

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra>

## DETEKSI PENYAKIT *SCALE DROP* PADA IKAN KAKAP PUTIH *Lates calcarifer* BLOCH

Isti Koesharyani<sup>\*)#</sup>, Agus Sunarto<sup>\*\*)</sup>, dan Ketut Sugama<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup> Pusat Riset Perikanan  
Gedung BRSDMKP II, Jl. Pasir Putih II, Ancol Timur, Jakarta Utara 14430

<sup>\*\*)</sup> CSIRO Australia  
Australian Animal Health Laboratory, Geelong, VIC 3220, Australia

(Naskah diterima: 23 Agustus 2019; Revisi final: 22 Juli 2020; Disetujui publikasi: 22 Juli 2020)

### ABSTRAK

Ikan kakap putih *Lates calcarifer* BLOCH sudah banyak dibudidayakan baik dalam bak di daratan ataupun dalam karamba jaring apung (KJA) di laut. Pada tahun 2010, terjadi kematian massal pada ikan kakap yang dipelihara dalam karamba jaring apung (KJA) di Batam dari ukuran 0,3 hingga 2 kg. Patogen penyebab kematiannya belum terkonfirmasi. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi dan menentukan jenis patogen penyebab kematian ikan kakap putih yang dibudidayakan dalam KJA. Analisis deteksi dan penentuan jenis patogen dilakukan dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR). Penyiapan sampel untuk analisis PCR diambil dari organ internal ikan kakap yang sakit, berupa limfa, ginjal, mata, dan otak yang diawetkan dalam larutan etanol 90%. Analisis PCR dilakukan menggunakan dua jenis primer spesifik megalocytivirus yaitu *red sea bream iridovirus* (RSIV) and *scale drop disease* (SDD). Hasil analisis menunjukkan adanya band spesifik pada 643 base pair (bp), yang berarti terkonfirmasi positif terinfeksi oleh SDD yang disebabkan oleh novel megalocytivirus dan ini merupakan kasus pertama terjadi di Indonesia, namun negatif terhadap infeksi RSIV. Analisis separasi susunan nukleotida melalui sekuensing, menunjukkan bahwa SDD dari sampel ikan kakap dari KJA Batam mirip 100% dengan SDDV yang berasal dari Singapura yang tersimpan di *GenBank* dengan nomor aksesori KRI.139659. Dari hasil penelitian ini terkonfirmasi bahwa virus *scale drop disease* adalah penyebab kematian massal ikan kakap dalam KJA di Batam. Untuk menghindari penyebaran virus SDD ke daerah lain di Indonesia disarankan untuk tidak menggunakan induk dan benih ikan kakap yang berasal dari Batam dan Singapura.

**KATA KUNCI:** *Lates calcarifer*; *polymerase chain reaction* (PCR); *scale drop disease* (SDD)

**ABSTRACT:** *Detection of scale drop disease of sea bass, Lates calcarifer Bloch. By: Isti Koesharyani, Agus Sunarto, and Ketut Sugama*

*Seabass, Lates calcarifer Bloch has been widely cultured in various land-based and marine farming systems. In 2010, widespread mass mortality of cultured seabass had occurred in floating fish cages in Batam coastal waters, particularly affecting the cultured fish sized between 0.3 and 2.0 kg. The pathogen suspected to cause the mortality has not yet been confirmed. The aim of this study was to determine and detect the pathogen that causes the fish mortality. Polymerase chain reaction (PCR) method was used in this research. The initial research stage involved the collection of the tissues of internal organs such as spleen, kidney, eye, and brain from the moribund fish and preserved in 90% ethanol solution. The PCR analysis was performed using two pair specific primers of megalocytivirus, red sea bream iridovirus (RSIV), and scale drop disease (SDD). The result of the analysis showed that the specific band appeared at 643 base pair (bp), confirming the positive infection of SDD belonged to the novel megalocytivirus. This research finding is the first report of the occurrence of novel megalocytivirus in Indonesia despite the negative detection of RSIV infection. The subsequent analysis of nucleotide structures by sequencing revealed that the Batam SDD had a 100% similarity to that of Singapore SDDV reported at GenBank with the accession number of KRI.139659. The present results confirmed that the pathogen infecting the cage culture of seabass in Batam is the SDD virus and caused high mortality rate. This*

---

# Korespondensi: Pusat Riset Perikanan.  
Gedung BRSDMKP II, Jl. Pasir Putih II, Ancol Timur, Jakarta Utara  
14430, Indonesia  
Tel. + 62 21 64700928  
E-mail: [istisugama@yahoo.com](mailto:istisugama@yahoo.com)

research recommends prohibiting the use of broodstock and seed of seabass from either Batam or Singapore in order to avoid the spread of the SDD virus to other seabass mariculture areas in Indonesian.

