

**DETEKSI VIRUS PADA UDANG DENGAN METODE POLYMERASE
CHAIN REACTION (PCR) DI BALAI PENGEMBANGAN BUDIDAYA
AIR PAYAU BANGIL**

PRAKTEK KERJA LAPANG

PROGRAM STUDI S-1 BUDIDAYA PERAIRAN



Oleh :

ULIA FAJRIAH

DURI - RIAU

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2008**



**DETEKSI VIRUS PADA UDANG DENGAN METODE POLYMERASE
CHAIN REACTION (PCR) DI BALAI PENGEMBANGAN BUDIDAYA
AIR PAYAU BANGIL**

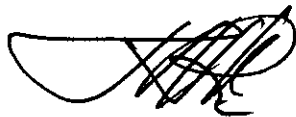
**Praktek Kerja Lapang sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Perikanan pada Program Studi S-1 Budidaya Perairan
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga**

Oleh:

ULIA FAJRIAH
NIM. 060410141 P

Mengetahui,

Ketua Program Studi S-1
Budidaya Perairan



Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B. S., DEA.
NIP. 130 687 296

Menyetujui,

Dosen Pembimbing



Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.
NIP. 131 569 345



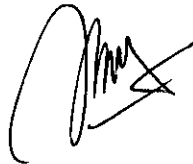
Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa Laporan Praktek Kerja Lapang (PKL) ini, baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Perikanan.

Tanggal Ujian : 2 April 2008

Menyetujui,

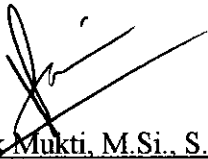
Panitia Penguji,

Ketua



Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.,
NIP. 131 569 345

Sekretaris



A. Taufik Mukti, M.Si., S.Pi.
NIP. 132 295 672

Anggota

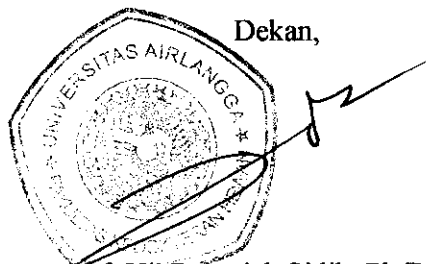


Ir. Yudi Cahyoko, M.Si.
NIP. 131 847 975

Surabaya, 27 juni 2008

Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga

Dekan,



Prof. Hj. Romziah Sidik, Ph.D., Drh.
NIP. 130 687 305



RINGKASAN

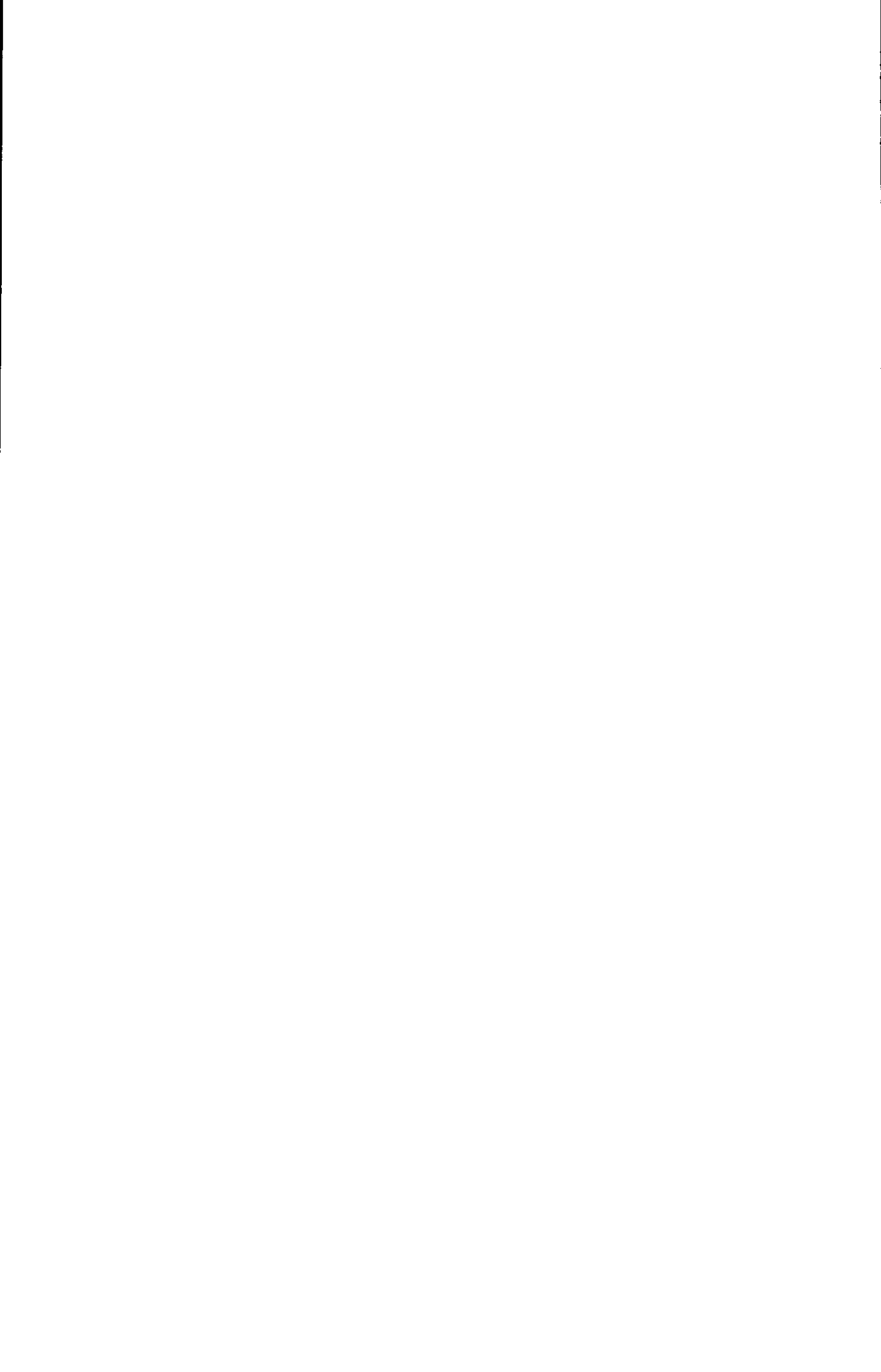
ULIA FAJRIAH. Deteksi Virus pada Udang Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil. Dosen Pembimbing Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.

Meningkatnya arus lalu lintas komoditas perikanan juga dapat memberikan dampak negatif terhadap kelestarian sumberdaya perikanan. Akibat selanjutnya adalah menurunnya produktivitas perikanan, bahkan kegagalan panen karena menurunnya mutu lingkungan dan serangan penyakit. Kegagalan akibat serangan penyakit akibat virus lebih sering terjadi. Bila udang telah terinfeksi oleh virus, kemungkinan besar pembudidaya udang akan mengalami kegagalan panen, sehingga pembudidaya atau petambak mengalami kerugian.

Tujuan dari Praktek Kerja Lapangan yang dilaksanakan pada tanggal 10 Agustus sampai dengan 25 September 2007 di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau, Desa Kalianyar, Kecamatan Bangil, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur ini adalah untuk menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan pemeriksaan terhadap penyakit virus pada udang.

Metode yang digunakan dalam Praktek Kerja Lapangan ini adalah metode diskriptif, dengan pengambilan data yang meliputi data primer dan data sekunder. Pengambilan data ini dengan melakukan pengamatan atau pencatatan hasil observasi, wawancara dan partisipasi aktif. Selain itu data juga dapat diperoleh dari data dokumentasi, lembaga penelitian, pustaka, laporan pihak swasta dan masyarakat.

Penyakit virus pada udang dideteksi menggunakan *Polymerase Chain Reaction (PCR)* dengan metode IQ 2000TM yang diadopsi dari *Farming IntelliGene Tech. Corp*, Taiwan. Selama melakukan Praktek Kerja Lapangan, sampel udang yang diperoleh sebagian besar adalah sampel positif *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* dengan tingkatan berat hingga ringan. Selain itu juga diperoleh hasil sampel positif *Taura Syndrome Virus (TSV)* dengan tingkat serangan ringan dan negatif *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)*.



SUMMARY

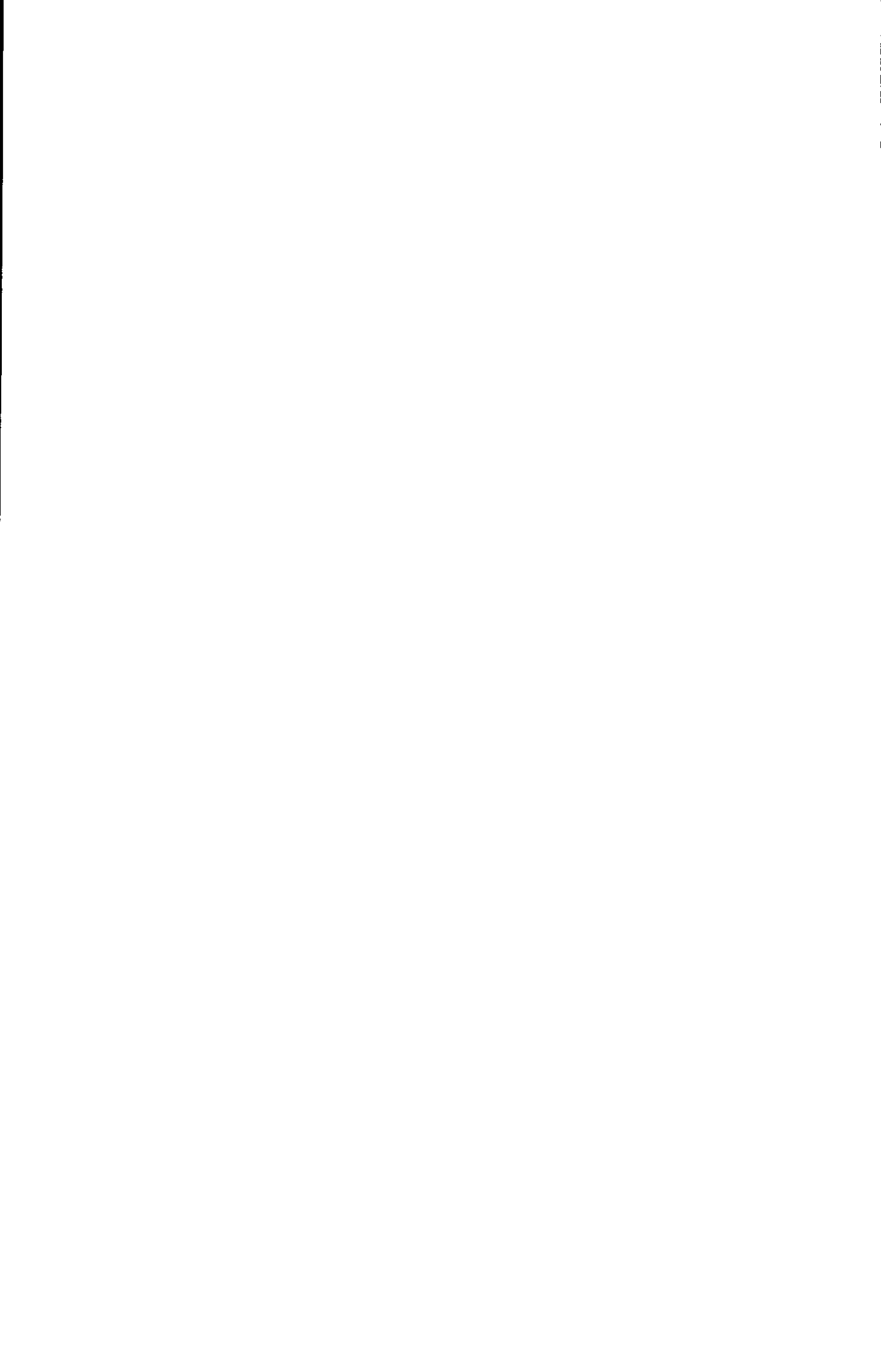
ULIA FAJRIAH. Virus Detection of Shrimp Using Polymerase Chain Reaction (PCR) Method at Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil. Lecturer of Councelor Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si.

Increase of fisheries commodity traffic has given negative effect for fisheries resources conservation. The next effect is decrease of fisheries productivity, even harvest failure because of environmental decrease and disease attacked. Failure which is cause by disease attacked especially virus is often happened. If many shrimps have invected by virus, shrimp farmer would get harvest failure and they would get loss.

The purpose of field job practice which is done on August 10th to September 25th 2007 at BPBAP, Kalianyar village, District Bangil, Residence Pasuruan, East Java was to get knowledge and experience in doing virus disease examination on shrimp.

Work method which used in field job practice was descriptive method with data collection technique include primary and secondary data. Data collection was conducted by observation, interview and active participation. However data can collected with data documentation, libraries, foreign and people report.

Detection of virus disease on shrimp was done by PCR examination using IQ 2000[™] method which is adopted from Farming Intelligence Tech. Corp Taiwan. During field job practice, mostly achieved samples is White Spot Syndrome Virus (WSSV) positive sample with heavy level until light level. Achieved samples also Taura Syndrome Virus (TSV) positive samples with light level attacked and Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) negative.



