

**SURVEILANS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA  
*CARRIER* DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG  
DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**ZAHRI MAULANA  
1914201018**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDARLAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### **SURVEILANS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA CARRIER DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

Oleh

**ZAHRI MAULANA**

Wilayah pesisir Anyer dan Carita menjadi salah satu kawasan wisata bahari di Banten. Oleh karena kurangnya pengawasan dari lembaga terkait, wilayah ini dijadikan kawasan budi daya tambak udang oleh petambak yang kurang bertanggung jawab. Keberadaan tambak di wilayah ini sangat berdampak buruk bagi keadaan lingkungan perairan, baik perubahan kualitas air maupun munculnya berbagai penyakit, di antaranya *white spot syndrome virus* (WSSV). Tujuan dari penelitian ini, yaitu mengidentifikasi keberadaan *white spot syndrome virus* (WSSV) pada lingkungan perairan dan *carrier* yang terdapat di perairan sekitar tambak udang wilayah pesisir Anyer dan Carita. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2022 yang berlokasi di perairan sekitar tambak udang wilayah pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten dengan menggunakan metode deteksi *real time-polymerase chain reaction* (RT-PCR). Hasil penelitian menunjukkan 4 sampel terdeteksi WSSV dari 70 sampel yang terambil dengan nilai Ct 36,67(1), 35,99(2), 21,14(3) dan 35,61(4). Sampel yang terdeteksi WSSV berlokasi di stasiun 2 dan stasiun 5. Sampel positif ini terdeteksi pada perairan (air laut) dan *carrier* (teritip dan kelomang).

Kata kunci : surveilans, WSSV, *real time*-PCR, kualitas air

## **ABSTRACT**

### **THE SURVEILLANCE OF WHITE SPOT SYNDROME VIRUS (WSSV) IN CARRIERS AND WATERS AT SHRIMP POND IN ANYER AND CARITA COASTAL, BANTEN PROVINCE**

**By**

**ZAHRI MAULANA**

The coastal areas of Anyer and Carita are one of the marine at Banten Province. Lack of supervision from related institutions, this area is used as a shrimp farming pond cultivation area by irresponsible farmers. The existence of ponds in this area has a very bad impact on the condition of the aquatic environment, both changes in water quality and the emergence of various diseases including the white spot syndrome virus (WSSV) in the aquatic environment. The purpose of this study was to examine the presence of WSSV in waters and carrier biota and to examine the effect of the presence of illegal growout ponds on the emergence of the WSSV virus. This research was conducted in August to September 2022 which was located in the waters around the shrimp ponds in the Anyer and Carita coastal areas of Banten Province using the real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) detection method. The results showed that 4 samples were detected with WSSV from 70 samples taken with Ct values of 36.67 (1), 35.99(2), 21.14(3) and 35.61(4). Samples detected by WSSV were located at station 2 and station 5. These positive samples were detected in waters (seawater) and carriers (barnacles and hermit crabs).

Keywords : surveillance, WSSV, real time-PCR, water quality

**SURVEILANS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA  
*CARRIER* DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG  
DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

**Oleh**

**ZAHRI MAULANA**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA PERIKANAN**

**Pada**

**Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Skripsi : **SURVEILANS *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA *CARRIER* DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

Nama Mahasiswa : **Zahri Maulana**

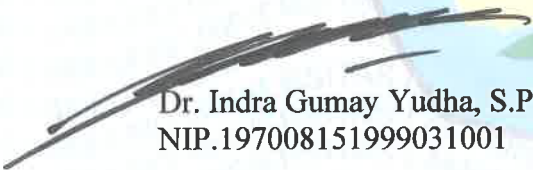
NPM : **1914201018**


Jurusan/Program Studi : **Perikanan dan Kelautan/Sumberdaya Akuatik**

Fakultas : **Pertanian**


**MENYETUJUI**

**1. Dosen Pembimbing**

  
Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.  
NIP.197008151999031001

  
Indriasih, S.Si., M.Si.  
NIP. 198108052009122001

**2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan  
Universitas Lampung**

  
Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.  
NIP.197008151999031001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

**Ketua** : Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.

**Sekretaris** : Indriasih, S.Si., M.Si.

**Anggota** : Henni Wijayanti Maharani, S.Pi, M.Si.



*[Handwritten signatures of the examiners]*

**2. Dekan Fakultas Pertanian**



**Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.**

**NIP. 196110201986031002**

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 09 Maret 2023**

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Zahri Maulana

NPM : 1914201018

Judul Skripsi : Surveilans *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) pada *Carrier* dan Perairan di Sekitar Tambak Udang di Wilayah Pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten

Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari hasil karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat, apabila di kemudian hari terbukti ditemukan kecurangan dalam karya ini, maka saya siap bertanggung jawab.

Bandarlampung, 2 April 2023  
Yang membuat pernyataan



Zahri Maulana  
NPM. 1914201018

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Serang pada tanggal 09 Juni 2001 sebagai anak pertama dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Ahmad Jamroni dan Ibu Hasanah. Penulis pernah menempuh pendidikan Sekolah Dasar Negeri (SDN) Walantaka 1 pada tahun 2007-2012. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Ciruas, diselesaikan pada tahun 2016, Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Ciruas dengan Jurusan Ilmu Pengetahuan Alam pada tahun 2016-2019, dan sejak tahun 2019 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Sumberdaya Akuatik, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti organisasi tingkat jurusan, fakultas, dan universitas. Penulis pernah mengemban amanah sebagai anggota bidang Pengembangan Minat dan Bakat (PMB) di Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) pada tahun 2021-2022 atau selama dua periode. Penulis pernah menjabat sebagai anggota Bidang Akademik dan Riset pada Forum Studi Islam (Fosi) pada tahun 2020 selama satu periode dan pernah menjabat sebagai anggota Bidang Hubungan Masyarakat pada Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Bina Rohani Mahasiswa tingkat Universitas pada tahun 2020. Selain itu, penulis juga pernah menjabat sebagai staf ahli dalam Dewan Perwakilan Mahasiswa Universitas (DPM U) pada tahun 2020 dan menjabat sebagai anggota Dewan Perwakilan Mahasiswa Fakultas (DPM F) pada tahun 2022.



Selain kegiatan dalam kampus, penulis juga mengikuti program Pertukaran Mahasiswa Merdeka-Dalam Negeri (PMM-DN) pada kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) tahun 2021. Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Cikoneng, Kabupaten Serang Banten pada tahun 2022, dan Praktik Umum (PU) di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang pada tahun 2022.

## **PERSEMBAHAN**

### **Bismillahirrahmanirrahim**

Dengan rasa cinta kasih yang mendalam kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan serta kenikmatan dalam kehidupan melalui ilmu yang diberikan. Shalawat serta salam tercurah kepada Nabi Muhammad SAW atas nikmat dan kelancaran yang diberikan akhirnya skripsi ini selesai dengan baik.

Kupersembahkan skripsi ini kepada:

### **Bapak dan Mamah tercinta**

Karya sederhana ini saya persembahkan dengan rasa terima kasih kepada Bapak (Ahmad Jamroni) dan Mamah (Hasanah). Keduanyalah yang telah membuat semua menjadi mungkin sehingga saya bisa berada pada tahap ini. Terima kasih saya ucapkan atas semua dukungan, doa, serta nasihat yang tiada henti. Semoga ini menjadi langkah untuk membuat Bapak dan Mamah bangga.

### **Adik dan orang terdekat**

Saya persembahkan karya ini untuk adik (Fadlan Alfa Rizki, Ikmal Alfi Anugrah, dan Affan Arkatama) dan orang-orang terdekat saya yang telah memberikan dukungan serta semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.

Serta

Almamater kebanggaan, Universitas Lampung

## **MOTTO**

**“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya”**

(QS. Al-Baqarah: 286)

**“Barang siapa menempuh jalan untuk mendapatkan ilmu, Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga”**

(HR. Muslim, no. 2699)

## SANWACANA

Puji syukur kepada Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi yang berjudul “Surveilans *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* pada *Carrier* dan Perairan di Sekitar Tambak Udang di Wilayah Pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten” ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka dari itu diharapkan adanya saran dan kritik yang membangun dari semua pihak.

Penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan saran dari berbagai pihak, maka penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung;
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, sekaligus sebagai Pembimbing Utama yang telah memberikan arahan, kritik, dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;
3. Indriasih, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, kritik, dan saran dalam proses penyelesaian skripsi ini;
4. Henni Wijayanti Maharani, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Program Studi Sumberdaya Akuatik serta Penguji Skripsi yang telah memberikan masukan, kritik, dan saran dalam proses penyelesaian skripsi ini;

5. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian dan mengikuti semua program kegiatan yang ada;
6. Segenap pegawai BPKIL Serang, atas kesempatan yang diberikan dan pengalaman bekerja sampai menyelesaikan skripsi ini;
7. Ahmad Jamroni dan Hasanah, selaku kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan dan masukan dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. M. Fatin Choiri, teman perjuangan yang selalu kebersamai dalam program magang serta memberikan masukan dan arahan selama penelitian sampai menyelesaikan skripsi ini;
9. Risma Warni, Muthia, Hana, Mita, Triana, dan Fikrie, selaku teman perjuangan dalam menyelesaikan skripsi ini;
10. Teman-teman Prodi Sumberdaya Akuatik angkatan 2019, atas kebersamaan yang tak terlupakan.

Bandarlampung, 2 April 2023

**Zahri Maulana**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Kerangka Pikiran.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 <i>White Spot Syndrome Virus (WSSV)</i> .....	5
2.2 <i>Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i> .....	6
2.3 <i>Dissolved Oxygen (DO)</i> .....	7
2.4 Suhu.....	7
2.5 Salinitas.....	8
2.6 Derajat Keasaman (pH).....	19
2.7 <i>Total Organic Matter (TOM)</i> .....	10
<b>III. METODOLOGI</b> .....	12
3.1 Waktu dan Tempat.....	12
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.3 Metode Penelitian.....	14
3.3.1 Penentuan Titik Penelitian.....	14
3.3.2 Pengukuran Kualitas Air dan Pengambilan Sampel.....	17
3.3.2.1 Pengukuran Kualitas Air.....	17
3.3.2.2 Pengambilan Sampel.....	18
3.3.3 Pengujian Sampel.....	18
3.3.4 Analisi Data.....	21
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	21
4.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian.....	21
4.2 Hasil Parameter Fisika dan Kimia Perairan.....	25

4.2.1 <i>Dissolved Oxygen</i> (DO).....	26
4.2.2 Suhu.....	26
4.2.3 Salinitas.....	27
4.2.4 Derajat Keasaman (pH).....	28
4.2.5 <i>Total Organic Matter</i> (TOM).....	28
4.3 Identifikasi Biota Perairan dan Media Penularan.....	29
4.4 Pengujian Sampel Menggunakan <i>Real Time-PCR</i> .....	32
4.5 Peta Persebaran Wilayah Terdeteksi WSSV.....	37
<b>5.1 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	42
<b>LAMPIRAN</b> .....	49

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Titik koordinat lokasi pengambilan sampel.....,13	13
2. Alat pengambilan sampel.....13	13
3. Alat pengujian sampel.....14	14
4. Bahan pengujian RT-PCR.....14	14
5. Komposisi <i>q</i> PCR mastermix WSSV.....19	19
6. Pengaturan suhu, waktu, dan siklus.....19	19
7. Hasil pengukuran parameter fisika dan kimia perairan minggu ke-1.....25	25
8. Hasil pengukuran parameter fisika dan kimia perairan minggu ke-2.....25	25
9. Sampel pengujian WSSV.....30	30
10. Hasil pengujian WSSV menggunakan RT-PCR pengambilan ke-1.....33	33
11. Hasil pengujian WSSV menggunakan RT-PCR pengambilan ke-2.....36	36
12. Konsentrasi genom sampel pengambilan ke-1.....50	50
13. Konsentrasi genom sampel pengambilan Ke-2.....50	50



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran.....	4
2. Peta lokasi penelitian.....	12
3. Ilustrasi titik pengambilan sampel.....	15
4. Kondisi stasiun 1.....	21
5. Kondisi stasiun 2.....	22
6. Kondisi stasiun 3.....	22
7. Kondisi stasiun 4.....	23
8. Kondisi stasiun 5.....	23
9. Kondisi stasiun 6.....	24
10. Kondisi stasiun 7.....	24
11. <i>Clibanarius</i> sp.....	31
12. <i>Chthamalus</i> sp.....	32
13. <i>Tetraclita</i> sp.....	32
14. Peta persebaran WSSV di wilayah Anyer dan Carita.....	38
15. Interaksi antara patogen, inang dan lingkungan.....	40
16. Kurva standar hasil pengujian menggunakan RT-PCR pengambilan ke-1.....	52
17. Kurva standar hasil pengujian menggunakan RT-PCR pengambilan ke-2.....	53

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kawasan pesisir Anyer dan Carita menjadi salah satu kawasan wisata pantai yang banyak didatangi wisatawan, baik lokal maupun mancanegara. Kawasan ini juga memiliki potensi dalam kegiatan budi daya perikanan payau khususnya pembenihan udang. Hal ini tercantum dalam Peraturan Daerah Nomor 5 Tahun 2020 Tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Serang pasal 44 ayat (2) butir c dan Peraturan Daerah Nomor 2 Tahun 2020 tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Pandeglang pasal 43 ayat (2) butir b yang menyatakan aturan pengelolaan dan penggunaan lahan serta zonasi wilayah pesisir Anyer dan Carita.

Peraturan daerah tentang rencana tata ruang dan wilayah yang dibuat, dengan maksud untuk membentuk zonasi yang terencana agar dikelola dengan baik dan benar. Namun, kurangnya evaluasi dan pengawasan lembaga terkait menyebabkan banyak tambak pembesaran udang yang beroperasi di sekitar kawasan Pantai Anyer sampai Pantai Carita. Munculnya tambak udang ini menyebabkan kegelisahan para pembenihan udang (*hatchery*) yang berada di sekitar tambak udang. Apabila kegiatan budi daya pembesaran udang beroperasi beberapa komponen lingkungan akan terkena dampak, seperti melimpahnya kandungan bahan organik, perubahan BOD, COD, DO, kecerahan air, jumlah fitoplankton, maupun peningkatan virus dan bakteri akibat pemberian pakan yang berlebihan dan limbah dari kegiatan budi daya tidak diolah terlebih yang langsung dibuang ke perairan (Witomo, 2018).

Penyakit yang bisa disebabkan akibat limbah hasil buangan air budi daya yang menjadi ancaman bagi pembenihan udang yaitu *white spot syndrome virus*

(WSSV). WSSV yang merupakan salah satu patogen yang sering menginfeksi udang windu dan udang vannamei. WSSV menjadi penyakit viral yang sangat virulen dan dapat menyerang berbagai jenis udang (Lightner, 1996). Keberadaan penyakit WSSV dapat menyebabkan kematian massal pada udang windu dan udang vannamei sampai 100% dalam kisaran waktu 2-7 hari, baik di tempat pembenihan maupun di tambak, sehingga hasil produksi menurun. Dalam sistem budi daya, virus ini dapat ditransmisikan lewat proses kanibalisme udang yang baru mati dan lewat air yang memang sudah terkontaminasi (Chang *et al.*, 1996).

Penularan penyakit ini dapat disebabkan oleh adanya organisme *carrier*, yaitu organisme pembawa penyakit yang dapat menularkan penyakit pada organisme lain (Novita, 2012). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh dari kegiatan tambak pembesaran udang pada kawasan Anyer dan Carita terhadap munculnya penyakit WSSV pada lingkungan perairan dan *carrier* yang dilihat dari beberapa biota dan air di sekitar tambak udang.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini, yaitu bagaimana kondisi lingkungan dan biota *carrier* di perairan sekitar budi daya tambak udang Anyer dan Carita?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

