

**SURVEILANS *INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS* (IMNV) PADA
CARRIER DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG
DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

(Skripsi)

Oleh

**Muhamad Fatin Choiri
1914201026**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDARLAMPUNG
2023**

ABSTRAK

SURVEILANS *INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS* (IMNV) PADA *CARRIER* DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN

Oleh

Muhamad Fatin Choiri

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh keberadaan tambak pembesaran udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita tidak sesuai dengan peraturan daerah yang berlaku dan tidak terawasi keberadaannya. Limbah yang dihasilkan tambak udang akan mencemari perairan sekitar. Limbah tersebut dapat mengandung patogen seperti *infectious myonecrosis virus* (IMNV) yang berbahaya dan mengancam pembudi daya udang lainnya. Usaha yang dapat dilakukan saat ini adalah dengan melakukan surveilans IMNV di lingkungan perairan sekitar tambak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi keberadaan *infectious myonecrosis virus* (IMNV) pada lingkungan perairan dan *carrier* yang terdapat di sekitar tambak udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita. Deteksi IMNV menggunakan sampel kelomang, teritip, dan air dengan metode *Real-time quantitative Reverse Transcriptase-PCR* (qRT-PCR). Hasil qRT-PCR menunjukkan 6 sampel terdeteksi IMNV yang tersebar di 4 lokasi dengan nilai Ct 36,97 (stasiun 1.1), 35,95 (stasiun 5.1), 35,59 (stasiun 5.2), 35,05 (stasiun 6.1), 35,22 (stasiun 6.2), dan 35,54 (stasiun 7.1).

Kata kunci: Surveilans, IMNV, qRT-PCR, perairan laut, tambak udang

ABSTRACT

THE SURVEILLANCE OF INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS (IMNV) IN CARRIERS AND WATERS AT SHRIMP POND IN ANYER AND CARITA COASTAL, BANTEN PROVINCE

By

Muhamad Fatin Choiri

This research is motivated by the existence of shrimp ponds in the coastal areas of Anyer and Carita that are not in accordance with the applicable regional regulations and their existence is not monitored. Waste from shrimp pond activities will pollute the surrounding waters. The waste can contain pathogens such as infectious myonecrosis virus (IMNV) which are dangerous and threaten other shrimp farmers. The effort that can be done now is to carry out IMNV surveillance in the aquatic environment. The purpose of this study is to identify the presence of infectious myonecrosis virus (IMNV) in the aquatic environment and carriers around shrimp ponds in the coastal areas of Anyer and Carita. IMNV detection using samples of hermit crabs, barnacles and water using the Real-time quantitative Reverse Transcriptase-PCR (qRT-PCR) method. The qRT-PCR results showed that 6 samples detected IMNV spread over 4 locations with Ct values 36.97 (station 1.1), 35.95 (station 5.1), 35.59 (station 5.2), 35.05 (station 6.1), 35.22 (station 6.2), and 35.54 (station 7.1).

Keyword: Surveillance, IMNV, qRT-PCR, sea waters, shrimp

**SURVEILANS *INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS* (IMNV) PADA
CARRIER DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG
DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

Oleh

MUHAMAD FATIN CHOIRI

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 *INFECTIOUS MYONECROSIS VIRUS* (IMNV) PADA *CARRIER* DAN PERAIRAN DI SEKITAR TAMBAK UDANG DI WILAYAH PESISIR ANYER DAN CARITA, PROVINSI BANTEN**

Nama Mahasiswa : **Muhamad Fatin Choiri**

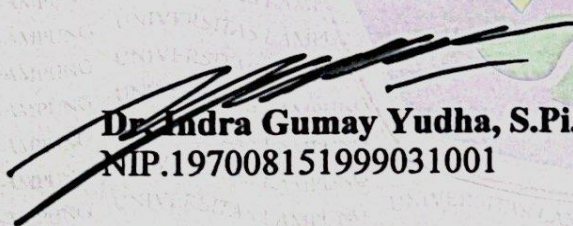
NPM : 1914201026

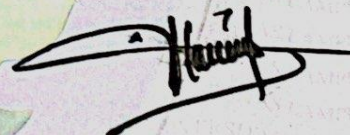
Jurusan/Program Studi : Perikanan dan Kelautan/ Sumberdaya Akuatik

Fakultas : Pertanian

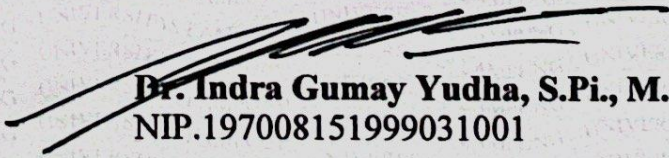
MENYETUJUI,

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 : **Dr. Qadar Hasani, S.Pi., M.Si.**

2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 196110201986031002

Tanggal lulus ujian skripsi: **10 Maret 2023**

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhamad Fatin Choiri

NPM : 1914201026

Judul Skripsi : *Surveilans Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) pada Carrier dan Perairan di Sekitar Tambak Udang di Wilayah Pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten*

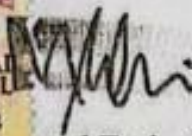
Menyatakan bahwa skripsi yang saya tulis adalah murni hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan data yang saya dapatkan. Karya ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya dan bukan plagiat dari hasil karya orang lain.

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

Bandarlampung, 1 Juni 2023

Yang membuat pernyataan




Muhamad Fatin Choiri
NPM. 1914201026

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Banjarsari, Kabupaten lebak, Provinsi Banten pada tanggal 2 Juni 2000, merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Tb. Aden Haer dan Ibu Suhariah. Penulis mengawali pendidikan di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 03 Keusik pada tahun 2006-2012, melanjutkan ke Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Banjarsari tahun 2012-2015, dan Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Pandeglang tahun 2015-2018. Penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang sarjana (S1) pada tahun 2019 di Universitas Lampung, Fakultas Pertanian, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Program Studi Sumberdaya Akuatik melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi asisten praktikum mata kuliah Ekologi perairan, ekotoksikologi, dan ikhtiologi. Penulis aktif di organisasi tingkat fakultas yaitu Forum Studi Islam Fakultas Pertanian (Fosi FP) diberi amanah sebagai anggota Biro Semi Otonom Bimbingan Baca Quran (BSO BBQ) pada periode kepengurusan 2020 dan sebagai kepala BSO BBQ kepengurusan 2021. Penulis juga turut serta dalam organisasi tingkat jurusan yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik) FP Unila sebagai anggota bidang Pengabdian Masyarakat. Awal Januari 2022 penulis melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) di Desa Cilangkap, Kecamatan Kalanganyar, Kabupaten Lebak, Banten. Pertengahan tahun 2022 penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) dan mengikuti kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) sekaligus penelitian di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang selama enam bulan. Penulis juga berhasil lolos pendanaan Program Pendanaan Mahasiswa Wirausaha (P2MW) pada tahun 2022.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan rasa cinta dan kasih yang sangat mendalam kepada Allah SWT. Puji syukur telah memberikan kekuatan, kenikmatan, keberkahan dalam kehidupan melalui ilmu yang diberikan. Shalawat serta salam tetap tercurah kepada Nabi Muhammad SAW atas nikmat dan kelancaran yang diberikan oleh-Nya akhirnya skripsi sederhana dapat terselesaikan dengan baik.

Kupersembahkan skripsi sederhana ini kepada

Bapak dan Mamah tercinta

Karya sederhana ini saya persembahkan dengan penuh rasa syukur dan terima kasih kepada Bapak (TB Aden Haer) dan Mamah (Suhariah). Bahwa semua ini menjadi mungkin berkat keduanya sehingga saya bisa berada di tahap ini. Terima kasih atas segala doa, motivasi, serta nasehat yang tidak pernah terhitung. Semoga ini menjadi awal untuk membahagikan dan membuat bangga mamah dan bapa.

Kakak dan orang terdekat

Saya persembahkan karya sederhana ini untuk kakak (Tatu Irma Haerani dan Firdaus Dermawan), terima kasih selalu memberikan doa dan dukungan semangat serta menjadi tempat keluh kesah dalam menyelesaikan skripsi ini, serta teman-teman yang telah kebersamai dan memberikan banyak pengalaman berharga.

