

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 3 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Edi Mirmanto

Redaksi Pelaksana

Marlina Ardiyani

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Deden Sumirat Hidayat

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarto

Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksama_p2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

Keterangan foto cover depan: Selektifitas kukang jawa (*Nycticebus javanicus*) terhadap tumbuhan sebagai pakan dan sarangnya, sesuai makalah di halaman 111 (Foto: Koleksi LIPI - Wirdateti).



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

ISSN 0126-1754

Volume 11, Nomor 1, April 2012

Terakreditasi A

SK Kepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Makalah berupa karangan ilmiah asli, berupa hasil penelitian (original paper), komunikasi pendek atau tinjauan ulang (review) dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain.
2. Bahasa: Indonesia baku. Penulisan dalam bahasa Inggris atau lainnya, dipertimbangkan.
3. Makalah yang diajukan tidak boleh yang telah dipublikasi di jurnal manapun ataupun tidak sedang diajukan ke jurnal lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
4. Masalah yang diliput berisikan temuan penting yang mengandung aspek ‘kebaruan’ dalam bidang biologi dengan pembahasan yang mendalam terhadap aspek yang diteliti, dalam bidang-bidang:
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dan sebagainya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - *Aspek/ pendekatan biologi* harus tampak jelas.
5. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
6. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
7. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
8. Tipe makalah
Makalah Lengkap Hasil Penelitian (original paper).
Makalah lengkap berupa hasil penelitian sendiri (original paper). Makalah ini tidak lebih dari 15 halaman termasuk gambar dan tabel. Pencantuman lampiran/*appendix* seperlunya. Redaksi berhak mengurangi atau meniadakan lampiran.
Komunikasi pendek (short communication)
Komunikasi pendek merupakan makalah pendek hasil riset yang oleh penelitiannya ingin cepat dipublikasi karena hasil temuan yang menarik, spesifik dan baru, agar lebih cepat diketahui umum. Berisikan pembahasan yang mendalam terhadap topik yang dibahas. Artikel yang ditulis tidak lebih dari 10 halaman. Dalam Komunikasi Pendek Hasil dan Pembahasan boleh disatukan.
Tinjauan kembali (Review)
Tinjauan kembali yakni rangkuman tinjauan ilmiah yang sistematis-kritis secara ringkas namun mendalam terhadap topik riset tertentu. Segala sesuatu yang relevan terhadap topik tinjauan sehingga memberikan gambaran “state of the art” meliputi kemajuan dan temuan awal hingga terkini dan kesenjangan dalam penelitian, perdebatan antarpeneliti dan arah ke mana topik riset akan diarahkan. Perhatikan kecerdasanmu dalam membuka peluang riset lanjut oleh diri sendiri atau orang lain melalui review ini.
9. Format makalah
 - a. Makalah diketik menggunakan huruf Times New Roman 12 point, spasi ganda (kecuali abstrak dan abstract 1 spasi) pada kertas A4 berukuran 70 gram.
 - b. Nomor halaman diletakkan pada sisi kanan bawah
 - c. Gambar dan foto maksimum berjumlah 4 buah dan harus bermutu tinggi. Gambar manual pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Foto berwarna akan dipertimbangkan, apabila dibuat dengan computer harus disebutkan nama programnya.
 - d. Makalah diketik dengan menggunakan program Word Processor.
10. Urutan penulisan dan uraian bagian-bagian makalah
 - a. Judul
Judul harus ringkas dan padat, maksimum 15 kata, dalam dwibahasa (Indonesia dan Inggris). Apabila ada subjudul tidak lebih dari 50 kata.
 - b. Nama lengkap penulis dan alamat koresponden
Nama dan alamat penulis(-penulis) lengkap dengan alamat, nomor telpon, fax dan email. Pada nama penulis(-penulis), diberi nomor superskrip pada sisi kanan yang berhubungan dengan alamatnya; nama penulis korespondensi (*correspondent author*), diberi tanda envelop (✉) superskrip. Lengkapi pula dengan alamat elektronik.
 - c. Abstrak dan Kata kunci

- Abstrak dan kata kunci ditulis dalam dwibahasa (Indonesia dan Inggris), maksimum 200 kata, spasi tunggal, tanpa referensi.
- d. Pendahuluan
Berisi latar belakang, masalah, hipotesis dan tujuan penelitian. Ditulis tanpa subheading.
 - e. Bahan dan cara kerja
Apabila metoda yang digunakan sudah baku dan merupakan ulangan dari metoda yang sudah ada, maka hanya ditulis sitiran pustakanya. Apabila dilakukan modifikasi terhadap metoda yang sudah ada, maka dijelaskan bagian mana yang dimodifikasi.
Apabila terdapat uraian lokasi maksi diberikan 2 macam peta, peta besar negara sebagai inset dan peta detil lokasi.
 - f. Hasil
Bagian ini menyajikan hasil utama dari penelitian. *Hasil* dipisahkan dari *Pembahasan*
 - g. Pembahasan
Pembahasan dibuat terpisah dari hasil tanpa pengulangan penyajian hasil penelitian. Dalam Pembahasan hindari pengulangan subjudul dari Hasil, kecuali dipandang perlu sekali.
 - h. Kesimpulan
Kesimpulan harus menjawab pertanyaan dan hipotesis yang diajukan di bagian pendahuluan.
 - i. Ucapan Terima Kasih
Ditulis singkat dan padat.
 - j. Daftar pustaka
Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap, jangan disingkat. Nama inisial pengarang tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - i. Jurnal
Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf Water Relations, Osmotic Adjustment, Cell Membrane Stability, Epicuticular Wax Load and Growth as Affected by Increasing Water Deficits in Sorghum. *Journal of Experimental Botany* **43**, 1559-1576.
 - ii. Buku
Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - iii. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya
Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan Beberapa Aspek Biologi Sotong Buluh (*Septoteuthis lessoniana*) di Sekitar Perairan Pantai Wokam Bagian Barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - iv. Makalah sebagai bagian dari buku
Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*. DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds), 268-282. Chapman and Hall. London.
11. Lain-lain menyangkut penulisan
- a. Gambar.
Lebar gambar maksimal 8,5 cm. Judul gambar menggunakan huruf Times New Roman ukuran 8 point.
 - b. Grafik
Untuk setiap perhitungan rata-rata, selalu diberikan standar deviasi. Penulis yang menggunakan program Excell harus memberikan data mentahnya.
 - c. Foto
Untuk setiap foto, harap diberikan skala bila perlu, dan berikan anak panah untuk menunjukkan suatu objek.
 - d. Tabel
Judul tabel harus ringkas dan padat. Judul dan isi tabel diketik menggunakan huruf Times New Roman ukuran 8 point. Seluruh penjelasan mengenai tabel dan isinya harus diberikan setelah judul tabel.
 - e. Gunakan simbol: ○ ● □ ■ △ ▲