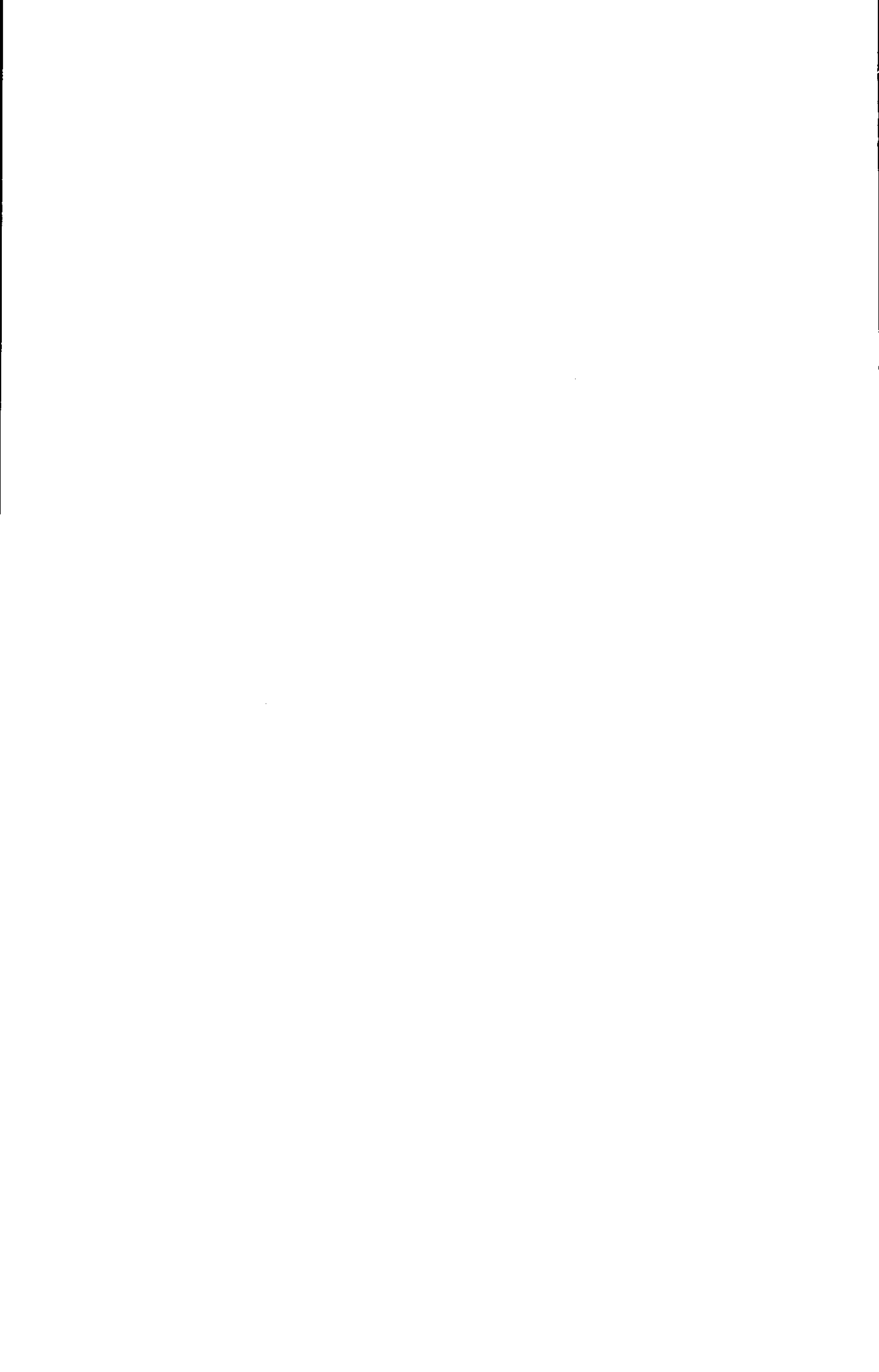
KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga Praktek Kerja Lapang tentang Deteksi Virus pada Udang Dengan Metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)* di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil ini dapat diselesaikan. Laporan ini disusun berdasarkan hasil Praktek Kerja Lapang yang telah dilaksanakan di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau pada tanggal 10 Agustus sampai dengan 25 September 2007.

Penulis menyadari bahwa Praktek Kerja Lapang ini masih belum sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan kesempurnaan laporan di masa mendatang. Penulis berharap laporan Praktek Kerja Lapang ini dapat bermanfaat dan memberikan informasi yang berguna bagi semua pihak. Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih.

Surabaya, 27 Desember 2007

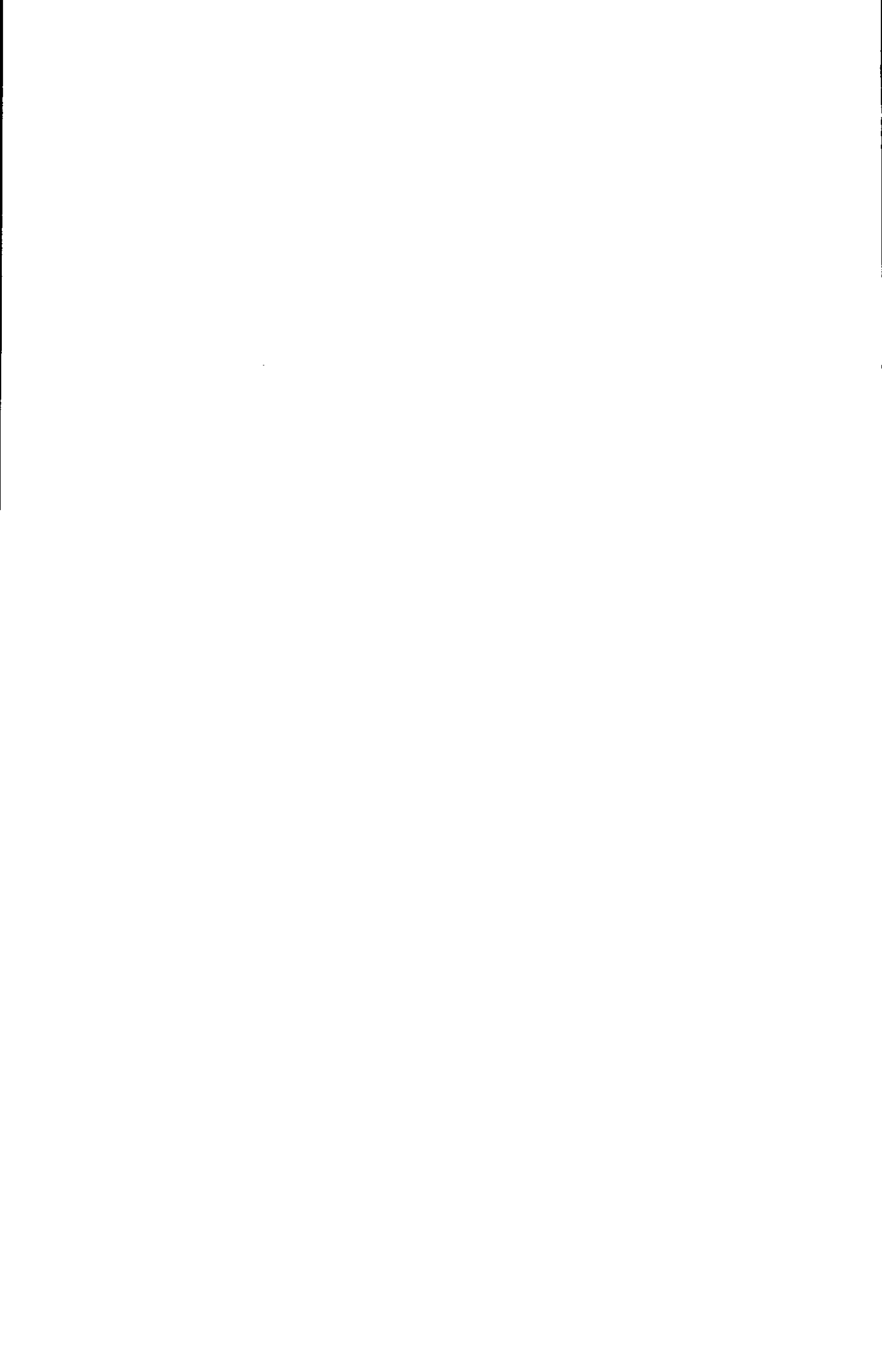
Penulis



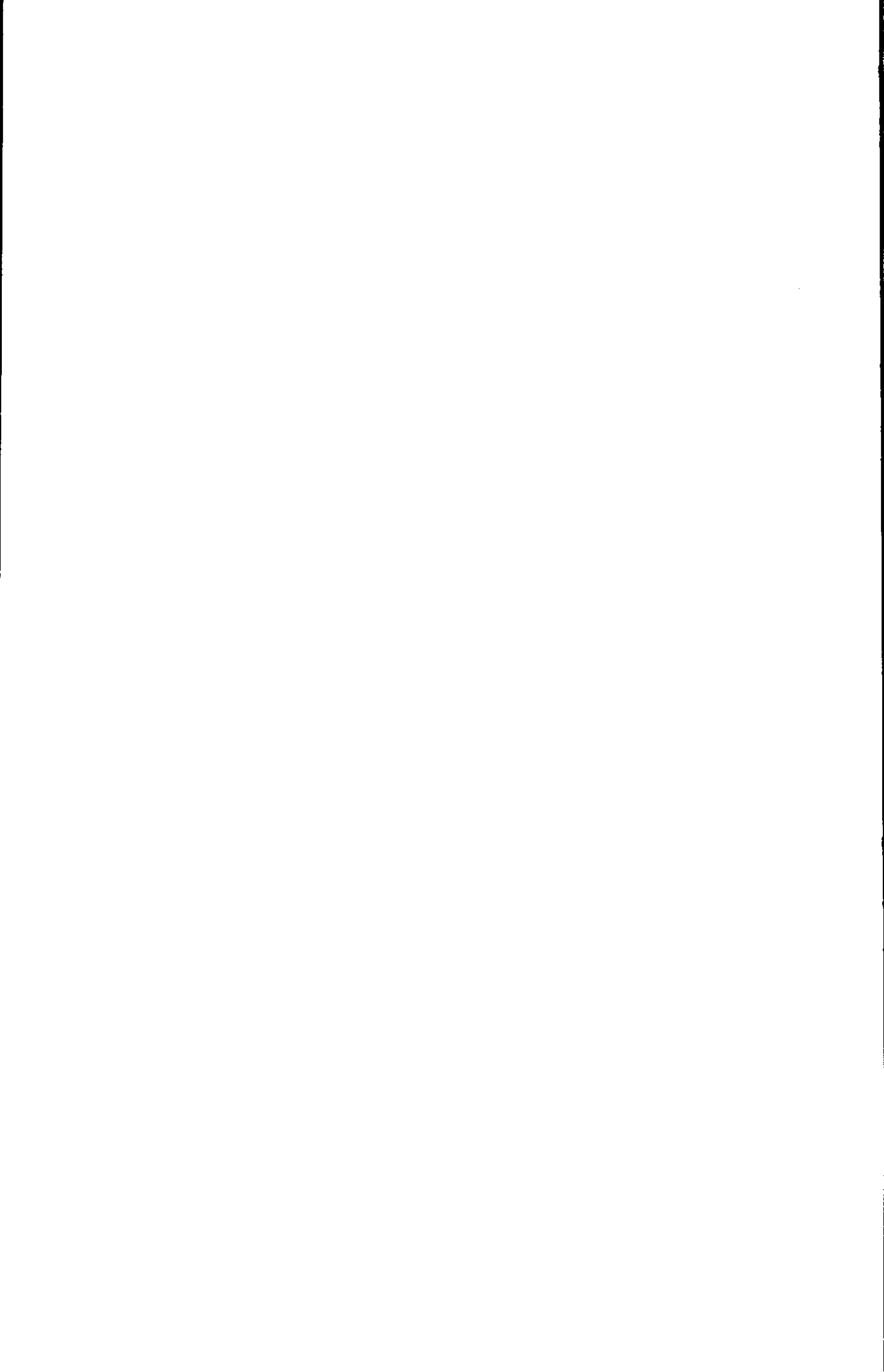
UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Praktek Kerja Lapang ini banyak melibatkan orang – orang yang sangat berarti bagi penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat serta ribuan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Drh. Hj. Sri Subekti B. S., DEA., selaku Ketua Program Studi S 1 Budidaya Perairan Universitas Airlangga.
2. Ibu Ir. Wahyu Tjahjaningsih, M.Si., selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan petunjuk dan bimbingannya sejak penyusunan usulan hingga penyelesaian laporan PKL ini.
3. Bapak A. Taufik Mukti, M.Si., S.Pi. dan Bapak Ir. Yudi Cahyoko, M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyempurnaan laporan PKL ini.
4. Ibu Ir. Ninik Setyorini, MT., selaku Kepala Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan PKL di BPBAP Bangil.
5. Ibu Lilia Widajatiningrum, S.Pi., selaku Manajer Teknik Laboratorim Penguji yang telah memberi bimbingan selama melaksanakan PKL ini.
6. Mbak Khusnah, Mbak Rini, dan Mbak Rena, selaku pembimbing lapangan yang telah memberikan arahan dan pengetahuan yang tidak diperoleh pada bangku kuliah selama melaksanakan PKL ini.
7. Bapak dan Ibu karyawan Balai Pengembangan Budidaya Air Payau yang banyak membantu selama melaksanakan PKL.

