

**PREVALENSI INFEKSI *Enterocytozoon hepatopenaei* (TOURTIP, 2005)
PADA TAMBAK UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
DI KABUPATEN LEBAK, PROVINSI BANTEN
PERIODE BULAN SEPTEMBER 2023**

(Skripsi)

Oleh

**Indah Puspita
2014111026**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

PREVALENSI INFEKSI *Enterocytozoon hepatopenaei* (TOURTIP, 2005) PADA TAMBAK UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) DI KABUPATEN LEBAK, PROVINSI BANTEN PERIODE BULAN SEPTEMBER 2023

Oleh

INDAH PUSPITA

Kabupaten Lebak merupakan salah satu sentra budi daya udang di Provinsi Banten. *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) menjadi salah satu patogen yang berbahaya pada budi daya udang yang menyebabkan pertumbuhan lambat dan ukuran yang tidak seragam sehingga dapat merugikan pembudi daya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat prevalensi infeksi EHP pada tambak udang vaname di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten periode bulan September 2023 dengan menggunakan PCR. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksploratif. Tahapan pemeriksaan EHP terdiri dari pengambilan sampel, preparasi, ekstraksi DNA, pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA, amplifikasi, elektroforesis, dan interpretasi hasil. Sampel diambil dari 7 stasiun yang berbeda dengan jumlah sebanyak 97 yang terdiri dari 33 sampel udang, 58 sampel air, dan 6 sampel sedimen. Hasil penelitian pada stasiun 1-4 ditemukan 9 sampel yang terdeteksi EHP, sedangkan pada stasiun 5-7 tidak terdeteksi EHP. Adapun tingkat prevalensi infeksi EHP tertinggi pada stasiun 3 sebesar 26% (sering), stasiun 2 sebesar 10% (sering), stasiun 1 sebesar 7,14% (kadang), stasiun 4 sebesar 6,24 % (kadang), dan tingkat prevalensi stasiun 5-7 sebesar 0% (hampir tidak pernah). Parameter kualitas air yang berupa pH, suhu, dan salinitas pada penelitian ini sangat bervariasi dan kurang optimum untuk budi daya udang vaname.

Kata kunci : Infeksi, PCR, sampel, prevalensi, kualitas air

ABSTRACT

PREVALENCE OF *Enterocytozoon hepatopenaei* (TOURTIP, 2005) IN PASIFIC WHITE SHRIMP POND *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) IN LEBAK DISTRICT, BANTEN PROVINCE IN THE MONTH OF SEPTEMBER 2023

By

INDAH PUSPITA

Lebak Regency is one of the shrimp cultivation centers in Banten Province. *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) is a dangerous pathogen in shrimp farming which causes slow growth and non uniform size which can be detrimental to farmers. The aim of this study was to determine the prevalence level of EHP infection in pasific white shrimp ponds in Lebak Regency, Banten Province during September 2023 using PCR. This research was conducted using an exploratory method. The EHP examination stages consisted of sampling, preparation, DNA extraction, measuring DNA concentration and purity, amplification, electrophoresis, and interpretation of results. Samples were taken from 7 different stations with a total of 97 consisting of 33 shrimp, 58 water, and 6 sediment. The results of this research at stations 1-4 found 9 samples that were detected by EHP, while at stations 5-7 no EHP was detected. The highest prevalence rate of EHP infection was at station 3 at 26% (often), station 2 at 10% (often), station 1 at 7,14% (occasionally), station 4 at 6,24% (occasionally), and the prevalence rate stations 5-7 at 0% (almost never). The water quality parameters in the form of pH, temperature and salinity in this study varied and was less than optimal for pasific white shrimp cultivation.

Keywords: Infection, PCR, samples, prevalence, water quality

**PREVALENSI INFEKSI *Enterocytozoon hepatopenaei* (TOURTIP, 2005)
PADA TAMBAK UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)
DI KABUPATEN LEBAK, PROVINSI BANTEN
PERIODE BULAN SEPTEMBER 2023**

Oleh

Indah Puspita

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Perikanan dan Kelautan
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

: **PREVALENSI INFEKSI *Enterocytozoon hepatopenaei* (TOURTIP, 2005) PADA TAMBAK UDANG VANAME *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) DI KABUPATEN LEBAK, PROVINSI BANTEN PERIODE BULAN SEPTEMBER 2023**

Nama Mahasiswa

: **Indah Puspita**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **2014111026**

Jurusan/Program Studi

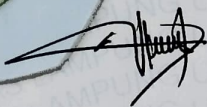
: **Perikanan dan kelautan/Budidaya Perairan**

Fakultas

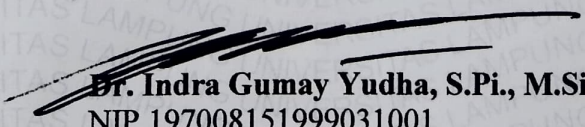
: **Pertanian**




Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.
NIP. 198408052009121003


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

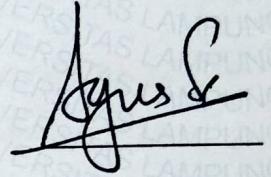
**2. Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan
Universitas Lampung**


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

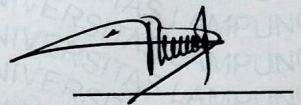
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

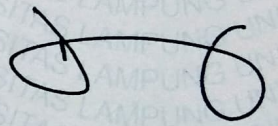
Ketua : **Dr. Agus Setyawan, S.Pi., M.P.**



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



Penguji
Bukan Pembimbing : **Deny Sapto Chondro Utomo, S.Pi., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.

0641181989021002

Tanggal lulus ujian skripsi : 07 Juni 2024

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik sarjana baik di Universitas Lampung maupun perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan naskah, dengan naskah disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Bandar Lampung, 15 Juli 2024
Yang membuat pernyataan,



Indah Puspita
NPM. 2014111026

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Indah Puspita dilahirkan di Sumber Jaya, Kabupaten Lampung Barat pada tanggal 13 Februari 2002. Penulis merupakan anak dari pasangan ayah yang bernama Abdul Majid dan ibu bernama Emalolita, sebagai anak kelima dari lima bersaudara. Penulis mengawali pendidikan dasar di SDN Sabuk Empat pada tahun 2008-2014. Penulis melanjutkan pendidikan di SMP 1 Abung Barat dan lulus tahun 2017. Setelah itu penulis melanjutkan pendidikan di MAN 1 Lampung Utara mengambil jurusan MIPA dan lulus pada tahun 2020. Penulis melanjutkan studi di Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN tahun 2020.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi tingkat jurusan, yaitu Himpunan Mahasiswa Perikanan dan Kelautan (Himapik), sebagai anggota Bidang Pengembangan Minat dan Bakat pada tahun 2022-2023. Penulis pernah mengikuti kegiatan magang di Balai Budi daya Air Tawar Natar, Dinas Perikanan Kabupaten Lampung Selatan pada tahun 2022. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Bandar Agung, Kecamatan Bandar Negeri Suoh, Kabupaten Lampung Barat selama 40 hari. 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 dengan judul penelitian “Prevalensi Infeksi *Enterocytozoon hepatopenaei* (Tourtip, 2005) pada Tambak Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten Periode Bulan September 2023”.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah dengan penuh rasa syukur berkat rahmat dan hidayat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan, kemudahan, dan kenikmatan akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Kupersembahkan skripsi ini kepada:

Kedua orang tuaku, yang telah memberikan doa, dukungan, nasihat, dan pengorbanan demi tercapainya cita-citaku, terima kasih atas semua cinta dan kasih sayang yang telah papa dan mama berikan kepadaku.

Kakakku, Julio, Andri, Feldi, dan Nadya, serta keluarga besar yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk kesuksesanku.

Teman-teman angkatan 2020 dan keluarga besar Perikanan dan Kelautan,
Universitas Lampung

Almamater kebanggaan, Universitas Lampung

MOTO

“Barang siapa yang melakukan kebaikan sekecil apapun, niscaya dia akan melihat
(balasan) nya.”

(Q.S Az-Zalzalah : 7)

“Bekerja untuk akhiratmu seolah-olah kamu akan mati esok hari, dan bekerjalah
untuk kehidupanmu seolah-olah kamu akan hidup selamanya.”

(Ali bin Abi Thalib)

“Ketika engkau bersedekah, engkau bukan sedang menghabiskan uang, tetapi
engkau sedang mentransfernya untuk dirimu sendiri di waktu yang akan datang.”

(Dr. Muhammad Abdullah al-Wuhaibi)

“Jangan takut mengambil risiko karena kegagalan terbesar adalah tidak mencoba.
Begitu kamu menemukan sesuatu yang kamu sukai, jadilah yang terbaik dalam
melakukannya.”

(Debbi Fields)

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Skripsi yang berjudul “Prevalensi Infeksi *Enterocytozoon hepatopenaei* (Tourtip, 2005) pada Tambak Udang Vaname *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten Periode Bulan September 2023” sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Perikanan pada Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
2. Dr. Indra Gumay Yudha, S.Pi., M.Si. selaku Ketua Jurusan Perikanan dan Kelautan, Universitas Lampung.
3. Dr. Munti Sarida, S.Pi., M.Sc. selaku Ketua Program Studi Budidaya Perairan, Universitas Lampung.
4. Dr. Agus Setyawan S.Pi., M.P. selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, dukungan, saran, dan kritik kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
5. Indriasih, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah memberikan dukungan, bimbingan, saran dan kritik yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi ini.
6. Deny Sapto Chondro Utomo, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan kritik kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.

7. Yeni Elisdiana, S.Pi., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan, dan motivasi kepada penulis dalam menjalani studi di Program Studi Budidaya Perairan.
8. Seluruh dosen dan staf administrasi Jurusan Perikanan dan Kelautan atas ilmu dan bimbingan yang telah diberikan.
9. drh. Toha Tusihadi, selaku Kepala Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan (BPKIL) Serang yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan riset di BPKIL Serang.
10. Wiwin Wiyani A.Pi. selaku analis di Laboratorium Biologi Molekuler yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama penulis melaksanakan riset.
11. Seluruh pegawai BPKIL Serang atas kesempatan dan pengalaman bekerja yang diberikan selama kegiatan penelitian.
12. Kedua orang tua, Papa Abdul Majid dan Mama Emalolita, yang senantiasa mendoakan, memberikan semangat, motivasi, pengorbanan, nasihat serta kasih sayang yang tidak pernah henti hingga saat ini.
13. Kakak Julio, Andri, Feldi, cak Nadya, ayuk Fika, ayuk Nia, dan ayuk Rini yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan, serta semangat yang sangat luar biasa.
14. Kak Nisa selaku rekan yang membantu kegiatan di Laboratorium Biologi Molekuler.
15. Rekan seperjuangan, Adelia, Dea, Hani, Mei, Siti, dan Zakia yang selalu memberikan semangat dan kesan yang terbaik untuk penulis.
16. Semua teman-teman satu angkatan Budidaya Perairan 2020.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis menyadari masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar skripsi ini dapat lebih baik lagi. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca.