- f. Semua nama biologi pada makhluk hidup yang dipakai, pada Judul, Abstrak dan pemunculan pertama dalam Badan teks, harus menggunakan nama yang valid disertai author/descriptor. (Burung Maleo – *Macrocephalon maleo* S. Müller, 1846; Cendana – *Santalum album* L.), atau yang tidak memiliki nama author *Escherichia coli*. Selanjutnya nama-nama biologi disingkat (*M. maleo*, *S. album*, *E. coli*).
 - g. Proof reading
Proof reading akan dikirim lewat e-mail/fax, atau bagi yang berdomisili di Bogor dan Komplek Cibinong Science Center (CSC-LIPI) dan sekitarnya, akan dikirim langsung; dan harus dikembalikan kepada dewan redaksi paling lambat dalam 3 hari kerja.
 - h. Reprint/ cetak lepas
Penulis akan menerima satu copy jurnal dan 3 reprint/cetak lepas makalahnya.
12. Seluruh makalah yang masuk ke meja redaksi Berita Biologi akan dinilai oleh dewan editor untuk kemudian dikirim kepada reviewer/mitra bestari yang tertera pada daftar reviewer BB. Redaksi berhak menjajagi pihak lain sebagai reviewer undangan.
 13. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (lihat alamat pada cover depan-dalam). Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga softcopy file dalam CD untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogor@indo.net.id
 14. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr Joko Sulistyono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Karna Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Kemtan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Moge (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Prof (Ris) Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Kemtan*)
Dr Hendig Winarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Prof (Ris) Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Kemtan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)
Dr Endang T Margawati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Satya Nugroho (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Kemtan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Kemhut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Prof (Ris) Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-KKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Kemtan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-KKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
11(1) – April 2012

Dr. Endang Tri Margawati – *Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPI*
Dr. Joko Sulistyono – *Pusat Penelitian Biologi – LIPI*
Magdalena Litaay, PhD – *FMIPA – Universitas Hassanudin*
Dr. Nuril Hidayati – *Pusat Penelitian Biologi – LIPI*
Dr. Nurliani Bernawie – *BB. Biogen – Badan Litbang Kementan*
Ir. Titi Juhaeti, M.Si – *Pusat Penelitian Biologi – LIPI*
Dr. Ir. Warid Ali Qosim, MS – *Fak. Pertanian – UNPAD*
Dr. Yulita Kusumadewi – *Pusat Penelitian Biologi – LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Dr. Entang Iskandar – *Pusat Studi Satwa Primata – IPB*
Prof. Dr. Ibnu Maryanto – *Pusat Penelitian Biologi – LIPI*
Prof. MF.Rahardjo – *Fak. Perikanan dan Ilmu kelautan – IPB*
Dr. I. Nyoman P. Aryantha – *Dep. Biologi FMIPA – ITB*

