

Morfologi dan Sekuensing DNA *Myxobolus koi* yang Menginfeksi Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di Kabupaten Blitar

Morphology and Sequencing of *Myxobolus koi* DNA that Infects Koi fish (*Cyprinus carpio*) in Blitar Regency

Soelistyoadi, R.N.^{1*}, A.D. Nurekawati¹, D. Setyawati²

¹ Staf Fungsional Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya I

² Staf Fungsional Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Surabaya II

Jl. Raya Bandara Ir. H. Juanda No. 23 Sidoarjo 61254, Indonesia

*Email: rachmatns96@gmail.com

Received : 26 March 2020

Accepted : 24 April 2020

Publish : 31 April 2020

Abstrak

Myxobolus koi adalah jenis parasit myxospore yang banyak menginfeksi ikan hias tawar, penyakit ini disebut juga *myxobolusis*. Saat ini terdapat 29 spesies *Myxobolus* yang telah teridentifikasi menginfeksi *Cyprinus carpio*, dengan 17 diantaranya menginfeksi insang, sehingga akan sulit menentukan jenis spesies *Myxobolus* dengan cara konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Myxobolus* yang menginfeksi ikan koi *Cyprinus carpio* berdasarkan analisa konvensional dan secara molekuler. Spora *Myxobolus* yang diperoleh dari Kabupaten Blitar secara mikroskopis memiliki ukuran panjang spora 11-14 μm dengan rata-rata $12,82 \pm 0,75 \mu\text{m}$ dan lebar 7-8 μm dengan rata-rata $7,09 \pm 0,84 \mu\text{m}$, sedangkan ukuran kapsul memiliki panjang 7-8 μm dengan rata-rata $7,36 \pm 0,497 \mu\text{m}$ dan lebar 2-3 μm dengan rata-rata $2,64 \pm 0,49 \mu\text{m}$ n=10. Hasil elektroforesis ikan yang secara klinis terinfeksi *Myxobolus koi* muncul pita (*band*) pada 2000 bp, sequensing DNA parasit *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan koi (*Cyprinus carpio*) di Blitar memiliki kemiripan (*percent identity*) tertinggi dengan kode sampel KT.240127.1 yaitu pada *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) di Barat Daya China. Jarak genetik sampel *Myxobolus koi* blitar terdekat pada sampel *Myxobolus koi* pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan kode sampel FJ841887.1 dan *Myxobolus koi* pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) dengan kode sampel KT240127.1. pada nilai yang sama 0,273.

Keyword : *Myxobolus koi*, koi (*Cyprinus carpio*), PCR, Sekuensing.

Abstract

Myxobolus koi is a type of myxospore parasite that infects many fresh ornamental fish, this disease is also called myxobolusis. Currently there are 29 species of *Myxobolus* that have been identified to infect *Cyprinus carpio*, with 17 of them infecting gills, so it will be difficult to determine the type of *Myxobolus*. This study aims to identify *Myxobolus* species that infect *Cyprinus carpio* koi fish based on conventional and molecular analysis. *Myxobolus* spores obtained from Blitar Regency microscopically have spores length of 11-14 μm with an average of $12.82 \pm 0.75 \mu\text{m}$ and width of 7-8 μm with an average of $7.09 \pm 0.84 \mu\text{m}$, while the size capsules have a length of 7-8 μm with an average of $7.36 \pm 0.497 \mu\text{m}$ and a width of 2-3 μm with an average of $2.64 \pm 0.49 \mu\text{m}$ n = 10. Electrophoresis results of clinically infected fish *Myxobolus koi* appeared band (*band*) at 2000 bp, sequencing DNA *Myxobolus koi* parasites that infect koi fish (*Cyprinus carpio*) in Blitar have the highest similarity (*percent identity*) with the sample code KT.240127.1, namely on *Myxobolus koi* which infects Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Southwest China. The closest genetic distance of the *Myxobolus koi* blitar sample to the *Myxobolus koi* sample in koi fish (*Cyprinus carpio*) with sample code FJ841887.1 and *Myxobolus koi* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with sample code KT240127.1. at the same value 0.273.

Keyword : *Myxobolus koi*, koi (*Cyprinus carpio*), PCR, Sequencing.

PENDAHULUAN

Industri perdagangan ikan hias secara tidak langsung telah memindahkan jutaan ikan setiap tahun di seluruh dunia dan secara tidak langsung juga akan memindahkan penyakit dari satu area ke area yang lainnya termasuk diantaranya parasit myxosporean yang menyebabkan kematian pada ikan (Mathews *et al.*, 2018). Data dari Kementerian Koordinator Bidang Kemaritiman pada tahun 2015 menduduki posisi lima dengan nilai ekspor US\$ 14,16 juta. Tahun 2017 nilai ekspor ikan hias Indonesia mencapai US\$ 27,61 Juta dan merupakan nilai ekspor ikan hias tertinggi dalam enam tahun terakhir (Anonymous, 2018).

Myxobolus koi adalah jenis parasit myxospore yang banyak menginfeksi ikan hias tawar, penyakit ini disebut juga myxobolusis. (Yokohama *et al.*, 1997). Parasit *Myxobolus sp.* dapat merusak jaringan insang ikan, otot, usus, ginjal, dan hati (Camus dan Griffin, 2010). Ikan yang terinfeksi *Myxobolus* akan kesulitan untuk bernafas karena ditemukan nodul atau kista pada

filament insang (Mahasri, G. 2017). Seringkali infeksi parasit tidak terlihat secara visual jika tidak ada tanda-tanda khusus pada ikan, pemeriksaan dapat dilakukan dengan membuat preparat rentang (*smear*) atau dengan melakukan pemeriksaan yang didasarkan pada gejala-gejala fisik yang meliputi perubahan tingkah laku, lesi-lesi tubuh, perubahan morfologis dan anatomi ikan (Sarjito *et al.*, 2013).

Metode yang banyak dilakukan pada pengujian parasit pada ikan hias tawar adalah dengan penanda tradisional (biokimia, histologis, morfologis dan fisiologis), namun penyakit pada ikan biasanya sulit untuk dikendalikan dan disembuhkan ketika penyakit telah menginfeksi, sering terlambat dalam penanganan untuk mencegah kerugian yang lebih besar, untuk itu sangat penting untuk mengetahui tingkat kesehatan ikan (Tonguthai, 1997; Robert, R.J. 2012).

