

**DETEKSI VIRUS PENYEBAB PENYAKIT Kerdil MBV
(*Monodon Baculo Virus*)`PADA UDANG VANNAME (*Litopanaeus vannamei*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE PCR (*Polymerase Chain
Reaction*)**

SKRIPSI

**MUHAMMAD RISAL
10594081013**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
2018**

**DETEKSI VIRUS PENYEBAB PENYAKIT Kerdil MBV (*Monodon baculo virus*)`PADA UDANG VANNAME (*Litopenaeus vannamei*)
DENGAN MENGGUNAKAN METODE PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**

SKRIPSI

MUHAMMAD RIZAL

10594 0810 13

*Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Ujian guna Memperoleh
Gelar Sarjana Perikanan pada Jurusan Budidaya Perairan
Universitas Muhammadiyah Makassar*

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MAKASSAR
FAKULTAS PERTANIAN
PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Deteksi Virus Penyebab Penyakit Kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) dengan Menggunakan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction)

Nama Mahasiswa : Muhammad Risal
Stambuk : 10594081013
Program Studi : Budidaya Perairan
Fakultas : Pertanian

Makassar, Januari 2018

Telah Diperiksa dan Disetujui
Komisi Pembimbing

Pembimbing I,



Dr. Rahmi, S.Pi., M.Si.
NIDN : 090527904

Pembimbing II,



Ir. Dr. Darmawati, M.Si.
NIDN : 0920126801

Diketahui Oleh,

Dekan Fakultas Pertanian,



Ir. H. Burhanuddin, S.Pi., MP
NIDN : 0912066901

Ketua Program Studi,



Murni, S.Pi., M.Si
NIDN : 09 03037306

PENGESAHAN KOMISI PENGUJI

Judul : Deteksi Virus Penyebab Penyakit Kerdil MBV
(*Monodon baculo virus*) pada Udang Vanname
(*Litopenaeus vannamei*) dengan Menggunakan
Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Nama : Muhammad Risal

Nim : 10594081013

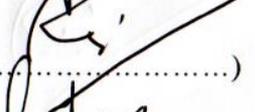
Jurusan : Perikanan

Program Studi : Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian

Universitas : Muhammadiyah Makassar

SUSUNAN PENGUJI

No.	Nama	Tanda Tangan
1.	<u>Dr. Rahmi, S.Pi, M.Si</u> Pembimbing I	()
2.	<u>Ir. Dr. Darmawati, M.Si</u> Pembimbing II	()
3.	<u>Dr. Abdul Haris Sambu S.Pi, M.Si</u> Penguji I	()
4.	<u>Nur Insana Salam, S.Pi, M.Si</u> Penguji II	()

HALAMAN HAK CIPTA

@ Hak cipta milik Universitas Muhammadiyah Makassar, Tahun 2017. Hak cipta dilindungi undang-undang.

1. *Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumber.*
 - a. *Pengutip hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah*
 - b. *Pengutip tidak merugikan kepentingan yang wajar Universitas Muhammadiyah Makassar*
2. *Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis dalam bentuk laporan apapun tanpa izin Universitas Muhammadiyah Makassar*

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Muhammad Risal

NIM : 10594081013

Jurusan : Perikanan

Program Studi : Budidaya Perairan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari skripsi ini adalah hasil karya tulisan atau pemikiran orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 November 2017

Muhammad Risal
NIM : 105940

ABSTRAK

Muhammad Risal, 10594081013. Deteksi Virus Penyebab Penyakit Kerdil MBV (Monodon Baculo Virus) pada Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) dengan Menggunakan Metode PCR (Polymerase Chain Reaction). Skripsi Pembimbing oleh Rahmi dan Darmawati.

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Agustus 2017 di Laboratorium Kualitas Air Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Penelitian bertujuan untuk mengetahui deteksi virus penyebab penyakit kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) dengan metode PCR. Sampel udang vannamei yang diambil dari petani tambak di Kabupaten Takalar sebanyak 15 ekor stadia PL 12-14. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium Unhas kemudian dilakukan pengacakan secara bertingkat yaitu 15 ekor dibagi 3 sub sampel masing-masing 5 ekor secara acak setiap sub sampel dilakukan ekstraksi. Setiap 5 ekor dari sub sampel digabung untuk dijadikan sebagai 1 sampel ekstrak. Jumlah sampel ekstrak adalah 3 tabung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil elektroforesis PCR terlihat bahwa hasil elektroforesis DNA pada udang vanamei didapatkan dari 3 sampel masing-masing 5 ekor positif terinfeksi MBV (*Monodon baculo virus*) dan terlihat dengan munculnya pita DNA yang memiliki garis pada setiap marker dengan panjang DNA sampel (848 bp, 402 bp, 265 bp), 848 bp dapat mengakibatkan kerusakan jaringan dan sedangkan di atas 500 bp dapat menyebabkan kematian.

Kata kunci; Deteksi virus, PCR, MBV

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah dengan penuh rasa suka cita disertai dengan ucapan tulus syukur alhamdulillah kepada Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya. Sehingga penulis bisa menuntaskan Skripsi penelitian yang berjudul “**deteksi Virus penyebab Penyakit Kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) Pada Udang Vannamee *Litopanaeus vannamei*) dengan Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)**”. Dapat diselesaikan juga dengan waktu yang diharapkan. Banyak hambatan dan tantangan yang dihadapi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini karena menyadari bahwa penulis meTimes New Roman mempunyai keterbatasan kemampuan sebagai makhluk biasa.

Terimakasih yang sedalam-dalamnya Ananda haturkan kepada Ayahanda terhormat **Rajamuddin Daeng Tutu** dan Ibunda tercinta **Salawati DaengNganne**. Yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan penuh kasih sayang. Harapan dan cita-cita luhur kedua nya senantiasa memotivasi penulis untuk berbuat dan menambah ilmu, juga memberikan dorongan moral maupun material serta atas doanya yang tulus buat Ananda.