Serta

Almamater kebanggaan, Universitas Lampung

MOTTO

Maka ingatlah kepada-Ku, aku pun akan ingat kepadamu. Bersyukurlah kepada-Ku, dan janganlah kamu ingkar kepada-Ku
(QS. Al-Baqarah: 152)

Jika Allah menolong kamu, maka tidak ada yang dapat mengalahkanmu
(QS. Ali' Imran: 160)

Allah akan meninggikan beberapa derajat orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan (ilmu) beberapa derajat
(QS. Al Mujadalah: 11)

Barang siapa menempuh jalan untuk mendapatkan ilmu, Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga
(HR. Muslim, no. 2699)

Jika seorang manusia mati maka terputuslah darinya amalannya kecuali dari tiga hal; dari sedekah jariyah atau ilmu yang diambil manfaatnya atau anak shalih yang mendoakannya
(HR. Muslim, no.1631)

SANWACANA

Puji syukur senantiasa dihaturkan ke hadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan kuasa-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi dengan judul “Surveilans *Infectious Myonecrosis Virus* (IMNV) pada *Carrier* dan Perairan di Sekitar Tambak Udang di Wilayah Pesisir Anyer dan Carita, Provinsi Banten” ini menjadi salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini ini masih jauh dari kesempurnaan karena keterbatasan pengetahuan penulis, maka kritik dan saran yang membangun penulis harapkan dari semua pihak.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, maka penulis ingin mengucapkan terima kasih yang setulusnya 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 Dosen Pembimbing Pertama yang telah memberikan kritik, serta saran yang bermanfaat hingga skripsi tersusun dengan baik;
3. Henni Wijayanti Maharani, S.Pi., M.Si., selaku Ketua Program Studi Sumberdaya Akuatik yang telah mendukung memberikan saran, kritik, serta nasihat, selama program MBKM hingga penyelesaian skripsi;
4. Indriasih, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua atas kritik, serta saran yang bermanfaat hingga penyusunan skripsi tersusun dengan baik;
5. Dr. Qadar Hasani, S.Pi., M.Si., selaku Dosen Penguji atas kritik serta saran yang bermanfaat hingga skripsi tersusun dengan baik;

6. Rachmad Caesario, S.Pi., M.Si., selaku dosen Pembimbing Akademik atas bimbingan terkait rencana pendidikan selama di Universitas Lampung;
7. Dosen-dosen dan staf administrasi Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, motivasi dan bantuan dalam penyelesaian studi dan skripsi ini;
8. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang memberikan kesempatan untuk melaksanakan penelitian di BPKIL Serang;
9. Wiwin Wiyani, A. Pi. dan Dwi Rahwanto, S. Pi., selaku analis di Laboratorium Biologi Molekuler BPKIL Serang
10. Seluruh staf dan pegawai BPKIL Serang, atas kebersamaan selama pelaksanaan MBKM di BPKIL Serang hingga penyelesaian skripsi ini;
11. Mamah dan Bapak, Kakak, serta keluarga besar yang senantiasa mendoakan, memotivasi, memberi dukungan dan bantuannya selama ini;
12. Delsa Yunpe, selaku teman yang selalu menemani, memberikan semangat, serta dorongan dalam penyelesaian skripsi ini;
13. Zahri Maulana, selaku teman seperjuangan, atas kebersamaan, bantuan, serta motivasi selama MBKM, penelitian, hingga penyusunan skripsi selesai;
14. Teman-teman seperjuangan program studi Sumberdaya Akuatik angkatan 2019, terima kasih untuk kebersamaannya selama perkuliahan sampai penyusunan skripsi ini selesai;

Bandarlampung, 1 Juni 2023



Muhamad Fatin Choiri

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
I. PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Pikiran.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Infectious Myonecrosis Virus</i> (IMNV).....	5
2.2 <i>Real time</i> quantitative Reverse Transcriptase-PCR (qRT-PCR)	6
2.3 Parameter Kualitas Air	8
2.3.1 Suhu	8
2.3.2 Salinitas.....	9
2.3.3 Oksigen Terlarut (DO).....	9
2.3.4 Potensial Hidrogen (pH)	10
2.3.5 Total Organik Matter (TOM)	10
III. METODOLOGI	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan.....	12
3.3 Metode Penelitian.....	14
3.3.1 Penentuan Titik Penelitian	14
3.3.2 Pengukuran Kualitas Air dan Pengambilan Sampel.....	15
3.3.2.1 Pengukuran Kualitas Air.....	15
3.3.2.2 Pengambilan Sampel Uji IMNV	16
3.3.3 Pengujian Sampel	16

3.3.3.1 Preparasi Sampel	16
3.3.3.2 Ekstraksi RNA.....	17
3.3.3.3 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian RNA	17
3.3.3.4 Amplifikasi.....	18
3.3.3.5 Interpretasi Hasil	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian	20
4.2 Parameter Fisika dan Kimia Perairan.....	24
4.3 Sampel Pengujian IMNV yang Digunakan pada Setiap Stasiun	28
4.4 Pengujian Konsentrasi dan Kemurnian Genom RNA Kelomang, Teritip dan Air.....	31
4.5 Hasil Pengujian Sampel Menggunakan qRT-PCR	33
4.6 Persebaran Wilayah yang Terdeteksi IMNV	35
V. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Titik koordinat pengambilan sampel	12
2. Alat yang digunakan dalam penelitian.....	12
3. Bahan pengujian IMNV	13
4. Komposisi qPCR mastermix IMNV	18
5. Pengaturan suhu, waktu dan siklus	18
6. Parameter fisika dan kimia pengambilan ke-1	24
7. Parameter fisika dan kimia pengambilan ke-2	24
8. Sampel pengujian IMNV setiap stasiun pengamatan	28
9. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian RNA	32
10. Hasil pengujian sampel menggunakan qRT-PCR.....	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pikiran	4
2. Peta lokasi penelitian	11
3. Ilustrasi titik pengambilan sampel	14
4. Kondisi stasiun lingkungan masing-masing stasiun	23
5. Kelomang (<i>Clibanarius</i> sp.) yang digunakan untuk pengujian IMNV	29
6. Teritip yang digunakan untuk pengujian IMNV	31
7. Peta persebaran IMNV di wilayah pesisir Anyer dan Carita	35
8. Intreraksi antara IMNV, lingkungan, dan inang	36
9. Kurva standar hasil pengujian menggunakan RT-PCR pengambilan ke-1	49
10. Kurva standar hasil pengujian menggunakan RT-PCR pengambilan ke-2	50

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor perikanan budi daya memiliki peran yang besar dalam menunjang perekonomian nasional. Melalui komoditas yang dihasilkan, perikanan budi daya menjadi salah satu sumber devisa negara. Dilihat dari kondisi lingkungan yang strategis dan potensi sumber dayanya, perikanan budi daya memiliki peluang besar untuk dikembangkan. Pengembangan ini perlu dikelola dengan optimal dan memperhatikan kelestarian lingkungan. Dengan demikian, berbagai kebijakan dibuat pemerintah untuk memaksimalkan potensi perikanan budi daya yang ada.

Pesisir Anyer dan Carita menjadi salah satu kawasan dengan potensi perikanan budi daya. Pengeloaan untuk kawasan tersebut tertuang dalam Peraturan Daerah Nomor 5 Tahun 2020 tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Serang dan Peraturan Daerah Nomor 2 Tahun 2020 tentang Rencana Tata Ruang wilayah Kabupaten Pandeglang. Peraturan daerah tersebut salah satunya mengatur rencana tata ruang wilayah pesisir Anyer dan Carita yakni pembenihan perikanan air payau. Akan tetapi di wilayah tersebut banyak ditemukan perikanan tambak pembesaran udang, artinya keberadaan tambak ini tidak sesuai peruntukannya dan melanggar peraturan daerah yang berlaku. Dengan demikian keberadaannya tidak terawasi sehingga dapat menyebabkan pencemaran lingkungan sekitar serta mengancam pembudi daya pembenihan udang (*hatchery*).

Kegiatan tambak pembesaran udang intensif dapat menyebabkan masalah berupa penurunan daya dukung lingkungan. Tambak pembesaran udang intensif menghasilkan limbah organik, seperti sisa pakan dan kotoran (Andriani, 1999). Limbah

ini kemudian memengaruhi komponen lingkungan, yakni parameter biologi, fisika, dan kimia perairan. Limbah hasil budi daya yang dibuang ke perairan sekitar tanpa diberikan perlakuan dapat mengandung patogen berupa bakteri, parasit, jamur, dan virus (Ismail, 2019). Salah satu patogen yang berbahaya dan merugikan ekosistem perairan adalah *infectious myonecrosis virus* (IMNV). Jika virus ini tersebar ke perairan maka akan mencemari ekosistem perairan tersebut dan mengancam pembudi daya pembenihan udang.