Bandar Lampung, 15 Juli 2024
Penulis

Indah Puspita

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
1.4 Kerangka Pikiran	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Biologi Udang Vaname	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Habitat dan Kebiasaan Hidup	7
2.2 Penyakit	8
2.3 <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i> (EHP).....	9
2.3.1 Klasifikasi	9
2.3.2 Dampak	9
2.3.3 Siklus Hidup.....	11
2.4 Monitoring dan Surveilans.....	12
2.5 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	13
2.5.1 Tahapan Proses Amplifikasi PCR.....	12
2.5.2 Elektroforesis	14

2.6	Parameter Kualitas Air.....	15
2.6.1	Derajat Keasaman (pH).....	15
2.6.2	Suhu	16
2.6.3	Salinitas.....	16
III.	METODE PENELITIAN	17
3.1	Waktu dan Tempat	17
3.2	Alat dan Bahan.....	17
3.3	Metode Penelitian	19
3.3.1	Pengambilan Sampel.....	19
3.3.2	Preparasi Sampel.....	21
3.3.3	Ekstraksi DNA.....	21
3.3.4	Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA.....	22
3.3.5	Amplifikasi DNA	22
3.3.6	Pembuatan Gel Agarose.....	23
3.3.7	Elektroforesis	24
3.3.8	Gel Scanner.....	25
3.4	Tingkat Prevelensi	25
3.5	Kualitas Air.....	26
3.6	Analisis Data.....	26
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1	Hasil	27
4.1.1	Gambaran Umum Lokasi Pengambilan Sampel	27
4.1.2	Pengujian Konsentrasi dan Kemurnian Genom DNA	31
4.1.3	Hasil Deteksi EHP dengan Metode PCR	32
4.1.4	Keberadaan EHP di Kabupaten Lebak.....	35
4.1.5	Tingkat Prevalensi.....	35
4.1.6	Persebaran Wilayah yang Terdeteksi EHP	36
4.1.7	Gejala Klinis Infeksi EHP	37
4.1.8	Analisis Kualitas Air.....	37
4.2	Pembahasan	38

V.	SIMPULAN DAN SARAN	44
5.1	Simpulan	44
5.2	Saran	44
	DAFTAR PUSTAKA	45
	LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian	17
2. Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian	18
3. Titik kordinat lokasi dan jumlah pengambilan sampel	20
4. Sekuens nukleotida primer untuk amplifikasi EHP	22
5. Mastermix PCR EHP	23
6. Profil amplifikasi PCR EHP	23
7. Sumuran elektroforesis	24
8. Kriteria prevalensi.....	25
9. Hasil pengujian konsentrasi dan kemurnian DNA.....	32
10. Data persentase sampel terdeteksi EHP di Kabupaten Lebak.....	35
11. Tingkat prevalensi EHP di Kabupaten Lebak.....	36
12. Kisaran parameter kualitas air penelitian.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka pemikiran.....	5
2. Morfologi udang vaname	7
3. Habitat dan siklus hidup udang vaname	8
4. Siklus <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i>	11
5. Untai DNA mengalami denaturasi	13
6. Proses penempelan primer (<i>annealing</i>).....	13
7. Pemanjangan DNA (<i>extention</i>)	14
8. Hasil visualisasi pita DNA dengan gel <i>scanner</i>	15
9. Peta lokasi pengambilan sampel	20
10. Kolam stasiun 1.....	28
11. Kolam stasiun 2.....	28
12. Kolam stasiun 3.....	29
13. Kolam stasiun 4.....	29
14. Kolam stasiun 5.....	30
15. Kolam stasiun 6.....	31
16. Kolam stasiun 7.....	31
17. Hasil deteksi EHP menggunakan PCR stasiun 1-3.....	33
18. Hasil deteksi EHP menggunakan PCR stasiun 4-7	34
19. Peta persebaran EHP di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten.....	36
20. Udang yang terinfeksi EHP	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA.....	54
2. Interpretasi hasil uji infeksi EHP menggunakan PCR	56
3. Data kualitas air pada tambak udang di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten	60

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kabupaten Lebak merupakan salah satu kabupaten di Provinsi Banten yang berbatasan dengan Kabupaten Serang dan Kabupaten Tangerang. Luas wilayah Kabupaten Lebak secara administratif tercatat 3.312,18 km² (BPS Banten, 2022). Kabupaten Lebak menjadi kabupaten terluas di Provinsi Banten dan juga terluas kelima di Pulau Jawa. Menurut Dinas Perikanan Kabupaten Lebak (2021), luas potensi tambak di Kabupaten Lebak mencapai 301 hektar dengan luas lahan tambak yang baru dimanfaatkan seluas 69 hektar. Dengan wilayah yang luas, kawasan pesisir Lebak menjadi salah satu kawasan budi daya perikanan yang menjanjikan. Kabupaten Lebak juga memiliki potensi besar untuk peningkatan ekonomi di sektor perikanan khususnya budi daya udang vaname.

Udang vaname merupakan salah satu komoditas ekspor perikanan andalan Indonesia yang memiliki nilai jual tinggi. Menurut data Kementerian Kelautan dan Perikanan (2022), komoditas udang berkontribusi besar dalam perolehan devisa negara dengan total nilai ekspor sebesar USD 504,63 juta atau 30,96 % terhadap nilai ekspor total. Dengan nilai produksi udang mencapai 1.099.976 ton dan mengalami kenaikan sebanyak 15,19 % dibandingkan dengan tahun 2021. Pada tahun 2021 Banten menempati urutan ke-14 produksi udang di Indonesia dengan nilai produksi mencapai 15.596 ton (BPS, 2021).

Seiring dengan meningkatnya produksi budi daya udang, maka kegiatan budi daya komoditas ini tidak terlepas dari berbagai masalah, terutama yang disebabkan oleh

infeksi penyakit. Penyakit merupakan salah satu kendala bagi pembudi daya dan menjadi faktor pembatas bagi pengembangan budi daya udang (Selvin *et al.*, 2015). Menurut Rafiqie (2014), secara umum penyakit pada udang vaname dapat disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, protozoa dan jamur. Infeksi jamur menjadi salah satu penyebab penyakit yang ditemukan pada budi daya udang vaname terutama jenis *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP).

EHP merupakan penyakit yang teridentifikasi pada tahun 2009 di Thailand dan saat ini telah menyebar ke beberapa negara termasuk, Indonesia, China, Taiwan, Myanmar, Meksiko, Beliza, dan Venezuela (Tang *et al.*, 2017). EHP termasuk mikrosporidia intraseluler yang menyerang sel epitel tubulus hepatopankreas. Infeksi EHP ini dapat ditularkan secara *horizontal* atau dapat terinfeksi langsung dari udang melalui kanibalisme dan melalui air yang terkontaminasi (Salachan *et al.*, 2016). EHP termasuk salah satu penyakit *emerging disease* pada krustasea yang sangat merugikan pembudi daya (WAOH, 2024). Gejala klinis udang yang terinfeksi EHP dapat dilihat dengan berkurangnya nafsu makan pada udang, cangkang yang lunak, usus tengah kosong dan ukuran udang yang tidak seragam (Caro *et al.*, 2021). Infeksi EHP tidak menyebabkan kematian massal, namun menghambat pertumbuhan udang secara signifikan. Infeksi EHP menyebabkan nafsu makan udang menurun karena hepatopankreas udang yang terganggu akibat infeksi EHP sehingga menyebabkan pertumbuhan udang menjadi lambat dan meningkatkan biaya produksi dan mengakibatkan kerugian ekonomi pada budi daya udang (Kumar *et al.*, 2022). Menurut Patil *et al.* (2021), pertumbuhan udang yang lambat akibat infeksi EHP sangat merugikan pembudi daya dimana infeksi EHP di India sebesar 0,77 juta ton dengan kerugian mencapai US\$ 567,62 juta.

Hasil surveilans pada tahun 2023 di Bali menunjukkan bahwa infeksi EHP telah terdeteksi di tiga kabupaten, yaitu Kabupaten Karangasem, Kabupaten Jembrana, dan Kabupaten Buleleng dengan tingkat prevalensi berkisar 66,67-86,67% (Aras *et al.*, 2023). Selain infeksi EHP sudah banyak penelitian mengenai prevalensi penyakit udang, salah satunya penelitian yang dilakukan Zaujat *et al.* (2016) menyebutkan bahwa myonecrosis sudah meluas ke daerah Banten yaitu Kabupaten

Tangerang dengan prevalensi 14,3% dan Kabupaten Pandeglang dengan prevalensi 100%. Tingginya nilai prevalensi tersebut menunjukkan bahwa kejadian infeksi semakin banyak terjadi sehingga diperlukan usaha pencegahan, salah satunya dengan deteksi dini. Deteksi dini infeksi penyakit dapat meminimalisir penyebaran infeksi penyakit di lingkungan budi daya karena dengan deteksi dini dapat mengetahui infeksi penyakit sebelum penyakit semakin tinggi dan meluas sehingga dapat melakukan pencegahan sebelum infeksi semakin tinggi. Deteksi dini infeksi EHP dapat dilakukan dengan uji *polymerase chain reaction* (PCR), *hibridisasi in situ*, *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), dan pengujian histopatologi. Pada penelitian ini deteksi dini dilakukan dengan teknik PCR karena tingkat sensitivitas dan spesivitas tinggi untuk mendeteksi mikroorganisme patogen sehingga pemeriksaan penyakit akan jauh lebih cepat serta dilakukannya monitoring dan pemantauan rutin (*surveilans*) untuk mendapatkan informasi status penyakit pada kawasan budi daya. Hasil monitoring dan *surveilans* selanjutnya dianalisis dan disajikan menjadi informasi penyakit ikan, kemudian data digunakan untuk mengambil tindakan dan pencegahan penyakit sehingga pemerintah dan para pelaku pembudi daya dapat meminimalisir penyebaran penyakit di lingkungan budi daya. Salah satu contoh tindakan pencegahan penyakit pada kegiatan budi daya dengan menggunakan benur yang bersertifikat *specific pathogen free* (SPF) dan penerapan biosekuriti yang baik pada lingkungan budi daya. Dengan demikian, diperlukan kajian lebih lanjut dalam deteksi dini infeksi EHP dengan metode PCR pada tambak udang di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten untuk mendiagnosis serangan infeksi EHP.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari tingkat prevalensi infeksi penyakit *Enterocytozoon hepatopenaei* pada tambak udang vaname di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten pada periode September 2023.

