

## **SKRIPSI**

### **PERBANDINGAN METODE PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*) KONVENTSIONAL DENGAN METODE PCR PORTABLE KIT UNTUK DETEKSI *WHITE SPOTS SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA UDANG VANNAMEI**

**Rr. AMALIAH FITRI, A.Md.**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONTIANAK  
PONTIANAK  
2019**

**PERBANDINGAN METODE PCR  
(*POLYMERASE CHAIN REACTION*) KONVENTSIONAL  
DENGAN METODE PCR PORTABLE KIT UNTUK  
DETEKSI *WHITE SPOTS SYNDROME VIRUS (WSSV)*  
PADA UDANG VANNAMEI**

**Rr. AMALIAH FITRI, A.Md.**

Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Perikanan pada  
Program Studi Budidaya Perairan

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONTIANAK  
PONTIANAK  
2019**

## RINGKASAN

Rr.Amaliah Fitri. Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei. Dibimbing oleh FARIDA dan EKO PRASETIO.

Udang vannamei merupakan komoditi yang mendominasi pertambakan dipesisir wilayah Kalimantan Barat. Usaha budidaya tersebut tumbuh pesat dengan resiko penyebaran penyakit yang juga tinggi. Serangan penyakit yang paling umum dan sering ditemukan pada budidaya udang vannamei adalah *WSSV* (*White spot Syndrome Virus*). Identifikasi penyakit virus WSSV di SKIPM Pontianak dilakukan dengan dua metode yang berbeda yaitu metode PCR Konvensional dan Portable Kit PCR. Metode PCR konvensional merupakan salah satu alternatif untuk deteksi penyakit virus yang cukup akurat dan relatif lebih murah, jika dibandingkan dengan metode lain yang sedang berkembang saat ini seperti metode *PCR Portable Kit* yang proses deteksi lebih singkat karena tidak memerlukan tahap elektroforesis. Melihat dari kelebihan dan kekurangan masing- masing metode tersebut, sehingga menimbulkan alasan untuk mengetahui lebih lanjut tentang presisi dan akurasi sensitivitas dari kedua metode tersebut dalam mendeteksi infeksi virus WSSV pada udang vannamei.

Berdasarkan pengamatan dan penelitian terhadap perbandingan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional dengan Metode PCR Portable Kit untuk deteksi *White spot syndrome virus* (WSSV) pada udang Vannamei, yang dilaksanakan di Laboratorium SKIPM Pontianak selama enam bulan, rata – rata sampel yang diterima tidak menunjukkan gejala klinis kearah diagnosa terinfeksi virus WSSV. Sehingga diagnosa awal pada gejala klinis sampel uji bersifat sehat dan normal. Namun terdapat beberapa sampel yang tidak menunjukkan gejala klinis terinfeksi virus WSSV pada diagnosa awal, tetapi teridentifikasi positif terinfeksi virus WSSV dalam interpretasi hasil PCR. Data pengamatan hasil interpretasi pemeriksaan PCR disajikan dalam bentuk tabel yang berisi data rekapitulasi pengamatan harian dan grafik

data rekapitulasi pengamatan harian. Pengamatan dilakukan pada variabel plasmid kontrol (+) masing – masing kit uji, plasmid DNA sampel dan plasmid DNA virus WSSV dengan indikator hasil pemeriksaan positif, negatif, terdeteksi maupun tidak terdeteksi. Setiap hasil pemeriksaan variabel pengamatan akan diberi nilai pembobotan tertentu, untuk mengetahui presisi dan akurasi sensitivitas dari kedua metode PCR dalam mendeteksi infeksi virus WSSV pada udang vannamei.

Hasil prosentase pembobotan PCR Konvensional berada pada angka 95,24%, yang berarti masih terdapat Plasmid DNA sampel atau DNA virus WSSV yang tidak dapat dideteksi oleh metode tersebut. Sedangkan PCR Portable Kit berada pada angka 99,21%, menunjukkan nilai yang sangat baik dari prosentase pembobotannya, karena ketepatan pengujinya lebih akurat. PCR Konvensional merupakan metode deteksi yang sangat sensitif dan spesifik, gerakan fisik yang berlebihan dapat menyebabkan terputusnya ikatan antar molekul dan DNA sampel mengalami kerusakan. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya *smear* pada pita DNA elektroforesis. PCR Portable Kit dengan teknik spin column menghasilkan asam nukleat DNA dan RNA yang lebih bersih dan berkualitas tinggi. Dengan demikian kemungkinan terjadinya “false negatif” akibat kualitas DNA/RNA yang buruk dapat dihindari.

Berdasarkan hasil pembobotan tersebut secara umum dapat disimpulkan bahwa Metode identifikasi virus WSSV dengan PCR Portable Kit (*IQ Plus<sup>TM</sup>WSSV*) lebih tinggi tingkat keberhasilannya dalam mengidentifikasi keberadaan plasmid DNA sampel, plasmid DNA virus WSSV dan plasmid kontrol positif WSSV dibandingkan dengan metode PCR konvensional (*IQ-2000<sup>TM</sup> – WSSV*).

Kata kunci : deteksi wssv, PCR IQ 2000, PCR Portabel Kit, perbandingan metode, nilai pembobotan.