DAFTAR ISI

TINJAUAN ULANG (REVIEW)**TINJAUAN TENTANG KOPEPODA PARASIT DI INDONESIA****[A Review of Parasitic Copepods in Indonesia]***Conni Sidabalok* 1**MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)****IDENTIFIKASI ALEL GEN *Xa7* PADA PLASMA NUTFAH PADI LOKAL
PAREKALIGOLARA MELALUI UJI SEGREGASI FENOTIPE DAN GENOTIPE****[Identification of *Xa7* Alleles Gene in Landrace Parekaligolara by Phenotype and Genotype Segregation Analysis]***Dwinita W Utami, TS Kadir dan A Nasution* 15**ADAPTASI OSMOTIK TUMBUHAN MANGROVE *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh.
DAN KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) TERHADAP STRES SALINE****[Osmotic Adaptation of Mangrove *Avicennia marina* (Forsskål) Vierh. and Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) against Saline Stress]***BP Naiola* 23**KEANEKARAGAMAN JENIS TUMBUHAN PEMAKAN SERANGGA DAN LAJU
FOTOSINTESISNYA DI PULAU NATUNA****[Diversity of Insectivorous Plants and Its Photosynthesis Rate In Natuna Island]***Muhammad Mansur* 33**ANALISIS IMUNOGENISITAS PROTEIN GRA1 DARI HASIL KLONING GEN *GRA1*
TAKIZOIT *Toxoplasma gondii*****[Immunogenicity Analysis of GRA1 Protein derived from clone bearing *GRA1* Genes collected from *Toxoplasma gondii* Tachyzoite]***Didik T Subekti, WT Artama, SH Poerwanto, E Sulistyarningsih dan Yulia Sari* 43**KOI HERPES VIRUS SEBAGAI PENYEBAB KEMATIAN MASSAL PADA *Cyprinus carpio*
koi DI INDONESIA****[Koi Herpes Virus The Causative Agent of Sporadically Mortality of *Cyprinus carpio koi* in Indonesia]***S Oetami Madyowati, Sumaryam, A Kusyairi dan H Suprpto* 53**ANALISIS PERUBAHAN POLA GENETIKEMPAT GENERASI MANGGIS (*Garcinia man-
gostana* L.) BERDASARKAN MARKA ISSR****[Analysis of Genetic Pattern Changes among Four Generations of Mangosteen (*Garcinia man-
gostana* L.) Based on ISSR Marker]***Siti Noorrohmah, Sobir dan D Efendi* 59**PENGARUH BEBERAPA PAKET PEMUPUKAN DAN AMELIORASI TERHADAP
PERTUMBUHAN DAN HASIL TANAMAN KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* L.)
DI KAWASAN PENGEMBANGAN LAHAN GAMBUT (PLG)****[Effect of Amelioration and Fertilization Packages on Growth and Yield Peanut (*Arachis hypo-
gaea* L.) in the Area Peatland Development (PLG)]***Siti Nurzakiah, Koesrini dan Khairil Anwar* 67

POTENSI <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Willd.) Griseb DAN <i>Centrosema pubescens</i> Benth. SEBAGAI AKUMULATOR PENCEMAR MERKURI [POTENCY OF <i>Enterolobium cyclocarpum</i> (Willd.) Griseb AND <i>Centrosema pubescens</i> Benth. AS MERCURY ACCUMULATORS]	
<i>Nuril Hidayati</i>	73
SIFAT ANTIOKSIDAN, KANDUNGAN FENOLAT TOTAL dan FLAVONOID TOTAL EKSTRAK KULIT BATANG MERTAPANG (<i>Terminalia copelandii</i> Elmer) [Antioxidant Properties, Total Phenolic and Total Flavonoid Content of Mertapang (<i>Terminalia copelandii</i> Elmer) Bark Extract]	
<i>Tri Murningsih</i>	85
SPATIAL MODEL OF SUMATRAN TIGER (<i>Panthera tigris sumatrae</i>) POTENTIAL HABITAT SUITABILITY IN BUKIT BARISAN SELATAN NATIONAL PARK, INDONESIA [Model Spasial Kesesuaian Habitat Harimau Sumatra (<i>Panthera tigris sumatrae</i>) di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan, Indonesia]	
Suyadi, I Nengah Surati Jaya, Antonius B Wijanarto and Haryo Tabah Wibisono	93
ANALISA VEGETASI TEMPAT TUMBUH <i>Hoya purpureofusca</i> HOOK.F. DI RESORT SELABINTANA, TAMAN NASIONAL GUNUNG GEDE PANGRANGO [Vegetation analysis of habitat <i>Hoya purpureofusca</i> Hook.f. at the Selabintana Resort, Mount Gede Pangrango National Park]	
Syamsul Hidayat, Sri Rahayu dan Kartika Ningtyas	103
SEBARAN DAN HABITAT KUKANG JAWA (<i>Nycticebus javanicus</i>) DI AREA PERKEBUNAN SAYUR GUNUNG PAPANDAYAN, KABUPATEN GARUT [Distribution and Habitat on Javan Slow Loris (<i>Nycticebus javanicus</i>) in Vegetables Garden at Mount Papandayan, Garut District Area]	
<i>Wirdateji</i>	111
ANALISA KANDUNGAN LOVASTATIN, PIGMEN DAN CITRININ PADA FERMENTASI BERAS IR 42 DENGAN MUTAN <i>Monascus purpureus</i> Analysis of Lovastatin, Pigments And Citrinin in Rice Which Fermented by <i>Monascus purpureus</i> Mutant	
<i>T Yulinery dan N Nurhidayat</i>	119
CEKAMAN OKSIDASI SEL KHAMIR <i>Candida tropicalis</i> YANG DIPERLAKUKAN DENGAN PARASETAMOL DAN ANTIOKSIDAN (+)-CATECHIN [Oxidative Stress in <i>Candida tropicalis</i> Treated with Paracetamol and Antioxidant (+)-catechin]	
<i>Heddy Julistiono</i>	131

**KOI HERPES VIRUS SEBAGAI PENYEBAB KEMATIAN MASSAL
Cyprinus carpio koi DI INDONESIA ***
**[Koi Herpes Virus the Causative Agent of Sporadically Mortality of
Cyprinus carpio koi in Indonesia]**

Sri Oetami Madyowati¹✉^ε, Sumaryam¹, A Kusyairi¹ dan Hari Suprpto²

¹Faculty of Agriculture University of Dr Soetomo Jln Semolowaru No. 84 Surabaya Indonesia; ²Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Airlangga, Jl. Mulyorejo Kampus C Surabaya 60115 Indonesia.