Diagnose definitif dilakukan untuk mendapatkan kepastian mengenai penyebab suatu penyakit

antara lain dengan uji PCR, imunokimia dan imunohistokimia, hingga saat ini metode yang cepat dan sensitif adalah uji PCR, diagnosis definitif cenderung dilakukan untuk mendapatkan kepastian tentang jenis penyakit yang menyerang ikan. *Myxobolus* sp memiliki morfologi yang mirip dengan *Myxobolus toyami*, *Myxobolus longisporus* dan *Myxobolus koi* (Alvin C *et al.*, 2010). Saat ini terdapat 29 spesies *Myxobolus* yang telah teridentifikasi menginfeksi *Cyprinus carpio*, dengan 17 diantaranya menginfeksi insang, dan dalam banyak laporan menyerang spesies ikan mas dari Asia dan Eropa. (Camus dan Griffin. 2010), sehingga akan sulit menentukan jenis spesies *Myxobolus* dengan cara konvensional. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi spesies *Myxobolus* yang menginfeksi ikan koi *Cyprinus carpio* berdasarkan analisa konvensional dan secara molekuler.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Sampel Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) dengan ukuran 5-7 cm,

ikan yang diambil merupakan ikan dengan gejala klinis infeksi parasit *Myxobolus koi* seperti insang membengkak, operkulum tidak dapat menutup sempurna dan terdapat nodul pada bagian insang. Bahan yang digunakan PCR antara lain: Silica Extraction Kit (GeneReach Biotechnology Corp), *Master Mix* (MyTaq HS Red Mix, 2x BIOLINE), *ddH₂O/Nuclease Free water* (PCR Grade Water) (Ambion, AM9937), *Agarose gel* (1% Gel O-Shooter) (LE Agarose, R9012LE-500gr), DEPC H₂O (GeneReach Biotechnology Corp), GT Buffer (GeneReach Biotechnology Corp), Etanol 70%, TAE Buffer, Ethidium bromide (Maestro, MR031203), SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen), Marker 100 bp DNA Ladder 100-3000 bp (Geneaid), Marker 100 bp DNA Ladder 100-3000 bp (Nexmark), *template* DNA. Primer *Myxobolus* ERB1 dan ERB 10, sesuai dengan Tabel 1.

Metode Penelitian

Tabel 1. Primer *Myxobolus sp*

NO	PRIMER	SEQUENCE (5'-3')	DIRECTION	SIZE (bp)
1.	ERB1	ACCTGGTTGATCCTGCCAG	Forward	2-20
2.	ERB10	CCTCCGCAGGTTACCTACGG	Reverse	2079-2059

Metode Konvensional

Cyste yang berwarna putih pada tubuh ikan dapat dibuat smear pada slide glass lalu dikering anginkan, selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan larutan Lugol's iodine solution 10 – 15 menit, bilas dengan air lalu keringkan diudara. Spesimen kemudian diamati dibawah mikroskop untuk melihat bentuk spora dan polar kapsul (Lom J, Dyková I, 1992).

Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

1. Ekstraksi

DNA diekstraksi menggunakan (Gene) *Silica Extraction Kit* dari jaringan yang diawetkan dalam larutan etanol absolut. Masing-masing sampel jaringan insang dan usus yang teridentifikasi *Myxobolus* maupun yang sehat dimasukkan kedalam mikrotube 1,5 ml, tambahkan dengan 900 µl GT Buffer, haluskan dengan menggunakan pastle penggerus, sentrifugasi pada kecepatan

12000 rpm selama 3 menit. Larutan lapisan diambil 600 µl dipindahkan ke dalam dalam mikrotube 1,5 ml yang baru, masukkan silica 40 µl, vortex agar homogen dan disentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 15 detik (tidak boleh lebih dari 20 detik). Setelah di sentrifugasi buang larutannya, cuci *pellet silica* dengan 500 µl GT Buffer, vortex sampai pellet silica membentuk suspensi, di sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 15 detik, buang larutannya, tambahkan 1 ml ethanol 70% untuk mencuci *pellet silica* dan vortex sampai *pellet silica* membentuk suspensi. Sentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 15 detik. buang etanol, gunakan mikropipet untuk mengambil ethanol yang masih tersisa, tambahkan 1 ml ddH₂O untuk meresuspensikan *pellet silica*, vortex sampai *pellet silica* membentuk suspense. Inkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit, homogenkan dengan di vortex

selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm selama 2 menit, kemudian pindahkan 500 µl dari larutan atas ke dalam mikrotube baru dan siap digunakan (Nurekawati, A.D., 2016).

2. Amplifikasi

Amplifikasi bertujuan untuk memperbanyak DNA dari template, penelitian ini menggunakan Primer untuk amplifikasi merupakan primer spesifik pada 18S SSU rDNA untuk mendeteksi *Myxobolus* sp (Tabel 1). Pasangan primer yang digunakan untuk mendeteksi parasite *Myxobolus* sp adalah 1 set primer spesifik (Camus dan Griffin, 2010).

3. Elektroforesis

Hasil amplifikasi DNA diperiksa menggunakan 1,5 % gel agarose direndam menggunakan TAE buffer 1X. Lubang pada gel diisi secara berurutan dengan marker, 8 µl hasil amplifikasi dan blanko kontrol. Proses elektroforesis dilakukan selama 45 menit dengan voltase 100 volt. Agarose

yang telah ditambahkan SyBr save (Invitrogen) selama 15 menit direndam dalam buffer TAE 1x. Gel diletakkan pada *gel documentation*, diamati di bawah sinar UV dan didokumentasikan.

4. Sekuensing DNA

Setelah proses amplifikasi dilanjutkan proses sekuensing untuk mengetahui susunan DNA dari parasit, Sekuensing DNA merupakan proses atau teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu segmen molekul DNA, merupakan informasi paling mendasar suatu gen atau genom karena mengandung instruksi yang dibutuhkan untuk pembentukan tubuh makhluk hidup.

Hasil runutan nukleotida gen *Myxobolus* disesuaikan dengan database atau *library* yang tersimpan dalam genbank yaitu *National Centre for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) melalui program BLAST, untuk mendapatkan persentase kesamaan dengan *data base*. Sisi homolog runutan nukleotida gen DNA dari spesies yang diperoleh dan hasil

penelusuran melalui program BLAST selanjutnya disejajarkan (*multiple alligment*) dengan menggunakan *ClustalW*. Identifikasi spesimen dilakukan melalui konstruksi pohon kekerabatan dan persentase indeks kesamaan.