**KEYWORDS:** *Lates calcarifer*; **polymerase chain reaction (PCR)**; **scale drop disease**

## PENDAHULUAN

Ikan kakap *Lates calcarifer* Bloch merupakan komoditas budidaya yang diprioritaskan oleh Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP), mengingat kebutuhan pasar dunia yang cukup tinggi terutama berupa *fillet*. Budidaya ikan kakap ini dilakukan di karamba jaring apung (KJA) *offshore* untuk memproduksi ikan berukuran besar (>2 kg). Teknologi pengembangan KJA *offshore* ini diadopsi dari negara Norwegia untuk budidaya salmon yang akan diaplikasikan untuk budidaya massal kakap. Dengan adanya program tersebut tentu akan banyak dibutuhkan benih kakap yang berkualitas. Budidaya harus dilakukan sesuai dengan *better management practices* (BMP), sehingga kendala infeksi penyakit dapat dicegah. Penyakit dapat terjadi bila lingkungan hidup ikan tidak seimbang. Penyakit pada budidaya ikan laut yang sering ditemukan sangat beragam mulai dari infeksi virus, bakteri, dan parasit (Mahardika *et al.*, 2018a; 2018b; 2018c; Koesharyani *et al.*, 1999a; 2001). Tetapi golongan infeksi virus adalah yang sangat berbahaya dan mematikan, serta sangat sulit dikendalikan. Di Indonesia ada dua jenis virus yang sudah terbukti menimbulkan kerugian yang tidak sedikit, serta mematikan yaitu *viral nervous necrosis* (VNN) dan megalocytivirus, yang mana kedua patogen tersebut sampai saat ini masih sering ditemukan pada kegiatan budidaya ikan laut (Koesharyani *et al.*, 1999b; 2001, 2004; Mahardika *et al.*, 2014; Zafran *et al.*, 1998; Novriadi *et al.*, 2015; Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL), 2018). Khusus untuk penyakit pada kakap yang perlu diwaspadai adalah infeksi virus terutama serangan VNN yang dapat menimbulkan kematian baik pada stadia benih maupun pada pembesaran (Zafran *et al.*, 1998; Koesharyani *et al.*, 2001; Ransangan & Manin, 2010). Kemudian megalocytivirus yang merupakan salah satu genera dari iridovirus diketahui menginfeksi lebih 30 jenis ikan budidaya laut, payau maupun tawar, serta ikan hias (Koesharyani *et al.*, 2001; Koesharyani & Gardenia, 2013; Zainathan *et al.*, 2017; OIE, 2019). Adapun phylogeni iridovirus terbagi menjadi lima genera yaitu (ranavirus, megalocytivirus, lymphocystivirus) yang menginfeksi berbagai golongan vertebrata dan (iridovirus dan chloriridovirus) yang menginfeksi golongan invertebrata (Williams *et al.*, 2000 dalam Heather *et al.*, 2010; Kurita & Nakajima, 2012). Sedangkan kasus penyakit infeksi bakteri didominasi dari golongan *Vibrio* sp. dan infeksi parasit didominasi oleh ekto

parasit (Koesharyani *et al.*, 2004; Dong *et al.*, 2017; Ransangan *et al.*, 2012). Kasus kematian massal budidaya ikan kakap pernah terjadi pada KJA laut di Batam pada tahun 2010 dengan jumlah kematian mencapai 30%. Ikan kakap yang sakit terlihat kulit berwarna gelap, tetapi gejala klinis yang sangat khas pada hampir semua ikan yang sakit yaitu sisiknya terlepas *scale droop*. Penyakit ini menyerang ikan kakap dari ukuran kecil sampai ikan besar yang dibudidayakan. Kasus *scale drop syndrome* (SDS) atau sisik yang terlepas ini pertama kali dilaporkan terjadi pada budidaya ikan kakap *L. calcarifer* di Penang pada tahun 1992 (de Groof *et al.*, 2015). Mengingat ancaman, serta kerugian ekonomi akibat serangan penyakit SDS maka dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mendeteksi dan menentukan jenis patogen penyebab penyakit sisik lepas pada ikan kakap di Batam dengan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

## BAHAN DAN METODE

### Sampel Ikan

Sebanyak 14 ekor sampel kakap putih *L. calcarifer* yang terinfeksi secara natural (menunjukkan gejala sakit) dikoleksi dari pembudidaya KJA di Pulau Murai Batu, Batam, Kepulauan Riau, pada saat terjadi wabah kematian massal. Ukuran bobot ikan berkisar antara  $\pm$  300-500 g. Ikan sakit diindikasikan dengan gejala sisik terlepas pada bagian badan. Dari semua sampel ikan diambil bagian organ dalam berupa otak, mata, ginjal, limfa, dan hati; kemudian diawetkan dalam larutan 90% ethanol untuk dilakukan deteksi virus RSIV dan SDD dengan metode PCR menggunakan *spesifik primers*. Adapun spesifik primer yang digunakan tertera pada Tabel 1.

### Ekstraksi DNA

Sampel campuran organ dalam berupa limfa dan ginjal, sebanyak  $\pm$  25 mg diekstrak DNA-nya dengan *QIAamp DNA Mini Kit* (QIAGEN), ekstraksi dilakukan sesuai prosedur ekstraksi Kit. Setelah jaringan uji dihancurkan dengan ATL buffer, kemudian ditambahkan AL buffer dan ethanol (96%-100%). Selanjutnya larutan tersebut dipindahkan pada 2 mL *minispin column* dan *collection tube*, dan dilakukan pencucian dengan buffer AW1 dan AW2, lalu ditambahkan pelarut DNA sebanyak 200  $\mu$ L dengan AE buffer atau *distilled water*. Hasil ekstraksi DNA selanjutnya dilakukan penghitungan

Tabel 1. Sekuens primer yang digunakan dalam mendeteksi keberadaan jenis virus RSIV dan SDD pada kakap putih *Lates calcarifer* Bloch

Table 1. The sequence of primer pairs used to detect RSIV and SDD virus on seabass, *Lates calcarifer* Bloch

Jenis Virus <i>Type of viruses</i>	Susunan primer 5'~3' <i>Primers sequences 5'~3'</i>	Ukuran produk <i>Produk size (bp)</i>	Sumber <i>References</i>
RSIV	F: 5' CTC AAA CAC TCT ggC TCA TC' 3 R: 5' gCA CCA ACA CAT CTC CTA TC' 3	570	Kurita <i>et al.</i> (1998)
SDD (ORF)	F: 5' AAC TTC AgT AgC ggg Tg-3' R: 5' gAC TCA TCT CTA Cgg Tgg Cg-3'	643	Sunarto (2016) Komunikasi pribadi ( <i>personal communication</i> )

konsentrasi dan kemurnian DNA menggunakan Nanno Drop. Hasil ekstraksi DNA pada rasio  $\text{Å}_{260}/\text{Å}_{280}$  dengan nilai berkisar 1,8-2,1 yang selanjutnya akan digunakan untuk pengujian amplifikasi PCR (Sambrook & Russel, 1989). DNA yang telah diukur konsentrasinya kemudian diencerkan sehingga mendapatkan konsentrasi yang sama untuk selanjutnya digunakan dalam analisis PCR.