^εe-mail: oetamimadyo@yahoo.com

ABSTRACT

Virus was isolated from infected koi *Cyprinus carpio koi* with KHV and confirmed by polymerase chain reaction (PCR) and transmission electron microscope (TEM). Fish that were naturally living near koi pond such as catfish *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, koki *Carrasius auratus*, and komet *Macropinna microstoma* did not infected after the cohabitation test. Based on the results KHV was the agent responsible for mortality of million cultured koi in East Java Province Indonesia. Absolute mortality was occurred in koi between 48-72 h post infection, while other cyprinids family was not caused in mortality. Other fresh water fish such as catfish *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, koki *Carrasius auratus*, and komet *Macropinna microstoma* was not infected. *Virus-like particles* as found in gill of infected fish with KHV.

Key words: Koi Herpes Virus, *Cyprinus carpio koi*, absolute mortality, Polymerase Chain Reaction (PCR) dan transmission electron microscope (TEM) Polymerase Chain Reaction (PCR), Transmission Electron Microscope (TEM), *virus-like particles*

ABSTRAK

Penyebab utama kematian ikan koi adalah karena *Koi Herpes Virus* (KHV) yang bisa dideteksi dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dan transmission electron microscope (TEM). Dari hasil penelitian beberapa ikan air tawar yang sering hidup di sekitar kolam koi adalah lele *Clarias batrachus*, nila *Oreochromis niloticus*, komet *Macropinna microstoma* dan koki *Carrasius auratus* tidak terinfeksi KHV. Hanya ikan koi saja yang mati (100%) dalam jangka waktu 48-72 jam akibat infeksi KHV sehingga inang dari KHV adalah ikan koi (*Cyprinus carpio koi*). KHV di luar tubuh inangnya hanya bertahan selama 4 jam di air dan lumpur yang diambil dari tempat budidaya koi. Juga ditemukan *virus-like particles* pada insang koi yang sakit karena terinfeksi oleh KHV.

Kata kunci: Koi herpes virus, *Cyprinus carpio koi*, kematian massal, Polymerase Chain Reaction (PCR), transmission electron microscope

PENDAHULUAN

Di Indonesia kematian massal ikan koi terjadi pada tahun 2002-2003 dengan kerugian yang sangat besar, sampai sekarang kematian tersebut masih sering terjadi secara sporadic. Kematian juga terjadi di Eropa, USA dan Israel (Bretzinger *et al.*, 1999; Neukirch *et al.*, 1999; Body *et al.*, 2000; Hedrick *et al.*, 2000). Penyakit tersebut diduga disebabkan oleh infeksi sistematis koi herpes virus (Hedrick *et al.*, 2000). Kematian dimulai dari hari ke 7-10 jika ikan tertular penyakit dari inang perantara dan kematian kumulatif sampai 100% terjadi selama 2-3 minggu (Hedrick *et al.*, 2000). Ikan yang terserang berwarna pucat dan berubah warna pada insang dan kulit, juga terjadi pada organ internal. Pengamatan mikroskopi pada liver, limpa dan ginjal menunjukkan nekrosis pada sel parenkima dan debris pada macrofage (Hedrick *et al.*, 2000). Inklusi intranuklear mungkin terdapat pada sel yang terinfeksi dan virion yang khas untuk infeksi herpesvirus terdapat pada sel tersebut (Bretzinger *et*

al., 1999; Body *et al.*, 2000; Hedrick *et al.*, 2000). Hedrick *et al.* (2000) berhasil mengisolasi KHV dari sirip ikan koi (KF-1) yang sama dengan virus yang terdapat pada jaringan yang terinfeksi. Selanjutnya juvenil koi yang diekspos dengan KHV dengan *bath challenge* tertular penyakit yang mirip dengan penyakit yang terjadi di alam. Sedangkan di Indonesia penyebab kematian sporadis tersebut belum banyak diketahui penyebabnya, apakah sama dengan yang terjadi di Eropa, USA dan Israel.

Mengacu pada pemikiran di atas maka penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui penyebab kematian ikan koi dan mengetahui inang KHV yang sering menyerang ikan mas *Cyprinus carpio* dan koi *Cyprinus carpio koi* di Indonesia. Apakah sebenarnya KHV tersebut memang ada di lingkungan budidaya, misalnya menginfeksi ikan yang sering dibudidayakan bersama ikan koi dan beberapa ikan air tawar yang sering hidup di sekitar kolam yang bisa berperan sebagai inang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Pertanian-Perikanan Universitas Dr. Soetomo Surabaya, Tropical Diseases Center dan Laboratorium Perikanan Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Mei sampai Oktober 2008

Pemeriksaan dengan TEM

Untuk konfirmasi adanya KHV dapat dilakukan dengan pemeriksaan Transmission Electron Microscopy (TEM) untuk melihat adanya partikel virus. Organ yang diambil untuk pemeriksaan TEM adalah organ yang luka karena KHV kemudian difiksasi dalam 2,5 persen glutaraldehyde dalam 0,2 Sorensen phosphate buffer (pH 7,2 selama 1 jam). Setelah beberapa lama dicuci, sampel kemudian difiksasi dengan 1 persen OsO₄ selama 1 jam. Kemudian tissue didehidrasi dalam alkohol yang mempunyai pengenceran berseri dan dimasukkan dalam resin. Ultrathin section dilakukan dengan ultramicrotome dan diwarnai dengan uranyl acetat dan lead citrate, diamati dengan JEOL.

Ekstraksi KHV DNA dari Koi

Usus koi diambil dan dicacah kemudian dihomogenisasi dalam lysis buffer (50 mM Tris-HCl, 10 mM NaCl, 2 % SDS, 10 mM EDTA, proteinase K 100 µg/ml) selama 3 at 56°C). DNA diekstraksi dengan menggunakan phenol seperti yang diuraikan oleh Sambrook *et al.* (1989). DNA dari koi dipakai sebagai template untuk amplifikasi PCR.