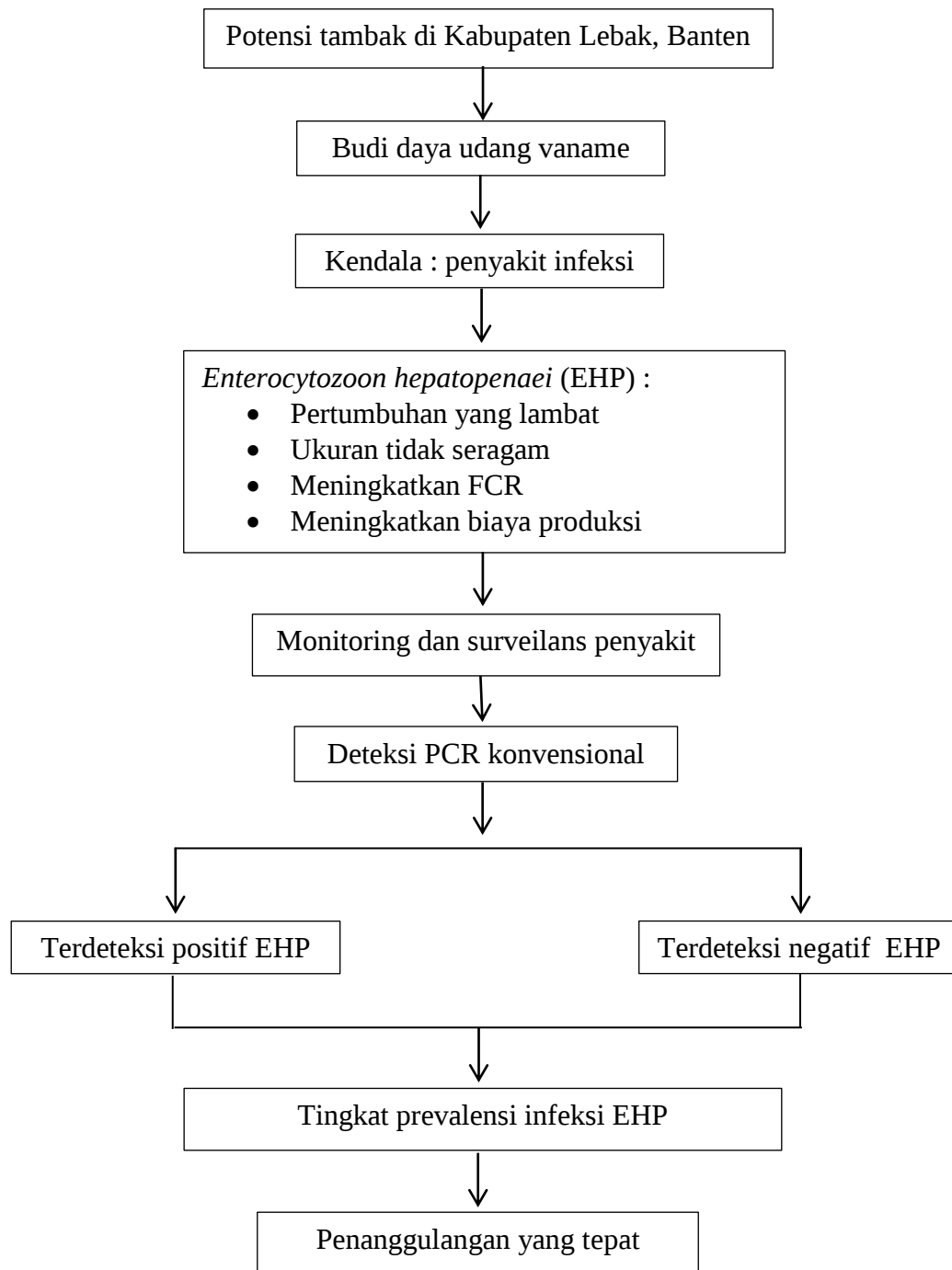
1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai infeksi *Enterocytozoon hepatopenaei* terhadap udang vaname di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten sehingga pembudi daya mengetahui risiko dan mampu meminimalisir penyebaran infeksi penyakit saat budi daya berlangsung.

1.4 Kerangka Pikiran

Kabupaten Lebak merupakan salah satu kabupaten di Provinsi Banten yang memiliki wilayah yang luas. Menurut Dinas Perikanan Kabupaten Lebak (2021), luas potensi tambak di Kabupaten Lebak mencapai 301 hektar dengan luas lahan tambak yang baru dimanfaatkan seluas 69 hektar. Kabupaten Lebak memiliki potensi besar untuk peningkatan ekonomi di sektor perikanan, khususnya budi daya udang vaname. Udang vaname merupakan salah satu komoditas ekspor perikanan andalan Indonesia yang bernilai jual tinggi. Udang vaname ini banyak dibudidayakan di beberapa negara, khususnya di wilayah Asia Tenggara. Dalam kegiatan budi daya komoditas ini tidak terlepas dari berbagai masalah terutama yang disebabkan oleh adanya infeksi penyakit.

Secara umum penyakit udang vaname dapat disebabkan oleh infeksi virus, bakteri, protozoa, dan jamur (Rafiqie, 2014). Permasalahan utama yang sering ditemukan dalam kegagalan budi daya udang vaname di antaranya karena adanya serangan jamur, salah satunya EHP yang dapat mengakibatkan pertumbuhan lambat dan ukuran yang tidak seragam selama budi daya berlangsung (Rajendran *et al.*, 2016). Untuk mengantisipasi penyebaran infeksi EHP dan mengurangi resiko kegagalan produksi diperlukan usaha pencegahan yaitu deteksi dini EHP melalui teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang memberikan tingkat sensitivitas dan spesivitas tinggi untuk mendeteksi mikroorganisme patogen (Lightner *et al.*, 2010). Berdasarkan hal tersebut, kerangka pikiran penelitian ini disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biologi Udang Vaname

2.1.1 Klasifikasi

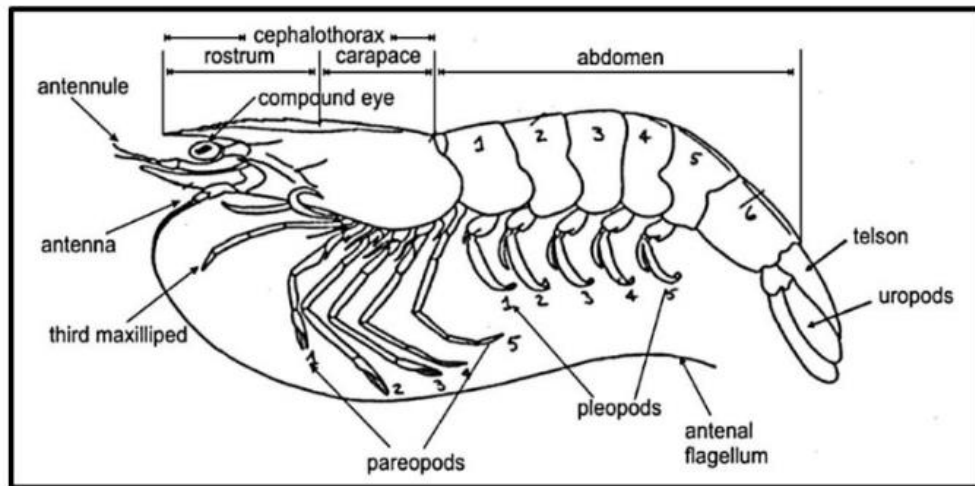
Udang vaname merupakan salah satu komoditas yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Klasifikasi udang vaname menurut Yang *et al.* (2022), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Malacostraca
Ordo	: Decapoda
Famili	: Penaeidae
Genus	: <i>Penaeus</i>
Spesies	: <i>Penaeus vannamei</i>

2.1.2 Morfologi

Tubuh udang vaname berwarna putih transparan (*white shrimp*). Panjang tubuh Udang vaname dapat mencapai 23 cm. Tubuh udang vaname secara umum terdiri dari dua bagian, yaitu kepala dan badan. Bagian kepala yang terhubung dengan bagian dada disebut *cephalothorax*. Bagian *cephalothorax* terlindung oleh kulit kitin yang disebut karapas dengan bagian depan berbentuk meruncing. *Cephalo-*
torax udang berjumlah 13 ruas, dimana 5 ruas terletak pada bagian kepala dan 8 ruas di bagian dada. Bagian badan (abdomen) terdiri dari 6 ruas, dan tiap-tiap ruas

(segmen) memiliki sepasang anggota badan (kaki renang) yang beruas-ruas. Pada bagian ujung ruas keenam terdapat 4 lembar ekor kipas dan satu telson yang meruncing (Rusmiyati, 2019). Morfologi udang vaname dapat dilihat pada Gambar 2.



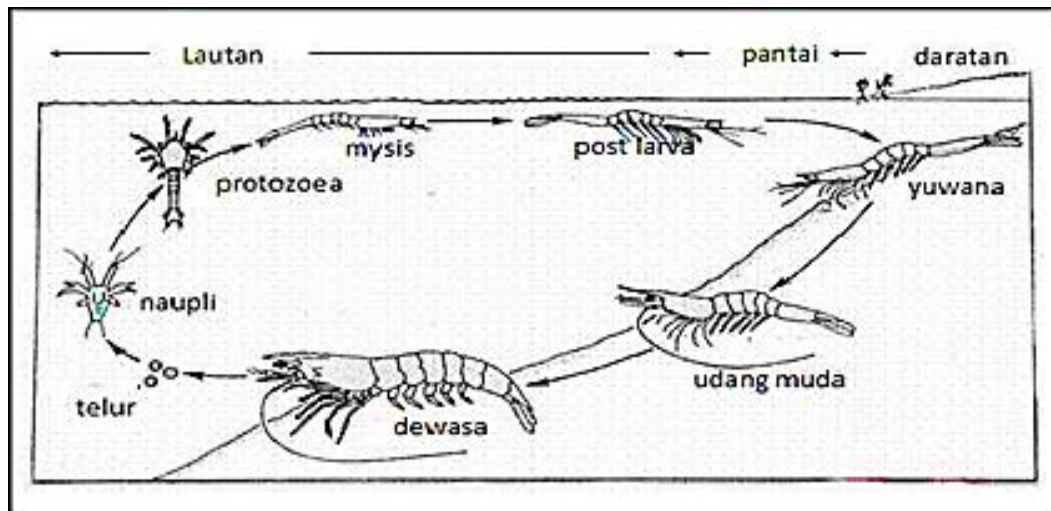
Gambar 2. Morfologi udang vaname
Sumber : Warsito *et al.* (2012)

Udang vaname memiliki tubuh yang berbuku-buku dan memiliki aktivitas pergantian kulit udang (*moulting*) pada bagian luar (*eksoskeleton*) secara periodik. Saat terjadinya *moulting*, cangkang udang akan terlepas dari tubuh. Udang vaname juga memiliki ciri khusus yaitu terdapat pigmen karotenoid pada kulit udang. Kadar pigmen ini akan terus berkurang seiring dengan pertumbuhan udang tersebut. Saat mengalami *moulting* sebagian besar pigmen pada kulit ikut terbuang, dimana keberadaan pigmen memberikan warna putih kemerahan pada tubuh udang (Haliman & Adijaya, 2005).

2.1.3 Habitat dan Kebiasaan Hidup

Udang vaname adalah jenis udang laut yang habitat aslinya di daerah dasar dengan kedalaman 72 m. Pada habitat aslinya udang yang matang gonad akan kawin dan bertelur pada perairan lepas pantai pada suhu 26-28°C dan salinitas sekitar 32 ppt. Udang vaname bersifat nokturnal, yaitu aktif mencari makan pada malam hari. Habitat udang vaname berbeda-beda tergantung dari jenis dan persyaratan hidup dari

tingkatan-tingkatan dalam daur hidupnya. Umumnya udang vaname bersifat bentis dan hidup pada permukaan dasar laut. Habitat yang disukai oleh udang vaname adalah dasar laut yang biasanya campuran lumpur dan pasir (Haliman & Adijaya, 2005). Sifat hidup dari udang vaname adalah katadromus atau dua lingkungan, di mana udang dewasa akan memijah di laut terbuka. Setelah menetas, larva udang akan bermigrasi ke daerah pesisir pantai atau mangrove yang biasa disebut daerah estuari dan setelah dewasa akan bermigrasi kembali ke laut untuk melakukan kegiatan pemijahan seperti pematangan gonad dan perkawinan (Wyban & Sweeney, 1991). Habitat dan siklus hidup udang vaname dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Habitat dan siklus hidup udang vaname
Sumber : Haliman & Adijaya (2005)

2.2 Penyakit

Penyakit merupakan perubahan fisik yang mengakibatkan gangguan fungsi atau struktur alat tubuh baik secara langsung maupun tidak langsung yang disebabkan oleh organisme lain, kondisi lingkungan, atau campur tangan manusia (Deliza, 2017). Penyakit menjadi salah satu faktor penting yang dapat menyebabkan kegagalan usaha budi daya perikanan. Secara umum penyakit udang dapat disebabkan oleh dua faktor, yaitu penyakit infeksi dan noninfeksi. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh virus, bakteri, protozoa, dan jamur. Adapun penyakit noninfeksi disebabkan karena stres, lingkungan, intoksikasi, dan difisiensi. Penyakit noninfeksi relatif mudah diamati melalui perubahan fisiologi dan tingkah laku inang,

sedangkan penyakit infeksi relatif sulit untuk diamati (Tompo & Kurniawan, 2012). Salah satu penyakit infeksi pada budi daya udang vanamei yang disebabkan oleh jamur, yaitu *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP).