IMNV telah mengancam industri budi daya udang di Indonesia, bahkan dunia. Virus ini dapat menyebabkan kematian pada udang hingga 40-70% populasi (OIE, 2009). Penularan IMNV dapat terjadi secara horizontal melalui air, dan organisme pembawa (*carrier*) (OIE, 2021). Hingga saat ini belum ada pengobatan maupun vaksin yang dapat digunakan untuk mengontrol penyebaran IMNV (OIE, 2019), sehingga usaha yang saat ini dapat dilakukan untuk menekan penyebaran adalah pencegahan dengan cara melaksanakan surveilans (pengamatan) keberadaan penyakit ini. Hal ini dilakukan untuk memperoleh informasi keberadaan IMNV di perairan sekitar. Oleh karena itu, penelitian ini dilaksanakan untuk mengidentifikasi keberadaan IMNV di wilayah pesisir Anyer dan Carita akibat kegiatan tambak pembesaran udang di wilayah tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah yang telah dipaparkan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana kondisi lingkungan dan biota *carrier* di perairan sekitar budi daya tambak udang Anyer dan Carita yang rawan tercemar patogen IMNV?

1.3 Tujuan Penelitian

Sesuai permasalahan yang telah dirumuskan, penelitian ini mempunyai tujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *infectious myonecrosis virus* (IMNV) pada lingkungan perairan dan *carrier* yang terdapat di sekitar tambak udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita.

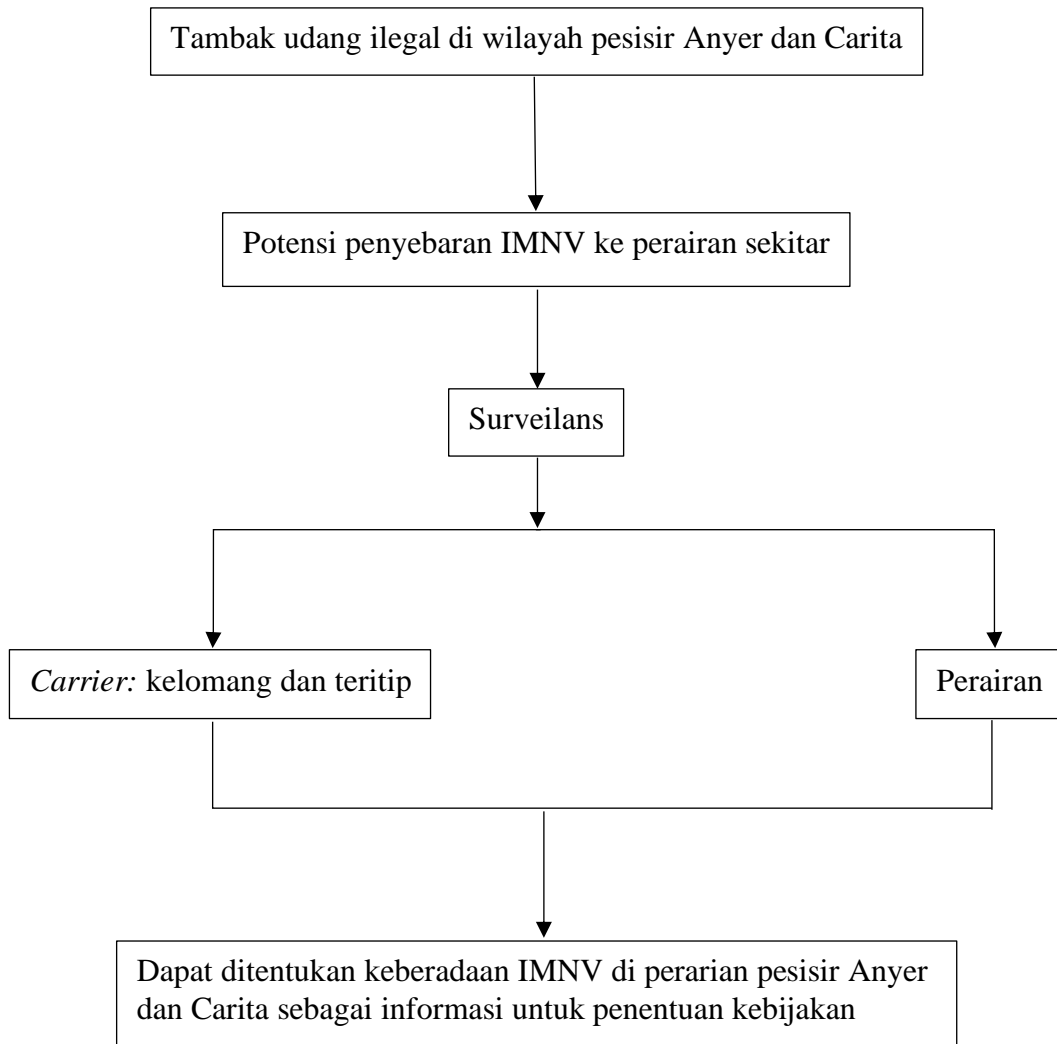
1.4 Manfaat Penelitian

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 IMNV pada perairan wilayah pesisir Anyer dan Carita.

1.5 Kerangka Pikiran

Pemanfaatan wilayah pesisir perlu dilakukan dengan baik sesuai dengan peraturan yang berlaku. Hal ini dilakukan untuk menjaga kelestarian dan keberlanjutan sumber daya alam. Pesisir Anyer dan Carita merupakan dua wilayah perbatasan yang terbagi menjadi dua kabupaten yakni Kabupaten Serang dan Pandeglang. Kedua wilayah ini mengatur tata ruang wilayahnya melalui Peraturan Daerah Nomor 5 Tahun 2020 tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Serang dan Peraturan Daerah Nomor 2 Tahun 2020 tentang Rencana Tata Ruang Wilayah Kabupaten Pandeglang. Peraturan daerah tersebut mengatur bahwa tata ruang wilayah pesisir Anyer dan Carita dapat digunakan untuk pembenihan perikanan air payau (pembenihan udang).

Peraturan daerah Kabupaten Serang dan Pandeglang mengatur tata ruang wilayah pesisir Anyer dan Carita tidak memuat tentang tambak pembesaran udang. Akan tetapi, pada kenyataannya di wilayah tersebut banyak ditemukan tambak pembesaran udang. Hal ini bertentangan dengan perda yang berlaku, sehingga keberadaan tambak pembesaran udang ini tidak terawasi dan akan berdampak pada lingkungan sekitar. Tambak udang dapat mencemari lingkungan karena limbah yang dihasilkan kemudian dibuang langsung ke perairan sekitar. Limbah hasil budi daya udang biasanya mengandung bahan-bahan organik termasuk patogen salah satunya IMNV. Virus yang ikut terbawa dari limbah budi daya udang ini kemudian akan merugikan biota di perairan dan *hatchery* di wilayah tersebut. Secara lebih jelas kerangka pikiran dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Infectious Myonecrosis Virus (IMNV)*

Keberadaan *Infectious myonecrosis virus* (IMNV) atau virus *myo* di Indonesia tidak lain karena lalu lintas perdagangan domestik dan internasional. IMNV pertama kali dilaporkan di Brazil tahun 2002 menginfeksi udang vaname (OIE, 2010). Pada tahun 2000 pemerintah Indonesia mengimpor udang vaname untuk keperluan penelitian. Berdasarkan Kepmen No.4/2001, pemerintah mengizinkan impor udang vaname untuk dibudidayakan pada tahun 2001 dengan syarat hanya induk udang berkualitas unggul dan bebas penyakit yang boleh diimpor. Akan tetapi, pada tahun 2006 IMNV dilaporkan pertama kali terdeteksi di Indonesia, tepatnya di Kabupaten Situbondo, Provinsi Jawa Timur yang memiliki gejala klinis serupa dengan kejadian wabah IMNV di Brazil (Senapin *et al.*, 2007).

Infectious myonecrosis virus (IMNV) sangat berbahaya bagi udang dan merugikan pembudi daya. Virus ini memiliki patogenitas cukup ganas yang dapat menyebabkan kematian pada udang mencapai 40-70% (OIE, 2019), dan bersifat epizootik yang dapat menyebabkan kematian massal. Penularan IMNV terjadi secara horizontal karena kanibalisme dan melalui air, sedangkan secara vertikal dapat menular dari induk ke benur (Naim *et al.*, 2014). Menurut Caelho *et al.*, (2009) bahwa IMNV dapat menginfeksi udang pada stadia pascalarva, juvenil, dan dewasa. Pada stadia juvenil dan pascalarva merupakan banyak terinfeksi oleh IMNV saat salinitas air rendah (Poulos *et al.*, 2006). Kematian massal oleh IMNV disebabkan adanya kejadian yang membuat udang stress, seperti penangkapan dengan jala lempar, pemberian pakan, perubahan salinitas, dan pemicu stres lainnya (OIE, 2012). Metode pengobatan jika udang terinfeksi oleh IMNV belum ditemukan, sehingga

hanya pencegahan yang dapat dilakukan saat ini (Haliman dan Dian, 2006).

