



**LAPORAN KEMAJUAN PROGRAM
KREATIVITAS MAHASISWA**

**KOIPROTECTOR : PROTECTOR IKAN KOI
BERBASIS VAKSINASI MELALUI INJEKSI VAKSIN
DNA SEBAGAI PENCEGAHAN TERHADAP
PENYAKIT KOI HERPES VIRUS**

**BIDANG KEGIATAN :
PKM PENELITIAN**

Diusulkan oleh :

| | |
|------------------|-----------|
| Riyan Maulana | C14100078 |
| Raditya Wahyu P | C14100027 |
| Aliyah Sakinah | C14100082 |
| Shella Marlinda | C14100084 |
| M. Restya Naufal | C14110052 |

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Koi Protector: Protektor Ikan Koi Berbasis Vaksinasi Melalui Injeksi Vaksin DNA Sebagai Pencegahan Terhadap Penyakit Koi Herpes Virus (KHV).
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Riyan Maulana
 - b. NRP : C14100078
 - c. Departemen : Budidaya Perairan
 - d. Universitas/Institut : Institut Pertanian Bogor
4. Anggota Pelaksana Kegiatan : 4 Orang
5. Dosen Pembimbing
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Alimuddin, S.Pi, M.Sc
 - b. NIP : 19700103 199512 1 001
 - c. Alamat Rumah dan No Tel/ HP : Jl. Cinangneng Asri 115, Rt 01/01 Bojong Jengkol, Ciampea 16620 Bogor. HP. 081383850926
6. Biaya Kegiatan Total
 - a. DIKTI : Rp. 10.800.000
 - b. Sumber Lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 3 Bulan


Bogor, 20 Agustus 2013

Menyetujui,

Menyetujui
Ketua Departemen
Budidaya Perairan



Dr. Ir. Sukenda M.Sc
NIP.19671013 199302 1 001

Ketua Pelaksana Kegiatan,



Riyan Maulana
C14100078

Mengetahui,

Wakil Rektor Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan


Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, M S
NIP. 19581228 198503 1 003

Dosen Pembimbing


Dr. Alimuddin, S.Pi, M.Sc
NIDN.0003017007



**KOIPROTECTOR: PROTECTOR KOI FISH-BASED VACCINATION
THROUGH THE INJECTION OF DNA VACCINES AS A PRECAUTION
AGAINST HERPES VIRUS DISEASES OF KOI**

Riyan Maulana¹⁾, Raditya Wahyu Prihartanto²⁾, Aliyah Sakinah³⁾, Shella Marlinda⁴⁾, M. Restya Naufal⁵⁾

¹Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor (Penulis 1)

Email : riyanmaulbdp47@gmail.com

ABSTRAK

Koi fish is one type of freshwater fish that has economic value because it has its own charm on her complexion so it's worth the high selling. Infection is a disease that KHV is very serious about attacking the goldfish and koi fish, these diseases can cause mass mortality of 80-95% of the total population. One of the KHV outbreaks prevention efforts in Indonesia may be through vaccination using DNA vaccines. Based on the results of the research that has been conducted on the dosage given on treatment of 107 and 106 yields the same survival rate of 85% and 100%. Whereas, in doses of 100 resulted in a survival rate of 50-67%. While positive control treatment resulted in the survival rate by 28%, and for negative control yielding a survival rate of 85-100%.

Key words: *Koi, KHV, DNA, vaccines, survival*

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Ikan koi adalah salah satu jenis ikan air tawar yang memiliki nilai ekonomis karena memiliki daya tarik tersendiri pada corak tubuhnya sehingga bernilai jual tinggi. Akan tetapi kegiatan budidaya ikan koi tak lepas dari serangan hama dan penyakit, salah satunya adalah penyakit KHV (koi herpes virus) yang dapat menyebabkan kematian massal. Upaya penanggulangan wabah KHV telah dilakukan dengan menggunakan bahan kimia, tetapi kurang efektif karena hanya mengatasi infeksi sekunder oleh bakteri, fungi, atau parasit. Upaya yang lebih tepat untuk dilakukan pencegahan dengan menggunakan vaksin DNA. Sebuah konstruksi vaksin DNA untuk KHV dibuat dan telah diuji aktivitasnya melalui injeksi pada ikan mas. Adapun kelebihan vaksin DNA adalah vaksin DNA dapat dilakukan diberbagai jaringan koi. Hal ini berkaitan isu GMO (*genetically modified organism*) yang sedang berkembang dimasyarakat. Penelitian ini diharapkan membuktikan bahwa DNA asing (vaksin DNA) yang dimasukkan kedalam ikan akan mengalami degradasi setelah waktu tertentu dan hilang dalam tubuh ikan itu sendiri sehingga aman untuk dikonsumsi.