Pada kesempatan yang berharga ini penulis sampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada semua pihak yang telah mendukung proses penulisan skripsi ini, khususnya kepada yang terhormat:

1. Bapak **Dr. H. Abd. Rahman Rahim, SE, MM.** Rektor Universitas Muhammadiyah Makassar.
2. Bapak **Ir. Burhanuddin. S. Pi, MP,** selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar yang telah menyediakan sarana dan prasarana perkuliahan.
3. Ibu **Murni, S. Pi., M. Si,** selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar.
4. Ibu **Dr. Rahmi, S. Pi, M. Si. dan Ir. Darmawati, M. Si,** selaku Pembimbing yang telah ikhlas meluangkan waktunya dan banyak memberikan nasehat, saran, petunjuk yang berharga kepada penulis serta membimbing sejak persiapan penelitian sampai tersusunnya skripsi ini..
5. Bapak **Dr. Abdul Haris Sambu, S. Pi, M. Si** dan Ibu **Nur Insana Salam, S. Pi, M. Si** selaku penguji yang telah ikhlas meluangkan waktunya dan banyak memberikan nasehat, saran dan petunjuk yang berharga kepada penulis.

Bapak dan Ibu Dosen Serta Staf Tata Usaha Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar

6. **Para Sahabat Seperjuangan** Jumansir, Rusmawar, Zulfikar, Alam Suram, dan Teman-teman bdp 013 semua yang telah memberikan motivasi dan semangat buat penulis.

Penulis menyadari, bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Dengan kelebihan dan kekurangannya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi yang memerlukannya. Amin YaRabbal' Alamin. Akhirnya ,semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Makassar, 16 Januari 2018

Muhammad Risal

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGESAHAN	i
PENGESAHAN KOMISI PENGUJI	ii
HALAMAN HAK CIPTA	iii
HALAMAN PERYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1,2 Tujuan dan Kegunaan	2
II. TINJAUN PUSTAKA	3
2.1. Udang Vannamei (<i>Litopenaeus Vannamei</i>)	3
2.1.1. Klasifikasi dan Morfologi	3
2.2 Penyakit Kerdil MBV Udang Vannamei	5
2.2.1. Pengertian Penyakit Pada Udang	5
2.3. Teknik Pemeriksaan Penyakit Kerdil MBV	5
2.3.1. Teknik Pengambilan dan Penyimpanan Sampel	5
2.3.2. Teknik Identifikasi (PCR) <i>Polymerase Chain Reaction</i>	6
2.4 Faktor Pemicu Penyakit Kerdil MBV	8
2.4.1 pH	8

2.4.2 Oksigen	8
2.4.3 Salinitas	9
2.4.4 Suhu	10
III. METODE PENELITIAN	11
3.1. Waktu dan Tempat	11
3.2. Alat dan Bahan	11
3.3. Prosedur Kerja dan Pengumpulan Sampel	12
3.3.1. Ekstraksi DNA	12
3.3.2. Amplikasi PCR	15
3.3.4. Visualisasi DNA	15
3.4. Analisis Data	15
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1. Amplikasi PCR MBV (<i>Monodon Baculo Virus</i>)	16
V. KESIMPULAN DAN SARAN	20
5.1. Kesimpulan	20
5.2. Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

No	Halaman
1. Morfologi Udang Vannamei (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	3
2. Visualisasi DNA hasil M-PCR	17

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat-alat yang digunakan dalam deteksi virus dengan metode PCR	13
2. Bahan-bahan yang digunakan dalam deteksi virus dengan metode PCR	14

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu komoditi unggulan disektor perikanan yang telah memberikan kontribusi yang sangat besar terhadap peningkatan devisa Negara. Peningkatan produksi udang terutama sangat pesat di era tahun 1980 an sampai awal 1990 an. Setelah itu produksi udang mengalami penurunan yang sangat drastis salah satu penyebab permasalahan tersebut belum dapat diatasi sepenuhnya.

Dunia perikanan, khususnya dalam bidang budidaya tidak lepas adanya serangan penyakit. Penyakit tersebut merupakan suatu kendala yang harus di atasi dengan baik supaya dalam kegiatan budidaya tidak mengalami kegagalan. Di Indonesia penyakit ikan sangat bermacam – macam yang disitu disebabkan oleh bakteri, parasit, viral, maupun jamur. Mikroorganisme tersebut mempunyai golongan tertentu, ada yang menyerang ikan air laut, payau maupun air laut.

Budidaya udang vanammei di Indonesia dijumpai banyak kendala yang mengakibatkan produksi udang berfluktuasi. Kendala itu adalah berjangkitnya wabah penyakit yang berakibat pada kematian udang secara massal di tambak. Selain itu, faktor kualitas lingkungan juga memegang peranan penting dalam epizootologi penyakit. Setelah itu berbagai penelitian berkaitan dengan penyebab telah banyak dilakukandan menambah pengetahuan tentang penyakit ini. Penyakit kerdil telah diketahui di sebabkan oleh virus MBV, IHHNV dan HPV (Inouye, dkk 1994) dan teknik deteksi menggunakan PCR telah di kembangkan untuk

diagnose cepat agar dapat mencegah masuknya virus pada sistem budidaya di Kabupaten Takalar pada khususnya dan Indonesia.

Untuk mengantisipasi penyebaran virus dan mengurangi resiko kegagalan produksi diperlukan usaha pencegahan yaitu dengan peringatan dini (*early warning*) dan pemantauan terhadap keberadaan patogen tersebut di lingkungan tambak selama masa budidaya. Pendekatan yang dapat dilakukan adalah melalui pemanfaatan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang bekerja secara spesifik dan sensitif. Teknik PCR dapat di gunakan untuk mendeteksi virus pada udang yang di budidayakan. Virus yang menginfeksi udang dalam jumlah sedikit dan belum menimbulkan gejala penyakit pada udang dapat dideteksi dengan menggunakan teknik tersebut. Keberadaan virus dapat dilacak sejak dini karena DNA/RNA virus yang jumlahnya sedikit dapat di gandakan dengan PCR sehingga keberadaannya dapat segera terlacak. Olehnya itu penelitian ini dilakukan untuk mendeteksi MBV melalui *Real Time Polymerase Chain Reaction*.

