



Research Article

INTRASITOPASMIC INCLUSION BODIES OF HEPATOSIT, SYNCYTIAL CELLS IN BRAIN AND LIVER AS KEY TO IDENTIFICATION OF TILAPIA LAKE VIRUS (TiLV) BY USING HISTOPATOLOGICAL METHODS IN TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) WITH MOTILE AEROMONAS SEPTICEMIA (MAS) SECONDARY INFECTION

Bambang Setyo Sihananto¹, Endang Wijayanti²

¹Balai Perikanan Budidaya Air Tawar Mandiangin

Jl. Tahura Sultan Adam Km 14, Mandiangin Barat, Karang Intan, Banjar, Kalimantan Selatan 70661

²Balai Perikanan Budidaya Laut Batam

Pulau Setokok, Kecamatan Bulang, Kota Batam, Kepulauan Riau

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2024-06-11

Revised 2023-06-15

Accepted 2024-06-26

Keywords:

Histopathology, Intracytoplasmic Inclusions Body, tilapia (*Oreochromis niloticus*), Motile *Aeromonas Septicemia*, Tilapia Lake Virus, Syncytial cell

*)Corresponding Author:

e-mail:

bambang.dvm@gmail.com



CC BY 4.0

Some right reserved by:

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Cite this as

ABSTRACT

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) has high adaptability, and is easy to cultivate, which encourages tilapia cultivation in Indonesia to develop quite rapidly, one of which is tilapia cultivation using floating cages and floating net cages. In 2020, a disease with clinical symptoms similar to *Streptococcus agalactiae* bacterial infection was found, namely erosion of the eye lens, whitish lesions on the body surface and thinning of the dorsal and caudal fins in Floating Net Cage farmers in Tabalong Regency, South Kalimantan Province. After Polymerase Chain Reaction (PCR) and histopathology testing showed positive results for viral infection known as Syncytial Hepatitis of Farmed Tilapia (SHT)/Summer Mortality Syndrome (SMS)/One Month Mortality Syndrome (TOMMS) or better known as Tilapia Lake Virus (TiLV). Histopathological testing showed characteristic changes in the form of syncytial cells and intracytoplasmic body inclusions in hepatocytes, and syncytial cells in the brain. Polymerase Chain Reaction (PCR) testing showed positive results with a band size of 250 bp. Identification of bacterial disease showed positive *Aeromonas hydrophila* or known as Motile Aeromonas Septicemia (MAS).

1. PENDAHULUAN

Potensi perairan umum di Kalimantan Selatan cukup luas, yaitu sebesar 1,000,000 ha dengan tingkat pemanfaatan lahan budidaya karamba adalah sebesar 87.699 m² dengan produksi sebesar 26.915 ton (Dinas Penanaman Modal, dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu Provinsi Kalimantan Selatan, 2021). Produksi ikan nila di Kalimantan Selatan mampu mendorong penurunan inflasi sebesar 13.89 (% qtq) dengan andil sebesar 0.14 (% qtq) pada komponen makanan, minuman dan tembakau (Bank Indonesia, 2021). Selain mudah dibudidayakan, harga ikan nila di pasaran juga cenderung lebih stabil jika dibandingkan dengan ikan lain. Namun, budidaya ikan nila terutama dengan menggunakan karamba apung maupun karamba jaring apung (KJA) terkendala oleh faktor kualitas air yang fluktuatif dan juga masalah penyakit juga seringkali menyebabkan kerugian bahkan kegagalan.

Penyakit utama yang sering diidentifikasi pada ikan nila pada unit-unit karamba apung maupun karamba jaring apung (KJA) adalah Streptococosis yang disebabkan oleh *Streptococcus agalactiae*. Dengan gejala menciri adalah adanya *exophthalmia* dan erosi pada lensa mata serta *dropsy* pada bagian abdomen. Namun, beberapa negara seperti Kolombia, Mesir

(Fathi *et al.*, 2017; Kembou Tsofack *et al.*, 2017; Nicholson *et al.*, 2017), Thailand (Dong *et al.*, 2017a; Surachetpong *et al.*, 2017), Tionghoa Taipei, India dan Malaysia (Amal *et al.*, 2018; Behera *et al.*, 2018; OIE, 2017b, 2017c), Mesir (Fathi *et al.*, 2017), Malaysia (Amal *et al.*, 2018), dan Filipina (OIE, 2017) mengidentifikasi jenis penyakit virus baru yaitu *Orthomyxovirus like virus* yang menyebabkan *Syncytial Hepatitis of Farmed Tilapia* (SHT) dan merupakan penyakit virus penyebab gangguan pada produksi ikan nila secara global (Bacharach *et al.*, 2016; CGIAR, 2017; Eyngor *et al.*, 2014; FAO, 2017; OIE, 2017a) dan Genom parsial yang berasal dari Thailand menunjukkan kemiripan yang relatif tinggi terhadap galur yang berasal dari Israel (sekitar 97% identitas nukleotida) (Dong *et al.*, 2017).

Selain dikenal sebagai *Syncytial Hepatitis of Farmed Tilapia* (SHT), penyakit ini dikenal juga sebagai *Tilapia Lake Virus* (TiLV) dan *Summer Mortality Syndrome* (SMS) atau *One Month Mortality Syndrome* (TOMMS) (Del-Pozo *et al.*, 2017; Eyngor *et al.*, 2014; Fathi *et al.*, 2017; Ferguson *et al.*, 2014; OIE, 2017a; Tattiyapong *et al.*, 2017a). Penyakit yang pertama kali ditemukan di Equador dan Israel ini (Eyngor *et al.*, 2014; Ferguson *et al.*, 2014) terutama menyerang benih dan

ikan nila pada tahap pembesaran dengan *mortality rate* sampai dengan 90% (Dong *et al.*, 2017a; Eyngor *et al.*, 2014; Ferguson *et al.*, 2014; Surachetpong *et al.*, 2017). Ferguson *et al.* (2014), dan Dong *et al.*, (2017) melaporkan bahwa ikan nila pada tahap bibit (*fingerlings*) adalah yang paling terpengaruh. Fathi *et al.*, (2017) juga melaporkan bahwa kematian lebih dari 9% terjadi pada ikan nila berukuran sedang hingga besar.

Identifikasi penyakit ini selain menggunakan metode *polymerase chain rection* (PCR) (Dong *et al.*, 2017a) dapat juga dilakukan dengan menggunakan metode histopatologi (Rocha *et al.*, 1997; Eyngor *et al.*, 2014; Jansen *et al.*, 2018; Tattiyapong *et al.*, 2017; Senapin *et al.*, 2018; dan Dong *et al.*, 2017b). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perubahan histopatologi yang menciri pada ikan nila yang berasal dari Provinsi Kalimantan Selatan yang positif terinfeksi TiLV melalui uji PCR dengan infeksi sekunder *Aeromonas hydrophila* melalui uji biokimia dan uji API 20E.