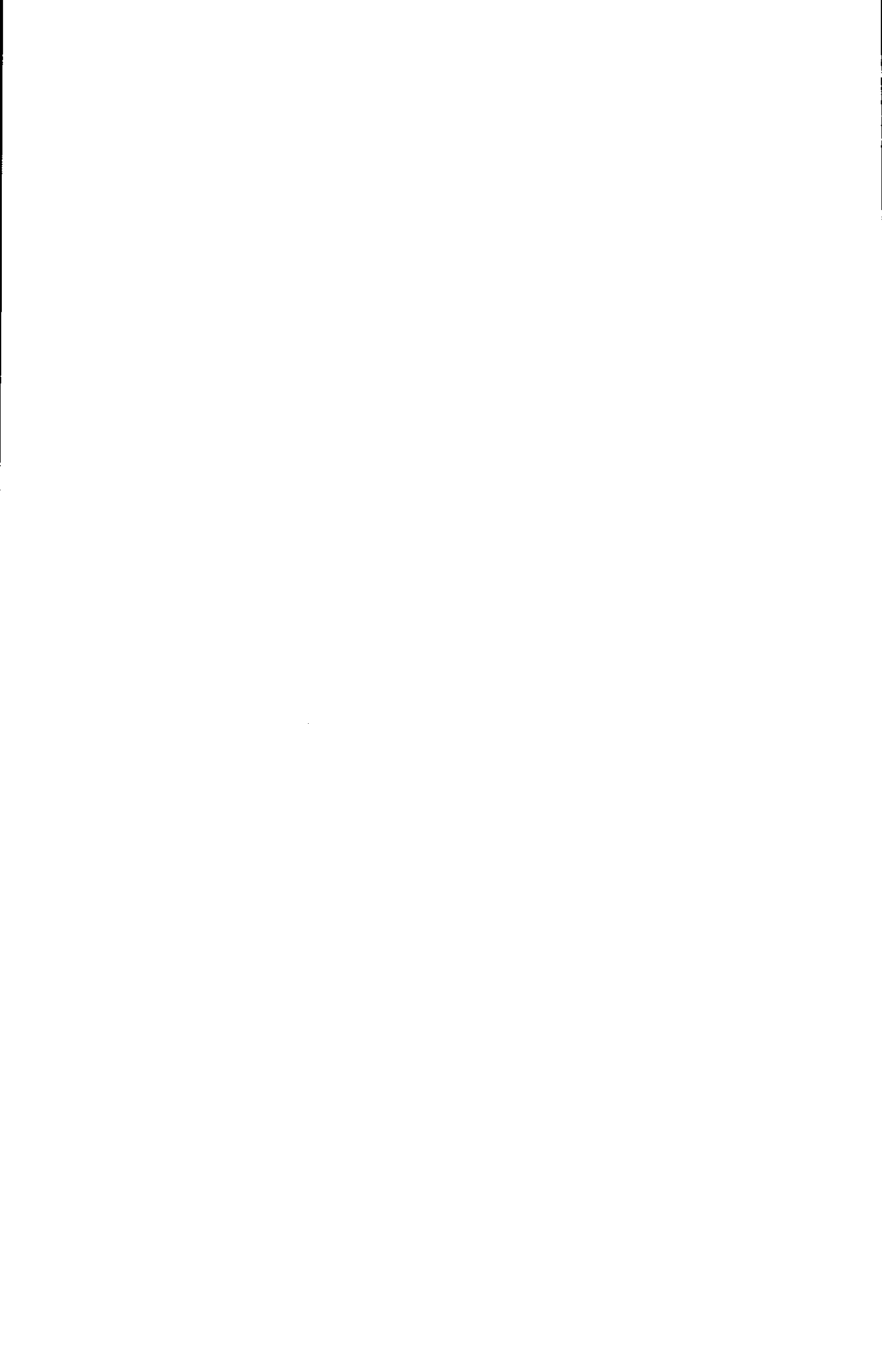


8. Bapak, Ibu dan adikku terkasih yang tidak putus-putusnya memberikan doa dan motivasi serta semangatnya hingga selesainya PKL ini (khusus untuk bapak yang tidak bosan-bosan menjadi alarm setiap pagi).
9. Buat teman seperjuangan di BPBAP Bangil, Mbak Kiki, Mbak Ma, Titin dan Ucup (terima kasih bantuan dan kegilaanya selama PKL), serta teman-teman BP 04, yang ikut membantu dalam pelaksanaan dan penyelesaian PKL ini.

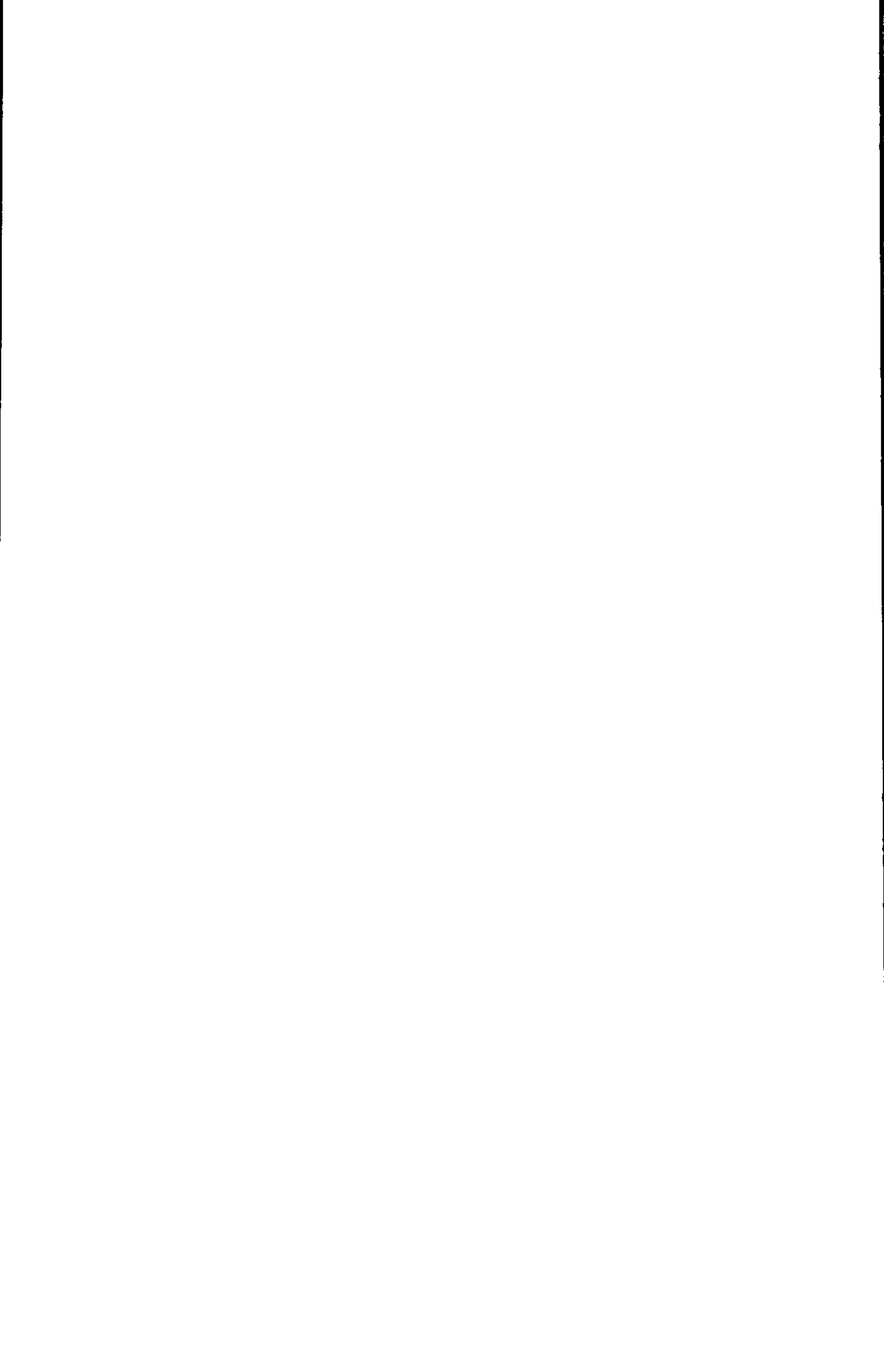


DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iv
SUMMARY	v
KATA PENGANTAR	vi
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Kegunaan	2
II. STUDI PUSTAKA	4
2.1 Struktur Virus	4
2.2 Replikasi Virus	6
2.3 Virus pada Organisme Akuatik	8
2.4 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	8
III. PELAKSANAAN KEGIATAN	11
3.1 Tempat dan Waktu	11
3.2 Metode Kerja	11
3.3 Metode Pengumpulan Data	11
3.3.1 Data Primer	11
3.3.2 Data Sekunder	12
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Keadaan Umum Lokasi Praktek Kerja Lapang	14
4.1.1 Sejarah BPBAP Bangil	14
4.1.2 Struktur Organisasi	15
4.1.3 Letak Geografis dan Keadaan Alam Sekitar Lokasi	17
4.1.4 Sarana dan Prasarana	18

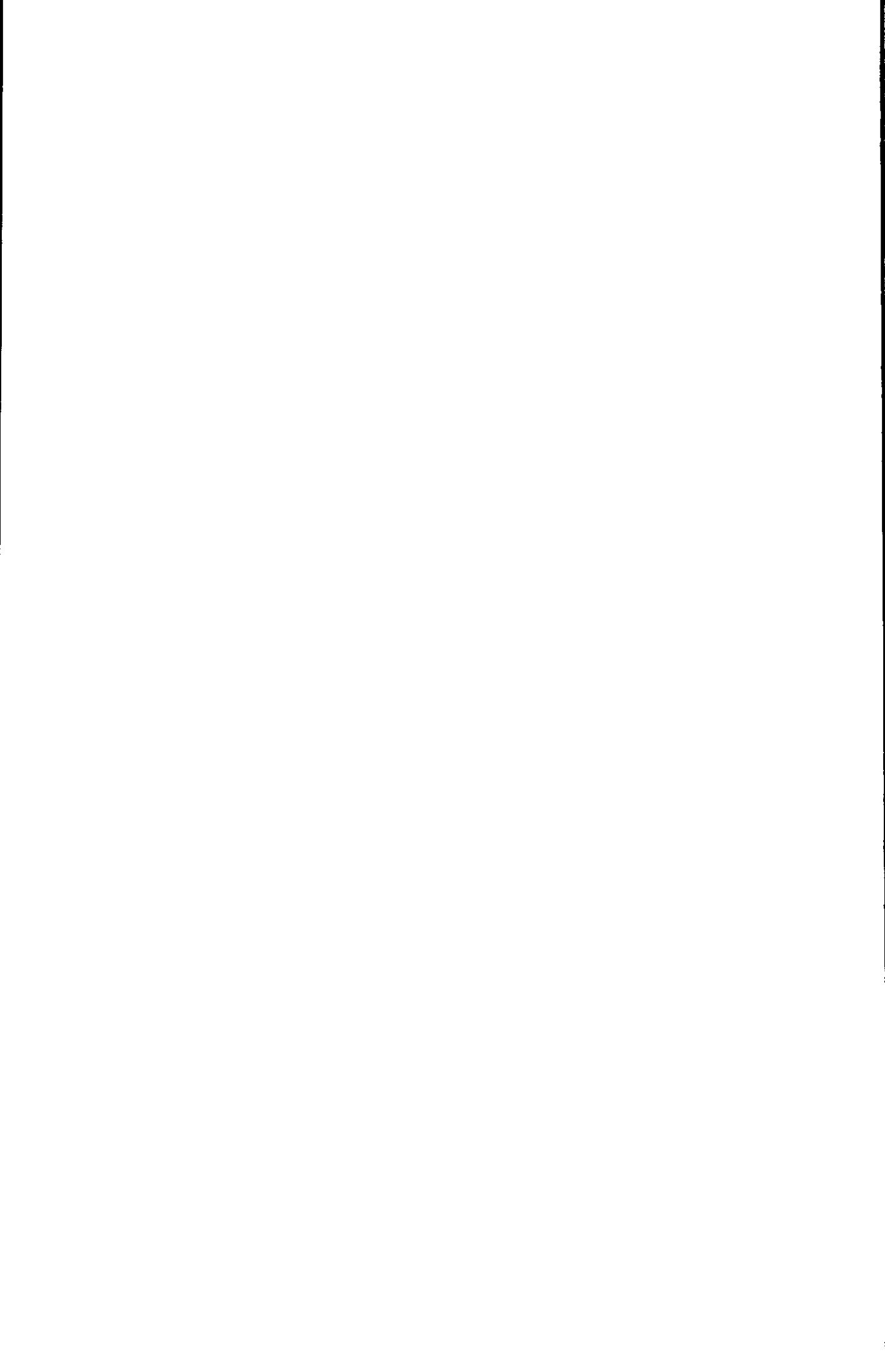


4.2 Kegiatan Uji Laboratoris Virologi	18
4.2.1 Alat dan Bahan	18
4.2.2 Persiapan Sampel	21
4.2.3 Prosedur Kerja PCR	24
4.2.4 Hasil Pembahasan	29
V. SIMPULAN DAN SARAN	37
5.1 Simpulan	37
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	41



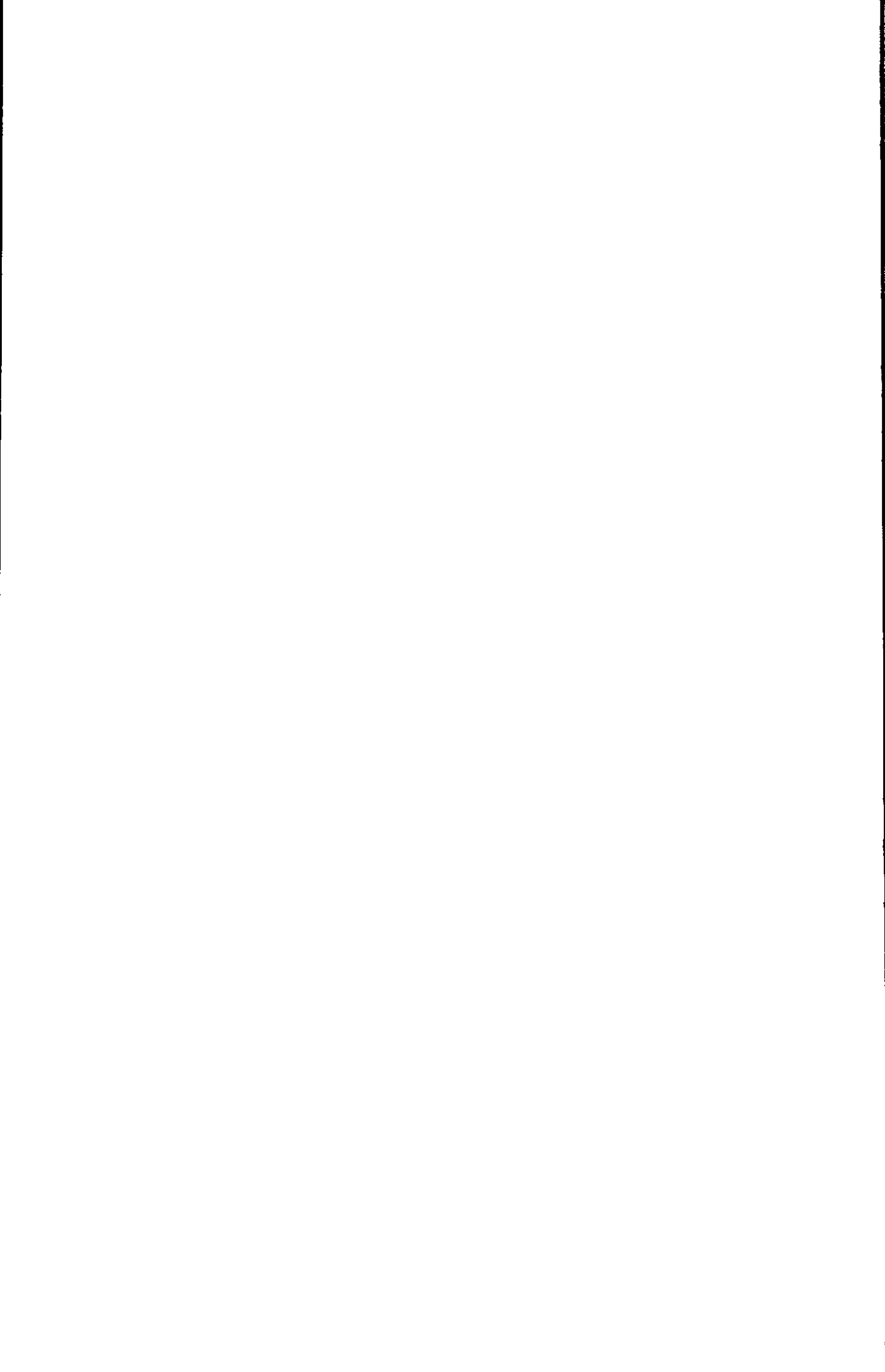
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sarana berupa alat PCR beserta fungsinya	19
2. Sarana berupa bahan PCR beserta fungsinya	20



