksida (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_2 bebas.
- Bila air tetap tidak berwarna, segera dititrasi dengan Na_2CO_3 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_2CO_3 untuk titrasi
 N : Normalitas larutan Na_2CO_3

3.6.6 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 :

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

Keterangan :

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

3.6.7 Nitrat (NO_3)

Menurut APHA (1992), prosedur analisis nitrat (NO_3) pada perairan di lokasi penelitian adalah sebagai berikut:

- Menyaring 25 ml sampel dan tuangkan ke dalam cawan porselin.
- Memanaskan cawan berisi sampel sampai kering dengan hati - hati dan didinginkan setelah terbentuk kerak.

- Menambahkan 1 ml asam fenol disulfonik, aduk dengan spatula.
- Mengencerkan dengan 10 ml aquadest.
- Menambahkan dengan meneteskan NH_4OH (1:1) sampai terbentuk warna.
- Mengencerkan dengan aquadest sampai 25 ml. Kemudian masukkan dalam cuvet.
- Membandingkan dengan larutan standar pembanding yang telah dibuat, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (pada panjang gelombang 410 μm).

3.6.8 Orthofosfat (PO_4)

Menurut Hariyadi *et al.*, (1992), prosedur pengukuran orthofosfat adalah sebagai berikut :

- Menuangkan 12,5 ml air sampel ke dalam erlenmeyer 25 ml
- Menambahkan 0,5 ml ammonium molybdate dan kocok
- Menambahkan 1 tetes larutan SnCl_2 dan kocok
- Membandingkan warna biru sampel dengan larutan standar, baik secara visual atau dengan spektrofotometer (panjang gelombang 690 μm)

3.6.9 Biological Oxygen Demand (BOD_5)

Menurut SNI (2004) prosedur pengukuran *Biological Oxygen Demand* (BOD_5) adalah sebagai berikut :

- Menyimpan sampel air ke dalam inkubator dengan suhu 20°C selama 5 hari untuk sampel DO_5 inlet dan DO_5 outlet
- Mengukur DO dengan langkah sebagai berikut:
 - Membuka tutup botol winkler
 - Menambahkan 2 ml MnSO_4 dan pipet harus terendam dibawah permukaan air
 - Memasukkan 2 ml larutan alkali-iodida-azida
 - Menutup botol winkler

- Menghomogenkan larutan dengan cara membolak – balikkan botol winkler
- Membiarkan larutan mengendap sampai endapan tersebut memenuhi setengah botol
- Menambahkan 2 ml larutan H_2SO_4 pekat
- Menutup dan menghomogenkan larutan dengan cara membolak –balikkan botol winkler
- Mengambil 200 ml air sampel dan dipindahkan ke labu erlenmeyer
- Mentitrasi sampel dengan 0,025 N larutan Na-Thiosulfat sampai didapatkan warna kuning muda
- Menambahkan amilum 1-2 tetes hingga warna berubah menjadi biru
- Mentitrasi sampel dengan 0,025 N larutan Na-Thiosulfat sampai warna biru hilang (tidak berwarna)
- Menghitung nilai DO dengan rumus :

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

- Menghitung nilai BOD dengan menggunakan rumus :
 - $BOD \text{ inlet} = DO_0 \text{ inlet} - DO_5 \text{ inlet}$
 - $BOD \text{ outlet} = DO_0 \text{ inlet} - DO_5 \text{ inlet}$

3.6.8 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 .

3.7 Preparasi dan Proses Pembuatan Irisan Jaringan Usus Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*)

Prosedur pembuatan preparat histopatologi menggunakan metode standar Luna (1960) dan Bancroft dan Steven (1982) sebagai berikut:

- 1) Ikan dibedah dan diambil bagian usus, diawetkan dengan formalin 4% selama 24 jam
- 2) Fiksasi, memindahkan usus ke dalam larutan Paraformaldehida (PFA) selama 24 jam.
- 3) Dehidrasi, dilakukan secara bertingkat dengan alkohol 70%, 80%, 90%, 95% serta alkohol masing-masing 1 jam.
- 4) *Clearing*, dilakukan selama 1 jam yaitu dimasukkan ke dalam xylol:paraffin cair dengan perbandingan 1:1 selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.
- 5) *Infiltrasi*, menggunakan paraffin. Usus dimasukkan ke dalam xylol:paraffin cair dengan perbandingan 1:1 selama 20 menit di dalam oven dengan suhu 60°C.
- 6) *Embedding*, tahapan menanam jaringan organ usus. Paraffin cair dituangkan ke dalam cetakan sampai penuh, masukkan jaringan usus atau membenamkan potongan organ usus ke dalam paraffin tersebut. Jaringan organ usus diletakkan pada posisi dasar tengah dengan posisi melintang. Biarkan sampai paraffin membeku atau mengeras.
- 7) *Sectioning*, sampel jaringan organ usus dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 6-10 mikron.
- 8) *Affixing*, perekatan dengan menggunakan albumin dan gliserin dengan perbandingan 1:1 disimpan dalam kotak persediaan selama 24 jam.

- 9) Deparaffinisasi, untuk menghilangkan paraffin, sediaan dimasukkan ke dalam xylol selama 10 menit.
- 10) *Staining* atau pewarnaan, proses pewarnaan dengan menggunakan Haematoxylin dan Eosin sebagai berikut:
 - Sediaan histologis dihisap xylolnya dengan menggunakan kertas saring kemudian berturut-turut dimasukkan ke dalam larutan alkohol 95%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% dan 30% masing-masing selama 5 menit lalu dicuci dengan aquades selama 5 menit. Dicuci dengan air mengalir selama kurang lebih 2 menit.
 - Dimasukkan ke dalam haematoxylin selama 4 menit, dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Dimasukkan ke dalam aquades dan alkohol 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing beberapa celupan.
 - Dimasukkan ke dalam eosin selama 1,5 menit, dimasukkan ke dalam xylol selama 15 menit. Sediaan histologi ditetesi dengan Canada Balsem lalu ditutup dengan cover glass.
- 11) *Mounting* dan *labeling* penutupan preparat dengan menggunakan kaca penutup (*coverglass*) dan memberi identitas pada preparat organ usus.
- 12) Pengamatan dan perhitungan jumlah sel organ usus pada jaringan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 40 – 1000x dan difoto menggunakan kamera digital.

3.8 Analisis Histopatologi

Hasil pembuatan preparat jaringan saluran pencernaan (usus) yang diperoleh kemudian diamati dengan cara membandingkan gambaran jaringan usus ikan nila yang terinfeksi VNN dengan jaringan ikan nila yang normal menggunakan mikroskop cahaya dan diidentifikasi jenis-jenis kerusakan histopatologi pada jaringan ususnya.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Uji Menurut Dishubkominfo (2011), kabupaten Blitar merupakan salah satu dari wilayah Propinsi Jawa Timur yang terletak di kawasan selatan, berbatasan langsung dengan Samudra Indonesia. Secara geografis, Kabupaten Blitar terletak diantara $111^{\circ} 40' - 112^{\circ} 10'$ Bujur Timur dan $7^{\circ} 58' - 8^{\circ} 9' 51''$ Lintang Selatan. Kabupaten Blitar tercatat sebagai salah satu kawasan yang strategis dan mempunyai perkembangan yang cukup dinamis. Kabupaten Blitar berbatasan dengan tiga kabupaten lain. Berikut ini adalah batas-batas wilayah Kabupaten Blitar:

Sebelah Timur	: Kabupaten Malang
Sebelah Barat	: Kabupaten Tulungagung dan Kediri
Sebelah Utara	: Kabupaten Kediri dan Malang
Sebelah Selatan	: Samudra Indonesia

Kabupaten Blitar memiliki luas wilayah sebesar $1.588,79 \text{ km}^2$ dan terdapat Sungai Brantas yang membelah wilayah Kabupaten Blitar menjadi dua, yaitu Kawasan Blitar Selatan yang mempunyai luas $689,85 \text{ km}^2$ dan Kawasan Blitar Utara yang mempunyai luas wilayah $898,94 \text{ km}^2$. Keadaan topografi di Kabupaten Blitar sangat bervariasi, yaitu mulai dari dataran, bergelombang hingga berbukit. Berdasarkan keadaan morfologi secara umum di wilayah Kabupaten Blitar, termasuk jenis morfologi pegunungan, morfologi perbukitan dan daratan. Morfologi pegunungan terletak di wilayah Blitar utara dengan ketinggian antara 167 sampai 2000 meter dari permukaan laut. Pada umumnya morfologi ini terbentuk oleh bantuan hasil letusan gunung api yang berumur muda dengan kemiringan antara 2% sampai dengan lebih besar 40% yaitu meliputi Kecamatan

Talun, Kecamatan Doko, Kecamatan Gandusari, Kecamatan Nglegok dan Kecamatan Ponggok.

Morfologi perbukitan terletak dibagian selatan Kabupaten Blitar dengan ketinggian antara 100 meter dpl sampai dengan sekitar 350 meter dpl. Umumnya morfologi ini terbentuk oleh batuan gamping atau kapur dengan kemiringan antara 20% sampai dengan lebih besar dari 40%, meliputi Kecamatan Kademangan, Kecamatan Panggungrejo, Kecamatan Wates dan Kecamatan Wonotirto. Kabupaten Blitar memiliki bidang pembangunan yang produktif di tiap tahunnya. Adapun aspek pembangunan Kabupaten Blitar dapat meliputi di bidang pertanian, perindustrian, pariwisata dan perikanan. Dalam mewujudkan kesejahteraan masyarakat, salah satu bidang yang menjadi fokus pembangunan oleh pemerintah Kabupaten Blitar adalah pada bidang perikanan. Banyaknya pembudidaya ikan baik di bawah kedinasan maupun pembudidaya murni membuktikan bahwa Kabupaten Blitar memiliki pembangunan yang produktif dalam bidang perikanan (RPJMD, 2011).

4.2 Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel dalam penelitian ini bertempat di salah satu kolam pemeliharaan ikan nila milik warga Desa Krakal, Kecamatan Wlingi, Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Kondisi di wilayah ini terdiri dari sawah dan rumah warga yang dibatasi oleh anak sungai yang sekaligus menjadi sumber air bagi kolam-kolam yang ada di Desa Krakal. Selain itu, lokasi ini dikelilingi oleh beberapa pohon yang menjadikan kawasan ini sejuk dan nyaman serta dijadikan sebagai lahan budidaya ikan. Salah satu ikan yang menjadi daya tarik pembudidaya di daerah ini adalah ikan nila (*Oreochromis niloticus*). Usaha yang dilakukan untuk memperoleh hasil benih yang optimal yaitu melalui pengontrolan kolam pemeliharaan secara rutin

misalnya pemberian pakan, sirkulasi air dan ada tidaknya kematian ikan. Lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada **Gambar 12** berikut.



Gambar 12. Lokasi Pengambilan Sampel (Sumber : Data Primer)

Desa Krakal, Kecamatan Wlingi, Kabupaten Blitar memiliki batas-batas wilayah yaitu sebagai berikut:

Sebalah Utara : Desa Nangkan

Sebelah Timur : Desa Ndoko

Sebelah Barat : Desa Popoh

Sebelah Selatan : Desa Tangkil

Konstruksi kolam pengambilan sampel berupa kolam tradisional yaitu seluruh bagian sisi dan alas kolam berupa tanah. Kolam tersebut memiliki ukuran panjang dan lebar yaitu 40 m x 10 m. Sedangkan kedalaman kolam adalah 30 cm. Padat penebaran ikan pada kolam pemeliharaan induk tersebut yaitu dengan perbandingan 3 : 1 (300 ekor ikan betina dan 100 ekor ikan jantan). Menurut hasil wawancara, untuk pemberian pakan dilakukan setiap 2 kali sehari dengan jenis pakan T78-2.

4.2.2 Pengambilan Sampel Ikan Nila

Setelah melakukan survei di beberapa wilayah, ditentukan lokasi pengambilan sampel di Desa Krakal Kecamatan Wlingi Kabupaten Blitar berdasarkan adanya gejala-gejala yang menunjukkan terjangkitnya virus yang

berbahaya pada kolam pemeliharaan ikan nila, yaitu adanya kematian ikan secara massal yang masih belum diketahui penyebab kematian ikan tersebut dan juga kondisi fisiologis dari ikan. Berdasarkan gejala yang muncul dari kondisi fisik ikan dapat diduga bahwa VNN merupakan salah satu patogen yang menyerang ikan-ikan ini. Adapun gejala klinis kondisi ikan yang terinfeksi VNN adalah tubuh berwarna kehitaman, gerakan renang tidak beraturan, mata menonjol keluar dan apabila sudah mati terjadi pembesaran gelembung renang. Sampel ikan nila yang akan diuji dalam skala laboratorium dapat dilihat pada **Gambar 13** berikut.



Gambar 13. Sampel Ikan Nila (Sumber : Data Primer)

Pengambilan sampel ikan nila dilakukan dengan cara mengambil beberapa ikan yang secara fisik diduga terjangkit VNN untuk dibawa dan diamati dalam skala laboratorium. Digunakan uji PCR untuk memastikan kondisi ikan yang diduga terserang VNN. Pengujian dilakukan satu kali sebagai data kuantitatif dengan *base primer* PCR yaitu 294 bp. Menurut Prihartini *et al.*, (2015), berdasarkan hasil sampel benih ikan nila dengan menggunakan metode RT-PCR, sehingga mendapatkan sampel positif VNN pada otak dan organ ikan nila ditunjukkan oleh band paralel dalam kontrol positif adalah 294 bp.