2. METODOLOGI PENELITIAN

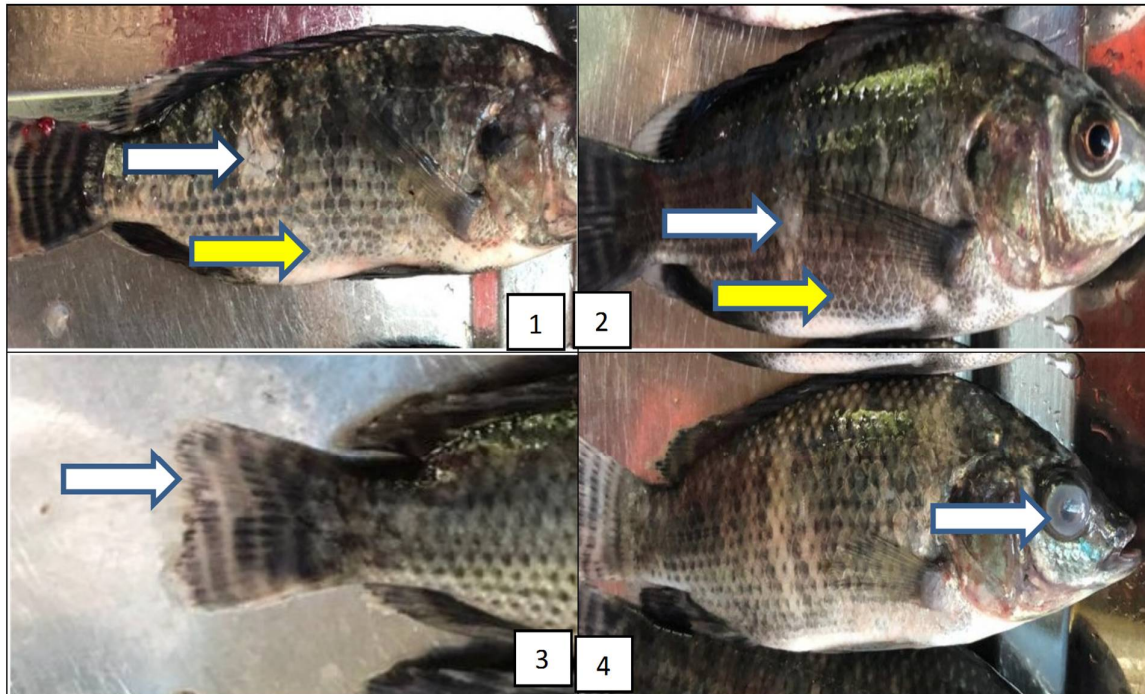
2.1. Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) uji

Tahun 2020, ditemukan kasus kematian pada ikan nila yang dibudidayakan pada Karamba Jaring Apung (KJA) di Desa Bongkang,

Kecamatan Haruai Kabupaten Tabalong Provinsi Kalimantan Selatan dengan gejala yang mirip dengan gejala yang ditimbulkan oleh infeksi *Streptococcus agalactiae* yaitu erosi pada lensa mata (katarak), lemah, berenang di permukaan, dan lesi keputihan pada permukaan tubuh. Etiologi yang tidak teridentifikasi dan tingkat kematian di atas 3% per hari selama 3-5 hari berturut-turut. Data kualitas air seperti suhu, oksigen terlarut, dan pH masing-masing tercatat $26,80 \pm 0,80$ °C, $5,5 \pm 0,4$ mgL⁻¹, $6,57 \pm 0,60$. Rerata berat ikan adalah 225 g (200-250 g) yang sebelumnya tidak memiliki catatan infeksi TiLV dan dibawa ke laboratorium dalam kantong plastik steril berisi air dengan pasokan oksigen yang memadai. Pemeriksaan klinis dan post-mortem dicatat.dengan baik.

2.2. Koleksi Ikan

Sebanyak 5 ekor ikan yang menunjukkan abnormalitas yaitu terisolasi dari kawanannya, kurus, lemah, berenang di dekat permukaan air, katarak, dan lesi keputihan pada permukaan tubuh dikumpulkan. Ikan-ikan tersebut segera di-eutanasia dengan anestesi berlebih (MS-222) dosis 250 mg/L dengan perendaman selama 30 menit (AVMA, 2020) dan kemudian dilakukan pemeriksaan post-mortem.



Gambar 2.1. Gejala klinis ikan nila yang terinfeksi oleh TiLV 1); 2). warna tubuh yang kusam (*discolouration*), sisik yang hilang (*loss of scales*) dan erosi pada sisik (*skin erosion*) (tanda panah putih), serta menunjukkan tanda kecurusan (tanda panah kuning); 3). geripis sirip ekor (tanda panah putih); 4). Menunjukkan peradangan pada selaput permukaan mata (katarak) (tanda panah putih).

2.3. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Sampel Ikan

Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan pada ikan yang menunjukkan gejala klinis berupa perubahan makroskopis pada permukaan tubuh. Otak, limpa, hati, dan ginjal dibedah secara aseptik. Isolasi dan identifikasi bakteri diambil dari usapan mata, ginjal, hati, dan limpa yang digoreskan langsung ke *Tryptic Soy Agar* (TSA) (Merck®, AS), diikuti dengan inkubasi pada suhu 30°C selama 24 Jam. Bakteri yang akan diidentifikasi disubkultur untuk mendapatkan koloni murni sebelum dilakukan uji pewarnaan gram, oksidase, dan katalase (Basri *et al.*,

2020). Identifikasi lebih lanjut dilakukan dengan menggunakan kit API®20E (BioMérieux™, Perancis) (Artati dan Oman, 2020).