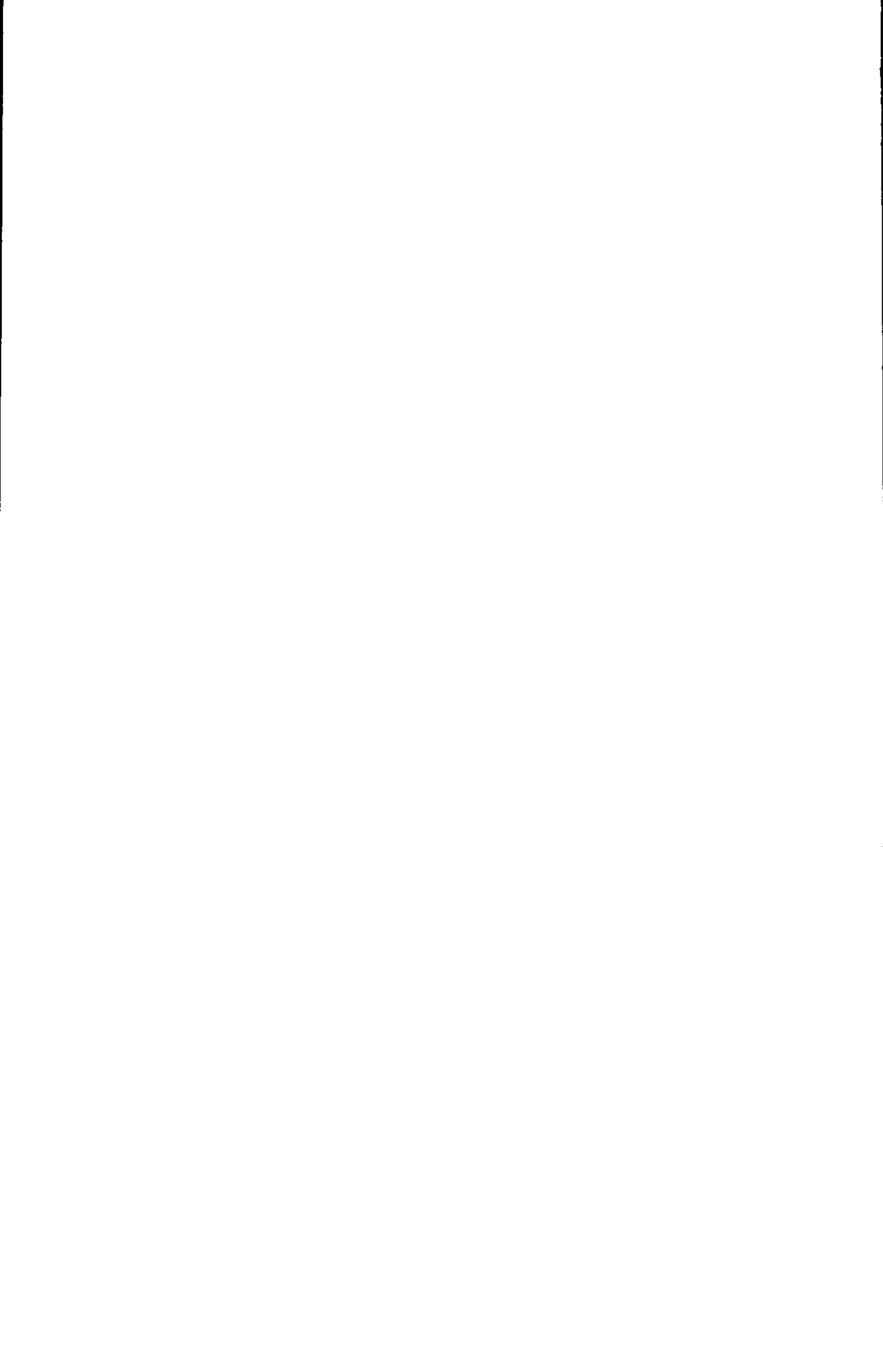
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur tubuh bakteriofag	4
2. Berbagai – macam bentuk virus	5
3. <i>Autoclave</i> untuk sterilisasi basah	22
4. Oven untuk sterilisasi kering	22
5. Sentrifuse	25
6. Ekstraksi DNA dari sampel udang	26
7. Thermocycle, alat amplifikasi DNA	27
8. Proses memasukkan produk PCR dalam sumuran	28
9. Mesin elektroforesis	29
10. Pengamatan gel pada <i>UV Transilluminator</i>	29
11. Bentuk WSSV	30
12. Band Hasil PCR WSSV	31
13. Bentuk TSV	32
14. Sampel udang yang positif berat TSV	33
15. Band hasil PCR TSV	34
16. Bentuk IHHNV	35
14. Band hasil PCR IHHNV	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan struktur organisasi BPBAP Bangil	41
2. Denah lokasi BPBAP Bangil	42
3. Prasarana yang terdapat di BPBAP Bangil	43



BAB I

PENDAHULUAN



I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berkembangnya usaha perikanan Indonesia baik di bidang budidaya, penangkapan maupun pengolahan hasil perikanan sangat membawa dampak yang positif terhadap perekonomian nasional, sehingga dapat memberikan sumbangan pendapatan negara yang cukup tinggi. Hal ini ditandai dengan semakin meningkatnya arus lalu lintas komoditas perikanan (Rahajanto, 2006).

Meningkatnya arus lalu lintas komoditas perikanan juga dapat memberikan dampak negatif terhadap kelestarian sumberdaya perikanan. Tingginya permintaan terhadap komoditas perikanan menyebabkan pembangunan perikanan yang tidak terkontrol, sehingga mengabaikan daya dukung lingkungan sekitarnya. Akibat selanjutnya adalah menurunnya produktivitas perikanan, bahkan kegagalan panen karena menurunnya mutu lingkungan dan serangan penyakit. Kegagalan akibat serangan penyakit lebih sering terjadi (Rukyani dan Sunarto, 1997).

Serangan penyakit yang sangat berbahaya bagi komoditas perikanan adalah serangan virus. Bila ikan telah terinfeksi oleh virus, kemungkinan besar petani ikan akan mengalami kegagalan panen, sehingga pembudidaya atau petambak mengalami kerugian. Murdjani dkk. (2003) menjelaskan beberapa jenis virus yang umum menyerang budidaya ikan adalah Nodavirus, Iridovirus dan Reovirus, sedangkan pada crustacea diantaranya *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*, *Yellow Head Virus (YHV)*, *Monodon Baculo Virus (MBV)*, *Infectious Hypodermal and Haematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)*, dan *Taura Syndrome*



Virus (TSV). Infeksi virus sangat cepat dan adanya infeksi sekunder yang disebabkan oleh bakteri ataupun parasit dapat menyebabkan ikan menjadi lemah.

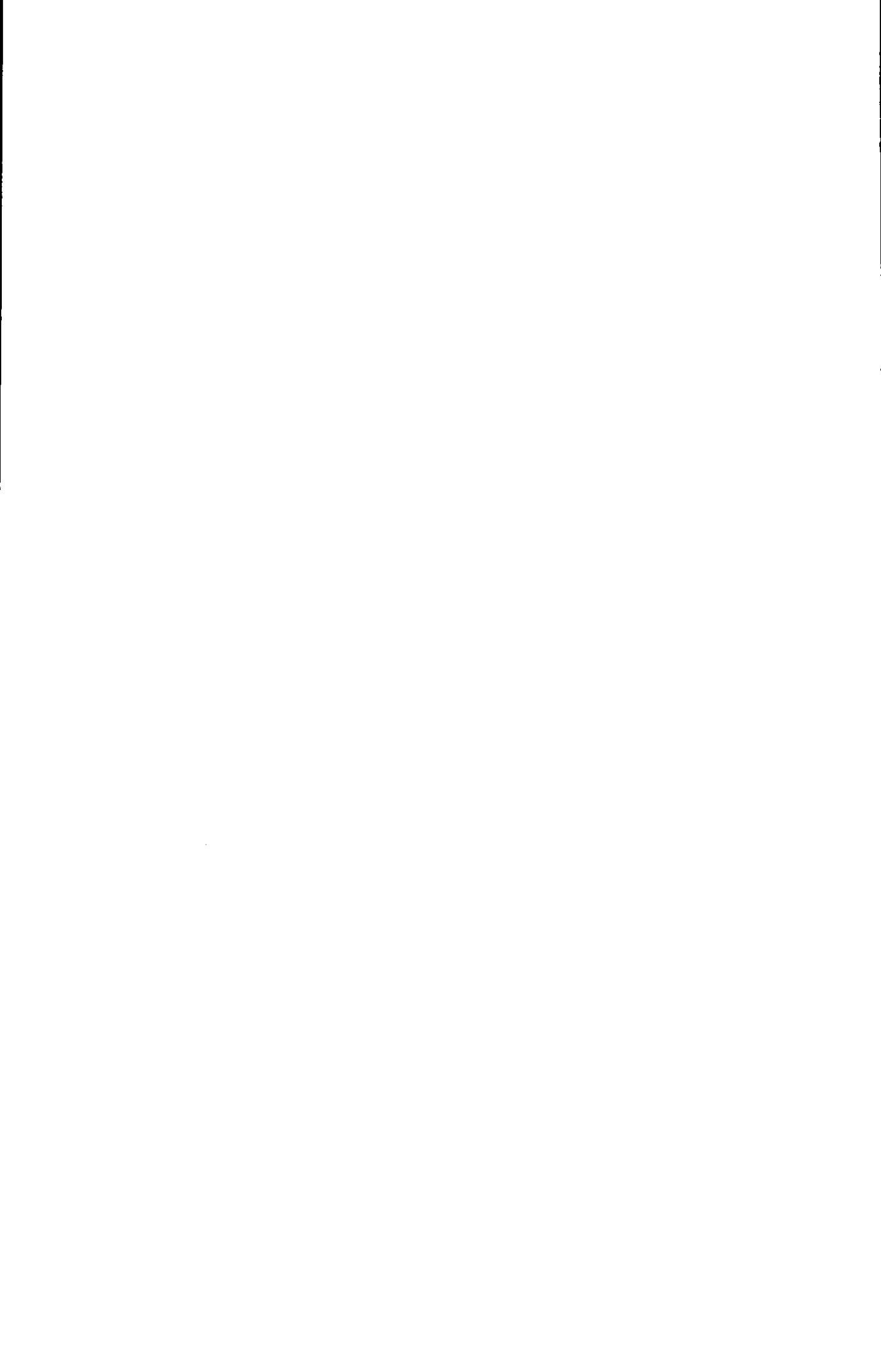
Deteksi dini infeksi virus adalah hal yang sangat penting dilakukan untuk menghindari penyebaran yang semakin luas. Deteksi tersebut dapat dilakukan dengan pemeriksaan yang lebih lanjut di laboratorium dengan pengenalan virus yang menyebabkan penyakit pada komoditas perikanan. Handajani dan Samsundari (2005) mengemukakan bahwa pemeriksaan terhadap penyakit ikan yang disebabkan oleh virus dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu penggunaan kultur jaringan (*tissue culture*), identifikasi secara serologis, elektron mikroskopis, biologi molekuler dan imuno-serologi. Salah satu metode yang digunakan untuk deteksi virus adalah metode *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. Praktek Kerja Lapang pada Laboratorium Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil Pasuruan dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari metode tersebut.