Analisis penanda genetik, keragaman genetik, jarak genetik dari runutan nukleotida gen parsial DNA *myxobolus* dilakukan menggunakan program MEGA versi 6.06 (Tamura *et al.*, 2013 ; Fahmi *et al.*, 2017).

5. Analisis Data

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif, yaitu metode yang berfungsi untuk mendeskripsikan atau memberi gambaran terhadap obyek yang diteliti melalui data atau sampel yang telah terkumpul (Sugiono, 2012). Data hasil sekuensing berupa runutan nukleotida gen *Myxobolus* dianalisa dengan database yang tersimpan dalam genbank *National Centre for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) sehingga mendapatkan

persentase kesamaan dengan *data base*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

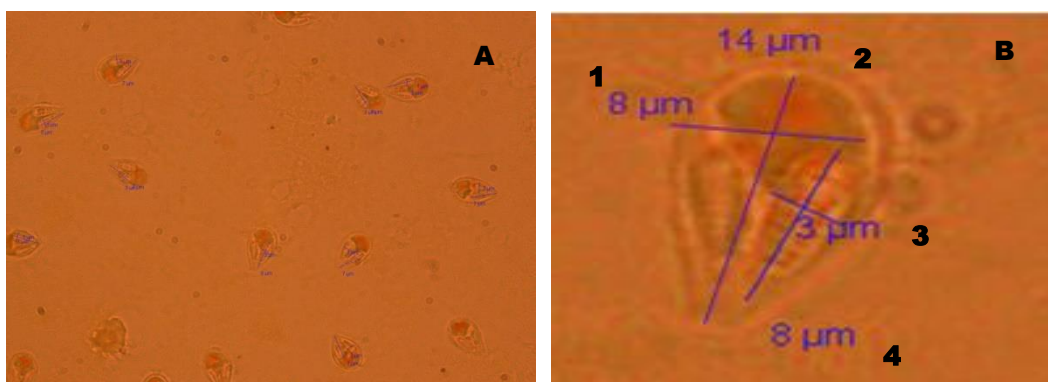
Benih ikan sampel diambil dengan ukuran 5-7 cm dengan berat 8-10 gram Pengambilan ikan sampel dilakukan di kolam pembesaran milik pembudidaya ikan koi yang berlokasi di Desa Kemloko dan Desa Kedungwaru Kecamatan Nglegok Kabupaten Blitar Jawa Timur. (8°02'04.3"S 112°12'12.2"E). Pengamatan gejala klinis dilakukan pada kolam pembesaran, ikan yang terinfeksi parasit *Myxobolus* akan memiliki gerakan *operculum* yang lebih cepat dibandingkan ikan sehat dan pada ikan yang terinfeksi berat ikan akan sering menuju permukaan air untuk bernafas (Sumuduni *et al.*, 2018). Pada ikan yang terinfeksi terdapat nodul putih pada insang dan *operculum* yang tidak dapat menutup dengan sempurna serta insang akan berwarna lebih pucat.

Morfologi spora *Myxobolus* sp. memiliki spora berbentuk *elipsoid*, *ovoid* atau membulat yang terlihat di dalam valvula, didalam spora tersebut terdapat 1 – 4 polar kapsul. selain polar kapsul, setiap spora juga

memiliki sporoplasma, yaitu tubuh protoplasmatik, organ ini seringkali berisi vakuola yang disebut vakuola iodophilous. (Hoffman, 1999). Dari hasil pengamatan secara konvensional *Myxobolus* dengan pewarnaan Lugol's iodine perbesaran 100X yang ditemukan memiliki ciri-ciri berbentuk pyriformis dengan posterior yang bulat, dan mempunyai dua buah polar kapsul pada bagian anterior spora (Gambar 1) dengan panjang spora 14 μm , lebar spora 8 μm , panjang polar kapsul 8 μm dan lebar polar kapsul 3 μm (Gambar 2). Sedangkan hasil rata-rata pengukuran 10 sampel myxobolus dapat dilihat pada Tabel 2.

Organ Ikan koi diambil bagian insang untuk selanjutnya dilakukan

pemeriksaan secara molekular dengan metode PCR konvensional DNA diekstraksi dengan menggunakan *Silica Extraction Kit* kemudian dilakukan proses amplifikasi dengan menggunakan primer spesifik 18S SSU rDNA ERB1 (Forward) dan ERB10 (Reverse), dari hasil elektroforesis ikan yang secara klinis terinfeksi *Myxobolus koi* akan muncul pita (*band*) pada 2000 bp. Kemunculan band menunjukkan kandungan copy genom DNA parasit *Myxobolus* pada target organ sampel. Hasil elektroforesis pada organ insang ikan koi ditampilkan pada Gambar 2. berikut ini.

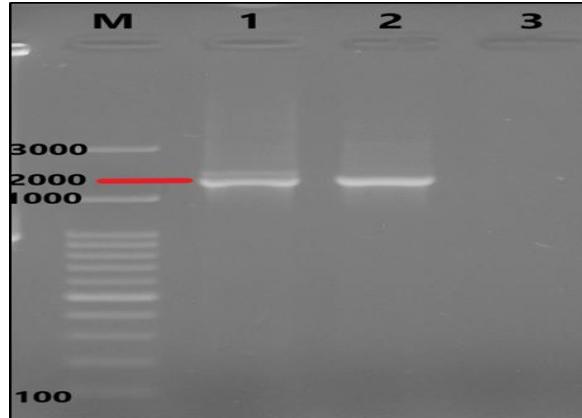


Gambar 1. (A); Spora *Myxobolus* sp. dengan pewarnaan Lugol's iodine perbesaran 100X (Mikroskop Olympus CX31), (B); Morfologi Spora *Myxobolus* sp dalam ukuran μm . 1. Lebar Spora; 2. Panjang spora; 3. Lebar polar kapsul; 4. Panjang polar kapsul

Deskripsi	Ikan Koi (<i>Cyprinus carpio</i>) n=10	
	Ukuran (μm)	Rata-rata \pm SD (μm)

Spora		
- Panjang	11 – 14	12,82 ± 0,75
- Lebar	7 – 8	7,09 ± 0,84
Polar kapsul		
- Panjang	7-8	7,36 ± 0,497
- Lebar	2-3	2,64 ± 0,49
Lokasi organ		Insang