1.2 Tujuan dan Kegunaan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui deteksi virus penyebab penyakit kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) dengan metode PCR sedangkan Manfaat dan kegunaan dalam penelitian ini adalah sebagai informasi penyakit kerdil pada udang vannamei digunakan sebagai langkah pengendalian penyakit untuk merekomendasi kebijakan dalam menggunakan sampel dalam proses penelitian.

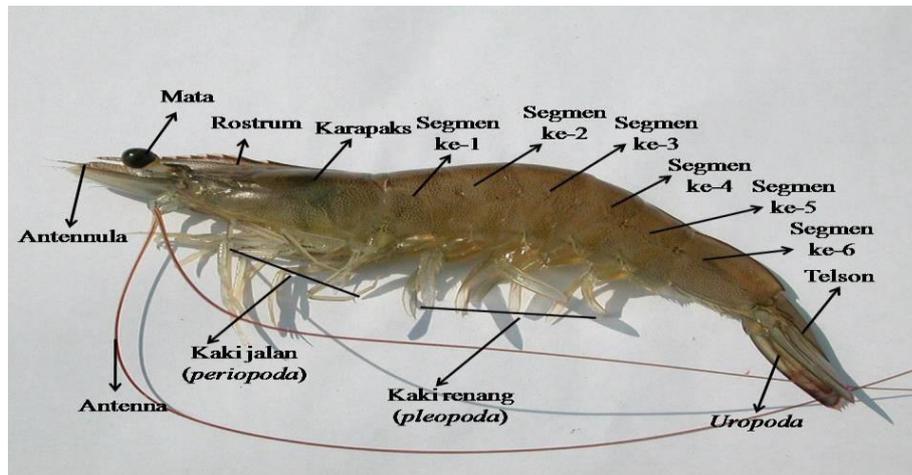
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi

Menurut Haliman dan Adijaya (2005), klasifikasi udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Sub-kingdom : Metazoa
Filum : Arthropoda
Subfilum : Crustacea
Kelas : Malacostraca
Subkelas : Eumalacostraca
Superordo : Eucarida
Ordo : Decapoda
Subordo : Dendrobrachiata
Famili : Penaeidae
Genus : *Litopenaeus*
Spesies : *Litopenaeus vannamei*



Gambar 1. Morfologi udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*)

Morfologi adalah bentuk atau bagian luar dari organisme. *Cephalothorax* udang vannamei terdiri dari *antenna*, *antennulae*, *mandibula* dan dua pasang *maxillae*. Kepala ditutupi oleh cangkang yang memiliki ujung runcing dan bergigi

yang disebut *rostrum*. Kepala udang juga dilengkapi dengan tiga pasang *maxilliped* dan lima pasang kaki jalan (*periopod*). *Maxilliped* sudah mengalami modifikasi dan berfungsi sebagai organ untuk makan (Haliman dan Adijaya, 2005). Bagian *abdomen* terdiri dari enam ruas, terdapat lima pasang kaki renang pada ruas pertama sampai kelima dan sepasang ekor kipas (*uropoda*) dan ujung ekor (*telson*) pada ruas yang keenam. Di bawah pangkal ujung ekor terdapat lubang dubur (anus) (Suyanto dan Mudjiman, 2003).

Ciri khusus yang dimiliki oleh udang vannamei adalah adanya pigmen karotenoid yang terdapat pada bagian kulit. Kadar pigmen ini akan berkurang seiring dengan pertumbuhan udang, karena saat mengalami molting sebagian pigmen yang terdapat pada kulit akan ikut terbang. Keberadaan pigmen ini memberikan warna putih kemerahan pada tubuh udang (Haliman dan Adijaya, 2005). Udang jantan dan betina dapat dibedakan dengan melihat alat kelamin luarnya. Alat kelamin luar jantan disebut *petasma*, yang terletak di dekat kaki renang pertama, sedangkan lubang saluran kelaminnya terletak di antara pangkal kaki jalan keempat dan kelima.

Tubuh udang vannamei dibentuk oleh dua cabang (*biramous*), yaitu *exopodite* dan *endopodite*. Seluruh tubuhnya tertutup oleh eksoskeleton yang terbuat dari bahan kitin. Tubuhnya beruas-ruas dan mempunyai aktivitas berganti kulit luar (eksoskeleton) secara periodik (molting). Bagian tubuh udang vannamei sudah mengalami modifikasi, sehingga dapat digunakan untuk beberapa keperluan antara lain : makan, bergerak dan membenamkan diri ke dalam lumpur, menopang insang, karena struktur insang udang mirip bulu unggas serta organ sensor seperti

antenna dan *antennulae* (Haliman dan Adijaya, 2005). Tubuh udang yang dilihat dari luar terdiri dari bagian, yaitu bagian depan yang disebut *cephalothorax*, karenamenyatunya bagian kepala dan dada serta bagian belakang (perut) yang disebut *abdomen* dan terdapat ekor (*uropod*) di ujungnya (Suyanto dan Mudjiman 2003).

2.2 Penyakit Kerdil MBV Udang Vannamei

2.2.1 Pengertian penyakit Udang

Penyakit adalah gangguan pada fungsi atau struktur organ atau bagian tubuh ikan. Pengetahuan tentang penyakit udang dirasakan sangat penting manakala wadah penyakit udang telah menyebabkan kegagalan dan kehilangan yang sangat bermakna. Kegagalan budidaya perairan akibat penyakit tidak disebabkan oleh factor tunggal, akan tetapi merupakan hasil interaksi yang sangat kompleks antara udang (kualitas, stadiarawan), lingkungan, organisme dan kemampuan tenaga teknis (Balai Budidaya Laut Lampung, 2002).