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI  
SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA\***

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul “Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Muhammadiyah Pontianak

Pontianak, Agustus 2019

Materai 6.000

Rr. Amaliah Fitri, A.Md  
NIM. 161110066

## **LEMBAR PENGESAHAN**

**Judul** : Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei.

**Nama** : Rr. Amaliah Fitri, A.Md.

**NIM** : 161110066

**Program Studi** : Budidaya Perairan

**Fakultas** : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Farida, S.Pi.,M.Si  
NIDN.1111098101

Eko Prasetio, S.Pi.,M.P.  
NIDN. 112048501

Penguji I

Penguji II

Eka Indah Raharjo, S.Pi.,M.Si  
NIDN. 1102107401

Tuti Puji Lestari, S.Pi.,M.Si  
NIDN.1121128801

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Perikanan  
Universitas Muhammadiyah Pontianak

Dr.Ir.Eko Dewantoro, M.Si  
NIDN. 0027096509

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan pada bulan April – September 2018 ialah hama penyakit ikan karantina, dengan judul “Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei,

Ucapan terima kasih disampaikan kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Eko Dewantoro, M.Si, selaku Dekan FPIK UM Pontianak
2. Ibu Farida, S.Pi.,M.Si selaku Pembimbing I, untuk semangat, kesabaran dan ilmu dalam bimbingannya.
3. Bapak Eko Prasetyo, S.Pi.,MP. selaku Pembimbing II atas waktu, ketelitian dan ilmu dalam bimbingannya.
4. Bapak Eka Indah Raharjo, S.Pi, M.Si. selaku penguji I.
5. Ibu Tuti Puji Lestari, S.Pi.,M.Si selaku penguji II.
6. Kedua orang tua serta suami yang telah banyak membantu baik moril maupun materil.
7. Pihak SKIPM Pontianak atas izin, informasi beserta fasilitas laboratorium selama penelitian.
8. Serta seluruh pihak yang telah memberikan kemudahan, kelancaran dan dukungan dalam penyusunan skripsi penelitian.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi penulis dan lingkup Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan khususnya serta pembaca umumnya, sekian dan terima kasih.

Pontianak, Agustus 2019

Penulis

## **SKRIPSI**

### **PERBANDINGAN METODE PCR (*POLYMERASE CHAIN REACTION*) KONVENTSIONAL DENGAN METODE PCR PORTABLE KIT UNTUK DETEKSI *WHITE SPOTS SYNDROME VIRUS* (WSSV) PADA UDANG VANNAMEI**

**Rr. AMALIAH FITRI, A.Md.**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONTIANAK  
PONTIANAK  
2019**

## **LEMBAR PENGESAHAN**

**Judul** : Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei.

**Nama** : Rr. Amaliah Fitri, A.Md.

**NIM** : 161110066

**Program Studi** : Budidaya Perairan

**Fakultas** : Perikanan dan Ilmu Kelautan

Disetujui Oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Farida, S.Pi.,M.Si  
NIDN.1111098101

Eko Prasetio, S.Pi.,M.P.  
NIDN. 112048501

Penguji I

Penguji II

Eka Indah Raharjo, S.Pi.,M.Si  
NIDN. 1102107401

Tuti Puji Lestari, S.Pi.,M.Si  
NIDN.1121128801

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Perikanan dan Ilmu Perikanan  
Universitas Muhammadiyah Pontianak

Dr.Ir.Eko Dewantoro, M.Si  
NIDN. 0027096509

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI  
SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA\***

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi berjudul “Perbandingan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional Dengan Metode PCR Portable Kit Untuk Deteksi *White Spots Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vannamei” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Muhammadiyah Pontianak

Pontianak, Agustus 2019

Materai 6.000

Rr. Amaliah Fitri, A.Md  
NIM. 161110066

© Hak Cipta Milik Universitas Muhammadiyah Pontianak, Tahun 2018  
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

*Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan Universitas Muhammadiyah Pontianak.*

*Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin Universitas Muhammadiyah Pontianak.*

**PERBANDINGAN METODE PCR  
( *POLYMERASE CHAIN REACTION* ) KONVENTIONAL  
DENGAN METODE PCR PORTABLE KIT UNTUK  
DETEKSI *WHITE SPOTS SYNDROME VIRUS* (WSSV)  
PADA UDANG VANNAMEI**

**Rr. AMALIAH FITRI, A.Md.**

Skripsi  
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Perikanan pada  
Program Studi Budidaya Perairan

**FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PONTIANAK  
PONTIANAK  
2019**

## DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR DIAGRAM ALIR.....	vi
DAFTAR GRAFIK.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1.    Latar Belakang.....	1
1.2.    Perumusan Masalah.....	2
1.3.    Tujuan.....	3
1.4.    Manfaat.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1.    Biologi udang vannamei.....	4
2.1.1. Klasifikasi Udang Vannamei ( <i>Litopenaeus Vannamei</i> ).....	4
2.1.2. Morfologi Udang Vannamei.....	4
2.1.3. Siklus Hidup.....	5
A.Stadia Naupli.....	5
B.Stadia zoea.....	6
C. Stadia Mysis.....	6
D. Stadia Postlarva (PL).....	6
2.1.4. Makan dan Kebiasaan Makan.....	6
2.1.5. Habitat dan Penyebaran.....	7
2.1.6. Sistem Imun dan Kekebalan Udang Vannamei.....	7
2.2.    Penyakit <i>White Spot SyndromVirus</i> (WSSV).....	10
2.2.1. Morfologi Virus.....	10
2.2.2. Virulensi Penyakit WSSV.....	12
2.3.    Metode PCR ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> ).....	15
2.3.1. Prinsip Kerja PCR Konvensional.....	15
A. Ekstraksi DNA/RNA.....	16
B.Amplifikasi.....	16
C.Elektroforesis Gel Agarose.....	18
2.3.2. Prinsip Kerja PCR Portable Kit.....	19
A. Ekstraksi DNA/RNA.....	19
B. Amplifikasi.....	19

