

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1950)
PEMBAWA GEN PIRA^{VP} PADA UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei*
(BOONE, 1931) BERBASIS MOLEKULER**

(Skripsi)

Oleh

**Dea Ayu Palupi
2014111010**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1950) PEMBAWA GEN PIR^A_{VP} PADA UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) BERBASIS MOLEKULER

Oleh

Dea Ayu Palupi

Vibrio parahaemolyticus menjadi salah satu bakteri penyebab penyakit pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Terdapat satu strain *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat menghasilkan toksin yang dikenal dengan pir^A_{VP}, yang dapat menyebabkan mortalitas pada udang vaname hingga 100%, sehingga perlu dilakukan suatu tindakan untuk mencegah penyebaran *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pir^A_{VP}, salah satunya dengan deteksi dini menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pir^A_{VP} pada udang vaname. Penelitian ini dilakukan pada November sampai Desember 2023 yang berlokasi di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang menggunakan metode *real time* PCR (q-PCR). Hasil penelitian menunjukkan 11 sampel terdeteksi positif *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pir^A_{VP} dengan nilai Ct terendah terdapat pada sampel dengan kode 1509 yaitu sebesar 28,39 dan nilai Ct tertinggi terdapat pada sampel dengan kode 1600 sebesar 37,26. Berdasarkan hasil tersebut maka para petambak udang vaname disarankan untuk menerapkan cara budi daya yang baik serta menggunakan benur bersertifikat *specific pathogen free* (SPF), serta menggunakan agen terapeutik, seperti probiotik dan imunostimulan.

Kata kunci : penyakit infeksi, quantitative PCR, udang vaname, *Vibrio parahaemolyticus*.

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1950) CARRYING PIRA^{VP} GENE IN PACIFIC WHITE SHRIMP *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)

By

Dea Ayu Palupi

Vibrio parahaemolyticus is one of the bacteria that cause disease in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). There is one strain of *Vibrio parahaemolyticus* that can produce a toxin known as pirA^{VP}, which can cause mortality in pacific white shrimp up to 100%. Therefore, it is necessary to take action to prevent the spread of *Vibrio parahaemolyticus* carrying the pirA^{VP} gene, one of which is by early detection using polymerase chain reaction (PCR). This research was conducted to identify *Vibrio parahaemolyticus* carrying the pirA^{VP} gene in pacific white shrimp. The research was conducted from November to December 2023 located at the Molecular Biology Laboratory, Fish and Environmental Health Testing Center (BPKIL) Serang using the real time PCR (q-PCR) method. The results showed 11 samples were detected positive for *Vibrio parahaemolyticus* pirA^{VP} gene carriers with the lowest Ct value found in the sample with code 1509 which amounted to 28.39 and the highest Ct value found in the sample with code 1600 of 37.26. Based on these results, vaname shrimp farmers advised to apply good farming methods and use specific pathogen free (SPF) certified fry, as well as using therapeutic agents such as probiotics and immunostimulants.

Keywords: infectious disease, quantitative PCR, Pacific white shrimp, *Vibrio parahaemolyticus*.

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1950)
PEMBAWA GEN PIRA^{VP} PADA UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei*
(BOONE, 1931) BERBASIS MOLEKULER**

Oleh

Dea Ayu Palupi

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
Sarjana Perikanan**

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : IDENTIFIKASI BAKTERI *Vibrio parahaemolyticus* (FUJINO, 1950) PEMBAWA GEN PIRA^{VP} PADA UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) BERBASIS MOLEKULER

Nama Mahasiswa : Dea Ayu Palupi

Nomor Pokok Mahasiswa : 2014111010

Jurusan/Program Studi : Perikanan dan Kelautan/Budidaya Perairan

Fakultas : Pertanian

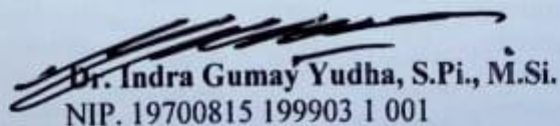


Dr. Yudha Trinoegraha A., S.Pi., M.Si.
NIP. 19780708 200112 1 001



Indriasih, S.Si., M.Si.
NIP. 19810605 200912 2 001

2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan

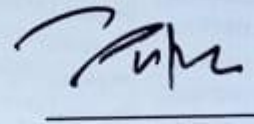


Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si.
NIP. 19700815 199903 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

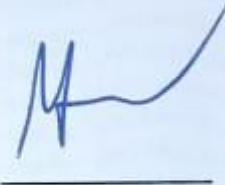
Ketua : Dr. Yudha Trinoegraha A., S.Pi., M.Si.



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



Penguji : Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP. 19641118 198902 1 002



Tanggal lulus ujian skripsi : 3 Oktober 2024

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana di Universitas Lampung
2. Skripsi ini murni hasil dari gagasan, rumusan, dan penelitian saya tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan dari tim pembimbing
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan oleh pihak lain, kecuali secara tertulis dengan jelas yang dicantumkan sebagai bahan referensi dengan disebutkan nama penulisnya dan dicantumkan dalam daftar pustaka
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran atas karya tulis ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh ataupun sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 23 Oktober 2024

Yang membuat pernyataan



Dea Ayu Palupi
NPM. 2014111010

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di Kabupaten Tulang Bawang, Lampung pada 15 Januari 2002. Penulis merupakan anak keempat dari empat bersaudara pasangan Bapak Sutardi dan Ibu Pancasini Septi Ningrum. Penulis mengawali pendidikan di TK 02 Yapindo pada 2006-2008. Lalu melanjutkan pendidikannya di Sekolah Dasar Negeri (SDN) 1 Tanjung Anom pada 2008-2014, pendidikan menengah pertama di Sekolah Menengah Pertama Negeri (SMPN) 1 Terusan Nunyai pada 2014-2017, setelah itu penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di Sekolah Menengah Atas Negeri (SMAN) 1 Terusan Nunyai pada 2017-2020. Pada tahun 2020 penulis melanjutkan pendidikan ke jenjang strata 1 (S1) melalui program Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis melakukan magang mandiri di Balai Benih Ikan (BBI) Natar, Lampung Selatan dengan topik pembenihan ikan nila pada tahun 2022. Pada tahun 2023 penulis melakukan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Pakuan Sakti, Way Kanan, Lampung dan juga mengikuti kegiatan Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) Riset di Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang di Laboratorium Biologi Molekuler.

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, serta kemudahan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, Bapak Sutardi dan Almh Ibu Pancasini Septi Ningrum, kakak-kakak saya Mas Arif, Mba Dita, Mba Dian, Mba Tini, Mas Andy, Mas Bambang, ponakan-ponakan saya Abid, Amera, Alesha, Safa, Shaka, sahabat saya Nurma Febrianti serta seluruh keluarga besar sebagai tanda terima kasih atas kasih sayang, doa, dan dukungan, baik secara moril maupun materil yang tiada terhingga.

Tidak lupa juga saya persembahkan karya tulis ini kepada Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang, Dosen Pembimbing yang telah memberikan masukan, saran, kritik dan motivasi dalam penyelesaian karya tulis ini, teman-teman seperjuangan yang telah banyak membantu, memotivasi dan memberikan dukungan dalam penyelesaian karya tulis ini.