2.4. Proses Jaringan dan Histopatologi

Organ visceral (limpa, hati, jantung, ginjal, dan otak) serta organ mata dari masing-masing ikan dikumpulkan dan difiksasi secara individual dalam etanol 95% untuk diagnosis TiLV dengan uji PCR. Organ hati, mata dan otak sesuai dengan pernyataan Eyngor *et al.*, (2014) difiksasi dalam *Neutral Buffer Formalin* 10% (Surgipath®, Jerman) untuk pengujian histopatologi. Jaringan yang diawetkan didehidrasi dengan cara diinkubasi dalam

etanol dengan konsentrasi bertingkat (70-100%) dan kemudian dipindahkan kedalam xylene secara otomatis dengan menggunakan alat *Automatic Tissue Processor* Leica® ASP 200S, Jerman. Jaringan disusupi dan direndam dalam parafin. Setiap jaringan yang tertanam dalam parafin secara berurutan dipotong dengan ketebalan 4 µm dan dipasang pada slide kaca objek menggunakan entellan (Merck®, AS). Pewarnaan slide dengan menggunakan pewarnaan rutin Mayer hematoxilin dan eosin (H&E). Pewarnaan slide menggunakan alat *automatic stainer* ST 5020 (Leica® Biosystems, Jerman). Semua organ utama termasuk hati, otak, limpa, dan mata diproses untuk analisis distribusi TiLV dalam organ. Otak, ginjal, hati, dan limpa ikan yang terinfeksi diawetkan dalam formalin buffer netral 10% (Surgipath®, Jerman) untuk analisis histopatologi (Genten *et al.*, 2009). Analisis histopatologi mengacu pada Dong *et al.*, 2017b; Senapin *et al.*, (2018); Mona *et al.*, (2018) dan Tattiyapong *et al.*, 2017.

2.5. Ekstraksi dan Deteksi RNA Virus

Organ ikan seperti otak, ginjal, hati, dan limpa dikumpulkan dan diawetkan dalam etanol 96% untuk ekstraksi dan deteksi RNA virus. Ekstraksi RNA menggunakan *test kit High Pure Viral Kit*. dengan pengambilan sampel organ sebanyak 25 mg, penambahan larutan 400

µl lysis/binding buffer dan dihancurkan menggunakan pastle. Penambahan Dnase 4 µl kemudian dihaluskan menggunakan pastle, selanjutnya sampel diinkubasi selama 15 menit pada suhu 15-25°C kemudian disentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 5 menit. Supernatan dipindahkan kedalam filter tube dan disentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Penambahan 500 µl *inhibitor removal buffer* kemudian dsentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit. Proses selanjutnya, penambahan 450 µl *wash buffer* pada *filter tube* kemudian di sentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 1 menit sebanyak dua kali. Selanjutnya, ditambahkan 100 µl *elution buffer* dan disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 1 menit. dan dilanjutkan kedalam tahap amplifikasi.

2.6. Amplifikasi RNA Virus

Amplifikasi TiLV dilakukan secara *double step* dengan menggunakan RNA kit. Step pertama pada amplifikasi TiLV menggunakan primer Ext-1 (10 µm) 5'-TAT-GCA-GTA-CTT-TCC-CTG-CC-3' dan Primer Me 1 (10 µm) 5'-GTT-GGGCAC-AAG-GCA-TCC-TA-3'.

Reaksi PCR menggunakan 2x *Promega Go Taq Green PCR master Mix* 12.5 µl; *Enzyme Reverse Transcriptase* AMV 0.5 µl; *Nuclease Free Water* 8 µl;

primer forward dan *reverse* masing-masing 1 µl, dan RNA *template* hasil ekstraksi 2.5 µl. Master mix dan RNA *template* digabung didalam tube 0.2 ml, dilanjutkan dengan uji PCR menggunakan *Thermal Cycler* dengan parameter siklusnya: *Reserve transcription* 50°C selama 30 menit, *Pre denaturasi* 94°C selama 2 menit, *denaturasi* 94°C selama 30 detik, *annealing* 60°C selama 30 detik, *ekstension* 72°C selama 30 detik, final *ekstension* 72°C selama 7 menit.

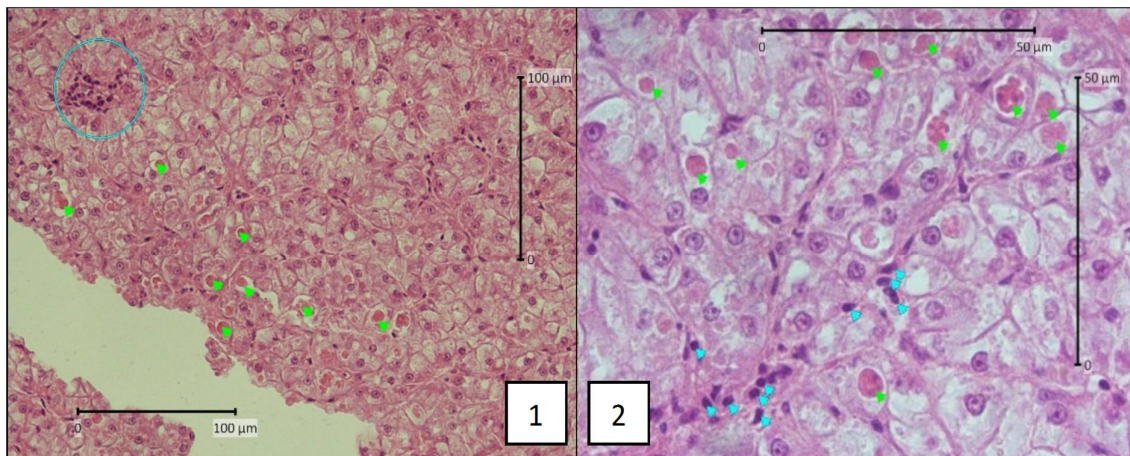
2.7. Elektroforesis

Volume sampel sebanyak 5 µl. Marker yang digunakan untuk proses elektroforesis, yaitu marker 100 bp dan arus 110 V selama 30 menit. Pembacaan hasil

(*Oreochromis niloticus*) berdasarkan Nurekawati *et al.*, (2023).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala klinis yang tampak sesuai dengan laporan pemerintah Australia (www.agriculture.gov.au) yang menemukan kematian pada ikan nila dengan gejala makroskopis yang dapat diamati secara kasat mata yaitu ikan yang terinfeksi secara alami menunjukkan perubahan warna dan penonjolan sisik serta perubahan warna tubuh (gelap atau terang); erosi kulit yang mengakibatkan lesi *dermal hemoragic*; tonjolan sisik; *Exophthalmus*



Gambar 2.2. 1). Inklusi bodi intracistoplasmik pada hepatosit hati (anak panah hijau), dan infiltrasi sel leukosit (lingkaran biru) (H&E, 10x); dan 2). Infiltrasi sel leukosit yang mengarah pada sel limfosit (anak panah biru), serta inklusi bodi intracistoplasmik pada hepatosit hati (anak panah hijau) (H&E, 40x).

elektroforesis dilakukan dengan bantuan UV Transluminator yang terhubung langsung dengan kamera. Pengujian molekuler TiLV pada ikan nila

(*popeye*) dan kekeruhan lensa mata (katarak), distensi abdomen (akibat cairan atau pembesaran limpa dan organ lain) serta dengan gejala lesu, kehilangan nafsu makan