4.2.3 Pengambilan Sampel Kualitas Air

Pengambilan sampel kualitas air dilakukan selama 3 minggu berturut-turut untuk mendapatkan data yang akurat sehingga diperoleh suatu kesimpulan yang menunjukkan hubungan antara kualitas air dan penyebaran VNN pada kolam pemeliharaan ikan nila. Adapun parameter kualitas air yang akan diamati adalah suhu, kecerahan, pH, DO, CO₂, NH₃, BOD dan COD.

4.3 Analisis Kualitas Air

Dari pengukuran kualitas air selama 3 minggu berturut-turut didapatkan hasil yang ditunjukkan pada **Tabel 2** berikut:

Tabel 2. Hasil Pengukuran Parameter 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.	Kecerahan	cm	30	30	30	30	30 – 40 cm (SNI, 2009)
3.	pH	-	7	6	8	7	6,5 – 8,5 (SNI, 2009)
4.	DO	mg/L	6,08	6,76	7,43	6,76	≥ 3 mg/L (SNI, 2009)
5.	CO ₂	mg/L	5,99	9,08	3,99	6,32	1 – 10 mg/L (Marion, 1998)
6.	NH ₃	mg/L	0,29	0,31	0,31	0,30	≤0,02 mg/L (SNI,2009)
7.	NO ₃	mg/L	1,139	1,092	1,126	1,119	10 mg/L (PP No. 82 Th.2001)
8.	PO ₄	mg/L	0,053	0,052	0,051	0,052	0,2 mg/l (PP No.82 Th.2001)
9.	BOD ₅	mg/L	3,58	3,97	3,58	3,71	3 mg/L (PP No.82 Th.2001)
10.	COD	mg/L	97,5	100	95	97,5	≤20 mgL tidak tercemar, ≤200 mg/L tercemar (Effendi, 2003)

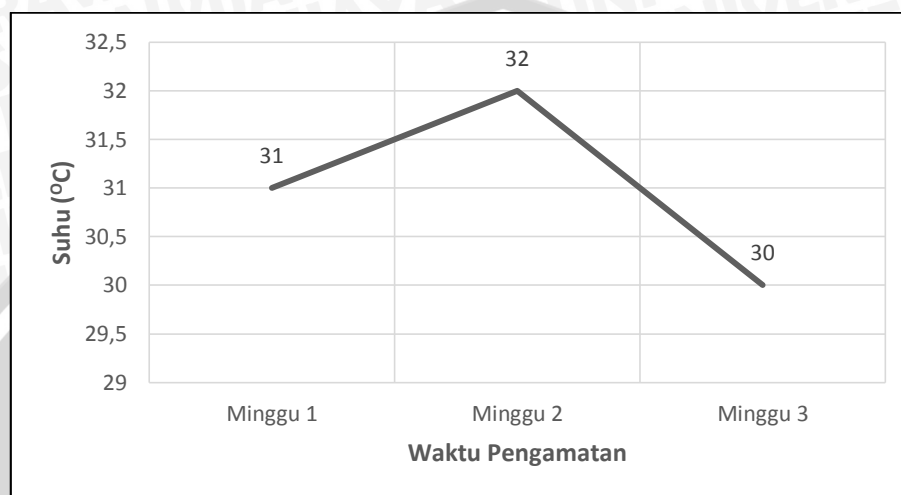
4.3.1 Suhu

Suhu mempengaruhi aktivitas metabolisme ikan dalam suatu perairan, oleh karena itu suhu dapat dijadikan sebagai faktor pembatas pada perairan. Ikan memiliki batas toleransi suhu tinggi dan rendah. Akan tetapi ikan juga memiliki suhu optimal untuk pertumbuhan, inkubasi telur, konversi pakan dan resistensi terhadap penyakit tertentu. Batas optimal dari suhu berbeda-beda, tergantung dari faktor-faktor lain seperti pH, tekanan, oksigen, ketinggian, kedalaman air dan cuaca. Kondisi suhu ini akan sangat berpengaruh bagi kesehatan ikan pada kondisi normal maupun pada saat pengobatan ikan (Carman dan Sucipto, 2013).

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 3 minggu berturut-turut didapatkan suhu berada pada kisaran 30 – 32°C (lihat tabel 2). Nilai suhu terendah adalah pada minggu ketiga yaitu sebesar 30°C. Hal ini dikarenakan sinar matahari dapat langsung masuk kedalam perairan dan kedalam kolam yang dangkal sehingga sinar dapat menembus hingga dasar perairan. Sedangkan nilai suhu tertinggi pada minggu kedua yakni sebesar 32°C. Hasil pengamatan selama 3 minggu tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, hal ini disebabkan oleh kondisi cuaca pada daerah tersebut cenderung stabil. Selain itu, dari hasil yang didapatkan menunjukkan rata-rata suhu yang optimal bagi pertumbuhan ikan nila. Sehingga berdasarkan data yang didapat di lokasi pengambilan sampel tergolong normal bagi kehidupan organisme sesuai dengan baku mutu yaitu 25 – 32 °C (SNI, 2009).

Suhu *lethal* atau mematikan untuk hampir semua spesies ikan adalah 10-11 °C, jika kondisinya terus demikian selama beberapa hari. Nafsu makan ikan akan terganggu ketika suhu air berada di bawah 16-17 °C. Kemampuan reproduksi akan mengalami penurunan pada suhu di bawah 21 °C. Sebaliknya, penyakit akan mudah menyerang ikan nila ketika suhu berada di bawah 21 °C. Hal ini berkaitan erat dengan metabolisme dan aktivitas ikan yang dipelihara. Suhu air optimal untuk

pertumbuhan ikan nila adalah 28-32 °C. Walaupun demikian, tidak menutup kemungkinan ikan nila yang dibudidayakan juga mampu beradaptasi dengan suhu apabila kandungan oksigen terlarut sesuai dengan kebutuhannya (Carman dan Sucipto, 2013). Grafik suhu dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Grafik Suhu

4.3.2 Kecerahan

Kecerahan adalah sebagian cahaya yang diteruskan ke dalam air dan dinyatakan dengan persen (%). Kemampuan cahaya matahari untuk menembus sampai ke dasar perairan dipengaruhi oleh kekeruhan (*turbidity*) air. Kekeruhan dipengaruhi oleh benda-benda halus yang disuspensikan, seperti lumpur dan sebagainya serta adanya jasad-jasad renik (plankton) dan warna air (Kordi dan Tancung, 2010).

Hasil pengamatan kecerahan yang dilakukan selama 3 minggu berturut-turut didapatkan hasil nilai kecerahan yang sama yaitu 30 cm pada minggu pertama, minggu kedua dan minggu ketiga. Dapat dikatakan bahwa nilai kecerahan di kolam pemeliharaan adalah 100% karena kolam pemeliharaan ikan nila milik warga desa Krakal merupakan kolam tradisional yang memiliki kedalaman 30 cm, dengan kedalaman tersebut ikan-ikan mendapatkan sinar

matahari yang optimal bagi pertumbuhannya. Karena cahaya matahari masih dapat menembus hingga kedasar perairan dengan baik.

Hal ini sesuai dengan pendapat Kordi dan Tancung (2010), yang menjelaskan bahwa kecerahan yang baik bagi usaha budidaya ikan dan udang adalah berkisar 30-40 cm yang diukur dengan menggunakan secchi disk. Bila kecerahan sudah mencapai kedalaman kurang dari 25 cm, pergantian air sebaiknya segera dilakukan sebelum fitoplankton mati berurutan yang diikuti dengan penurunan oksigen. Sehingga dari data hasil pengukuran kecerahan dapat disimpulkan bahwa nilai kecerahan di lokasi pengamatan tergolong normal dan sesuai dengan baku mutu yaitu 30 – 40 cm (SNI, 2009).

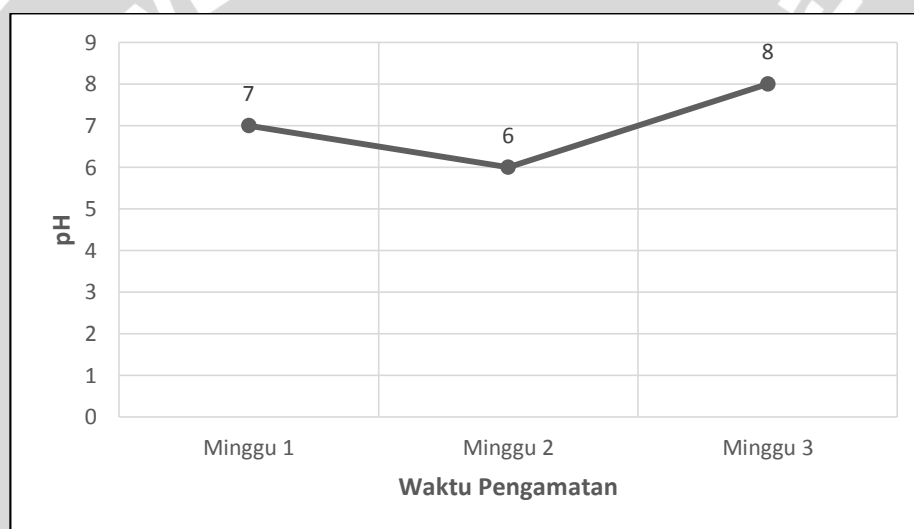
4.3.3 pH

Nila dapat tumbuh dan berkembang dengan baik pada lingkungan perairan dengan alkalinitas rendah atau netral. Pertumbuhannya mengalami penurunan pada lingkungan dengan pH yang rendah. Walaupun demikian, nila masih dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH 5-10. Batas pH yang mematikan adalah 11 atau lebih. Sebaiknya pH air dipertahankan pada nilai netral atau pada kisaran 6,5-8,0 (Carman dan Sucipto, 2013).

pH dalam suatu perairan dipengaruhi oleh tanah dasar dan juga dipengaruhi oleh konsentrasi CO₂ terlarut. Menurut Kordi dan Tancung (2010), CO₂ digunakan fitoplankton dalam proses fotosintesis pada siang hari. Sementara CO₂ dihasilkan pada siang dan malam hari melalui proses respirasi. Oleh karena itu CO₂ terlarut biasanya rendah pada siang hari dan tinggi pada malam hari. Pada saat CO₂ tinggi maka nilai pH air mencapai 7 sedangkan pada sore hari

Hasil pengukuran pH pada kolam pemeliharaan ikan nila selama 3 minggu berturut-turut didapatkan hasil yaitu pada minggu pertama nilai pH sebesar 7, pada minggu kedua sebesar 6 dan pada minggu ketiga adalah 8. Sehingga didapatkan nilai rata-rata pH sebesar 7. Nilai pH pada minggu pertama adalah

netral yaitu 7 dan pada minggu kedua mengalami penurunan hingga nilai terendah adalah pada minggu kedua yaitu sebesar 6. Sedangkan nilai tertinggi dari hasil pengukuran pH adalah pada minggu ketiga yaitu sebesar 8. Perubahan nilai pH setiap harinya ini dikarenakan peningkatan dan penurunan kandungan CO₂ dalam perairan, selain itu kondisi konstruksi kolam tradisional memungkinkan adanya perubahan pH dengan cepat setiap harinya. Dari hasil pengamatan tersebut dapat disimpulkan bahwa nilai pH pada lokasi pengamatan masih tergolong pada kisaran pH netral dan optimal bagi pertumbuhan ikan nila dan sesuai dengan baku mutu yaitu 6,5 – 8,5 (SNI, 2009). Grafik nilai pH dapat dilihat pada Gambar 15 berikut.



Gambar 15. Grafik Nilai pH

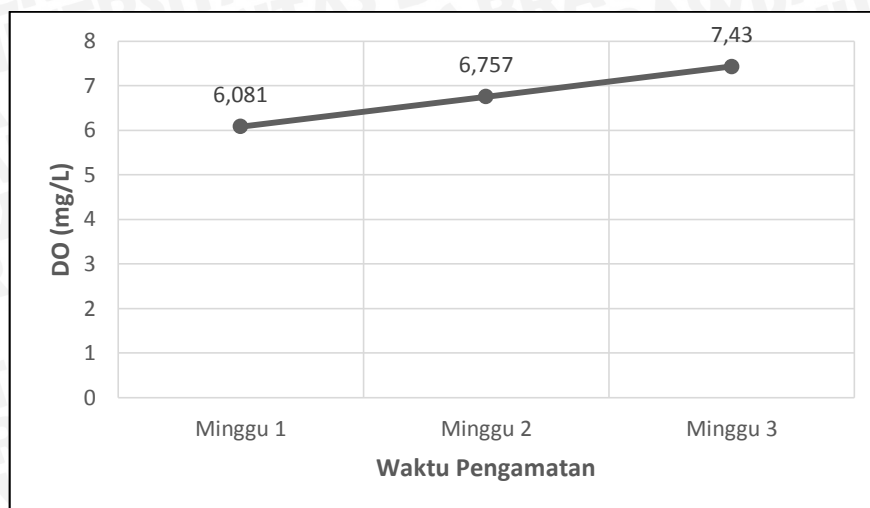
4.3.4 Oksigen Terlarut (*Dissolved Oxygen*)

Oksigen terlarut merupakan salah satu faktor yang sangat penting di dalam ekosistem perairan, terutama dibutuhkan untuk proses respirasi bagi sebagian besar organisme. Pengaruh oksigen terlarut terhadap fisiologis organisme air adalah dalam proses respirasi. Berbeda dengan faktor suhu yang mempunyai pengaruh yang merata terhadap fisiologis semua organisme air, konsentrasi oksigen terlarut dalam air hanya berpengaruh nyata pada organisme air yang memang membutuhkan oksigen terlarut untuk respirasinya (Barus, 2002).