MOTO

Aku akan menyerahkan urusanku kepada Allah. Sungguh, Allah Maha Melihat akan hamba-hambanya (QS. 40:44)

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan (QS. 94:5)

Yakinlah ada sesuatu yang menantimu setelah sekian banyak kesabaran (yang kamu jalani) yang akan membuatmu terpana hingga kamu lupa betapa pedihnya rasa sakit

(Ali bin Abi Thalib)

Terkadang kesulitan harus kamu rasakan terlebih dahulu, sebelum kebahagiaan yang sempurna datang kepadamu

(R.A Kartini)

Belajarlah mengucapkan syukur dari hal-hal yang baik. Belajarlah menjadi kuat dari hal-hal buruk di hidupmu

(B.J Habibie)

SANWACANA

Syukur alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* (Fujino, 1950) Pembawa Gen PirA^{Vp} pada Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) Berbasis Molekuler” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan di Universitas Lampung.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL), Serang.
3. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
4. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung serta Dosen Penguji yang telah memberikan bimbingan, dukungan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. Dr. Supono, S.Pi., M.Si. dan Ir. Siti Hudaidah, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan dukungannya selama perkuliahan.
6. Dr. Yudha Trinoegraha Adiputra, S.Pi., M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, dukungan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Indriasih, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Kedua yang telah memberikan bimbingan, dukungan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi ini.

8. Dosen-dosen Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu dan pengalaman yang bermanfaat bagi penulis selama menjadi mahasiswa.
9. Kedua orang tua, Bapak Sutardi dan Almh Ibu Pancasini Septi Ningrum, serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa dan dukungan.
10. Nurma Febrianti yang telah memberikan semangat dan kebersamai penulis.
11. Wiwin Wiyani, A.Pi., Nisa Sadiyah, S.Pd., Nana Heriyana, Ima, serta seluruh pegawai BPKIL Serang atas segala bantuan dan dukungan yang diberikan selama penyelesaian skripsi ini.
12. Rekan seperjuangan, Adelia Wihardini, Haniatun Aminah, Indah Puspita, Zakia Ayu Lutfiyah Seniman, Siti Mutomimah Aini, Meileni Anggraini dan Fadillah Asmaulfah yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan.
13. Keluarga besar Perikanan dan Kelautan 2020 yang telah memberikan pengalaman dan kenangan selama masa perkuliahan.
14. Seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah banyak membantu penulis selama pembuatan skripsi.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya untuk penulis dan umumnya untuk pembaca.

Bandar Lampung, 23 Oktober 2024
Penulis

Dea Ayu Palupi

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR ISTILAH	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Manfaat	2
1.4 Kerangka Pemikiran	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Biologi Udang Vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	4
2.1.1 Klasifikasi	4
2.1.2 Morfologi	4
2.1.3 Habitat dan Siklus Hidup	5
2.2 Biologi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6
2.3 Patogenitas <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	7
2.4 Identifikasi Patogen dengan <i>Polymerase Chain Reaction</i>	8
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Metode Penelitian	12
3.3.1 Pengambilan Sampel	12

3.3.2 Isolasi Bakteri dan Ekstraksi DNA Mericon Kit	13
3.3.3 Uji Kualitas DNA	13
3.3.4 Identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	13
3.3.5 Identifikasi Gen PirA ^{Vp} pada <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	15
3.3.6 Interpretasi Hasil	16
3.4 Analisis Hasil	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Hasil	17
4.1.1 Pengujian Konsentrasi dan Kemurnian DNA	17
4.1.2 Identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	18
4.1.3 Identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Gen PirA ^{Vp}	20
4.2 Pembahasan	21
V. SIMPULAN DAN SARAN	24
5.1 Simpulan	24
5.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran	3
2. Morfologi udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	5
3. Siklus hidup udang vaname (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	6
4. Hasil <i>polymerase chain reaction</i> (PCR) <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam penelitian	10
2. Bahan yang digunakan dalam penelitian	11
3. Komposisi <i>mastermix</i> identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14
4. Tahapan amplifikasi identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	14
5. Urutan sampel pada <i>well</i> gel agarose	14
6. Komposisi <i>mastermix</i> identifikasi gen pirA^{VP}	15
7. Tahapan amplifikasi identifikasi gen pirA^{VP}	15
8. Pengujian konsentrasi dan kualitas DNA	17
9. Identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	19
10. Identifikasi <i>Vibrio parahaemolyticus</i> gen pirA^{VP}	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil PCR <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	32
2. Pengujian <i>Vibrio parahaemolyticus</i> pirA ^{VP} dengan q-PCR	36
3. Letak sampel pada <i>microplate</i> q-PCR	37

DAFTAR ISTILAH

- Base pair (BP)* : Pasangan basa.
- Deoxyribonucleic acid (DNA)* : Asam nukleat yang menyimpan informasi genetik.
- Nilai cut off* : Ambang batas dari jumlah siklus.
- Nilai cycle threshold (Ct)* : Jumlah siklus yang dibutuhkan untuk mendeteksi keberadaan bakteri atau virus.
- Polymerase chain reaction (PCR)* : Metode yang dilakukan untuk memperbanyak sekuen nukleotida tertentu.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sektor perikanan saat ini berpotensi menjadi penggerak ekonomi nasional sebab memiliki prospek yang besar dalam peningkatan devisa negara. Salah satu komoditas unggulan pada sektor perikanan adalah udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) (Agustiyana *et al.*, 2023). Udang vaname menjadi komoditas unggulan di sektor perikanan sebab memiliki nilai jual yang tinggi, peluang pasar luas, dan prospek ekspor yang menjanjikan (Sa'adah & Milah, 2019). Menurut Fauzi *et al.* (2023) udang vaname dapat tumbuh dengan cepat, lebih resisten terhadap kualitas lingkungan yang rendah, tingkat produktivitas tinggi, serta tahan terhadap penyakit. Walaupun udang vaname dikenal memiliki keunggulan terhadap serangan penyakit, namun saat ini budi daya udang vaname sering mengalami kegagalan produksi akibat serangan penyakit (Ma'sum & Wahidin, 2020).

Penyakit pada udang digolongkan menjadi dua, yaitu penyakit infeksi dan noninfeksi. Penyakit noninfeksi biasanya disebabkan oleh kondisi lingkungan, nutrisi tidak seimbang, racun, dan juga faktor genetik (Lightner & Redman, 1998), sedangkan penyakit infeksi biasanya disebabkan oleh virus, bakteri, protozoa, dan juga jamur (Rafiqie, 2014). Serangan bakteri dapat menyebabkan kematian pada udang. Bakteri akan menyerang udang pada saat udang dalam keadaan lemah (Ilmiah *et al.*, 2022). Salah satu bakteri penyebab penyakit pada udang adalah *Vibrio parahaemolyticus*. Terdapat satu strain bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang memiliki keunikan, yaitu adanya plasmid pVA1 yang menghasilkan toksin pirA^{VP}. Toksin tersebut akan berikatan secara spesifik pada membran sel dan reseptor (monosakarida dan oligosakarida), serta memfasilitasi pengenalan target

yang menyebabkan pembentukan pori pada hepatopankreas udang hingga mengakibatkan kematian (Kumar *et al.*, 2021), sehingga menyebabkan kerugian rata-rata hingga 7 miliar USD setiap tahunnya di seluruh dunia (Suryana *et al.*, 2023). Toksin pirA^{VP} juga pernah diujikan pada larva ngengat serta nyamuk dan menyebabkan pembengkakan serta pengelupasan pada sel epitel, sedangkan pada *Artemia franciscana* menyebabkan artemia tersebut tidak mampu mencerna makanan (Kumar *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, perlu dilakukan suatu upaya untuk mencegah penyebaran *Vibrio parahaemolyticus* toksin pirA^{VP}.