1.2 Tujuan

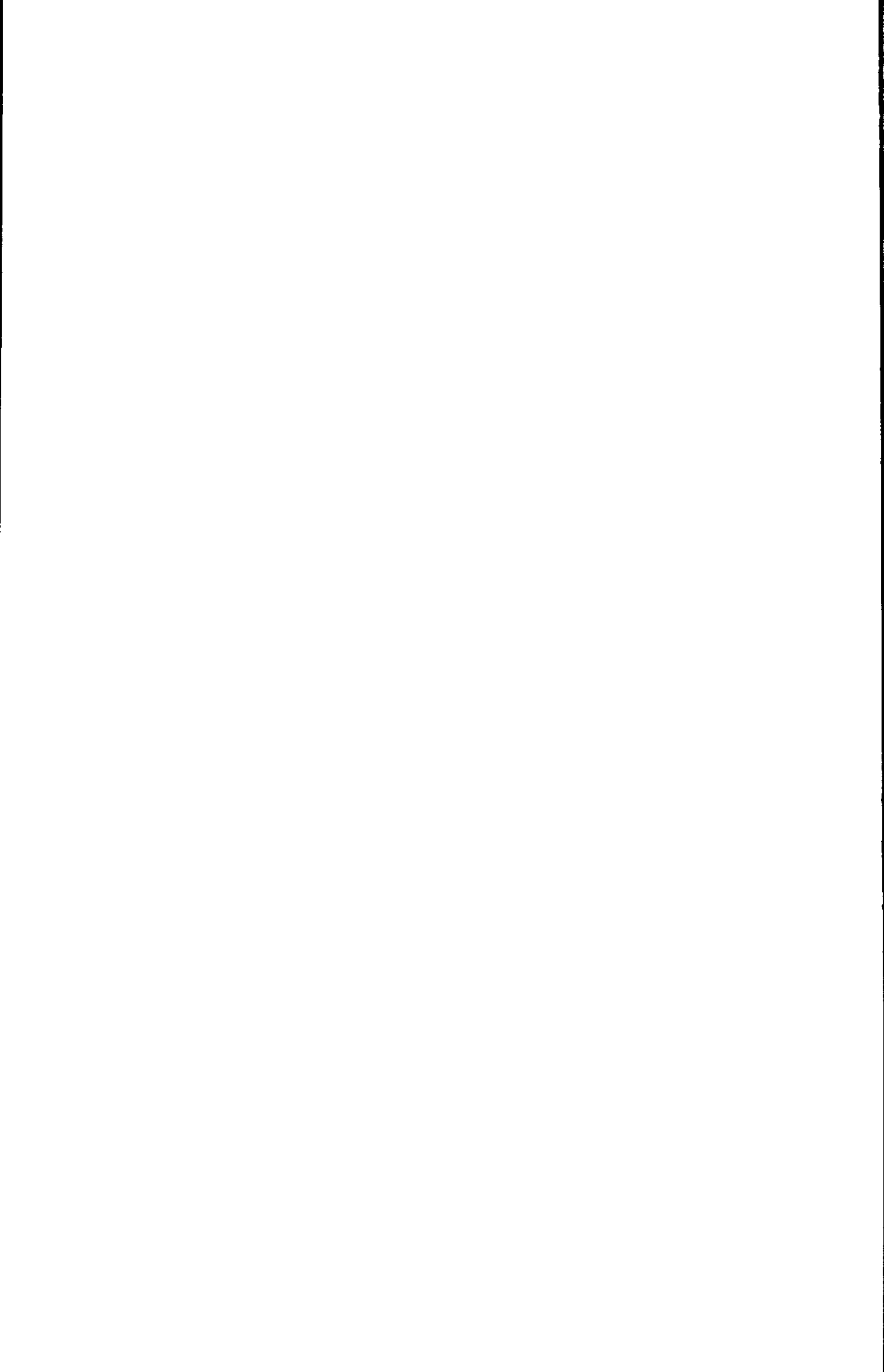
Tujuan dari Praktek Kerja Lapang yang dilaksanakan di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau ini adalah untuk menambah pengetahuan dan pengalaman dalam melakukan pemeriksaan terhadap penyakit virus pada komoditas perikanan.

1.3 Kegunaan

Diharapkan melalui Praktek Kerja Lapang mahasiswa mendapat gambaran secara langsung tentang lingkungan kerja yang sebenarnya, meningkatkan

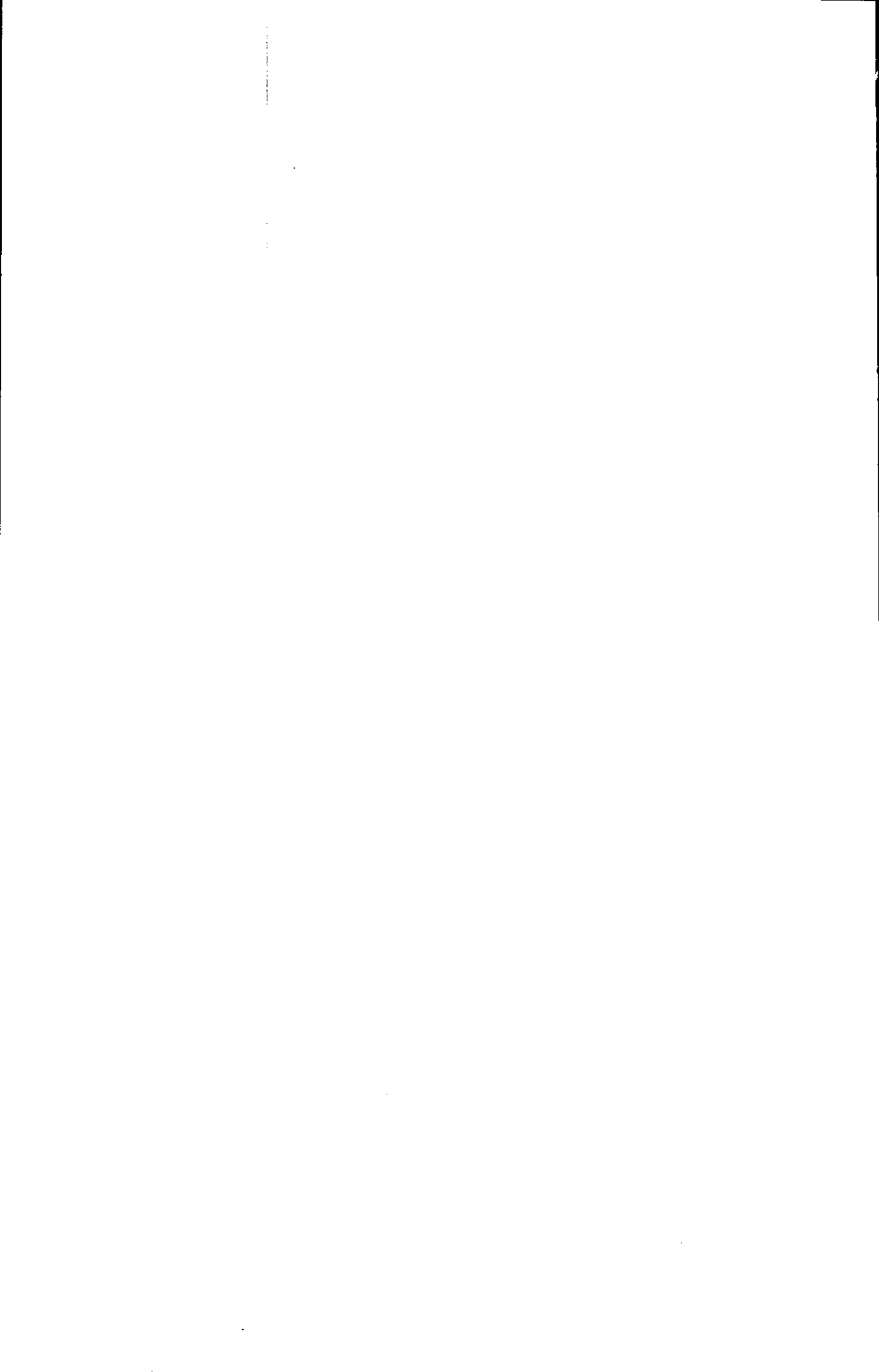


pengetahuan dan keterampilan kerja mahasiswa di lapangan mengenai pemeriksaan virus yang terdapat pada udang.



BAB II

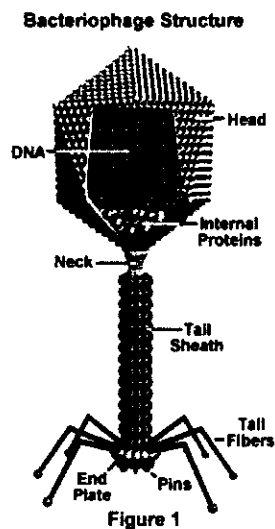
STUDI PUSTAKA



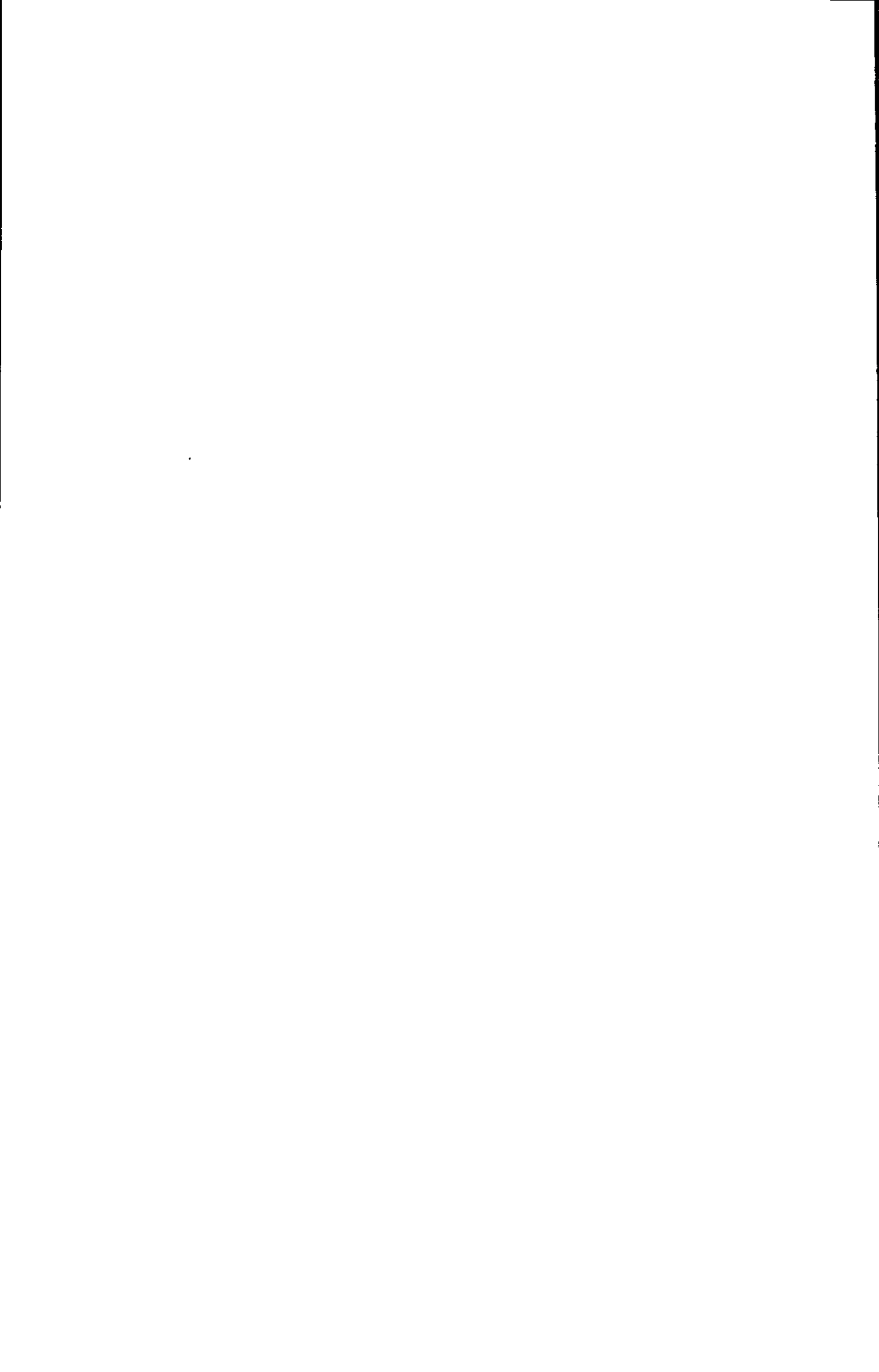
II STUDI PUSTAKA

2.1 Struktur Virus

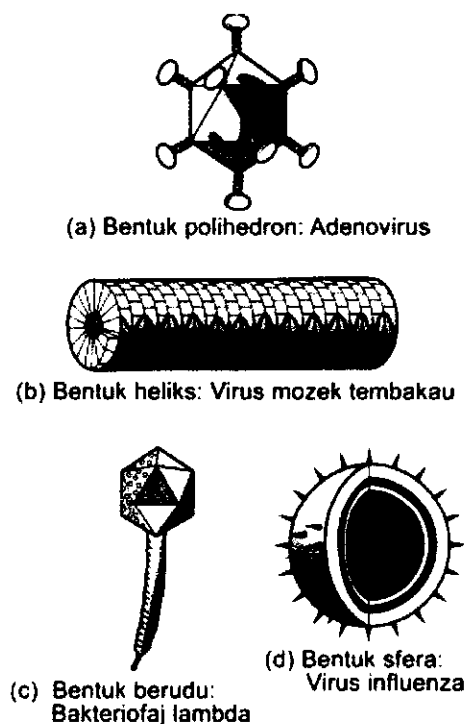
Virus berasal dari bahasa latin yang berarti toksik atau racun yaitu partikel mikroskopis (dengan ukuran bekisar antara 20-300 nm) yang dapat menginfeksi sel suatu organisme. Virus tidak dapat bereproduksi sendiri, tetapi bereplikasi pada sel inangnya. Virus terdiri dari materi genetik yang dilindungi selubung potein yang disebut kapsid. Kapsid tersusun atas molekul protein yang disebut kapsomer (Doerder, 2007). Fenner *et al.* (1995) mengemukakan bahwa virus tersusun atas selubung protein yang disebut kapsid yang terdiri dari satu atau lebih protein yang menyelubungi asam nukleat virus. Kapsid dan asam nukleat terkait selanjutnya membentuk nukleokapsid. Pada beberapa virus, kapsid terbungkus oleh amplop lipoprotein. Gambaran struktur tubuh virus, misalnya bakteriofag dapat dilihat pada Gambar 1.