Gejala klinis udang yang terinfeksi IMNV dapat dilihat berdasarkan organ target yang diserang. Virus ini biasanya menyerang jaringan otot lurik udang, jaringan ikat, dan jaringan lainnya (Poulos, 2006). Gejala awal udang yang terinfeksi yaitu mengalami kram otot yang ditandai dengan pergerakannya yang pasif. Kram otot ini akan diikuti dengan penurunan nafsu makan. Secara visual udang yang terserang IMNV akan terlihat warna putih hingga kemerahan di bagian ruas bawah sampai pangkal ekor. Warna putih hingga kemerahan pada jaringan otot akan terlihat seperti udang yang direbus. Timbulnya warna putih hingga kemerahan karena adanya nekrosis ekstensif pada jaringan otot (Widowati, 2013). Gejala klinis udang terinfeksi IMNV yang terlihat secara visual kemudian dapat dipastikan keberadaan virus dan kuantitasnya secara molekuler dengan *Real time quantitative Reverse Transcriptase-PCR* (qRT-PCR) (Ramadhan, 2020).

Pengendalian IMNV harus dilakukan secara vertikal (dari induk ke anak) maupun horizontal (dari dan ke organisme lain di lingkungannya). Pencegahan dapat dilakukan dengan cara memperketat sistem biosekuriti. Sistem pemasukan air dan organisme pembawa seringkali menjadi sumber penyebaran IMNV. Selain itu, selalu digunakan benih udang dari indukan yang memang sudah terbukti bebas dari penyakit atau *specific pathogen free* (SPF) dan perlu dilakukannya eradikasi secara total dengan tujuan untuk meminimalisir penyebaran virus ini ke tambak lainnya (Palic *et al.*, 2015).

2.2 Real time quantitative Reverse Transcriptase-PCR (qRT-PCR)

Real-time quantitative Reverse Transcriptase-PCR (qRT-PCR) merupakan salah satu metode paling sensitif untuk mendeteksi dan mengukur kuantitas virus (OIE, 2019). Penggunaan probe yang spesifik membantu peningkatan spesifisitas pada pengujian qRT-PCR jika dibandingkan dengan PCR konvensional (Chantratita *et al.*, 2008). Teknik ini juga sangat sensitif karena dapat dilakukan amplifikasi secara bersamaan dengan enzim reverse transcriptase. Enzim *reverse transcriptase* yang memacu perubahan molekul RNA menjadi DNA. Pengujian menggunakan

qPCR lebih dinamis, resiko kontaminasi silang lebih sedikit, dan pengujiannya dapat dilakukan lebih banyak dalam satu kali *running* (OIE, 2012).

Genom dari IMNV merupakan dsRNA yang dapat dideteksi dan diukur kuantitasnya melalui qPCR. Dalam prosesnya molekul RNA diubah menjadi DNA kemudian diamplifikasi sekuen DNA spesifiknya menjadi lipat ganda hingga jutaan kopi sekuen DNA. Dalam melipatgandakan sekuen DNA dibutuhkan enzim spesifik yang dikenal dengan polimerase (Fatchiyah, 2011). Polimerase merupakan enzim yang dapat menggabungkan untai DNA tunggal membentuk untaian DNA yang panjang. Enzim ini membutuhkan primer dan DNA cetakan nukleotida yang terdiri dari empat basa nitrogen yaitu adenin (A), timin (T), sitosin (C), dan guanin (G) (Gibbs, 1990). Dengan demikian jumlah kopian DNA target yang telah dilipatgandakan hingga jutaan kopi sekuen DNA dapat terdeteksi oleh mesin PCR.

Tahapan umum untuk melakukan pengujian IMNV menggunakan qPCR dimulai dari isolasi RNA sampai analisis data. Prinsip kerja qRT-PCR pada dasarnya mendeteksi dan mengkuantifikasi reporter *fluoresen*. Sinyal *fluoresen* akan semakin meningkat sesuai dengan pertambahan amplifikasi DNA PCR dalam reaksi. Reaksi amplifikasi selama fase eksponensial dapat dipantau dengan melihat jumlah emisi *fluoresen* pada setiap siklus. Hasil amplifikasi PCR peningkatan yang terjadi pada fase eksponensial berhubungan dengan jumlah inisiasi target gen. Deteksi emisi *fluoresen* akan cepat seiring dengan tingkat ekspresi gen target (Pardal, 2010).

Siklus amplifikasi akan menentukan kuantitas urutan DNA target yang dicapai. Jumlah siklus amplifikasi diperlukan untuk menghasilkan produk PCR berdasarkan fluoresensi di awal fase eksponensial PCR serta untuk melewati garis ambang fluoresensi/siklus threshold (Ct). Jumlah siklus yang diperlukan untuk mencapai ambang batas disebut Ct. Siklus Ct adalah prinsip dasar dari PCR *real time* dan sebagai bagian yang sangat penting untuk memperoleh data yang akurat. Nilai Ct PCR *real time* sangat berkorelasi dengan kuantitas urutan DNA target (Giglio *et al.*, 2003). Secara proporsional nilai Ct berbanding terbalik dengan jumlah target asam nukleat dalam sampel, artinya semakin rendah nilai Ct jumlah asam nukleat yang terdeteksi dalam sampel semakin banyak sehingga nilai ini akan menentu-

kan hasil pemeriksaan qRT-PCR dinyatakan positif atau tidak, dimana dinyatakan positif apabila nilai Ct kurang dari 37 (PAMKI, 2020).

Kemungkinan adanya reaksi negatif palsu dapat terjadi meskipun qRT-PCR merupakan suatu pengujian yang sensitif dan spesifik. Reaksi negatif palsu dapat terjadi karena adanya penghambat pada proses qRT-PCR. Faktor penghambat ini karena ekstraksi virus RNA yang sedikit atau sudah terdegradasi, kesalahan personel laboratorium, dan kualitas dari reagen yang sudah kadaluarsa (Hewajuli, 2014). Menurut Sah *et al.*, (2014) molekul RNA lebih mudah terhidrolisis dibandingkan dengan DNA karena mengandung gula ribose, sehingga penanganan saat pengujian harus dilakukan lebih hati-hati. Penghambat amplifikasi PCR dapat dideteksi dengan kontrol internal. Kontrol internal merupakan faktor yang sangat penting sebagai kontrol dari kualitas pengujian sehingga pengujian dilakukan secara benar (Das *et al.*, 2006).

Adanya positif palsu juga mungkin terjadi karena adanya resiko kontaminasi pada PCR *real time*. Meskipun resiko kontaminasi kecil karena proses amplifikasi dilakukan dengan sistem tertutup dan tidak memerlukan tahapan yang panjang seperti di PCR konvensional. Kontaminasi biasanya sering terjadi antar sampel pada saat memasukkan sampel ke tabung PCR atau tabung ekstraksi RNA (Hewajuli, 2014). Dalam menghindari kontaminasi harus dilakukan pemipetan dengan hati-hati. Tahapan prosedur PCR dimulai dari pembuatan *master mix* hingga amplifikasi membutuhkan ruangan kerja yang terpisah di laboratorium dan menetapkan alur kerja yang searah untuk hasil yang akurat (Niesters, 2002).

2.3 Parameter Kualitas Air

2.3.1 Suhu

Suhu air merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi kehidupan biota perairan, termasuk virus. Virus sebagai agen yang menular selalu membutuhkan inang untuk replikasi dan akan terhambat aktivitasnya akibat suhu perairan yang tinggi. Suhu yang tinggi akan mengubah struktur virus (amplop dan kapsid) dan protein yang bertanggung jawab untuk mengenali dan mengikat sel inang, sehingga proses infeksi menjadi terhambat (Elveborg *et al.*, 2022). Virus dengan genom

RNA seperti IMNV, relatif stabil terhadap panas namun pada suhu $>60^{\circ}\text{C}$ virus akan terdenaturasi (Mitchell *et al.*, 1984; Farrel *et al.*, 1967). Secara umum semakin tinggi suhu maka inaktivasi virus akan lebih cepat (Pinon dan Vialette, 2018). Namun IMNV dapat berkembang dengan baik pada suhu 28°C (da Silva *et al.*, 2015), adapun kisaran suhu di perairan laut yang normal biasanya antara $20-30^{\circ}\text{C}$ (Nybakken, 1988). Berdasarkan baku mutu air laut untuk biota laut berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021, yaitu $28-32^{\circ}\text{C}$.