Amplifikasi PCR

Amplifikasi PCR dilakukan dalam 50µl campuran reaksi yang mengandung 10mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 1,5 mM MgCl₂, 0,1 % Triton X-100, 0,2 mM each dNTP, 100 pmolof setiap primer, 1 unit Taq DNA polymease and 50 - 100 ng DNA templates, Campuran tersebut ditutup dengan satu tetes mineral oil, Amplifikasi dilakukan dalam DNA thermal cycles 95°C selama 5 menit dan kemudian 50 cycles (95°C selama 1 menit, 55°C selama 1 menit dan 72°C selama 1 menit) dan akhirnya 5 menit perpanjangan pada suhu 72°C sesudah 50 cycles, Hasilnya akan dianalisis pada 1,5 % agarose gel yang mengandung ethidium bromide 0,5 µg/ml.

Infeksi KHV

Satu gram ikan koi yang positive terinfeksi KHV kemudian dimasukkan kedalam akuarium yang berisi ikan air tawar yang sering hidup bersamaan dengan koi ialah ikan koki (*Carrasius auratus*), ikan komet (*Macropinna microstoma*), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan ikan lele (*Clarias batrachus*). Ikan dipelihara selama 14 hari dan dilakukan pengamatan. Terhadap ikan yang mati kemudian dilakukan test PCR untuk memastikan

bahwa kematian ikan tersebut disebabkan oleh infeksi KHV. Adapun langkah kerja dalam metode PCR adalah sebagai berikut:

Sampel ikan

Sampel ikan diambil dari ikan yang mati selama perlakuan dengan menunjukkan gejala klinis terkena KHV seperti pada organ insang terdapat bintik-bintik putih atau kulit melepuh (luka). Kemudian ikan dibedah dan diambil insangnya seberat 50 mg.

Ekstraksi DNA

Insang koi diambil 50 mg digerus dalam appendorf 2 ml. Lalu tambahkan 1 ml DNA ekstraktion kit (DNAzol, tri reagent), kemudian dikocok dan inkubasi selama 5 menit pada suhu kamar. Selanjutnya disentrifuge pada 14000 rpm selama 10 menit dan supernatan dipindah ke appendorf baru. Supernatan diencerkan dengan menambahkan 0,5 ml alkohol 100% dan dikocok, setelah itu disentrifuge 10000 rpm selama 5 menit. Pisahkan supernatan dari endapan kemudian tambahkan 1 ml alkohol 90% pada endapan, kocok lalu sentrifuge pada 10.000 rpm selama 5 menit (diulang sebanyak 3 kali). Pelet didiamkan pada suhu kamar selam 5-10 menit. Tambahkan 5-200µl Nuclease Free Water (ddH₂O) dan siap digunakan untuk amplifikasi.

Amplifikasi DNA

Memasukkan dalam appendorf 1 butir Master mix (d NTP, Tag polymerase, MgCl₂) lalu primer 1µl, ddH₂O 23µl, dan DNA template 1µl hasil ekstraksi. Dihomogenase, lalu masukkan ke dalam thermocycler untuk melakukan amplifikasi DNA

Pemisahan produk PCR dengan Unit Elektroforesis Gel

Persiapan agarosa dengan memasang tangki elektroforesis, lalu tambahkan agar di dalam tangki elektroforesis, kemudian masukkan TAE encer ke dalam tangki elektroforesis. Ambil loading buffer sebanyak 2 µl diatas parafilm. Ambil marker sebanyak 1µl. Ambil sampel produk PCR masing-masing sebanyak 10 µl. Campur marker dengan loading dye, lalu masukkan ke dalam sumur (1). Campur sampel produk PCR dan loading buffer diatas parafilm, lalu masukkan kedalam sumur (2). Campur kontrol positif dan loading buffer diatas parafilm, lalu masukkan ke dalam sumur (3). Campur kontrol negatif dan loading buffer diatas parafilm, lalu dimasukkan ke dalam sumur. Kemudian lakukan elektroforesis dengan voltase sebesar 120 volt selama 20 menit. Setelah selesai angkat gel agarosa, lalu rendam ke dalam EtBr selama 10 menit dan bilas dengan aquades.

Pengamatan hasil PCR

Setelah dielektroforesis, gel agarosa diamati hasilnya dengan menggunakan UV Transilluminator. Lalu didokumentasikan menggunakan kamera polaroid.

HASIL

Pada ikan yang terinfeksi oleh KHV ditemukan *viral-like particle* seperti gambar dibawah ini. Partikel ini (*viral-like particle*) tersusun rapi menyerupai sebuah mozaik dan tidak tak beraturan.

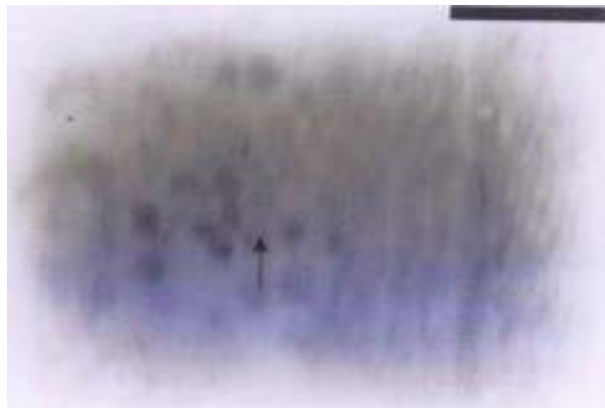
Pada ikan koi hasil sampling di Jawa Timur ditemukan bahwa infeksi koi tersebut memang disebabkan oleh KHV dengan bukti positif pada hasil analisis PCR dan disajikan pada gambar 2.