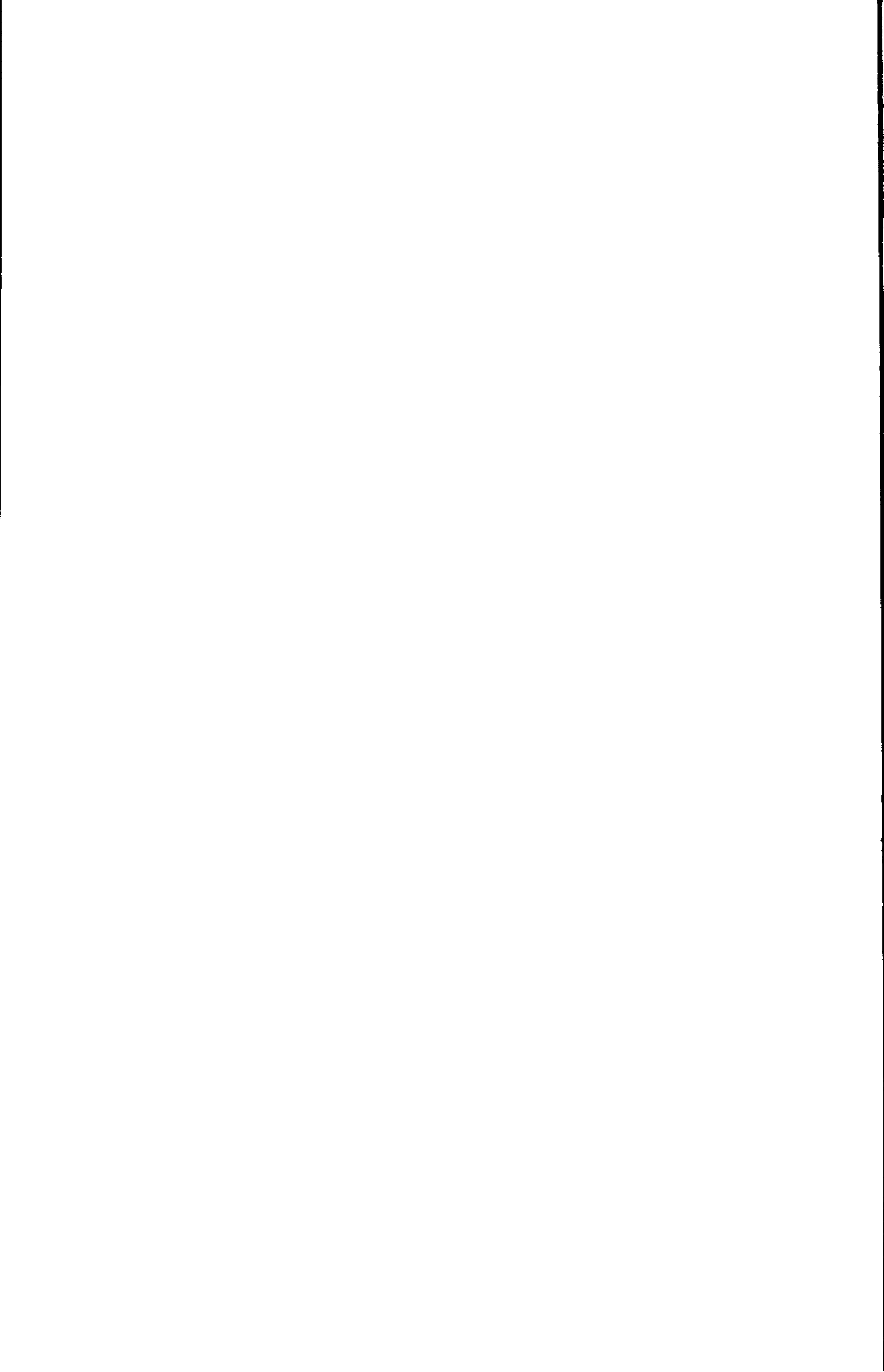
Gambar 1. Struktur tubuh bakteriofag (Sumber: Davidson, 2005)



Murdjani dkk. (2003) menjelaskan virus merupakan organisme sederhana yang bersifat obligat parasit dan dapat menyerang serta dapat memperbanyak diri pada inangnya. Berdasarkan materi genetik yang dikandungnya, virus mengandung hanya satu tipe asam nukleat, *Deoxyribonucleic Acid (DNA)* atau *Ribonucleic Acid (RNA)* yang dapat berbentuk untaian tunggal atau ganda. Berdasarkan kandungan asam nukleat tersebut, virus dapat dibedakan menjadi virus DNA dan virus RNA, tidak ada virus yang memiliki asam nukleat kombinasi dari kedua asam nukleat tersebut. Terdapat berbagai macam bentuk virus yaitu berbentuk batang, oval, icosahedral heliks dan polihedral dan virus bakteriofag yang memiliki bentuk seperti huruf T (Irianto, 2006). Berbagai macam bentuk virus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Berbagai macam bentuk virus (Sumber: Irianto, 2006)



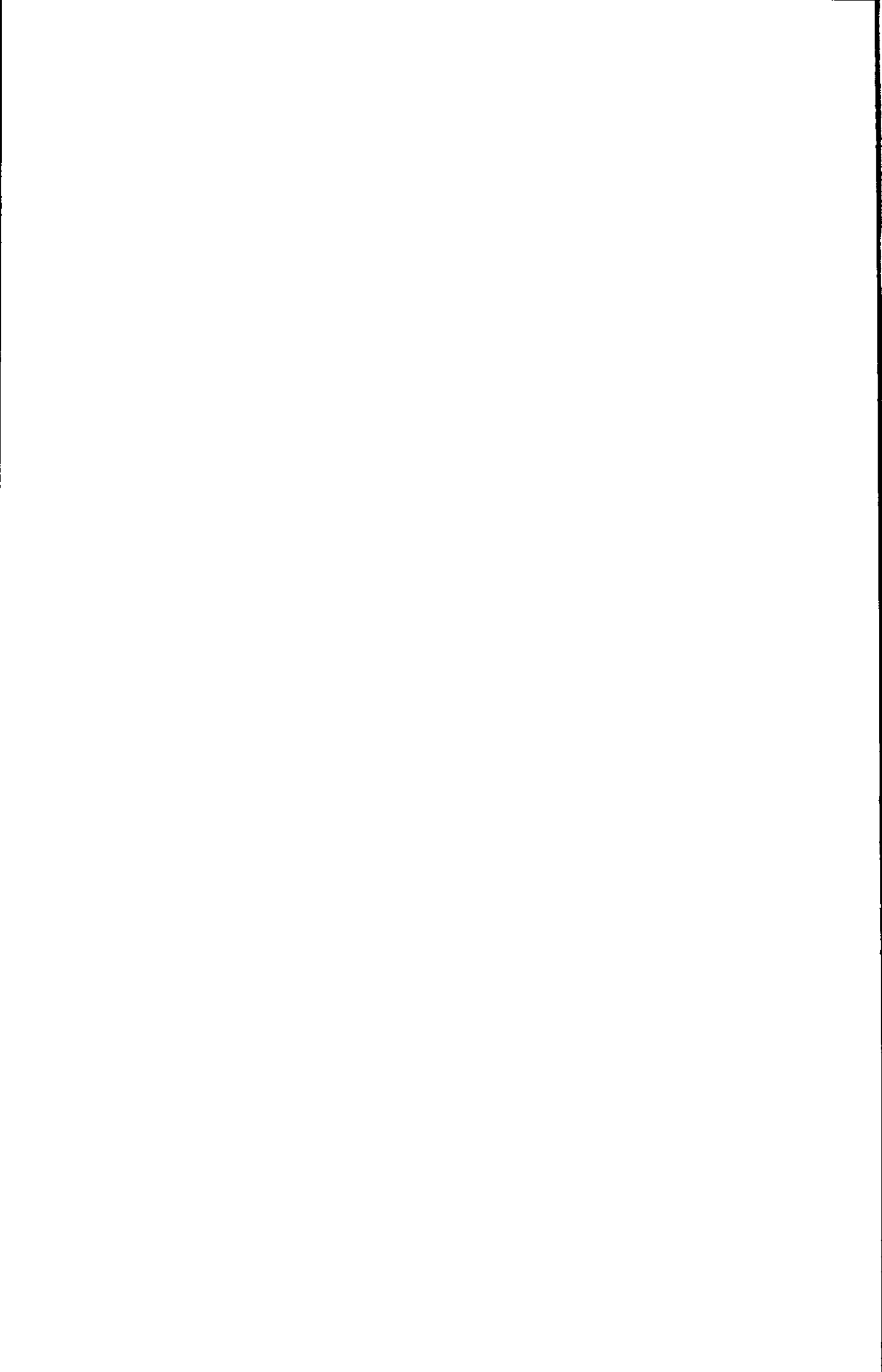
Irianto (2006) berpendapat bahwa virus adalah partikel berukuran sangat kecil yang dapat menginfeksi hampir semua organisme. Ukuran virus sekitar 20-300 nanometer yang jauh lebih kecil dibandingkan bakteri yang berukuran sepuluh milimeter. Virus bukanlah sel karena ukurannya sangat kecil, dapat dikristalkan, tidak memiliki sitoplasma dan tidak memiliki organela yang membantu dalam metabolisme, seperti pada sel. Satu unit lengkap virus yang mampu menginfeksi organisme hidup disebut virion.

Virus memiliki sebagian sifat yang dapat menyatakannya sebagai makhluk hidup. Virus yang tidak berada pada sel hidup maka virus akan mengkristal dan tidak akan tumbuh, berkembang biak ataupun mati. Dengan demikian virus tidak diklasifikasikan kedalam kerajaan hewan atau tumbuhan, namun memiliki klasifikasi tersendiri (Doerder, 2007).

2.2 Replikasi Virus

Populasi virus tidak dapat berkembang tanpa sel inangnya. Virus memanfaatkan bagian sel dan hasil metabolisme inangnya untuk memperbanyak diri. Virus yang masih dapat mengakibatkan efek merusak pada sel inang tanpa menyebabkan sel inang tersebut mati, hal itu disebut *cytopathic effects* (Doerder, 2007).

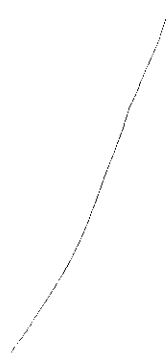
Virus tidak memiliki enzim untuk melakukan metabolisme dan tidak memiliki ribosom atau peralatan lainnya untuk membuat proteinnya sendiri. Virus yang terisolasi tidak dapat bereproduksi dan hanya merupakan paket-paket yang berisi sekumpulan gen yang berpindah dari satu sel inang ke sel inang lainnya (Campbell *et al.*, 2002). Fenner *et al.* (1995) menjelaskan, replikasi virus terdiri



dari tujuh tahapan utama yaitu perlekatan, penetrasi, pelepasan selubung, transkripsi dan translasi, sintesa komponen virus baru, perakitan dan pelepasan.

Tahapan perlekatan pada replikasi virus dapat dijelaskan bahwa partikel virus harus mampu berikatan dengan reseptor pada permukaan sel inang untuk menimbulkan infeksi. Salah satu bagian pada permukaan molekul yang khusus dari virion mengikat reseptor pada membran plasma sel inang. Tahapan penetrasi, virion masuk ke dalam sel melalui satu dari dua mekanisme utama yaitu dengan penelanan virion secara utuh ke dalam sel atau bergabungnya amplop virus dengan membran plasma sel, sehingga nukleokapsid dapat masuk. Tahapan pelepasan selubung, diperlukan virion yang tidak berselubung atau berselubung sebagian agar gen virus dapat ditranskripsi. Pelepasan selubung melepaskan asam nukleat dari kapsid, sehingga dapat bereplikasi (Fenner *et al.*, 1995).

Kemudian asam nukleat pada tahapan transkripsi akan diterjemahkan oleh mRNA dari sel. Gen mRNA kemudian ditranslasi menjadi protein virus yang baru. Protein virus yang baru akan diproduksi menjadi selubung kapsid telanjang. Tahapan sintesa komponen virus baru dilakukan untuk memproduksi lebih banyak asam nukleat virus. Pada tahap ini virus tidak bersifat infeksius sampai terbentuk virion baru. Pada tahapan perakitan komponen virus menjadi nukleokapsid terjadi setelah replikasi asam nukleat virus. Protein dari virus berikatan secara spontan untuk membentuk kapsomer, yang merakit sendiri untuk membentuk kapsid yang di dalamnya asam nukleat virus dikemas, kemudian terjadi pelepasan virion yang ini merupakan tahap akhir dalam multiplikasi virus. Tahapan pelepasan ini, terdapat ribuan partikel virus yang siap dikeluarkan dari membran plasma.



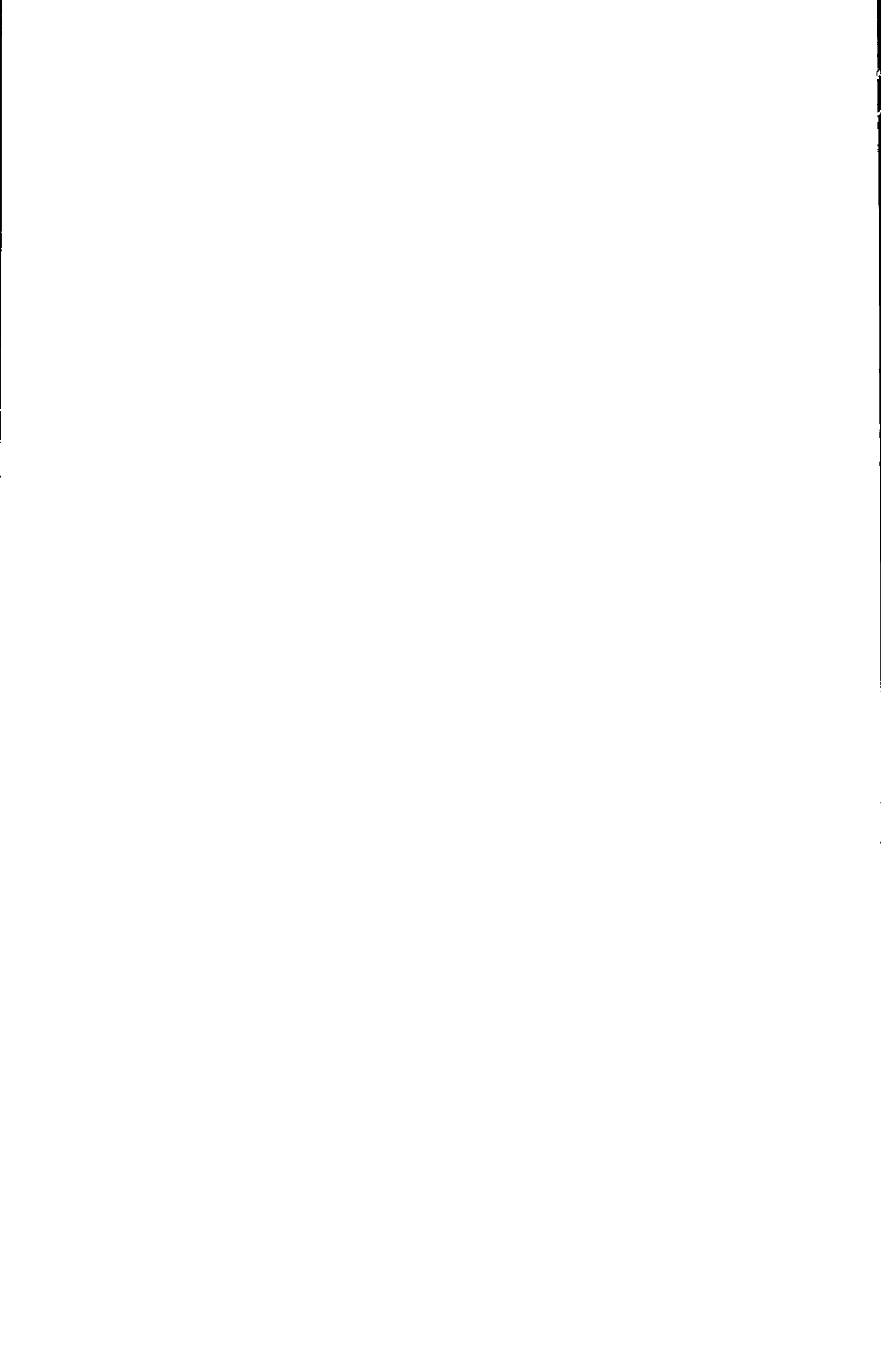
Pelepasan dilepaskan dengan lisisnya sel inang atau melalui penguncupan dari membran plasma (Fenner *et al.*, 1995).