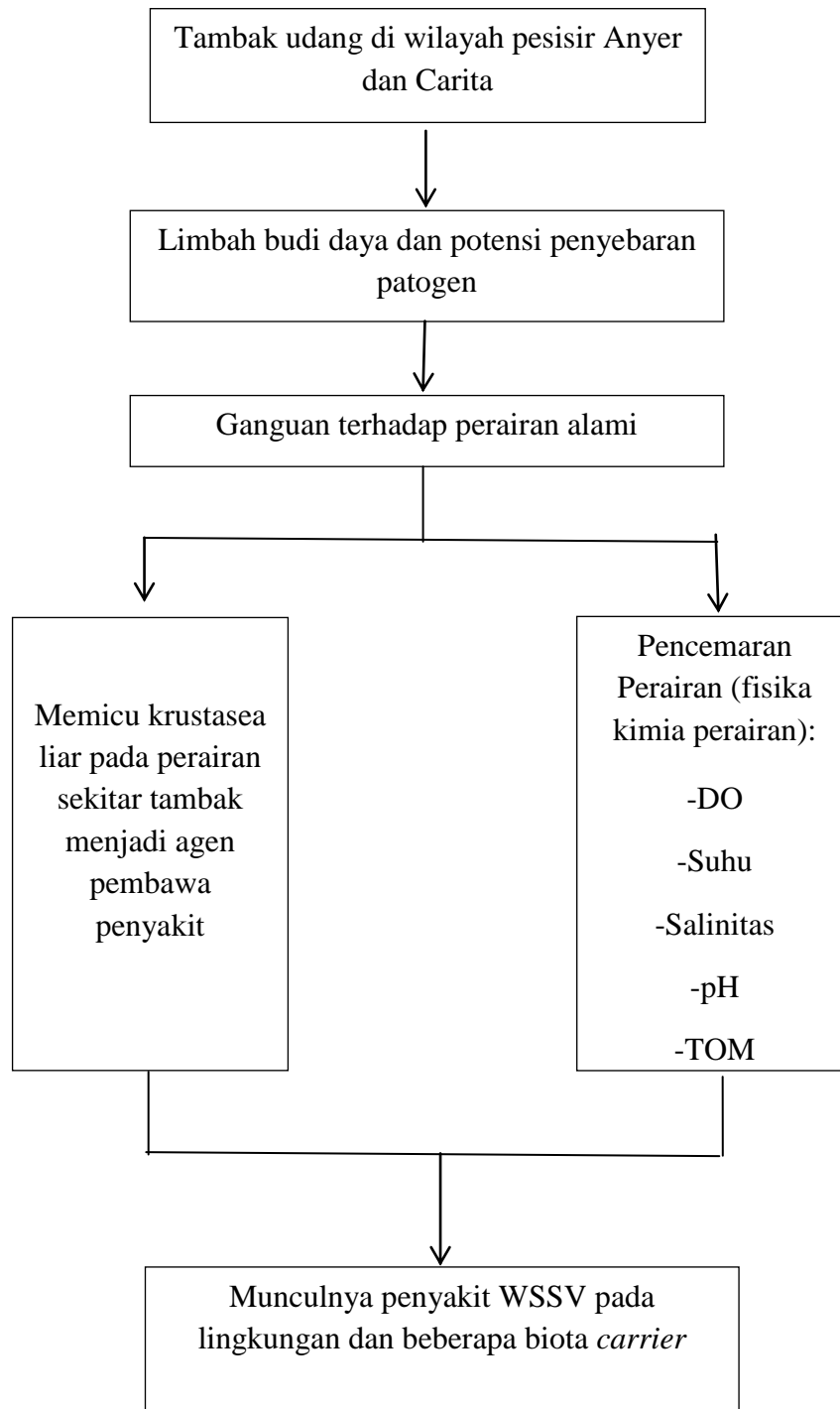
Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi keberadaan *white spot syndrome virus* (WSSV) pada lingkungan perairan dan *carrier* yang terdapat di sekitar tambak udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai bahan referensi ilmiah yang dapat digunakan sebagai landasan bagi pemangku kebijakan rencana tata ruang dan wilayah pesisir Anyer dan Carita serta memberikan informasi tentang keberadaan virus WSSV pada perairan wilayah pesisir Anyer dan Carita.

### **1.5 Kerangka Pikiran**

Pesisir Anyer dan Carita merupakan kawasan destinasi wisata pantai yang banyak didatangi wisatawan serta dijadikan kawasan pembenihan udang. Namun kawasan yang seharusnya menjadi tempat wisata dan pembenihan udang dijadikan tempat budi daya pembesaran udang oleh pembudi daya yang tidak bertanggung jawab. Munculnya tambak pembesaran di kawasan ini bisa berdampak buruk pada kondisi perairan hingga munculnya penyakit, sehingga perlu dilakukan analisis melalui penelitian dengan dukungan beberapa parameter. Berdasarkan hal tersebut, kerangka pikiran tertera pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikiran

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*

*White spot syndrome virus (WSSV)* merupakan virus *double stranded DNA (ds-DNA)*, yang memiliki selubung, berbentuk bundar batang serta memiliki ekor di salah satu bagian ujungnya (Yang *et al.*, 2001). Virus WSSV mempunyai kisaran inang yang luas (Escobedo *et al.*, 2008). Selain itu, WSSV juga memiliki daya virulensi atau kemampuan merusak sel inang yang tinggi dan menyebabkan angka kematian kumulatif yang tinggi. Kematian udang yang disebabkan oleh virus WSSV bisa mencapai 100% dalam beberapa hari pada kasus budi daya udang penaeid (Samyuktha dan Pasupathi, 2013).

Menurut Yi (2004), WSSV merupakan salah satu patogen yang paling serius dalam kasus kematian udang. Kasus WSSV ini telah menghancurkan industri budi daya udang di berbagai negara. Virus ini sangat ganas dan sangat sulit dihentikan, serta dapat menyebabkan kematian 100% udang peliharaan dalam waktu 3-10 hari sejak gejala klinis muncul (Wittfeldt *et al.*, 2004). WSSV memiliki daya mortalitas yang cukup tinggi dalam waktu singkat maka WSSV dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar. WSSV bersifat patogen terhadap banyak hewan akuatik terutama krustasea termasuk udang laut, udang air tawar, kepiting dan lobster (Reddy *et al.*, 2013).

*White spot syndrome virus (WSSV)* ini termasuk genus *whispovirus* dari famili *nimaviridae* dengan amplop trilaminar. Selain itu, WSSV termasuk virus jenis untai ganda yang memiliki virion yang besar (80-120 x 250-380 nm) dan berbentuk batang atau elips (Lightner, 2004). Awal mula munculnya WSSV pada tahun 1993, virus ini menyerang budi daya udang. Pada saat itu, virus ini muncul karena sanitasi yang tidak memadai (Rosenberry, 2000).

## 2.2 Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

PCR menjadi salah satu metode untuk mengidentifikasi penyakit infeksius. Metode ini dikembangkan dengan maksud untuk mengatasi kelemahan dari penggunaan metode diagnosis konvensional, seperti imunologi dan mikrobiologi. Teknik PCR didasarkan pada amplifikasi fragmen DNA spesifik dimana terjadi penggandaan jumlah molekul DNA pada setiap siklusnya secara eksponensial dalam waktu yang relatif singkat (Bambang *et al.*, 2015).

Selain PCR konvensional mendeteksi patogen secara molekuler digunakan juga *real time-PCR*. *Real time-PCR* merupakan teknik yang digunakan untuk memonitor progres reaksi PCR pada waktu yang sama. *Real time-PCR* juga dikenal sebagai *quantitative PCR* (q-PCR). Jumlah produk PCR (DNA, cDNA atau RNA) yang relatif sedikit, dapat dihitung secara kuantitatif. Analisis penggunaan metode *real time-PCR* memiliki sensitivitas tinggi dan lebih spesifik (Kurniawati *et al.*, 2019).

Prinsip kerja qPCR atau *real time-PCR* adalah mendeteksi dan menguantifikasi *reporter fluoresen*. Sinyal fluoresen yang terdeteksi akan meningkat seiring dengan bertambahnya produk PCR (amplikon) dalam suatu reaksi. Peningkatan jumlah amplikon yang signifikan pada fase eksponensial berhubungan dengan jumlah inisiasi gen target. Semakin tinggi tingkat ekspresi gen target maka deteksi emisi *fluoresen* semakin cepat terjadi (Arya *et al.*, 2005).

Terdapat dua jenis *reporter fluoresen* yang umumnya digunakan dalam qPCR, yaitu Taqman dan *SYBR Green*. *Reporter fluoresen* merupakan salah satu protein yang digunakan dalam proses qPCR. *SYBR Green* akan berfluoresensi ketika berikatan dengan seluruh *double stranded DNA* (dsDNA). Sinyal *fluoresens SYBR Green* saat berikatan dengan dsDNA direkam setiap siklus sehingga menunjukkan banyak produk yang teramplifikasi selama reaksi berlangsung. Semakin banyak *template* pada awal reaksi, maka semakin sedikit siklus amplifikasi yang dibutuhkan untuk mencapai titik saat sinyal *fluoresens SYBR Green* terdeteksi lebih tinggi dari ambang batas (*threshold*) fluoresens yang ditentukan (Bustin, 2000).

### **2.3 Dissolved Oxygen (DO)**

Oksigen terlarut atau *dissolved oxygen* (DO) merupakan jumlah konsentrasi oksigen yang terlarut di dalam air. Adanya oksigen yang terlarut di dalam air karena terjadi proses fotosintesis tumbuhan air atau fitoplankton serta terjadinya proses difusi dari atmosfer. Konsentrasi oksigen terlarut di perairan dipengaruhi oleh kedalaman dasar perairan. Apabila dasar perairan semakin dalam, maka kandungan oksigen semakin sedikit ataupun sebaliknya. Hal ini disebabkan adanya proses fotosintesis dan penggunaan bahan organik (Mujiati, 2006).