2.3 *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP)

2.3.1 Klasifikasi

Enterocytozoon hepatopenaei merupakan infeksi jamur pada udang windu dan udang vaname yang dapat merugikan pembudi daya. Klasifikasi EHP menurut Tourtip *et al.* (2009) adalah sebagai berikut :

Filum	: Microspora
Class	: Microsporea
Ordo	: Microsporida
Famil	: Enterocytozoonidae
Genus	: <i>Enterocytozoon</i>
Spesies	: <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i>

2.3.2 Dampak

Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) merupakan penyakit yang pertama kali ditemukan pada tahun 2004 yang menyerang udang windu. Kemudian pada 2009, EHP secara resmi teridentifikasi dari *post larva* udang windu di Thailand. Saat ini EHP telah menyebar di berbagai negara, seperti Vietnam, India, Tiongkok, Indonesia, Malaysia, Venezuela dan terus menyebar ke negara-negara lain dimana budi daya udang dilakukan (Tourtip *et al.*, 2009). EHP dianggap sebagai salah satu ancaman utama terhadap budi daya udang dan menjadi salah satu kendala besar pada pembudi daya udang di seluruh Asia (Kooloth *et al.*, 2021).

EHP merupakan infeksi yang disebabkan oleh jamur yang menyerang udang windu dan udang vaname (Han & Weiss, 2017). EHP termasuk penyakit mikrosporidia pada udang yang dihubungkan dengan penyakit yang dikenal sebagai sindrom pertumbuhan lambat (*retarded growth syndrome*) (Tourtip *et al.*, 2009). Mikrosporidian

adalah parasit intraseluler obligat yang menginfeksi berbagai inang eukariotik. Perkembangan parasit umumnya terjadi di dalam sitoplasma sel inang melalui proliferasi inti dan pembentukan spora (sporogoni) (Lom & Dykova, 2002). Menurut Tourtip *et al.* (2009), EHP memiliki ciri, yaitu berbentuk oval, ukuran spora 0,7–1,1 μm , mengandung 1 inti, terdapat 5–6 polar filamen, vacuola letaknya posterior, terdapat dinding sel, dan menyerang hepatopankreas pada udang.

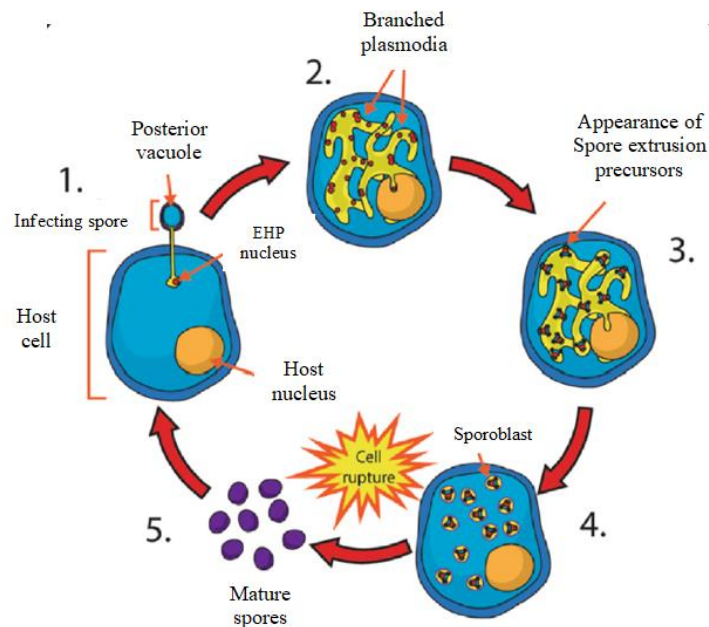
Infeksi EHP menyebabkan kerusakan hepatopankreas udang yang dapat memengaruhi proses sekresi, pencernaan, penyerapan, dan penyimpanan makanan. Dampak infeksi EHP dapat memengaruhi sistem kekebalan tubuh udang dimana jika kekebalan tubuh udang menurun maka nafsu makan udang akan menurun sehingga sistem kekebalan tubuh udang akan melemah dan menyebabkan udang mudah terserang penyakit. Selain itu, nafsu makan udang yang menurun dapat menyebabkan berkurangnya konsumsi pakan, peningkatan FCR, dan dapat menyebabkan pertumbuhan yang lambat dan ukuran udang yang tidak seragam pada udang (Mercier *et al.*, 2006). Infeksi EHP ini dapat ditularkan secara horizontal atau dapat terinfeksi langsung dari udang melalui kanibalisme dan melalui air yang terkontaminasi (Salachan *et al.*, 2016). Infeksi EHP tidak menyebabkan kematian masal, namun menghambat pertumbuhan udang secara signifikan sehingga meningkatkan biaya produksi dan mengakibatkan kerugian ekonomi pada budi daya udang (Kumar *et al.*, 2022). Menurut Shinn *et al.* (2018), kerugian akibat infeksi EHP pada tambak di Thailand mencapai US\$ 76,4. Kerugian produksi akibat infeksi EHP di tambak udang India sebesar 0,77 juta ton dengan kerugian mencapai US\$ 567,62 juta (Patil *et al.*, 2021).

Berdasarkan Kepmen-KP Nomor 17/KEPMEN KP/2021, EHP merupakan penyakit infeksi yang termasuk ke dalam hama dan penyakit ikan karantina (HPIK) golongan I, sehingga perlu dilakukan pengawasan intensif secara rutin untuk meminimalisir sebaran penyakit infeksi tersebut (KKP, 2021). Saat ini belum ada pengobatan yang efektif untuk mengatasi infeksi EHP. Penyakit udang yang disebabkan oleh EHP hanya bisa diantisipasi dengan tindakan pencegahan meliputi penggunaan benur yang bersertifikat SPF, manajemen budi daya yang baik, dan penerapan biosekuriti yang baik pada lingkungan budi daya serta deteksi dini dan pemantauan

rutin (surveilans) untuk meminimalisir penyebaran infeksi penyakit saat budi daya berlangsung (Hamzah *et al.*, 2021).

2.3.3 Siklus Hidup

Seperti semua mikrosporidia, EHP mempunyai fase spora ekstraseluler, infeksi, dan fase spora intraseluler (Han & Weiss, 2017). Hampir semua mikrosporidian, infeksi sel inang terjadi ketika spora mengeluarkan tabung polarnya. Kemudian tabung polar menusuk membran plasma sel inang target untuk mengirim spora (sporoplasma) langsung ke sitoplasma sel inang. Sporoplasma akan matang ketika pertumbuhan dan pembelahan inti sel. Pada mikrosporidia kelompok *enterocytozoon*, sporogoni akan membentuk prekursor ekstrusi spora di plasmodium. Plasmodium kemudian membelah menjadi sporoblas dan kemudian menjadi spora matang. Sel epitel hepatopankreas yang terinfeksi akan membengkak dan pecah yang dapat mengakibatkan terjadinya autoinfeksi spora pada sel hepatopankreas udang lainnya (Tourtip *et al.*, 2009). Siklus hidup *Enterocytozoon hepatopenaei* dapat dili-hat pada Gambar 4.



Gambar 4. Siklus *Enterocytozoon hepatopenaei*
Sumber: Chaijarasphong (2020)

2.4 Monitoring dan Surveilans

Salah satu cara yang dilakukan untuk pemantauan penyebaran penyakit pada lingkungan budi daya adalah dengan melakukan monitoring dan surveilans hama dan penyakit ikan secara rutin (DKP Jateng, 2020). Monitoring dan surveilans merupakan kegiatan pengendalian penyakit hewan yang berkelanjutan dengan mendeteksi faktor risiko untuk menurunkan prevalensi penyakit serta pemantauan status kesehatan ikan. Prevalensi merupakan tingkat persentase inang yang terinfeksi penyakit tertentu dengan cara membandingkan seluruh sampel yang diperiksa dalam populasi (Yuliartati, 2011). Dengan melakukan monitoring dan surveilans penyakit maka dapat mengetahui penyebaran penyakit pada kegiatan budi daya sehingga pemerintah dan para pelaku budi daya dapat melakukan usaha pencegahan dan penanggulangan penyakit secara efektif dan efisien (PPSDMK, 2018).

2.5 Polymerase Chain Reaction (PCR)

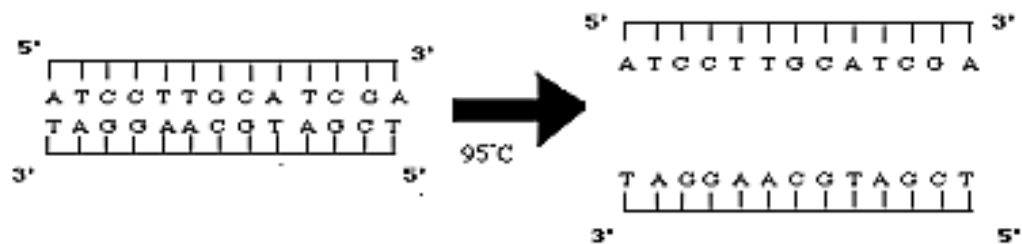
Polymerase chain reaction (PCR) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali hanya dalam beberapa jam. Setiap gen mempunyai primer dengan konsentrasi dan suhu *annealing* yang berbeda, sehingga perlu dilakukan optimasi konsentrasi primer dan suhu *annealing* agar didapatkan komposisi dan kondisi PCR yang sesuai sehingga mendapatkan hasil PCR yang optimal (Setyawati & Zubaidah, 2021).

2.5.1 Tahapan

Terdapat tiga tahap proses amplifikasi pada PCR yaitu :

1. Denaturasi

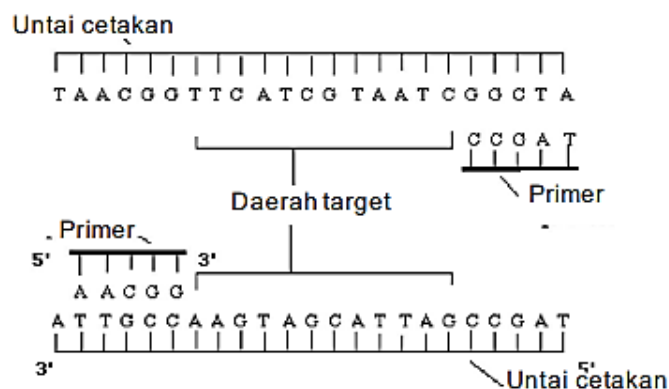
Denaturasi merupakan pemisahan untai DNA ganda menjadi untai DNA tunggal. Pemisahan ini terjadi setelah dilakukan pemanasan pada suhu 94°C dan untai DNA tunggal inilah yang nantinya menjadi cetakan bagi DNA baru yang akan dibuat (Yusuf, 2010). Proses DNA mengalami denaturasi dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Untai DNA mengalami denaturasi
Sumber : Innis & Gelfand (1990)

2. Annealing

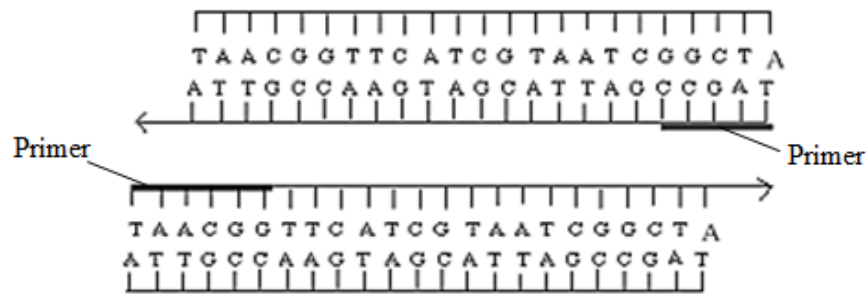
Annealing merupakan proses penempelan primer dimana suhu sangat memengaruhi keberhasilan proses *annealing*. Pada suhu 50-60°C, primer dapat menempel secara optimal dengan DNA target (Solanki, 2012). Proses penempelan primer (*annealing*) dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Proses penempelan primer (*annealing*)
Sumber : Innis & Gelfand (1990)

3. Extention

Extention merupakan proses pemanjangan DNA. Setelah primer menempel pada untai DNA target, enzim DNA polimerase akan memanjangkan sekaligus membentuk DNA yang baru dari gabungan antara primer, DNA cetakan, dan nukleotida. Proses extention terdiri dari pemanjangan primer dan pemantapan (*final extention*). Suhu optimal untuk tahapan extention sekitar 72 °C selama 2-5 menit (Solanki, 2012). Proses pemanjangan DNA (*extention*) dapat dilihat pada Gambar 7.