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1. Waktu dan Tempat.....	21
3.2. Alat dan Bahan.....	21
3.2.1. PCR Konvensional.....	21
3.2.2. PCR Portable Kit.....	22
3.3. Prosedur Penelitian.....	23
3.3.1. Penerimaan Sampel.....	24
3.3.2. Pemilihan Organ Target.....	25
3.3.3. Preparasi Sampel.....	25
3.3.4. Prosedur PCR Konvensional.....	26
3.3.5. Prosedur PCR Portable Kit.....	27
3.3.6. Interpretasi Hasil.....	30
3.3.7. Penyimpanan Sampel.....	32
3.4. Variabel Pengamatan.....	32
3.4.1. Gejala Klinis.....	32
3.4.2. Pemeriksaan Organ.....	33
3.4.3. Prevalensi Virus WSSV.....	33
3.4.4. Variabel Pengamatan Metode PCR.....	34
3.5. Analisis Data.....	34
3.5.1. Data Primer.....	34
3.5.2. Data Sekunder.....	35
3.5.3. Analisis Statistik Non Parametrik.....	35
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1. Gejala Klinis.....	37
4.2. Pemeriksaan Organ Target.....	38
4.3. Prevalensi Virus WSSV.....	41
4.4. Perbandingan Interpretasi Pemeriksaan PCR.....	42
4.4.1. Interpretasi Pemeriksaan PCR Konvensional.....	42
4.4.2. Interpretasi Pemeriksaan PCR Portable Kit.....	46
4.4.3. Hasil Pembobotan PCR Konvensional dan PCR Portable Kit.....	47
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	56
Lampiran.....	61

## **DAFTAR GRAFIK**

<b>No.</b>		<b>Halaman</b>
4.1.	Perbandingan Nilai Pembobotan Metode PCR Konvensional dan PCR Portable Kit.....	51
4.2.	Prosentase Nilai Pembobotan Metode PCR Konvensional dan PCR Portable Kit.....	52

## **DAFTAR LAMPIRAN**

<b>No.</b>		<b>Halaman</b>
1.	Data Pengamatan Hasil Interpretasi Pemeriksaan PCR konvensional Bulan.....	61
2.	Data Pengamatan Hasil Interpretasi Pemeriksaan PCR Portable Kit.....	62
3.	Hasil Pembobotan Deteksi PCR WSSV.....	63
4.	Dokumentasi.....	64

## **DAFTAR TABEL**

No.	Halaman
3.1. Bahan PCR Konvensional IQ 2000™ WSSV.....	21
3.2. IQ Plus™WSSV Kit dengan POCKIT Sistem.....	22
3.3. Jumlah Pengambilan Udang/Ikan Contoh.....	24
3.4. Interpretasi Standart Hasil PCR konv.IQ 2000.....	31
3.5. Data Interpretasi portabel POCKIT™Nucleic Acid Analyzer.....	32
4.1. Prevalensi Serangan Virus WSSV.....	42
4.2. Data Pengamatan Hasil Interpretasi PCR Konvensional.....	45
4.3. Data Pengamatan Hasil Interpretasi PCR Portable Kit.....	47
4.4. Rekapitulasi Data Pengamatan Pemeriksaan PCR Konvensional Dan PCR Portable Kit.....	48
4.5. Prosentase Pembobotan Metode PCR Konvensional Dan PCR Portable Kit.....	51

## DAFTAR GAMBAR

No.	Halaman
2.1. Udang Vannamei.....	4
2.2. Morfologi Udang Vannamei.....	5
2.3. Morfologi virus.....	12
2.4. Udang vannamei yang teridentifikasi virus WSSV.....	13
2.5. Hasil Pewarnaan Pita DNA/RNA.....	18
2.6. Hasil Amplifikasi Portable Kit.....	20
3.1. Alat Thermalcycler PCR konvensional.....	22
3.2. Alat Amplifikasi PCR Portable KIT.....	23
3.3. Hasil interpretasi amplifikasi Portable Kit.....	31
4.1. Udang Vannamei sampel lalu lintas SKIPM Pontianak.....	37
4.2. Sampel Uji Udang Vannamei.....	39
4.3. Hepatopankreas sampel uji Udang Vannamei.....	40
4.4. Hasil Elektroforesis agarosa PCR Konvensional (I).....	43
4.5. Hasil Elektroforesis agarosa PCR Konvensional (II).....	43
4.6. Hasil Elektroforesis agarosa PCR Konvensional (III).....	44
4.7. Hasil Amplifikasi PCR Portable Kit.....	46
4.8. Lembar pengamatan harian PCR Konvensional Bulan April.....	49
4.9. Lembar pengamatan pembobutan bulan April.....	50

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Udang vannamei merupakan komoditi yang mendominasi pertambakan dipesisir wilayah Kalimantan Barat. Usaha budidaya tersebut tumbuh pesat dengan resiko penyebaran penyakit yang juga tinggi. Serangan penyakit yang paling umum dan sering ditemukan pada budidaya udang vannamei adalah *WSSV* (*White spot Syndrome Virus*).