#### Amplifikasi Polymerase Chain Reaction (PCR)

Deteksi *red sea bream iridovirus* (RSIV). Amplifikasi PCR untuk deteksi RSIV menggunakan *master mix ready to go bead* yang merupakan campuran master mix yang berbentuk butiran *bead*. Master mix ini digunakan untuk amplifikasi PCR dengan menambahkan masing-masing 2  $\mu\text{L}$  primer *reverse* dan *forward* RSIV pada konsentrasi 10 pMol dan 2  $\mu\text{L}$  DNA uji pada konsentrasi  $\pm 50$  ng, serta *nucleic free water* (NFW) hingga volume 25  $\mu\text{L}$ . Selanjutnya campuran tersebut diamplifikasi menggunakan mesin *PCR thermo hybrid*, siklus amplifikasi dilakukan sebanyak 30 kali dengan denaturasi pada suhu 94°C selama 30 detik, annealing 58°C dan ekstensi 72°C masing-masing selama 60 detik, sedangkan proses *final extension* adalah 72°C selama lima menit. Selanjutnya dilakukan penyimpanan sementara pada suhu 4°C hingga dilakukan uji lebih lanjut (Kurita *et al.*, 1998).

Deteksi *scale drop disease* (SDD). Pada amplifikasi PCR untuk deteksi SDD digunakan super mix *invitrogen* dengan komposisi 22 mM Tris-HCl (pH 8,4); 55 mM KCl; 1,65 mM *magnesium chloride*; 220  $\mu\text{M}$  dGTP; 220  $\mu\text{M}$  dATP; 220  $\mu\text{M}$  dTTP; 220  $\mu\text{M}$  dCTP; 22 U/mL *recombinant Taq DNA Polymerase* dan *stabilizers*, sesuai protokol yang ada. *Primers specific* untuk deteksi SDD *forward* dan *reverse* (F/R) masing-masing sebanyak 0,5  $\mu\text{L}$  ditambahkan dengan konsentrasi 10 pMol, 2  $\mu\text{L}$  DNA uji dengan konsentrasi  $\pm 50$  ng dan ddH<sub>2</sub>O ditambahkan hingga volume 25  $\mu\text{L}$ . Campuran tersebut diamplifikasi pada mesin PCR *biometra T personal*, dengan proses pre-denaturasi pada suhu 95°C

selama lima menit, dilanjutkan 35 kali proses denaturasi pada suhu 95°C selama 30 detik, *annealing* 54°C selama 30°C detik dan *extension* pada suhu 72°C selama satu menit, sedangkan proses *final extension* adalah 72°C selama 10 menit. Penyimpanan sementara dilakukan pada suhu 4°C sampai akan dilakukan proses selanjutnya.

#### Elektroforesis

Produk PCR selanjutnya diseparasi menggunakan elektroforesis (Mupid-2 Plus/Submarine system) pada 1,5% agarose dan larutan penyangga (buffer) 1x Tris Acetic EDTA (TAE). Elektroforesis dilakukan selama 25 menit dengan aliran listrik 100 volt. Kemudian dilakukan pewarnaan gel dengan perendaman pada 0,05% *ethidium bromide* dan didokumentasikan menggunakan *GelDoc*.

#### Sekuensing DNA

Analisis sekuensing menggunakan hasil amplifikasi yang positif terinfeksi virus dilakukan di Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM), Jakarta. Sekuensing SDD dilakukan menggunakan sequencer ABI 3130 CE. Analisis blast menggunakan *software Neighbor-joining BIOEDIT MEGA Version 7*. Kemudian *similarity* sekuen nukleotida SDD atau *nucleotide sequence similarity* dilakukan dengan mencocokkan atau mensejajarkan DNA sekuens pada GenBank-BLASTN database (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

#### HASIL DAN BAHASAN

Kasus kematian massal pada budidaya ikan kakap terjadi di karamba jaring apung (KJA) di Pulau Murai Batu Kepulauan Riau. Gejala klinis yang sangat khas yaitu sisik rontok atau lepas *scale drop* serta terlihat perubahan warna tubuh ikan yang menjadi lebih gelap (Gambar 1) dan menyerang ikan dari ukuran 300 g sampai 2 kg. Kasus dengan gejala sisik rontok atau

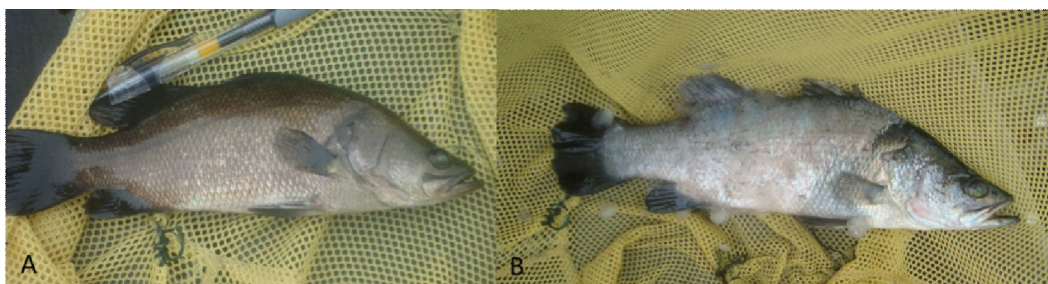
scale drop ini awalnya dilaporkan pernah terjadi di Singapura pada tahun 2002, 2006, dan 2009 yang menyerang budidaya ikan kakap *L. calcarifer* di KJA laut dengan ukuran 100 g hingga 300 g (Kueh *et al.*, 2012). Kemudian kasus yang sama terjadi di Penang, Malaysia; Indonesia; dan Vietnam (Dong *et al.*, 2017; de Groof *et al.*, 2015; Senapin *et al.*, 2019). Penyakit tersebut awalnya diyakini disebabkan oleh sejenis infeksi bakteri *Tenacibaculum maritimum*, karena bakteri ini adalah mengakibatkan kerusakan pada kulit berupa ulserasi atau borok yang mengakibatkan sisik rontok (Herrera *et al.*, 2006). Kasus scale drop ini terus diamati karena kematiannya selalu massal dan masif, seperti penyakit yang umum disebabkan oleh infeksi virus.