2.3 Virus pada Organisme Akuatik

Pada lingkungan akuatik, virus berenang bebas di air. Perlekatan virion pada inang dapat melalui cairan tubuh atau melalui vektor (Doerder, 2007). Klinger *et al.* (2002) menyatakan penyebaran virus pada air sangat cepat. Satu ekor ikan yang terinfeksi oleh virus akan menyebabkan seluruh ikan pada lingkungan di sekitar ikan tersebut mempunyai kesempatan untuk terinfeksi. Jika ikan yang terinfeksi tersebut mati, maka virus akan keluar dari tubuh inang dan berenang bebas di air dan menginfeksi ikan lain yang sehat. Berdasarkan catatan Stasiun Karantina Ikan Juanda (2002) beberapa jenis virus yang tergolong berbahaya dan sangat berpengaruh bagi perdagangan internasional adalah *Infectious Haemopoietic Necrosis (IHN)*, *Infectious Pancreatic Necrosis (IPN)*, *Onchorynchus Masau Viral Disease*, *Spring Viraemia of Carp*, *Viral Haemorrhagic Septicaemia*, *Taura Syndrome Virus (TSV)*, *White Spot Disease* dan *Yellow Head Disease*.

2.4 Polymerase Chain Reaction (PCR)

Reaksi Rantai Polimerase (*PCR – Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu metode untuk membuat salinan segmen spesifik dari suatu asam nukleat (DNA/RNA). Materi awal untuk *PCR* adalah suatu larutan asam nukleat (DNA/RNA) untai ganda yang mengandung urutan nukleotida yang ditargetkan untuk disalin (Campbell *et al.*, 2002).

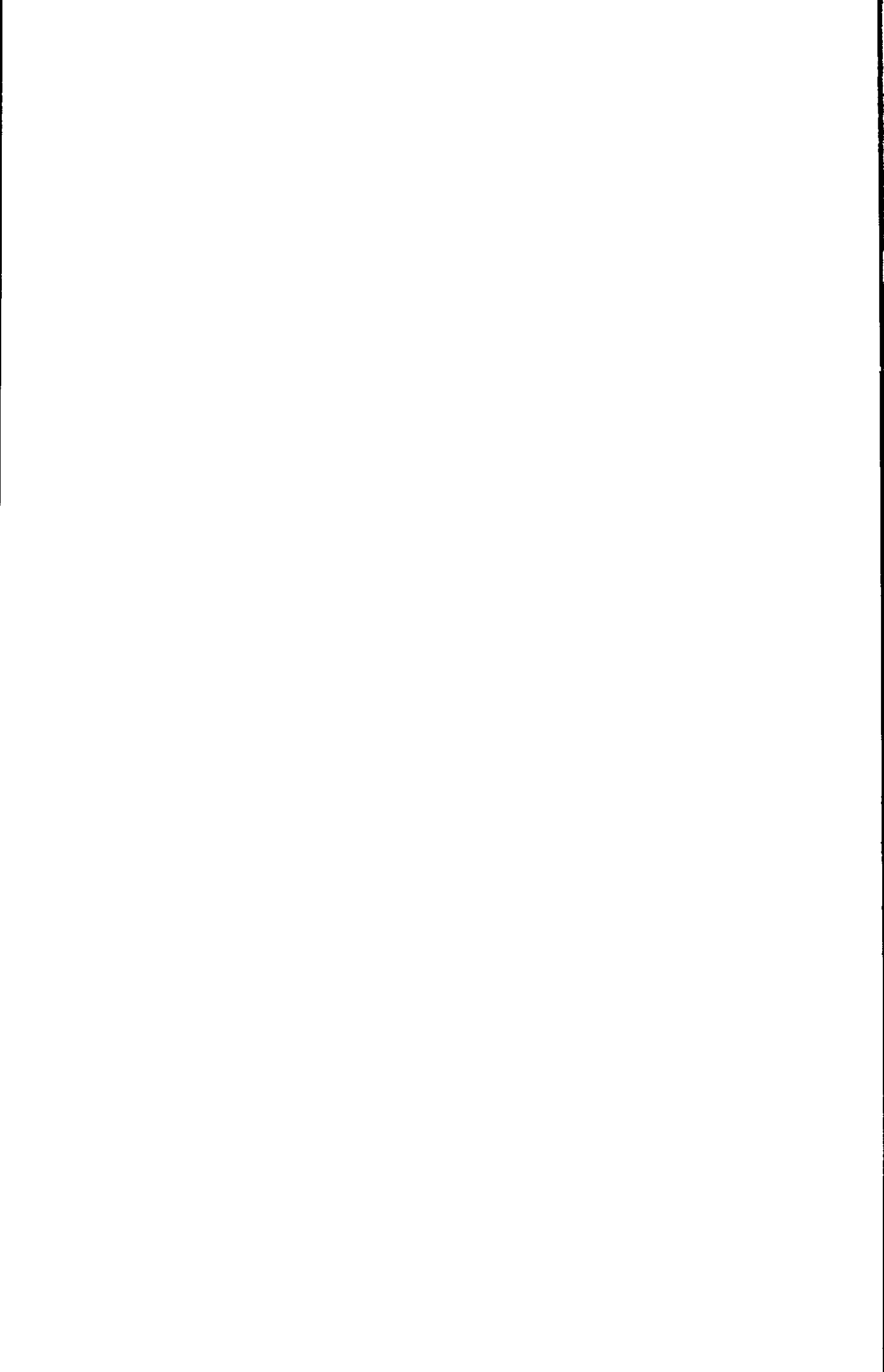


Penerapan metode *PCR* dalam mendeteksi keberadaan beberapa penyakit diharapkan dapat memecahkan kesulitan yang terjadi pada teknik diagnosis konvensional. *PCR* dapat melacak keberadaan penyakit (*DNA probe*) baik dalam inang definitif dalam rangka diagnosis maupun vektor dalam upaya penanggulangan penyebaran penyakit (Handajani dan Samsundari, 2005).

PCR merupakan teknik amplifikasi DNA/ RNA tertentu secara sistematis yang dilakukan secara *in vitro*. Metode ini telah diterapkan secara luas baik pada *crustacea* maupun pada ikan, karena tingkat akurasi yang cukup tinggi dan cepat (Murdjani dkk., 2003).

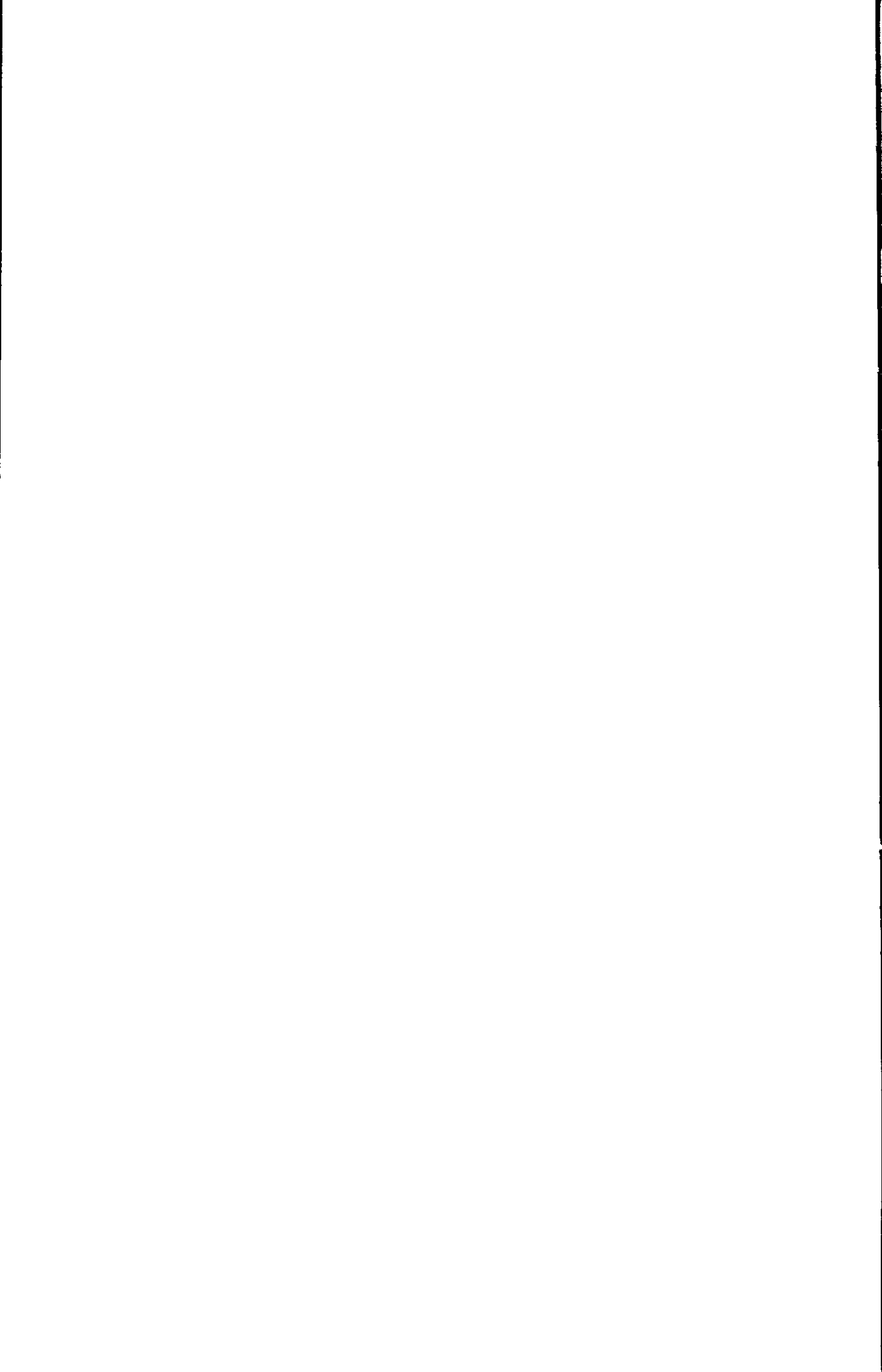
Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan (2002) menjelaskan amplifikasi dapat terjadi apabila terdapat *template* (cetakan) DNA/ RNA, dNTP, enzim polymerase dan Taq DNA polymerase. Potensi penggunaan *PCR* untuk mendeteksi infeksi penyakit ikan sangat terbuka lebar. Pada deteksi ini, asam nukleat yang dipakai sebagai material dasar diambil dari sampel hasil sentrifugasi sel, kemudian dilanjutkan dengan pemanasan dan sentrifugasi kembali untuk menghilangkan komponen dari sel yang ikut terambil. Setelah itu, dilakukan pemotongan dengan proteinase (Handajani dan Samsundari, 2005).

Teknik ini bekerja dalam siklus yang berulang sebanyak 20 – 30 kali. Setiap siklus terdiri atas tiga tahapan reaksi (Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, 2002), yaitu denaturasi, aneling dan ekstensi. Tahap denaturasi, pemanasan pada suhu 94°C dilakukan untuk memecah DNA target (DNA virus) dari untaian ganda menjadi untaian tunggal. Tahap aneling, terjadi penempelan primer kepada DNA untaian tunggal. Pada suhu 56°C, primer akan menempel pada pangkal dan ujung dari masing-masing DNA untaian tunggal yang



komplementer sehingga mengakit suatu daerah tertentu dari DNA target. Kemudian dilanjutkan pada tahap ekstensi yang menunjukkan adanya pemanjangan primer dengan bantuan enzim polymerase pada suhu 74°C, sehingga pada akhir proses ini akan terbentuk dua buah DNA untai tunggal baru yang komplemen terhadap DNA target (Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, 2002).

DNA virus yang berlipat ganda jumlahnya dapat dideteksi dengan *elektroforesis gel agarosa*, setelah diwarnai dengan *Ethidium Bromida* (EtBr). Hasil elektroforesis yang berupa *band* DNA dapat dilihat dengan alat UV transiluminator dan diabadikan dengan kamera Polaroid (Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, 2002).