Penyakit WSSV adalah penyakit yang menyerang pada udang. Penyakit ini disebabkan oleh virus spesies WSSV, famili Nimaviridae. Tingkat kematian akibat infeksi virus ini mencapai 100 % dalam waktu 3-19 hari post infeksi. Penyakit ini dikenal dengan nama penyakit bintik putih pada udang. Virus ini bereplikasi di nukleus, berbentuk ellipsoid sampai basil, memiliki ekor di salah satu kutub partikel virus. Organ target dari WSSV pada udang penaeid adalah jaringan ektodermal (epidermis kutikuler, saluran pencernaan depan dan belakang, insang dan jaringan saraf) dan mesodermal (organ limfoid, glandula antenna, jaringan ikat dan jaringan hematopoietik). Gejala klinis pada fase akut muncul bintik-bintik putih pada lapisan dalam eksoskeleton dan epidermis. Gejala lainnya adalah lethargi, tidak mau makan, lemah, berenang ke permukaan dan terjadi diskolorasi kemerahan pada tubuh (Mahardika, *et.al.*2004).

Salah satu tindakan yang dilakukan oleh pemerintah dan lembaga terkait untuk menekan penyebaran virus WSSV adalah dengan melakukan deteksi dari penyakit WSSV menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* konvensional maupun *Portable Kit PCR*. Melalui UPT SKIPM Pontianak, setiap media pembawa(udang vannamei) yang masuk atau keluar di wilayah Kalimantan Barat, diwajibkan untuk melakukan pemeriksaan virus WSSV. Hal ini bertujuan untuk mencegah tersebar luasnya penularan virus WSSV yang merupakan HPIK Gol I. Sampel yang dinyatakan positif terinfeksi WSSV akan ditolak untuk masuk ke wilayah Kalimantan Barat atau bahkan harus dimusnahkan.

Penelitian dengan prinsip perbandingan metode pemeriksaan PCR yang berbeda telah beberapa kali dikemukakan, salah satunya menjadi referensi penelitian ini yang berjudul “Aplikasi *Polymerase Chain Reaction (PCR)* Konvensional Dan *Real Time PCR* Untuk Deteksi *White Spot Syndrome Virus* Pada Kepiting” ( Jurnal Perikanan dan Kelautan, 2012). Penelitian tersebut bertujuan mencari deteksi WSSV yang terbaik pada kepiting sebagai *carrier* WSSV yang menginfeksi udang windu dengan menggunakan PCR Konvensional dan Real Time PCR. Penelitian tersebut menggunakan metode survei dengan analisis deskriptif kualitatif.

## 1.2. Perumusan Masalah

Identifikasi penyakit virus WSSV di SKIPM Pontianak dilakukan dengan dua metode yang berbeda yaitu metode PCR Konvensional dan Portable Kit PCR. Metode PCR konvensional merupakan salah satu alternatif untuk deteksi penyakit virus yang cukup akurat dan relatif lebih murah, jika dibandingkan dengan metode lain yang sedang berkembang saat ini seperti metode *PCR Portable Kit*. Hanya saja keberhasilan dalam pengujian sampel dengan metode PCR konvensional sangat bergantung pada ketepatan dan ketelitian laboratoris dalam prosedur kerjanya. Selain itu beberapa hal seperti faktor kontaminasi silang dan ketepatan jumlah bahan yang dipakai juga memberikan pengaruh yang besar terhadap hasil pembacaan DNA/RNA sampel.

Lainnya dengan metode PCR Portable Kit yang dapat dikerjakan langsung di lapangan “*on the spot*” menggunakan portable- PCR (*Rapid Test on the spot*). Teknik ini dapat dikerjakan di luar laboratorium dengan proses amplifikasi yang bersifat semi-kit tanpa proses elektroforesis dan hasil akhir secara kualitatif dapat dilihat langsung pada mesin amplifikasi. Hasil analisis dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat karena tidak perlu dilakukan proses elektroforesis pada agar gelrose untuk pembacaan DNA/RNA sampel uji. Namun untuk kemudahan dari metode ini, bahan dan peralatannya harus dibeli dengan harga yang cukup mahal, selain itu keberhasilan PCR Portable Kit sangat bergantung pada kinerja alat, sehingga kesiapan, validasi dan kalibrasi alat harus sangat diperhatikan.

Melihat dari kelebihan dan kekurangan masing- masing metode tersebut, sehingga menimbulkan alasan untuk mengetahui lebih lanjut tentang presisi dan akurasi sensitivitas dari kedua metode tersebut dalam mendeteksi infeksi virus WSSV pada udang vannamei.

### **1.3. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode yang lebih baik dalam pengujian PCR konvensional maupun portable kit untuk identifikasi penyakit WSSV.