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengantisipasi penyebaran Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* toksin pirA^{VP} dapat dilakukan dengan deteksi dini. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Soo & Bhassu, (2022) salah satu metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi *Vibrio parahaemolyticus* pirA^{VP} adalah dengan metode uji biokimia, namun dalam penerapannya metode ini harus dilakukan dengan menggabungkan metode lain, seperti 16s rRNA *sequencing*. Oleh sebab itu, perlu dilakukan pemeriksaan menggunakan metode lain yang lebih sederhana, salah satunya dengan memanfaatkan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) (Anissa *et al.*, 2024). *Polymerase chain reaction* memiliki keunggulan yang tinggi dalam hal spesifisitas, sensitivitas, dan keakuratannya (Li *et al.*, 2023). Dengan demikian, perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pirA^{VP} dengan metode PCR pada udang vaname.

1.2 Tujuan

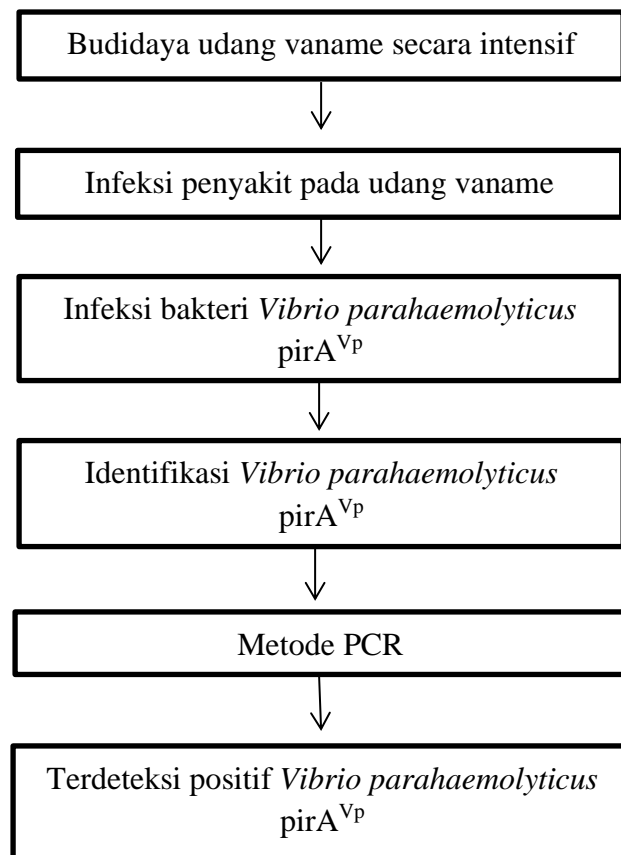
Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pirA^{VP} pada udang vaname.

1.3 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan referensi ilmiah serta memberikan informasi tentang keberadaan *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pirA^{VP} pada budi daya udang vaname, sehingga dapat dilakukan tindakan untuk mencegah penyebarannya.

1.4 Kerangka Pemikiran

Infeksi penyakit pada udang vaname menjadi salah satu faktor yang sering menyebabkan kerugian ekonomi akibat kegagalan produksi. Penyakit pada udang vaname biasanya disebabkan oleh bakteri. Salah satu bakteri yang sering menyebabkan penyakit yang berdampak kematian pada udang adalah *Vibrio parahaemolyticus*. Terdapat satu strain *Vibrio parahaemolyticus* yang mampu menghasilkan toksin pirA^{VP} yang mampu menyebabkan kematian pada udang hingga 100%, sehingga perlu dilakukan suatu upaya pencegahan penyebaran bakteri tersebut dengan melakukan deteksi dini. Salah satu metode deteksi dini yang dapat dilakukan adalah dengan *polymerase chain reaction* (PCR). Adapun kerangka pemikiran penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pemikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)

Udang vaname merupakan udang introduksi yang berasal dari Pantai Barat Pasifik Amerika Latin, dan mulai dirilis di Indonesia pada 2001 melalui SK Menteri Kelautan dan Perikanan RI No.41 Tahun 2001 (Nugraha *et al.*, 2022).

2.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi udang vaname menurut Dugassa & Gaetan (2018) dan Aulia (2018), adalah sebagai berikut:

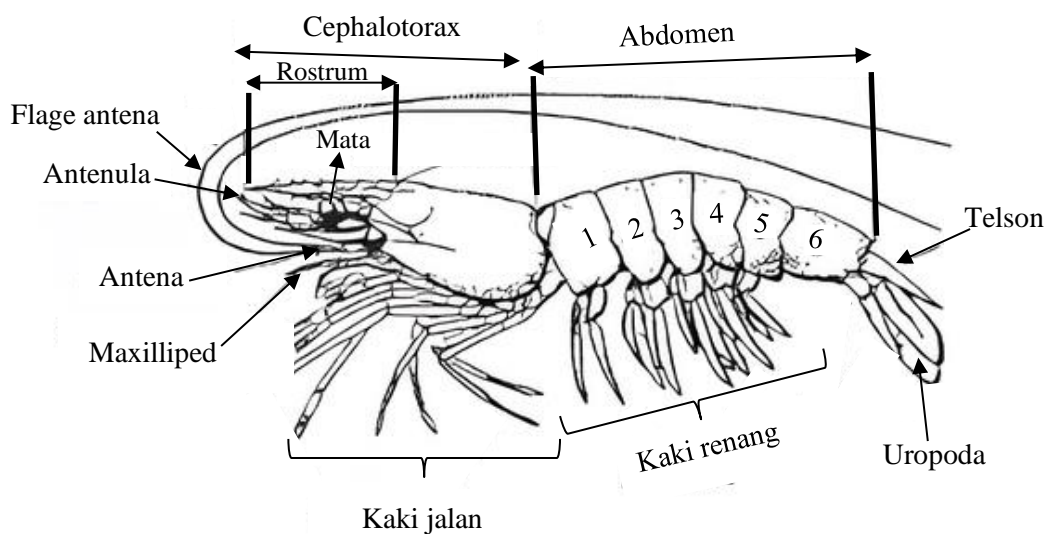
Phylum	:	Arthropoda
Subphylum	:	Crustacea
Kelas	:	Melacostraca
Ordo	:	Decapoda
Famili	:	Penaedea
Genus	:	<i>Penaeus</i>
Sub genus	:	<i>Litopenaeus</i>
Spesies	:	<i>Litopenaeus vannamei</i>

2.1.2 Morfologi

Udang vaname memiliki tubuh yang ditutupi dengan karapas yang tipis dan keras dari kitin. Udang vaname memiliki warna putih kekuningan dengan kaki berwarna putih. Kepala pada udang vaname menyatu dengan dada dan disebut *cephalothorax*, sedangkan bagian atas perut sampai ekor disebut abdomen. Bagian kepala pada udang vaname memiliki rostrum yang bergerigi dengan 9 gerigi pada bagian

atas dan 2 gerigi pada bagian bawah, serta memiliki antena, antenula, flage antena, dua pasang maksila dan 3 pasang *maxilliped*. Pada bagian pangkal kepala terdapat sepasang mata. Udang vaname memiliki 10 pasang kaki yang terdiri dari 5 pasang kaki jalan dan 5 pasang kaki renang (Aulia, 2018).