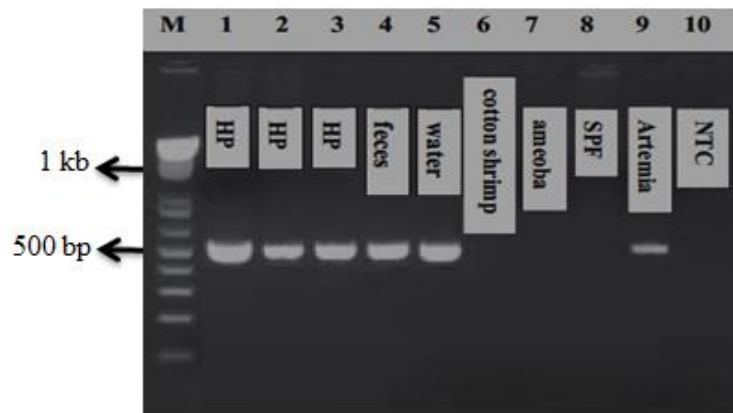
Gambar 7. Pemanjangan DNA (*extention*)
Sumber : Innis & Gelfand (1990)

2.5.2 Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya. Perbedaan tingkat migrasi disebabkan oleh perbedaan ukuran dan berat molekul serta muatan listrik yang dimiliki oleh molekul yang akan dipisahkan. Teknik elektroforesis biasanya digunakan untuk memisahkan molekul DNA maupun protein. Elektroforesis gel dapat memisahkan molekul DNA berdasarkan ukurannya menggunakan medan listrik. Molekul DNA mempunyai muatan listrik negatif, sehingga akan cenderung bermigrasi menuju kutub positif (Dewi *et al.*, 2021). Elektroforesis gel agarosa digunakan untuk memisahkan fragmen DNA yang berukuran lebih besar dari 100 bp dan dijalankan secara *horizontal* (Gaffar, 2007).

Larutan DNA yang bermuatan negatif dimasukkan ke dalam sumur-sumur yang terdapat pada gel agarosa dan diletakkan di kutub negatif dan apabila dialiri arus listrik maka DNA akan bergerak ke kutub positif. Laju migrasi DNA dalam medan listrik berbanding terbalik dengan massa DNA. Fragmen DNA yang berukuran kecil akan bermigrasi lebih cepat dibanding dengan yang berukuran besar, sehingga elektroforesis mampu memisahkan fragmen DNA berdasarkan ukuran panjangnya. Untuk visualisasi hasil PCR, agarose ditambahkan larutan etidium bromida yang akan masuk di antara ikatan hidrogen pada DNA, sehingga pita fragmen DNA akan terlihat di bawah lampu UV (Gaffar, 2007). Kekurangan dari etidium bromida adalah sifatnya yang karsinogenik dan mutagenik sehingga dapat membahayakan manusia dan lingkungan (Artati, 2016). Oleh karena itu, tersedia alternatif

pengganti etidium bromida yang lebih aman, salah satunya yaitu *florosafe* DNA stain (Fadllan *et al.*, 2019). Hasil visualisasi pita DNA dapat dilihat pada Gambar 8.



Keterangan: M: DNA marker; 1-9: Sampel; 10: Kontrol negatif

Gambar 8. Hasil visualisasi pita DNA dengan gel scanner
Sumber : Tang *et al.* (2015)

2.6 Parameter Kualitas Air

2.6.1 Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH adalah jumlah ion H^+ yang terdapat di dalam sistem perairan atau biasa dikenal tingkat keasaman (Ala *et al.*, 2018). Derajat keasaman suatu perairan menjadi salah satu parameter kimia yang penting dalam memantau kestabilan perairan (Simanjuntak, 2009). Variasi nilai pH suatu perairan sangat mempengaruhi organisme yang hidup di perairan tersebut. Berdasarkan Permen KP Nomor 75/PERMEN-KP/2016, nilai pH yang ideal bagi udang adalah 7-8,5 (KKP, 2016). Konsentrasi pH air dapat memengaruhi nafsu makan udang. pH rendah dapat mengakibatkan kandungan oksigen terlarut berkurang, akibatnya konsumsi oksigen menurun, dan aktivitas pernapasan udang meningkat (Farabi *et al.*, 2023). pH air tinggi sangat menentukan dominasi fitoplankton yang memengaruhi tingkat produktivitas primer suatu perairan (Megawati *et al.*, 2014). Kadar pH juga memengaruhi pertumbuhan spora EHP, sesuai dengan penelitian Chaijarasphong *et al.* (2020), bahwa semakin tinggi kadar pH air semakin cepat spora EHP untuk berkembang.

2.6.2 Suhu

Suhu perairan adalah ukuran kuantitatif terhadap temperatur panas dan dingin suatu perairan yang dinyatakan dalam satuan celsius (Effendi, 2003). Suhu perairan menjadi salah satu faktor eksternal yang memiliki peran penting bagi kehidupan organisme di perairan. Suhu sangat berpengaruh terhadap laju metabolisme dan pertumbuhan organisme perairan (Nontji, 2005). Berdasarkan Permen KP Nomor 75/PERMEN-KP/2016, suhu yang ideal untuk udang hidup adalah 28-32°C (KKP, 2016). Menurut Supriatna *et al.* (2020), jika suhu air tambak lebih dari angka optimum maka metabolisme tubuh udang akan berlangsung cepat, namun jika suhu tambak lebih rendah dari suhu optimum, maka nafsu makan udang menurun dan pertumbuhan udang menjadi lambat. Suhu perairan juga sangat memengaruhi pertumbuhan spora EHP, dimana semakin rendah nilai suhu perairan semakin cepat untuk spora EHP berkembang (Majumder *et al.*, 2015).

2.6.3 Salinitas

Salinitas adalah konsentrasi dari total ion-ion yang terlarut di dalam air yang dinyatakan dalam satuan ppt (Boyd, 1982). Salinitas menjadi salah satu parameter kualitas air yang berperan penting karena memengaruhi pertumbuhan udang. Berdasarkan Permen KP Nomor 75/PERMEN-KP/2016, salinitas yang baik untuk udang hidup berkisar 26-32 ppt (KKP, 2016). Pada salinitas yang terlalu tinggi dan terlalu rendah, pertumbuhan udang menjadi lambat karena proses osmoregulasi terganggu. Osmoregulasi merupakan proses pengaturan dan penyeimbangan tekanan osmotik antara di dalam dan di luar tubuh udang. Salinitas yang tinggi juga memengaruhi pertumbuhan spora EHP, sesuai dengan penelitian Aranguren *et al.* (2021), bahwa semakin tinggi salinitas perairan semakin cepat spora EHP untuk berkembang.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-November 2023, dengan daerah pengambilan sampel dilakukan di tambak pembesaran udang vaname Kabupaten Lebak, Provinsi Banten. Pendeteksian infeksi EHP dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Pengujian Kesehatan Ikan dan Lingkungan Serang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian

No.	Nama Alat	Keterangan
1.	<i>Microtube</i>	Tempat sampel dan <i>reagen amplicon</i> .
2.	Gunting	Alat untuk mengambil organ target dan menghancurkan sampel.
3.	Pinset	Alat untuk pengambilan organ target.
4.	Bunsen	Mensterilkan alat.
5.	Nampan	Tempat meletakkan sampel.
6.	Korek api	Pematik api untuk menghidupkan bunsen.
7.	<i>Cool box</i>	Wadah penyimpanan sample.
8.	Spidol permanen	Sebagai alat penulisan kode sampel.
9.	<i>Pellet pestle</i>	Menghancurkan sampel.
10.	<i>Freezer</i> (suhu -20 sampai dengan -80)	Menyimpan sampel agar tidak terdegradasi.
11.	<i>Centrifuge</i>	Memisahkan suspensi.
12.	<i>Micropipets</i>	Alat bantu pengambil bahan larutan.
13.	Rak tube PCR	Alat untuk meletakkan <i>microtube</i> PCR.
14.	<i>Stopwatch</i>	Mengatur waktu.
15.	<i>Spin down</i>	Untuk menghomogenkan campuran larutan dalam kapasitas kecil.
16.	UV spektrofotometer	Alat untuk mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA.

Tabel 1. Alat yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian (lanjutan)

No.	Nama Alat	Keterangan
17.	<i>Thermal cycle</i>	Alat amplifikasi.
18.	Timbangan analitik	Alat penimbang agarose.
19.	<i>Erlenmeyer</i>	Wadah pembuatan gel agarose.
20.	Spatula	Alat pengambil bubuk agarose.
21.	Gelas ukur	Alat bantu pengukur lautan TAE IX.
22.	<i>Microwave</i>	Alat untuk melarutkan gel agarose.
23.	Cetakan agar dan sisir agar	Media cetak agar dan sumuran agar.
24.	<i>Gel scanner</i>	Alat visualisasi pita DNA dan untuk dokumentasi hasil elektroforesis.
25.	Mesin elektroforesis	Alat elektroforesis.
26.	Komputer	Pembacaan hasil elektroforesis dan penyimpanan hasil uji.

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian

No.	Nama bahan	Keterangan
1.	Udang vaname	Sampel uji.
2.	Air kolam	Sampel uji.
3.	Sedimen <i>outlet</i>	Sampel uji.
4.	Air <i>inlet</i>	Sampel uji.
5.	Air <i>outlet</i>	Sampel uji.
6.	Air tandon	Sampel uji.
7.	Etanol gliserol	Untuk mengawetkan sampel uji.
8.	Akuades	Untuk mencuci sampel dari etanol gliserol.
9.	DNAzol <i>reagent</i>	Bahan ekstraksi DNA yang berguna untuk mengisolasi DNA dari inti sel.
10.	8 mM NaOH	Bahan pelarut saat ekstraksi DNA.
11.	Etanol 96%	Untuk mengendapkan DNA.
12.	Etanol 75%	Pembilasan pada target uji.
13.	<i>Nucleus free water</i> (NFW)	Bahan yang membantu menghindari degradasi DNA saat amplifikasi.
14.	<i>GoTaq green 2X mastermix</i> PCR	Bahan amplifikasi DNA yang mengandung <i>Taq</i> DNA polimerase yang berasal dari dNTPs, $MgCl^2$, dan <i>buffer</i> .
15.	Primer <i>forward</i> EHP-510F	Bahan amplifikasi DNA yang berfungsi membentuk kodon baru.
16.	Primer <i>reverse</i> EHP-510R	Bahan amplifikasi DNA yang berfungsi membentuk anti kodon baru.
17.	<i>Template</i> DNA	Genom hasil ekstraksi.
18.	Kontrol positif EHP	Sebagai kendali hasil suatu reaksi PCR.
19.	Bubuk <i>agarose</i>	Bahan utama pembuatan gel agarose.
20.	TAE IX <i>buffer</i>	Bahan pelarut bubuk agarose, dan larutan pembantu elektroforesis.
21.	Alumunium foil	Penutup erlenmeyer saat masuk ke <i>microwave</i> .