### **1.4. Manfaat**

Penelitian perbandingan metode PCR konvensional dengan metode PCR portable kit untuk deteksi penyakit WSSV pada udang vannamei ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai informasi kepada masyarakat umumnya dan pembudidaya udang khususnya untuk penerapan metode yang lebih baik dalam pengujian PCR konvensional maupun portable kit untuk identifikasi virus WSSV.Selain itu juga merupakan salah satu referensi untuk SKIPM Pontianak dalam menerapkan metode pemeriksaan yang lebih tepat untuk identifikasi penyakit WSSV.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Berdasarkan pengamatan dan penelitian terhadap perbandingan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) Konvensional dengan Metode PCR Portable Kit untuk deteksi *White spot syndrome virus* (WSSV) pada udang Vannamei, yang dilaksanakan di Laboratorium SKIPM Pontianak selama enam bulan, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut :

1. Rata – rata sampel yang diterima di SKIPM Pontianak tidak menunjukkan gejala klinis kearah diagnosa terinfeksi virus WSSV. Sehingga hal ini dapat memberikan diagnosa awal pada kesimpulan gejala klinis sampel uji bersifat sehat dan normal.
2. Terdapat beberapa sampel yang tidak menunjukkan gejala klinis terinfeksi virus WSSV pada diagnosa awal, namun teridentifikasi positif terinfeksi virus WSSV dalam interpretasi hasil PCR.
3. Tingkat virulensi virus yang rendah, menyebabkan kerusakan yang muncul pada udang tidak dapat terdiagnosa secara makroskopis. Hal ini juga menyebabkan tingkat prevalensi sampel yang terinfeksi menjadi rendah.
4. PCR Konvensional merupakan metode deteksi yang sangat sensitif dan spesifik, gerakan fisik yang berlebihan dapat menyebabkan terputusnya ikatan antar molekul dan DNA sampel mengalami kerusakan. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya *smear* pada pita DNA elektroforesis.
5. PCR Portable Kit dengan teknik spin column menghasilkan asam nukleat DNA dan RNA yang lebih bersih dan berkualitas tinggi. Dengan demikian kemungkinan terjadinya “false negatif” akibat kualitas DNA/RNA yang buruk dapat dihindari.
6. Hasil prosentase pembobotan PCR Konvensional berada pada angka 95,24%, yang berarti masih terdapat Plasmid DNA sampel atau DNA virus WSSV yang tidak dapat dideteksi oleh metode tersebut.

Sedangkan PCR Portable Kit berada pada angka 99,21%, menunjukkan nilai yang sangat baik dari prosentase pembobotannya, karena ketepatan pengujinya lebih akurat.

Dari poin – poin tersebut secara umum dapat disimpulkan bahwa Metode identifikasi virus WSSV dengan PCR Portable Kit (*IQ Plus™WSSV*) lebih tinggi tingkat keberhasilannya dalam mengidentifikasi keberadaan plasmid DNA sampel, plasmid DNA virus WSSV dan plasmid kontrol positif WSSV dibandingkan dengan metode PCR konvensional (*IQ-2000™ – WSSV*), yang selama ini telah diterapkan di SKIPM Pontianak.

## **5.2. Saran**

Karya ilmiah ini dapat dijadikan rujukan dalam pengembangan karya ilmiah lainnya yang terkait dengan akurasi maupun ketepatan dari metode identifikasi PCR untuk deteksi virus WSSV pada udang vannamei. Pengkayaan materi untuk jumlah DNA sampel secara kuantitas, spesifikasi bahan ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis yang berbeda dapat menjadi kajian lanjutan untuk karya ilmiah lainnya dengan tema sama.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiwidjaya, D., Supito., I. Sumantri. 2008. *Penerapan Teknik Budidaya udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) Semi -Intensif pada Lokasi Tambak Salinitas Tinggi. Departemen Kelautan dan Perikanan.* Direktorat Jendral Perikanan Budidaya.Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara.
- Afrianto, E. dan E. Liviawaty. 1992. *Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan.* Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Amrillah,. 2015. *Dampak Stres Salinitas Terhadap Prevalensi White Spot Syndrome Virus (WSSV) dan Survival Rate Udang Vannamei (Litopenaeus vannamei) pada Kondisi Terkontrol.* Research journal of life science e-issn : 2355-9926 april-2015 volume 02 no. 01. Universitas Brawijaya.
- Anonim, 2009. *Diagnosis Penyakit Viral.* Universitas Gajahmada. Yogyakarta.
- Arafani L., .2016. *Pelacakan Virus Bercak Putih pada Udang Vaname (Litopenaeus vannamei) di Lombok dengan Real-Time Polymerase Chain Reaction.* Jurnal Veteriner Maret 2016 Vol. 17 No. 1 : 88-95. Universitas Mataram.
- BUSKIPM.2013. *Instruksi Manual Pemeriksaan Virus Dengan Metode PCR.* Juknis PHPI. Latihan Dasar Penjenjangan PHPI. Jakarta.
- Buwono I.B.2014. *sensitivitas nested pcr terhadap deteksi Dna wssv (white spot syndrome virus) Pada udang windu dan vaname.* Jurnal Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran.
- David Burnie. 2013. *The Animal Book: A Visual Encyclopedia of Life on Earth (Smithsonian)* DK.Publish. ISBN.1465414576 (ISBN13: 9781465414571) .
- Edison, D.P. 2009. *Pengaruh Suhu, pH, dan Salinitas yang Berbeda terhadap Aktifitas Biologis Imunoglobulin Y Anti WSSV (IgY Anti-WSSV) [Skripsi].* Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. 23 hlm
- Fitriya T.R.,. 2015. *Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada Staphylococcus aureus dan Shigella dysentriiae.* Jurnal LenteraBio Vol. 4 No. 1, Januari 2015: 87–92. Universitas Negeri Surabaya.
- Genereach Biotechnology Corp. 2013. *IQ 2000<sup>TM</sup> WSSV Intruction Manual.* Central Taiwan Science. Taiwan.

Genereach Biotechnology Corp. 2014. *IQ Plus™ WSSV Kit with POCKIT(Portable) System Instruction Manual*. Central Taiwan Science. Taiwan.