Udang vaname memiliki 6 pasang ruas pada bagian perut. Kaki renang udang vaname terdapat pada 5 pasang ruas pertama bagian perut. Pada satu pasang ruas terakhir pada perut terdapat ekor yang terdiri dari 2 pasang uropoda (ekor kipas) dan telson yang dapat membantu udang melompat mundur dengan cepat apabila terjadi bahaya (Dugassa & Gaetan, 2018). Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2.

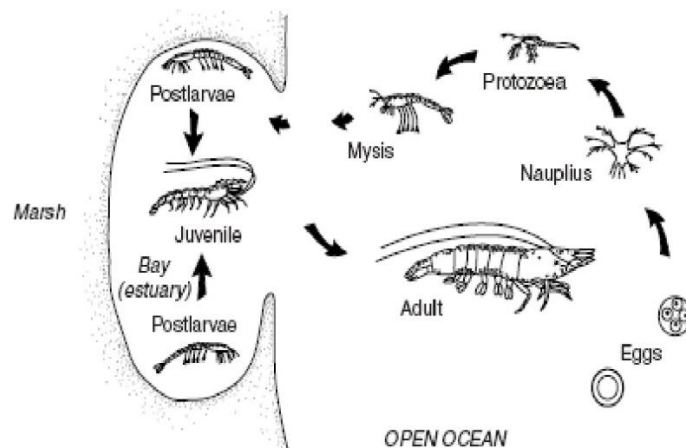


Gambar 2. Morfologi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)
Sumber : Effendi *et al.* (2021)

2.1.3 Habitat dan Siklus Hidup

Udang vaname menyukai dasar laut berpasir bercampur lumpur. Udang ini memiliki sifat katadromus atau dapat hidup di dua lingkungan (Nugraha *et al.*, 2022). Udang vaname dewasa akan memijah di laut lepas, setelah telur menetas dan menjadi larva akan bermigrasi ke wilayah estuari (Masfirotun *et al.*, 2021). Udang vaname hidup pada perairan yang memiliki suhu berkisar di atas 22°C. Udang ini juga terkadang mampu hidup pada wilayah dengan salinitas rendah, seperti sungai-sungai air tawar (Aulia, 2018).

Siklus hidup udang vaname diawali dengan pemijahan oleh udang dewasa hingga terjadi fertilisasi. Kemudian sekitar 16-18 jam setelah fertilisasi telur akan menetas menjadi naupli (Irianingrum *et al.*, 2023). Naupli akan memakan kuning telur yang tersimpan dalam tubuhnya dan akan melakukan molting dan bermetamorfosis menjadi zoea (Putri *et al.*, 2020). Setelah 4-5 hari zoea akan bermetamorfosis menjadi mysis (Nugraha *et al.*, 2022). Pada stadia mysis sudah berbentuk seperti udang sebab sudah memiliki uropoda dan telson (Erlangga, 2023). Pada stadia mysis udang sudah memakan zooplankton dan fitoplankton (Riyanti *et al.*, 2020). Setelah 3-4 hari mysis akan bermetamorfosis kembali menjadi *post larva* (Nugraha *et al.*, 2022). Pada stadia *post larva* udang sudah terlihat seperti udang dewasa (Erlangga, 2023). waktu yang dibutuhkan untuk proses perubahan dari naupli menjadi *post larva* sekitar 12 hari. Kemudian *post larva* akan terus berkembang menjadi juvenil (Nugraha *et al.*, 2022). Siklus hidup udang vaname dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Siklus hidup udang vaname (*Litopenaeus vannamei*)
Sumber : Effendi *et al.* (2021)

2.2 Biologi *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus merupakan mikroflora normal yang dapat ditemukan pada lingkungan laut dan estuari di seluruh dunia. *Vibrio parahaemolyticus* juga dapat ditemukan di dalam tubuh ikan dan krustasea yang hidup di air laut maupun estuari (Mulya *et al.*, 2022). Bakteri ini tergolong ke dalam bakteri Gram negatif dan berbentuk batang (*curved* atau *straight*) (Mahulauw *et al.*, 2022), tergolong

ke dalam bakteri anerob fakultatif, tidak membentuk spora, pleomorfik, bersifat motil dengan *single polar flagellum*, dan apabila dikultur pada media *thiosulfat citrate bile salt sucrose* (TCBS) akan berbentuk bulat dengan diameter sekitar 1-4 mm dan berwarna hijau. Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* memiliki sifat yang berbeda dengan spesies *Vibrio* lainnya, yaitu tidak memfermentasi sukrosa (Evan *et al.*, 2021). Bakteri ini bersifat halofilik serta membutuhkan salinitas dalam proses pertumbuhannya (Hasanah *et al.*, 2022).

2.3 Patogenitas *Vibrio parahaemolyticus*

Idami *et al.* (2020) menyatakan bahwa *Vibrio parahaemolyticus* tidak bersifat patogen apabila kelimpahannya pada air kurang dari 10^4 CFU/mL. Menurut penelitian yang dilakukan di Mexico pada udang vaname yang diuji tantang terhadap *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan metode perendaman dengan kepadatan 10^6 CFU/mL mampu menyebabkan mortalitas pada udang vaname hingga 100% pada 17 jam sampai 72 jam setelah perendaman (Soto-Rodriguez *et al.*, 2022). Adapun berdasarkan penelitian yang dilakukan di Serang Banten diketahui bahwa *Vibrio parahaemolyticus* pada kepadatan 10^2 CFU/mL dapat menyebabkan mortalitas pada udang vaname hingga 27%, pada kepadatan 10^4 CFU/mL menyebabkan mortalitas pada udang hingga 42% pada 72 jam setelah perendaman, pada kepadatan 10^6 CFU/mL dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% spada 28 jam setelah perendaman, dan pada kepadatan 10^8 CFU/mL dapat menyebabkan mortalitas hingga 100% pada 16 jam setelah perendaman (Saputra *et al.*, 2023).

Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* akan masuk ke saluran pencernaan lalu merusak hepatopankreas dan mulai mengeluarkan protein beracun (Khusnah *et al.*, 2023). Udang yang terserang *Vibrio parahaemolyticus* akan menunjukkan gejala lesu dan hepatopankreas mengalami nekrosis, atrofi, serta terlihat pucat (Suryana *et al.*, 2023). Penularan penyakit akibat *Vibrio parahaemolyticus* dalam lingkungan perairan, dapat terjadi melalui kontak langsung dengan inang yang sakit, alat-alat yang digunakan, sisa bagian tubuh ikan, melalui hewan dan tumbuhan air, serta air bekas ikan sakit (Syamsuddin *et al.*, 2023).