Tabel 2. Hasil Identifikasi Spora dari Sampel Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) di Kabupaten Blitar



Gambar 2. Hasil elektroforesis, target band parasit Myxobolus muncul pada 2000 bp Keterangan: M= Marker;1= Kontrol positif; 2= Insang Ikan Koi positif Myxobolus; 3=Kontrol negatif

Kriteria utama dari klasifikasi Myxozoa pada awalnya adalah berdasarkan morfologi spora, namun karena memiliki keragaman pengelompokan taksonomi yang luas maka analisa nukleotida lebih efektif untuk dilakukan. Analisa nukleotida dilakukan untuk mengetahui materi genetik dari parasit, nukleotida merupakan bahan baku utama penyusun materi genetik tersusun atas basa nitrogen, gula pentosa (keduanya disebut nukleosida) dan ester fosfat, terdapat empat jenis nukleotida utama yang menyusun DNA makhluk hidup yaitu : Adenin

(A), Guanin (G), Timin (T) dan Sitosin (C) (Toha *et al.*, 2016).

Sekuensing DNA selanjutnya dapat dimanfaatkan untuk menentukan identitas maupun fungsi gen atau fragmen DNA dengan cara membandingkan sekuens-nya dengan sekuens DNA lain yang sudah diketahui (Robert, 2012; Fiala *et al.*, 2015; Lokapirnasari *et al.*, 2017). Setelah mendapatkan hasil urutan asam basa dari sampel Myxobolus Blitar kemudian dilakukan penjajaran (*alignment*) DNA parasit dengan organisme yang lain sesuai pada Gen Bank (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Alignment dengan Myxobolus yang lain

.....
10	20	30	40	50	
M. Blitar	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
FJ710800.1	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
FJ841887.1	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
KT240127.1	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
LC228235.1	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
LC228236.1	GAGACTGCGG	ACGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTTAC
MH521300.1	GAGACTGCGG	AAGGCTCAGT	ATATCAGTGA	TTATTGTTTG	ATTGTCTAAC
.....
60	70	80	90	100	
M. Blitar	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
FJ710800.1	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
FJ841887.1	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
KT240127.1	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
LC228235.1	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
LC228236.1	CCATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GTTTATTGGC
MH521300.1	CTATTGGATA	ACCGTGGGAA	ATCTAGAGCT	AATACATGCA	GCCAATGGTC
.....
110	120	130	140	150	
M. Blitar	GTAGTCGCAA	GGTTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
FJ710800.1	GTGGCCGCAA	GGTTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
FJ841887.1	GTAGTCGCAA	GGTTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
KT240127.1	GTAGTCGCAA	GGTTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
LC228235.1	GTTGCCGCAA	GGTTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
LC228236.1	GTTATCGCAA	GGTGCGTCA	AAGCATTAT	TAGACTTAAC	CATCTACTAT
MH521300.1	GGGCTTGCTC	GG-----CC	AAGCATTAT	TAGTTTAAAC	CAATTACTGC
.....
160	170	180	190	200	
M. Blitar	ATGTAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
FJ710800.1	ACGCAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
FJ841887.1	ATGTAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
KT240127.1	ATGTAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
LC228235.1	ATGTAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
LC228236.1	ATGTAAAGGC	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGCTAGTG	CCGACGACGT
MH521300.1	GCAAGAAGGT	GAATCTAGAT	AACTTTGCTG	ATCGTTAGTG	TGCCAGCGAC
.....
210	220	230	240	250	
M. Blitar	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
FJ710800.1	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
FJ841887.1	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
KT240127.1	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
LC228235.1	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
LC228236.1	TTCAATTGAG	TTTCTGCCCT	ATCAATTTGT	TGGTAAGGTA	TTGGCTTACC
MH521300.1	GTTTCAATTG	AGTTTCTGCC	CTATCAATTG	GTTGGTAAGG	TTTTGGCTTA
.....
260	270	280	290	300	
M. Blitar	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
FJ710800.1	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
FJ841887.1	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
KT240127.1	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
LC228235.1	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
LC228236.1	AAGGTTGCAA	CGGGTAACGG	GGAATCAGGG	TTCGATTCCG	GAGAGGGAGC
MH521300.1	CCAAGGTTGA	CACGGGTAAC	GGGAAATCAG	GTTTCGATTC	CGGAGAGGGA
.....
310	320	330	340	350	
M. Blitar	CTGAGAAACG	GCTACCACAT	CCAAGGAAGG	CAGCAGGCGC	GCAAAATTACC

FJ710800.1 CTGAGAAACG GCTACCACAT CCAAGGAAGG CAGCAGGCCG GCAAATTACC
FJ841887.1 CTGAGAAACG GCTACCACAT CCAAGGAAGG CAGCAGGCCG GCAAATTACC
KT240127.1 CTGAGAAACG GCTACCACAT CCAAGGAAGG CAGCAGGCCG GCAAATTACC
LC228235.1 CTGAGAAACG GCTACCACAT CCAAGGAAGG CAGCAGGCCG GCAAATTACC
LC228236.1 CTGAGAAACG GCTACCACAT CCAAGGAAGG CAGCAGGCCG GCAAATTACC
MH521300.1 GCTTGAGAAT CGGACCACCA CATCCGAAGA AGGCAGCAGG CGCGCAAATT

....|....||....||....||....||....|
360 370 380 390 400

M. Blitar CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
FJ710800.1 CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
FJ841887.1 CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
KT240127.1 CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
LC228235.1 CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
LC228236.1 CAATCTAGAC AGTAGGAGGT GGTGAAGAGA AGTACTTAGT GGTGGCCAAA
MH521300.1 AAATCAATCT AGACAGTAGG AGGTGGTGAA GAGAAGTACT AAGTGGTTTA

....|....||....||....||....||....|
410 420 430 440 450

M. Blitar TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
FJ710800.1 TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
FJ841887.1 TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
KT240127.1 TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
LC228235.1 TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
LC228236.1 TGGTCCCAAC TAGGAATGAA CGTAATTTAA GCAATTCGAT GAGTAACTAC
MH521300.1 TTTTACCCTC TAGCTTGAA TGGACGTAAT TTAAGCAATT CGATGAGTAT