Haliman, Adijaya. 2005. *Udang Vannamei*. Jakarta: Penebar Swadaya

Hanggono Bambang dan Muhammad Junaidi. 2015. *Deteksi penyakit viral pada udang vannamei (*litopennaeus vannamei*) Dengan metode polymerase chain reaction (pcr)*. Samakia: Jurnal Ilmu Perikanan Volume 6, No. 1, Februari 2015 ISSN : 2086-3861. Balai Perikanan Budidaya Air Payau Situbondo.

Hardyta Noviar Rahma, Slamet Budi Prayitno dan Alfabetian Harjuno Condro Haditomo. 2014. *INFEKSI WHITE SPOT SYNDROM VIRUS (WSSV) PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabr.) YANG DIPELIHARA PADA SALINITAS MEDIA YANG BERBEDA*. Journal of Aquaculture Management and Technology. Volume 3, Nomor 3, Tahun 2014, Halaman 25-34. Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Semarang.

Hariyadi, 2006. *Perhitungan Prevalensi Mikroorganisme Bakteri*, Malang, Volume 2.

Kurniawan k.,. 2015. *Kajian masa kritis penyakit wssv di saluran pertambakan Kecamatan pulokerto, pasuruan dan kecamatan pasir putih, situbondo*. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur 2015. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau. Sulawesi Selatan.

Kilawati Yuni dan Yunita Maimunah. 2015. *Kualitas Lingkungan Tambak Intensif Litopenaeus vannamei Dalam Kaitannya Dengan Prevalensi Penyakit White Spot Syndrome Virus*. Research journal of life science e-issn : 2355-9926 april-2015 volume 02 no. 01. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Koesharyani Isti dan Lila Gardenia. 2015. *Metode deteksi cepat white spot syndrome virus (wssv) dan infectiuos myonecrosis virus (imnv) menggunakan portabel/mobile Polymerase chain reaction*. Media Akuakultur Vol. 10 No. 1 Tahun 2015: 43-49. Pusat Penelitian Pengembangan Perikanan Budidaya.

Kordi K. 2007. *Pemeliharaan Udang Vannamei*. Surabaya: Indah Surabaya

Kordi K. 2009. *Penanggulangan Hama dan Penyakit Ikan*. Jakarta: PT Rineka Cipta

- Kordi M dan Ghufran. 2010. *Panduan Lengkap Memelihara Ikan Air Tawar di Kolam Terpal*. Yogyakarta (ID): ANDI.
- Mahardika, K., Zafran, I. Koesharyani. 2004. *Deteksi white spot syndrome virus (WSSV) pada udang windu (Penaeus monodon) di Bali dan Jawa Timur menggunakan polymerase chain reaction (PCR)*. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.
- Mahasri G. 2008. Respon imun udang windu (*Penaeus Monodon Fabricius*) Yang diimunisasi dengan protein membran imunogenik mp 38 Dari *Zoothamnium penaei*. Makalah disampaikan pada Seminar Nasional Hasil Riset Kelautan dan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, 08 November 2008. Program Studi Budidaya Perairan, FKH-Unair, Email : [mahasri@unair.ac.id](mailto:mahasri@unair.ac.id)
- Manoppo H, Magdalena E.F. Kolopita. 2014. Respon imun krustase. Review *Artikel Budidaya Perairan*. Vol. 2 No. 2: 22 – 26
- Muliani,. 2007. *Penyebaran dan prevalensi white spot syndrome virus(wssv) pada budi daya udang windu (penaeus monodon)*. Jurnal Riset Akua. Vol. 2 No.2 Tahun 2007. Balai Riset Perikanan Budidaya Air Payau, Maros.
- Mulyani Y, Purwanto A, Nurruhwati I, 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini *Koi Herpes Virus* (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio L.*). Jatinangor : Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran. Jurnal Akuatika, 8(11): 1-16
- Malina C.A.,. 2013. *Isolasi Dan Karakterisasi Gen penyandi Protein Permukaan Pv28 Wssv Pada Udang Windu (Penaeus Monodon Fabricius, 1798)*. Konferensi Akuakultur 2013. Universitas Makassar.
- Mulyani Y.,. 2010. *Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi Koi Herpes Virus Pada Ikan Mas (Cyprinus carpio L.)*. Jurnal Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- Mulyani Y.,. 2012. *Beberapa Metode Stressing Untuk Menginduksi Perkembangan White Spot Syndrome Virus (Wssv) Pada Benur Udang Windu (Penaeus Monodon)*. Jurnal Riset Akuakultur Vol. 7 No. 3 Tahun 2012: 465-475. Balai Penelitian dan Pengembangan Budidaya Air Payau. Sulawesi Selatan.
- OIE. 2003. *Manual for Diagnostic Test Aquatic Animals*. Office International Des Epizootifs. Paris.
- Panjaitan,. 2014. *Pemeliharaan Larva Udang Vaname (Litopenaeus Vannamei, Boone 1931) Dengan Pemberian Jenis Fitoplankton Yang*