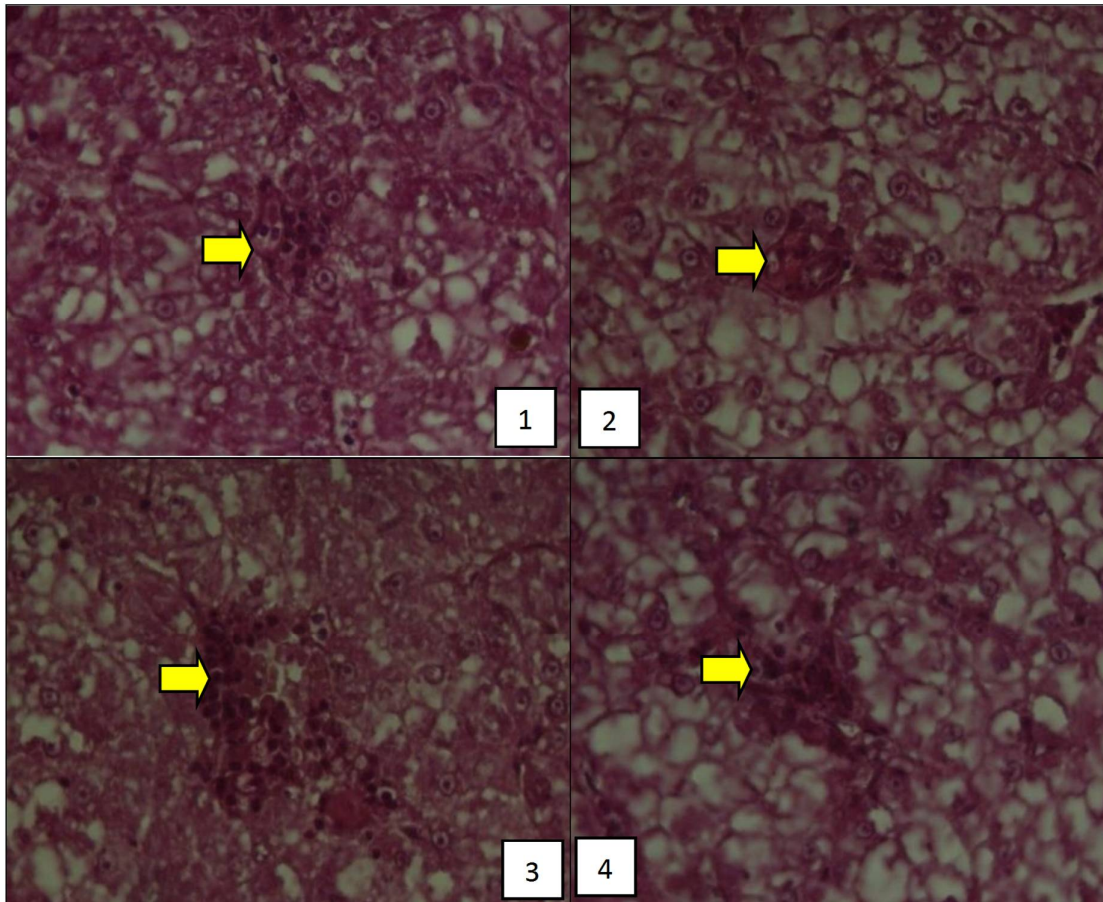
(anoreksia) dan gangguan pernapasan (bernafas di permukaan air).

3.1. Perubahan Histopatologi

1. Hati

Perubahan histopatologi yang ditemukan pada hati adalah adanya

hati adalah nekrosis fokal hepatosit dan infiltrasi sel inflamasi limfositik yang parah. Seringkali, hepatosit yang membengkak mengandung banyak inti (sel syncytial). Syncytial hepatitis adalah merupakan perubahan histopatologi yang

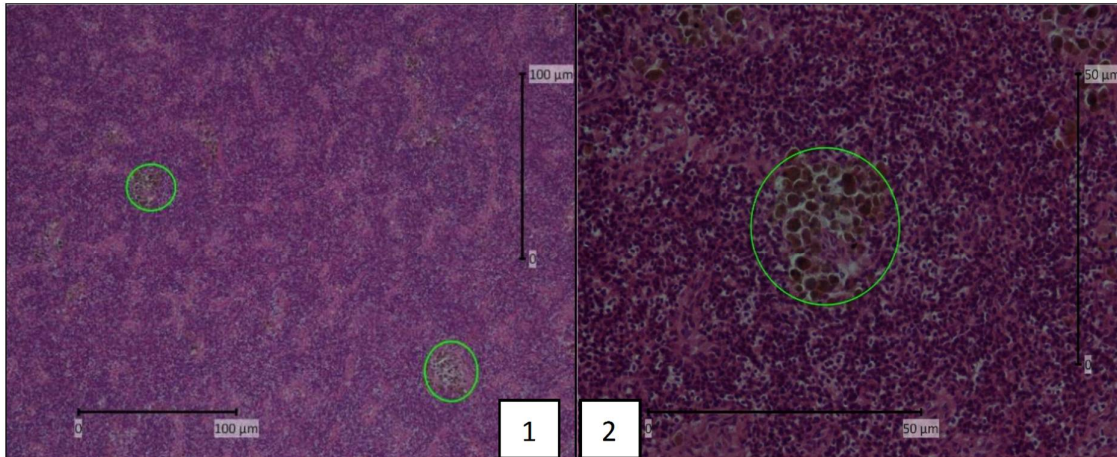


Gambar 2.3. 1);2);3);4). Histopatologi hati menunjukkan *Syncytial cell* (tanda panah kuning) (H&E, 40x)

Syncytial cell, inklusi body intrasitoplasmik dengan infiltrasi sel leukosit yang mengarah pada sel limfosit. Perubahan ini sesuai dengan pernyataan dari Rocha et al., (1997) dimana hepatosit ikan di beberapa area hati membesar secara tidak normal dan telah kehilangan bentuk polihedralnya yang biasa. Lesi penting lainnya yang diamati di

paling umum yang ditemukan pada kasus wabah TiLV (Mona et al., 2018).