Oksigen terlarut merupakan salah satu parameter kimia yang dapat menggambarkan kualitas suatu perairan. Oksigen berperan sebagai pengoksidasi dan reduksi bahan kimia beracun menjadi senyawa lain yang lebih sederhana dan tidak beracun (Salmin, 2005). Menurut Sutarna (1986) dalam Muhlis (2011), kelarutan oksigen pada badan air tergantung pada seberapa besar proses pengadukan air permukaan akibat proses fisik air laut seperti tiupan angin, keadaan arus, ombak, dan gelombang.

Oksigen terlarut di perairan akan digunakan oleh hewan air termasuk ikan untuk pernapasan, proses metabolisme atau pertukaran zat yang kemudian menghasilkan energi untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan (Salmin, 2000). Kadar oksigen terlarut sangat penting untuk pertumbuhan udang, kadar oksigen terlarut rendah atau terlalu tinggi secara kronis dapat mengganggu kesehatan udang. Kadar oksigen terlarut yang baik bagi pertumbuhan dan kehidupan yang normal adalah 5 ml/g. Apabila kandungan oksigen terlarut  $< 1$  mg/l dalam beberapa jam, maka udang mudah terinfeksi penyakit serta bisa menyebabkan kematian (Boyd, 1991).

### **2.4 Suhu**

Suhu perairan merupakan salah satu faktor eksternal yang memiliki peran penting bagi kehidupan organisme di perairan. Suhu menjadi parameter yang paling mudah untuk diteliti dan ditentukan. Aktivitas metabolisme serta penyebaran organisme perairan banyak dipengaruhi oleh suhu air (Nontji, 2005). Suhu juga sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan pertumbuhan organisme perairan. Selain itu,



suhu perairan yang terdapat pada badan air dipengaruhi oleh adanya perubahan musim, lintang, waktu dalam hari, sirkulasi udara, penutupan awan, dan aliran serta kedalaman air. Suhu perairan berperan mengendalikan kondisi ekosistem perairan. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan dekomposisi bahan organik oleh mikroba (Effendi, 2003).

Kenaikan suhu yang terjadi pada suatu perairan dapat menyebabkan stratifikasi atau pelapisan air. Stratifikasi air ini dapat berpengaruh terhadap kandungan oksigen di perairan. Apabila kondisi ini terjadi, maka harus dilakukan pengadukan air yang bertujuan untuk penyebaran oksigen sehingga tidak terjadi proses anaerob pada dasar perairan. Perubahan suhu permukaan dapat berpengaruh terhadap proses fisik, kimia, dan biologi di perairan tersebut (Kusumaningtyas *et al.*, 2014).

Secara umum, virus pada suhu lingkungan yang rendah lebih cepat menginfeksi dibandingkan dengan virus pada suhu lingkungan yang lebih tinggi. Semakin tinggi suhu pemanasan, maka peluang untuk rusaknya partikel virus akibat terjadinya denaturasi protein semakin besar. Pemanasan pada suhu tertentu mempunyai pengaruh terhadap struktur protein virus sehingga terjadi denaturasi protein yang menyebabkan rusaknya partikel virus dan akan menghilangkan inefektivitas virus atau menyebabkan virus tersebut inaktif (Malole, 1987)

## **2.5 Salinitas**

Salinitas adalah konsentrasi seluruh larutan garam yang diperoleh dalam air laut, dimana salinitas air berpengaruh terhadap tekanan osmotik air, semakin tinggi salinitas maka akan semakin besar pula tekanan osmotiknya (Widiadmoko, 2013 *dalam* Hamuna, *et al.*, 2018). Perbedaan salinitas perairan dapat terjadi karena adanya perbedaan penguapan dan presipitasi.

Banjarnahor (2000) mengemukakan bahwa perbedaan nilai salinitas disebabkan oleh terjadinya pencampuran (*mixing*) akibat gelombang laut maupun gerakan massa air yang ditimbulkan oleh tiupan angin). Pada musim barat dikenal tiupan angin barat yang sangat kuat disertai gelombang dan arus menyebabkan tingkat penguapan (evaporasi) terhambat sehingga diduga dapat memperkecil nilai

salinitas. Selain itu, musim barat di wilayah Papua merupakan musim hujan, dengan curah hujan yang tinggi dapat menyebabkan salinitas air permukaan menjadi rendah. Pada musim barat salinitas berkisar antara 29,0-33,0 ppt dengan rata-rata  $31,5 \pm 1,46$  ppt, sedangkan pada musim peralihan berkisar antara 31,5-34,0 ppt dengan rata-rata  $32,8 \pm 0,68$  ppt (Patty *et al.*, 2019).

Salinitas menjadi salah satu parameter kualitas air yang memegang peranan penting karena memengaruhi pertumbuhan udang. Pada salinitas tinggi, pertumbuhan udang menjadi lambat karena proses osmoregulasi terganggu. Osmoregulasi merupakan proses pengaturan dan penyeimbangan tekanan osmosis antara di dalam dan di luar tubuh udang. Apabila salinitas meningkat, maka pertumbuhan udang akan melambat karena energi lebih banyak terserap untuk proses osmoregulasi dari pada untuk pertumbuhan. Kondisi lingkungan perairan yang buruk dapat memengaruhi kondisi kesehatan udang yang sedang dibudidayakan, sehingga udang mudah stres dan terinfeksi penyakit (Haliman, *et al.* 2005).

## **2.6 Derajat Keasaman (pH)**

Derajat keasaman (pH) merupakan logaritma negatif dari konsentrasi ion-ion hidrogen yang terlepas dalam suatu cairan dan merupakan indikator baik buruknya suatu perairan. Derajat keasaman suatu perairan merupakan salah satu parameter kimia yang penting dalam memantau kestabilan perairan (Simanjuntak, 2009). Variasi nilai pH suatu perairan sangat memengaruhi organisme yang hidup di perairan tersebut. Selain itu, tingginya nilai pH sangat menentukan dominasi fitoplankton yang memengaruhi tingkat produktivitas primer suatu perairan dimana keberadaan fitoplankton didukung oleh ketersediaan nutrisi di perairan laut (Megawati *et al.*, 2014).

Variasi nilai derajat keasaman (pH) air laut dapat dijadikan sebagai salah satu identifikasi kualitas air laut. Pada kisaran nilai pH tertentu dapat diindikasikan terjadinya suatu perubahan dalam kualitas perairan. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa pH air laut permukaan berkisar antara 7,89-8,32 dengan nilai rata-rata  $8,13 \pm 0,11$  dan pH dekat dasar berkisar antara 8,08-8,28 dengan nilai rata-

rata  $8,17 \pm 0,06$ . Kisaran ini sesuai dengan nilai pH suatu perairan normal (Patty dan Akbar, 2018).

Menurut Erari *et al.*, (2012) yang melakukan penelitian di perairan Papua mendapatkan pH perairan berkisar antara 6,28 – 8,7 di bagian laut dan 7,25 – 7,76 di perairan dekat muara sungai. Selain itu, pada perairan lain didapatkan pH perairan berkisar antara 7 – 8,3. Menurut Silalahi *et al.*, (2017) pH air laut relatif lebih stabil dan biasanya berada dalam kisaran 7,5 dan 8,4, kecuali dekat pantai. Nilai pH yang ideal bagi perairan adalah 7–8,5.

### **2.7 Total Organic Matter (TOM)**

Bahan organik menjadi salah satu sumber nutrisi yang penting serta sangat dibutuhkan oleh organisme laut. Salah satu fungsi dari bahan organik di perairan yaitu sebagai indikator kualitas perairan. Bahan organik secara alamiah berasal dari perairan tersebut melalui proses penguraian, pelapukan, ataupun dekomposisi tumbuhan air, serta sisa-sisa organisme mati. Bahan organik juga bermanfaat sebagai pendukung kehidupan fitoplankton di perairan, karena aliran nutrisi yang berasal dari sungai ke laut, sehingga ketersediaan unsur hara di dalam perairan dapat menjadi indikator kesuburan suatu perairan (Marwan *et al.*, 2015). Pasokan bahan organik pada ekosistem perairan terjadi dalam dua jalur, yaitu dekomposisi senyawa organik menjadi anorganik oleh organisme dekomposer dan masukan dari sungai yang bermuara di danau. Daerah tropis jumlah nutrisi terlarut relatif lebih banyak, karena suhu yang hangat memacu proses dekomposisi bahan organik oleh mikroorganisme (Triyaningsih *et al.*, 2021)

Perairan dengan kandungan TOM yang terlalu sedikit maupun berlebih tidak baik bagi kesuburan perairan. Perairan yang baik adalah perairan dengan kondisi TOM sesuai dengan baku mutu yang ditentukan. Selain itu, bahan organik yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya eutrofikasi atau bertumbuhkembangnya organisme perairan yang berlebihan yang berdampak buruk bagi biota dan perairan (Yuningsih *et al.*, 2014).