2.3.2 Salinitas

Kadar salinitas di perairan memengaruhi kehidupan organisme di dalamnya. Salah satu organisme yang dipengaruhi oleh kadar salinitas dan banyak ditemukan di perairan adalah virus. IMNV dalam bentuk bebasnya dapat aktif di perairan dengan salinitas >20 ppt lebih dari 60 hari dan kurang dari dua minggu pada salinitas <5 ppt (Jha *et al.*, 2021), sedangkan IMNV dalam inang dapat bereplikasi lebih cepat dua kali lipat dari 57,4 menit menjadi 25,2 menit pada salinitas 5 ppt (dalam kondisi stres bagi inang) (Vieira-Girão *et al.*, 2015). Menurut Kinne (1964) air laut yang normal memiliki nilai salinitas berkisar antara 33-37 ppt dengan nilai tengah sekitar 35 ppt. Nybakken (1988) menyatakan nilai salinitas air laut adalah 30-35 ppt. Kalangi *et al.*, (2013) menyatakan bahwa nilai salinitas air di pantai berkisar antara 0-33 ppt bergantung pada volume air sungai yang masuk ke laut.

2.3.3 Oksigen Terlarut (DO)

Kandungan oksigen terlarut (DO) memengaruhi aktivitas bakteri di suatu perairan. Kadar DO ini akan memengaruhi kelimpahan bakteri di perairan berkaitan dengan proses metabolisme. Bakteri merupakan salah satu target inang untuk virus di perairan, karena virus merupakan parasit obligat sel yang membutuhkan inang untuk berkembang biak (Jacquet *et al.*, 2010). Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021, kadar oksigen terlarut untuk air laut dan kehidupan biota laut yaitu > 5 mg/l. Menurut Connel dan Miller (1995) kadar oksigen terlarut di perairan biasanya berkisar antara 6-14 mg/l.

2.3.4 Potensial Hidrogen (pH)

Potensial hidrogen (pH) atau derajat keasaman menunjukkan kandungan asam dan basa pada air. Air laut umumnya memiliki nilai pH berkisar antara 7-8,5 (Susana, 2009). Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 pH air laut berkisar antara 7-8,5. Menurut Sary (2006) air laut dengan pH kurang dari 4,8 dan lebih dari 9,2 dapat diindikasikan kondisinya tercemar. Nilai pH yang tidak normal dapat mengindikasikan kualitas air yang menurun sehingga memengaruhi kehidupan biota laut di dalamnya. Dalam hal ini virus dapat menjadi tidak aktif pada $\text{pH} \leq 1$ dan ≥ 12 (Chang *et al.*, 1997).

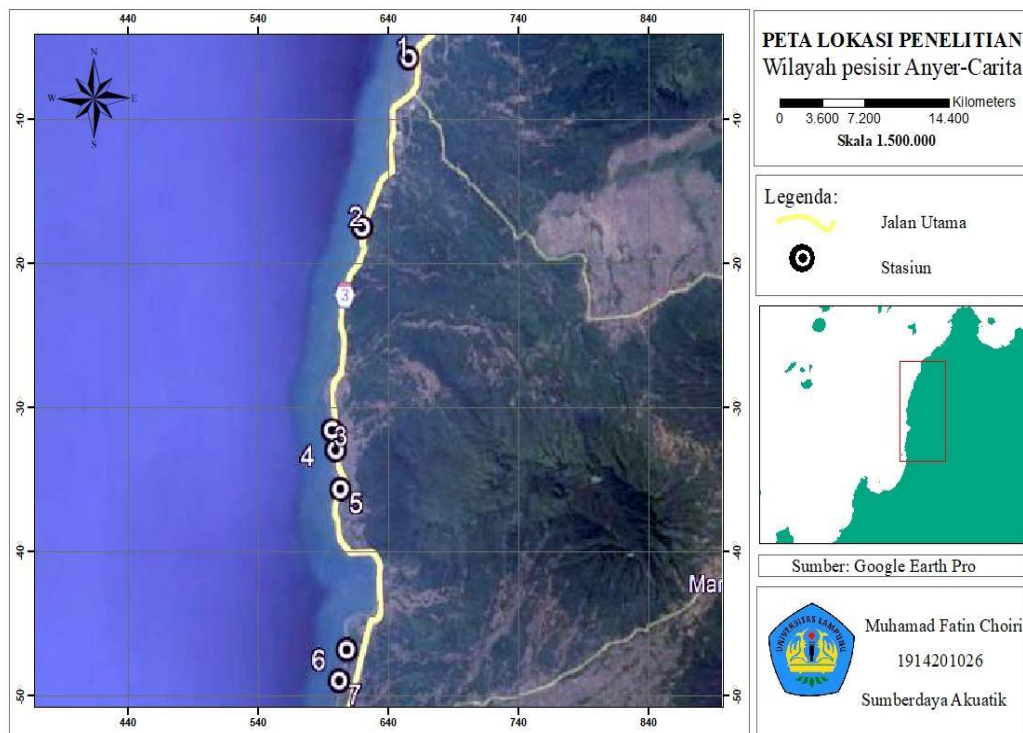
2.3.5 Total Organik Matter (TOM)

Total organic matter (TOM) merupakan kandungan bahan organik total di suatu perairan yang terdiri dari bahan organik terlarut, tersuspensi, dan koloid. Perairan dengan kandungan TOM yang terlalu sedikit maupun berlebih tidak baik bagi kesuburan perairan. Perairan yang baik adalah perairan dengan kondisi TOM-nya sesuai dengan baku mutu yang ditentukan. Hal ini diperkuat oleh pendapat Yuning-sih *et al.*, (2014) bahwa bahan organik yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya eutrofikasi atau bertumbuh kembangnya organisme perairan yang berlebihan yang berdampak buruk bagi biota dan perairan. Menurut Wyban (1991) dalam Su-priatna *et al.*, (2020) kadar TOM pada budi daya udang memiliki batas maksimum sebesar 88,4 mg/l.

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-September 2022 dengan daerah pengambilan sampel dilakukan di perairan sekitar tambak udang di wilayah pesisir Anyer (Kabupaten Serang) dan Carita (Kabupaten Pandeglang). Pengambilan sampel dan parameter kualitas air dilakukan sebanyak 2 kali ulangan dengan selang waktu 2 minggu. Lokasi pengambilan sampel dilakukan di 7 stasiun dengan 2 kali sampling per masing-masing stasiun (Gambar 2). Pendeteksian IMNV dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang.



Gambar 2. Peta lokasi penelitian

Tabel 1. Titik koordinat 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 dan bahan yang digunakan dalam penelitian merupakan alat dan bahan yang digunakan untuk pengambilan sampel di lapangan dan pengujian di Laboratorium Biologi Molekuler BPKIL Serang. Alat yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2. Alat yang digunakan dalam penelitian

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 yang digunakan dalam penelitian (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.
14.	<i>Multiscan Sky</i>	Mengukur konsentrasi DNA/RNA.
15.	Bunsen	Mensterilkan alat.
16.	<i>Pellet pestle</i>	Menghancurkan sampel.
17.	<i>Freezer</i>	Menyimpan sampel.
18.	Gunting	Mengancurkan sampel.
19.	Applied Biosystem 7500 Fast	Mendeteksi virus.
20.	Mikropipet (2 μ L-1000 μ L)	Mengambil cairan.
21.	Mikrotube	Wadah sampel.
22.	Palu	Menghancurkan sampel.
23.	Pinset	Mengambil isi sampel.
24.	<i>Spin down centrifuge</i>	Memisahkan sampel dengan bahan yang digunakan saat proses ekstraksi.

Adapun bahan yang digunakan untuk proses pengujian IMNV pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Bahan pengujian IMNV

No	Nama Bahan
1.	Etanol 75%
2.	<i>Filtered microtip</i> berbagai ukuran 10-1.000 μ l
3.	Mikroplate <i>optical</i>
4.	<i>Cover Optical</i>
5.	<i>RNA extraction buffer</i>

Tabel. 3 Bahan pengujian IMNV (lanjutan)