Saat ini di Indonesia hanya ada dua jenis penyakit sangat berbahaya yang disebabkan oleh virus pada budidaya ikan laut, yang pertama adalah *viral nervous necrosis* (VNN), yang dilaporkan menyerang lebih dari 50 spesies umumnya ikan laut termasuk *European sea bass* (*Dicentrarchus labrax*), kerapu, kakap, dan ikan sebelah (OIE, 2019; Munday *et al.*, 2002; Sano *et al.*, 2011; Koesharyani *et al.*, 2001; Ransangan & Manin, 2010). Ada empat golongan kluster jenis VNN yang menyerang budidaya ikan yaitu, *striped jack nervous necrosis virus* (SJNNV), *tiger puffer nervous necrosis virus* (TPNNV), *burfin flounder nervous necrosis virus* (BFNNV), *Japanese flounder nervous necrosis virus*, dan *red-spotted grouper nervous necrosis virus* (RGNNV). VNN yang menyerang kakap (*L. calcarifer*) klasifikasinya termasuk ke dalam kluster VNN *red-spotted grouper nervous necrosis virus* (RGNNV) (Nishizawa *et al.*, 1997; Skliris *et al.*, 2001; Ransangan & Manin, 2010). Penyakit virus kedua yang menginfeksi ikan kakap adalah megalocytivirus *red seabream iridovirus* (RSIV), jenis virus ini dapat menyebabkan kematian terutama pada budidaya *red sea bream* (*Pagrus major*) dan dapat menginfeksi budidaya ikan laut

lainnya (OIE, 2019; Kawakami & Nakajima, 2002; Koesharyani *et al.*, 2001, Shinmoto *et al.*, 2009). Pada kasus kematian kakap di Batam ini awalnya dicurigai adanya infeksi *red seabream iridovirus* (RSIV) kemudian dilakukan analisis identifikasi dengan PCR menggunakan spesifik primer RSIV, hasilnya menunjukkan semua 14 sampel uji negatif terinfeksi oleh RSIV. Sebagai data tambahan bahwa hasil perhitungan konsentrasi dan kemurnian DNA yang digunakan pada panjang gelombang  $\text{Å}_{260}/\text{Å}_{280}$  memiliki nilai rasio 1,8-2,1 (Tabel 2), merupakan batas kemurnian yang biasa dipakai dalam analisis molekuler (Sambrook & Russel, 1989).

Hasil separasi DNA dengan elektroforesis pada pengujian megalocytivirus tidak menunjukkan adanya pita target sebesar 570 bp yang merupakan indikasi adanya infeksi RSIV, namun lebih banyak terlihat pita-pita tidak spesifik seperti tertera pada Gambar 2. Gambaran pada gel agarose yang *multiband* atau pita berganda tersebut diduga bahwa primer tersebut tidak spesifik dengan target patogen (SDD virus).

Penelitian yang dilakukan oleh de Groof *et al.* (2015) dan Kueh *et al.* (2012) melaporkan bahwa kasus SDD ini definitif disebabkan oleh infeksi sejenis virus. Pada hasil penelitian ini untuk mendeteksi SDD pada kakap putih dengan gejala sisik lepas atau *scale drop* menggunakan primer ORF60-F (5'-AACTTCAGTCAGAGCGGGTG-3') dan ORF60-R (5'-GACTCATCTCTACGGTGGCG-3'). Primer ini didesain dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> (Gambar 3) dengan target berat molekul 643 bp (Sunarto, 2016, personal komunikasi). Hasil sekuense konstruksi primer yang disejajarkan dari genbank terlihat bahwa primer *forward* identik dengan susunan nukleotida SDD pada awal (5') dari ORF60 48897-5025. Sementara, pada konstruksi primer *reverse* susunan nukleotida sesuai dengan penyejajaran pada ujung (3'). Hal ini menunjukkan bahwa sekuense primer bersifat *specific* untuk deteksi SDD.



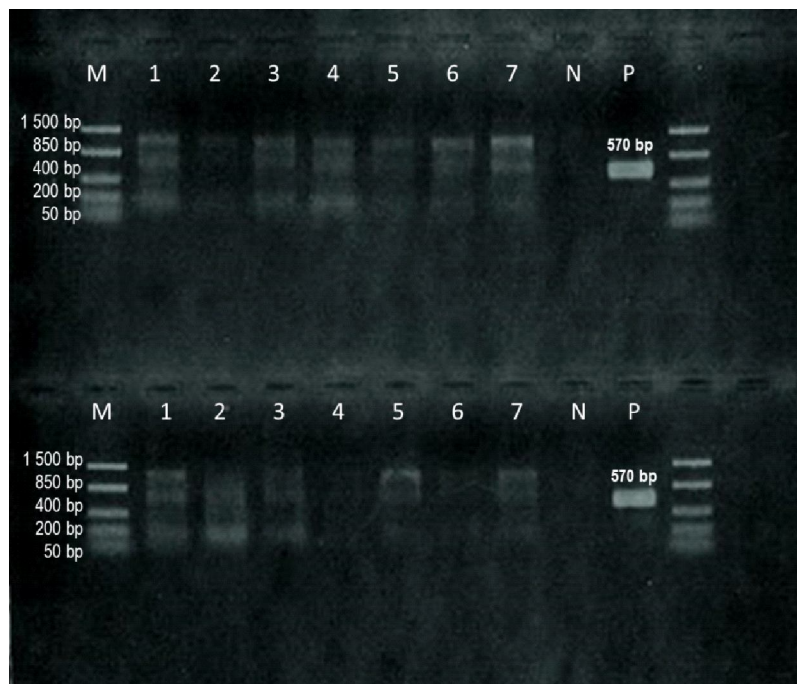
Gambar 1. Gejala klinis penyakit scale drop pada ikan kakap *Lates calcarifer* hasil budidaya KJA di Pulau Murai Batu di Batam. (A) warna tubuh gelap, (B) sisik rontok.