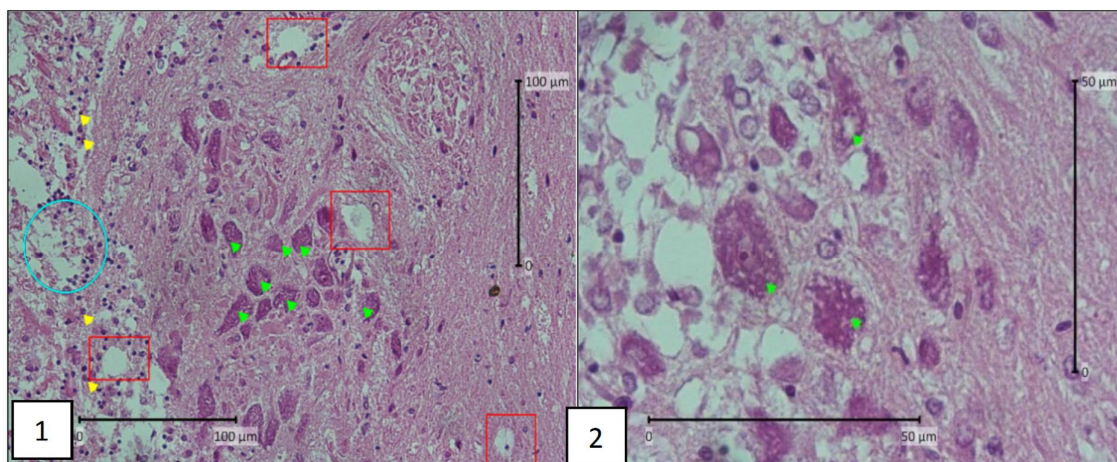
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Eyngor et al., (2014) lesi pembengkakan hepatoseluler juga ditemukan. Pusat melanomacrophage (MMC) meningkat dalam ukuran dan jumlah di hati.



Gambar 2.4. 1). Nekrosis pada limpa (lingkaran hijau) (H&E, 10x); 2). *Melanomakrofag center* (MMC) (lingkaran hijau) (H&E, 40x).

Pendapat yang diungkapkan oleh Tattiyapong *et al.*, (2017) yang menemukan perubahan berupa adanya inklusi bodi intracistoplasmik, nekrosis fokal pada hepatosit, infiltrasi sel-sel radang limfosit, hepatosit yang menyerupai *giant cells* yang mengandung nukleus *multiple* (Senapin *et al.*, 2018). Sedangkan menurut Dong *et al.*,

giant cells. Sedangkan lesi yang tidak menciri adalah (dapat bersifat lesi tunggal maupun kombinasi dari lesi berikut): adanya *intracistoplasmic inclusion bodies* (benda inklusi eosinofilik atau *lipoproteindroplets*), pengurangan dari sel penyimpanan lemak, disosiasi hepatosit, pankreas nekrotik and infiltrasi dari



Gambar 2.5. 1). Vakuolasi pada otak (tanda kotak merah), dan nekrosis pada otak (lingkaran biru) (H&E, 10x); 2). *Syncytial cell* pada otak (anak panah hijau) (H&E, 40x).

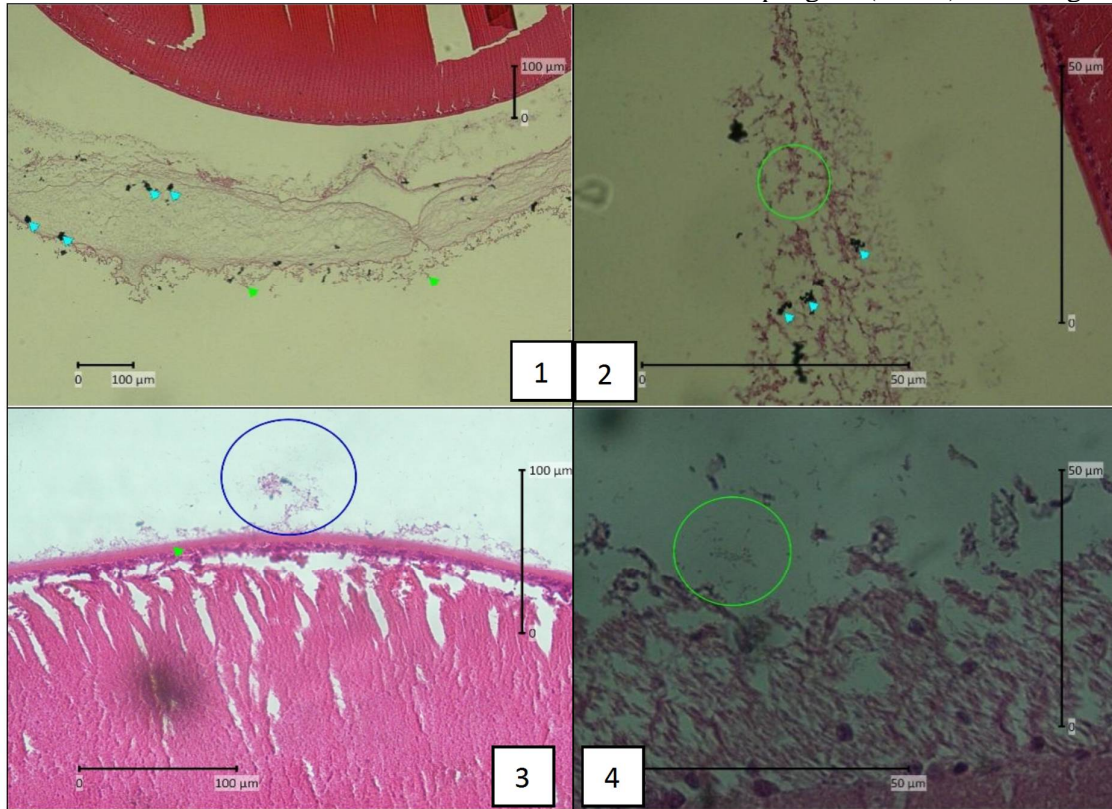
(2017b) lesi yang menciri adalah adanya *syncytial giant cell(s)* atau *multinucleated*

limfosit, hemoragi, nekrosis seluler, piknosis dan karioreksis, *foamy* sitoplasma,

hepatitis multifokal kronis (Dong *et al.*, 2017b).

2. Limpa

melano-makrofag. Temuan Eyngor *et al.*, (2014) adalah limpa hiperplastik, dengan limfosit yang berproliferasi. Pusat melanomacrophage (MMC) meningkat



Gambar 2.

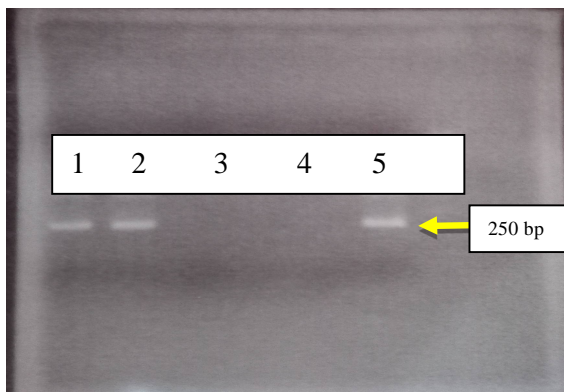
6. 1).Tampak PMA (*Pigmented Macrophage Aggregate*) (anak panah biru) dan koloni bakteri (anak panah hijau) pada mukus dalam vitreous humor (H&E, 10x); 2). Tampak PMA (*Pigmented Macrophage Aggregate*) (anak panah biru) dan koloni bakteri (lingkaran hijau) pada mukus pada vitreous humor; 3). Tampak koloni bakteri berbentuk batang pendek pada kapsul lensa (lingkaran biru) (H&E, 40x); 4). Tampak sel bakteri berbentuk batang pendek pada kapsul lensa (lingkaran hijau) (H&E, 100x).