- Berbeda.* Jurnal Manajemen Perikanan dan Kelautan Vol. 1 No. 1, Mei 2014, artikel 2. Pasca Sarjana MMP Universitas Terbuka Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan Budidaya.
- Pelczar, M.j. dan E,S,C, Chan. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi II*. Alih bahasa R,S, Hadioetomo, T, Imas, S.S, Tjitrosomo dan S. L. Angka. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pranawaty., 2012. *Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional Dan Real Time PCR Untuk Deteksi White Spot Syndrome Virus Pada Kepiting*. Jurnal Perikanan dan Kelautan. Vol.3, No.4, Desember 2012. ISSN : 2088-3137.
- Prasetyo, A., 2009. Materi Asistensi Biomedik Fakultas Universitas Negeri Semarang. Semarang: Fakultas Universitas Negeri Semarang Pratama.2013. *Pemeriksaan Virus TSV Pada Udang Vannamei Dengan Pendekatan Biomolekuler di BKIPM Kelas II Tanjung Emas Semarang*.
- PUSKARI. 2013. *Pedoman Pemantauan HPI/HPIK Pusat Karantina Ikan*. Jakarta.
- Rahma,. 2014. *Infeksi WSSV pada udang windu yang dipelihara pada salinitas media yang berbeda*. Journal of Aquaculture Management and Technology Volume 3, Nomor 3, Halaman 25-34. Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro.
- Rahmi. 2012. *Deteksi Molekular Vektor Penyebab Wssv Pada Udang Windu (Penaeus Monodon) Di Kabupaten Takalar*. Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Makassar. Volume 1 Nomor 2 Juli-Desember 2012.
- Rohman K., 1995. Mengamati White Spot Secara Seluler. Techner, Edisi 18, Jakarta, Hal.7-9.
- Sriwulan dan Hilal Anshary. 2011. *Deteksi virus penyebab penyakit kerdil pada benih udang windu (penaeus monodon) dengan multipleks pcr*. Jurnal Perikanan (*J. Fish. Sci.*) XIII (1): 1-7 ISSN: 0853-6384. Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Subyakto Slamet,. 2009. *Budidaya Udang Vannamei (Litopenaeus Vannamei) Semiintensif Dengan Metode Sirkulasi Tertutup Untuk Menghindari Serangan Virus*. Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan Vol. 1, No. 2, November 2009. Balai Budidaya Air Payau (BBAP) Situbondo.
- Sukenda dan M.Yuhana. 2009. *Keberadaan White Spot Syndrome Virus (Wssv), Taura Syndrome Virus (Tsv) Dan Infectious Hypodermal*

*Haematopoitic Necrosis Virus (Ihhnv) Di Tambak Intensif Udang Vaname Litopenaeus Vannamei Di Bakauheni, Lampung Selatan.* Keberadaan white spot syndrome virus (WSSV). Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Taslihan A., 2013. *Transmisi White Spot Syndrome Virus dan Penggunaan Barier Fisik Sebagai Upaya Pencegahan.* Jurnal ILMU KELAUTAN September 2013 Vol. 18(3):119-126. Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau.

Tsai Long Y., 2014. *Validation of a Commercial Insulated Isothermal PCR-based POCKIT Test for Rapid and Easy Detection of White Spot Syndrome Virus Infection in Litopenaeus vannamei.* Jurnal National Institutes of Health 10.1371/journal.pone.0090545.

Volk, Wesley dan Wheler, Margaret. 1990. *Virus Diseases.* Edisi kelima. Jilid 2.Jakarta : Erlangga.

WWF Indonesia. 2014. *Budidaya Udang Vannamei dengan Instalasi Pengolahan Air Limbah ( IPAL ) .* Seri Panduan Perikanan Skala Kecil. Jakarta.

Zulfikar,. 2016. *Analisis pengaruh faktor kualitas air terhadap resiko penyakit white spot syndrome virus (wssv) pada udang vannamei (Litopenaeus vannamei) di Kecamatan Peudada Kabupaten Bireuen.* Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

## **DAFTAR DIAGRAM ALIR**

<b>No.</b>		<b>Halaman</b>
3.1.	Prosedur Identifikasi Virus WSSV.....	24
3.2.	Proses Ekstraksi Udang Vannamei.....	26
3.3.	Proses Amplifikasi DNA sampel.....	27
3.4.	Proses Elektroforesis Produk PCR.....	27
3.5.	Proses Ekstraksi DNA Sampel.....	29
3.6.	Proses Amplifikasi Hasil Ekstraksi.....	29