Tabel 2. Bahan yang digunakan dalam pelaksanaan penelitian (lanjutan)

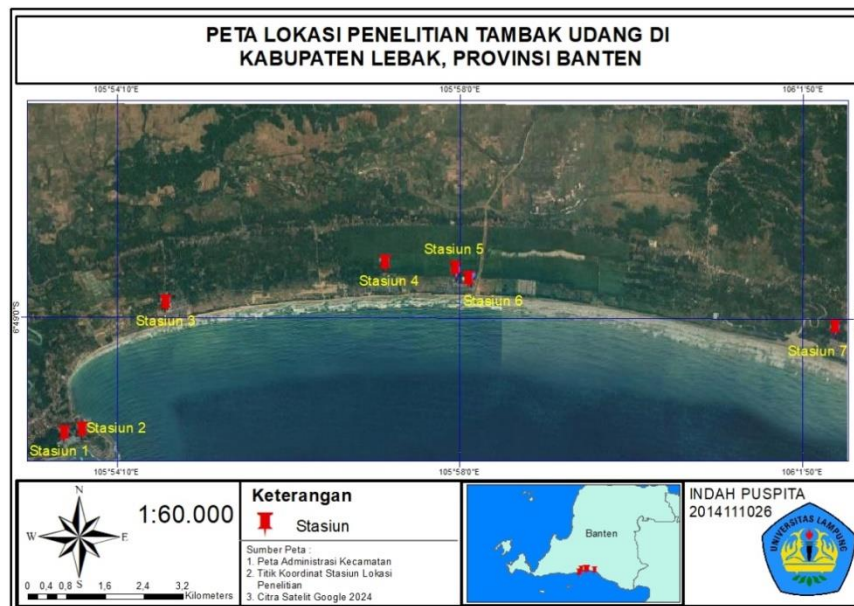
No.	Nama bahan	Keterangan
22.	<i>Microtips</i> berbagai ukuran 10-1.000 μ L	Alat bantu <i>micropipets</i> .
23.	DNA marker promega benchTop 100 bp DNA ladder	Untuk penanda ukuran <i>basepair</i> .
24.	<i>Florosafe</i> DNA stain	Untuk pewarna gel agarose.
25.	Sarung tangan	Perlengkapan untuk menghindari kontaminasi.
26.	Masker	Perlengkapan untuk menghindari kontaminasi.
27.	Kertas tisu	Untuk membersihkan area kerja.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksploratif dengan tahapan pemeriksaan EHP terdiri dari tujuh proses, yaitu pengambilan sampel, preparasi sampel, ekstraksi DNA, pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA, amplifikasi, elektroforesis, dan interpretasi hasil pemeriksaan. Berikut merupakan tahapan kegiatan pemeriksaan EHP.

3.3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada setiap stasiun dengan target biota yaitu udang vaname. Selain biota, diambil juga sampel air kolam, air *inlet*, air tandon, air *outlet*, dan sedimen *outlet* yang diduga menjadi salah satu media pembawa penyakit yang diambil dari Kecamatan Wanasalam dan Malingping, Kabupaten Lebak, Provinsi Banten. Pengambilan sampel dilakukan di tujuh stasiun yang berbeda dengan total sampel yang diperoleh sebanyak 97 sampel. Peta lokasi pengambilan sampel disajikan pada Gambar 9 dan titik koordinat lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 9. Peta lokasi pengambilan sampel

Tabel 3. Titik koordinat dan jumlah pengambilan sampel

Stasiun/ tambak	Titik Koordinat Lokasi Pengambilan Sampel	Jumlah Sampel	Keterangan
1	6°50'24,765"S 105°53'36,996"E	Udang: 6 Air kolam: 6 Air inlet: 1 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Wanasalam
2	6°50'22,515"S 105°53'46,503"E	Udang: 4 Air kolam: 4 Air inlet: 1 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Wanasalam
3	6°48'57,022"S 105°54'42,132"E	Udang: 10 Air kolam: 10 Air inlet: 1 Air tandon : 1 Air outlet: 1	Kecamatan Wanasalam
4	6°48'30,258"S 105°57'9,64"E	Air kolam: 10 Air inlet: 1 Air tandon 1 Air outlet: 2 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Wanasalam
5	6°48'36,335"S 105°57'57,978"E	Udang: 6 Air tandon : 2 Air outlet: 1 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Malingping
6	6°48'40,012"S 105°58'7,681"E	Udang: 7 Air kolam: 12 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Malingping
7	6°49'14,581"S 106°2'12,509"E	Air kolam: 2 Air inlet: 1 Air tandon 1 Sedimen outlet: 1	Kecamatan Malingping

3.3.2 Preparasi Sampel

Sampel udang diambil sebanyak 5 ekor pada setiap kolam kemudian dikompositkan. Preparasi sampel udang dilakukan dengan mengambil jaringan hepatopankreas. Berat sampel yang harus dipenuhi sebanyak 50-100 mg. Selanjutnya sampel dihaluskan dengan menggunakan gunting dan dimasukkan ke dalam *microtube* yang telah diberi kode sampel untuk dilakukan ekstraksi. Apabila sampel berupa air maka sampel yang diambil sebanyak 1 mL, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *microtube* yang telah diberi kode sampel. Selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rcf selama 5 menit. Setelah sentrifugasi selesai kemudian dibuang 900 μ L dan 100 μ L diambil untuk dilakukan ekstraksi. Jika sampel berupa sedimen (sedimen yang masih bercampur dengan air) maka sampel yang diambil sebanyak 2 mL, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 13.500 rcf selama 5 menit, kemudian dibuang supernatannya dan disisakan endapan sedimen (pellet) di dalam *microtube* yang telah diberi kode sampel untuk dilakukan ekstraksi.

3.3.3 Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan dengan tujuan mengisolasi DNA dari inti sel. Tahap ini dilakukan dengan dimasukkannya 50-100 mg sampel uji ke dalam *microtube* 1,5 mL. Reagen ekstraksi DNA ditambahkan sebanyak 1.000 μ L, lalu dihomogenkan menggunakan *pellet pestle*. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rcf selama 10 menit pada suhu ruang. Supernatan dipindahkan ke *microtube* baru yang telah diisi 500 μ L etanol 96% lalu *microtube* dikocok secara perlahan dan didiamkan selama 1 menit. Sampel disentrifugasi kembali dengan kecepatan 4.000 rcf selama 1 menit pada suhu ruang. Etanol yang ada di dalam *microtube* dibuang, lalu pellet dicuci dengan 1.000 μ L etanol 75%, dan didiamkan selama 1 menit. Etanol 75% dibuang lalu dikeringkan selama 15 detik, kemudian dicuci kembali dengan 1.000 μ L etanol 75% dan didiamkan selama 1 menit. Etanol 75% dibuang kembali dan dikeringkan selama 15 detik. Tahap terakhir ditambahkan 8 mM NaOH sebanyak 200 μ L dan dihomogenkan, lalu larutan DNA disimpan pada suhu 4 °C apabila segera digunakan, dan untuk penyimpanan yang lebih lama

pada suhu -20 °C. Sampel yang telah disimpan dapat digunakan dalam batas waktu yang lama dengan ketentuan kondisi larutan DNA dalam kondisi baik dan tidak terdegradasi.

3.3.4 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA

Pengukuran konsentrasi DNA dilakukan berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dengan UV spektrofotometer. Konsentrasi DNA yang optimum berkisar 16-100 µL (Nugroho *et al.*, 2017). Selanjutnya dilakukan pengenceran apabila konsentrasi yang diperoleh lebih tinggi dari yang diperlukan. Kemurnian DNA diukur dengan menghitung perbedaan absorbansi panjang gelombang 260 nm dan 280 nm (A260/A280). Setelah dilakukan pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA, peralatan kerja harus dibersihkan dengan DNase. Sampel yang telah terukur dapat digunakan secara langsung atau disimpan pada *freezer* pada suhu -20 °C untuk meminimalisir degradasi pada sampel.

3.3.5 Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi DNA EHP merupakan proses perbanyakan molekul DNA secara enzimatik dengan menggunakan variasi suhu dan menggunakan satu pasang primer EHP dengan sekuens nukleotida yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Sekuens nukleotida primer untuk amplifikasi EHP

Primer	Sekuens nukleotida	Ukuran ampikon
<i>Forward</i>	EHP-510F : 5'-GCC TGA GAG ATG GCT CCC AGG T-3'	500 bp
<i>Reverse</i>	EHP-510R : 5'-GCG TAC TAT CCC CAG AGC CCG A-3'	

Sumber : Tang *et al.* (2015)

Tahapan amplifikasi yang pertama yaitu membuat *mastermix* dimana untuk membuat *mastermix* EHP, *microtube* disiapkan (kontrol negatif, sampel, dan kontrol positif), kemudian diberi keterangan pada tutup *microtube* sesuai dengan kode sampel dan kontrol. *Reagen* primer EHP dikeluarkan dari *freezer* 5 menit sebelum

amplifikasi. *Reagen* dimasukkan ke dalam *microtube* sesuai dengan volume standar yang telah ditentukan sebagai berikut :

Tabel 5. Mastermix PCR EHP

No.	Reagen	Volume (μL)
1.	<i>Nucleus free water</i> (NFW)	8,5
2.	<i>GoTaq green 2X master mix</i> PCR	12,5
3.	<i>Primer forward</i> EHP-510F	1
4.	<i>Primer reverse</i> EHP-510R	1
5.	<i>Template</i> DNA	2
Jumlah		25

Microtube yang telah diberi reagen dihomogenkan menggunakan *spindown* sampai tidak ada gelembung. Sampel dimasukkan ke dalam *thermal cycler* yang telah dinyalakan kemudian ditekan tombol *run*, lalu diklik menu *start*, dipilih parameter EHP dan selanjutnya *start now*. Proses amplifikasi umumnya terdiri dari tiga tahap, yaitu denaturasi, penempelan (*annealing*), dan perpanjangan (*extension*). Proses amplifikasi EHP membutuhkan waktu selama 1 jam 15 menit dan hasil akhir yang diperoleh disebut sebagai amplikon. Kondisi amplifikasi PCR untuk parameter EHP secara jelas disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Profil amplifikasi PCR EHP

Kondisi PCR	Suhu (°C)	Waktu (min:det)	Siklus (kali)
<i>Pra-Denaturasi</i>	94	3:00	1
<i>Denaturasi</i>	94	0:30	35
<i>Annealing</i>	60	0:30	
<i>Extention</i>	72	0:30	
<i>Final Extention</i>	72	5:00	1

Sumber : Tang *et al.* (2015)

3.3.6 Pembuatan Gel Agarose

Setelah amplifikasi selesai selanjutnya proses elektroforesis. Untuk pengujian elektroforesis dibutuhkan gel agarose. Cara pembuatan gel agarose yaitu cetakan agarose disiapkan terlebih dahulu, lalu dipasang sisir pada cetakan untuk membentuk sumuran agarose dengan jumlah sumuran pada agarose berjumlah 13. Setelah sisir dipasang pada cetakan, larutan TAE buffer 1X dibuat dengan cara

10 mL TAE *buffer* 50X dilarutkan dalam akuades steril sebanyak 490 mL. Lalu agarose ditimbang sebanyak 2 g di dalam *erlenmayer* menggunakan timbangan analitik. Agarose yang sudah ditimbang dilarutkan ke dalam 100 mL TAE *buffer* IX. Larutan agarose dipanaskan di *microwave* selama 10 menit hingga larutan menjadi bening. Setelah 10 menit agarose yang telah homogen lalu diangkat dari *microwave* dan *erlenmeyer* diambil menggunakan sarung tangan dan dibiarkan di udara terbuka hingga suhu 60°C, setelah itu ditambahkan *florosafe* DNA *stain* sebanyak 5 µL dan *erlenmeyer* digoyangkan agar *florosafe* DNA *stain* tercampur rata dengan agarose. Larutan gel agarose dituangkan ke dalam cetakan agarose yang telah disiapkan dan ditunggu 30 menit. Setelah 30 menit agarose yang sudah mengeras dipotong menjadi dua bagian dan siap untuk digunakan.