Kadar oksigen terlarut selalu berfluktuasi setiap harinya (*diurnal*) dan musiman, tergantung pada pencampuran (*mixing*) dan pergerakan (*turbulence*) masa air, aktifitas fotosintesis, respirasi dan limbah (*effluent*) yang masuk ke badan air (Effendi, 2003). Selain itu, menurut Kordi dan Tancung (2010), meskipun beberapa jenis ikan mampu bertahan hidup pada perairan dengan konsentrasi oksigen 3 ppm, namun konsentrasi minimum yang masih dapat diterima sebagian besar spesies biota air budi daya untuk hidup dengan baik adalah 5 ppm.

Pada perairan dengan konsentrasi oksigen di bawah 4 ppm, beberapa jenis ikan masih mampu bertahan hidup, akan tetapi nafsu makannya mulai menurun. Untuk itu, konsentrasi oksigen yang baik dalam budidaya perairan adalah 5-7 ppm. Sehingga dari data pengukuran pada kolam pengamatan dapat disimpulkan bahwa kandungan DO tergolong dalam konsentrasi yang baik bagi pertumbuhan.

Hasil pengukuran DO pada penelitian ini didapatkan bahwa minggu pertama perhitungan DO yang diperoleh adalah sebesar 6,081 mg/L. Nilai tersebut dikatakan sebagai nilai DO terendah karena terjadi peningkatan jumlah pemanfaatan oksigen oleh organisme. Pada minggu kedua didapatkan nilai DO sebesar 6,757 mg/L, sedangkan nilai DO tertinggi adalah pada minggu ketiga yakni sebesar 7,43 mg/L. Hal ini disebabkan oleh terjadi penurunan suhu pada perairan dibandingkan dengan hari-hari sebelumnya. Dari keseluruhan pengukuran DO selama penelitian (3 minggu) maka didapatkan nilai rata-rata DO sebesar 6,757 mg/L. Kandungan DO tersebut dapat dikategorikan sebagai DO yang optimal bagi pertumbuhan ikan nila sesuai dengan baku mutu yaitu ≥ 3 mg/L (SNI, 2009). Grafik oksigen terlarut dapat dilihat pada Gambar 16 sebagai berikut.



Gambar 16. Grafik Oksigen Terlarut

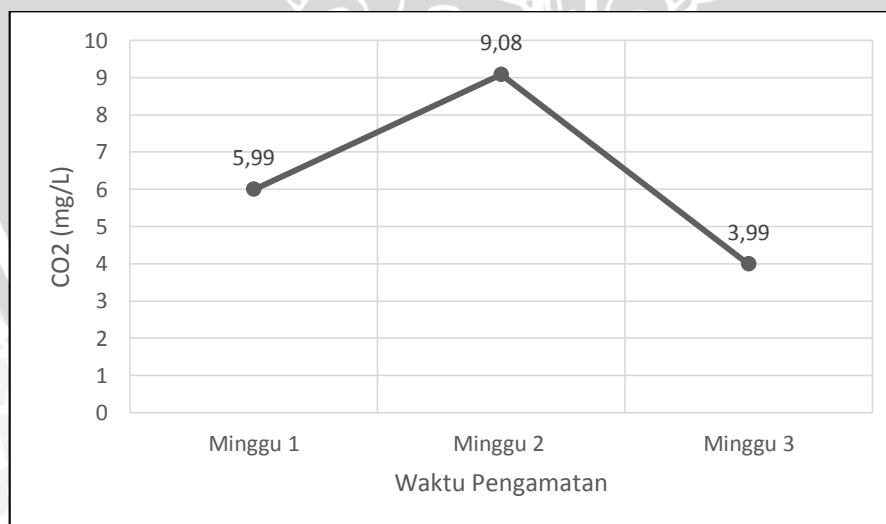
4.3.5 Karbondioksida (CO₂)

Dalam perairan alam dan sistem pemeliharaan ikan, konsentrasi karbondioksida diperlukan bagi proses fotosintesis oleh kehidupan tanaman air. Nilai CO₂ ini akan ditentukan antara lain oleh pH dan suhu. Jumlah CO₂ yang bertambah akan menekan aktivitas pernapasan ikan dan menghambat pengikatan oksigen oleh hemoglobin sehingga dapat menjadi sumber stress bagi ikan. Pada kegiatan budidaya nila, nilai karbondioksida (CO₂) sebaiknya berada pada konsentrasi kurang dari 15 mg/L (Carman dan Sucipto, 2013).

Menurut Kordi dan Tancung (2010), menjelaskan bahwa kadar karbondioksida sebesar 5 ppm di dalam air masih dapat ditoleransi oleh hewan air asalkan kadar oksigennya cukup tinggi. Meskipun peranan CO₂ sangat besar bagi kehidupan organisme air, namun kandungannya yang berlebihan sangat mengganggu, bahkan dapat menjadi sumber racun bagi biota budidaya terutama di kolam. Karena pada konsentrasi yang tinggi (>10 mg/L), karbondioksida dapat beracun, disebabkan oleh keberadaannya dalam darah dapat menghambat pengikatan oksigen oleh hemoglobin.

Hasil pengukuran CO₂ pada penelitian yang dilakukan selama 3 minggu berturut-turut adalah 5,99 mg/L pada minggu pertama, 9,08 mg/L pada minggu

kedua dan 3,99 mg/L pada minggu ketiga. Sehingga didapatkan nilai rata-rata sebesar 6,32 mg/L. hasil pengukuran CO₂ tertinggi terjadi pada minggu ke dua. Tingginya nilai CO₂ dikarenakan terjadinya peningkatan respirasi biota budidaya, selain itu proses fermentasi kotoran di dalam perairan juga dapat meningkatkan kandungan CO₂ yang ada. Sedangkan nilai pengukuran CO₂ terendah didapatkan pada minggu ketiga. Karena kondisi suhu pada saat itu tidak terlalu tinggi sehingga meningkatkan kadar oksigen dan menekan peningkatan kadar CO₂ dalam perairan. Secara keseluruhan dapat ditarik nilai rata-rata kandungan CO₂ yaitu sebesar 6,32 yang menunjukkan bahwa kadar CO₂ dalam perairan cukup tinggi walaupun nilai tersebut masih dalam batas yang dapat ditoleransi oleh ikan. Sesuai dengan penjelasan Kordi dan Tancung (2010), bahwa kadar karbondioksida sebesar 5 ppm di dalam perairan masih dapat ditoleransi oleh hewan air asalkan kadar oksigen cukup tinggi. Sehingga akan lebih optimal bagi ikan jika kadar karbondioksida di dalam perairan adalah <5 ppm. Grafik karbondioksida dapat dilihat pada Gambar 17 sebagai berikut.



Gambar 17. Grafik Karbondioksida (CO₂)

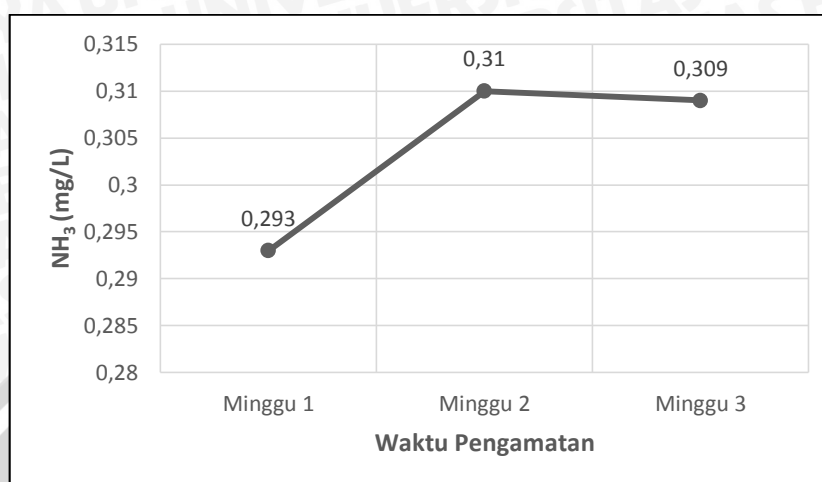
4.3.6 Amonia (NH_3)

Amonia di perairan dapat berasal dari proses dekomposisi bahan organik yang banyak mengandung senyawa nitrogen (protein) oleh mikroba (amonifikasi); ekskresi organisme; reduksi nitrit oleh bakteri dan pemupukan. Menurut Effendi (2003), sumber amonia di perairan adalah pemecahan nitrogen organik (protein dan urea) dan nitrogen anorganik yang terdapat di dalam tanah dan air yang berasal dari dekomposisi bahan organik (tumbuhan dan biota akuatik yang telah mati) oleh mikroba dan jamur. Proses ini dikenal dengan istilah amonifikasi.

Menurut Carman dan Sucipto (2013), dalam kegiatan budidaya, kadar amonia sebanyak 0,08 mg/L dapat menurunkan nafsu makan dan pertumbuhan. Kematian biasanya mulai terjadi pada perairan dengan kadar amonia 0,1 - 0,2 mg/L. Sementara itu, pada kadar amonia 1 mg/L dapat menyebabkan penurunan bobot tubuh ikan, terutama jika DO perairannya rendah. Kisaran kandungan amonia untuk kegiatan usaha budidaya ikan nila yang terlarut sebaiknya kurang dari 0,16 mg/L.

Hasil dari pengukuran amonia di laboratorium selama 3 minggu berturut-turut adalah pada minggu pertama didapatkan hasil sebesar 0,293 mg/L, pada minggu kedua sebesar 0,31 mg/L, pada minggu ketiga hasilnya adalah 0,309 mg/L dan didapatkan nilai rata-rata amonia pada kolam pengamatan adalah sebesar 0,304 mg/L. Nilai amonia tertinggi didapatkan pada pengukuran minggu kedua sedangkan nilai amonia terendah adalah pada minggu pertama. Peningkatan kadar amonia pada minggu kedua terjadi sebagai akibat dari tingginya proses amonifikasi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa hasil dari pengukuran amonia pada kolam pengamatan menunjukkan bahwa kadar amonia yang terkandung tergolong berbahaya karena dapat menurunkan sistem kekebalan tubuh ikan yang dapat berujung pada kematian. Menurut SNI (2009), nilai baku mutu yang baik

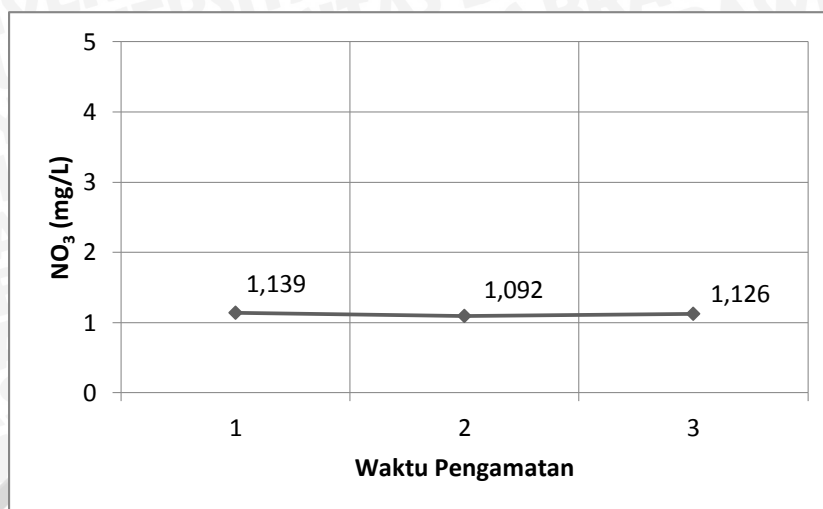
untuk kadar amonia perairan adalah $\leq 0,02$ mg/L Grafik amonia dapat dilihat pada Gambar 18 sebagai berikut.