....|....||....||....||....||....|
460 470 480 490 500

M. Blitar TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
FJ710800.1 TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
FJ841887.1 TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
KT240127.1 TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
LC228235.1 TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
LC228236.1 TGGAGGGCAA GTCCTGGTGC CAGCAGCCGC GGTAATTCCA GCTCCAGTGG
MH521300.1 CTACTGGAGG GCAAGTCCTG GTGCCAGCCC GGGGGTTAAT TCCAGCTCCA

....|....||....||....||....||....|
510 520 530 540 550

M. Blitar CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
FJ710800.1 CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
FJ841887.1 CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
KT240127.1 CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
LC228235.1 CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
LC228236.1 CGTGATTTAA AGTTGCTGCG TTTAAAACGC TCGTAGTTGG ATCACGCATT
MH521300.1 GTGGCGTGAT TTAAGTTGC TCGTATTTAA ACGCTCGTAG TTGGATCATG

....|....||....||....||....||....|
560 570 580 590 600

M. Blitar GGCATGTAGT AACACAAATT TGGTCGACTG ACGATTTTCT TTCTCAAGAT
FJ710800.1 GGCATATAGT AACACAGATT TGGTCGACTG ACGATTTTCT TTTCCGAGAT
FJ841887.1 GGCATGTAGT AACACAAATT TGGTCGACTG ACGATTTTCT TTCTCAAGAT
KT240127.1 GGCATGTAGT AACACAAATT TGGTCGACTG ACGATTTTCT TTCTCAAGAT
LC228235.1 GGCATATAGT AACACAAATT TGGTCGAATG ACGATTTTCT TTCTCGAGAT
LC228236.1 GGCATATAGT AACACAAATT TGGTCGAATG ACGATTTTCT TTCTCGAGAT
MH521300.1 CGGTAAGTGT TTGTAGTCTA TGGTCGACTG ACTAGCGAAC ATCTTTGGCT

....|....||....||....||....||....|
610 620 630 640 650

M. Blitar TATTGAATCT TGACCGGTTT GTGTGTTAAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
FJ710800.1 TATTGGATCT TGACCTGTCT GTGTGTTTAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
FJ841887.1 TATTGAATCT TGACCGGTTT GTGTGTTAAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
KT240127.1 TATTGAATCT TGACCGGTTT GTGTGTTAAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
LC228235.1 TATTGGATCT TGACCGGTTT GTGTGTTTAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
LC228236.1 TATTGGATCT TGACCGGTTT GTGTGTTTAC GCTATATGTC ACTATTTGCA
MH521300.1 GATTTCAGCTG ATGTTTCGCA GTGTAGATAA CAACGCAAAC TGTTACTATT

....|....||....||....||....||....|
660 670 680 690 700

M. Blitar CACAAGTATG ATATTTGGTC TGTAGTGAAT CGAGTATCGT GTCTTGTGGA
FJ710800.1 CACAAGTATG ATATTTGGTC TTTAGTGAAT CGAGTATCGT GTCTTGTGGA