Figure 1. Clinical symptoms of scale drop disease on seabass, *Lates calcarifer* cultured in floating net cage in Murai Batu Island at Batam. (A) dark body coloration, (B) scale drop.

Tabel 2. Konsentrasi dan kemurnian DNA hasil ekstraksi untuk analisis PCR RSIV dan SDD pada kasus kematian massal ikan kakap *Lates calcarifer* yang dibudidayakan di karamba jaring apung

Table 2. Concentration and purity of extracted DNA of RSIV and SDD for PCR analysis to determine the cause of mass mortality on cultured seabass, *Lates calcarifer*

Sampel Samples	Konsentrasi DNA Concentration DNA	Kemurnian Å260/Å280 Purity Å260/Å280
1	314.7	1.91
2	89.6	1.94
3	415.4	1.90
4	355.8	1.91
5	87.3	2.03
6	191.8	1.94
7	243.7	1.90
8	411.3	1.91
9	433.0	1.90
10	436.9	1.94
11	521.3	1.88
12	217.7	1.95
13	193.7	1.96
14	223.3	1.95



Gambar 2. Hasil amplifikasi PCR untuk deteksi megalocytivirus *red seabream iridovirus* (RSIV) pada ikan kakap *Lates calcarifer*. M: 100 bp DNA low range marker (50, 200, 400, 850, dan 1.500 bp). 1-7: sample ikan; N: kontrol negatif; P: kontrol positif.

Figure 2. PCR amplification to detect megalocytivirus *red seabream iridovirus* (RSIV) in seabass, *Lates calcarifer*. M: 100 bp DNA low range marker (50, 200, 400, 850, and 1,500 bp); 1-7: fish samples; N: negative control; P: positive control.

```

ORF60 48897-5025 651 taacttcagtcagagcgggtgtcacgcttttccatgctcactttgtaaaaggtacagaaattgcattatcattagtgctttgagaatgagcaaatcctccaatctctcaatttaaaatgaattttaattc
ORF60-F 1 -aaacttcagtcagagcgggtg-----
ORF60-R -----

ORF60 48897-5025 781 attgtaaggtagtgctgcagtaggaagcagcaagtcacgtatcacgagtaagaagaacggaattggcagattgagatacttagatggcatagttgcattttgcacagtaacctccaaccaagtcagtg
ORF60-F -----
ORF60-R -----

ORF60 48897-5025 911 tatctatcatattagcatatcctgacgactttccaccgggaactgttacatgttgaccacaaaatcaagaactcactagtaaatagctgtgctgagatcgttaaatgagattgtaactcttgaacga
ORF60-F -----
ORF60-R -----

ORF60 48897-5025 1041 gattgtgcataaaaattgctggccatcttattgctgaatttcttagtatttttgagggctggaactttaacggcgaagccaaacattcataagatagtaacctctctgcccacaaccgctaaattc
ORF60-F -----
ORF60-R -----

ORF60 48897-5025 1171 ttgtccgaaatttgcagttcctgctttgttttagacagctgcacaggaagtttactgaaccaagaagatcgtgtagtttcacgcaagaagtaggtgattgaatcgccaccgtagagatgagtc
ORF60-F -----
ORF60-R 20 -----cgccaccgtagagatgagtc-----
    
```

Gambar 3. Desain penyelar primer untuk pengujian penyakit virus *scale drop disease* (SDD) pada kakap *Lates calcarifer* Bloch.

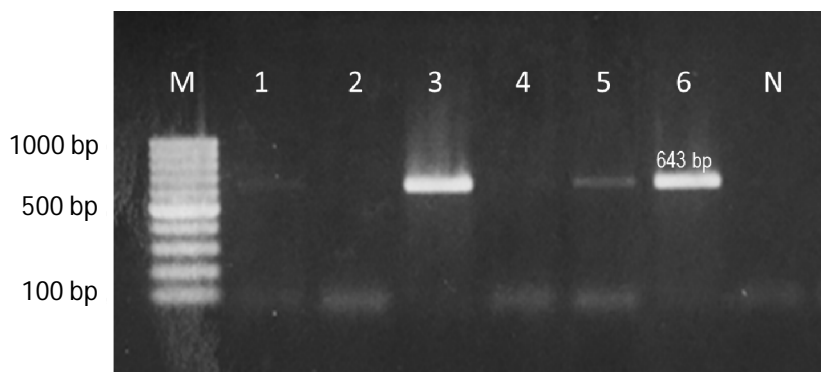
Figure 3. Design primers alignment to detect *scale drop disease* (SDD) virus in seabass, *Lates calcarifer* Bloch.

Berdasarkan dari hasil pengujian RSIV pada 14 DNA sampel uji, selanjutnya dilakukan pengujian SDD menggunakan enam sampel uji dengan sumber DNA yang sama (Tabel 3). Hasil deteksi yang diperoleh ternyata lima sampel uji positif terinfeksi SDD dan satu sampel terlihat terinfeksi ringan (pada sampel uji no. 2), dengan gambaran pita tunggal pada target sebesar 643 bp (Gambar 4), yang berarti primer ini spesifik digunakan untuk mendeteksi SDD.