Pada pemeriksaan patogenitas KHV pada ikan air tawar lain yang sering hidup bersama sama dengan koi tidak menunjukkan adanya kematian pada ikan tersebut. Bahkan ikan air tawar lainpun (lele, nila, komet dan koki) yang biasanya hidup bersama sama dengan koi dan mas juga tidak ada

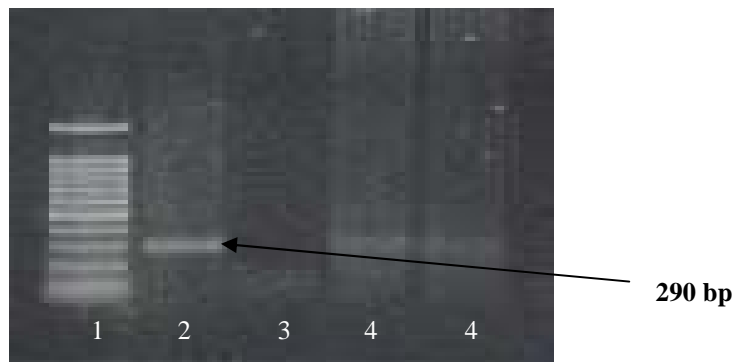
yang mati dengan infeksi buatan, tetapi koi mati dalam waktu 48-72 jam. Infeksi dengan pemberian ikan koi sakit karena KHV juga menyebabkan koi mati absolut dalam jangka waktu 48-72 jam sama dengan infeksi buatan secara suntik. Hasil tersebut disajikan pada tabel 1.

Persistensi KHV di luar tubuh inangnya hanya selama 4 jam yaitu pada air kolam yang telah steril pada suhu kamar, oleh sebab itu jika tidak segera dapat inang ia akan mati. Begitu juga di lumpur yang di ambil dari kolam yang telah steril pada suhu kamar kemudian diberi viruspun hasilnya sama dengan PCR air kolam. Jadi hasil tersebut memberikan gambaran bahwa di lingkungan perairan KHV memang hanya bisa bertahan hidup selama 4 jam. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Diagnosa yang sekarang dilakukan adalah pertama melihat gejala klinis yang terjadi pada ikan kemudian dilakukan uji histopatologi untuk melihat adanya proliferasi dari gill epithelia yang menunjukkan adanya degenerasi dan nekrosis dan adanya single intranuclear inclusion bodies adalah



Gambar 1. Hasil Transmission electron microscope (TEM) dari insang ikan koi yang terinfeksi oleh KHV. *Viral-like particles* tersusun seperti mozaik berupa bulatan hitam (tanda panah)



Gambar 2. Hasil PCR dari ikan koi yang terinfeksi oleh KHV. 1, marker ; 2, kontrol positif; 3, kontrol negatif; 4, sample yang positif terinfeksi KHV.

Tabel 1. Patogenesis dari KHV terhadap beberapa ikan air tawar yang sering hidup bersama dengan koi secara kohabitasi. Suhu rata-rata air pada waktu penelitian adalah 25°C.

Jenis ikan	Berat ikan (g)	Panjang ikan (cm)	Mati/tested
<i>Cyprinus carpio koi</i>	5,9	6,2	10/10
<i>Carrasius auratus</i>	5,4	5,5	0/10
<i>Macropinna microstoma</i>	5,2	5,6	0/10
<i>Oreochromis niloticus</i>	6,3	6,1	0/10
<i>Clarias batrachus</i>	4,9	6,5	0/10

Tabel 2. Persistensi KHV pada air kolam dan lumpur yang telah disterilkan dan ditempatkan pada suhu kamar.

Sampel air untuk PCR jam ke	Hasil PCR	Sampel lumpur untuk PCR jam ke	Hasil PCR
1	+	1	+
2	+	2	+
3	+	3	+
4	+	4	+
5	-	5	-
6	-	6	-
7	-	7	-
8	-	8	-
9	-	9	-
12	-	12	-
18	-	18	-
24	-	24	-

petunjuk yang penting. Virus dapat juga dikultur pada sel KF-1. Sekarang metode yang paling efisien adalah Polymerase Chain Reaction (PCR).

PEMBAHASAN

KHV adalah penyakit virus pada ikan mas dan koi yang sangat menular, dan kemungkinan menyebabkan kematian yang sangat besar pada budidaya ikan di atas. Ikan biasanya digunakan sebagai ikan hias karena warna dan bentuknya yang eksotik. Penyakit ini menjadi penting sejak infeksi yang hebat tahun 1998 (Hedrick *et al.*, 2000) yang terjadi di Amerika Serikat dan Israel. KHV digolongkan sebagai DNA virus yang termasuk family Herpesviridae berdasarkan morfologi dan genetik. Spesies dari cyprinid lain misalnya common goldfish *Carrasius auratus* dan grass carp *Ctenopharyngodon idella* terlihat tidak terinfeksi oleh KHV. KHV diyakini berada pada ikan yang terinfeksi selama hidup, sehingga ikan tersebut bisa beroeran sebagai inang. Infeksi KHV bisa menyebabkan kematian 80-100 % populasi dan ikan akan mudah terinfeksi pada suhu air 22-27°C (OATA, 2001). Ikan yang

terinfeksi bisa dari berbagai macam usia, tetapi pada test kohabitasi fry lebih sensitive dari usia dewasa (Pererlberg *et al.*, 2003).