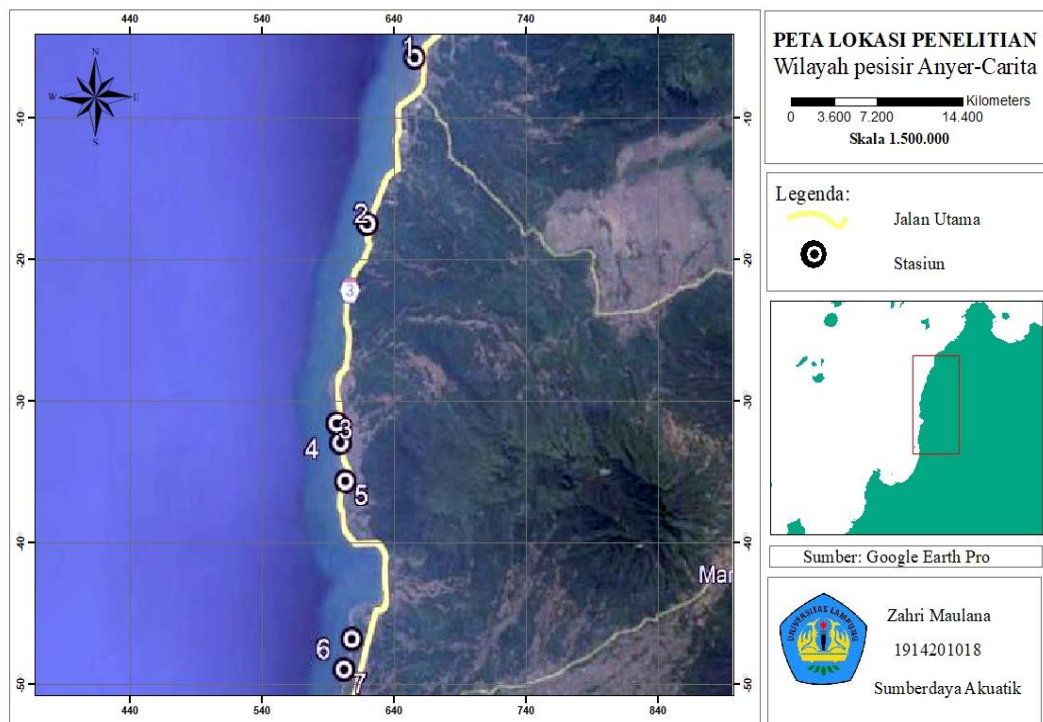
Sumber kegagalan budidaya udang diduga berasal dari faktor internal lingkungan pertambakan. Faktor internal yang penting adalah perubahan kualitas air akibat

penumpukan bahan organik berupa sisa pakan dan kotoran udang (feses) pada substrat dasar tambak. Bahan organik tersebut, bila terurai akan terbentuk amonia yang dapat terperangkap di lapisan substrat dasar tambak atau terlarut dalam air yang akan bersifat toksik terhadap udang. Kadar amonia yang tinggi di perairan juga dapat meningkatkan konsentrasi amonia dalam darah sehingga mengurangi aktivitas darah (*hemocyanin*) dalam mengikat oksigen. Selain itu, tingginya kadar amonia juga dapat meningkatkan kerentanan udang terhadap penyakit yang disebabkan infeksi virus (Komarawidjaja, 2003).

### III. METODOLOGI

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2022 dengan daerah pengambilan sampel dilakukan di sekitar perairan tambak pembesaran udang wilayah pesisir Anyer dan Carita. Pengambilan sampel dan parameter kualitas air dilakukan sebanyak 2 kali dengan selang 2 minggu. Pendeteksian virus WSSV dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang. Peta lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Peta lokasi penelitian

Tabel 1. Titik koordinat lokasi pengambilan sampel

No	Lokasi	Titik Koordinat	Keterangan
1	Stasiun 1, titik 1	6° 7'35.37"S 105°51'48.59"E	Serang
2	Stasiun 1, titik 2	6° 7'43.31"S 105°51'47.67"E	Serang
3	Stasiun 2, titik 1	6°11'0.64"S 105°50'33.42"E	Serang
4	Stasiun 2, titik 2	6°11'2.14"S 105°50'32.66"E	Serang
5	Stasiun 3, titik 1	6°15'3.30"S 105°49'37.82"E	Pandeglang
6	Stasiun 3, titik 2	6°15'5.00"S 105°49'38.29"E	Pandeglang
7	Stasiun 4, titik 1	6°15'27.73"S 105°49'41.83"E	Pandeglang
8	Stasiun 4, titik 2	6°15'30.58"S 105°49'41.59"E	Pandeglang
9	Stasiun 5, titik 1	6°16'17.94"S 105°49'46.86"E	Pandeglang
10	Stasiun 5, titik 2	6°16'18.56"S 105°49'45.34"E	Pandeglang
11	Stasiun 6, titik 1	6°19'33.36"S 105°49'43.69"E	Pandeglang
12	Stasiun 6, titik 2	6°19'35.77"S 105°49'43.98"E	Pandeglang
13	Stasiun 7, titik 1	6°20'12.26"S 105°49'31.70"E	Pandeglang
14	Stasiun 7, titik 2	6°20'17.60"S 105°49'30.69"E	Pandeglang

### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua, yaitu saat pengambilan sampel dan pendeteksian virus yang dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler BPKIL Serang, untuk lebih jelasnya tentang alat, dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Alat pengambilan sampel

No	Nama Alat	Kegunaan
1.	Refraktometer	Mengukur salinitas perairan.
2.	Termometer	Mengukur suhu perairan.
3.	pH meter	Mengukur kadar keasaman perairan.
4.	DO meter	Mengukur kandungan oksigen perairan.
5.	GPS	Mengetahui titik lokasi penelitian.
6.	Plastik zip	Tempat untuk menyimpan sampel.

Tabel 2. Alat pengambilan sampel (lanjutan)

No	Nama Alat	Kegunaan
7.	Pipet tetes	Mengambil akuades.
8.	Kamera digital	Mendokumentasikan penelitian.
9.	Kertas label	Memberi tanda tiap sampel.
10.	<i>Cool box</i>	Tempat untuk menyimpan sampel.
11.	Pisau	Mengambil sampel.
12.	Botol TOM	Menyimpan sampel air.
13.	Alat tulis	Mencatat hasil pengukuran.

Tabel 3. Alat pengujian sampel

No	Nama Alat	Kegunaan
1.	Alat pengukur konsentrasi DNA ( <i>Multi scanSky</i> )	Mengukur konsentrasi DNA.
2.	Bunsen	Mensterilkan alat.
3.	<i>Pellet pestle</i>	Menghancurkan sampel.
4.	<i>Freezer</i> (suhu -20 sampai dengan -80)	Menyimpan sampel.
5.	Gunting	Menghancurkan sampel.
6.	Mesin <i>Real Time-PCR</i>	Mendeteksi virus.
7.	Mikropipet (2-1000 $\mu$ L)	Mengambil cairan.
8.	Mikrotube	Wadan sampel.
9.	Palu	Menghancurkan sampel.
10.	Pinset	Mengambil isi sampel.
11.	<i>Spin down centrifuge</i>	Memisahkan suspensi.
12.	Timbangan analitik	Menimbang berat sampel.
13.	<i>Stopwatch</i>	Mengatur waktu.