2. Rumusan Masalah

Kerugian akibat serangan KHV mempengaruhi agregat produksi ikan koi di Indonesia hingga saat ini. Hal tersebut dikarenakan serangan KHV sangat ganas dan dapat menyebabkan kematian massal (80-95%) dan kerugian dari segi materi ekonomi dalam jumlah yang besar. Upaya pencegahan untuk meningkatkan daya tahan tubuh ikan menjadi salah satu alternatif pengendalian terhadap serangan KHV. Pengendalian dapat dilakukan melalui karantina terhadap pemasukan-pemasukan ikan baru. Meskipun demikian karantina tidak menjamin ikan tersebut bebas dari virus. Hal ini disebabkan metode yang ada untuk mendeteksi virus masih terbatas dan virus masih dapat hadir dalam tubuh inang tanpa menunjukkan gejala klinis. Terkait dengan kondisi tersebut, salah satu solusi permasalahan serangan KHV di Indonesia adalah pencegahan melalui vaksinasi menggunakan vaksin DNA.

3. Tujuan

1. Menganalisis distribusi vaksin DNA pada beberapa organ yang diberikan melalui injeksi bakteri mengandung vaksin DNA
2. Mendapatkan frekuensi vaksinasi yang menghasilkan jumlah copy vaksin

DNA pada masing-masing organ

3. Mendapatkan dosis vaksin yang menghasilkan kelangsungan hidup ikan yang tinggi.

4. Luaran

Berupa kegiatan aplikasi vaksin DNA dalam upaya pencegahan penyakit Koi Herpes Virus (KHV) yang sering menyerang ikan koi (*Cyprinus carpio*).

5. Kegunaan

Hasil dari penelitian ini dapat digunakan untuk upaya pencegahan penyakit koi herpes virus yang sering menyerang ikan koi (*Cyprinus carpio*) serta untuk menanggulangi wabah penyakit KHV yang sering menyebabkan kematian massal bagi ikan koi.

METODE

1. Pembuatan Vaksin DNA

Konstruksi vaksin DNA KHV yang digunakan dalam penelitian ini dibuat oleh Nuryati *et al.* (2010). Konstruksi vaksin tersebut terdapat dalam bakteri *Escherichia coli* DH5 α dan disimpan dalam *deep freezer* -80°C.

Bakteri yang telah diinkubasi selanjutnya diambil dari *deep freezer* lalu secara aseptik bakteri dibiakkan dalam media 2xYT padat yang diberi ampisilin (100 ug/ml atau 20 ul/cawan), IPTG (20 mg/ml) sebanyak 20 ul/cawan dan X-Gal sebanyak 20 ul/cawan. Cawan diinkubasi *overnight* selama 16-24 jam pada suhu 37°C. Bakteri yang tumbuh diperbanyak dalam 15 ml media 2xYT cair yang diberi ampisilin sebanyak 15 μ l. Bakteri diinkubasi menggunakan *shaker incubator* selama 16-18 jam pada suhu 37°C.

2. Pemberian Vaksin Menggunakan Metode Injeksi

Bakteri yang mengandung vaksin DNA yang akan digunakan untuk perlakuan, terlebih dahulu diinaktivasi menggunakan suhu 80°C. Sebanyak 15 ml kultur bakteri diendapkan dalam *microtube* bervolume 1,5 ml dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Endapan bakteri selanjutnya disuspensi menggunakan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak 1 ml, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm. Proses resuspensi dengan PBS tersebut dilakukan sebanyak 2 kali. Langkah selanjutnya, bakteri disuspensi menggunakan

formalin 3,7% dan disentrifugasi kembali dengan kondisi yang sama, kemudian diinkubasi pada suhu 4°C selama 16 jam. Setelah diinkubasi, bakteri kembali disuspensi dengan PBS dan disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan. Dosis yang diberikan adalah 10^8 cfu/ml, 10^6 cfu/ml, 10^4 cfu/ml, kontrol positif yaitu ikan yang disuntik virus, dan kontrol negatif yaitu ikan yang tidak diberi virus. Masing-masing perlakuan terdiri dari tiga kali ulangan.