2.3 Teknik Pemeriksaan Penyakit Kerdil MBV Vannamei

2.3.1 Teknik Pengambilan dan Penyimpanan Sampel

Tahap awal yang dilakukan adalah melihat kenampakan sampel udang yang didugaterkena serangan virus, kemudian segera menyiapkan seluruh alat yang akan digunakan untuk pemeriksaan. Pemeriksaan dilakukan dengan keadaan steril agar tidak terjadi *kontaminasi* seperti halnya penggunaan pinset atau gunting yang berbeda pada masing-masing sampel yang akan di uji. Bahan uji diambil dari udang dengan cara mengambil bagian organ *pleopode*, *periopode*, insang dan ekor dengan menggunakan gunting dan pinset. Organ target yang telah diambil

selanjutnya disimpan dalam alcohol 96 % kemudian dilakukan pemberian label atau pengkodean sampel pada masing-masing tube sesuai dengan nomor contoh.

Selanjutnya disimpan sampel pada suhu 20 0C dalam *freezer* teknik pengambilan sampel dan seberapa banyak individu yang akan diambil sangat dipengaruhi oleh tujuan pemeriksaan dan kegiatan yang dilakukan, untuk tujuan *monitoring* rutin dan tidak menunjukkan tanda serangan maka sampling dilakukan secara *random* dengan jumlah sampel yang diambil antara 10 – 15 ekor.,

2.3.2 Teknik Identifikasi MBV dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

Reaksi *Polimerase* Berantai atau dikenal sebagai *Polymerase Chain Reaction* (PCR), merupakan suatu proses *sintesis enzimatik* untuk melipatgandakan suatu sekuens *nukleotida* tertentu secara *in vitro*. Metode ini dikembangkan pertama kali oleh Kary B. Mulis pada tahun 1985. Metode ini sekarang telah banyak digunakan untuk berbagai macam manipulasi dan analisis genetic. Pada awal perkembangannya metode ini hanya digunakan untuk melipatgandakan molekul DNA, tetapi kemudian dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat digunakan pula untuk melipatgandakan dan melakukan kuantitas molekul mRNA.

Dengan menggunakan metode PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula, sekitar $10^6 - 10^7$ kali. Setiap urutan basa *nukleotida* yang *diamplifikasi* akan menjadi dua kali jumlahnya. Pada setiap siklus PCR akan diperoleh 2^n kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara *amplifikasi* hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan *amplifikasi* urutan non-target. Metode PCR

dapat dilakukan dengan menggunakan komponen dalam jumlah yang sangat sedikit, misalnya DNA cetakan yang diperlukan hanya sekitar 5 μ g, *oligonukliotida* yang digunakan hanya sekitar 1 mm dan reaksi ini biasa dilakukan dalam volume 50-100 μ l. DNA cetakan yang digunakan juga tidak perlu dimurnikan terlebih dahulu sehingga metode PCR dapat digunakan untuk melipatgandakan suatu *sekuens* DNA dalam genom bakteri. Konsep asli teknologi PCR mensyaratkan bahwa bagian tertentu sekuen DNA yang akan dilipatgandakan harus diketahui terlebih dahulu sebelum proses pelipatgandaan tersebut dapat dilakukan.

Sekuen yang diketahui tersebut penting untuk menyediakan primer, yaitu suatu sekuen *oligonukleotida* pendek yang berfungsi mengawali *sintesis* rantai DNA dalam reaksi berantai *polymerase*. Prinsip kerja uji PCR adalah melipatgandakan suatu *sekuens* DNA dalam genom bakteri. Konsep asli teknologi PCR mensyaratkan bahwa bagian tertentu sekuen DNA yang akan dilipatgandakan harus diketahui terlebih dahulu sebelum proses pelipatgandaan tersebut dapat dilakukan. Sekuen yang diketahui tersebut penting untuk menyediakan primer, yaitu suatu sekuen *oligonukleotida* pendek yang berfungsi mengawali *sintesis* rantai DNA dalam reaksi berantai *polymerase*.

Prinsip kerja uji PCR adalah adalah *mengekstraksi* DNA/RNA dari sampel. Berikutnya memperbanyak potongan-potongan DNA/RNA yang membawa informasi genetika tertentu, dan sebagai langkah terakhir adalah proses *elektroforesis* untuk melihat hasil produk PCR. Sampel yang diuji PCR sebaiknya dalam kondisi segar. Namun bila tidak memungkinkan sampel dapat disimpan

dalam larutan alkohol 95 % (perbandingan 1: 9, 1 bagian sampel dengan 9 bagian alkohol 95 %) untuk kemudian dikirim ke laboratorium (Bebeja, 2013).

2.4 Faktor Pemicu Virus MBV Vannamei

2.4.1 pH

pH air tambak dalam budidaya udang vanname memiliki pH ideal berkisar antara 7,5-8,5 (Anonim, 2003). Umumnya perubahan pH air dipengaruhi oleh sifat tanahnya .pH air tambak dapat berubah menjadi asam karena meningkatnya benda-benda membusuk dari sisa pakan atau yang lain. pH air yang asam dapat diubah menjadi alkalis dengan penambahan kapur dolomit pada bagian dalam pematang tambak.

2.4.2 Oksigen

Oksigen terlarut merupakan parameter utama kualitas air yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang. Pengaruh langsung oksigen adalah efektifitas penggunaan pakan serta proses-proses metabolisme udang dan secara tidak langsung berpengaruh terhadap kondisi kualitas air (Boyd, 2001).

Kandungan oksigen terlarut dalam perairan sangat berpengaruh terhadap fisiologi udang. Kadar oksigen merupakan faktor lingkungan yang terpenting pada udang. Rendahnya kadar oksigen dapat berpengaruh terhadap fungsi biologis dan lambatnya pertumbuhan, bahkan dapat mengakibatkan kematian. Fungsi oksigen selain untuk pernapasan organisme juga untuk mengoksidasi bahan organik yang ada di dasar tambak. Jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk pernapasan udang

tergantung ukuran, suhu dan tingkat aktivitas dan batas minimumnya adalah 3 ppm.

Kebutuhan oksigen mempengaruhi laju pertumbuhan, nafsu makan serta konversi pakan. Kandungan oksigen rendah dapat menyebabkan pertumbuhan lambat, nafsu makan rendah dan konversi pakan tinggi. Udang akan tumbuh dengan baik pada kadar oksigen minimum sebesar 4 ppm (Suyanto dan Mudjiman, 2003).