Vibrio parahaemolyticus memiliki strain unik yang dapat menyebabkan penyakit acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). Bakteri ini memiliki plasmid pVA1 yang mengandung gen virulensi pirA^{VP} dan pirB^{VP} yang dapat mengodekan toksin biner pirA^{VP} dan pirB^{VP} (Kumar *et al.*, 2021). Pada plasmid pVA1 diketahui memiliki 5 gen transposase, 10 gen konjugasi, 2 gen protein antires-triksi, 4 gen berkaitan dengan sistem sekresi, 1 gen berkaitan dengan sistem toksin-antitoksin pndA yang berkaitan dengan *post-segregational killing* (PSK), dan 2 gen DNA methyltransferase (Wang *et al.*, 2020). Menurut Kumar *et al.* (2021) plasmid pVA1 memiliki beberapa gen konjugasi dan juga 2 gen mobilisasi yang dapat memudahkan terjadinya mobilisasi plasmid tersebut ke strain *Vibrio* lainnya seperti *Vibrio punensis*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio owensii*, *Vibrio campbelli* dan pada strain non *Vibrio* seperti *Shewanella* sp., proses ini juga dapat menyebabkan bakteri non patogen menjadi patogen AHPND.

2.4 Identifikasi Patogen dengan *Polymerase Chain Reaction*

Polymerase chain reaction merupakan teknik sintesis dan amplifikasi DNA in-vitro yang terdiri dari beberapa tahapan berulang. PCR digunakan untuk memperbanyak molekul DNA tertentu dengan menganalisis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan primer dalam suatu *thermocycler* (Widayat *et al.*, 2019). Tahapan amplifikasi pada PCR terbagi menjadi tiga tahap siklus yang selalu berulang, yaitu denaturasi template dengan suhu 94-95°C, *annealing* (penempelan primer) dengan suhu 50-60°C dan *extension* (pemanjangan rantai DNA) dengan suhu 72°C. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan PCR, antara lain konsentrasi dan kualitas DNA, temperature *annealing* dari kedua primer, enzim polimerase, konsentrasi dan kualitas primer, jumlah siklus, deoksinukleotida trifosfat (dNTP), dan faktor lain seperti larutan buffer (Setyawati & Zubaidah, 2021).

Pada saat ini ada dua macam teknik PCR yang sering digunakan untuk mendeteksi patogen penyakit pada udang, yaitu konvensional PCR dan juga *real time* PCR atau *quantitative* PCR (qPCR) (Kurniawati *et al.*, 2019). Konsep *real time* PCR hampir sama dengan konvensional PCR, namun pada *real time* PCR hasil

langsung diperoleh bersamaan dengan proses amplifikasi, tidak perlu melalui proses elektroforesis. *Real time* PCR menggabungkan bahan-bahan kimia PCR dengan *fluorescent probe* atau pewarna DNA seperti *sybr green*, sehingga visualisasi produk dapat dilihat secara langsung. *Real time* PCR memiliki tingkat spesifisitas dan sensitivitas lebih tinggi dibandingkan dengan konvensional PCR, kemudahan dan kecepatan dalam persiapan sehingga lebih efisien dan efektif, serta amplifikasi dilakukan dalam kondisi tertutup sehingga mengurangi resiko kontaminasi (Nainggolan *et al.*, 2020).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada November sampai Desember 2023. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Kabupaten Serang

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian

No	Alat	Kegunaan
1	<i>Microtube</i> (0,2– 1,5 mL)	Wadah sampel.
2	<i>Spindown</i>	Mencampurkan DNA dengan reagen.
3	Mikropipet (2-1000 μ L)	Mengambil cairan dan memanen bakteri.
4	<i>Centrifuge</i>	Memisahkan suspensi.
5	<i>Thermal blok</i>	Memanaskan sampel.
6	<i>Vortex</i>	Menghomogenkan sampel.
7	<i>Frezeer -20°C</i>	Menyimpan sampel.
8	Rak <i>tube</i> dan <i>ice block</i>	Meletakkan <i>tube</i> .
9	Mikrotip (10-1000 μ L)	Mengambil cairan dan memanen bakteri.
10	Mikroplate	Wadah sampel saat dimasukkan ke mesin <i>real time</i> PCR.
11	<i>Cover optical</i>	Tutup mikroplate.
12	<i>Thermalcycler</i> Sensoquest	Amplifikasi DNA bakteri.
13	Gel elektroforesis Mupid Exu Submarine	Memisahkan molekul target berdasarkan ukurannya.
14	Gel scanner LI-COR D- Digit	Membaca hasil elektroforesis.
15	<i>Thermalcycler Real Time</i> PCR Applied Biosystems 7500	Mendeteksi DNA bakteri target.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam penelitian (lanjutan)

No	Alat	Kegunaan
16	Komputer	Membaca hasil.
17	<i>Microwave</i>	Memanaskan gel agarose.
18	Gelas ukur 100 mL	Alat untuk mengukur TAE dalam pembuatan agarose.
19	<i>microdrop plate</i>	Untuk meletakkan sampel pada saat pengukuran kemurnian dan konsentrasi DNA.
20	Erlenmeyer 250 mL	Sebagai alat untuk mencampur TAE dan bubuk agarose.
21	Cetakan agarose	Alat untuk mencetak gel agarose.
22	<i>Pellet pastle</i>	Alat untuk menghaluskan sampel.
23	Nanodrop spektrofotometer Multiskan Sky	Alat untuk mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA.
24	<i>Biosafety cabinet</i>	Meja kerja .
25	Sarung tangan, jas lab, sandal lab, masker	Alat untuk menghindari kontaminasi dan melindungi diri.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian

No	Nama bahan	Kegunaan
1	Sampel koloni bakteri	Sampel uji.
2	<i>Fast lysis bufer</i>	Bahan untuk menghancurkan sel inang agar DNA dapat keluar dari sel inang.
3	<i>Nucleus free water</i>	Bahan amplifikasi DNA konvensional PCR.
4	2x Mastermix GoTaq Green	Bahan amplifikasi DNA konvensional PCR.
5	Primer forward <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (5' - GCA GCT GAT CAA AAC GTT GAG T -3')	Bahan amplifikasi DNA konvensional PCR.
6	Primer reverse <i>Vibrio parahaemolyticus</i> (5' - ATT ATC GAT CGT GCC ACT CAC -3')	Bahan amplifikasi DNA konvensional PCR.
7	Primer forward <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Vpir A (5'- TTG GAC TGT CGA ACC AAA CG -3')	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.
8.	Primer reverse <i>Vibrio parahaemolyticus</i> Vpir A (5' – GCA CCC CAT TGG TAT TGA ATG -3')	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam penelitian (lanjutan)

No	Nama Bahan	Kegunaan
9	2x quantinova <i>probe mix</i>	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.
10	<i>Probe Vibrio parahaemolyticus</i> pir A (5' – FAM – AGA CAG CAA ACA TAC ACC TAT CAT CCC GGA – TAMRA – 3')	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.
11	<i>RNAse free water</i>	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.
12	<i>Rox dye</i>	Bahan amplifikasi DNA <i>Real time</i> PCR.
13	Bubuk agarose	Bahan pembuatan gel agarose.
14	Larutan TAE 50x	Bahan pelarut bubuk agarose.
15	Aquabides	Bahan yang digunakan untuk mengencerkan TAE.
16	DNA stain	Bahan pewarnaan pada gel agarose.
17	RNAse kil	Bahan untuk sterilisasi.
18	Tisu	Sterilisasi area kerja.
19	Aluminium foil	Menutup erlenmeyer saat memanaskan agarose dalam <i>microwave</i> .
20	Media <i>tryptone soya agar</i> (TSA)	Media isolasi bakteri.
21	Promega marker <i>molecular weight</i> 100 bp	Penanda ukuran molekul DNA.