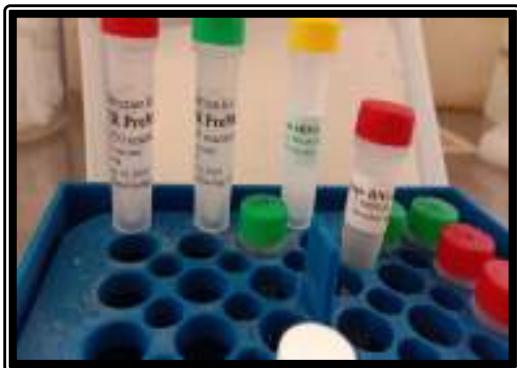
1. Bahan IQ 2000<sup>TM</sup> WSSV



Reagen Ekstraksi IQ 2000



sampel uji



Isi Kit Primer Amplifikasi



Kit Primer Amplifikasi

2. Bahan Portabel Kit



Reagen dan dry primer Portabel Kit

### 3. Alat PCR Konvensional



Microsentrifuge



Oven



Mikropippetor



Vortex Mixer



Thermalcyler



kotak elektroforesis



kotak dokumentasi

#### 4. Alat PCR Portable Kit



Mikrotube dan mikropippet



*Spin Colom*



Spin Down



POCKIT™Nucleic Acid Analyzer

## 5. Proses Ekstraksi PCR Portable Kit



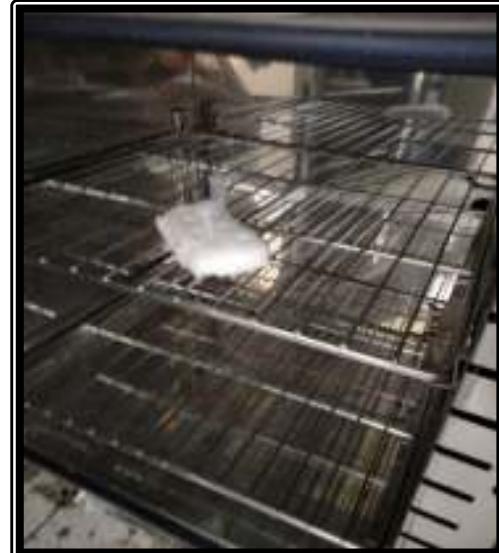
Pippetting reagen



homogenisasi reagen dan sampel



Pemisahan supernatan



Pemanasan larutan ekstraksi

## 6. Proses Amplifikasi PCR Konvensional



Template DNA

proses sentrifuge

menyusun amplikon



Amplifikasi Step I

Amplifikasi Step II

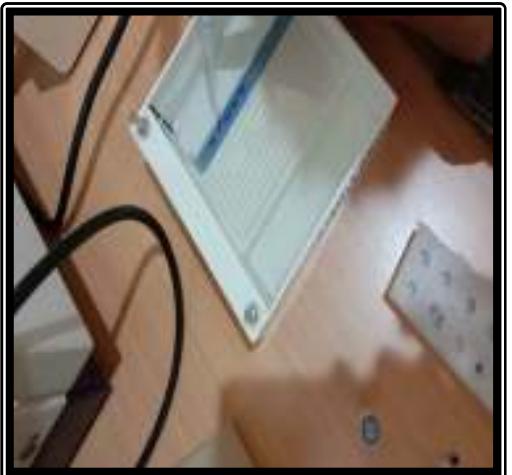
## 7. Proses Elektroforesis dan Interpretasi Hasil PCR Konvensional



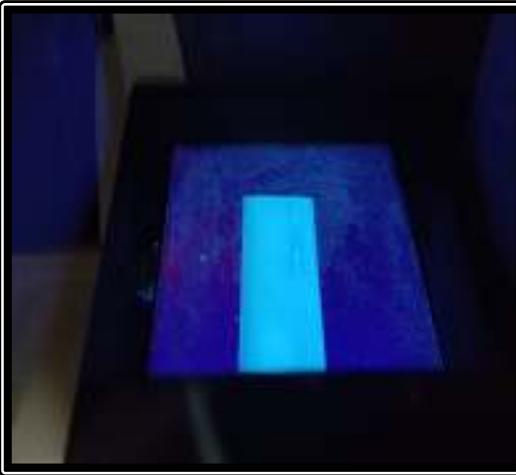
Pembuatan Media Agarosa



Persiapan Penuangan Agarosa



Pippetting DNA Template



Visualisasi pita DNA pada Agarosa

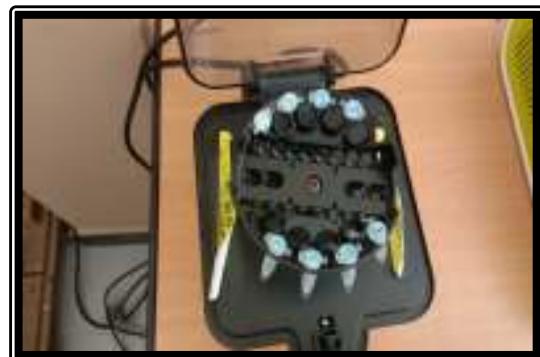
#### 8. Proses Ekstraksi Portable Kit



Persiapan sampel

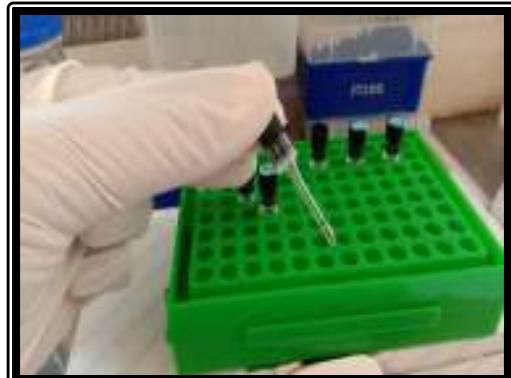


pippetting reagen

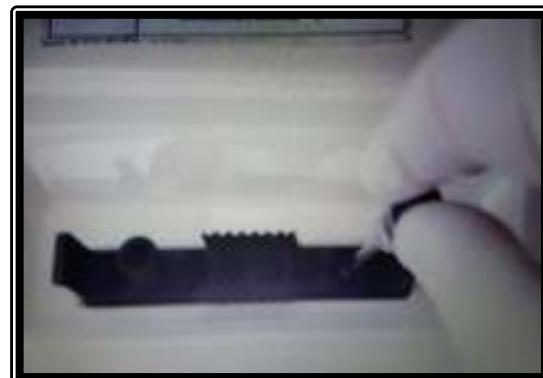


Homogenasi Reagen

#### 9. Proses Amplifikasi dan Interpretasi Hasil PCR Portable Kit



Proses pengisian Spin colom



Penyusunan spin colom pada POKIT



Proses Amplifikasi PCR Portable Kit