Gambar 18. Grafik Amonia (NH₃)

4.3.7 Nitrat (NO₃)

Hasil data analisa kualitas air untuk parameter nitrat dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil pengukuran nitrat pada kolam pemeliharaan ikan nila diperoleh rata-rata konsentrasi nitrat sebesar 1,119 mg/L. Konsentrasi nitrat tertinggi terjadi pada minggu ke-1 dan terendah pada minggu ke-2. Grafik hasil pengukuran nitrat pada kolam pemeliharaan ikan nila disajikan pada Gambar 10. Menurut Marganof (2007) dalam Armita (2011) kandungan nitrogen yang tinggi di suatu perairan dapat disebabkan oleh limbah yang berasal dari limbah domestik, pertanian, peternakan dan industri. Berdasarkan PP No. 82 tahun 2001 menjelaskan bahwa baku mutu kandungan nitrat dalam perairan tidak boleh lebih dari 10 mg/L. Basmi (1988) dalam Subrata (2008) menyatakan bahwa nitrat dalam perairan nilainya akan berkurang bersama dengan meningkatnya pertumbuhan fitoplankton. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan nitrat selama pengamatan masih dalam kondisi yang baik dan belum mengalami pencemaran.



Gambar 19. Grafik Nitrat (NO₃)

Menurut Wetzel (1975), menjelaskan bahwa nitrat dapat digunakan untuk mengelompokkan tingkat kesuburan perairan. Perairan oligotrofik memiliki kadar nitrat antara 0 – 1 mg/L, perairan mesotrofik memiliki kadar nitrat antara 1 – 5 mg/L, dan perairan eutrofik memiliki kadar nitrat antara 5 – 50 mg/L. Jadi, apabila dilihat dari tingkat kesuburan perairan, kolam tersebut termasuk kedalam perairan mesotrofik atau tingkat kesuburan perairan sedang. Hal ini sesuai pendapat Armita (2011) yang menjelaskan bahwa pertumbuhan alga yang baik membutuhkan kisaran nitrat sebesar 0,9 – 3,50 ppm. Apabila kadar nitrat dibawah 0,1 ppm atau diatas 45 ppm, maka nitrat merupakan faktor pembatas berarti pada kadar tersebut nitrat bersifat toksik.

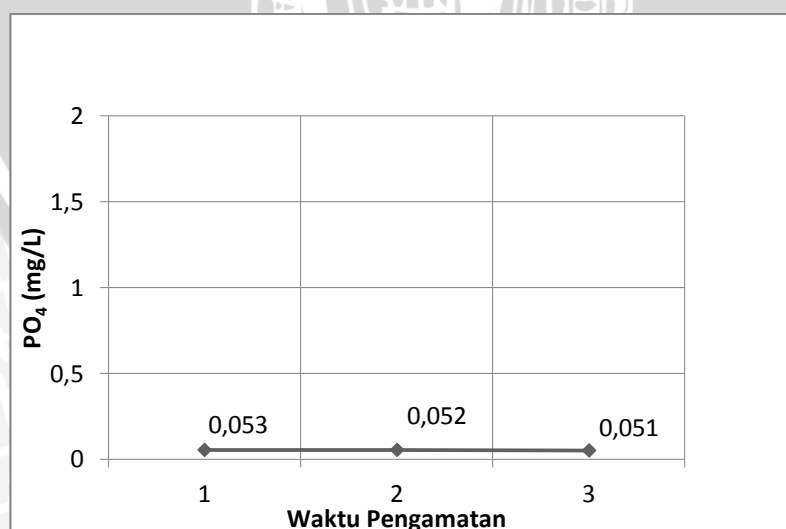
Hal ini juga didukung oleh hasil identifikasi plankton bahwa pada konsentrasi nitrat tersebut ditemukan 3 divisi fitoplankton yaitu Chlorophyta, Cyanophyta, dan Chrysophyta. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa alga masih dapat tumbuh. Hasil penelitian ini didukung oleh Sulistiyorini (2007) bahwa fitoplankton yang hidup pada kisaran kadar nitrat 0,019 – 0,099 mg/L yaitu dari divisi Chlorophyta, divisi Cyanophyta, divisi Chrysophyta dan divisi Pyrrophyta.

Sedangkan pada kadar nitrat yang berkisar 0,100 – 0,188 mg/L didominasi oleh divisi Euglenophyta.

4.3.8 Orthofosfat (PO_4)

Hasil data analisa kualitas air untuk parameter ortofosfat dapat dilihat pada Lampiran 4. Berdasarkan hasil pengukuran orthofosfat pada kolam pemeliharaan ikan nila diperoleh konsentrasi tertinggi terjadi pada minggu ke-1 dan terendah pada minggu ke-3 dengan rata-rata konsentrasi orthofosfat sebesar 0,052 mg/L. Menurut Armita (2011), menjelaskan bahwa perairan alami pada umumnya memiliki kandungan fosfat terlarut tidak lebih dari 0,1 ppm, kecuali pada perairan penerima limbah rumah tangga dan industri tertentu serta limpahan air dari daerah pertanian yang umumnya mengalami pemupukan fosfat. Sedangkan baku mutu ortofosfat berdasarkan PP No. 82 tahun 2001 tentang pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran perairan yaitu 0,2 mg/L. Jadi, kandungan ortofosfat pada kolam pemeliharaan ikan nila secara keseluruhan masih baik dan perairan masih belum mengalami pencemaran.

Berikut merupakan grafik hasil pengukuran orthofosfat yang disajikan pada Gambar 20.



Gambar 20. Orthofosfat (PO_4)

Sulardiono (2009) menambahkan bahwa kandungan fosfat yang optimum bagi pertumbuhan fitoplankton berkisar antara 0,27 – 5,51 mg/L dan akan menjadi faktor pembatas apabila kurang dari 0,02 mg/L. Apabila dilihat dari kadar ortofosfat yang terukur selama 3 minggu, maka kadar tersebut masih mendukung dan belum menjadi faktor pembatas bagi pertumbuhan fitoplankton. Sedangkan menurut Wetzel (1975), kadar ortofosfat di perairan diklasifikasikan menjadi tiga yaitu perairan oligotrofik yang memiliki kadar ortofosfat 0,003 – 0,01 mg/L, perairan mesotrofik yang memiliki kadar ortofosfat 0,011 – 0,03 mg/L, dan perairan eutrofik yang memiliki kadar ortofosfat 0,031 – 0,1 mg/L. Jadi, apabila dilihat dari klasifikasi kadar ortofosfat di perairan, kolam pemeliharaan ikan nila termasuk kedalam kategori perairan eutrofik.

4.3.9 Biological Oxygen Demand (BOD₅)

BOD merupakan nilai senyawa organik yang mudah terdegradasi. Nilai BOD yang cukup tinggi menandakan bahwa perairan sudah tercemar limbah organik yang dibuang ke dalam sumber air. Pendegradasian limbah tersebut dilakukan mikroorganisme secara aerob, karena jumlah limbah organik yang dibuang ke perairan menyebabkan berkurangnya kadar oksigen terlarut dalam perairan. Selain itu jika oksigen semakin berkurang dapat menyebabkan kematian bagi tumbuhan air, plankton, mikroorganisme dan ikan (Handayani *et al.*, 2011).

BOD secara umum digunakan untuk menentukan tingkat pencemaran air buangan. Namun disisi lain BOD sangat penting bagi perairan karena oksigen di perairan berperan sebagai pemecah bahan organik sebagai bahan makanan dan energinya diperoleh melalui proses oksidasi. Menurut McNelly *et al.*, (1979) dalam Herliwati dan Rahman (2011), menyatakan bahwa perairan dengan BOD > 10 mg/L diperkirakan tercemar bahan organik. Lingkungan akuatik yang ideal untuk perikanan memiliki nilai BOD ≤ 3,0 mg/l dan COD ≤ 25,0 mg/L.

Hasil pengukuran BOD di laboratorium didapatkan hasil untuk minggu pertama sebesar 3,581 mg/L, minggu kedua sebesar 3,986 mg/L, untuk minggu ketiga didapatkan hasil sebesar 3,579 mg/L dan didapatkan nilai rata-rata nilai BOD pada kolam pengamatan adalah 3,715 mg/L. Dari hasil pengukuran maka nilai BOD tertinggi adalah pada minggu kedua dan nilai BOD terendah adalah pada minggu ketiga. Sehingga dari hasil pengukuran BOD pada kolam pengamatan dapat disimpulkan bahwa nilai BOD pada kolam dapat dikatakan telah melebihi batas ambang. Menurut (PP No.82 Th.2001), nilai baku mutu BOD₅ yang baik bagi budidaya adalah 3 mg/L Grafik BOD₅ dapat dilihat pada Gambar 21 sebagai berikut.



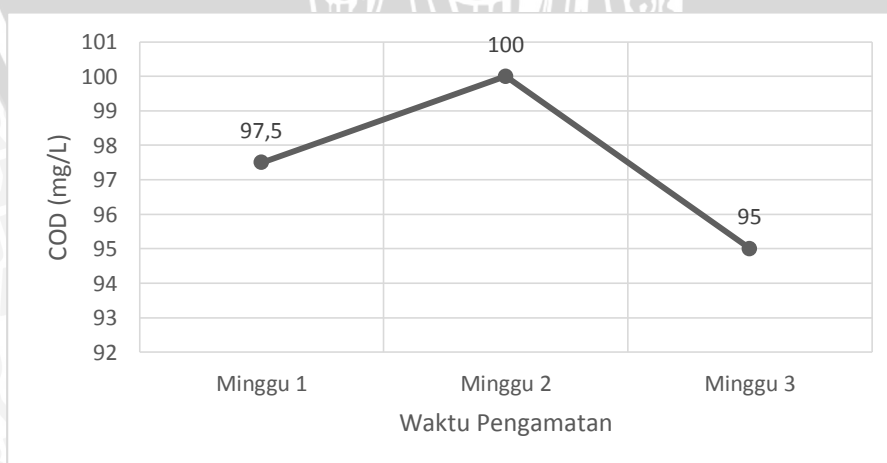
Gambar 21. Grafik *Biological Oxygen Demand* (BOD₅)

4.3.8 Chemical Oxygen Demand (COD)

Chemical Oxygen Demand (COD) merupakan salah satu parameter penting bagi perairan maupun biota budidaya. *Chemical Oxygen Demand* (COD) adalah banyaknya oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan-bahan organik melalui proses kimiawi baik yang dapat di degradasi secara biologi maupun sukar didegradasi menjadi karbondioksida dan uap air. Selain itu COD dapat digunakan untuk mengetahui tingkat pencemaran dalam suatu perairan (Rahayu dan Tontowo, 2005 dalam Handayani *et al.*, 2011).

Menurut Zahidin (2008), *Chemical Oxygen Demand* (COD) adalah ukuran pencemaran air oleh zat-zat organik yang secara alami dapat teroksidasi melalui proses mikrobiologi dan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut dalam air. Tingginya kadar COD dalam perairan dapat membahayakan biota perairan yang ada di dalamnya karena dapat menyebabkan organisme di perairan tersebut mengalami kekurangan oksigen yang akan berakibat menurunkan daya hidup organisme tersebut.

Pada hasil pengukuran COD selama 3 minggu berturut-turut didapatkan hasil pada pengukuran minggu pertama nilai COD sebesar 97,5 mg/L, pada minggu kedua nilai COD sebesar 100 mg/L, pada minggu ketiga adalah sebesar 97,5 mg/L dan didapatkan nilai rata-rata COD dari 3 minggu pengukuran sebesar 97,5 mg/L. Untuk nilai COD terendah didapatkan pada minggu ketiga dan sebaliknya nilai COD tertinggi adalah pada minggu kedua. Dari ketiga hasil pengukuran tersebut dapat disimpulkan bahwa perairan kolam nilai COD yang tinggi dan hal ini menjadi indikasi adanya pencemaran pada perairan tersebut. Menurut Effendi (2003), nilai baku mutu untuk COD pada budidaya adalah ≤ 20 mg/L tidak tercemar, ≤ 200 mg/L tercemar. Grafik *Chemical Oxygen Demand* (COD) dapat dilihat pada Gambar 22 berikut:



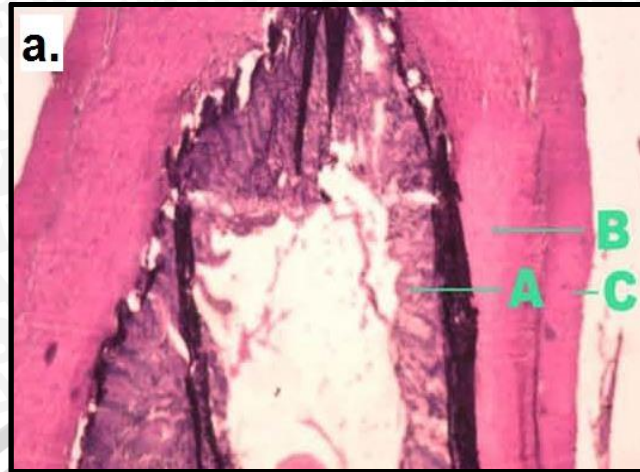
Gambar 22. Grafik *Chemical Oxygen Demand* (COD)

4.4 Analisis Histopatologi Saluran Pencernaan (Usus)

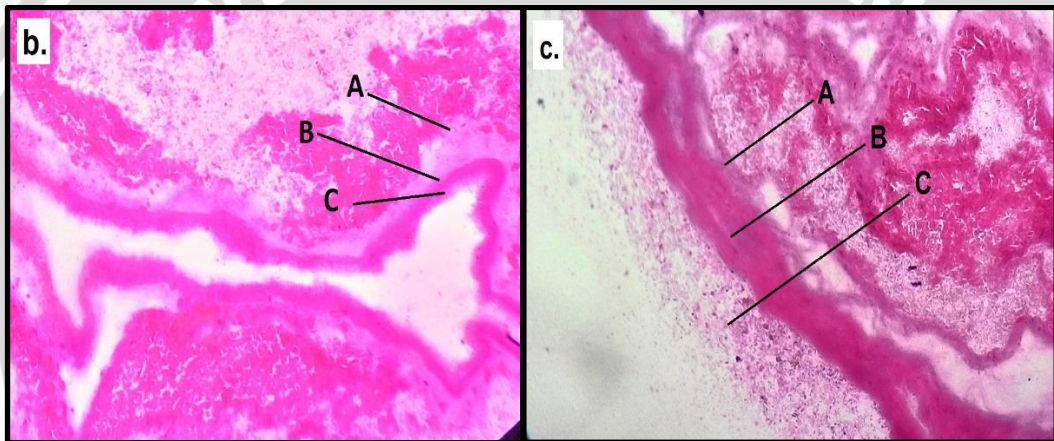
Saluran pencernaan (usus) merupakan organ pertama yang berhubungan langsung dengan kontaminan makanan yang dapat ditunjukkan dengan adanya perubahan-perubahan struktural pada organ sebagai bentuk reaksi dari masuknya kontaminan ke dalam tubuh (Haloi, 2013). Salah satu fungsi organ usus adalah menyerap sari-sari makanan yang masuk ke dalam tubuh ikan. Selain dari faktor lingkungan, makanan juga menjadi faktor penting yang berhubungan langsung dengan sistem imunitas ikan. Apabila bakteri/jamur/virus masuk ke dalam tubuh ikan dan berkembang biak, hal ini akan menyebabkan terganggunya kesehatan. Maka dapat diduga bahwa kontaminan tersebut menginfeksi saluran pencernaan baik sebagai akibat dari buruknya kondisi lingkungan maupun melalui faktor makanan yang masuk ke dalam tubuh.