FJ841887.1 CACAAGTATG ATATTTGGTC TTTAGTGAAT CGAGTATCGT GTCTTGTGGA
KT240127.1 CACAAGTATG ATATTTGGTC TTTAGTGAAT CGAGTATCGT GTCTTGTGGA
LC228235.1 CACAAGTATG AAATTTGGTC TTTAGTGAAT CGAGTTTCGT GTCTTGTGGA
LC228236.1 CACAAGTATG AAATTTGGTC TTTAGTGAAT CGAGTTTCGT GTCTTGTGGA
MH521300.1 TAATCGCAAG TATGTTGATT GACCTTACT GAGTTGATGA TCATATTGTG
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
710 720 730 740 750
M. Blitar GTGTGCCTTG AATAATACAA AGTGCTCAA GCATGCGCAC GCTTGAATGT
FJ710800.1 GTGTGCCTTG AATAAAACAG AGTGCTCAA GCAGGCGAAC GCTTGAATGT
FJ841887.1 GTGTGCCTTG AATAAAACAG AGTGCTCAA GCAGGCGAAC GCTTGAATGT
KT240127.1 GTGTGCCTTG AATAAAACAG AGTGCTCAA GCAGGCGAAC GCTTGAATGT
LC228235.1 GTGTGCCTTG AATAAAACAG AGTGCTCAA GCAGGCGAAC GCTTGAATGT
LC228236.1 GTGTGCCTTG AATAAAACAG AGTGCTCAA GCAGGCGAAC GCTTGAATGT
MH521300.1 CGGTTTCGTGC CTTGAATAAA ACAGAGTGCT CAAAGCAGGC GCGTGCCTGA
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
760 770 780 790 800
M. Blitar TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG CGATATGTTG AGCACTTGAA
FJ710800.1 TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG CACATGTTG AAGAGTTGGG
FJ841887.1 TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG CGTATGTTG AGCAGTTGAG
KT240127.1 TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG CGTATGTTG AGCAGTTGAG
LC228235.1 TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG TGTATGTTG AGCAGTTGAG
LC228236.1 TATAGCATGG AACGAACAAA CGTGTATTG CGTACGTTA GGCAGTTGAG
MH521300.1 ATGTTGTAGC ATGGAACGAA CAAACGTGTA TTCGCGTGCA TCGTGCAGG
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
810 820 830 840 850
M. Blitar GCGCAACTTG ATTGCTTGAG CGTACGCAGC ACGCGTCAA ATACGGATGT
FJ710800.1 GGCAACCTCG ATTTTTTGA CGTATGCAGC ACCCGCTAA ATACGGATGT
FJ841887.1 GGCAACTTG ATTGCTTGAG CGTACGCAGC ACCCGCAA ATACGGATGT
KT240127.1 GGCAACTTG ATTGCTTGAG CGTACGCAGC ACCCGCAA ATACGGATGT
LC228235.1 GGCAACTTG ACTGTTTGAG CGTATGCAGC ACCCGCTAA ATACGGATGT
LC228236.1 GGCAACTTG GCTGTTTGAG CGTACGCAGC ACCCGCTAA ATACGGATGT
MH521300.1 TGAGTGTGCT TCGGTGCTG TTGATGTATG CATCACCCGC CAAAATACGA
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
860 870 880 890 900
M. Blitar TGGTTGTCGT ATCAGGTGAT GGATTAACAG AGCAGTTAGG GGCATTGGTA
FJ710800.1 TGGTTTTCGT ATCAGGTGAT GATTAACAGG AGCGGTTGGG GGCATTGGTA
FJ841887.1 TGGTTTTCGT ATCAGGTGAT GATTAACAGG AGCGGTTGGG GGCATTGGTA
KT240127.1 TGGTTTTCGT ATCAGGTGAT GATTAMCAGG AGCGGTTGGG GGCATTGGTA
LC228235.1 TGGTTTTCGT ATCAGGTGAT GATTAACAGG AGCGGTTGGG GGCATTGGTA
LC228236.1 TGGTTTTCGT ATCAGGTGAT GATTAACAGG AGCGGTTGGG GGCATTGGTA
MH521300.1 TTGTTGGTTA GTCAATAAGG TGATGATTAA AAGGAGCGGT TGGGGGCATT
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
910 920 930 940 950
M. Blitar TTTGGCCAG AGAGGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGACT ACAGAAGCAA
FJ710800.1 TTTGGCCGCG AGAGGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGGAC TAACAGATAA
FJ841887.1 TTTGGCCGCG AGAGGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGGAC TAACAGATAA
KT240127.1 TTTGGCCGCG AGARGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGGAC TAACAGATAA
LC228235.1 TTTGGCCGCG AGAGGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGGAC TAACAGATAA
LC228236.1 TTTGGCCGCG AGAGGTGAAA TTCTTGACC GGCCAAGGAC TAACAGATAA
MH521300.1 GGTATTTGGA CGCGAGAGGT GAAATTCAAA GACCGTCCAA GGACTAACTG
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
960 970 980 990 1000
M. Blitar AGCGTTGTCA GACCGTTCCA TTATCAGAAC AAAGTGGAGG TCGAAACATC
FJ710800.1 GGCGTTTGTG TAGACCGTTT CCATTAATCA AGAACGAAAG TGGGAGGTTC
FJ841887.1 GGCGTTTGTG TAGACCGTTT CCATTAATCA AGAACGAAAG TGGGAGGTTC
KT240127.1 GGCGTTTGTG TAGACCGTTT CCATTAATCA AGAACGAAAG TGGGAGGTTC
LC228235.1 GGCGTTTGTG TAGACCGTTT CCATTAATCA AGAACGAAAG TGGGAGGTTC
LC228236.1 GGCGTTTGTG TAGACCGTTT CCATTAATCA AGAACGAAAG TGGGAGGTTC
MH521300.1 CGAAGGCATC TGTCCAGACC GTATCCATTA ATCAAGAACG AAAGTGGGAG
.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|.....|
1010 1020 1030 1040 1050
M. Blitar AATACGTCTA GTCCACAAA CTTGCGACTG ATCGTTAGGA TACAAGCCAG
FJ710800.1 GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTTCCA CTATAAACTA TGCCGACCTG
FJ841887.1 GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTTCCA CTATAAACTA TGCCGACCTG
KT240127.1 GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTTCCA CTATAAACTA TGCCGACCTG



```
LC228235.1 GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTTCCCA CTATAAACTA TGCCGACCTG
LC228236.1 GAAGACGATC AGATACCGTC CTAGTTCCCA CTATAAACTA TGCCGACCTG
MH521300.1 GTTCGAAGAC GATTAGATAC CGTCGTAGTC CCAACCGTAA ACTATGCCGA
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1060      1070      1080      1090      1100
M. Blitar GTGGTCCCTG GAATCAGTTT CGTTCGGGAA GTTGTCCATT CTAACCTAAG
FJ710800.1 GCAGTTTAGT GATTAACAAG CTCTAGGTTG GTCCCCCTGG GAAACCTCAA
FJ841887.1 GCAGTTTAGT GATTAACAAG CTCTAGGTTG GTCCCCCTGG GAAACCTCAA
KT240127.1 GCAGTTTAGT GATTAACAAG CTCTAGGTTG GTCCCCCTGG GAAACCTCAA
LC228235.1 GCAGTTTAGT GATTAACAAG CTCTAGGTTG GTCCCCCTGG GAAACCTCAA
LC228236.1 GCAGTTTAGT GATTAACAAG CTCTAGGTTG GTCCCCCTGG GAAACCTCAA
MH521300.1 CGGATCAGCT TGGGATATG CAAGCATCAA GTTGGTCTCC AAGGGAAACC
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1110      1120      1130      1140      1150
M. Blitar ATGACGAGGC CCCCAGGGGA CCGGGTTATT GCCCCCGGGA CTACGGCCGA
FJ710800.1 GTTTTTCGGT TACGGGGAGA GTATGGTTCG AAGTCTGAAA CTTAAAGGAA
FJ841887.1 GTTTTTCGGT TACGGGGAGA GTATGGTTCG AAGTCTGAAA CTTAAAGGAA
KT240127.1 GTTTTTCGGT TACGGGGAGA GTATGGTTCG AAGTCTGAAA CTTAAAGGAA
LC228235.1 GTTTTTCGGT TACGGGGAGA GTATGGTTCG AAGTCTGAAA CTTAAAGGAA
LC228236.1 GTTTTTCGGT TACGGGGAGA GTATGGTTCG AAGTCTGAAA CTTAAAGGAA
MH521300.1 ATAAGTTTTT CGGTTACGGG GAGAGTATGG TCGCAAGTCT GAAATTTAAA
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1160      1170      1180      1190      1200
M. Blitar TCAAGTAAAA CTAACCTTTT GACGGAGGGG GCGGCGTTAA TTGGGATGTG
FJ710800.1 TTGACGGAAG GGCACCACCA GGGGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA
FJ841887.1 TTGACGGAAG GGCACCACCA GGGGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA
KT240127.1 TTGACGGAAG GGCACCACCA GGGGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA
LC228235.1 TTGACGGAAG GGCACCACCA GGGGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA
LC228236.1 TTGACGGAAG GGCACCACCA GGGGTGGAGC CTGCGGCTTA ATTTGACTCA
MH521300.1 GGAATTGACG GAAGGGCACC ACCAGGGGTG GAACCTGCGG CTTAATTTGA
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1210      1220      1230      1240      1250
M. Blitar GTATCGTAAA AACCCTTCTT AAAAAAAGAG GTTAGTTCCG GTGAATCCCC
FJ710800.1 ACACGGGGAA ACTTACCTGG TCCGGACATC GAAAGGATAG ACAGACTGAT
FJ841887.1 ACACGGGGAA ACTTACCTGG TCCGGACATC GAAAGGATAG ACAGACTGAT
KT240127.1 ACACGGGGAA ACTTACCTGG TCCGGACATC GAAAGGATAG ACAGACTGAT
LC228235.1 ACACGGGGAA ACTTACCTGG TCCGGACATC GAAAGGATAG ACAGACTGAT
LC228236.1 ACACGGGGAA ACTTACCTGG TCCGGACATC GAAAGGATAG ACAGACTGAT
MH521300.1 CTAACGACGG GGAAACTTAC ATGGTCCAGA CATCGATAGG ATAAACAGAC
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1260      1270      1280      1290      1300
M. Blitar AAGTGTTTAT TGGGGGGGCC CTTGGTTTCA GAATGCTGTT GGTAGTCCCT
FJ710800.1 AGATCTTTCT TGATGCGGTG AGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTCGT
FJ841887.1 AGATCTTTCT TGATGCGGTG AGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTCGT
KT240127.1 AGATCTTTCT TGATGCGGTG AGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTCGT
LC228235.1 AGATCTTTCT TGATGCGGTG AGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTCGT
LC228236.1 AGATCTTTCT TGATGCGGTG AGTGGTGGTG CATGGCCGTT CTTAGTTCGT
MH521300.1 TGATAGATCT TTTTGTATGC GGTGAGTGGT GGTGCATGGC CGTTCCTAGT
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1310      1320      1330      1340      1350
M. Blitar GCAAGAATAA GTCGAATCCT CTTCCGATACC AAAAGGTCAT TGGTTTTTTC
FJ710800.1 GGAGTGATCT GTCAGGTTTA TTCCGGTAAC GAACGAGACC ACCTTCTCCA
FJ841887.1 GGAGTGATCT GTCAGGTTTA TTCCGGTAAC GAACGAGACC ACCTTCTCCA
KT240127.1 GGAGTGATCT GTCAGGTTTA TTCCGGTAAC GAACGAGACC ACCTTCTCCA
LC228235.1 GGAGTGATCT GTCAGGTTTA TTCCGGTAAC GAACGAGACC ACCTTCTCCA
LC228236.1 GGAGTGATCT GTCAGGTTTA TTCCGGTAAC GAACGAGACC ACCTTCTCCA
MH521300.1 TCGTGGAGTG ATCTGTGAGG TTGATTCGCG TAACGAACGA GACTACAACC
....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
1360      1370      1380      1390
M. Blitar ATTTCCATAT TCTTTTACAT GATAGGAAGT AGCGTAGGTT
FJ710800.1 TTTAAGAAAC AGTAGTAGGA GGCTGGTTGT TGCTTCGGTG
FJ841887.1 TTTAAGAAAC AGTAGCAGGA GGTTGGATGT TGCTTCGGTG
KT240127.1 TTTAAGAAAC AGTAGCAGGA GGTTGGATGT TGCTTCGGTG
```



```
LC228235.1   TTTAAGAAAC AGTAGCAGGA GGCTGGTTGT TGCTTCGGTG  
LC228236.1   TTTAAGAAAC AGTAGCAGGA GGCTGGATGT TGCTTCGGTG  
MH521300.1   TTCATTTAAG AGGCAAAAGC AGGAGGGCGA AAGGCATTTTC
```