3.3 Metode Penelitian

Tahapan yang dilakukan pada saat identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen *pirA^{VP}* meliputi 6 tahapan, yaitu pengambilan sampel, isolasi bakteri dan ekstraksi DNA, uji kualitas DNA, identifikasi *Vibrio parahaemolyticus*, identifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen *pirA^{VP}* dan intepretasi hasil. Adapun tahapan yang dilakukan, sebagai berikut :

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa koloni bakteri *Vibrio parahaemolyticus* hasil uji biokimia yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Kabupaten Serang periode 2022 sampai 2023

3.3.2 Isolasi Bakteri dan Ekstraksi DNA Mericon Kit

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil 1 jarum ose biakan murni *Vibrio parahaemolyticus*, lalu biakan tersebut digoreskan pada media *tryptone soya agar* (TSA). Selanjutnya media diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah 24 jam dilakukan ekstraksi DNA dengan tujuan untuk mengeluarkan DNA bakteri dari inti sel. Tahap ini dilakukan dengan melakukan preparasi sampel uji dengan cara memanen bakteri pada media tumbuh dan dimasukkan ke dalam *microtube* 1,5 mL. *Fast lysis bufer* ditambahkan sebanyak 200 μL , lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*. Sampel diinkubasi pada suhu 100°C selama 10 menit. Sampel kemudian didinginkan hingga suhu 15-25°C selama 2 menit. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rcf selama 5 menit. Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 100 μL dan dimasukkan ke dalam *microtube* baru. Selanjutnya sampel disimpan pada *freezer* -20°C.

3.3.3 Uji Kualitas DNA

Uji kuantitatif DNA dilakukan untuk mengukur konsentrasi DNA berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer Nanodrop. Pengukuran kemurnian DNA dilakukan dengan menghitung perbedaan absorbansi panjang gelombang 260 nm dan 280 nm pada spektrofotometer Nanodrop. Tahap ini dilakukan dengan templat DNA dimasukkan sebanyak 2 μL ke dalam *well* pada *plate*. *Plate* yang telah berisi templat DNA dimasukkan ke dalam spektrofotometer Nanodrop dan akan muncul nilai absorbansi yang diperoleh.

3.3.4 Identifikasi *Vibrio parahaemolyticus*

1. Amplifikasi

Amplifikasi merupakan tahapan yang dilakukan untuk memperbanyak DNA target. Tahapan ini diawali dengan pembuatan *mastermix* atau pencampuran reagen, untuk komposisi pembuatan *mastermix* dapat dilihat pada Tabel 3. Pada tahap ini, *nucleus free water* sebanyak 8,5 μL dimasukkan ke dalam *microtube* 0,2 mL. 2x *Mastermix* GoTaq Green sebanyak 12,5 μL dan primer *forward* serta *reverse* *Vibrio parahaemolyticus* masing-masing sebanyak 1 μL ditambahkan ke dalam *microtube*. Template DNA ditambahkan sebanyak 2 μL ke dalam *microtube*. Semua bahan *mastermix* dihomogenkan dan dilakukan amplifikasi dengan *thermocycler*,

adapun pengaturan suhu, waktu dan siklus amplifikasi dapat dilihat pada Tabel 4. Setelah proses amplifikasi selesai dilakukan proses elektroforesis untuk memisahkan molekul target berdasarkan ukuran. Pada tahap ini sampel hasil amplifikasi dimasukkan ke dalam sumuran pada agarose sebanyak 5 μ L dan dialiri medan listrik pada tegangan 100 volt menggunakan gel elektroforesis selama 25 menit.

Tabel 3. Komposisi mastermix identifikasi *V.parahaemolyticus*

No.	Nama Bahan	Vol/reaksi (μ L)	Keterangan
1	<i>Nucleus free water</i>	8,5	
2	2x mastermix GoTaq Green	12,5	
3	Primer <i>forward</i> (5' - GCA GCT GAT CAA AAC GTT GAG T -3')	1	Tarr <i>et al.</i> , 2007 (897 bp)
4	Primer <i>reverse</i> (5' - ATT ATC GAT CGT GCC ACT CAC -3')	1	
5	Template DNA	2	

Tabel 4. Tahapan amplifikasi identifikasi *V.parahaemolyticus*

No.	Tahapan	Suhu ($^{\circ}$ C)	Waktu (detik)	Siklus
1	<i>Pra denaturation</i>	93	900	1
2	<i>Denaturation</i>	92	40	
3	<i>Annealing</i>	57	60	35
4	<i>Extension</i>	72	90	
5	<i>Final extension</i>	72	420	1

2. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan tahapan yang dilakukan untuk memisahkan molekul DNA berdasarkan ukurannya. Sampel dimasukkan sebanyak 5 μ L ke dalam sumuran gel agarose, kemudian diberi tegangan listrik 100 volt selama 25 menit menggunakan alat gel elektroforesis yang telah diisi dengan larutan TAE. Adapun urutan sampel pada sumuran dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Urutan sampel pada sumuran agarose

Well	Sampel
Ke-1	Marker <i>molekular weight</i> 100 bp
Ke- 2	Kontrol negatif
Ke- 3	Kontrol positif
Ke-4 sampai ke-13	Sampel

3.3.5 Identifikasi Gen PirA^{VP} pada *Vibrio parahaemolyticus*

Amplifikasi dilakukan dengan pembuatan *mastermix* atau pencampuran reagen, untuk komposisi pembuatan *mastermix* dapat dilihat pada Tabel 6. Pada tahap ini, 2x *quantinova probe mix* sebanyak 10 μ L dimasukkan ke dalam *microtube* berukuran 0,2 mL. *Probe* sebanyak 1 μ L, primer *forward* dan *reverse Vibrio parahaemolyticus* masing-masing sebanyak 1 μ L, *RNAse free water* sebanyak 4,9 μ L serta *rox dye* sebanyak 0,1 μ L ditambahkan ke dalam *microtube* yang telah berisi 2x *quantinova probe mix*. Semua bahan *mastermix* dihomogenkan dan didistribusikan ke dalam masing-masing tabung *microplate* sebanyak 20 μ L. Selanjutnya templat DNA ditambahkan sebanyak 5 μ L ke masing-masing tabung *microplate* kecuali pada tabung yang berisi *non template control* (NTC) dan dilakukan proses amplifikasi dengan *real time PCR*. Adapun pengaruh suhu, waktu dan siklus amplifikasi dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 6. Komposisi *mastermix* identifikasi gen pirA^{VP}