Haliman dan Adijaya (2005), menyatakan bahwa kandungan oksigen terlarut sangat mempengaruhi metabolisme tubuh udang. Kadar oksigen terlarut yang optimum bagi udang adalah di atas 4 mg/L. Kadar oksigen yang terlarut bervariasi tergantung pada suhu, salinitas, turbulensi air dan tekanan atmosfer.

2.4.3 Salinitas

Salinitas merupakan salah satu parameter lingkungan yang mempengaruhi proses biologi dan secara langsung akan mempengaruhi kehidupan organisme antara lain yaitu mempengaruhi laju pertumbuhan, jumlah makanan yang dikonsumsi, nilai konversi makanan dan daya sintasan (Andrianto, 2005). Udang dapat hidup pada salinitas air antara 5-40 ppt. Salinitas yang optimal untuk pertumbuhan udang adalah 15-25 ppt, Meskipun udang merupakan biota *euryhaline* namun pertumbuhannya akan terlambat apabila dipelihara pada salinitas lebih rendah atau lebih tinggi dari kadar optimal dalam waktu yang lama. Pengukuran salinitas air dilakukan satu kali sehari yaitu pada siang hari bersamaan dengan pengukuran oksigen (siang hari) dengan menggunakan refraktometer. Salinitas dinyatakan dalam satuan gram/liter atau promil (‰)

(Boyd, 1990). Nilai salinitas berkaitan dengan proses osmoregulasi yang terjadi antara tubuh udang dan lingkungannya. Pada nilai salinitas optimum, udang tidak memerlukan energi yang besar untuk proses osmoregulasi dan energi dapat dialokasikan lebih besar untuk proses pertumbuhan.

2.4.4. Suhu

Suhu sangat berpengaruh terhadap konsumsi oksigen, pertumbuhan, sintasan udang dalam lingkungan budidaya perairan (Pang-Lu-King et al., 2007). Suhu yang baik dalam budidaya udang suhu berkisar 20-30 °C. Hal ini menunjukkan bahwa suhu air yang tinggi mencegah terjadinya infeksi dan secara nyata mengurangi mortalitas udang yang terinfeksi MBV serta menunjukkan bahwa suhu air yang tinggi menghambat replikasi MBV disebabkan oleh peningkatan aktifitas respon imun.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan Agustus 2017. di Laboratorium Kualitas Air Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.

3.2 Alat Dan Bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu diantaranya:

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam deteksi virus dengan metode PCR

No	Alat	Keterangan
1.	Tabung sentrifuge	sebagai tempat sampel
2.	Bearker glas	sebagai tempat sampel yang dicampur
3.	Thermal cycle	alat PCR
4.	Elektroforesis	visualisasi DNA
5.	Mikropipet	pengambilan sampel
7.	Tip	pengambilan sampel
8.	microwave	tempat pemanasan agarose
9.	Elektroforesis	memisahkan DNA
10.	Tray elektroforesis	mencetak gel agarose
11.	tabung ependorf (1,5 ml)	menyimpan sampel ekstrak
12.	magnetic stirrer	menghomogenkan agarose
13.	tabung PCR (0,2 ml)	menyimpan template DNA untuk PCR
14.	Timbangan Elektrik	menimbang jumlah sampel dan agarose
15.	Labuerlenmeyer	menyimpan sampel agarose
16.	Sentrifuge	memisahkan supernatant
17.	Vortex	mencampur larutan

Tabel 2. Bahan-bahan yang digunakan dalam deteksi virus dengan metode PCR

No.	Bahan	Keterangan
1.	10X buffer PCR	sebagai bahan PCR
2.	dNtP Mix	sebagai bahan PCR
3.	Primer (5 mM)	sebagai bahan PCR
4.	DdH2O (Aquabides)	sebagai bahan PCR
5.	DNA Taq Polymerase	sebagai bahan PCR
6.	Agarose	sebagai bahan elektroforesis
7.	Ethidium Bromide	sebagai bahan elektroforesis
8.	Molekuler Weight Maker	sebagai bahan DNA
9.	Buffer TAE 1X (Tris Bise, Acetic Aced, EDTA)	sebagai bahan elektroforesis
10.	Loading Dye 6x	sebagai bahan PCR
11.	Alkohol 70%	sebagai pembersih alat
12.	MgCL2 10 mm	sebagai bahan PCR

3.3. Prosedur Kerja dan Pengumpulan Sampel

Sampel udang vannamei yang diambil dari petani tambak di Kabupaten Takalar sebanyak 15 ekor stadia PL 12-14. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium Unhas kemudian dilakukan pengacakan secara bertingkat yaitu 15 ekor dibagi 3 sub sampel masing-masing 5 ekor secara acak setiap sub sampel dilakukan ekstraksi. Setiap 5 ekor dari sub sampel digabung untuk dijadikan sebagai 1 sampel ekstrak. Jumlah sampel ekstrak adalah 3 tabung.

3.3.1 Ekstraksi DNA

Deteksi keberadaan virus MBV dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan ekstraksi DNA dari udang dan selanjutnya dilakukan amplifikasi DNA dengan menggunakan teknik M-PCR. Ekstraksi DNA dilakukan dengan terlebih dahulu menggerus seluruh bagian tubuh udang sampai halus. Selanjutnya ekstraksi DNA

dilakukan dengan menggunakan kit qiagen DNA mini kit menggunakan protokol untuk tissues. Secara berurutan ekstraksi DNA dilakukan dengan prosedur sebagai berikut :