Pengamatan terhadap perubahan patologi anatomi dilakukan dengan membandingkan organ normal dengan organ usus ikan yang terinfeksi VNN yang kemudian diamati berdasarkan warna maupun adanya kelainan/kerusakan pada jaringan organ usus yang ditemukan di bawah pengamatan mikroskop. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap organ usus ikan nila yang terinfeksi VNN telah memperlihatkan perubahan/kerusakan yang berupa perubahan warna, konsistensi, kongesti, bengkak dan pucat.

Dinding usus secara struktural terdiri dari bagian mukosa, sub mukosa dan mikrofil. Usus mukosa terdiri dari lapisan epitel, lamina propia dan stratum compactum (Haloi, 2013). Pengamatan usus normal dapat dilihat pada Gambar 21 dan Gambar 22 Pada kedua gambar tersebut dapat terlihat struktur organ usus ikan nila sehat yang tidak terkontaminasi oleh virus VNN, pada gambar dengan tanda huruf (A) menunjukkan bagian mikrofil, sedangkan (B) menunjukkan bagian organ sub mukosa dan pada tanda huruf (C) menunjukkan bagian organ usus yaitu mukosa.

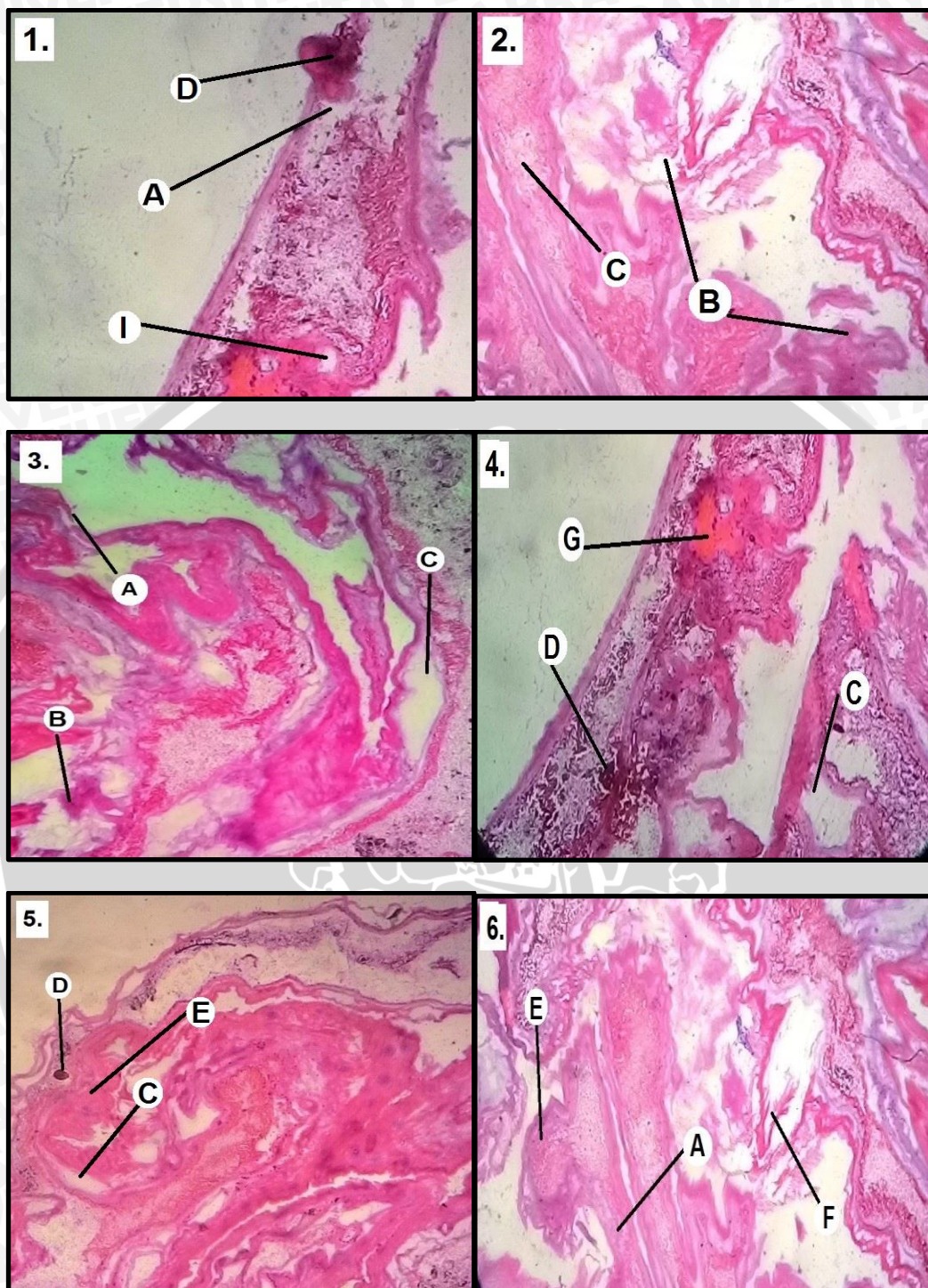


Gambar 23. Usus Ikan Nila. A. Mikrofil, B. Sub Mukosa, C. Mukosa (Haloi, 2013)

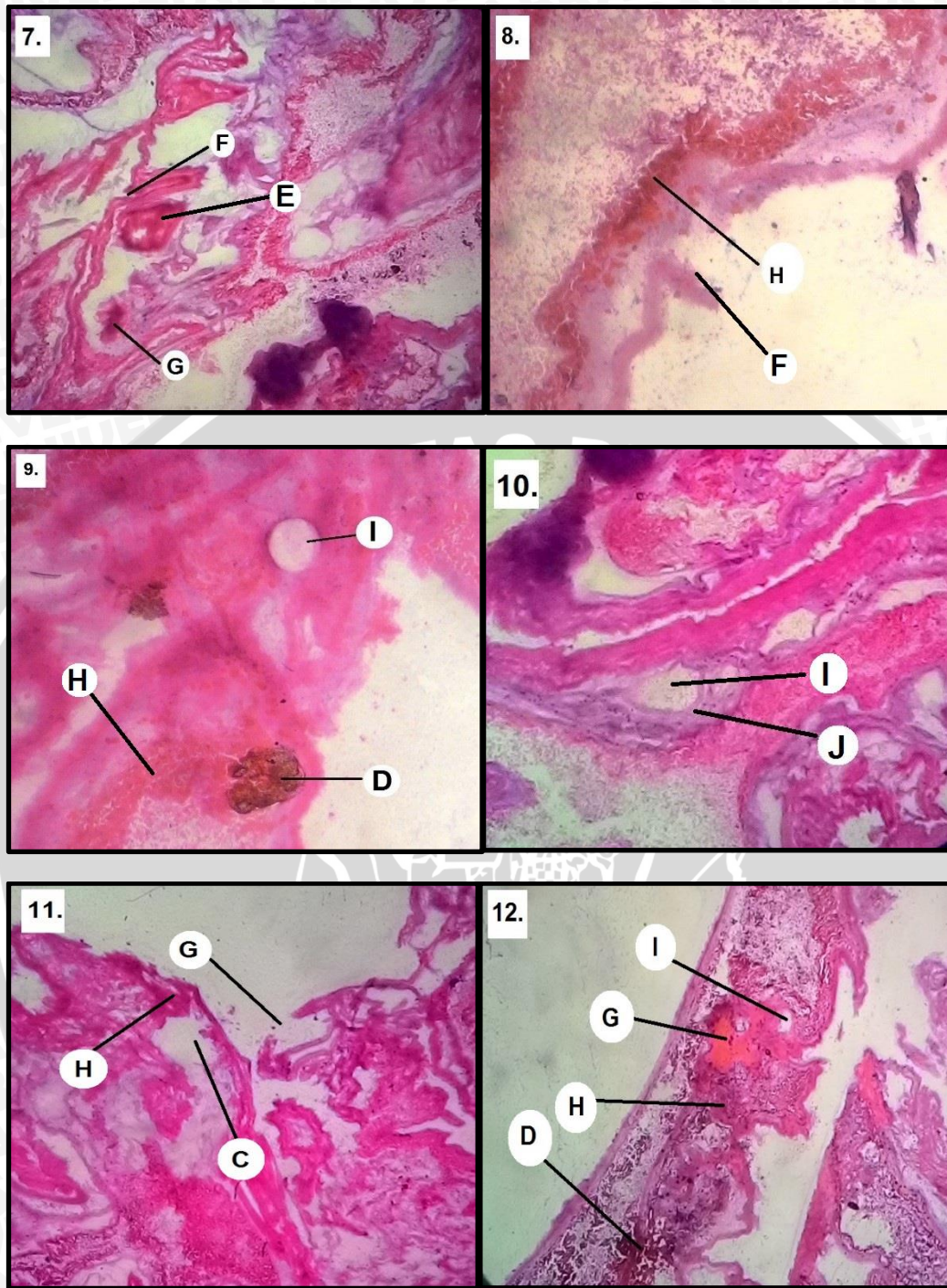


Gambar 24. Usus Ikan Nila Kontrol ; A. Mikrofil, B. Sub Mukosa, C. Mukosa

Histopatologi ikan nila diamati dengan menggunakan mikroskop dalam bentuk preparat jaringan. Jaringan usus ikan nila dibuat menjadi preparat tipis dan diwarnai dengan hematoxilin dan eosin selanjutnya diamati di bawah mikroskop binokuler dan difoto menggunakan kamera. Kemudian diberi tanda pada foto untuk lokasi dan jenis kerusakan yang terjadi pada jaringan usus ikan nila. Hasil yang diperoleh dari pengamatan histopatologi usus ikan nila yang terinfeksi VNN dapat dilihat pada Gambar 23 dan Gambar 24.



Gambar 25. Usus Ikan Nila yang Terinfeksi VNN. (1.) A. Atrofi, D. Hemorage, I. Vakuolisasi (2.) B. Degenerasi, C. Edema (3.) A. Atrofi, B. Degenerasi & C. Edema, (4.) C. Edema, D. Hemorage & G. Nekrosis. (5.) C. Edema, D. Hemorage & E. Hiperplasi (6.) A. Atrofi, E. Hiperplasi & F. Infiltrasi



Gambar 24. (7.) F. Infiltrasi, E. Hiperplasi & G. Nekrosis, (8.) F. Infiltrasi & H. Inflamasi, (9.) D. Hemorage, I. Vakuolisasi & H. Inflamasi, (10.) J. Ulserasi & I. Vakuolisasi, (11.) C. Edema, H. Inflamasi & G. Nekrosis (12.) D. Hemorage, H. Inflamasi, G. Nekrosis & I. Vakuolisasi.

Hasil pengamatan pertama histopatologi usus ikan nila pada Gambar 23 dan Gambar 24 menunjukkan beberapa jenis kerusakan yang terjadi pada jaringan usus. Pada Gambar ke-1 menunjukkan adanya atrofi yang ditandai dengan terjadinya pengecilan jaringan akibat adanya gangguan yaitu pengurangan ukuran dan jumlah sel yang ada selain itu juga terjadi hemorage dan vakuolisasi. Pada Gambar ke-2 menunjukkan adanya edema dan degenerasi yang ditandai dengan adanya akumulasi substansi abnormal yang dapat disebabkan oleh virus, bakteri maupun jamur.