Perubahan histopatologi pada limpa (*spleen*) adalah adanya peradangan serta yang cukup menonjol adanya peningkatan *Melanomakrofag center* (MMC) (gambar 3), hal ini sesuai dengan pernyataan Dong *et al.*, (2017b) yang menemukan degenerasi sel limpa, adanya makrofag bermuatan debris di dalam ellipsoid limpa, piknosis dan karioreksis, peningkatan jumlah pusat

dalam ukuran dan jumlah di limpa. Lesi lainnya termasuk kongesti limpa, hiperplastik, dengan limfosit yang berproliferasi.

3. Otak

Perubahan histopatologi yang ditemukan pada otak adalah syncytial cell pada otak, nekrosis, daerah radang, vakuolasi kongesti pembuluh darah otak, infiltrasi sel leukosit serta fibrosis pada otak. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Eynigor *et al.*, (2014) yang menemukan adanya perubahan pada otak berupa edema, perdarahan fokal pada leptomeninges, dan kongesti kapiler baik pada materi putih dan abu-abu serta degenerasi saraf serta adanya fokus gliosis dan sel limfosit perivaskular. Tatiyapong *et al.*, (2017) menemukan adanya kongesti sel limfosit perivaskular di



korteks otak, perdarahan multifokal & kongesti darah. Perubahan yang hampir

Gambar 7. Hasil pengujian TiLV dengan menggunakan metode PCR dengan ukuran pita 250 bp.

1: sampel +, 2: sampel +, 3: ddH₂O, 4: Kontrol positif, 5: Marker

sama ditemukan oleh Dong *et al.*, (2017) yaitu peradangan parah dengan infiltrasi limfosit masif, ensefalitis, perivaskular cuffing, kongesti darah atau kadang-kadang

perdarahan, seperti syncytia kadang-kadang terlihat. Hal ini membuktikan bahwa virus itu tersebar luas di seluruh otak (www.agriculture.gov.au).

4. Mata

Perubahan histopatologi yang ditemukan pada mata adalah infiltrasi leukosit dan nekrosis pada otot mata, adanya PMA (*Pigmented Macrophage Aggregate*) serta ditemukan bakteri pada lensa mata. Perubahan tersebut identik dengan perubahan yang dilaporkan oleh kementerian pertanian Australia (Agriculture. n.d.) yaitu peradangan mata termasuk endoftalmitis dan perubahan katarak pada lensa.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pierezan *et al.*, (2020) diketahui bahwa virus ini bereplikasi di organ hati, insang, limpa dan usus berkaitan dengan penyebaran dan perkembangan virus, dengan kelimpahan virus tertinggi terjadi pada hari ke-7 pasca ujiantang, diketahui juga bahwa jalur intestinal adalah merupakan pintu masuk utama bagi infeksi TiLV yang kemudian menyebar secara sistematis ke seluruh tubuh ikan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Eynigor *et al.*, (2014) lesi berat ditemukan pada mata termasuk perubahan okular, opasitas lensa dan dalam kasus lanjut lensa pecah.

5. Diagnosa penyakit bakterial

Koloni yang ditumbuhkan pada media berwarna krem, elevasi cembung serta tepinya halus. Hasil pewarnaan gram menunjukkan gram negatif berbentuk batang pendek. Hasil uji biokimia yaitu katalase positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara pada campuran H₂O₂ 3% dengan isolat bakteri, dan bersifat oksidatif dengan berubahnya warna kertas menjadi biru yang menandakan adanya enzim oksidase pada isolate bakteri. Isolat bakteri yang merupakan biak murni berumur 24 jam pada media TSA sebanyak 2 ose dilarutkan dalam 5 mL PBS dan dihomogenkan untuk pengujian dengan menggunakan API 20E. Suspensi yang dibuat kemudian didistribusikan dengan hati-hati agar tidak terbentuk gelembung udara yang berpengaruh terhadap hasil pengujian. Kemudian diinkubasi pada suhu 36⁰C selama 24 jam. Proses identifikasi diketahui dengan menggunakan *apiweb™ identification software*. Perbandingan warna pada Reading table dan acuan hasil positif dan negatif berdasarkan warna menunjukkan bahwa positif bakteri *Aeromonas hydrophila*.

6. Diagnosa TiLV melalui uji PCR

Uji PCR untuk deteksi TiLV dilakukan dengan menggunakan RNA total yang diekstraksi dari organ dalam ikan (hati). Hasil pengujian menunjukkan hasil positif dengan ukuran pita adalah 250 bp, hal tersebut sesuai dengan penelitian yang

dilakukan oleh Dong *et al.*, (2017a); Koesharyani *et al.*, (2018), dan Nurekawati *et al.*, (2023) yang melakukan pengujian dengan RT-PCR pada organ dalam ikan nila dewasa dan hasil positif pada pita dengan ukuran 250 bp.

Wabah alami infeksi TiLV terkait dengan kematian yang tinggi (20-90%) dilaporkan pada nila tahap fingerling dan juvenil (Behera *et al.*, 2018; Dong *et al.*, 2017a; Eyngor *et al.*, 2014; Ferguson *et al.*, 2014; Surachetpong *et al.*, 2017). Namun, kematian yang lebih rendah ditemukan di Mesir (9.2%), Cina Taipei (6.4%), dan Malaysia (0.71 dan 15%). Kasus yang terjadi sebelumnya diamati oleh Fathi *et al.*, (2017) menyerang pada ikan nila ukuran sedang hingga besar lebih dari 100 g. Di sisi lain, viral load yang terdeteksi tetapi rendah bisa menjadi indikasi keberadaan TiLV pada ikan nila sebagai karier atau pembawa atau merupakan infeksi kronis yang dapat menjadi sumber reservoir potensial untuk transmisi virus. Studi terbaru menunjukkan penularan TiLV melalui kohabitasi, penularan terjadi melalui lendir ikan yang terkontaminasi maupun melalui peralatan yang digunakan (Eyngor *et al.*, 2014; Liamnimitr *et al.*, 2018). Penurunan titer virus pada > 4 log₁₀ TCID₅₀ mL⁻¹ diperoleh dengan 20 ppm klorin dan 50 ppm yodium dengan waktu kontak hanya 30 menit dan diperlukan waktu hingga 24 jam untuk mencapai pengurangan virus

pada titer $> 4 \log_{10}$ TCID₅₀ mL⁻¹ dengan menggunakan 10 ppm klorin dan 25 ppm yodium.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan

Perubahan histopatologi ikan nila yang terinfeksi TiV pada hati adalah adanya infiltrasi sel leukosit yang mengarah pada sel limfosit, *Syncytial cell*, dan *inklusi body intrasitoplasmik*. Perubahan pada limpa (*spleen*) adalah adanya peradangan dengan peningkatan *Melanomakrofag Center* (MMC), pada otak adalah *syncytial cell* pada otak, nekrosis, daerah radang, vakuolasi kongesti pembuluh darah otak, infiltrasi sel leukosit serta fibrosis pada otak dan pada mata adalah infiltrasi leukosit dan nekrosis pada otot mata, adanya PMA (*Pigmented Macrophage Aggregate*) serta ditemukan bakteri berbentuk batang pendek pada lensa mata. Uji *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menunjukkan ukuran pita sebesar 250 bp. Hasil uji bakteri menunjukkan hasil positif *Aeromonas hydrophila*. *Syncytial cells* pada hati dan otak dan *inklusi body intrasitoplasmik* pada hepatosit merupakan perubahan yang menciri penyakit TiLV pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*).

4.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan terutama terkait mekanisme penularan,

serta strategi pencegahan yang paling tepat terutama potensi pengembangan vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- Amal, M.N.A., Koh, C.B., Nurliyana, M., Suhaiba, M., Nor-Amalina, Z., Santha, S., Diyana-Nadhirah, K.P., Yusof, M.T., Ina-Salwany, M.Y., Zamri-Saad, M., (2018). A case of natural co-infection of Tilapia Lake Virus and *Aeromonas veronii* in a Malaysian red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*) farm experiencing high mortality. *Aquaculture* 485, 12–16.
- Artati, D. & Oman, M. (2020). Identifikasi bakteri *Aeromonas hydrophila* menggunakan kit API 20E di laboratorium mikrobiologi BRPI Sukamandi. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 18 (1), 2020, 75-80.
- American Veterinary Medical Association. (2020). AVMA guidelines for the Euthanasia of animals 2020 Edition.
- Bacharach, E., Mishra, N., Briese, T., Zody, M.C., Kembou Tsofack, J.E., Zamostiano, R., Berkowitz, A., Ng, J., Nitido, A., Corvelo, A., Toussaint, N.C., Abel Nielsen, S.C., Hornig, M., Del Pozo, J., Bloom, T., Ferguson, H., Eldar, A., & Lipkin, W.I., (2016). Characterization of a novel orthomyxo-like virus causing mass die-offs of tilapia. *MBio* 7, e00431–00416.
- Badan Pusat Statistik. <https://www.bps.go.id/publication.html>. Diakses 12 Desember 2021.
- Bank Indonesia. <https://www.bi.go.id/simodis/publikasi>. Diakses 12 Desember 2021.

- Basri, L., Nor, R.M., Salleh, A., Yasin, I.S.M., Saad, M.Z., Rahaman, N.Y.A., Barkham, T., & Amal, M.N.A. (2020). Co-Infections of Tilapia Lake Virus, *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus agalactiae* in Farmed Red Hybrid Tilapia.
- Behera, B.K., Pradhan, P.K., Swaminathan, T.R., Sood, N., Paria, P., Das, A., Verma, D.K., Kumar, R., Yadav, M.K., Dev, A.K., Parida, P.K., Das, B.K., Lal, K.K., & Jena, J.K. (2018). Emergence of Tilapia Lake Virus associated with mortalities of farmed Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India. *Aquaculture* 484, 168–174.
- CGIAR, (2017). Penang, Malaysia: CGIAR Research Program on Fish Agri-food Systems. Factsheet: FISH-2017-03. Available at <https://www.worldfishcenter.org/content/tilapia-lake-virus-tilv-what-know-and-do>.
- Christiansen, D.H., Ostergaard, P.S., Snow, M., Dale, O.B., & Falk, K. (2011). A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV-HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) in the Faroe Islands. *J. Gen. Virol.* 92, 909–918.
- Cleasby, N., Schwarz, A.M., Phillips, M., Paul, C., Pant, J., Oeta, J., Pickering, T., Meloty, A., Laumani, M., & Kori, M. (2014). The socio-economic context for improving food security through land-based aquaculture in Solomon Islands: a pen-urban case study. *Mar. Policy* 45, 89–97.
- Cottet, L., Rivas-Aravena, A., Cortez-San Martin, M., Sandino, A.M., Spencer, E., 2011. Infectious salmon anemia virus—genetics and pathogenesis. *Virus Res.* 155, 10–19.
- Cusack, R.R., Groman, D.B., MacKinnon, A.M., Kibenge, F.S., Wadowska, D., & Brown, N. (2001). Pathology associated with an aquareovirus in captive juvenile Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* and an experimental treatment strategy for a concurrent bacterial infection. *Dis. Aquat. Org.* 44, 7–16.
- Del-Pozo, J., Mishra, N., Kabuusu, R., Cheetham, S., Eldar, A., Bacharach, E., Lipkin, W.I., Ferguson, H.W. (2017). Syncytial hepatitis of tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) is associated with orthomyxovirus-like virions in hepatocytes. *Vet. Pathol.* 54, 164–170.
- Dinas Penanaman Modal dan Pelayanan Terpadu Satu Pintu. <https://www.dpmpptsp.kalselprov.go.id/>. Diakses 12 Desember 2021
- Dong, H.T., Siriroo, S., Meemetta, W., Santimanawong, W., Gangnonngiw, W., Pirarat, N., Khunrae, K., Rattanarojpong, T., Vanichviriyakit, R., & Senapin, S., (2017a). Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture* 476, 111–118.
- Dong, H.T., Siriroo, S., Meemetta, W., Santimanawong, W., Gangnonngiw, W., Pirarat, N., Khunrae, K., Rattanarojpong, T., Vanichviriyakit, R., Senapin, S., (2017b). A Warning and an Improved PCR Detection Method for Tilapia Lake Virus (TiLV) Disease in Thai Tilapia Farms. <http://www.enaca.org>.