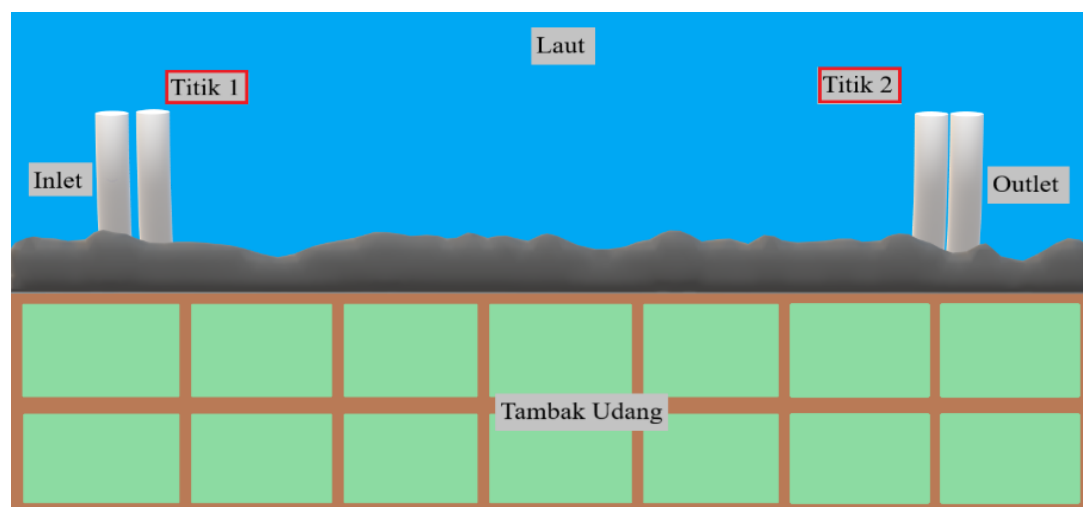
No	Nama Bahan
5.	Chloroform
6.	Isopropanol
7.	<i>IQ real 2000</i> IMNV kit (<i>Rt Premix, Rt Enzyme, dan IQ Enzyme</i>)
8.	Kontrol positif IMNV (10^6 , 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 , 10)
9.	<i>Diethylpyrocarbonate</i> (DEPC) <i>Treated Water</i>

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif dengan pendekatan kualitatif. Penelitian deskriptif kualitatif diharapkan dapat memaparkan secara rinci tujuan penelitian ini, yaitu untuk mengidentifikasi keberadaan *infectious myonecrosis virus* (IMNV) pada lingkungan perairan dan *carrier* yang terdapat di sekitar tambak udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita.

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 (Sugiyono, 2014). Lokasi pengambilan sampel dilakukan di 7 stasiun dengan 2 titik pada setiap stasiun. Sampel diambil dari pinggir pantai yang berdekatan dengan *inlet* dan *outlet* tambak udang (Gambar 3).



Gambar 3. Ilustrasi titik pengambilan sampel

3.3.2 Pengukuran Kualitas Air dan Pengambilan Sampel

3.3.2.1 Pengukuran Kualitas Air

Pengambilan data kualitas air, kecuali TOM, dilakukan secara *in situ* bersamaan dengan pengambilan sampel. Parameter kualitas air yang diukur secara *in situ* yaitu DO, suhu, salinitas, dan pH.

a. *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 akan diukur dan secara otomatis akan bekerja mengukur kadar DO air. Hasil akan muncul pada *display* hingga angka pada digital stabil dan dicatat hasil pengukurannya.

b. 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 tersebut (Insafitri, 2014).

c. Salinitas

Pengukuran salinitas air laut dilakukan dengan menggunakan alat refraktometer. 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, bagian prisma kaca dilap dengan tisu, lalu dimulai pembacaan salinitas dengan meneteskan air laut di atas permukaan prisma kaca. Selanjutnya ditutup dan dilihat hasilnya.

d. Potensial Hidrogen (pH)

Sebelum dilakukan pengukuran menggunakan pH meter, alat harus dilakukan kalibrasi. 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*.

e. TOM

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

3.3.2.2 Pengambilan Sampel Uji IMNV

Pengambilan sampel uji IMNV dilakukan pada setiap stasiun dengan target biota berupa kelomang dan teritip. Selain biota tersebut, diambil juga air laut yang diduga dapat menjadi media pembawa penyakit. Jumlah sampel yang diambil pada stasiun 1, stasiun 2, stasiun 5, dan stasiun 6 titik 2 sebanyak 6 sampel. Pada stasiun 3, stasiun 4, stasiun 6 titik 1, dan stasiun 7 sampel yang diambil hanya 4 sampel karena tidak tersedianya biota teritip. Jumlah sampel yang didapatkan pada pengambilan pertama sebanyak 35 sampel dan pada pengambilan kedua sebanyak 35 sampel, sehingga jumlah total sebanyak 70 sampel.

3.3.3 Pengujian Sampel

Pengujian sampel pendeteksi virus dilakukan sesuai dengan SNI 7662-3:2021 tentang deteksi *infectious myonecrosis virus* (IMNV) bagian 3: metode *quantitative real time-Polymerase Chain Reaction* (qPCR) menggunakan *hydrolysis probe*. Adapun tahapan yang dilakukan yaitu:

3.3.3.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan mengambil jaringan pada tubuh sampel yang kemudian dihaluskan menggunakan gunting. Jika sampel berukuran kecil maka jaringan yang diambil yaitu seluruh tubuhnya. Berat jaringan sampel yang disiapkan untuk proses ekstraksi, yaitu sebanyak 2-5 mg.

3.3.3.2 Ekstraksi RNA

1. Sebanyak 500 μ l larutan RNA *extraction* ditambahkan ke dalam tabung 1.5 ml.
2. Jaringan sampel dihomogenkan menggunakan gunting dan *pellet pestle*. Inkubasi tabung sampel pada suhu ruang selama 5 menit.
2. Sebanyak 100 μ l chloroform ditambahkan ke dalam tabung, kemudian di-*vortex* selama 20 detik.
3. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3 menit, lalu tabung di-sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 15 menit.
4. Setelah proses sentrifugasi, cairan pada lapisan atas dipindahkan sebanyak 200 μ l ke dalam tabung 1,5 ml steril baru dan ditambahkan 200 μ l isopropanol.
5. Larutan kemudian dicampur perlahan dengan membolak-balik tabung \pm 5 kali. Tabung sampel di-sentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit, kemudian isopropanol dibuang (pellet seringkali sulit terlihat karena berupa massa berbentuk jeli yang melekat di dinding tabung).
6. Pellet dicuci dengan menggunakan 750 μ l ethanol 75% dan sentrifugasi tabung sampel dengan kecepatan 9.500 rpm selama 5 menit.
7. Supernatan dibuang dengan membalikkan tabung secara perlahan, pellet dikeringanginkan selama kurang lebih 10 menit.
8. Pellet dilarutkan dalam *diethylpyrocarbonate* (DEPC) *treated-water* sekitar 100 μ l. (Volume air yang ditambahkan dapat disesuaikan dengan besar pellet yang terbentuk).

3.3.3.3 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian RNA

1. Seluruh tahapan pengerjaan diawali dengan membersihkan meja kerja dan alat menggunakan larutan pembersih *RNase*.
2. Kuantitas RNA diukur berdasarkan hasil pengukuran absorbansinya dengan UV spektrofotometer pada panjang gelombang 260 nm.
3. Pengenceran dilakukan apabila konsentrasi yang diperoleh lebih tinggi dari yang diperlukan.
4. Kemurnian RNA diukur dengan menghitung perbandingan absorbansi panjang gelombang 260 nm dan 280 nm (\AA 260 / \AA 280).
5. Proses berikutnya dilanjutkan atau simpan pada temperatur maksimum -20 $^{\circ}$ C.

3.3.3.4 Amplifikasi

1. Larutan standar dibuat dengan pengenceran berseri.
2. *Template* RNA, qRT-PCR Premix, RT-Enzyme, IQ-Enzyme dicairkan dan letakkan di rak pendingin.
3. *Master mix* qPCR dibuat dengan komposisi seperti pada Tabel 4 dan disesuaikan dengan jumlah sampel uji, ditambah dengan 6 kontrol positif (10^6 copy/ μ l, 10^5 copy/ μ l, 10^4 copy/ μ l, 10^3 copy/ μ l, 10^2 copy/ μ l, 10 copy/ μ l) dan satu kontrol negatif/ NTC (*non-template control*).

Tabel 4. Komposisi qPCR mastermix IMNV

No	Nama Bahan	Volume (μ l)
1.	RT-PCR Premix	22
2.	RT-Enzyme	1
3.	IQ Enzyme	2
4.	<i>Template</i> RNA	2

Tabel 5. Pengaturan suhu, waktu dan siklus

Proses	Suhu ($^{\circ}$ C)	Waktu	Siklus
<i>Reverse transcriptase (RT)</i>	48	5 menit	1
Denaturasi awal	96	20 detik	1
Amplifikasi	95	1 detik	40
	60	20 detik	

4. Bahan *master mix* dihomogenkan dan distribusikan 23 μ L ke plate optikal.
5. Sebanyak 2 μ l *template* RNA (16-100 ng/ μ l) sampel uji, kontrol positif 6 buah (10^6 copy/ μ l, 10^5 copy/ μ l, 10^4 copy/ μ l, 10^3 copy/ μ l, 10^2 copy/ μ l, 10 copy/ μ l) dan satu kontrol negatif dimasukkan ke dalam bahan *master mix*.
6. Amplifikasi dilakukan menggunakan *real time* PCR sesuai siklus pada Tabel 5.