Pada gambar ketiga, terlihat beberapa kerusakan yang terjadi pada salah satu bagian jaringan usus ikan nila. Gambar ke-3 menunjukkan adanya atrofi, edema dan degenerasi. Degenerasi merupakan adanya epitel tubulus yang membengkak dan berlanjut menjadi endapan eosinofilik sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Sedangkan edema ditandai dengan adanya akumulasi cairan yang abnormal pada rongga-rongga jaringan organ usus.

Edema merupakan suatu kondisi meningkatnya jumlah cairan antar jaringan. Menurut Hibiya dan Fumiyo (1995), menjelaskan bahwa edema disebabkan oleh agen patologis yang biasanya disertai juga penampakan sel-sel radang yang merupakan bentuk reaksi imun tubuh ikan. Selain itu, edema juga merupakan reaksi terjadinya pembendungan pembuluh darah/kongesti, sehingga terdapat rongga antar serabut yang terlihat longgar. Penyebab utama edema menurut Guyton and Hall (1996) adalah adanya peningkatan tekanan hidrostatik yang dapat menyebabkan perembesan plasma darah dan dapat ditemukan pada jaringan setelah mengalami kongesti.

Hasil pengamatan pada gambar keempat juga menunjukkan beberapa kerusakan yang terjadi pada jaringan usus. Gambar ke-4 menunjukkan adanya edema/akumulasi cairan, hemorage yaitu terlihat adanya gangguan pada sistem sirkulasi darah dengan pecahnya sel darah akibat kerusakan vakuola yang biasa

disebut kerusakan hemorage dan nekrosis yang ditandai dengan kematian sel-sel atau jaringan akibat dari menurunnya kekebalan tubuh yang terinfeksi oleh virus, bakteri maupun jamur. Nekrosis juga merupakan salah satu kerusakan pada jaringan yang bersifat irreversible yang menyebabkan sel sudah tidak dapat melakukan proses adaptasi dan perbaikan pada sel itu sendiri. Daerah yang mengalami nekrosis dapat menyebabkan peningkatan jumlah leukosit sehingga memicu terjadinya peradangan pada daerah sekitarnya. Dengan adanya sel radang akan merangsang makrofag untuk datang memperbaiki jaringan yang rusak. Kongesti dapat mengakibatkan kenaikan jumlah darah didalam pembuluh darah, sehingga menyebabkan penampakan luar organ membesar atau membengkak.

Selain atrofi, degenerasi, edema, hemorage dan nekrosis yang merupakan jenis dari histopatologi usus ikan nila. Kerusakan-kerusakan lainnya yang dapat terjadi sebagai akibat dari infeksi VNN adalah vakuolisasi, inflamasi, infiltrasi, hiperplasi dan ulserasi. Kongesti pada usus merupakan salah satu tanda-tanda awal reaksi yang terjadi pada usus karena adanya infeksi. Kongesti dapat terlihat secara mikroskopik dengan adanya eritrosit yang banyak terkumpul di pembuluh darah, sedangkan hemorage dapat dilihat dari eritrosit yang sudah keluar dari pembuluh darahnya dan dapat dilihat beredar di jaringan usus. Usus yang mengalami hemorage kemungkinan disebabkan adanya bahan atau benda asing yang masuk dan ikut terbawa makanan sehingga bisa menyebabkan terjadinya lesi usus.

Lecet (Lesi) biasanya terjadi pada permukaan kulit suatu organisme. Lesi pada usus biasanya terjadi pada permukaan saluran organ usus. Tanda-tanda awal terjadinya lesi usus adalah munculnya bintik-bintik putih yang kemudian menyebabkan terjadinya pendarahan. Hal ini menjadi awal mula terjadinya

hemorage yang diakibatkan oleh adanya benda asing masuk terbawa bersama dengan makanan yang dikonsumsi oleh ikan.

Selain itu, juga dapat dilihat pada hasil pengamatan kedua histopatologi ikan nila beberapa jenis kerusakan jaringan usus ikan nila yang terinfeksi VNN pada gambar kelima. Gambar ke-5 dapat dilihat telah terjadi kerusakan pada sirkulasi darah sehingga terjadi hemorage, atrofi dan hiperplasi dimana jumlah sel mengalami peningkatan pada salah satu bagian jaringan organ. Hiperplasi dapat menyebabkan penebalan karena sel-sel epitel jumlahnya bertambah dan saling menempel satu sama lain. Pada Gambar ke-6 dapat dilihat kerusakan organ yang terjadi adalah berupa infiltrasi, hiperplasi dan nekrosis.

Pada Gambar ke-7 terlihat adanya 3 jenis kerusakan organ yang meliputi terjadinya infiltrasi yang ditandai dengan adanya kerusakan jaringan usus yang biasanya disebabkan oleh virus, bakteri dan parasit. Kelainan yang terjadi menunjukkan adanya kerusakan berupa bentuk jaringan mengalami perpecahan atau juga bisa mengalami bengkak sehingga dapat merangsang kerusakan lainnya. Kemudian dapat terlihat kerusakan selanjutnya termasuk dalam jenis nekrosis dan inflamasi yaitu ditandai dengan kehadiran sejumlah besar eritrosit dan komponen darah lainnya pada permukaan organ.

Pada pengamatan histopatologi ketiga didapatkan gambar kerusakan yaitu Gambar ke-9 dapat dilihat terjadi beberapa jenis kerusakan, yang pertama yaitu hemorage, vakuolisasi yang ditandai dengan munculnya bentuk inti yang tampak membesar dan bergelembung dan tidak eosinofil (kemerahan) sebagai akibat dari perubahan keseimbangan cairan dalam sel karena meningkatnya jumlah cairan dan Inflamasi Sedangkan pada Gambar ke-10 yang ditunjukkan oleh gambar adalah jenis kerusakan yang disebut dengan ulserasi yaitu pada bagian sub mukosa terjadi vakuolisasi yang menunjukkan adanya inflamasi sel menjadi lebih

tebal pada dinding usus bersamaan dengan munculnya vakuolisasi dan kerusakan lainnya yaitu vakuolisasi yang muncul bersamaan dengan ulserasi. Pada Gambar ke-11 didapatkan jenis kerusakan yaitu edema yang ditandai dengan peningkatan akumulasi cairan, inflamasi dan nekrosis/kerusakan jaringan. Dan terakhir adalah pada Gambar ke-12 yang menunjukkan adanya 4 jenis kerusakan yaitu hemorage, inflamasi, nekrosis dan vakuolisasi.

Analisis histopatologis dari saluran pencernaan dapat digunakan sebagai salah satu organ yang indikator untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan serta jenis-jenis kerusakan yang terjadi apabila ikan telah terinfeksi oleh virus/jamur/bakteri. Hal ini dikarenakan fungsi usus sebagai organ penyerap sari-sari makanan. Menurut Gaber *et al* (2014)., usus dan hati merupakan organ penting pada sistem pencernaan yang berfungsi untuk menyerap makanan.

Berdasarkan hasil pengamatan benih ikan nila yang terinfeksi VNN, kemungkinan melibatkan mekanisme transfer virus antar spesies (*cross-species virus transmission*). Untuk dapat menginfeksi inang, virus harus dapat menginfeksi sel-sel yang tepat dan prosesnya biasanya dibatasi pada beberapa tingkatan, termasuk pengikatan oleh reseptor, jalur virus masuk atau fusi, *trafficking* dalam sel, replikasi genom dan ekspresi gen (Parrish *et al.*, 2008).

Virus merupakan parasit obligat yang hidupnya sangat tergantung pada inang dan proses replikasinya juga tergantung dengan kemampuan mentransfer genomnya dari inang yang terinfeksi ke inang yang belum terinfeksi, dan dari sel yang terinfeksi ke sel yang belum terinfeksi. Keterbatasan bentuk maupun struktur yang sederhana, membuat virus tidak dapat melakukan sendiri proses transfernnya, sehingga virus beradaptasi dengan perilaku maupun kondisi fisiologis inangnya. Proses transmisi virus melibatkan 3 tahap, yaitu perakitan partikel virus pada sel yang terinfeksi, pelepasannya diluar sel dan masuk ke dalam sel yang baru.

4.5 Hubungan antara Lingkungan dan Infeksi VNN

Lingkungan dalam hal ini air, merupakan media paling vital bagi kehidupan ikan. Stressor (faktor lingkungan) dalam sistem budidaya meliputi fisika (suhu dan cahaya) dan kimia (pH, DO, CO₂, amonia, BOD₅ dan COD). Ikan yang stres akan mengalami rangkaian perubahan morfologi dan fisiologi. Kualitas air juga merupakan syarat utama dalam sistem budidaya. Hubungan antara patogen, inang dan lingkungan pada kondisi normal akan mampu menjaga keseimbangan. Ikan yang dibudidayakan akan memanfaatkan makanan yang berasal dari makanan bermutu, sehingga ikan dapat tumbuh dan berkembang biak, bereproduksi dalam rangka melanjutkan keturunan serta mampu mempertahankan diri dari perubahan lingkungan di sekitarnya. Terjadinya serangan penyakit juga didukung oleh ketidakseimbangan antara patogen, lingkungan dan inang.

Air sebagai media hidup organisme ikan yang paling penting, kualitas air yang mulai tercemar akan memengaruhi antibodi ikan dan menurunkan daya tahan tubuh sehingga ikan akan dengan mudah terinfeksi virus. Betanodavirus dapat dengan mudah menyebar selama adanya wabah. tindakan biosekuriti yang memadai harus dibentuk terutama dalam fase penetasan (Mori *et al.*, 1998). Di laut terbuka, transmisi dapat terjadi melalui infeksi dari satu situs lain yang dapat disebabkan oleh pasang surut, arus dominan, kapal mengunjungi peternakan yang b

erbeda dan ikan bermigrasi liar. Selain itu, burung yang mengkonsumsi ikan dapat dianggap sebagai vektor potensial (OIE, 2013).

Kualitas air merupakan bagian dari faktor transmisi VNN pada perairan. menurunnya kualitas air dapat disebabkan oleh berbagai hal salah satunya adalah sumber air yang mengandung limbah sehingga akan mempengaruhi organisme yang hidup didalamnya. Salah satu faktor kualitas air yang memiliki pengaruh

penting dalam persebaran virus VNN adalah suhu. Suhu air merupakan faktor utama pada persebaran *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dan menyebabkan munculnya tanda-tanda klinis yang terjadi pada ikan. Korelasi antara munculnya tanda-tanda klinis dan suhu air telah dibuktikan dan didukung dengan adanya penelitian secara in-vitro. Pada larva *stripped jack* yang terinfeksi VNN secara in-vitro didapatkan suhu optimal pertumbuhan virus dengan kisaran 20 – 25 °C. Pada kisaran suhu air yang berbeda tidak ditemukan adanya perbedaan angka kematian yang terjadi yaitu pada suhu 20 – 26 °C. Pada ikan kerapu yang terinfeksi VNN, secara in-vitro didapatkan kisaran suhu optimal pertumbuhan virus yaitu 25 – 30 °C. Pada penelitian tersebut terjadi kematian dengan angka yang lebih tinggi. Sedangkan suhu air yang lebih tinggi dari 31 °C dapat menghambat proliferasi virus. Salinitas tampaknya tidak memiliki pengaruh pada terjadinya penyerangan wabah penyakit yang disebabkan oleh virus yang telah dilaporkan pada spesies ikan air tawar (OIE, 2013).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian analisis kualitas air dan histopatologi saluran pencernaan (usus) ikan nila (*Oreochromis niloticus*) pada kolam pemeliharaan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Hasil analisis kualitas air didapatkan hasil nilai suhu berkisar antara 30 – 32°C, kecerahan sebesar 30 cm, pH memiliki nilai kisaran 6 – 8, DO berkisar antara 6,081 – 7,43 mg/L, CO₂ berkisar antara 3,99 mg/L – 9,08 mg/L, NH₃ berkisar antara 0,293 – 0,310 mg/L, NO₃ berkisar antara 1,092 – 1,139 mg/L, PO₄ berkisar antara 0,051 – 0,053 mg/L, BOD₅ berkisar antara 3,579 – 3,986 mg/L dan COD 95 – 100 mg/L. Dari hasil pengukuran kualitas air tersebut dapat dikategorikan bahwa perairan kolam pemeliharaan berada pada kondisi normal.
- Hasil analisis histopatologi usus ikan nila (*Oreochromis niloticus*) didapatkan 10 jenis kerusakan yang merusak jaringan usus ikan nila yaitu atrofi, degenerasi, edema, hemorage, hiperplasi, infiltrasi, inflamasi, vakuolisasi, nekrosis dan ulserasi. Perubahan degenerasi yang sering terjadi pada saluran pencernaan ikan terutama usus yaitu atrofi sel-sel epitel mukosa, nekrosis dan infiltrasi. Selain itu dapat juga terjadi perdarahan yang menyebabkan pembendungan pembuluh darah sehingga terjadi hemorage. Ulserasi menyebabkan mukosa terlepas dari sub mukosanya yang disertai pendarahan. Penyempitan sel-sel epitel dapat menyebabkan hiperplasia karena vili-vili usus akan menebal. Hal-hal ini bisa terjadi karena infeksi dari virus VNN yang telah diuji dalam skala laboratorium.