No.	Nama bahan	Vol/reaksi (μ L)	Keterangan
1	2x <i>quanti probe mix</i>	10	
2	<i>RNAse free water</i>	4,9	
3	<i>Rox dye</i>	0,1	
4	Primer <i>forward</i> pir A (5' - TTG GAC TGT CGA ACC AAA CG -3')	1	
5	Primer <i>reverse</i> pir A (5' - GCA CCC CAT TGG TAT TGA ATG - 3')	1	Han <i>et al</i> (2015) dan WOAH chapter 2.2.1 (2023)
6	<i>Probe</i> pir A (5' - FAM - AGA CAG CAA ACA TAC ACC TAT CAT CCC GGA - TAMRA - 3')	1	
7	Templat DNA	2	

Tabel 7. Tahapan amplifikasi identifikasi gen pirA^{VP}

No.	Tahapan	Suhu ($^{\circ}$ C)	Waktu (detik)	Siklus
1	<i>Reverse transcriptase</i>	50	120	1
2	<i>PCR initial activation</i>	95	600	1
3	Denaturasi	95	15	40
4	<i>Annealing</i> dan <i>extension</i>	60	60	

3.3.6 Interpretasi Hasil

a. Konvensional PCR

Untuk mendapatkan hasil konvensional PCR, maka agarose pada proses elektroforesis discan menggunakan *gel scanner* dan *software D-digit*. Interpretasi hasil dilakukan dengan melihat molekul DNA pada setiap sampel. Apabila pita molekul DNA berukuran 897 bp maka sampel dikatakan positif *Vibrio parahaemolyticus*.

b. Real Time PCR

Pembacaan hasil dilakukan dengan software *500 Fast Real Time PCR Systems V2.0.6*. Interpretasi dilakukan dengan melihat kurva amplifikasi berdasarkan beberapa ketentuan. Ketentuan pertama apabila kurva amplifikasi terlihat naik dan memotong garis *threshold* serta nilai Ct (*cycle threshold*) yang diperoleh lebih kecil dari nilai *cut off* maka sampel dinyatakan positif. Ketentuan kedua apabila kurva terlihat turun atau tidak memotong garis *threshold* serta Ct lebih besar atau sama dengan nilai *cut off* maka sampel dianggap negatif.

3.4 Analisis Hasil

Data hasil pengamatan *Vibrio parahaemolyticus* dengan metode PCR yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis secara deskriptif dengan pendekatan literatur.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebanyak 11 sampel teridentifikasi positif *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pirA^{VP} dengan nilai Ct terendah terdapat pada sampel dengan kode 1509 yaitu sebesar 28,39 dan nilai Ct tertinggi terdapat pada sampel dengan kode 1600 sebesar 37,26.

5.2 Saran

Sehubungan dengan teridentifikasi *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pirA^{VP} , maka

1. Instrasi terkait perlu melakukan kegiatan surveilans secara rutin untuk meminimalisir penyebaran serta dampak negatif yang ditimbulkan oleh bakteri tersebut.
2. Para petambak udang dapat melakukan upaya pencegahan penularan *Vibrio parahaemolyticus* pembawa gen pirA^{VP} dengan menerapkan cara budi daya yang baik, menggunakan benur yang bersertifikat *specific pathogen free* (SPF), serta menerapkan penggunaan probiotik, prebiotik dan imunostimulan.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiyana, C., Hadiroseyani, Y., & Diatin, I. 2023. Peran fintech dalam pengembangan usaha budidaya udang vaname. *Jurnal Sains Akuakultur Tropis*, 7(1): 69-78.
- Anissa, R.K., Lisdiana, L., & Widyayanti, A.T. 2024. Optimasi metode *nested* PCR untuk deteksi *Vibrio parahaemolyticus* AHPND pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Lentera Bio*, 13(1): 1-13.
- Aulia, D. 2018. *Budidaya Udang Vaname*. AMAFRAD Press. Jakarta Pusat. 58 hlm.
- Dugassa, H., & Gaetan, D.G. 2018. Biology of white leg shrimp, *Penaeus vannamei*: review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 10(2): 05-17.
- Erlangga, E. 2012. *Budidaya Udang Vaname Secara Intensif*. Pustaka Agromandiri. Tangerang Selatan. 223 hlm.
- Erlangga, J. 2023. *Pertumbuhan Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) (Boone, 1931) yang Dipelihara di Tambak Semi Intensif Salinitas Rendah dengan Aplikasi Suplemen Organik Cair*. (Skripsi). Universitas Lampung.
- Effendi, I., Simanjuntak, .M., & Sahibuddin, M.Q. 2021. *Standar Operasional dan Prosedur (SOP) Budidaya Udang Putih (Litopenaeus vannamei) Kepulauan Seribu*. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan Institut Pertanian Bogor. Bogor. 27 hlm.
- Evan, Y., Indrawati, A., & Pasaribu, F.H. 2021. Pengembangan metode cepat koaglutinasi untuk mendeteksi antigen *Vibrio parahaemolyticus* penyebab penyakit vibriosis pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 16(1): 45-57.

- Fauzi, M., Kristiani, M.G.E., Hapsari, F., & Putra, A. 2023. Hasil produksi dan analisis usaha pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT Sumber Alam Segara, Kecamatan Belinyu, Kabupaten Bangka. *Fisheries of Wallacea Journal*, 4(1): 10-18.
- Han, J.E., Tang, K.F.J., Pantoja, C.R., White, B.L., & Lightener, D.V. 2015. qPCR assay for detecting and quantifying a virulence plasmid in acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) due to pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture*, 442: 12-15.
- Hasanah, N., Sudaryatma, P.E., Razaq, I., Erinawati, N.N., Nugraha, W.A., Kumalasari, H., Anggraeni, N.P.A.S., & Dewi, I.A.M.M. 2022. Deteksi dini kontaminasi *Vibrio parahaemolyticus* dan *Escherichia coli* pada produk perikanan dengan multiplex polymerase chain reaction. *Jurnal Sain Veteriner*, 40(2): 171-182.
- Hasrimi, A.N., Budiharjo, A., & Jannah, S.N. 2017. Deteksi gen TLH dan TDH pada bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari air tambak udang vanname (*Litopenaeus vannamei*) di Kabupaten Rembang. *Jurnal Biologi*, 6(3): 85-95.
- Hikmatyar, M.F., Royani, J.I., & Dasumiati. 2015. Isolasi dan amplifikasi DNA keladi tikus (*Thyponium flagelliform*) untuk identifikasi keragaman genetik. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 2(2): 42-48.
- Hong, X., Lu, L., & Xu, D. 2016. Progres in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquacult Int*, 24(2): 577-593.
- Idami, Z., & Nasution, R.A. 2020. Kelimpahan koloni bakteri *Vibrio* sp. berdasarkan lokasi budidaya tambak udang di Kabupaten Pidie. *Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 5(2): 121-134.
- Ilmiah., Husma, A., Hamdillah, A., & Ma'ruf. 2022. Pemeriksaan penyakit dan indentifikasi parasit pada udang windu (*Penaes monodon*) di tambak tradisional Kabupaten Pangkep. *Journal of Indonesian Tropical Fisheries*, 5(1): 89-98.
- Iqbal, M., Buwono, I.D., & Kurniawati, N. 2016. Analisis perbandingan metode isolasi DNA untuk deteksi white spot syndrome virus (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*, VII(1): 54-65.
- Irianingrum, N., Parlinggoman, B.R., & Herjayanto, M. 2023. Teknik produksi naupli udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di PT. Tri Karta Pratama, Carita, Pandeglang, Banten. *Jurnal Agrokompleks Tolis*, 3(3): 144-152.