3. Uji Tantang

Uji tantang dilakukan setelah 14 hari penyuntikkan vaksin. Uji tantang dilakukan untuk menguji efektivitas vaksin yang disuntikkan dengan menginjeksi virus KHV ke dalam tubuh ikan. Ikan-ikan perlakuan diuji tantang dengan menyuntikkan *filtrate* KHV. Ikan disuntik virus KHV dengan konsentrasi 10^{-3} secara intramuskular sebanyak 0,1 ml/ekor. Menurut Maswan (2009) dosis virus KHV yang digunakan pada penelitian ini merupakan dosis letal. Penggunaan dosis diatas LD-50 ini untuk mendapatkan tingkat virulensi virus yang lebih tinggi. Masa uji tantang untuk melihat gejala klinis dan kelangsungan hidup ikan yang diberi vaksin DNA dilakukan selama 14 hari. Tingkat kelangsungan hidup dilihat dari perbandingan jumlah ikan yang hidup dengan ikan yang mati lalu dihitung dengan menggunakan rumus :

$$SR = \frac{No}{Nt} \times 100\%$$

Nt = Jumlah ikan yang hidup

No = Jumlah ikan awal pemeliharaan

SR = *Survival rate* / tingkat kelangsungan hidup

Vaksin DNA sebagai pencegahan terhadap penyakit KHV telah berhasil dibuat berdasarkan metode yang dilaksanakan. Metode vaksinasi dilakukan secara injeksi dengan menginjeksi vaksin DNA pada bagian intra muskular yaitu pada bagian otot punggung di depan sirip dorsal ikan koi. Uji tantang dengan menggunakan virus KHV telah berhasil dilakukan. Virus KHV yang dibuat dari biakan KHV diinjeksi pada bagian yang sama yaitu bagian intra muskular. Uji tantang menggunakan virus KHV bertujuan untuk mengetahui efektivitas dari vaksin DNA yang diinjeksikan.

Tabel 1. Kelangsungan Hidup Ikan Koi (*Cyprinus carpio*)

| Dosis | Ulangan | | |
|-----------------|---------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 |
| 10 ⁸ | 100 % | 100 % | 85 % |
| 10 ⁶ | 85 % | 100 % | 100 % |
| 10 ⁴ | 71 % | 71 % | 57 % |
| K+ | 28 % | 0 % | 28 % |
| K- | 85 % | 100 % | 85 % |

2. Pembahasan

Dari penelitian tentang efektivitas vaksin DNA serta dosis yang tepat dalam memvaksinasi ikan uji yang telah dilakukan didapatkan dosis yang sesuai untuk pencegahan terhadap penyakit KHV serta tingkat kelangsungan hidup berdasarkan perlakuan vaksinasi. Penelitian ini menggunakan sistem Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan 3 kali ulangan serta menggunakan dua kontrol. Kontrol yang digunakan berupa kontrol positif serta kontrol negatif. Kontrol positif berupa ikan yang tidak divaksinasi namun diuji tantang menggunakan *filtrate* virus KHV. Kontrol negatif berupa ikan koi yang tidak di vaksin serta tidak diuji dengan *filtrate* KHV namun disuntik PBS (*Phosphate Buffer Saline*) untuk mengetahui kematian ikan bukan diakibatkan efek injeksi.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan pada dosis yang diberikan pada perlakuan 10⁸ dan 10⁶ menghasilkan tingkat kelangsungan hidup yang sama yaitu 85% dan 100%. Sedangkan pada dosis 10⁴ menghasilkan tingkat kelangsungan hidup sebesar 57-71%. Sedangkan pada perlakuan kontrol positif menghasilkan tingkat kelangsungan hidup sebesar 28%, dan untuk kontrol negatif menghasilkan tingkat kelangsungan hidup sebesar 85-100%.

Virus KHV yang digunakan untuk uji tantang diperoleh dengan mengisolasi virus dari ikan koi yang terserang penyakit lalu diambil bagian insangnya kemudian di isolasi virusnya. Uji tantang virus KHV bertujuan untuk melihat efektifitas dari vaksinasi yang dilakukan. Berdasarkan hasil penelitian vaksin yang diinjeksikan pada tubuh ikan bekerja dengan baik. Dosis yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh serta

tingkat kelangsungan hidup yang tinggi bagi ikan koi adalah dosis 10^8 dan 10^6 bila dibandingkan dengan kontrol positif. Dosis yang efisien untuk digunakan dalam vaksinasi adalah dosis 10^6 karena secara ekonomis lebih murah untuk diproduksi.

Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding untuk ikan yang tidak divaksinasi namun tetap diuji tantang menggunakan virus KHV. Sedangkan untuk kontrol negatif sebagai pembanding untuk ikan yang tidak divaksinasi serta tidak diuji tantang menggunakan virus KHV namun disuntik larutan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) untuk mengindikasikan bahwa ikan yang mati bukan efek dari injeksi yang diberikan pada ikan.