Di Jawa Timur ikan koi yang terserang KHV menyebabkan kematian yang cepat, ikan yang terinfeksi KHV akan mati dalam 24-48 jam. Ronen (2003) melaporkan jika ikan berada pada suhu 22°C akan mati dalam 15 hari sesudah infeksi, ditandai dengan luka serius pada insang yang menyebabkan kematian yang tinggi. Ikan menjadi tidak bisa bernafas karena kerusakan insang, selain kematian oleh infeksi virus mortalitas yang tinggi juga disebabkan oleh kekurangan oksigen. Kekurangan oksigen menjadi faktor yang dapat mempertinggi kematian ikan koi dan mas walaupun ikan tersebut sebenarnya hidup pada daerah yang kaya oksigen. Umumnya kolam koi bukanlah kolam yang dalam dan hidup tidak jauh dari permukaan air sehingga sebenarnya koi dan mas selalu mendapat suplai oksigen yang banyak. Jika dilihat dari luar infeksi KHV ditandai oleh pendarahan pada insang, terbenamnya mata, luka pada kulit. Jika dilihat dengan mikroskop luka tersebut penuh dengan bakteri dan berbagai parasit sedangkan tanda dalam

adalah adesi pada rongga tubuh dan kerusakan organ dalam (Hedrick *et al.*, 2000; OATA 2001).

Dari hasil analisis PCR, ikan yang positif terinfeksi KHV, terlihat adanya kerusakan insang yang parah (pendarahan) sedangkan tanda-tanda lain misalnya luka di kulit tidak terlihat. Pada umumnya ikan yang sakit terlihat kehilangan nafsu makan, bahkan kadang terlihat kerusakan arah renang sebelum akhirnya mati. Yang sering terlihat adalah hilangnya warna ikan (ikan menjadi pudar warnanya) dan frekuensi pernafasannya menjadi cepat. Hal ini juga dilaporkan oleh Gray *et al.* (2002) disertai dengan adanya pembengkakan, pucat dan luka di kulit. Pada pemeriksaan histopatologi terjadi proliferasi massal di epithelium insang dengan perubahan degeneratif dan nekrosis dan adanya inklusi intraseluler pada sel yang terinfeksi. Pemeriksaan pada liver, limpa, ginjal dan saluran pencernaan menunjukkan adanya nekrosis pada parenchyma dan sejumlah macrophage dengan pecahan yang sel yang teringested.

Dimanakah sebenarnya virus berada didalam tubuh ikan, dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Pikarsky *et al.* (2004) diketahui bahwa ginjal merupakan tempat virus berkembang biak secara efisien. Lebih lanjut dikatakan DNA virus dapat dideteksi pada ginjal dan darah sesudah infeksi 3 dan 5 hari. Tetapi pada infeksi dengan bathing (perendaman) ternyata lebih efisien dibandingkan dengan kohabitasi (gesekan) Virus DNA pada ginjal bertambah pada 3 hari post injection (pi) sedangkan darah 5 pi. Virus DNA terdeteksi pada insang, gastrointestinal dan liver pada ikan yang diinfeksi buatan. Anehnya virus DNA tidak terdeteksi pada syaraf otak ditengarai virus DNA hanya ada dalam jumlah yang sedikit didalam otak koi yang diinfeksi buatan. Tetapi ini sebenarnya adalah ciri khusus dari herpesvirus yang tidak menimbulkan perubahan patologi pada infeksi primer, tetapi kemudian infeksinya nyata pada sistem syaraf (Gray *et al.*, 2002).

Pada waktu percobaan patogenesis suhu air pada akuarium adalah 25°C sehingga sebenarnya suhu ini sangat cocok untuk infeksi KHV pada koi dan mas. Suhu tersebut stabil selama penelitian dilakukan sedangkan suhu paling dingin di sentra budidaya koi di beberapa daerah di Jawa Timur berkisar antara 22-23°C, sebenarnya suhu ini adalah batas bawah di negara yang mempunyai 4 musim seperti di Israel seperti rentang suhu antara 13-27°C yang dijelaskan diatas. Sebenarnya ledakan penyakit KHV yang terjadi pada tahun 2002 silam diduga berasal dari impor koi dari China, karena pada tahun tersebut juga terjadi kematian yang luar biasa pada

budidaya koi. Memang pada kenyataannya sekarang infeksi tersebut masih ada tetapi bersifat sporadis dan belum mengancam industri koi dan mas seperti pada tahun 2002 silam.

Peran temperatur pada penularan penyakit sangat penting pada hewan poikilothermik vertebrata (Ahne *et al.*, 2002). Suhu air diketahui mempunyai peran didalam serangan/ infeksi penyakit pada hewan air misalnya serangan virus dengan mempercepat replikasi virus didalam inang sambil menekan proses imun inang (Alcorn *et al.*, 2002), karena secara langsung suhu air akan mempengaruhi respon imun seluler dan humoral didalam tubuh ikan. Infeksi penyakit tersebut terjadi karena adanya pengaruh dari suhu air, jumlah virus walaupun bukan permasalahan utama selain suhu air. Koi dan ikan mas sangat peka terhadap jumlah virus yang sedikit (12 TCID₅₀ KHV/ml dan 1,2 TCID₅₀ KHV/ml) pada suhu 23°C kematian mencapai 90-95%, sedangkan pada suhu 18°C adalah 90% dan pada suhu 13°C tidak ada kematian (Gilad *et al.*, 2003). Pada suhu yang tinggi misalnya 23°C ikan yang terinfeksi akan cepat mati dengan rentang waktu 7-12 hari, tetapi jika suhu rendah misalnya 13°C kemungkinan virus akan bersifat dormant sehingga kematian tidak terdeteksi pada suhu ini.