3.3.3.5 Interpretasi Hasil

Berdasarkan SNI 7662-3:2021 interpretasi hasil amplifikasi qRT-PCR sebagai berikut:

1. Analisis data sesuai dengan software mesin real-time PCR yang digunakan.

2. Interpretasi kurva amplifikasi adalah sebagai berikut:
 - a. Contoh uji dinyatakan positif apabila terlihat naiknya kurva di atas garis *threshold* dan nilai *Ct* lebih kecil dari nilai *cut off* atau nilai $Ct < 37$
 - b. Contoh uji dinyatakan negatif apabila berada di bawah garis *threshold*
3. Kuantifikasi salinan (*copy*) fragmen diproses oleh perangkat lunak komputer yang terhubung dengan mesin real-time PCR yang digunakan. Proses real-time PCR dinyatakan valid apabila kurva standar yang dihasilkan memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) $> 0,985$

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Infectious myonecrosis virus (IMNV) telah terdeteksi pada 4 stasiun pengamatan. Stasiun tersebut berada di Pantai Florida, Pantai Sambolo, Pantai Karang Tumpeng, dan Pantai Carita.

5.2 Saran

Sehubungan telah terdeteksinya IMNV di perairan pesisir Anyer dan Carita maka perlu dilakukam monitoring secara rutin agar virus tersebut tidak berdampak merugikan. Keberadaan tambak udang di wilayah pesisir Anyer dan Carita yang diduga menjadi penyebab penyebaran IMNV dapat dihentikan karena selain tidak sesuai dengann tata ruang, tambak-tambak tersebut juga diduga tidak mengolah limbahnya sehingga IMNC dapat menyebar ke perairan alami.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, E. D. 1999. *Kondisi Fisika-Kimia Air Perairan Pantai Sekitar Tambak Balai Budi daya Air Payau (BBAP) Jepara, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah*. (Skripsi). Bogor. Institut Pertanian Bogor. 55 hal
- Bordon, J., Chung, D., Krishnan, P., Carrico, R., & Ramirez, J.A. 2020. The importance of cycle threshold values in the evaluation of patients with persistent positive pcr for sars-cov2: case study and brief review. *Journal of Respiratory In-fectious*. 4(1): 1-5.
- Boyd, C.E., 2003a. Bottom soil and water quality management in shrimp ponds. *Jurnal Application Aquatic*. 13(1): 11–33.
- Bratbak, M., Haldal, M., S. Norland, & T.F. Thingstad. 1990. Viruses as partners in spring bloom microbial trophodynamics. *Applied and Environ-mental Microbiology*. 56(5): 1400–1405.
- Chang, P. S., Chen, L.J., & Wang, YC. 1998. The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus. *Journal Aquaculture*. 166(1): 1-17.
- Chantratita, W., Sukasem, C., Kaewpongsri, S., Srichunrusami, C., Pairoj, W., Thitithanyanont, A., Chaichoune, K., Ratanakron, P., Songserm, T., Damrongwatanapokin, S., & Landt, O. 2008. Qualitative detection of avian influenza a (H5N1) viruses: a comparative evaluation of four real-time nucleic acid amplification methods. *Mol Cell Probes*. 22(5): 287-293.
- Connel, W.D. dan Miller, G. J. 1995. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Terjemahan, Penerbit Universitas Indonesia: 520 hal.
- da Silva, S., Lavender, H. D., de Santana, L. M., M., da Silva, A. d., Galvez, A.O., & Coimbra, M. R. 2015. *Artemia franciscana* as a vector for infectious myonecrosis virus (IMNV) to *Litopenaeus vannamei* juvenile. *Journal of Invertebrate Pathology*. 126: 1-5.
- Das, A., Spackman, E., Senne, D., Pedersen, J., & Suarez, D.L. 2006. Development of an internal positive control for rapid diagnosis of avian influenza virus infectious by real time reverse transcription-PCR with lyophilized reagents. *Jurnal of Clinical Microbiology*. 44(9): 3065-3073.

- Demirel, Y. K., Zhang, Y., Fang, H.C., H. Day, A., & Turan, O. 2017. Effect of barnacle fouling on ship resistance and powering. *Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*. 33(10): 819-834.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air: Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius, Yogyakarta. 257 hal
- Elveborg, S., Monteil, V., & Mirazimi, A. 2022. Methods of inactivation of highly pathogenic viruses for molecular, serology or vaccine development purposes. *Pathogens*. 11(2): 1-25.
- Fajri, M.A., Surbakti, H., & Putri, W.A. 2011. Laju penempelan teritip pada media dan habitat yang berbeda di perairan Kalianda Lampung Selatan. *Maspari Journal*. 3(2): 63-68.
- Farrell, J. & Rose, A. 1967. Temperature effects on microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 21: 101–120.
- Fatchiyah., Arumingtyas, E., Widyarti, S., & Rahayu, S. 2011. *Biologi Moleculer, Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga, Jakarta. 216 hal
- Gibbs, R.A. 1990. DNA amplification by the polymerase chain reaction. *Anal Chem.* 62 (13) :1202-1214.
- Giglio, S., Monis, P.T., & Saint, C.P. 2003. Demonstration of preferential binding of SYBR green I to specific DNA fragments in real-time multiplex PCR. *Nucleic Acids Res.* 31(22): 136-140.
- Haliman, R. W. & A. S. Dian. 2006. *Udang Vannamei*. Penebar Swadaya, Jakarta. 80 hal.
- Hewajuli, D. A., & NLPI, D. 2014. Perkembangan teknologi reverse transcriptase polymerase chain reaction dalam mengidentifikasi genom avian influenza dan newcastle diseases. *Wartazoa*. 24 (1): 16-29.
- Indraswati, I. A., Dirgayusa, I. N., & Faiqoh, E. 2018. Studi kelimpahan dan keanekaragaman kepiting di hutan mangrove dan padang lamun di pantai Mertasari. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*. 4(1): 162-170.
- Ismail. 2019. *Pengendalian Penyakit Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) pada Pembesaran Udang Vaname (Litopenaeus vannamei Boone) Tambak Sistem Intensif di CV. Untung Jaya Probolinggo Jawa Timur*. (Tugas Akhir). Politeknik Negeri Pangkep. 37 hal.
- Jacquet, S., Miki, T., Noble, R., Peduzzi, P., & 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.

- Jha, R. K., Babikian, H., Kristina, & Srisombat, S. 2021. Managing infectious myonecrosis virus (IMNV) in vannamei shrimp culture: Learning by doing. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 9(1): 385-391.
- Junaidi, E., E.P. Sagala, & Joko. 2010. Kelimpahan populasi dan pola distribusi remis (*Corbicula sp*) di Sungai Borang Kabupaten Banyuasin. *Jurnal Penelitian Sains*, 13(3D): 50-54.
- Kalangi, N.I.P., Mandagi A, Masengi, K. W. A., Luasunaung, A., Panggaliga, F. P. T., & Iwata, M. 2013, Sebaran suhu dan salinitas di Teluk Manado, *J. Perikanan dan Kelautan Tropis*. 9(2): 71-75.
- Karuwal, R. L. 2021. Analisis kualitas dan kuantitas RNA total varietas kacang tunggak (*Vigna unguiculata* l. walp) asal Kabupaten Maluku Barat Daya. *Jurnal Biologi, Pendidikan dan Terapan*, 7(2): 102-108.
- Kinne. 1964. The effects of marine temperatur and salinity on marine and brackis water animals. in salinity an temperatur combinations. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 2(2): 281-339.
- Kristiawan, D. 2014. Hubungan total bakteri dengan kandungan bahan organik dengan total bakteri di Muara Kali Wisu, Jepara. *Journal of Maquares*. 3(4): 24-33.
- Madyawan, D., Hendrawan, I. G., & Suteja, Y. 2020. Pemodelan oksigen terlarut (dissolved oxygen/DO) di perairan Teluk Benoa. *Journal of Marine and Aquatic Sciences*. 6(2): 270-280.
- Maranger, Roxane., & Bird, D.F., 1995. Viral abundance in aquatic systems: a comparison between marine and fresh waters. *Marine Ecology Progress Series*. 121: 217-226.
- Mitchell, S.W. McCormick, J.B. 1984. Physicochemical inactivation of lassa, ebola, and marburg viruses and effect on clinical laboratory analyses. *J. Clin. Microbiol.* 20: 486-489.
- Naim, S., Brown, J.K., & Nibert, M.K. 2014. Genetic diversification of penaeid shrimp infectious myonecrosis virus between Indonesia and Brazil. *Virus Research*. 189: 97-105
- Negri, M., Pileggi, L. G., & Mantelatto, F. L. 2012. Molecular barcode and morphological analyses reveal the taxonomic and biogeographical status of the striped legged hermit crab species *Clibanarius scolopetarius* (Herbst, 1796) and *Clibanarius vittatus* (Bosc,1802) (Decapoda: Diogenidae). *Invertebrate Systematics*. 26(6): 561-571.
- Niesters, H.G. 2002. Clinical virology in real time. *Jurnal of Clinical Virology*. 25 (3): 3-12.
- Nontji, A., 2002. *Laut Nusantara*. Penerbit Djambatan. Jakarta: 351 hal.