Metode deteksi dengan PCR menggunakan primer spesifik SDD pada Gambar 4, nantinya dapat dijadikan acuan untuk pengujian SDD pada kakap yang mengalami kematian akibat infeksi SDD. Primer spesifik ini dapat menentukan penyebab kematian

kakap yang dibudidayakan pada KJA di Batam dan difinitif disebabkan oleh novel megalocytivirus (SDDV). Hasil ini dapat sebagai alternatif metode pengujian SDD; selain itu, deteksi SDD ini dapat juga menggunakan uji lain dengan metode *semi-nested* PCR yang telah dikembangkan oleh Charoenwai *et al.* (2019).

Kasus kejadian penyakit biasanya akan meningkat dalam kondisi budidaya intensif dengan kepadatan tinggi yang dapat cepat meningkatkan wabah dan penyebaran patogen. Kasus penyakit sisik rontok ini diduga baru ditemukan pada ikan kakap dan tidak terjadi pada budidaya ikan laut lainnya seperti kerapu, kerapu hybrid, bandeng, ataupun bawal bintang. Penyakit sisik rontok pada kakap ini disebabkan oleh



Gambar 4. Hasil amplifikasi PCR dengan menggunakan primer spesifik untuk mendeteksi *scale drop disease* virus (SDD) pada kakap *Lates calcarifer*. M: 100 bp DNA marker (100, 200, 300, 400, 500, ~ 1.000 bp); 1-6: sampel ikan, N: kontrol negatif.

Figure 4. PCR amplification by using specific primer for detection *scale drop disease* virus (SDD) in seabass, *Lates calcarifer*. M: 100 bp DNA marker (100, 200, 300, 400, 500, ~ 1,000 bp); 1-6: fish samples, N: negative control.

Tabel 2. Hasil deteksi RSIV dan SDD menggunakan metode PCR pada kasus kematian massal ikan kakap *Lates calcalifer* yang dibudidayakan di karamba jaring apung

Table 2. Detection results of RSIV and SDD by using PCR method on mass mortality on seabass *Lates calcalifer* culture in cage

Sampel Samples	Konsentrasi DNA Concentration DNA	Kemurnian $\text{Å}260/\text{Å}280$ Purity $\text{Å}260/\text{Å}280$
1	314.7	1.91
2	89.6	1.94
3	415.4	1.90
4	355.8	1.91
5	87.3	2.03
6	191.8	1.94
7	243.7	1.90
8	411.3	1.91
9	433.0	1.90
10	436.9	1.94
11	521.3	1.88
12	217.7	1.95
13	193.7	1.96
14	223.3	1.95

Keterangan (Note): NT= No tested; RSIV= red seabream iridovirus; SDD= scale drop disease

virus dan telah dibuktikan dengan pengujian *postulat Koch*. Jenis virus ini merupakan spesies baru dari Famili *iridoviridae* genus *megalocytivirus* (novel megalocytivirus) yang dapat diisolasi dan diperbanyak dengan metode kultur sel dan dapat menimbulkan *cytopathogenic* efek (CPE) pada jaringan sel ginjal dan otak Asian seabass (de Groof *et al.*, 2015). Virion dari virus ini berbentuk icosahedral dengan ukuran 140 nm yang merupakan ciri dari Famili Iridoviridae dan penyakit sisik rontok ini difinitif dinamai *scale drop disease virus* sesuai dengan gejala penyakit yang ditimbulkan (de Groof *et al.*, 2015).

Hasil analisis sekuensing untuk menentukan status genetik SDD yang ditemukan di Batam, ternyata mempunyai kemiripan 100% dengan SDD yang tersimpan di GenBank dengan *accession number* KR139659, yaitu SDD yang ada di Singapura. Hal ini dapat dilihat dari hasil *alignment* yang ditandai dengan tidak adanya garis penghubung antara *Query* (sekuen isolat sampel) dan *Sbjct* (sekuen referensi) dari GenBank yang tidak terekspresi di sepanjang 595 bp sekuen yang diuji. Di samping itu, kasus sisik rontok/lepas yang sering terjadi di Singapura memperkuat bahwa kasus kematian budidaya kakap di Batam penyebabnya adalah sama yaitu disebabkan oleh SDD. Hasil BLAST sekuen isolat SDD dibandingkan dengan sekuen dari GenBank dengan *accession number* KR139659 memperlihatkan kemiripan atau homologi

100% di sepanjang 595 bp (Gambar 5). Kemiripan ini juga sama seperti yang terjadi pada kasus infeksi SDD pada kakap yang terjadi di Thailand (Senapin *et al.*, 2019).

## KESIMPULAN

Hasil deteksi jenis patogen pada budidaya ikan kakap *Lates calcalifer* Bloch di karamba jaring apung (KJA) yang menyebabkan kematian baik pada ukuran besar dan kecil dengan gejala sisik lepas atau rontok, disebabkan oleh infeksi virus *scale drop disease* (SDD) dari novel megalocytivirus yang mempunyai kemiripan 100% dengan nomor aksesori KR139659

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada pembudidaya ikan kakap di Batam yang banyak membantu dalam mendapatkan sampel ikan sakit. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada peneliti dan teknisi di Laboratorium Instalasi Penelitian dan Pengembangan Perikanan Penyakit Ikan (IP4I) Depok, serta staf Badan Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BKIPM) yang membantu melakukan analisis PCR dan sekuensing nukleotida DNA.