Hasil sequencing DNA parasit *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan koi (*Cyprinus carpio*) di Blitar memiliki kemiripan (*percent identity*) dari data Gen Bank dengan beberapa organisme. (Tabel 4). Kemiripan atau tingkat homologi dari sampel antara 95,99 – 99,37% dengan *E-value* 0.0, kemiripan tertinggi terjadi pada kode sampel KT.240127.1 yaitu pada *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) di Barat Daya China, kemiripan dikatakan tinggi apabila sekuen DNA memiliki nilai persen identity >70% dan *E-value* <10⁻⁴ (Claverie dan Notredame, 2003). Analisis filogenetik dengan menggunakan program komputer ClustalW dengan *bootstrap* 1000 kali, terhadap susunan basa nukleotida utamanya sekuen sampel *Myxobolus koi* bertujuan untuk membandingkan hubungan kekerabatan antara sampel dengan isolat pembanding. Isolat *Myxobolus koi* dari GenBank dapat digunakan sebagai acuan atau referensi untuk analisa terkait dengan data *genomic* dari suatu isolat yang ada sehingga

dapat diperkirakan kecepatan evolusi yang terjadi dan dapat direkonstruksi hubungan evolusi antara satu organisme dengan yang lain. Hasil analisa filogenetik dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini.

Metode *neighbor joining* dengan software Mega 6.06 (Tamura *et al.*, 2013) digunakan untuk membandingkan isolate parasit *Myxobolus koi* dari benih ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan 6 isolat pembanding (Tabel 4). Jarak genetik sampel *Myxobolus koi* dapat dilihat pada Tabel 5, Nilai jarak genetik ke 7 jenis *Myxobolus* berkisar antara 0,273 hingga 1,416. Nilai jarak tertinggi (1,416) terdapat pada *Myxobolus kingchowensis* kode sampel MH.521300, sedangkan terdekat (0,273) pada sampel *Myxobolus koi* pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) kode sampel FJ841887.1 dan *Myxobolus koi* pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kode sampel KT240127.1.