- Nybakken, W.J., 1988. *Biologi Laut. Suatu Pendekatan Ekologis*. Gramedia, Jakarta: 459 hal.
- Office International des Epizooties (OIE). 2007. *Infectious Myonecrosis*. OIE Aquatic Animal Disease Cards.
- Office International des Epizooties (OIE). 2009. *Infection With Infectious Myonecrosis Virus*. Manual of Diagnostic for Aquatic Animals. Chapter 2.2.3.
- Office International des Epizooties (OIE). 2010. *Infectious myonecrosis (IMNV)*. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals: chapter 2.2.3.
- Office International des Epizooties (OIE). 2012. *Infectious myonecrosis (IMNV)*. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals: chapter 2.2.3.
- Office International des Epizooties (OIE). 2019. *Infection With Infectious Myonecrosis Virus*. Manual of Diagnostic for Aquatic Animals. Chapter 2.2.5.
- Office International des Epizooties (OIE). 2021. *Infection With Infectious Myonecrosis Virus*. Manual of Diagnostic for Aquatic Animals. Chapter 2.2.5.
- Officer, C.B., 1976. *Physical Oceanography of Estuaries and Associated Coastal Waters* John Willey and Sons. New York. 465 hal.
- PAMKI, 2020. *Arti Klinis Nilai Cycle Threshold (Ct) pada Hasil Pemeriksaan Real time RT-PCR*. Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia. 4 hal.
- Pardal, S.J. 2010. Menguji ekspresi gen menggunakan *real time* PCR. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 32:13-14.
- Palic, D., Scarfe, A.D., & Walster, C.I. 2015. A standardized approach for meeting national and international aquaculture biosecurity requirements for preventing, controlling, and eradicating infectious diseases. *J. Appl. Aquac.* 27: 185–219.
- Patty, S.I. 2013. Distribusi suhu, salinitas dan oksigen terlarut di perairan Kema, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 1(3): 148 – 157.
- 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*. Pandeglang. 99 hal.
- 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*. Serang. 272 hal.

- Peraturan Pemerintah Republik Indonesia. 2021. *Tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup untuk Biota Laut*. Jakarta. 483 hal.
- Permana, A., Toharudin, U., & Suhara. 2018. Pola distribusi dan kelimpahan populasi kelomang laut di Pantai Sindangkerta, Kecamatan Cipatujah, Kabupaten Tasikmalaya. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 10(30): 87-98.
- Pinon, A., & Vialette, M. 2018. Survival of viruses in water. *Intervirology*. 61(1): 214-222.
- Poulos, B.T., Tang, K. F. J., Pantoja, C. R., Bonami, J. R., & Lightner, D.V. 2006. Purification and characterization of infectious myonecrosis virus of penaeid shrimp. *Jurnal Gen.Virology*. 87: 987–996.
- Pratiwi, E., & Widodo, L. I. 2020. Kuantifikasi hasil ekstraksi gen sebagai faktor kritis untuk keberhasilan pemeriksaan RT-PCR. *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1): 1-9.
- Pratiwi, R. 2010. Asosiasi krustasea di ekosistem padang lamu perairan Teluk Lampung. *J. Ilmu Kelautan*. 15(2): 66- 76.
- Romadlon, A., Subaidah, S., R, I. S., & Pramono, A. W. 2020. Pengujian Calon Induk Udang Vaname terhadap Virus IMNV. DJPB Situbondo. <https://kkp.go.id/bp-bapsitubondo/artikel/19960-pengujian-calon-induk-udang-vaname-terhadap-virus-immv>. Diakses pada 14 September 2022.
- Rustam, A., Adi, N.S., Mustikasari, E., Kepel, T.L. & Kusumaningtyas, M.A. 2018. Karakteristik sebaran sedimen dan laju sedimentasi perairan teluk banten. *Jurnal Segara*, 14(3):137-144.
- Sah, S. K., Kaur, G., dan Kaur, A. 2014. Rapid and reliable method of high-quality RNA extraction from diverse plants. *American Journal of Plant Sciences*, 5(1): 3129–3139.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning a Laboratory Manual (2nd ed)*. Cold Spring Harbor Lab Press. University of Texas Sout Western Medical Center: Texas. 47hal
- Sarah , H., Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. 2017. Studi kasus keberadaan penyakit IMNV (infectious myonecrosis virus) Pekalongan, Jawa Tengah. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 6(2): 106-112.
- Senapin, S. Phewsaiya, K., Briggs, M., & Flegel, T. W., 2007. Outbreaks of infectious myonecrosis virus (IMNV) in Indonesia confirmed by genome sequencing and use of an alternative RT-PCR detection method. *Science Direct Aquaculture*. 266: 32-38.

- Sinaga, E. L. R., Muhtadi, A., & Bakti, D. 2016. Profil suhu, oksigen terlarut, dan pH secara vertikal selama 24 jam di Danau Kelapa Gading Kabupaten Asahan Sumatera Utara. *Omni-Akuatika*, 12(2); 114–124.
- SNI 7662-3. 2021. *Deteksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) - Bagian 3: Metode quantitative real-time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR) menggunakan hydrolysis probe*. Badan Standardisasi Nasional. 13 hal.
- SNI 8037.1. 2014. *Udang vaname (Litopenaeus vannamei, Boone 1931) Bagian 1: Produksi induk model indoor*. Badan Standardisasi Nasional. 7 hal.
- Sugiyono. 2014. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan R & D*. Bandung, Alfabeta. 334 hal.
- Suharto, Septiyawati, F., & Yanuarita, D. 2018. Kajian kualitas air dan indeks pencemaran wilayah pesisir Kota Makassar. *Jurnal Pengelolaan Perairan*. 1 (2): 41-45.
- Supriatna, Mahmudi, M., Musa, M., & Kusriani. 2020. Hubungan pH dengan parameter kualitas air pada tambak udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fisheries and Marine Research*, 5(3): 368-374.
- Supono. 2018. *Manajemen Kualitas Air untuk Budidaya Udang*. Anugrah Utama Raharja. Lampung. 147 hal.
- Suttle, C. 2007. Marine viruses major players in the global ecosystem. *Nature Reviews Microbiology*. 5: 801–812.
- Tamara, D. 2022. *Hubungan Nilai Cycle Threshold Value (Ct Value) Dengan Tingkat Kematian Pasien Covid 19 Di Rumah Sakit Umum Daerah (Rsud) Pesawaran Lampung*. (Skripsi). Fakultas Kedokteran. Universitas Malhayati. Lampung. 110 hal.
- Tang, K.F.J., Bondad, R. M. G., & Arthur, J.R. 2019. *Shrimp Infectious Myonecrosis Strategy manual*. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1187. Rome: FAO. 57 hal.
- Tarsim. 2000. *Studi Kualitas Air dan Produksi Tambak Udang Intensif di PT. Mission Makmur, Tangerang, Jawa Barat*. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 53 hal
- Tuny, M. T., & Kaseside, M. 2019. Sebaran salinitas air laut di Laut Tobelo dan gugusan pulau-pulau kecil yang tersebar di depan Kota Tobelo. *Jurnal UNIERA*. 8(1): 22-25.
- Vieira-Girão, P.R.N., Rocha, I.R.C.B., Gazzieno, M., Vieira P.R.N., & Lucena, H. M.R. 2015. Low salinity facilitates the replication of infectious myonecrosis virus and viral co-infection in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J Aquac Res Development*. 6(302): 2-6.

- Widowati, Z. 2013. *Pengembangan Real Time RT-PCR dan Karakterisasi Molekuler untuk Deteksi Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) pada Udang Vaname (Litopenaeus vannamei)*. (Tesis). Program Studi Mikrobiologi Medik. Institut Pertanian Bogor. 59 hal.
- Wijayanti, H., Herbowo, D. G., & Darmawan, A. 2019. Keberadaan hewan pengotor teritip di infrastruktur Teluk Kunyit, Pantai Sariringgung dan Pantai Mutun, Lampung. *Jurnal Biologi Tropis*. 20(1): 54-58.
- Wommack, K.E., & Colwell, R.R. 2000. Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev*. 64: 69–114.