- Khusnah, A., Satyantini, W.H., & Amin, M. 2023. Studi perbandingan histopatologi udang vaname yang terinfeksi *Vibrio parahaemolyticus* dari tiga tambak berbeda. *Jurnal Grouper*, 14(2): 144-151.
- Kumar, V., Bels, L.D., Couck, L., Baruah, K., Bossier, P., & Van de Broeck, W. 2019. PirAB^{VP} toxins binds to epithelial cells of the digestive tract and produce pathognomonic AHPND lesions in germ-free brine shrimp. *Toxin*, 11(117): 1-14
- Kumar, V., Roy, S., Behera, B.K., Bossier, P., & Das, B.K. 2021. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. *Toxin*, 13(8): 1-28.
- Kurniawati, M.D., Sumaryam., & Hayati, N. 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.
- Li, B., Yu, M., Xu, W., Chen, L., & Han, J. 2023. Comparison of PCR techniques in adulteration identification of dairy products. *Journal Agriculture*, 13(7): 1-12.
- Lightner, D.V., & Redman, R.M. 1998. Shrimp disease and current diagnostic methods. *Aquaculture*, 164(1): 201-220.
- Mahulauw, F.R., Lamadi, A., & Mulis. 2022. Patogenitas bakteri *Vibrio* sp. pada udang vannamei di Kabupaten Pohuwato. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 10(1): 31-39.
- Masfirotn, A., Redjeki, E.S., & Luthfiyah, S. 2021. Uji efisiensi penambahan feed supplement dengan dosis berbeda terhadap retensi protein dan kelangsungan hidup udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Pantura*, 4(2): 84-94.
- Ma'sum., & Wahidin. 2020. Sistem pakar diagnosa penyakit udang vaname pada dinas kelautan dan perikanan Provinsi Banten. *Jurnal of Innovation and Future Technology*, 2(1): 29-421.
- Mulya, M.A., Pasaribu, F.H., Afiff, U., & Yuhana, M. 2022. Characterization and molecular detection of pathogenicity and antibiotic resistance genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from Pacific white shrimp. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 21(1): 81-92.
- Nainggolan, R.K.S., Yuhana, M., Sukenda., & Sariati, W.N.E. 2020. Deteksi *Vibrio parahaemolyticus* menggunakan marka gen pirA pada udang vaname

- (*Litopenaeus vannamei*) dengan real time PCR. *Jurnal Riset Akuakultur*, 15(2): 111-119.
- Nugraha, A., Yustiati, A., & Andriani, Y. 2022. Pembesaran udang vannamei pada berbagai system akuakultur : telaah Pustaka. *Journal Unram*, 2(1): 26-36
- Pamki. 2020. *Arti Klinis Nilai Cycle Threshold (Ct) pada Hasil Pemeriksaan Real Time RT-PCR*. Perhimpunan Dokter Spesialis Mikrobiologi Klinik Indonesia. 4 hlm.
- Parenrengi, A., Tonnek, S., & Tenriulo, A. 2013. Analisis rasio RNA/DNA udang windu *Panaeus monodon* hasil seleksi tumbuh cepat. *Jurnal Riset Akuakultur*, 8(1): 1-12.
- Putri, T., Supono., & Putri, B. 2020. Pengaruh jenis pakan buatan dan alami terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup larva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(2): 176-192.
- Rafiqie, M. 2014. Penyakit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak PT Tanjung Bejo, Pajajaran Kabupaten Probolinggo. *Jurnal Ilmu Perikanan*. 5(1): 20-24.
- Riyanti., Supono., & Santoso, L. 2020. Pengaruh pertumbuhan postlarva udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang diberi pakan *Artemia frozen* dan *Artemia* dekapsulasi. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 8(1): 70-83.
- Sa'adah, W., & Milah, K. 2019. Permintaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dikelompok pembudidaya udang AT-Taqwa Paciran Lamongan. *Jurnal Pemikiran Masyarakat Ilmiah Berwawasan Agribisnis*, 5(2): 243-251.
- Saputra, A., Maftuch., Andayani, S., & Yanuhar, U. 2023. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Serang, Banten, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(4): 2365-2372.
- Setyawati, R., & Zubaidah, S. 2021. Optimasi konsentrasi primer dan suhu annealing dalam mendeteksi gen leptin pada sapi peranakan ongole (PO) menggunakan polymerase chain reaction (PCR). *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(1): 36-40.
- Soo, T.C.C., & Bhasu, S. 2022. Biochemical indexes and gut microbiota testing as diagnostic methods for *Panaeus monodon* health and physiological

- changes during AHPND infection with food safety concerns. *Food Science & Nutrition journal*, 10(8): 2.694-2.709.
- Soto-Rodrigue, S.A., Lozano-Olvera, R., Ramos-Clamon Monfort, G., Zenteno, E., Sanches-Salgado, J.L., Vibanco-Perez, N., & Rendon, K.G.A. 2022. New insight into the mechanism of action of pirAB from *Vibrio parahaemolyticus*. *Toxins*, 14(4): 1-18
- Suryana, A., Asih, E.N.N., & Insafitri. 2023. Fenomena infeksi acute hepatopancreatic necrosis disease pada budidaya udang vaname di Kabupaten Bangkalan. *Journal of Marine Research*, 12(2): 212-220.
- Syamsuddin, H.S.A., Bimantara, A., & Susanti, D. 2023. Deteksi acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) pada udang putih (*Litopenaeus vannamei*) dan air tambak dengan metode *nested* PCR. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1: 166-173.
- Tarr, C.L., Patel, J.S., Puhr, N.D., Sowers, E.G., Bopp, C.A., & Strockbine, N.A. 2007. Identification of *Vibrio* isolates by a multiplex PCR assay and *rpoB* sequence determination. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(1): 134-140.
- Wang, H.C., Lin, S.J., Mohapatra, A., Kumar, R., & Wang, H.C. 2020. A review of the functional annotations of important genes in the AHPND-causing pVA1 plasmid. *Microorganisms*, 8(7): 1-14
- Widayat., Agustini, T.W., Suzery, M., Al-Baarri, A.N., Putri, S.R., & Kurdianto. 2019. Real time-polymerase chain reaction (RT-PCR) sebagai alat deteksi DNA babi dalam beberapa produk non-pangan. *Indonesian Journal of Halal*, 2(1): 26-33.
- William, E.H., & William, L.B. 1996. *Parasites of Offshore Big Game Fishes of Puerto Rico and the Western Atlantic*. Departement of Natural and Enviromental Resources and University of Puerto Rico. Puerto Rico. 385 hlm
- WOAH . 2023. *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease*. Aquatic manual chapter 2.2.1. 14 hlm.