- Dari hasil kedua analisis yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa VNN dapat menginfeksi ikan dan merusak struktur organ ikan nila yang disebabkan oleh menurunnya sistem kekebalan tubuh. Hal ini masih bisa terjadi meskipun lingkungan masih dalam kondisi normal.

5.2 Saran

Sebaiknya para pembudidaya lebih waspada dalam penyebaran berbagai penyakit yang diakibatkan oleh virus dengan menjaga keseimbangan lingkungan dan pemberian pakan yang berkualitas serta perlu diadakannya penelitian lebih lanjut mengenai cara penanggulangan ikan yang terinfeksi agar tidak mengalami kematian.



DAFTAR PUSTAKA

- Alaerts, G. dan S. S. Santika. 1984. Metode Penelitian Air. Usaha Nasional. Surabaya. Indonesia.
- Amirudin, A. 2012. Penyusunan Modul Reproduksi Berdasarkan Studi Kapasitas Reproduksi Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*, L.) Betina di Waduk Sermo, Kulon Progo, DIY Sebagai Salah satu Alternatif Bahan Ajar Biologi Bagi Siswa SMA Kelas X. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta: Yogyakarta.
- Arfiati, D. 2001. Limnologi Sub Bahasan Kimia Air. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya: Malang.
- Asmawi, S. 1983. Pemeliharaan Ikan dalam Karamba. Gramedia: Jakarta.
- Barus, T. A. 2004. Pengantar Limnologi Studi tentang Ekosistem Daratan. USU-Press. Medan.
- Bavelander, G. and J. Ramaley. 1988. Dasar-dasar Histologi. Erlangga. Jakarta.
- Bloom, J. H. 1988. *Analisa Mutu Air Secara Kimiawi dan Fisis. Sebuah laporan tentang Pelatihan dan Praktek pada Fakultas Perikanan*. NUFFIC-UNIBRAW. Malang.
- Boyd, C. E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. International Center of Aquaculture. Agricultural Experiment Station. Resources Development Series No. 22, 30p.
- Brancroft, J. D and A. Steven. 1982. Theory and Practice of Histological Techniques. Second Edition. Churchill Livingstone Inc. US. America.
- Chang, J. S and Chi, S. C. 2015. GHSC70 is involved in the cellular entry of Virology 72 : 1224 – 1234.
- Charman, O dan Adi S. 2013. Pembesaran Nila 2,5 Bulan. Penebar Swadaya. Jakarta Timur.
- Chi, S. C. , B. J. Lo and S. C. Lin. 2001. Characterization of Grouper nervous necrosis Virus (GNNV). Journal of Fish Diseases. 24: 3 – 13.
- Chi, S. C. 2006. Piscine Nodavirus Infections in Asia. First International Symposium on Viral Nervous necrosis of Fish International Conference Center, Hiroshima, november 28 to December 1, 2006.
- Comps M, J. F. Pepin and J. R. Bonami. 1994. Purification and characterization of two fish encephalitis viruses (FEV) infecting *Lates carcarifer* and *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 123: 1 – 10.

- Das, S., and A. Gupta. 2013. Histopathological Changes in the Intestine of Indian Flying Barb (*Esomus Dancricus*) Exposed to Organophosphate Pesticide, Malathion (EC 50). *Global Journal of Biology, Agriculture & Health Science*. Vol. 2 : 90 – 93
- Deden, D. H. J. Rais, S. P. Ginting dan M. J. Sitepu. 2001. Kimia dan Pencemaran. Alih bahasa oleh: Y. R. Koestoer. Cetakan Pertama. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Dishukominfo Blitar. 2015. Gambaran Umum Kota Blitar. Online. <http://www.blitarkab.go.id>. diakses pada tanggal 1 Maret 2016 pukul 07.03 WIB.
- Dutta, H. M., dan J. S. D. Munshi. 1996. Fish Morphology, Horrizon of New Research Science Publisher, Inc. USA.
- Effendie, M. Ichsan. 1997. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara. Yogyakarta.
- Effendi. 2003. Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan. Kanisius. Yogyakarta.
- Elyana, P. 2011. Pengaruh Penambahan Ampas Kelapa Hasil Fermentasi *Aspergillus oryzae* dalam Pakan Komersial Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus* Linn.). Skripsi. Universitas Sebelas Maret : Surakarta.
- Gaber, H. S., W. T. Abbas, M. M. N. Authman and S. A. Gaber. 2014. Histological and Biochemical Studies on Some Organs of Two Fish Species in Bardawil Lagoon, North Sinai, Egypt. *Global Veterinaria*. 12 (1) : 01 – 11.
- 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.
- Green, W. G. and D. Teichert-Coddington. 1993. Tilapia Yield Improvement through Maintenance of Minimal Oxygen Concentration in Experimental Growout Ponds in Honduras *dalam* Aquaculture. 118: 63 – 71. Elsevier Science Publisher B. V. Amsterdam.
- Grotmol S, A. H. Nerland, E. Biering, G. K. Totland dan T. Nishizawa. 2000. Characterisation of the capsid protein gene from a nodavirus strain affecting the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* and design of and optimal reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) detection assay. *Disease of Aquatic Organism* 39: 79 – 88.

- Guyton, A. C and Hall, J. E. 1996. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi IX. EGC, Philadelphia.
- Haloi, K., M. Kalita & R. Nath. 2013. The Study on the Histopathological Change of Stomach of *Channa punctatus* (Bloch). By used Pesticide Endosulfan. *Global Journal of Science Frontier Research Biological Sciences*. 13 (2).
- Handayani, R. I., N. K. Dewi dan B. Priyono. 2011. Akumulasi Kromium (Cr) pada Daging Ikan Nila Merah (*Oreochromis ssp.*) Dalam Karamba Jaring Apung di Sungai Winongo Yogyakarta . *Journal MIPA*. 2 : 123 – 129.
- Handoyo, D. dan A. Rudiretna. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Unitas*. 9 (1) : 17 – 29.
- Hepher, B. and Y. Pruginin. 1981. Commercial Fish Farming With Special Reference to Fish Culture in Israel, 261p. John Willey and Sons, Inc. New York.
- Herliwati dan M. Rahman. 2011. Karakteristik Eko-Biologis Perikanan Beje Di Kawasan Rawa Danau Bangkau Kalimantan Selatan. *Limnotek*. 18 (1) : 26 – 37.
- Hoole D, D. Bucke, P. Burgess and I. Wellby. 2001. *Disease of Carp and other Cyprinid Fishes*. Blackwell Science. USA. 264p.
- Jastrow. 1998. Technique of Specimen Preparation For Scanning Electron Microscopy. Dept. of Anatomy and Cell Biology, Johannes Gutenberg University, 55099 Mainz, Germany. <http://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomy/workshop/EM/eigeneEM>.
- Johansen, R. Sommerset I, Torud B, Korsnes K, Hjortaas MJ, Nilsen F, Nerland AH, Dannevig BH. 2004. Characterization of nodavirus and viral encephalopathy and retinopathy in farmed turbot, *Sciphthalmus maximus* (L.). *J Fish Dis*. 27 : 591 – 601.
- Koesharyani, I., D. Roza., K. Mahardika, F. Jhonny, Zafran dan K. Yuasa. 2001. Penuntun Diagnosa Penyakit Ikan II. Penyakit Ikan Laut dan Krustacea di Indonesia. Balai Penelitian perikanan Laut Gondol-Singaraja. 49 pp.
- Koesharyani I, H. Novita. 2006. Diagnosa nested reverse transcriptase pcr untuk viral nervous necrosis pada benih ikan kerapu bebek (*Cromileptes altivelis*). *J. Riset Akuakul* 1 : 3.
- Kordi, M. G. H. dan A. B. Tancung. 2007. *Pengelolaan Kualitas Air*. PT. Rineka Cipta, Jakarta.
- _____. 2005. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Rineka Cipta. Makassar.

_____. 2010. *Pengelolaan Kualitas Air Dalam Budidaya Perairan*. Rineka Cipta. Jakarta.

Kristanto, N. 2002. Diversifikasi Penggunaan Minyak pala. *Perspektif*. Vol.II (1): 70 – 81. Medan.

Luna, L. G. 1960. *Manual of Histologic Staining Methods*. Third Edition. Institute of Pathology. McGraw-Hill Inc, US America.

Marchand, M. J., J. C. Van Dyk, G. M. Pieterse, I. E. Barnhoorn, and M. S. Bornman. 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.

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.

Marion, J. E. 1998. *Water Quality of Pound Aquaculture*. International Center for Aquaculture and Aquatic Environment. Auburn University. Alabama.

Mas'ud, Faisol. 2014. Pengaruh Kualitas Terhadap Pertumbuhan Ikan Nila (*Oreochromis* sp.) Di Kolam Beton Dan Terpal. Fakultas Perikanan Universitas Islam Lamongan.

Mitchell, R. N., Kumar, Abbas, Fausto. 2006. *Pocket companion to Robbin & Cotran Pathologic basis of diseases*. Elsevier Inc. 905p.

Mori, K., T. Nakai and K. Muroga. 1992. Properties of a New Virus Belonging to Nodaviridae Found in Larval Striped Jack (*Pseudocaranx dentex*) with Nervous Necrosis. *Virology*. 187 : 368 – 371.

Natzir, Moh. 2009. *Metode Penelitian*. Penerbit Ghalia Indonesia. Bogor.

Newton , C. R and A. Graham. 1994. *PCR*. UK: Bios Scientific Publisher.

Nguyen H. D., T. Nakai and K. Muroga. 1996. Progression of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) infection in naturally and experimentally infected striped jack *Pseudocaranx dentex* larvae. *Disease of Aquatic Organism* 24: 99 – 105.

Nishizawa T., K. Mori, M. Furuhashi, T. Nakai, I. Furusawa and K. Muroga. 1995. Comparison of the coat protein genes of five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *J Gen Virol* 76: 1563 – 1569.

Novriadi, R., S. Agustatik, S. Bahri, D. Sunantara dan E. Wijayanti. 2014. Distribusi patogen dan kualitas lingkungan pada budidaya perikanan laut di provinsi Kepulauan Riau. *Depik*. 3 (1) : 83 – 90.

- Oh, M. J., W. S. Kim, H. G. Seo, H. J. Gye and T. Nishizawa. 2012. Change in Infectivity Titre of Nervous Necrosis Virus (NNV) in Brain Tissue of Sevenband Grouper, *Epinephalus fasciatus* thunberg, with Poly (I:C) Administration. *Journal of Fish Diseases*.
- Panigoro, N., I. Astuti, M. Bahnan, D. C. Prayudha, Salfira dan K. Wakita. 2007. Teknik Dasar Histologi dan Atlas Dasar-dasar Histopatologi Ikan. Balai Budidaya Air Tawar Jambi. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan. Japan International Cooperation Agency (JICA).
- Parrish, C. R., Holmes, E. C., Morens, D. V., Park, E., Burke, D. S., Calisher, C. H., Laughlin, C. A., Saif, L. J and Peter, D. 2008. Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiology and molecular biology reviews*. 72 : 3. 457 – 470.
- Plumb JA. 1994. *Health Maintenance of Cultured Fishes: Principal Microbial Diseases*. CRC Press Inc. USA. 254 p.
- Prajitno, A. 2008 . Penyakit Ikan – Udang: Virus. Universitas Negeri Malang: Malang.
- Price, S. A and Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi*. Edisi VI. Volume I. EGC, Philadelphia.
- Prihartini N. C., U. Yanuhar and Maftuch. 2015. Betanodavirus Infections in Tilapia seed (*Oreochromis* sp.), in Indonesia. *Journal of Life Science and Biomedicine*. 5 (4) : 106 – 109.
- 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.
- Robert, R. J. 2001. *Fish Pathology*. Edisi III. W. B. Saunders, London. 472 hal.
- Rukmana, R. 1997. Budidaya dan Prospek agribisnis Ikan Nila. Kanisius. Yogyakarta.
- Rustidja. 1998. Sex Several Ikan Nila. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya Malang.
- Satia, Y., P. Octorina dan Yulfiperius. 2009. Kebiasaan Makanan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) di Danau Bekas Galian Pasir Gekbong Cianjur-Jawa Barat. Universitas Muhammadiyah: Sukabumi.
- Setyawan. 2009. Prosedur Analisis Histologis Jaringan Ikan. Akademi Perikanan.