3.3.7 Elektroforesis

Gel agarose yang siap digunakan dimasukkan ke dalam elektroforesis *chamber*. Kemudian ditambahkan larutan TAE *buffer* 1X ke dalam elektroforesis *chamber* hingga gel agarose terendam. Lalu dimasukkan kontrol negatif, sampel, kontrol positif, dan DNA marker ke dalam sumuran agarose menggunakan mikropipet. Untuk urutannya dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Sumuran elektroforesis

Sumuran	Komponen
Ke-1	DNA marker promega benchTop 100 bp DNA <i>ladder</i> sebanyak 5 µL
Ke-2	Amplikon kontrol negatif sebanyak 5 µL
Ke-3	Amplikon kontrol positif sebanyak 5 µL
Ke-(4 -13)	Amplikon sampel sebanyak 5 µL

Setelah semua sampel dimasukkan ke dalam gel agarose, tutup elektroforesis dipasang kemudian mesin dihidupkan dengan voltase 100 volt dan dilakukan pegujian selama 25 menit. Setelah selesai *power supply* dimatikan dan agarose diangkat dengan hati-hati agar tidak patah dan dibilas dengan akuades selama 10 menit untuk menghentikan proses pewarnaan, lalu gel agarose dimasukkan ke dalam gel *scanner* untuk mengetahui ukuran pita DNA.

3.3.8 Gel Scanner

Gel agarose yang sudah dielektroforesis dimasukkan ke dalam gel *scanner* secara perlahan dengan posisi gel agarose tanpa gelembung agar dalam proses pembacaan terlihat jelas. Selanjutnya mesin gel *scanner* ditutup, kemudian aplikasi gel *scanner* dibuka untuk menyimpan nama file gambar gel agarose. Penyimpanan nama file gambar sesuai dengan kode sampel uji. Lalu diatur kecerahan kamera, kemudian gambar kamera diklik dan ditunggu berapa saat hingga foto agarose muncul pada layar.

3.4 Tingkat Prevelensi

Tingkat prevelensi udang, sampel air, dan sedimen yang terinfeksi dihitung menggunakan persamaan William & William (1996) yaitu :

$$\text{Prevalensi} : \frac{\Sigma \text{ sampel terinfeksi}}{\Sigma \text{ Sampel yang diperiksa}} \times 100\%$$

Kriteria prevelensi infeksi penyakit, menurut William & William (1996) dengan modifikasi dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Kriteria prevalensi

Tingkat Serangan	Prevalensi (%)
Selalu	100,0
Hampir selalu	90,0-99,9
Biasanya	70,0-89,9
Sering kali	50,0-69,9
Umumnya	30,0-49,9
Sering	10,0-29,9
Kadang	1,0-9,9
Jarang	0,1-0,9
Sangat jarang	0,01-0,09
Hampir tidak pernah	<0,01

3.5 Kualitas Air

Kualitas air merupakan data sekunder yang didapatkan dari pembudi daya. Data kualitas air yang diperoleh meliputi pH, suhu, dan salinitas. Data kualitas air yang diperoleh dari pembudi daya digunakan sebagai informasi kondisi lingkungan tempat pengambilan sampel.

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan deteksi EHP dengan PCR, tingkat prevalensi infeksi yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan dibahas dengan pendekatan literatur.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, infeksi EHP pada tambak udang di Kabupaten Lebak ditemukan pada empat stasiun dimana prevalensi infeksi tertinggi pada stasiun 3 sebesar 26% (sering) kemudian stasiun 2 dengan prevalensi sebesar 10% (sering) dilanjut stasiun 1 tingkat prevalensi sebesar 7,14% (kadang), stasiun 4 tingkat prevalensi 6,25 % (kadang), dan stasiun 5-7 tingkat prevalensi 0% (hampir tidak pernah).

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Diperlukannya upaya pencegahan dengan penerapan biosekuriti yang baik agar dapat meminimalisir penyebaran infeksi penyakit pada lingkungan budi daya, serta penggunaan benur bersertifikat SPF yang dapat menjadi jaminan bahwa udang telah lolos dari screening penyakit dan karantina yang ketat sehingga kegiatan budi daya dapat berjalan dengan baik.
2. Diperlukannya penelitian pada setiap siklus pemeliharaan udang untuk mengetahui prevalensi infeksi EHP pada lingkungan budi daya sehingga pemerintah dan para pelaku pembudi daya dapat mengambil tindakan dan pencegahan lebih dini sebelum infeksi EHP semakin tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar, G. L., López, A. M. S., Aceituno, C. B., Avila, J. A. C., Guerrero, J. A. L., & Quesada, R. A. 2016. DNA source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis. *Biopreservation and biobanking*, 14(4): 264-270.
- Ala, A., Mariah, Y., Zakiah, D., & Fitriah, D. 2018. Analisis pengaruh salinitas dan derajat keasaman (pH) air laut di pelabuhan Jakarta terhadap laju korosi plat baja material kapal. *Meteor STIP Marunda*, 11(2): 33-34.
- Aranguren, C. L. F., Alghamdi, F., Belder, K., Lin, J., Mai, H. N., Millabas, J., & Dhar, A. K. 2021. The effect of salinity on *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *BMC Veterinary Research*, 17: 1-8.
- Aras, A. K., Fikriyah, A., Pratiwi, G. A. I., & Nurlita, W. 2023. Prevalensi infeksi EHP (*Enterocytozoon hepatopenaei*) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berdasarkan data surveilans di Bali, Indonesia. *Media Akuakultur*, 17(2): 59-65.
- Ariadi, H., Mardiana, T. Y., & Linayati, L. 2022. Aplikasi penerapan biosecurity pada kegiatan budidaya udang di PT. Manunggal Setia Makmur, Kabupaten Probolinggo. *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat*, 4(2): 167-170.
- Artati, D. 2016. Sensitivitas gel red sebagai pewarna DNA pada gel elektroforesis. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 11(1): 11-14.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2021. *Produksi dan Nilai Produksi Perikanan Budi daya Menurut Provinsi dan Komoditas Utama*. <https://bit.ly/3wpE4aK>. Diakses pada 01 April 2024.
- Badan Pusat Statistik (BPS) Banten. 2022. *Luas Daerah Menurut/Kota di Provinsi Banten 2022*. <https://lebakkab.go.id/profil-kabupaten-lebak/>. Diakses pada 25 November 2023.
- Ballo, A., & Nge, S. T. 2020. Analisis keragaman genetik pada tanaman kelor (*Moringa oleifera*) berdasarkan penanda molekuler random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Jurnal Biotropikal Sains*, 17(1): 35-44.
- Boyd, C. E. 1982. *Water Quality Management for Pond Fish Culture*. Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam. 318 hlm.

- Caro, A. L. F., Alghamdi, F., Belder, K., Lin, J., Mai, H. N., Millabas, J., & Dhar, A. K. 2021. The effect of salinity on *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei* under experimental conditions. *BMC Veterinary Research*, 17(1): 1-8.
- Chaijarasphong, T., Munkongwongsiri, N., Stentiford, G. D., Aldama, D. J., Thansa, K., Flegel, T. W., & Itsathitphaisarn, O. 2020. The shrimp microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP): biology, pathology, diagnostics and control. *Journal of Invertebrate Pathology*, 186: 1-16.
- Chakravarty, M. S., Ganesh, P. R. C., Amarnath, D., Sudha, B. S., & Babu. T. S. 2016. Spatial variation of water quality parameters of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds at Narsapurapupeta, Kajuluru and Kaikavolu villages of East Godavari District, Andhra Pradesh. *Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(4): 390-395.
- Deliza, Y. 2017. *Analisis Kualitas Air Keramba Jaring Apung Ikan Kerapu (Cromileptes altivelis) yang Terindikasi Viral Nervous Necrosis (VNN) Berdasarkan Ekspresi Heat Shock Protein (HSP)*. (Skripsi). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. 76 hlm.
- Desai, C., & Madamwar, D. 2007. Extraction of inhibitor-free metagenomic DNA from polluted sediments, compatible with molecular diversity analysis using adsorption and ion exchange treatments. *Bioresource technology*, 98(4): 761-768.
- Dewi, E. R. S., Widyastuti, D. A., & Nurwahyunani, A. 2021. *Buku Ajar Bioteknologi*. Universitas PGRI Semarang. Semarang. 95 hlm.
- Dinas Kelautan dan Perikanan (DKP) Provinsi Jateng. 2020. *Monitoring Hama dan Penyakit Ikan*. <https://dkp.jatengprov.go.id/berita/detail/pengendali-hama-dan-penyakit-ikan-ahli-pertama-blpkil-ikuti-bimbingan-teknis-dan-perencanaan-monitoring-lingkungan>. Diakses pada 18 Januari 2024.
- Dinas Perikanan Kabupaten Lebak. 2021. *Data Potensi Areal Budi Daya Lebak*. https://dkp.lebakkab.go.id/public/unduh/bankdata/1686207914_15e6df80d7149da6a0e9.pdf. Diakses pada 15 Januari 2024.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Kanisius. Yogyakarta. 257 hlm.
- Fadllan, F., Djuminar, A., Tantan, A., Dermawan, A., & Ernawati, E. 2019. Perbandingan ekstraksi DNA *Salmonella typhi* dari kultur darah metode spin column dan alcohol based. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 11(2): 232-243.
- Farabi, A. I., & Latuconsina, H. 2023. Manajemen kualitas air pada pembesaran udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di UPT BAPL (Budidaya Air Payau dan Laut) Bangil Pasuruan Jawa Timur. *Jurnal Riset Perikanan dan Kelautan*, 5(1): 1-13.