## DAFTAR ACUAN

Charoenwai, O., Meemetta, W., Sonthi, M., Dong, Ha T., & Senapin, S. (2019). A validated semi-

Scale drop disease virus isolate C4575, partial genome  
 Sequence ID: KR139659.1 Length: 124244 Number of Matches: 1  
 Range 1: 49593 to 50180

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1086 bits(588)	0.0()	588/588(100%)	0/588(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 8	AGGTACAGAAAATTGCATTATCATTAGTGCCTTTGAGAAAATGAGCAAATCCTTCCAATCTCT				67
Sbjct 49593	AGGTACAGAAAATTGCATTATCATTAGTGCCTTTGAGAAAATGAGCAAATCCTTCCAATCTCT				49652
Query 68	CAATTTAAAATGAATTTTAAATTCATTGTAAGGTAGTGCCTGAGTAGGAAGAGCAAGTCC				127
Sbjct 49653	CAATTTAAAATGAATTTTAAATTCATTGTAAGGTAGTGCCTGAGTAGGAAGAGCAAGTCC				49712
Query 128	AGTATCACGAGTAAAGAAGAACGGAATTTGGCAGATTGAGATACCTTAGATGGCATAGTTGC				187
Sbjct 49713	AGTATCACGAGTAAAGAAGAACGGAATTTGGCAGATTGAGATACCTTAGATGGCATAGTTGC				49772
Query 188	ATTTTGCACAGTACCTCCAACCAAGTCATGAGTGTATCCTATCATATTAGCATATCCTGA				247
Sbjct 49773	ATTTTGCACAGTACCTCCAACCAAGTCATGAGTGTATCCTATCATATTAGCATATCCTGA				49832
Query 248	CGACTTTCACCGGGAACGTTACATGTTGACCAAAAATCAAGAACTCACTAGTAATAGT				307
Sbjct 49833	CGACTTTCACCGGGAACGTTACATGTTGACCAAAAATCAAGAACTCACTAGTAATAGT				49892
Query 308	CTGTGCAGTGCAGTTCGTTAAATGAGATTGTAACCTTCTTGAACGAGATTGTGCATAAAAT				367
Sbjct 49893	CTGTGCAGTGCAGTTCGTTAAATGAGATTGTAACCTTCTTGAACGAGATTGTGCATAAAAT				49952
Query 368	GTCGGTCCATCTTATGCTTGAATTTGCTTTAGTATTTTGGAGGCTGGAACTTTAACGCG				427
Sbjct 49953	GTCGGTCCATCTTATGCTTGAATTTGCTTTAGTATTTTGGAGGCTGGAACTTTAACGCG				50012
Query 428	AAGCCAAACATTCATAAGATAGTACCTCCTCTGGCCACAACCACGCTAAATTCCTGTCC				487
Sbjct 50013	AAGCCAAACATTCATAAGATAGTACCTCCTCTGGCCACAACCACGCTAAATTCCTGTCC				50072
Query 488	GAAATTTGCAGTTCTCTGTTTGTAGACAGCTGCACAGGAAGTTTACTGAACCAAGAAGA				547
Sbjct 50073	GAAATTTGCAGTTCTCTGTTTGTAGACAGCTGCACAGGAAGTTTACTGAACCAAGAAGA				50132
Query 548	TCGTGTAGTTTACGCAAGAAGTAGGTGATTGAATTATCGCCACCCTA 595				
Sbjct 50133	TCGTGTAGTTTACGCAAGAAGTAGGTGATTGAATTATCGCCACCCTA 50180				

Gambar 5. Hasil BLAST sekuen isolat SDD pada ikan Kakap *L. calcarifer* uji dibandingkan dengan sekuens dari GenBank dengan nomor aksesinya KR139659 yang memperlihatkan kemiripan atau homologi 100% di sepanjang 595 bp.

Figure 5. The BLAST results of sequences of SDD isolates from Seabass samples compared with the sequence from GenBank with the accession number of KR139659 showing similarity or homology of 100% along 595 bp.

nested PCR for rapid detection of *scale drop disease virus* (SDDV) in Asian sea bass (*Lates calcarifer*). *Journal Virological Methods*, 268, 37-41.

de Groof, Ad., Guelen, L., Deijs, M., van der Wal, Y., Miyata, M., Ng, K.S., van Grinsven, L., ....., & van derHoek, L. (2015). A novel virus causes scale drop disease in *Lates calcarifer*. *PLoS Pathog*, 11(8), e1005074. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005074>.

Dong, H.T., Taengphu, S., Sangsuriya, P., Charoensapsri, W., Phiwsaiya, K., Sornwatana, T., & Senapin, S. (2017). Recovery of *Vibrio harveyi* from scale drop and muscle necrosis disease in farmed barramundi, *Lates calcarifer* in Vietnam. *Aquaculture*, 473, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.005>.

Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL). (2018). Sebaran penyakit pada usaha budidaya ikan laut tahun 2018-tahun 2019 di Teluk Lampung. <https://bbpbl.djpb.kkp.go.id>.

Herrera, A.R., Toranzo, A.E., & Magarinos, B. (2006). Tenacibaculosis infection in marine fish caused by *Tenacibaculum maritimum*: A review. *Diseases of Aquatic Organisms*, 71, 255-266.

Heather, E.E., Brooke, A.R., & Craig, R. (2010). The genomic diversity and phylogenetic relationship in the family iridoviridae. *Viruses*, Viruses 2, 1458-1475. ISSN 1999-4915. DOI: 10.3390/v2071458. [www.mdpi.com/journal/viruses](http://www.mdpi.com/journal/viruses).