1. Membersihkan sampel udang yang telah difiksasi dengan alcohol 70% beberapa kali kemudian menggerus sampel sampai hancur.
2. Mengambil 3 buah tabung mikro (*microtube*) 1,5 μ l dan menambahkan larutan ATL sebanyak mL.
3. Meletakkan sampel dalam satu buah tabung mikro (*microtube*) 1,5 μ l tersebut.
4. Selanjutnya menambahkan larutan proteinase K sebanyak 200 ml kedalam tabung, kemudian divorteks lalu melakukan sentrifus cepat.
5. Kemudian menginkubasi tabung pada suhu 56 $^{\circ}$ C selama 3 jam. Dalam kasus inkubasi selama 3 jam sebaiknya melakukan vortex setiap selang 1 jam untuk menjamin bahwa jaringan terlisis dengan sempurna.
6. Setelah inkubasi selanjutnya melakukan sentifus cepat sehingga seluruh cairan yang melengket pada dinding tabung akan menuju kredasar tabung, kemudian supernatant dibuang.
7. Menambahkan larutan 200 μ L buffer A1, memvortex larutan selama 15 detik , lalu menginkubasi larutan pada suhu 70 $^{\circ}$ C selama 10 menit. Kemudian melakukan sentrifus cepat dan membuang supernatant.
8. Selanjutnya menambahkan 200 μ L etanol 99,5% (ethanol absoult).
9. Memindahkan larutan dari tabung mikro pada Ql Aamp mini spin kolom (dalam 2 ml tabung koleksi), pada saat memindahkan larutan agar tidak

menyentuh dinding tabung. Menutup tabung dan melakukan sentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit , meletakkan QIAamp kolom pada tabung koleksi yang sudah mengandung filtrate.

10. Menambahkan 500 μ L buffer AW1 tanpa menyentuh dinding tabung, menutup penutup, lalu melakukan sentrifus 8000 rpm selama 1 menit, kemudian meletakkan kembali kolom pada tabung koleksi yang baru dan tabung koleksi yang mengandung filtrate dibuang.
11. Menambahkan 500 μ L buffer AW 2 pada kolom tanpa menyentuh pinggir tabung lalu melakukan sentrifus pada 1400 rpm selama 3 menit
12. Membuang filtrate lalu menempatkan kembali kolom pada tabung koleksi yang sama, lalu melakukan sentrifus kembali pada 1400 rpm selama 1 menit.
13. Selanjutnya melakukan QIAamp kolom pada tabung mikro 1,5 ml dan menambahkan buffer AE sebanyak 100 μ L, menginkubasi pada suhu kamar selama 1 menit, lalu melakukan sentrifus pada 8000 rpm selama 1 menit.
14. Mengulangi langkah 13 dengan menambahkan buffer AE sebanyak 100 μ L pada tabung yang sama selama 1 menit dan selanjutnya disentrifus selama 8000 rpm selama 1 menit, total larutan DNA yang diperoleh adalah 200 μ L.
15. Menyimpan hasil ekstrak DNA pada suhu-20 $^{\circ}$ C sebelum digunakan.

3.3.2 Amplikasi PCR

Amplikasi DNA dengan teknik M-PCR dilakukan dengan komposisi, primer dan kondisi PCR sebagai berikut;

Komposisi M-PCR

• Master mix	12,5
• Primer	0,8 x (3 psg)
• Template DNA	2,0
• MiliQ	3,2
• Coral Land	2,5
Jumlah	25 μ L.

3.3.4 Visualisasi DNA

Gel hasil elektroforesis direndam dalam larutan *ethidium bromide* (konsentrasi 1 mg/mL) selama 10 -15 menit. Selanjutnya gel dicuci dengan akuadest selama 5 – 10 menit untuk mengetahui ada tidaknya inveksi MBV, terhadap sampel-sampel yang dideteksi maka gel hasil elektroforosis diamati menggunakan *uv transluminator* yang sekaligus dilakukan pengambilan gambar.

3.4. Analisa Data.

Data yang diperoleh dari hasil penelitian akan dianalisis secara deskriptif kualitatif yaitu membandingkan hasil DNA yang terdeteksi dengan menggunakan metode PCR.

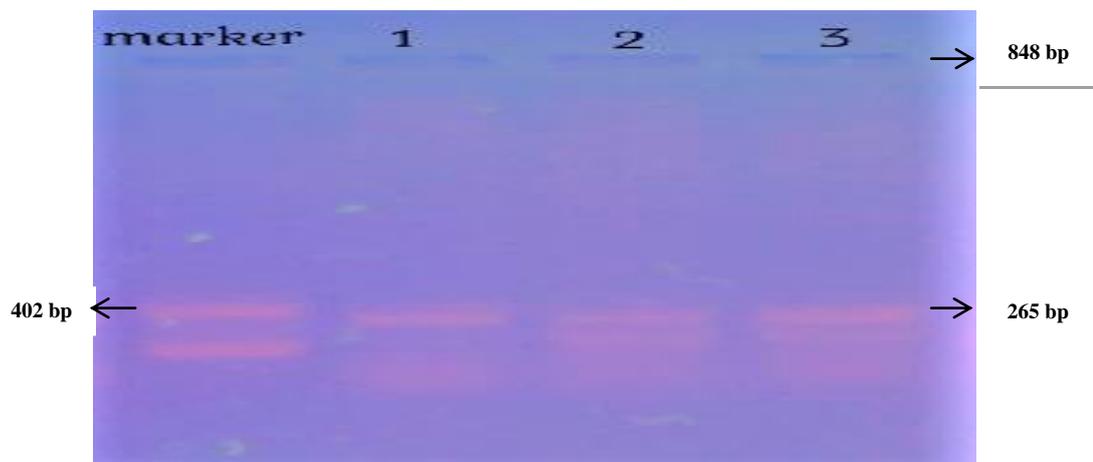
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Amplikasi PCR MBV (*Monodon baculo virus*)

Hasil PCR memperlihatkan bahwa virus MBV (*Monodon baculo virus*), atau disebut penyakit kerdil di udang vaname terinfeksi dengan model infeksi ganda. Hal ini menunjukkan bahwa virus ini dapat menginfeksi secara individu pada udang vaname. Tang and Lightner (2011), MBV dan HPV adalah dua jenis virus yang melakukan replikasi secara independen pada satu individu udang.