- Gaffar, S. 2007. *Buku Ajar Bioteknologi Molekul*. FMIPA Universitas Padjajaran. Bandung. 82 hlm.
- Haliman, R. W., & Adijaya, D. 2005. *Udang vannamei*. Penebar Swadaya. Jakarta. 75 hlm.
- Hamzah, H., Aswar, A., & Supito, S. 2021. Kondisi udang dan air pemeliharaan sebelum muncul penyakit EHP di udang tambak tradisional. *Journal of Indonesian Tropical Fisheries (Joint-Fish)*, 4(2): 198-210.
- Han, B., & Weiss, L. M. 2017. Microsporidia: obligate intracellular pathogens within the fungal kingdom. *Microbiology Spectrum*, 5(2): 101-112.
- Hou, Z. H., Yu, J. Y., Wang, J. J., Li, T., Chang, L. R., Fang, Y., & Yan, D. C. 2021. Development of a PCR assay for the effective detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and investigation of EHP prevalence in Shandong Province, China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 184: 107-113.
- Innis, M., & Gelfand, D., 1990. *PCR Protocols a Guide to Methods and Applications*. Academic Press. California. 482 hlm.
- Karim, M. Y., Zainuddin., & Aslamyah, S. 2015. Pengaruh suhu terhadap kelangsungan hidup dan percepatan metamorfosis larva kepiting bakau (*Scylla olivacea*). *Jurnal Perikanan*, 17(2): 84-89.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2016. *Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 75 PERMEN-KP/2016 Tentang Pedoman Umum Pembesaran Udang Windu (*Penaeus monodon*) dan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)*. KKP RI. Jakarta. 43 hlm.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2021. *Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia Nomor 17 Tahun 2021 Tentang Penetapan Jenis Penyakit Ikan Karantina, Organisme Penyebab, Golongan, dan Media Pembawa*. KKP RI. Jakarta. 26 hlm.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP). 2022. *Rilis Data Kelautan dan Perikanan Triwulan IV Tahun 2022*. Pusat Data, Statistik, dan Informasi Sekretariat Jendral Kementerian Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 18 hlm.
- Kooloth, V. R., Stentiford, G. D., & Bass, D. 2021. The rise of the syndrome sub optimal growth disorders in farmed shrimp. *Reviews in Aquaculture*, 13 (4): 1888-1906.
- Kumar, T. S., Praveena, P. E., Sivaramakrishnan, T., Rajan, J. J. S., Makesh, M., & Jithendran, K. P. 2022. Effect of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) infection on physiology, metabolism, immunity, and growth of *Penaeus vananamei*. *Aquaculture*, 553: 73-81.

- Laaldin, N., Baloch, S. R., Noor, A., Aziz, A., Gul, A., Rajput, T. A., & Babar, M. M. 2012. *Animal models: bridging cross-species variation through animal biotechnology*. In Genomics and Biotechnological Advances in Veterinary, Poultry, and Fisheries. Academic Press. 183-207 p.
- Lightner, D. V., Flegel, T. W., & Tran, L. 2010. Disease of crustaceans: Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND). *NACA*, 113(3): 228-299.
- Liu, Y. M., Qiu, L., Cheng, D.Y., Zhang, Q. L., Wan, X.Y., & Huang, J. 2017. The relationship of body length and weight in the *Litopenaeus vannamei* populations detected *Enterocytozoon hepatopenaei*. *Fishery Sci*, 38 (4): 96-103.
- Lom, J., & Dykova, I. 2002. Ultrastructure of *Nucleospora secunda* n. sp. (microsporidia), parasite of enterocytes of *Nothobranchius rubripinnis*. *European Journal of Protistology*, 38(1): 19-27.
- López, C. J. A., Cruz, F. R., & Dhar, A. K. 2022. The emerging pathogen *Enterocytozoon hepatopenaei* drives a degenerative cyclic pattern in the hepatopancreas microbiome of the shrimp (*Penaeus vannamei*). *Scientific Reports*, 12(1): 14766.
- Majumder, S., Panda, S., & Bandyopadhyay, P. K. 2015. Effect of temperature on the prevalence of different parasites in *Cirrhinus mrigala* Hamilton of West Bengal. *Journal of parasitic diseases*, 39: 110-112.
- Megawati, C., Yusuf, M., & Maslukah, L. 2014. Sebaran kualitas perairan ditinjau dari zat hara, oksigen terlarut dan pH di perairan selatan Bali bagian selatan. *Jurnal Oseanografi*, 3(2): 142-150.
- Mercier, L., Palacios, E., Córdova, Á. I., Ramírez, D., Herrera, R., & Racotta, I. S. 2006. Metabolic and immune responses in pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. *Aquaculture*, 258 (1-4): 633-640.
- Nontji, A. 2005. *Laut Nusantara*. Djambatan. Jakarta. 372 hlm.
- Nugroho, K., Terryana, R. T., & Lestari, P. 2017. Metode ekstraksi DNA cabai (*Capsicum annuum* L.) menggunakan modifikasi buffer CTAB (Cethyl Trimethyl Ammonium Bromide) tanpa nitrogen cair. *Scripta Biologica*, 4(2): 91-94.
- Patil, P. K., Geetha, R., Ravisankar, T., Avunje, S., Solanki, H. G., Abraham, T. J., & Vijayan, K. K. 2021. Economic loss due to diseases in Indian shrimp farming with special reference to *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and white spot syndrome virus (WSSV). *Aquaculture*, 533: 73-79.
- Patty, S.I. 2013. Distribusi suhu, salinitas dan oksigen terlarut di perairan Kema, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*, 1(3): 148-157.

- Patty, S. I., Arfah, H., & Abdul, M. S. 2015. Zat hara, oksigen terlarut, dan pH kaitannya dengan kesuburan perairan jikumerasa, Pulau Buru. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1): 43-50.
- Puryono, S., Anggoro, S., Suryanti, S., & Anwar, I. S. 2019. *Pengelolaan Pesisir dan Laut Berbasis Ekosistem*. Undip Press. Semarang. 284 hlm.
- PPSDMK, P. P. S. 2018. *Modul Pelatihan Surveilans Epidemiologi Bagi Petugas Puskesmas*. Kemenkes RI. 182 hlm.
- Rafiqie, M. 2014. Penyakit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di tambak PT Tanjung Bejo, Pajajaran Kabupaten Probolinggo. *Jurnal Ilmu Perikanan*, 5(1): 20-24.
- Rajendran, K.V., Shivam, S., Ezhil Praveena, P., Joseph Sahaya Rajan, J., Sathish Kumar, T., Avunje, S., & Vijayan, K. K. 2016. Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus vannamei* in India. *Journal Aquaculture*, 454: 272-280.
- Rusmiyati, S. 2019. *Menjala Rupiah Budi Daya Udang Vannamei Varietas Baru Unggulan*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta. 162 hlm.
- Salachan, P. V., Jaroenlak, P., Thitamadee, S., Itsathitphaisarn, O., & Sritunya lucksana, K. 2016. Laboratory cohabitation challenge model for shrimp *Hepatopancreatic microsporidiosis* (HPM) caused by *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP). *BMC Veterinary Research*, 13(1): 1-7.
- Sarah, H., Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. C. 2018. Studi Kasus Keberadaan Penyakit IMNV (Infectious Myonecrosis Virus) pada Udang Vaname (*Litopenaeus Vannamei*) di Pertambakan Pekalongan, Jawa Tengah. *Sains Akuakultur Tropis: Indonesian Journal of Tropical Aquaculture*. 2(1): 66-72.
- Sarjito, S., Prayitno, S. B., & Haditomo, A. H. 2013. *Pengantar Parasit dan Penyakit Ikan*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. Semarang. 25 hlm.
- Selvin, J., Ninawe, A., Ramu, M., & Kiran, S. 2015. Control of pathogenic vibrios in shrimp aquaculture using antiinfectives from marine natural products. *Avances en Nutrición Acuicola*, 27: 102-141.
- 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). *Journal of Laboratory*, 4 (1): 36-40.
- Shi, H., Xu, W. J., Xie, J. J., & Wang, G. S. 2017. Pathogenicity of *Penaeus vannamei* slow growth syndrome in intensively cultured penaeid shrimp in Zhoushan. *J. Fish*, 24(2): 387-394.

- Shinn, A. P., Pratoomyot, J., Griffiths, D., Trong, T. Q., Vu, N.T., Paisal, P. J., & Briggs, M. 2018. Asian shrimp production and the economic costs of disease. *Asian Fish*, 31 : 29-58.
- Simanjuntak, M. 2009. Hubungan faktor lingkungan kimia, fisika terhadap distribusi plankton di perairan Belitung Timur, Bangka Belitung. *Journal of Fisheries Sciences*, 11(1): 31-45.
- SNI 8568. 2018. *Deteksi Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) metode Quantitative (Real Time) Polymerase Chain Reaction (q-PCR) menggunakan Hydrolysis Probe*. Badan Standarisasi Nasional. 16 hlm.
- Solanki, G. 2012. Polymerase chain reaction. *International Journal of Production Research*, 2(3): 98-102.
- Supriatna, Mahmudia, M., Musaa, M., & Kusriana. 2020. Hubungan pH dengan parameter kualitas air pada tambak intensif udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Fisheries and Marine Research*, 4(3): 368-374.
- Tahe S., & Makmur. 2016. Pengaruh padat penebaran terhadap produksi udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) superintensif skala kecil. In *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, 1(1): 303-311.
- Tang, K. F. J., Aranguren, L. F., Piamsomboon, P., Han, J. E., Maskaykina, I. Y., & Schmidt, M. M. 2017. Detection of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and taura syndrome virus in *Penaeus vannamei* cultured in Venezuela. *Journal Aquaculture*, 480: 17-21.
- Tang, K. F. J., Pantoja, C. R., Redman, R. M., Han, J. E., Tran, L. H., & Lightner, D. V. 2015. Development of in situ hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *Journal of Invertebrate Pathology*, 130: 37-41.
- Thitamadee, S., Prachumwat, A., Srisala, J., Jaroenlak, P., Salachan, P. V., Sritunyalucksana, K., Flegel, T. W., & Itsathitphaisarn, O. 2016. Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture*, 452: 69-87.
- Tompo, A., & Kurniawan, K. 2012. Prevalensi dan identifikasi penyebab penyakit yang menghambat penetasan telur udang windu, *Penaeus monodon* FABR di hatchery Kabupaten Takalar. *Seminar Nasional Tahunan IX Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*, 21(2): 129-134.
- Tourtip, S., Wongtripop, S., Stentiford, G. D., Bateman, K. S., Sriurairatana, S., Chavadej, J., & Withyachumnarnkul, B. 2009. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (microsporidia: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (decapoda: penaeidae): fine structure and phylogenetic relationships. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102(1): 21-29.

- Warsito, E., Putra I., & Rusliadi. 2012. Pemeliharaan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) dengan persentase pemberian pakan yang berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 3(2): 22-31.
- William, E. H., & William, L. B. 1996. *Parasites of Offshore Big Game Fishes of Puerto Rico and the Western Atlantic*. Departement of Natural and Environmental Resources and University of Puerto Rico. Puerto Rico. 382 p.
- World Organisation for Animal Health (WOAH). 2024. *Infection With Enterocytozoon Hepatopanaei* (EHP). <https://shorturl.at/MYqgt>. Diakses pada 09 Juni 2024.
- Wyban, J., & Sweeney, J. N. 1991. *Intensive Shrimp Production Technology*. The Oceanic Institute Shrimp Manual. Honolulu, USA. 158 hlm.
- Yang, C., Ma, K.Y., Chu, K. H., & Chan, T. 2022. Making sense of the taxonomy of the most commercially important shrimps *Penaeus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae), a way forward. *Aquaculture*, 563: 1-10.
- Yuliartati, E. 2011. *Tingkat Serangan Ektoparasit pada Ikan Patin (Pangasius djambal) pada Beberapa Pembudi Daya Ikan di Kota Makassar*. (Skripsi). Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar. 35 hlm.
- Yusuf, Z. K. 2010. Polymerase chain reaction (PCR). *Jurnal Saintek*, 5(6): 1-6.
- Zaujat, R. C., Setiyaningsih, S., & Lusiastuti, A. M. 2016. Prevalensi dan karakterisasi molekuler Infectious myonecrosis virus (IMNV) di sentra budi daya udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) Provinsi Banten. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 4(2): 88-96.