KHV akan tetap hidup selama 4 jam didalam air menunjukkan bahwa virus ini sangat menular pada kolam (Pererlberg *et al.*, 2003), walaupun belum diketahui dengan sebenarnya bagaimana virus masuk kedalam ikan apakah lewat insang atau usus, tetapi kelihatannya KHV masuk kedalam ikan lewat insang kemudian mengadakan perbanyakan menyebabkan kerusakan sel lendir dan nekrosis. Kerusakan insang merupakan penyebab utama kematian ikan karena ikan tidak bisa bernafas dengan baik. Virus yang berkembang biak akan menyebar pada air dan kemudian akan menginfeksi ikan koi lain dan menyebabkan kematian. Virus ini menyebabkan interstitial nephritis pada ikan yang terinfeksi.

KESIMPULAN

Penyebab utama kematian ikan koi yang banyak terjadi adalah *Koi Herpes Virus* (KHV). Infeksi (patogenitas) terjadi hanya pada koi, sedangkan pada family cyprinid lain dan beberapa ikan air tawar yang sering hidup disekitar kolam ialah lele, nila, komet dan koki tidak terinfeksi. Hanya koi saja yang mati (100%) dalam jangka waktu 48-72 jam akibat infeksi KHV sehingga inang dari KHV adalah ikan koi (*Cyprinus carpio koi*). KHV di luar tubuh inangnya hanya bertahan selama 4 jam di air dan lumpur yang diambil dari tempat

budidaya koi. Juga ditemukan *virus-like particles* pada insang koi yang sakit karena terinfeksi oleh KHV.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan hasil penelitian Hibah Penelitian Multi Tahun Ditjen Dikti (Hibah Pekerti) sehingga kami sampaikan terima kasih kepada pengelola DIPA 2008-2009 Ditjen Dikti yang telah membiayai penelitian ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada Prof. Dr. Ir. Hari Suprpto, M.Agr. sebagai Ketua Tim Peneliti Mitra (TPM) yang telah banyak membantu sehingga penelitian ini dapat terlaksana, serta kritik dan saran dalam penulisan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahne W, HV Bjorklund, S Essbauer, N Fijan, G Kurath and JR Winton. 2002. Spring viremia of carp (SVC) diseases of aquatic organism. *Journal Fish Disease* **52**, 261-272.
- Alcorn SW, AI Murray and JR Pascho. 2002). Effect on rearing temperature on immune function in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka*. *Fish and Shellfish Immunology* **12**, 303-304.
- Body A, F Lieffrig, C Charlier and A Collard. 2000. Isolation of virus-like particles from koi *Cyprinus carpio koi* suffering gill necrosis. *Journal European Association Fish Pathology* **20**, 87-88.
- Bretzinger A, T Fischer-Scherl, M.Oumouna, R Hoffman and U Truyen. 1999. Mass mortality in koi *Cyprinus carpio koi* associated with gill and skin disease. *Journal European Association Fish Pathology* **19**, 182-185.
- Gilad O, S Yun, KB Andree, MA Adkison, K Way, NH Willitz, H Berkovier and RP Hedrick. 2003. Molecular comparison of isolates of an emerging fish pathogen, koi herpesvirus and effect of the temperature on mortality of experimentally infected koi. *Journal of General Virology* **84**, 2661-2668.
- Gray ML, L Mulis, SE Patra, JM Groff and A Goodwin. 2002. Detection of koi herpesvirus DNA in tissue of infected fish. *Journal of Fish Disease* **25**, 171-178.
- Hedrick RP, O Gilad, S Yun, J V Spangenberg, G D Marty, R W Nordhausen, SW Martin, AH Meek and P Willeberg. 2000. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *Journal Aquatic Anim Health* **12**, 44-57.
- Hines RS, GW Wohlfarth, R Moav and G Hulata. 1974. Genetic differences in susceptibility to two diseases among strain of the common carp. *Aquaculture* **3**, 187-197.
- Neukirch M, K Bottcher and S Bunajirakul. 1999. Isolation of virus from koi with altered gill. *Journal European Association Fish Pathology* **19**, 221-224.
- Ornamental Aquatic Trade Association - OATA. 2001. *Koi Herpes Virus (KHV)*, Washington, DC.
- Pererlberg A, M Smirnov, M Hutoran, Y Bejerano and M Kotler. 2003. Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. *Israeli Journal of Aquaculture* **55** (1), 5-12.
- Pikarsky E, A Ronen, J Abramowitz, B Levavi-Sivan, M Hutoran, Y Shapira, M Steinitz, A Pererlberg, D Soffer and M Kotler. 2004. Patogenesis of acute viral disease in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology* **78**, 9544-9551.
- Ronen A, and IC Liao. 2003. Effect of dissolved oxygen, temperature and salinity on the oxygen consumption of the grass shrimp. *Proceeding of the First Asian Fisheries Forum*, 641-643. JL Maclean, LB Dixon and LV Hosillos (Editors). Asian Fisheries Society. Manila. Philippines.
- Sambrook M, H Towbin, T Staehelin and J Gourdon .1989. Electrophoresis transfer of protein from polyacrylamide gells to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Journal of Fish Disease* **76**, 4350-4354.