KESIMPULAN

Spora *Myxobolus* yang diperoleh dari Kabupaten Blitar

memiliki ukuran panjang spora 11-14 μm dengan rata-rata $12,82 \pm 0,75 \mu\text{m}$ dan lebar 7-8 μm dengan rata-rata $7,09 \pm 0,84 \mu\text{m}$, sedangkan ukuran kapsul memiliki panjang 7-8 μm dengan rata-rata $7,36 \pm 0,497 \mu\text{m}$ dan lebar 2-3 μm dengan rata-rata $2,64 \pm 0,49 \mu\text{m}$ $n=10$. Hasil elektroforesis ikan yang secara klinis terinfeksi *Myxobolus koi* muncul pita (*band*) pada 2000 bp. Hasil sequencing DNA parasit *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan koi (*Cyprinus carpio*) di Blitar memiliki kemiripan (*percent identity*) tertinggi dengan kode sampel KT.240127.1 yaitu pada *Myxobolus koi* yang menginfeksi ikan Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) di Barat Daya China. Jarak genetik sampel *Myxobolus koi* blitar terdekat pada sampel *Myxobolus koi* pada ikan koi (*Cyprinus carpio*) dengan kode sampel FJ841887.1 dan *Myxobolus koi* pada ikan rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) dengan kode sampel KT240127.1. pada nilai yang sama 0,273.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvin C. dan Matt J. Griffin, 2010. Molecular Characterization and Histopathology of *Myxobolus koi* Infecting the Gill of a Koi, *Cyprinus carpio*, with an Amende Morphological Description of the Agent. *Journal of Parasitology*. 96 (1): 116-124.
- Camus., A.C, Jennifer A. Dill, Thomas G. Rosser, Linda M. Pote, Matt J. Griffin. 2017. *Myxobolus axelrodi* n. sp. (Myxosporea : Myxobolidae) a Parasite Infecting The Brain and Retinas of The Cardinal Tetra *Paracheirodon axelrodi* (Teleostei: Characidae). *Parasitol Res* 116 (1) : 387–397.
- Claverie, J., Notredame, C. 2003. *Bioinformatics for Dummies*, Wiley Publishing Inc, New York.
- Fahmi M.R., Ruby Vidia Kusumah, Idil Ardi, Shofihar Sinansari, Eni Kusrini. 2017. DNA *Barcoding* Ikan Hias Introduksi. *Jurnal Riset Akuakultur*, 12 (1) : 29-40.
- Fan,W., 2015. Mortality Associated with Infectious Haematopoietic Necrosis in Farmed Adult Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) at Southwest China. Unpublished. Submitted (02-Jul-2015) Aquaculture, Sichuan Agriculture University.
- Felsenstein, Joseph. 1985. Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, 39 (4) : 783–791.
- Fiala I., Pavla Bartošová-Sojtková, Christopher M. Whipps. 2015. Classification and Phylogenetics of Myxozoa Chapter 5. *Myxozoa Evolution, Ecology and Development*.
- Gunanti Mahasri. 2017. Development of Spore Protein of *Myxobolus koi* as an Immunostimulant for Prevent of Myxobolosis on Gold Fish (*Cyprinus carpio* Linn) by Oral Immunisation. IOP Conf. Ser.: Earth Environ.
- Hofmaan, G.L. 1999. Parasites of North American Freshwater Fishes. Cornell University Press. New York. pp. 21-66
- Kato,E., Kasai,A., Tomochi,H., Li,Y.C., Sato, H. 2017. Four *Myxobolus* spp. (Myxosporea: Bivalvulida) from the gill lamellae of common carp (*Cyprinus carpio*) and Japanese silver

- crucian carp (*Carassius angustorffii*) in the western part of Japan, with the description of three new species (*M. tanakai* n. sp., *M. paratoyamai* n. sp., and *M. ginbuna* n. sp.). Parasitol. Res. In press.
- Kimura, M. 1980. A Simple Method for Estimating Evolutionary Rates of Base Substitutions Through Comparative Studies of Nucleotide Sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16:116-120.
- Lokapirnasari, W.P., Adriana Monica Sahidu, Tri Nurhajati, Koesnoto Supranianondo, Andreas Berny Yulianto. 2017. Sekuensing 16S DNA Bakteri Selulolitik Asal Limbah Cairan Rumen Sapi Peranakan Ongole. *Jurnal Veteriner*, 18(1); 76 – 82.
- Lom J, Dyková I. 1992. Protozoan parasites of fishes. Elsevier Science Publishers, New York Longshaw M, Feist SW, Canning EU, Okamura
- Mathews, Patrick D., Omar Mertins, José O.L. Pereira, Antonio A.M. Maia, dan Edson A. Adriano. 2018. Morphology dan 18S RDNA Sequencing of *Henneguya peruviansis* n. Sp. (Cnidaria: Myxosporea), a Parasit of the Amazonian Ornamental Fish *Hyphessobrycon loretoensis* from Peru: A Myxosporean Dispersal Approach. *Acta Tropica* 187 (August). Elsevier: 207–13.
- Nurekawati, A.D, Gunanti Mahasri dan Muchammad Yunus. 2016. Identifikasi *Myxobolus* sp. pada Famili Cyprinidae Dengan Metode Molekuler di Provinsi Jawa Timur Dan Jawa Tengah. *Jurnal Biosains*. Vol 18, (2).
- Robert, R.J. 2012. Fish Pathology Fourth Edition. Blackwell Publishing Ltd.
- Sarjito, Slamet Budi Prayitno, Alfabetian Harjuno Condro Haditomo. 2013. Buku Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro
- Sugiyono. 2012. Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D. Alfabeta. Bandung.
- Sumuduni, B.G.D., D.H.N. Munasinghea, A. Arulkanthan. 2018. Chronological Analysis of The Damages Caused by The Metacercariae Of *Centrocestus formosanus* in The Gills of *Cyprinus carpio* and Lesions Caused by The Adult Flukes In *Ardeola ralloides* : An experimental study. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6 (2): 165–171
- Saitou, Naruya, and Masatoshi Nei. 1987. The Neighbor-Joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4): 406–25.
- Tamura, Koichiro et al. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular biology and evolution*. 30(12): 2725 – 2729.
- Tonguthai., K. 1997. Control of Freshwater Fish Parasits: a Southeast Asian Perspective. *International Journal, for Parasitology*, Vol. 21. (10): 1185 - 1191.
- Toha AHA, Widodo N, Hakim L, Sumitro SB. 2016. Panduan Dasar Analisis Data Genetik untuk Publikasi. Proyek Marine Biodiversity of Raja Ampat Islands. Kerjasama Universitas Papua-Universitas Brawijaya. 58 h.
- Wang, T., Bird, S., Zou, J., Secombes, C.J. 2018. Sequencing, Gene Organisation and Differential expression of two goldfish IL-1 beta genes. *Journal Unpublished*.
- Yokoyama, H., Daisuke Inoue, Atsuro Kumamaru, Hisatsugu Wakabayashi. 1997. *Myxobolus koi* (Myxozoa: Myxosporea) Forms Large-and Small-Type 'Cysts' in the Gills of Common Carp. *Fish Pathology*, 32 (4): 211-217.
- Zhang, J.Y., Yokoyama, H., Wang, J.G., Li, A.H., Gong, X.N., Ryu-Hasegawa, A., Iwashita, M., Ogawa, K. 2010. Utilization of Tissue Habitats by *Myxobolus wulii* Landsberg & Lom, 1991 in different carp hosts and disease resistance in allogynogenetic gibel carp: redescription of *M. wulii* from China and Japan. *Journal of Fish Diseases*, 33(1): 57-68.