Adapun bahan yang digunakan untuk pendeteksian virus *white spot syndrome virus* (WSSV) sebagai berikut;

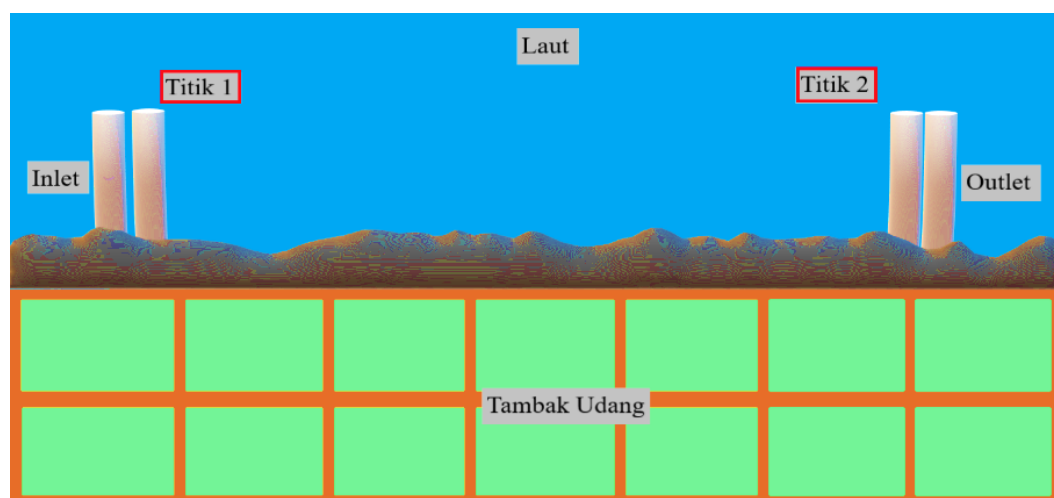
Tabel 4. Bahan pengujian RT-PCR

No	Nama Bahan
1.	Etanol 75% dan 96%
2.	<i>Filtered microtip</i> berbagai ukuran 10–1000 $\mu$ l
3.	Mikroplate <i>optical</i>
4.	<i>Cover optical</i>
5.	DNAzol <i>Reagent</i>
6.	<i>Iq real 2000 WSSV (PCR Premix dan IQzyme)</i>
7.	Kontrol positif WSSV ( $10^6$ , $10^5$ , $10^4$ , $10^3$ , $10^2$ , 10)
8.	8 mM NaOH
9.	Sarung tangan ( <i>powder free</i> )

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Penentuan Titik Penelitian

Penentuan lokasi penelitian ini ditentukan dengan metode *purposive sampling*, suatu teknik penentuan lokasi penelitian secara sengaja berdasarkan pertimbangan tertentu. Penentuan lokasi dalam pengambilan sampel dilakukan di 7 stasiun dengan 2 titik pada setiap stasiun berlokasi di pinggir pantai dekat dengan *inlet* dan *outlet* tambak pembesaran udang. Ilustrasi titik pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ilustrasi titik pengambilan sampel



### 3.3.2 Pengukuran Kualitas Air dan Pengambilan Sampel

#### 3.3.2.1 Pengukuran Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air dilakukan secara bersamaan saat pengambilan sampel. Pengukuran parameter ini dilakukan di setiap stasiun yang berdekatan dengan daerah *inlet* dan *outlet*. Pengukuran parameter kualitas air meliputi DO, suhu, salinitas, pH, dan TOM.

##### (1) *Dissolved Oxygen* (DO)

Pengukuran kadar oksigen terlarut dilakukan dengan alat DO meter. Cara penggunaan diawali dengan melakukan kalibrasi terlebih dahulu. Pengukuran DO meter dilakukan dengan cara mencelupkan sensor DO ke dalam air yang diukur dan secara otomatis akan bekerja mengukur kadar DO air. Hasil akan muncul pada *display*, lalu dicatat hasilnya.

##### (2) Suhu

Pengukuran parameter suhu dilakukan dengan menggunakan termometer, selama kurang lebih 20 detik di dalam air kemudian didiamkan sampai hasil terlihat di layar *display* termometer, selanjutnya hasil diamati dan dicatat nilai yang terdapat pada *display* termometer (Insafitri, 2014).

##### (3) Salinitas

Pengukuran parameter salinitas dilakukan dengan menggunakan alat refraktometer dengan cara mengukur seberapa banyak cahaya yang dibelokkan atau dipantulkan saat melewati cairan. Prosedur utama yang dilakukan yaitu dengan meneteskan akuades sebanyak 0,6 ml pada prisma kaca yang bertujuan untuk mensterilkan dan dilakukan kalibrasi menggunakan obeng yang sudah tersedia. Setelah itu, dilap bagian prisma kaca dengan tisu bersih lalu bias dimulai pembacaan salinitas dengan meneteskan air laut di atas permukaan prisma kaca. Selanjutnya ditutup dan dilihat hasilnya.

#### (4) pH

Pengukuran parameter pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi. Pengukuran parameter pH dilakukan dengan cara mencelupkan sensor pH meter ke dalam perairan lalu ditunggu sekitar 2 menit. Selanjutnya pH meter diangkat dan dilihat hasil yang muncul pada *display*.

#### (5) TOM

Pengambilan sampel TOM dilakukan menggunakan botol TOM ukuran 500 ml. Botol yang sudah bersih dimasukkan ke dalam perairan sampai air terisi penuh dalam botol. Botol disimpan ke dalam *cool box* dan selanjutnya dilakukan pengujian air di laboratorium.

### **3.3.2.1 Pengambilan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan pada setiap stasiun dengan target biota yaitu krustasea liar, seperti kelomang dan teritip. Selain biota, sampel air laut juga diambil sebagai salah satu sampel uji karena air merupakan media penyebaran virus. Sampel diambil secara langsung menggunakan tangan dan alat bantu pisau untuk biota teritip dan botol untuk sampel air. Jumlah sampel yang diambil dari semua titik yang dibuat sekitar 70 sampel uji. Frekuensi pengambilan sampel dilakukan dua kali dengan selang waktu dua minggu.

### **3.3.3 Pengujian Sampel**

Pengujian sampel pendeteksian virus dilakukan sesuai dengan SNI 8094-3:2021 tentang deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Bagian 3: Metode *quantitative real time-Polymerase Chain Reaction* (qPCR) menggunakan *hydrolysis probe*. Adapun tahapan yang dilakukan yaitu;

#### (1) Preparasi sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan mengambil bagian organ tubuh sampel dan apabila sampel berukuran kecil diambil seluruh organ sampel. Berat sampel yang

harus dipenuhi sebanyak 50-100 mg. Apabila sampel tersebut berupa air, maka banyak sampel yang diambil sekitar 1 ml.

## (2) Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan tujuan mengeluarkan DNA dari inti sel. Tahap ini dilakukan dengan dimasukkan 50–100 mg sampel uji ke dalam *microtube* 1,5 ml. *Reagen* ekstraksi DNA ditambahkan sebanyak 1.000  $\mu$ l, lalu dihomogenkan menggunakan *pellet pestle*. Sampel disentrifugasi dalam 10.000 xg selama 10 menit pada 4°C atau suhu ruang. Supernatan dipindahkan ke *microtube* baru yang telah diisi 500  $\mu$ l etanol 96% lalu *microtube* dikocok secara perlahan dan didiamkan selama 1 menit. Sampel disentrifugasi kembali dalam 4.000 xg selama 1 menit pada 4°C atau suhu ruang. Etanol yang ada di dalam *microtube* dibuang, lalu *pellet* dicuci dengan 1.000  $\mu$ l etanol 75%, dan didiamkan selama 1 menit. Etanol 75% dibuang lalu dikeringkan selama 15 detik dan dicuci kembali *pellet* dengan 1.000  $\mu$ l etanol 75%, didiamkan selama 1 menit. Etanol 75% dibuang kembali dan dikeringkan selama 15 detik. Tahap terakhir ditambahkan 8 mM NaOH sebanyak 200  $\mu$ l dan dihomogenkan, lalu larutan DNA disimpan pada 4°C apabila segera digunakan, dan untuk penyimpanan yang lebih lama pada suhu -20°C dalam bentuk aliquot. Sampel yang telah disimpan dapat digunakan dalam batas waktu yang lama dengan ketentuan kondisi larutan DNA dalam kondisi baik dan tidak terdegradasi.

## (3) Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Pengukuran kuantitas DNA dilakukan berdasarkan hasil pengukuran absorbansinya dengan *Multi scanSky*. Selanjutnya dilakukan pengenceran apabila konsentrasi yang diperoleh lebih tinggi dari yang diperlukan. Kemurnian DNA diukur dengan menghitung perbedaan absorbansi panjang gelombang 260 nm dan 280 nm ( $\text{\AA}$  260 /  $\text{\AA}$  280). Setelah dilakukan pengukuran kuantitas DNA, peralatan kerja harus dibersihkan dengan *DNAse*. Sampel yang telah terukur dapat digunakan secara langsung atau disimpan pada *freezer* -20°C untuk meminimalisasi degradasi pada sampel.

#### (4) Amplifikasi

Amplifikasi dilakukan dengan dibuat larutan standar pengenceran berseri. Lalu template DNA, PCR *Premix*, *IQzyme* dicairkan dan diletakkan pada *ice block*. Selanjutnya dibuat master mix amplifikasi sesuai dengan Tabel 5. Volume *master mix* dipersiapkan 10% lebih banyak dari yang dibutuhkan. Semua bahan *master mix* amplifikasi dihomogenkan dan distribusikan 23  $\mu$ l ke masing masing tabung atau kapiler *qPCR optical*, lalu dimasukkan 2  $\mu$ l *template* DNA (25-50 ng) contoh uji, kontrol positif ekstraksi, kontrol negatif ekstraksi; kontrol positif amplifikasi, *non template control* (NTC); dan minimal 4 standar positif (10 *copies*; 10<sup>2</sup> *copies*; 103 *copies*; 10<sup>4</sup> *copies*) dan dilakukan amplifikasi secara duplo dengan *real time* PCR.