- Santoso, Arid Dwi. 2008. *Studi Penentuan Produktifitas Danau Buatan dengan MEI (Morphoedaphic index) Analysis*. J. Hidrosfir Indonesia. Vol. 3 No. 2 (81-86).
- Smail DM, Munro ALS. 1989. The virology of teleosts. In: Roberts RJ (ed) *Fish pathology*, 2nd edn. Bailliere Tindall, London, p 173 – 186.
- Smith, H. A and Jines TC. 1961. *Veterinary Pathology*. Philadelphia, LEA & Febiger. 24 – 270 pp.
- SNI. 1990. *Metode Pengukuran Kualitas Air*. Dinas Pekerjaan Umum. Jakarta.
- SNI. 2004. *Air dan Air Limbah-Bagian 30: Cara Uji Kadar Amonia dengan Spektrofotometer secara Fenat*. SNI 06-6989.30-2005.
- SNI. 2009. *Produksi Ikan Nila (Oreochromis niloticus Bleeker) Kelas Pembesaran di Kolam Air Tenang*. Jakarta.
- Sudaryatma, P. E., A. T. Lestari, N. L. Surnarsih, L. S. Widiarti, S. N. Hidayah dan D. Srinoto. 2012. *Imunositokimia Streptavidin Biotin: Deteksi Dini Viral Nervous Necrosis Virus pada Lendir Ikan Kerapu Macan (Epinephelus fuscoguttatus)*. *Jurnal Sain Veteriner*. 30 (1).
- Sugiharto. 1987. *Dasar-dasar Pengelolaan Air Limbah*. UI-Press. Jakarta.
- Surakhmad, W. 1995. *Pengantar Penelitian Ilmiah*. Penerbit Tarsito. Bandung.
- Sutomo. 1989. *Pengaruh ammonia (NH₃) Terhadap Ikan dalam Budidaya Sistem Tertutup*. ISSN 0216 – 1877. *Journal Oseana*. Vol XIV. No 1: 19 – 26.
- Suyanto, R. 2002. *Nila*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Syarief, A. 2013. *Laporan Pemantauan HPI/HPIK Tahun 2013*. Kementerian Kelautan dan Perikanan Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan : Batam.
- Tanaka, S., H. Aoki and T. Nakai. 1998. Pathogenicity of the Nodavirus Detected From Diseased Sevenband Grouper *Epinephelus septemfasciatus*. *Fish Pathol*. 33 : 31 – 36.
- Thiery, R., J. Cozien, J. Cabon, F. Lamour, M. Baud and A. Schneemann. 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 (20) : 10201 – 10207.
- Velcheva, I., E. Tomova, D. Arnaudova and A. Arnaudov. 2010. Morphological Investigation on Gills and Liver of Freshwater Fish from Dam Lake "Student Kladenets". *Bulg. J. Agric. Sci.*, 16 : 364 – 368.

Wardhana, Wisnu A. 2004. Dampak Pencemaran Lingkungan. Penerbit Andi. Yogyakarta.

Wetzel, R. G. 1983. *Limnology*. Michigan State University. Sainders Co. Chicago

Yang, H. L. 2007. Fish Oral Vaccine That Can Induce Protective Immunity at the Investigation on Gills and Liver of Freshwater Fish from Dam Lake "Student Kladenets". Bulg. J. Agric. Sci., 16 : 364 – 368.

Yitnosumarto, S. 1992. *Rancob Analisa dan Intreprestasinya*. Gramedia. Jakarta.

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.

Yuasa, K., I. Koesharyani, D. Roza. Jhonny and Zafran. 2001. Manual for PCR Procedure; Rapid diagnosis on Viral nervous Necrosis (VNN) in Grouper. Lolitkanta-JICA Booklet No 13, 35 pp.

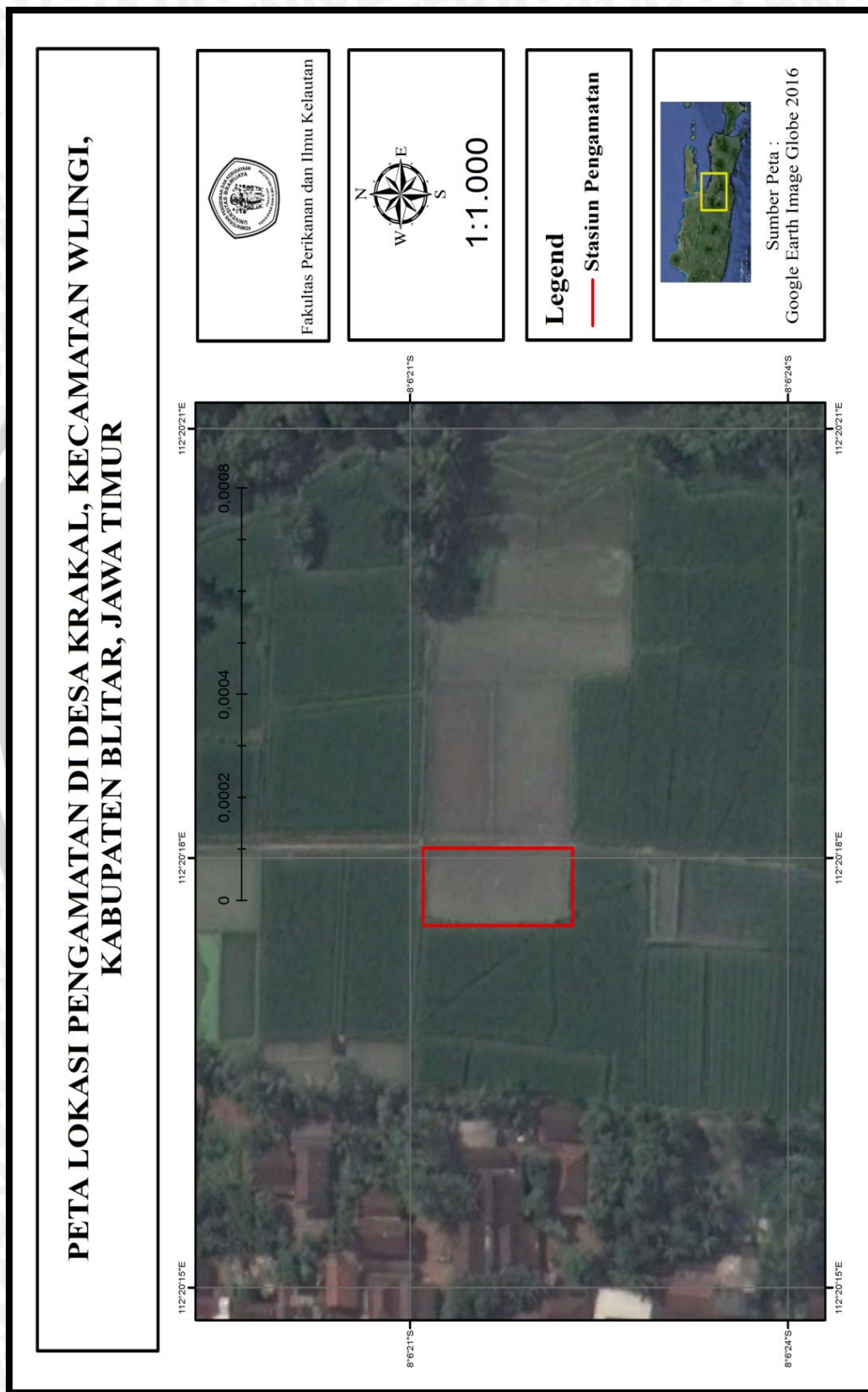
Yuasa, K., N. Panigoro, M. Bahnan, E. B. Kholdin. 2003. Panduan Diagnosa Penyakit Ikan. Teknik Diagnosa Penyakit Ikan Budidaya Air Tawar di Indonesia. Balai Budidaya Air Tawar Jambi dan Japan International Cooperation Agency. Jambi. 75 hal.

Zanidin, M. 2008. Kajian Kualitas Air di Muara Sungai dan Pelabuhan Pekalongan Ditinjau dari Indeks Keanekaragaman Makrobenthos dan Indeks Saprobitas Plankton. *Kolokium Proposal Tesis*. Semarang. Universitas Diponegoro.

Zonneveld, N., E. A. Huisman dan J. H. Boon. 1991. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. Hal: 48 – 66. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peta Lokasi Penelitian



Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian

a. Pengukuran Kualitas Air

No	Parameter Fisika	Alat	Bahan
1.	Suhu	- <i>Thermometer Hg</i> - <i>Stopwatch</i>	- Air kolam
2.	Kecerahan	- <i>Secchi disk</i> - Penggaris - Tali - Karet gelang	- Air kolam
No	Parameter Kimia	Alat	Bahan
1.	pH	- Kotak standart pH - <i>Stopwatch</i>	- Air kolam - pH paper
2.	DO	- Buret - Statif - Corong - Botol DO - <i>Washing bottle</i> - Pipet tetes	- Air kolam - MnSO_4 (2ml) - $\text{NaOH} + \text{KI}$ (2ml) - H_2SO_4 (2ml) - Amilum (3 tetes) - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,025 N) - Kertas label - Tissue
3.	CO_2	- Erlenmeyer 100 ml - Buret - Statif - Botol air 600 ml - Gelas ukur 25 ml - Pipet tetes	- Air kolam - Indicator PP - Na_2CO_3 - Kertas label - Tissue
4.	Amonia (NH_3)	- Erlenmeyer 50 ml - Pipet volume - Cuvet - Rak cuvet - Spektrofotometer - Bola hisap - Gelas ukur	- Air kolam - Larutan nessler - Aquades - tissue
5.	BOD_5	- Inkubator - Botol DO 300 ml - Pipet tetes - Buret - Statif	- MnSO_4 - $\text{NaOH} + \text{KI}$ - H_2SO_4 - Amylum - Na-thiosulfat - Akuades - Tissue

6.	Orthofosfat	- Beaker glass 250 ml - Pipet tetes - Erlenmeyer 50 ml - Gelas ukur 50 ml	- Air kolam - SnCl_2 - Ammonium molybdat - Kertas label
7	COD	- Gelas ukur - Erlenmeyer - Pipet tetes - COD reaktor	- Digestion solution (DS) - Sulfuric acid (SA) - Tissue - Aquades

b. Analisa *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Alat	Bahan
- <i>Disetting set</i> (gunting + pinset) - <i>Glass ware</i> - Mikropipet - Eppendorff - Mikrotube - Tip mikropipet - Penggerus atau <i>pestle</i> - Sentrifus - Inkubator - Vortex mixer - Mini spin - Timbangan analitik - <i>Waterbath</i> - <i>Thermal cycler</i> (GeneAmp® PCR System 9700) - <i>Encluser</i> - <i>Electrophoresis horizontal</i> - <i>Gel documentation</i> - RNA/DNA spektrofotometer (<i>Gene Quant pro</i>) - Kamera Digital	- Ethanol - Satu pasang primer VNN : • Forward 2 (F2) : CGT GTC AGT CAT GTG TCG CT • Reverse 3 (R3) : CGA GTC AAC ACG GGT GAA GA (product size : 294 bp) - Kontrol negatif - Kontrol positif - Marker - Reagen TRIzol® (invitrogen) - Kloroform - Isopropanol - Alkohol 75% - DEPC - <i>Staining solution</i> (6x loading dye) - Kertas parafilm - Agarose - Larutan TAE buffer - SyBr save (invitrogen)

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°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 µM.
- Memasukkan template RNA, kontrol positif dan kontrol negatif kedalam mesin PCR (*thermal cycler*).
- Memastikan bahwa program yang akan dijalankan adalah VNN.
- Pengaturan suhu pada *thermal cycler* sebagai berikut :

No	Reaksi	Suhu (°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 µl setiap sampel dan menambahkan 2 µl *staining solution* (6x *loading dye*) pada kertas parafilm, kemudian dihomogenkan.

- Selanjutnya sebanyak 10 μ 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 4 : Hasil Uji Polymerase Chain Reaction (PCR)



LABORATORIUM PENGUJI

UNIT PELAKSANA TEKNIS PENGEMBANGAN BUDIDAYA AIR PAYAU BANGIL DINAS PERIKANAN DAN KELAUTAN PROVINSI JAWA TIMUR

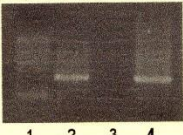
Jl. Perikanan Kalianyar No. 746 PO. BOX 6 Bangil - Pasuruan
Telp./Fax. (0343) 741654. E-mail: pbap_bangil@yahoo.co.id

LAPORAN HASIL UJI

Report of Analysis

No.: 335 /LHU/UPT-PBAP/III/2016

Nama Pelanggan : Dr. Uun Yanuhar, S.Pi, MSi
Customer Name
Pejabat yang dihubungi : -
Contact Person
Alamat : Malang
Address
Jenis Sampel : Organ Ikan Nila
Type of sample (s) No.FPPS: 047/FPPS/UPT-PBAP/III/2016
No. Sampel : 180 (Usus Ikan Nila)
No. Sample
Tanggal Penerimaan : 16-02-2016
Received Date Tanggal Pengujian: 19-02-2016
Date of Analysis

NO	PARAMETER Parameters	SATUAN Units	HASIL Test Result			SPESIFIKASI METODE Method Specification
			No. Sampel No. Sample	Gambar Figure	Keterangan Note	
1.	VNN	-	180		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 seijin 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 : Dokumentasi Penelitian



Lokasi Pengambilan Sampel Ikan Nila



Kolam Pemeliharaan Bagian Inlet



Kolam Pemeliharaan Bagian Outlet



Sumber Air Untuk Kolam Pemeliharaan



Sampel Ikan Nila

- Kualitas Air



Sampel Kualitas Air



Pengujian CO₂, NH₃ & BOD₅



Pembedahan Ikan Nila



Sampel Usus

- **Polymerase Chain Reaction (PCR)**



IQ Plus Extraction Kit



Mikropipet



Ekstraksi RNA



Sentrifugasi