Berdasarkan hasil elektroforesis PCR terlihat bahwa hasil elektroforesis DNA dari 3 sampel masing-masing 5 ekor udang vaname positif terinfeksi MBV (*Monodon baculo virus*) atau biasa dikenal dengan penyakit kerdil hal ini dapat dilihat dengan munculnya pita DNA yang memiliki garis di tiap masing-masing marker (848 bp, 402 bp, 265 bp). Berdasarkan buku panduan IQ2000 MBV detection and prevention system, apabila pita DNA berada pada posisi fragmen 848 bp, 402 bp, 265 bp menunjukkan bahwa udang udang tersebut terinfeksi penyakit kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) dengan tingkat sedang yang artinya udang terinfeksi positif. Jika udang terinfeksi positif kemungkinan tingkat virus MBV (*Monodon baculo virus*) adalah 2000 copy DNA. Pembacaan hasil visualisasi dan hasil elektroforesis memiliki tingkat penginfeksi yang terdiri dari *light*, *very light*, *medium* dan *severe* (Sanjuktha, 2012). Posisi fragmen 265 bp dan 402 bp menunjukkan terinfeksi MBV (*Maonoddoan baculo virus*) *medium* (sedang). Pemunculan pita pada setiap marker 848 bp, 620 bp, 320 bp menandakan positif terinfeksi virus MBV (*Monodon baculo virus*) pada tahap *very light* dan *severe* (parah). Apabila posisi pita muncul 848 bp, hal ini tidak

dapat menandakan tidak terinfeksi penyakit kerdil. Dimana diyakini para ahli bahwa 848 bp merupakan gen murni dari udang bukan virus dari MBV (*Monodon baculo virus*). Namun apabila tidak terlihat pita dalam gel elektroforesis itu menandakan kualitas DNA kurang baik.



Gambar 2. Visualisasi DNA hasil M-PCR

Berdasarkan hasil gambar di atas terlihat bahwa virus MBV (*Monodon baculo virus*) pada sampel udang, terinfeksi secara FCR pada 265 bp, 402 bp, 848 bp yang menandakan bahwa udang vananame terinfeksi sedang dengan MBV (*Monodon baculo virus*) hal ini menandakan virus tersebut pada terdeteksi tiga jenis primer yang digunakan.

Hasil gambar menunjukkan bahwa sel-sel organ yang berbeda memberikan respon yang berbeda juga terhadap virus yang sama. Perbedaan tersebut antara struktur jaringan abdomen, hepatopancreas, dan telson. Abdomen adalah organ target yang mudah terinfeksi MBV (*Monodon baculo virus*). Hal ini diduga karna abdomen merupakan salah satu Organ yang tersusun dari sel epitel kutikular, salah satu jaringan target MBV (*Monodon baculo virus*). Tang et al., 2003; Kalagayan

et al., 1991). Hal tersebut sama seperti kasus yang diperoleh dalam penelitian ini, udang menampakkan gejala pertumbuhan yang tidak normal dengan beragam ukuran yang lebih kecil dari ukuran udang normal disertai bentuk rostrum yang abnormal atau bengkok.

Hal lain yang menjadi tanda jenis infeksi berat pada udang vanname adalah Jenis parasit yang berasosiasi dengan penyakit kerdil adalah microsporidian dan gregarine yang terdapat pada usus udang yang pada infeksi berat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan, perubahan warna menjadi kuning dan terjadi perforasi dan hiperflasia pada epitelium usus tengah/midgut (Poulpanich and Withyachumnarnkul, 2009). Hepatopankreas, juga tidak mengkode DNA polymerase sehingga replikasinya tergantung pada aktifitas replikasi sel inang. MBV adalah bacu lovirus yang memiliki DNA polymerase dan dapat bereplikasi di dalam sel B (Blisterlike), F (Fibrilar) dan R (Resorptive). Perubahan ini menyebabkan udang stress sehingga daya tahan tubuh udang menurun. Kondisi lingkungan yang berada di luar kebutuhan optimal organisme akan menyebabkan stress dimana pada kondisi ini sistem imun untuk melawan patogen menurun.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi stress Total Haemocyte Count (THC) krustase menurun, aktifitas enzim yang berhubungan dengan resistensi terhadap penyakit menurun dan sensitifitas terhadap patogen meningkat (Truscott & White, 1990; Vargas-Albores et al., 1998; Le Moullac & Haffner, 2000). Sementara You et al, 2010), sistem imun udang untuk melawan virus akibat perlakuan suhu menunjukkan bahwa THC dan

aktifitas Phenoloksidase. Apalagi fungsi organ ini sangat berkaitan dengan paparan terhadap hemolymph yang tinggi. MBV (*Monodon baculo virus*) atau yang biasa disebut penyakit kerdil penularan terjadi secara horizontal melalui air atau kanibalisme terhadap udang yang sedang sakit. (Bonnichon et al., 2006; Melena et al, 2006). Kondisi ini sama dengan apa yang ditemukan pada kasus yang terjadi pada udang sampel yang dianalisis. Di mana kematian yang terjadi tidak terlalu banyak, kemungkinan kasus ini adanya fenomena tersebut di atas. Akibatnya adalah ukuran udang yang sangat bervariasi karena adanya infeksi MBV (*Monodon baculo virus*). Oleh karena itu, kualitas penggunaan induk sangat perlu diperhatikan didalam melakukan pembenihan udang vanname. Pencegahan adalah tindakan yang harus dilakukan dengan cara melakukan deteksi dan monitoring adanya patogen penyakit

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui deteksi virus penyebab penyakit kerdil MBV (*Monodon baculo virus*) dengan metode PCR. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil elektroforesis PCR terlihat bahwa hasil elektroforesis DNA pada udang vanamei di dapatkan dari 3 sampel masing-masing 5 ekor positif terinfeksi MBV (*Monodon baculo virus*) dan terlihat dengan munculnya pita DNA yang memiliki garis pada setiap marker dengan panjang DNA sampel (848 bp, 402 bp, 265 bp), 848 bp dapat mengakibatkan kerusakan jaringan dan sedangkan di atas 500 bp dapat menyebabkan kematian.