Tabel 5. Komposisi *qPCR* mastermix WSSV

No	Nama Bahan	Vol/reaksi ( $\mu$ l)
1.	PCR <i>Premix</i>	22 $\mu$ l
2.	<i>IQzyme</i>	1 $\mu$ l
3.	<i>Template</i> DNA	2 $\mu$ l (d disesuaikan dengan konsentrasi DNA)

Tabel 6. Pengaturan suhu, waktu dan siklus

Proses	Suhu ( $^{\circ}$ C)	Waktu (detik)	Siklus
Denaturasi awal	96	20	1
Amplifikasi	96	20	40
	60	60	

#### (5) Interpretasi Hasil

Analisis data disesuaikan dengan *software* mesin *real-time* PCR yang digunakan. Interpretasi dilakukan dengan melihat kurva amplifikasi berdasarkan beberapa ketentuan. Ketentuan yang pertama nilai *cut off* adalah batas terendah nilai Ct yang tidak memotong *threshold* dan diperoleh dari nilai LoD atau kurva standar.

Ketentuan kedua sampel uji dinyatakan positif apabila terlihat naiknya kurva di atas garis *threshold* dan nilai Ct lebih kecil dari nilai *cut off*. Ketentuan ketiga sampel uji dinyatakan negatif apabila berada di bawah garis *threshold*. Apabila diperoleh konsentrasi *copy/Ct* lebih rendah dari nilai LoD, maka contoh uji dinyatakan *suspect* dan harus dikonfirmasi ulang. Tahap kuantifikasi salinan (*copy*) fragmen diproses oleh perangkat lunak komputer yang terhubung dengan mesin *real-time* PCR yang digunakan.

### **3.3.4 Analisis Data**

Data yang diperoleh berupa sampel uji dan parameter kualitas air akan diolah menggunakan *software* Microsoft Excel tahun 2010. Selain itu, digunakan pula *software* ArcMap 10.7.1 untuk memetakan sebaran daerah yang sudah terdeteksi virus WSSV.

## **V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di perairan sekitar tambak udang wilayah pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 stasiun yang terdeteksi *white spot syndrome virus* (WSSV) dengan hasil sampel positif berjumlah 4 sampel dari 70 sampel uji. Sampel positif terdeteksi pada lingkungan perairan (air laut) dan *carrier* (teritip dan kelomang).

### **5.2 Saran**

Adanya kegiatan budi daya tambak udang di kawasan pesisir Anyer dan Carita termasuk ke dalam aktivitas penyalahgunaan rencana tata ruang dan wilayah pesisir yang telah dibuat. Dengan demikian, perlu pengawasan lebih bagi instansi terkait untuk meminimalisasi adanya tambak udang di kawasan pesisir Anyer dan Carita serta memberikan informasi terkait surveilans virus WSSV pada kawasan tersebut.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan S., Benny K.K. Chan, dan Alireza Sari. 2011. *Tetraclita* sp. (Cirripedia, Tetraclitidae) a common intertidal barnacle from the Gulf of Oman, Iran. *ZooKeys*. 136: 1-12.
- Amrillah, M. A., Widyarti, S., dan Kilawati, Y. 2015. Dampak stress salinitas terhadap prevalensi white spot syndrome virus (WSSV) dan survival rate udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) pada kondisi terkontrol. *Jurnal of Life Science*. 2(1): 110-123.
- Arya, M., Shergill, I., Williamson, M., Gommersall, L., Arya, N., Patel, H. 2005. Basic principles of the real time quantitative PCR. *Expert Rev*. 5(2): 209-219.
- Bambang H, Junaidi M. 2015. Deteksi penyakit viral pada udang vannamei (*Litopennaeus vannamei*) dengan metode polymerase chain reaction (PCR). *Jurnal Ilmu Perikanan*. 6 (1): 1-13.
- Banjarnahor, J., 2000. *Atlas Ekosistem Pesisir Tanah Grogot, Kalimantan Timur*. Jakarta. Puslitbang Oseanologi – LIPI. 46 hal.
- Boyd, C. E. 1990. *Water Quality in Pound for Aquaculture*. Departemen of Fisheries and Allied Aquaculture. Auburn University, Albama, USA. 482 hal.
- Boyd, C. E. 1991. *Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming*. American Soybean Association-US Wheat Associates. U.S.A. 70 hal.
- Budiarto, B. R. 2015. Polymerase chain reaction (PCR): perkembangan dan perannya dalam diagnostik kesehatan. *BioTrands*. 6(2): 29-38
- Bustin S. A.. 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of Molecular Endocrinology*. 25 (2): 169-193.
- Chang, P. S., C.F. Lo., Y.C. Wang, dan G.H. Kou. 1996. Identification of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) target organs in the shrimp *penaeus monodon* by in situ hybridization. *Diseases of Aquatic Organisms*. 27: 131-139.



- Clark, J. R 1996. Coastal zone management handbook. *Lewis Publishers*. 26: 633-649.
- Effendi H. 2003. *Telaah Kualitas Air bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Yogyakarta. Kanisius. 257 hlm.
- Erari, S.S., Mangimbulude, J., Lewerissa, K. 2012. Pencemaran organik di perairan pesisir Pantai Teluk Youtefa Kota Jayapura, Papua. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. 327-340.
- Escobedo-Bonilla C.M., V Alday-Sanz, M Wille, P Sorgeloos, M B Pensaert, H J Nauwynck. 2008. A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus. *Journal Of Fish Disease*. 31: 1-18.
- Haig, J dan Ball, E. E. 1988. Hermit crabs from North Australian and Eastern Indonesian water (crustacea decapoda: anomura: paguroidea) collected during the 1975 Alpha Helix Expedition. *Records of the Australian Museum*. 40: 151-196.
- Haliman, R.W., Adijaya D. 2005. *Budidaya Udang Vannamei*. Penebar Swadaya. 75 hal.
- Hamuna B., Rosye H. R.T., Suwito, Hendra K. M., dan Alianto. Kajian kualitas air laut dan indeks pencemaran berdasarkan parameter fisika kimia di perairan Distrik Depapre, Jayapura. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 16(1): 35-43.
- In Dukes, H dan H, Dukes. 2013. Temperature regulation and environmental physiology. *Bibliography Ed.8*. 1970: 1132-1134.
- Insafitri. 2014. Keanekaragaman, keseragaman, dan dominansi bivalvia di area buangan lumpur Lapindo muara Sungai Porong. *Jurnal Kelautan*. 3(1): 17-21.
- Jacquet, S., Miki, T., Noble, R., Peduzzi, P., dan Wilhelm, S. 2010. Viruses in aquatic ecosystems: important advancements of the last 20 years and prospects for the future in the field of microbial oceanography and limnology. *Advances in Oceanography and Limnology*. 1(1): 97-141.
- Johnsen, RI, O. Grahl-Nielsen dan B.T Lunestad. 1993. Environmental distribution on organic waste from marine fish farm. *Aquaculture*. 118. 219-224.
- Joseph A. dan R. Philip, 2007. Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture*. 272: 87-97.
- Komarawidjaja W. 2006. Pengaruh perbedaan dosis oksigen terlarut (DO) pada degradasi amonium kolam kajian budidaya udang. *Jurnal Hidrosfer*. 1(1): 32-37.
- Kurniawati M. D., Sumaryam, dan N. Hayati. 2019. Aplikasi polymerase chain reaction (PCR) konvensional dan real time-PCR untuk deteksi virus VNN