Kueh, G.S., Chee, D., Chen, J., Wang, Y.H., Tay, S., Leong, L.N., & Ferguson, H.W. (2012). The pathology of 'scale drop syndrome' in Asian seabass,



- Lates calcarifer* Bloch, a first description. *Journal of Fish Diseases*, 35, 19-27. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01319.x>.
- Koesharyani, I., Zafran, & Yuasa, K. (1999a). Two species of capsalid monogeneans infecting cultured humpback grouper *Cromileptes altivelis* in Indonesia. *Fish Pathology*, 34(3), 165-166. Short Communication.
- Koesharyani, I., Zafran, & Yuasa, K. (1999b). Deteksi viral nervous necrosis (VNN) menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) pada ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Desiminasi Teknologi Budidaya Laut dan Pantai*. Jakarta, hlm. 237-240.
- Koesharyani, I., Roza, D., Mahardika, K., Johnny, F., Zafran, & Yuasa, K. (2001). Manual for fish disease diagnosis-II. Marine fish and crustacean. Diseases in Indonesia. Gondol Research Institute for Mariculture, Central Research Institute for Sea Exploration and Fisheries, Departement of Marine Affair and Fisheries; and Japan International Cooperation Agency. ISBN-979-8186-8-S (English). 49 pp.
- Koesharyani, I., Mahardika, K., & Yuasa, K. (2004). Infeksi viral nervous necrosis pada benih ikan kerapu bebek, *Cromileptes altivelis*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10(2), 77-81.
- Koesharyani, I. & Gardenia, L. (2013). New megalocytivirus infected to the cultured fresh water giant gourami, *Osphronemus goramy* Lac. in Indonesia. *Indonesian Aquaculture Journal*, 8(1), 93-99.
- Kurita, J. & Nakajima, K. (2012). Megalocytiviruses. *Viruses*, 4, 521-538. Review. DOI: 10.3390/v4040521.
- Kurita, J., Nakajima, K., Hirono, I., & Aoki, T. (1998). *Polymerase chain reaction* (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathology*, 33(1), 17-23.
- Kawakami, H. & Nakajima, K. (2002). Cultured fish species affected by red sea bream iridovirus disease from 1996 to 2000. *Fish Pathol.*, 37, 45-47.
- Mahardika, K., Mastuti, I., & Haryanti. (2014). Effectivity of inactive GSDIV (grouper sleepy disease iridovirus) vaccine in grouper fish (*Cromileptes altivelis* and *Epinephelus fuscoguttatus*) against GSDIV infection. *Indonesian aquaculture Journal*, 8(2), 143-151. Indo:<http://dx.doi.org/10.15578/iaj.8.2.2013.143-151>.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Sudewi, & Zafran. (2018a). Identification and life cycle of marine leech isolated from cultured hybrid grouper in the Northern Bali waters of Indonesia. *Indonesian Aquaculture Journal*, 13(1), 41-49.
- Mahardika, K., Mastuti, I., Sudewi, Asih, Y.N., Muzaki, A., & Giri, I N.A. (2018b). Aplikasi vaksin bivalen (VNN Dan GSDIV) pada pemeliharaan larva ikan kerapu sunu, *Plectropomus leopardus*. *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(4), 337-346.
- Mahardika, K., Mastuti, I., & Zafran. (2018c). Intensitas parasit insang (Trematoda Monogenea: *Pseudorhabdosynochus* sp.) pada ikan kerapu hibrida melalui infeksi buatan. *Jurnal Riset Akuakultur*, 13(2), 169-177.
- Munday, B.L., Kwang, J., & Moody, N. (2002). Betanodavirus infections of teleost fish: A review. *J. Fish Dis.*, 25, 127-142.
- Nishizawa, T., Furuhashi, M., Nagai, T., Nakai, T., & Muroga, K. (1997). Genomic classification of fish nodaviruses by molecular phylogenetic analysis of the coat protein gene. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 1633-1636. 0099-2240/97/ \$04.0010.
- Novriadi, R., Agustatik, S., & Dwi, T.O.N. (2015). Identifikasi keberadaan viral nervous necrosis dan iridovirus pada budidaya ikan laut di wilayah kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Omni Akuatika*, 14(20), 54-62.
- OIE. (2019). Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals.
- Ransangan, J. & Manin, B.O. (2010). Mass mortality of hatchery-produced larvae of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch), associated with viral nervous necrosis in Sabah, Malaysia. *Veterinary Microbiology*, 145, 153-157. Short communication.
- Ransangan, J., Lal, T.M., & Al-Harbi, A.H. (2012). Characterization and experimental infection of *Vibrio harveyi* isolated from diseased Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Malaysian Journal of Microbiology*, 8(2), 104-115.
- Sano, M., Nakai, T., & Fijan, N. (2011). Viral diseases and agents of warm water fish. In *Fish Diseases and Disorders*, Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections 2nd edition. Woo, P.T.K. & Bruno, D.W. (Eds.). London, UK: CABI, p. 166-244.
- Senapin, S., Dong, H.T., Meemetta, W., Gangnonngiw, W., Sangsuriya, P., Vanichviriyakit, R., Sonthi, M., & Nuangsaeng, B. (2019). Mortality from scale drop disease in farmed *Lates calcarifer* in Southeast Asia. *J. Fish Dis.*, 42, 119-127. DOI: 10.1111/jfd.12915.
- Skliris, G.P., Krondiris, J.V., Sideris, D.C., Shinn, A.P., Starkey, W.G., & Richards, R.H. (2001). Phyloge-

- netic and antigenic characterization of new fish nodavirus isolates from Europe and Asia. *Virus Research*, 75, 59-67.
- Shinmoto, H., Taniguchi, K., Ikawa, T., Kawai, K., & Oshima, S-I. (2009). Phenotypic diversity of infectious red sea bream iridovirus isolates from cultured fish in Japan. *Applied And Environmental Microbiology*, p. 3535-3541.
- Sambrook, J. & Russel, D.W. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd edition. New York: Cold-Spring Harbor Laboratory Press, 165 pp.
- Zafran, Harada, T., Koesharyani, I., Yuasa, K., & Hatai, K. (1998). Indonesian hatchery reared seabass larvae (*Lates calcarifer*), associated with viral nervous necrosis (VNN). IV(1), 19-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.15578/ifrj.4.1.1998.19-22>.
- Zainathan, S.C., Ahmad, A.A., Johan, C.A.C., Halim, N.I.A., Ariff, N., Subramaniam, N., & Norizan, N. (2017). Detection and molecular characterization of megalocytivirus strain ISKNV in freshwater ornamental fish from Southern Malaysia. *AAFL Bioflux*, 10(5). <http://www.bioflux.com.ro/aafl>.