- Eide, K.E., Miller-Morgan, T., Heidel, J.R., Kent, M.L., Bildfell, R.J., Lapatra, S., Watson, G., & Jin, L. (2011). Investigation of koi herpesvirus latency in koi. *J. Virol.* 85, 4954–4962.
- Eyngor, M., Zamostiano, R., Kembou Tsofack, J.E., Berkowitz, A., Bercovier, H., Tinman, S., Lev, M., Hurvitz, A., Galeotti, M., Bacharach, E. & Eldar, A. (2014). Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *J. Clin. Microbiol.* 52, 4137–4146.
- FAO. (2017). Outbreaks of tilapia lake virus (TiLV) threaten the livelihoods and food security of millions of people dependent on tilapia farming. In: Special Alert (Global) No. 388, (26 May 2017).
- Fathi, M., Dickson, C., Dickson, M., Leschen, W., Baily, J., Fiona, M., Ulrich, K., Weidmann, M. (2017). Identification of Tilapia Lake Virus in Egypt in Nile tilapia affected by ‘summer mortality’ syndrome. *Aquaculture* 473, 430–432.
- Ferguson, H.W., Millar, S.D., & Kibenge, F.S. (2003). Reovirus-like hepatitis in farmed ha-libut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Vet. Rec.* 153, 86–87.
- Ferguson, H.W., Kabuusu, R., Beltran, S., Reyes, E., Lince, J.A., del Pozo, J., (2014). Syncytial hepatitis of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): a case report. *J. Fish. Dis.* 37, 583–589.
- Gomna, A. (2011). The role of tilapia in food security of fishing villages in Niger State, Nigeria. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.* 11, 5561–5572.
- Dinh-Hung, N., Sangpo, P., Kruangkum, T., Kayansamruaj, P., Rung-ruangkijkrai, T., Senapin, S., Rodkhum, C., & Dong, H.T. (2021). Dissecting the localization of Tilapia tilapinevirus in the brain of the experimentally infected Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *J Fish Dis.* 2021; 00:1–12. <https://doi.org/10.1111/jfd.1336>
- Jansen, M.D., & Mohan, C.V. (2017). Tilapia lake virus (TiLV): literature review. Penang, Malaysia: CGIAR research program on fish agri-food systems. In: Working Paper: FISH-2017-04.
- Kembou Tsofack, J.E., Zamostiano, R., Watted, S., Berkowitz, A., Rosenbluth, E., Mishra, N., Briese, T., Lipkin, W.I., Kabuusu, R.M., Ferguson, H., Del Pozo, J., Eldar, A., Bacharach, E. (2017). Detection of tilapia lake virus in clinical samples by culturing and nested reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 55, 759–767.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. <https://kkp.go.id/artikel/32431-laporan-tahunan-kkp-2020>. Diakses 12 Desember 2021.
- Koesharyani, I., Gardenia, L., Widowati, Z., Khumaira, & Rustianti, D. (2018). Studi kasus infeksi *Tilapia Lake Virus* (TiLV) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Riset Akuakultur.* 13(1). 85-92.
- Liamnimitr, P., Thammatorn, W., Uthoomporn, S., Tattiyapong, P & Surachetpong, W. (2018). Non-lethal sampling for Tilapia Lake Virus detection by RT-qPCR and cell culture. *Aquaculture Vol* 486, 75-80
- Nicholson, P., Fathi, M.A., Fischer, A., Mohan, C., Schieck, E., Mishra, N., Heinemann, A., Frey, J., Wieland,

- B., Jores, J. (2017). Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015. *J. Fish Dis.* 40, 1925–1928.
- Nurekawati, A.D., Putra, I.S. & Soelistyoadi, R.N. (2023). Deteksi molekuler (TiLV) pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dilalu lintaskan di Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu, dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I Jawa Timur. *MKH.* (2023). 1-12. DOI: 10.20473/mkh.v34i1.2023.1-12.
- OIE. (2017a). World Organisation for Animal Health. Tilapia Lake Virus (TiLV) — A Novel Orthomyxo-like Virus. OIE Technical Disease Cards. http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/A_TiLV_disease_card.pdf
- OIE, 2017b. Tilapia Lake Virus Disease, Chinese Taipei. Immediate Notification. Available at http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review/reportid=24033.
- OIE. (2017c). Tilapia Lake Virus Disease, Malaysia. Immediate Notification. Available at https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=24809.
- Piamsomboon, P., & Wongtavatchai, J. (2021). Detection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in healthy fish from the pre-existing disease environment using different RT-PCR methods. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21, 205-209. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v21_4_05
- Rao, M., Kumar, S.H., Kumar, S., Bedekar, M.K., Tripathi, G, & Valappil, R.K. (2021). Microbiological investigation of Tilapia Lake virus-associated mortalities in cage-farmed *Oreochromis niloticus* in India. *Aquaculture International* <https://doi.org/10.1007/s10499-020-00635-9>
- Rocha, E., Monteiro, R.A., & Pereira, C.A. (1997). Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. *Anat. Rec.* 247, 317–328.
- Senapin, S., Phewsaiya, K., Briggs, M., Flegel, T.W., (2007). Outbreaks of infectious myo-necrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. *Aquaculture* 266, 32–38.
- Senapin, S., Dong, H.T., Meemetta, W., Siriphongphaew, A., Charoensapsri, W., Santimanawong, W., Turner, W.A., Rodkhum, C., Withyachumnarnkul, B., Vanichviriyakit, R. (2016). *Hahella chejuensis* is the etiological agent of a novel red egg disease in tilapia (*Oreochromis* spp.) hatcheries in Thailand. *Aquaculture* 454, 1–7.
- Surachetpong, W., Janetanakit, T., Nonhabenjawan, N., Tattiyapong, P., Sirikanchana, K., Amonsin, A. (2017). Outbreaks of tilapia lake virus infection, Thailand, 2015–2016. *Emerg. Infect. Dis.* <http://dx.doi.org/10.3201/eid2306.161278>.
- Tattiyapong, P., Dachavichitlead, W., Surachetpong, W. (2017a). Experimental infection of Tilapia Lake Virus (TiLV) in Nile tilapia

(*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis* spp.). Vet. Microbiol. 207, 170–177.

Tattiyapong, P., Sirikanchana, K., Surachetpong, W. (2017b). Development and validation of a reverse transcription quantitative polymerase chain reaction for tilapia lake virus detection in clinical samples and experimentally challenged fish. J. Fish Dis. <http://dx.doi.org/10.1111/jfd.12708>.

Wolf, K. (1988). Fish Viruses and Fish Viral Diseases. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, NY.

Zheng, S., Wang, Q., Bergmann, S.M., Li, Y., Zeng, W., Wang, Y., Liu, C., Shi, C. (2017). Investigation of latent infections caused by cyprinid herpesvirus 3 in koi (*Cyprinus carpio*) in southern China. J. Vet. Diagn. Investig. 29, 366–369.

Department of Agriculture, Fisheries, and Forestry. “Department of Agriculture, Fisheries, and Forestry,” n.d. https://www.agriculture.gov.au/sites/default/files/documents/tilapia_lake_virus_disease.pdf.