3. Hasil Pelaksanaan

Vaksin DNA telah berhasil dibuat, serta uji tantang telah selesai dilaksanakan. Pelaksanaan penelitian telah dilakukan 90% dan untuk uji analisis DNA akan dilakukan pada awal bulan Juni.

PERMASALAHAN DAN PENYELESAIAN

Beberapa permasalahan yang ditemui selama pelaksanaan kegiatan PKM ini adalah :

1. Masalah teknis

Ikan koi yang dipelihara mengalami kematian masal sebelum dilakukan penelitian. Penyebab kematian tersebut diduga ikan telah terjangkit KHV saat awal pembelian dari produsen, artinya ikan tersebut memang telah membawa (carrier) virus KHV. Penyelesaiannya yaitu dengan analisa DNA ikan koi baru melalui metode PCR sebelum dilaksanakan penelitian untuk mengidentifikasi apakah ikan terjangkit KHV atau tidak. Sulitnya menyesuaikan suhu yang dapat memicu aktifnya virus untuk tahap uji tantang, di mana suhu aktif virus adalah $\pm 20^{\circ}\text{C}$, sedangkan suhu laboratorium adalah 30°C . Penyelesaiannya yaitu dengan memindahkan akuarium pemeliharaan ke ruangan yang memiliki AC.

2. Masalah Administrasi

Pemeriksaan peta penyebaran vaksin DNA melalui metode PCR pada organ ikan yang telah divaksin dan diuji tantang, belum dilakukan karena terkendala dana yang besar, sehingga uji tersebut belum bisa dimulai. Penyelesaiannya yaitu dengan pembayaran uji di akhir kegiatan PKM, sehingga pada akhir bulan

Agustus ditargetkan uji PCR selesai dilaksanakan.

PENGUNAAN BIAYA

Rincian biaya yang telah digunakan adalah:

| No | Keterangan Kegiatan | Harga | Jumlah | Biaya |
|---|---------------------------------|------------|----------|--------------|
| Persiapan wadah dan pemeliharaan | | | | |
| 1 | - Akuarium (30x30x30 cm) | Rp 60.000 | 12 | Rp 720.000 |
| | - Set Aerasi | - | 15 set | Rp 320.000 |
| | - Baskom | Rp 10.000 | 2 | Rp 20.000 |
| | - Ikan Koi | Rp 1.000 | 200 | Rp 200.000 |
| | - Transportasi+Akomodasi | - | - | Rp 100.000 |
| | - Pakan ikan | Rp 8.000 | 3kg | Rp 24.000 |
| Pengujian ikan (Analisa DNA) | | | | |
| 2 | - PCR | Rp 225.000 | 6 sampel | Rp 1.350.000 |
| Pembuatan dan injeksi vaksin | | | | |
| 3 | - Syringe | Rp 3.000 | 10 | Rp 30.000 |
| | - Es Batu | Rp 1.000 | 5 | Rp 5.000 |
| | - Ikan <i>carrier</i> KHV | Rp 2.500 | 20 | Rp 50.000 |
| | - Pembuatan vaksin | - | - | Rp 500.000 |
| | - Pembuatan <i>Filtrate</i> KHV | - | - | Rp.300.000 |
| Total | | | | Rp 3.619.000 |

Sisa uang sebesar Rp. 7.181.000 akan digunakan untuk membayar ekstraksi DNA dan biaya Laboartorium lainnya.

DOKUMENTASI KEGIATAN



Pengambilan jaringan



Pencampuran reagen



Kegiatan Vortex



Alat Inkubator



Setting PCR



Kegiatan Penyifonan



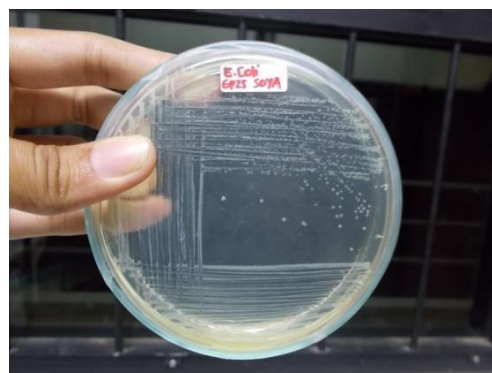
Persiapan Wadah



Pengecekan Suhu



Proses Kultur Bakteri



Hasil Kultur Bakteri



Pemberian Pakan



Kultur Media Cair



Injeksi Vaksin DNA



Injeksi Vaksin DNA

Nota keuangan