- (*viral nervous necrosis*) pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal TECHNO-FISH* . 3(1): 19-30.
- Kusumaningtyas, M.A., Bramawanto, R., Daulat, A., dan Pranowo, W.S. 2014. Kualitas perairan Natuna pada musim transisi. *Depik*. 3(1): 10-20.
- Lightner D.V. 1996. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid*, Shrimp World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 hal.
- Lightner, D. V. 2004. *The Penaeid Shrimp Viral Pandemics due to IHHNV, WSSV, TSV, YHV : History in the Americas and Current Status*. University of Arizona, Tucson. USA. 20 hal.
- Lihan, T., Saitoh, S. I., Iida, T., Hirawake, T., dan Iida, K. 2008. Satellite-measured temporal and spatial variability of the Tokachi River plume. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 78(2): 237-249.
- Liu B., Yu Z., Song X., Guan Y., Jian X. dan J. He, 2006. The effect of acute salinity change on white spot syndrome (WSS) outbreaks in *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*. 253: 163-170.
- Lucianus, J. 2003. Introduksi genetic molekuler virus. *JKM*. 3(1): 1-5.
- Malole M. B. 1987. *Virologi*. Pusat Antar Universitas Lembaga Sumberdaya Informasi. IPB. Bogor. 157 hal.
- Marwan, A.H., Widyorini, N., Nitisupardjo, M., 2015. Hubungan total bakteri dengan kandungan bahan organik total di Muara Sungai Babon, Semarang. *Diponegoro Journal of Maquares*. 4(3): 170–179.
- Mclaughlin P. A., Rahayu, D. L., Komai, T. dan Chan, T. 2007. *A Catalog of the Hermit Crabs (Paguroidea) of Taiwan*. National Taiwan Ocean University. Keelung. 376 hal.
- Megawati, C., Yusuf, M., dan Maslukah, L. 2014. Sebaran kualitas perairan ditinjau dari zat hara, oksigen terlarut dan pH di perairan selatan Bali bagian selatan. *Jurnal Oseanografi*, 3(2): 142-150.
- Menteri Negara KLH. 1998. *Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.2 ahun 1998 Tentang Baku Mutu Air Limbah*. Jakarta. 49 hal.
- Muhlis. 2011. *Ekosistem Terumbu Karang dan Kondisi Oseanografi Perairan Kawasan Wisata Bahari Lombok*. (Skripsi). Universitas Mataram. Mataram. 117 hal.
- Mujiati. 2006. *Pengaruh Kegiatan Keramba Jaring Apung Terhadap Eutrofikasi (Nitrogen dan Fosfor) Perairan Danau: Kajian Perikanan KJA di Danau Sentani Jayapura-Papua*. (Thesis). 225 hal.

- Newman W. A., dan Ross A. 1976. Revision of the balanomorph barnacles; including a catalogue of the species. *Memoirs of the San Diego Society of Natural History*. 9: 1-108.
- Nontji, A. 2005. *Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan. Jakarta. 372 hal.
- Novita R. P., Buwono. D. I., dan Liviawaty E. 2012. Aplikasi polymerase chain reaction (PCR) konvensional dan real time PCR untuk deteksi white spot syndrome virus pada kepiting. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 3(4): 61-74
- Palimirmo, F. S., Damar, A., dan Effendi, H. 2016. Dinamika sebaran bakteri heterotrofik di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(1): 26-34.
- PAMKI. 2020. Arti klinis nilai cycle threshold (Ct) pada hasil pemeriksaan real time RT-PCR. Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia. 4 hlm.
- Patty, I. S., Merenda, P. R., dan Husen R., Nebuchadnezzar A. 2019. Kajian kualitas air dan indeks pencemaran perairan laut di Teluk Manado ditinjau dari parameter fisika kimia air laut. *Jurnal Ilmu Kelautan Kepulauan*. 2(2): 1-13.
- Patty, I. S., dan Nebuchadnezzar A. 2018. Kondisi suhu, salinitas, pH dan oksigen terlarut di perairan terumbu karang Ternate, Tidore dan sekitarnya. *Jurnal Ilmu Kelautan Kepulauan*. 1(2): 1-10.
- Patty, I. S. 2013. Distribusi suhu, salinitas dan oksigen terlarut di perairan Kema, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 1(3): 148-157.
- Peraturan Daerah Kabupaten Pandeglang. 2020. *Peraturan Daerah Kabupaten Pandeglang Nomor 2 Tahun 2020 Tentang Perubahan Atas Peraturan Daerah Kabupaten Pandeglang Nomor 3 Tahun 2011 Tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Pandeglang Tahun 2011-2031*. Sekretariat Daerah. Pandeglang. 99 hal.
- Pemerintah Daerah Kabupaten Serang. 2020. *Peraturan Daerah Kabupaten Serang Nomor 5 Tahun 2020 Tentang Perubahan Atas Peraturan Daerah Kabupaten Serang Nomor 10 Tahun 2011 Tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Serang Tahun 2011-2031*. Sekretariat Daerah. Serang. 272 hal.
- Pemerintah Republik Indonesia. 2021. *Peraturan Pemerintah No.22 Tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup untuk Biota Laut*. Jakarta. 483 hal.
- Rahma, H. N., Prayitno, B. S., dan Haditomo, A. H.C. 2014. Infeksi white spot syndrom virus (WSSV) pada udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) yang dipelihara pada salinitas media yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*. 3(3): 25-34.

- Reddy A.D., Geevaretnam J., Robinson J.S. 2013. Morphogenesis, pathogenesis, detection and transmission risks of white spot syndrome virus in shrimps. *Fisheries and Aquaculture Journal*. 3: 1-13.
- Ridwan M., Fathoni R., Fatihah I., Pangestu D. A. 2016, Struktur komunitas makrozoobenthos di Empat Muara Sungai Cagar Alam Pulau Dua, Serang, Banten, *Al-Kaunyah Jurnal Biologi*. 9(1): 57-65.
- Rosenberry, B. 2000. *World Shrimp Farming 2000*, *Shrimp News International*. USA. 324 hal..
- Salm, R.V., 1984. *Coral Reef Management Handbook*. Unesco-Rostrea, Jakarta. 15 hal.
- Salmin. 2000. Kadar oksigen terlarut di perairan Sungai Dadap, Goba, Muara Karang dan Teluk Banten. dalam: Praseno, D.P., Rositasari, R., dan Riyono, S.H. (Eds.). *Foraminifera Sebagai Bioindikator Pencemaran, Hasil Studi di Perairan Estuarin Sungai Dadap, Tangerang*. P3O – LIPI. 91 hal.
- Salmin. 2005. Oksigen terlarut (DO) dan kebutuhan oksigen biologi (BOD) sebagai salah satu indikator untuk menentukan kualitas perairan. *Oseana*.30 (1): 21-26.
- Samyukthaa D., Pasupathi R. 2013. On field detection of white spot syndrome virus (WSSV) infected shrimp using loop mediated isothermal amplification. *Research Journal Of Biotechnology*. 8 (6): 2-5.
- SNI 8094-3. 2021. Tentang deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Bagian 3: Metode *quantitative real time–Polymerase Chain Reaction* (qPCR) menggunakan *hydrolysis probe*. Badan Standarisasi Nasional. 13 hlm.
- Saparinto, C. 2007. *Pendayagunaan Ekosistem Mangrove*. Dahara Prize. Semarang. 199 hlm.
- Silalahi, H.N., Manaf, M., dan Alianto. 2017. Status mutu kualitas air laut Pantai Maruni Kabupaten Manokwari. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*. 1(1): 31-45.
- Simanjuntak, M. 2009. Hubungan faktor lingkungan kimia, fisika terhadap distribusi plankton di perairan Belitung Timur, Bangka Belitung. *Journal of Fisheries Sciences*. 11(1): 31-45.
- Southward, A. J., Crisp, D.J. 1956. Fluctuations in the distribution and abundance of intertidal barnacle. USA. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 35: 211-229.
- Supono. 2018. *Manajemen Kualitas Air untuk Budidaya Udang*. Anugrah Utama Raharja. Lampung. 147 hal.

- Tendencia, E.A. dan Verreth J.A.J. 2010. Temperature fluctation, low salinity, water microflora: risk factors for WSSV outbreaks in *Penaeus mono-don*. *The Israeli Journal of Aquaculture*. 48: 1-7.
- Triyaningsih, N. N. W, Munasik, Wilis A. S. 2021. Total bahan organik dan kualitas air di perairan Morodemak, Kabupaten Demak. *Journal of Marine Research*. 10(2): 205-212.
- Wethey, D.S. 2002. Biogeography, competition, and microclimate: the barnacle *Chthamalus fragilis* in New England. *Integrative and Comparative Biology*. 42: 872-880.
- Witomo M., C. 2018. Dampak budi daya tambak udang terhadap ekosistem mangrove. *Buletin Ilmiah "MARINA" Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan*. 4 (2): 75-85.
- Wittefeldt, J., C.C. Cifuentes., J.M. Vlak., M.C.W. Van Hulten. 2004. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus by oral vaccination. *Journal Virology* 78: 2057-2061.
- Yang, F., He, J., Lin, X., Li, Q., Pan, D., Zhang, X., Xu, X., 2001. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus. *J. Virol.* 75: 11811- 11820.
- Yuningsih, H.D., Soedarsono, P., Anggoro, S., 2014. Hubungan bahan organik dengan produktivitas perairan pada kawasan tutupan eceng gondok perairan terbuka dan keramba jaring apung di Rawa Pening. *Diponegoro Journal of Maquares*. 3(1): 37-43.