5.2 Saran

Perlu adanya analisa lanjutan mengenai perkembangan morfologi udang untuk mengetahui penyakit yang terinfeksi.

DAFTAR PUSTAKA

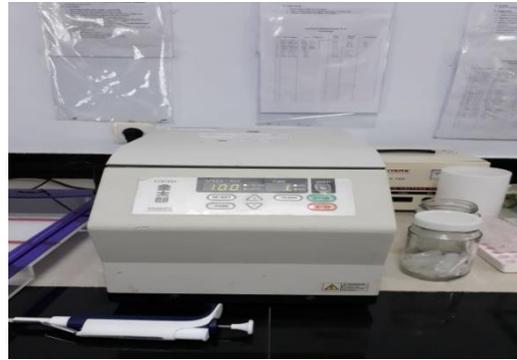
- Anonim, 2003. *Litopenaeus vannamei* sebagai alternative budidaya udang saat ini. PT. Central Proteina prima (Charoen Pokphan Group). Surabaya.
- Boyd, 1990. Water Quality In Pond For Aquaculture. Auburn University Alabama.
- Boyd, 2001. Pengelolah Kualitas Air Dalam Budidaya Perikanan.
- Bonnichon, V., Lightner, D.V., & Bonami, J.R. 2006. Viral interference between infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus and white spot syndrome virus in *Litopenaeus vannamei*. *Dis. Aquat. Org.*, 72: 179-184.
- Haliman, R.W. dan Adiwijaya, D. 2005. Udang Vannamei, Pembudidayaan dan Prospek Pasar Udang Putih yang Tahan Penyakit. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Inouye, K., S. Miwa, N. Oseko, H. Nakano dan T. Kimura. 1994. Mass mortality of Cultured karuma shrimp, *Panaeus japonicas*, in Japan in 1993: Electron Microscopic evidence of the causative virus. *Fish Pathology*, 29, 149-158. (in Japanese with an English abstract).
- Le Moullac, G. and P. Haffner. 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture*. 191:121–131.
- Melena, J., Bayot, B., Betancourt, I., Amano, Y. Panchana, F., Alday, V., Calder, J., Stern, S., Roch, Ph. and Bonami, J-R. 2006. Pre-exposure to infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus or to inactivated white spot syndrome virus (WSSV) confers protection
- Poulpanich, N., and Withyachumnarnkul, B. 2009. Fine structure of a septate gregarine trophozoite in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Dis Aquat Org*, 86: 57–63.
- Suyanto, S.R, dan A.Mujiman. 2013. Budidaya Udang Windu. Penebar Swadaya Jakarta.
- Truscott, R. and White, K. N. 1990. The influence of metal and temperature stress on the immune system of crabs. *Funct. Ecol.* 4:455–461
- Tang, K.F.J., Poulos, B.T., Wang, J., Redman, R.M., Shih, H.H., & Lightner, D.V. 2003. Geographic variation among infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) isolates and characteristics of their infection. *Dis. Aquat. Org.*, 53: 91-99.

- Tang, K. F. J. and Lightner, D. V. 2011. Duplex real-time PCR for detection and quantification of monodon baculo virus (MBV) and hepatopancreatic parvovirus (HPV) in *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.* 93: 191–198.
- Uma, A, A. Koteeswaran, Karuna sagar Indrani. 2005. Prevalence of white spot syndrome virus and monodon baculo virus in *Penaeus monodon* broodstock and postlarvae from hatcheries in southeast coast of India.
- Vargas-Albores, F., Hinojosa-Baltazar, P. and Portillo-Clark, G. 1998. Influence of temperature and salinity on the yellow leg shrimp, *Penaeus californiensis* Holmes, phenoloxidase system. *Aquaculture Research*. 29:549–553.
- You, X. X., Su, Y. Q., Mao, Y., Liu, M., Wang, J., Zhang, M., and Wu, C. 2010. Effect of high water temperature on mortality, immune response and viral replication of WSSV-infected *Marsupenaeus japonicus* juveniles and adults. *Aquaculture*. 305:133–137.

Lampiran 1. Peralatan yang digunakan pada saat penelitian



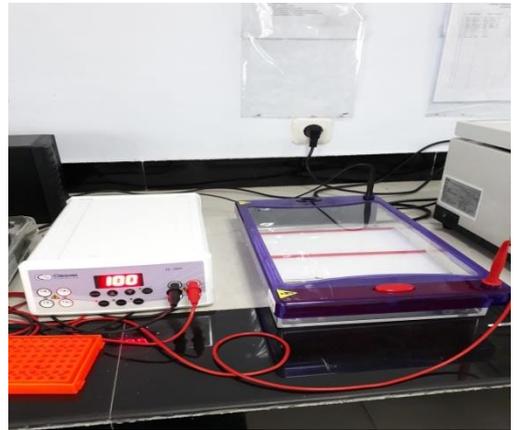
Waterbath



Centifuge



Termocycler



powersuplayelektroforesis



Gel dok



RIWAYAT HIDUP



Muhammad Risal. Lahir di talamangape pada tanggal 02 Agustus 1995. Anak pertama dari empat bersaudara dan merupakan buah kasih sayang dari **Ayahanda Rajamuddin Tutu dan Ibunda Salawati Nganne**. Adapun Pendidikan yang dilalui yaitu pada tahun 2007 Tamatdi SD Negeri Borongkanan, kemudian pada tahun 2010 Tamat di SMP Negeri Sengka Bontonompo Selata.

Kemudian pada tahun 2013 Tamatdi SMA Negeri 1 Bontonompo Kabupaten Gowa. Pada tahun 2013 penulis diterima sebagai Mahasiswa Di Universitas Muhammadiyah Makassar Program Strata (S1) pada Jurusan Budidaya Perairan Fakultas Pertanian dan melakukan penelitian yang berjudul Deteksi Virus Penyebab Penyakit Kerdil MBV (*Monodon baculoviru*) pada Udang Vannamei (*Litopenaeusvannamei*) dengan Menggunakan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*)