BAB III

PELAKSANAAN KEGIATAN

III PELAKSANAAN KEGIATAN

3.1 Waktu dan Tempat

Praktek Kerja Lapangan ini dilaksanakan pada tanggal 10 Agustus sampai dengan 25 September 2007 di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau, Desa Kalianyar, Kecamatan Bangil, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

3.2 Metode Kerja

Metode yang digunakan dalam Praktek Kerja Lapangan ini adalah metode diskriptif, yaitu metode yang dirancang untuk mengumpulkan informasi tentang keadaan nyata sekarang (Sevilla *et al.*, 2006). Kegiatan yang dilakukan dengan mengikuti program kerja yang telah ditetapkan oleh pihak Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil. Selain itu juga melakukan pencatatan dan pelaporan terhadap semua kegiatan yang telah dilakukan di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil.

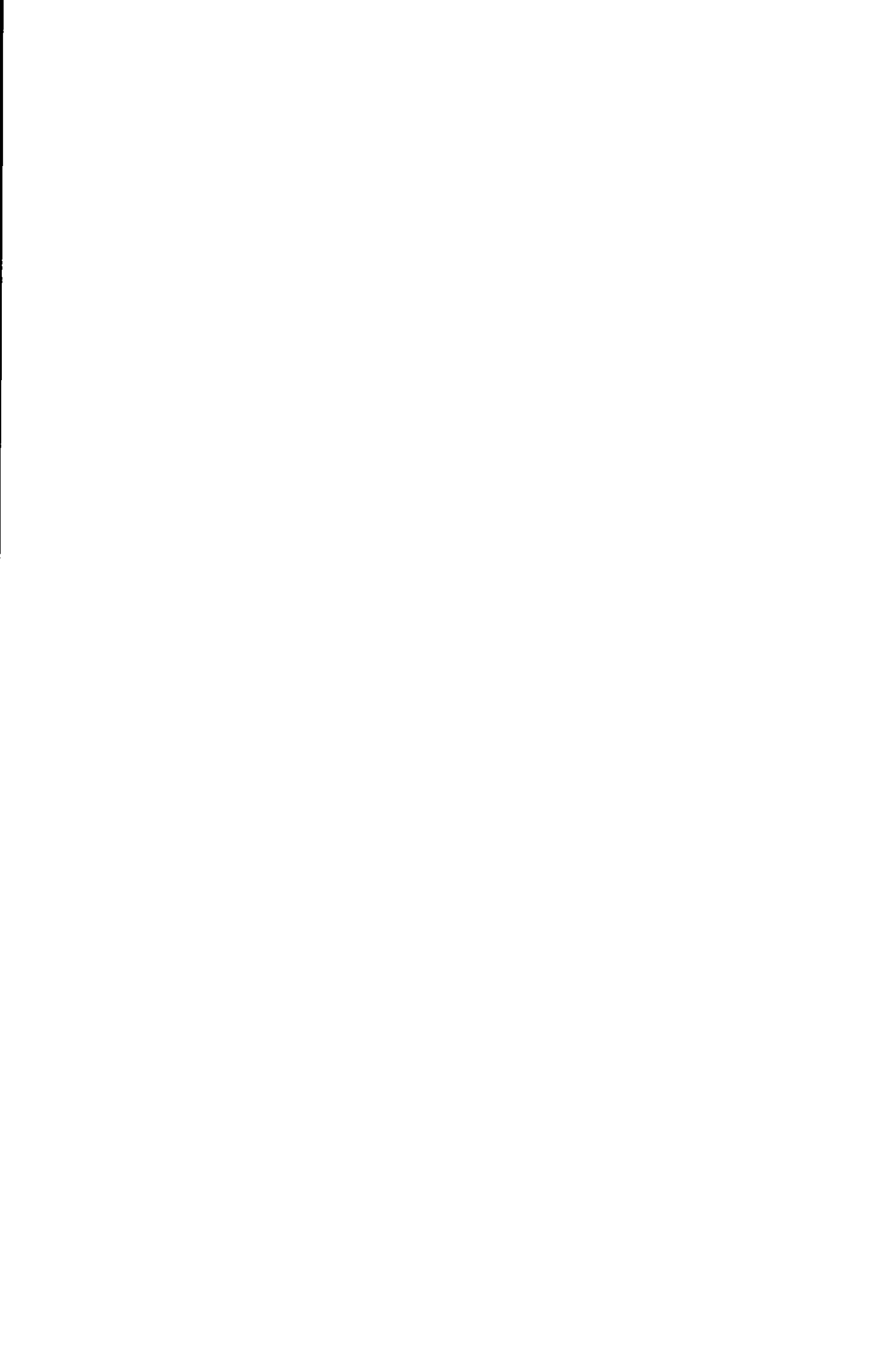
3.3 Pengumpulan Data

3.3.1 Data Primer

Data Primer merupakan data yang diperoleh langsung dari sumbernya, diamati dan dicatat untuk pertama kalinya (Marzuki, 1983). Pengambilan dilakukan melalui pengamatan atau pencatatan hasil observasi, wawancara dan partisipasi aktif.

A. Observasi

Observasi adalah pengamatan secara langsung langsung dengan obyek yang dipilih untuk diselidiki (Sevilla *et al.*, 2006). Praktek Kerja Lapangan ini observasi



dilakukan terhadap berbagai kegiatan pemeriksaan virus meliputi pemeriksaan gejala klinis ikan yang diduga terserang penyakit dan mendeteksi dengan menggunakan metode *PCR*.

B. Wawancara

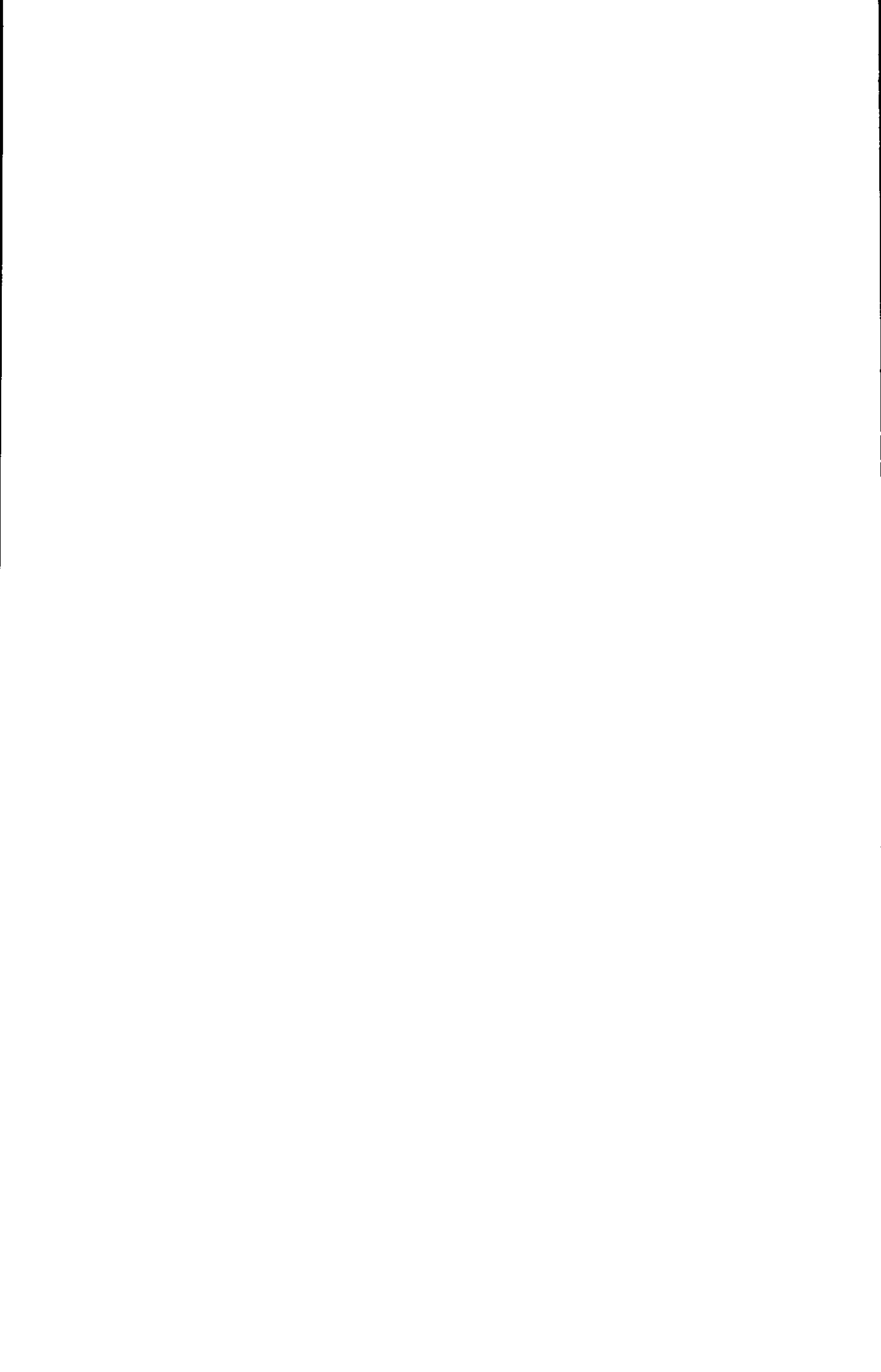
Wawancara merupakan cara mengumpulkan data melalui tanya jawab sepihak yang dikerjakan secara sistematis dan berlandaskan pada tujuan Praktek Kerja Lapangan. Tanpa wawancara mahasiswa akan kehilangan informasi yang hanya dapat diperoleh dengan bertanya langsung kepada narasumber (Narbuko dan Achmadi, 2007). Wawancara dilakukan dengan pegawai mengenai latar belakang berdirinya Balai Pengembangan Budidaya Air Payau, struktur organisasi, tugas dan kegiatan yang dilakukan serta sarana dan prasarana yang dimiliki dalam menjalankan kegiatannya.

C. Partisipasi Aktif

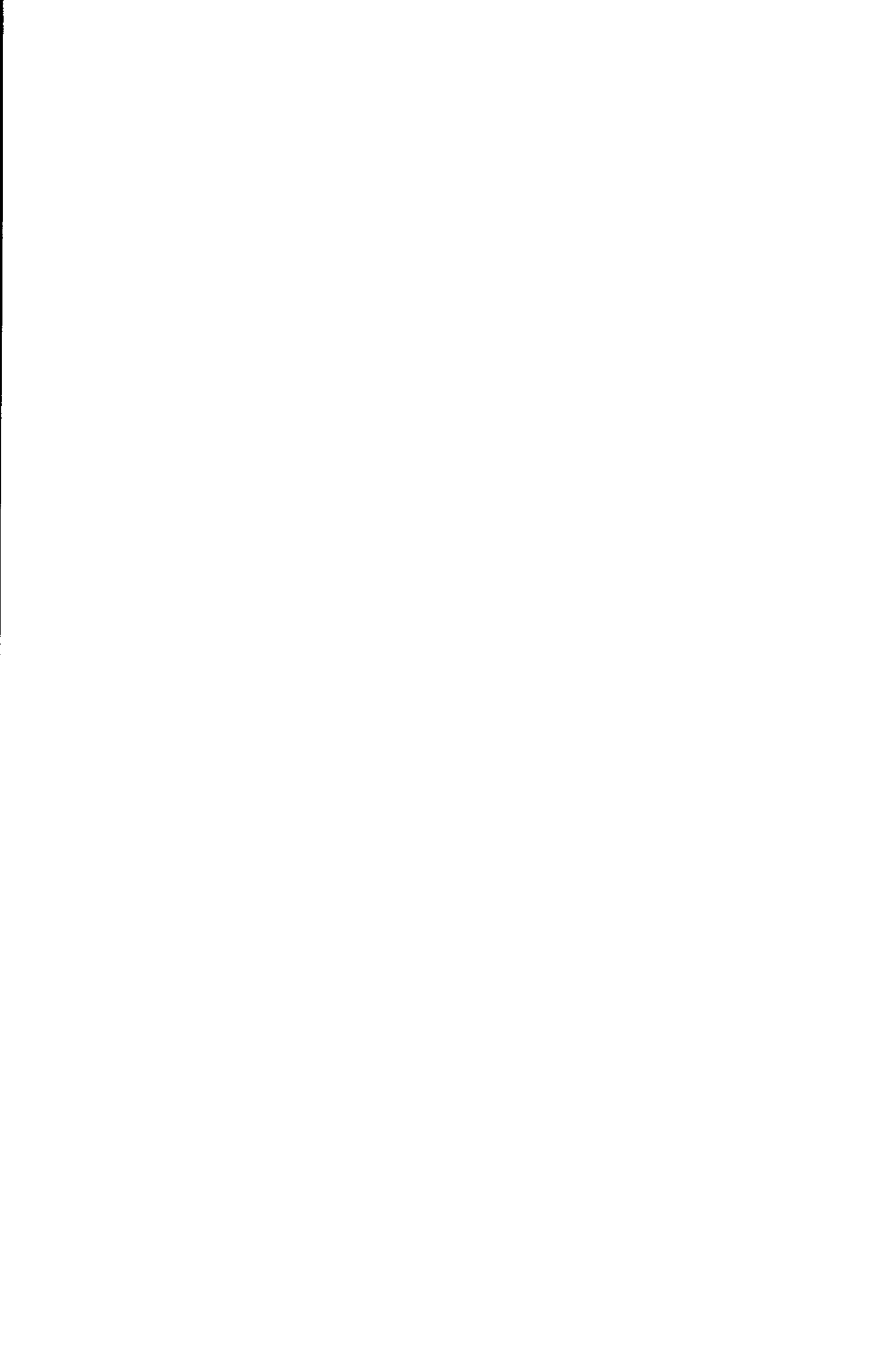
Partisipasi aktif menuntut mahasiswa untuk turut ambil bagian atau berada dalam keadaan objek yang diamati secara langsung (Narbuko dan Achmadi, 2007). Kegiatan yang dilakukan adalah pemeriksaan virus dengan metode *PCR*. Kegiatan tersebut diikuti secara langsung mulai dari persiapan media agarose, pembuatan larutan *PCR*, persiapan sampel, tahapan reaksi, proses elektroforesis, pembacaan hasil serta kegiatan lainnya yang berkaitan dengan Praktek Kerja Lapangan.

3.3.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari sumber tidak langsung dan telah dikumpulkan serta dilaporkan oleh orang di luar Praktek Kerja Lapangan

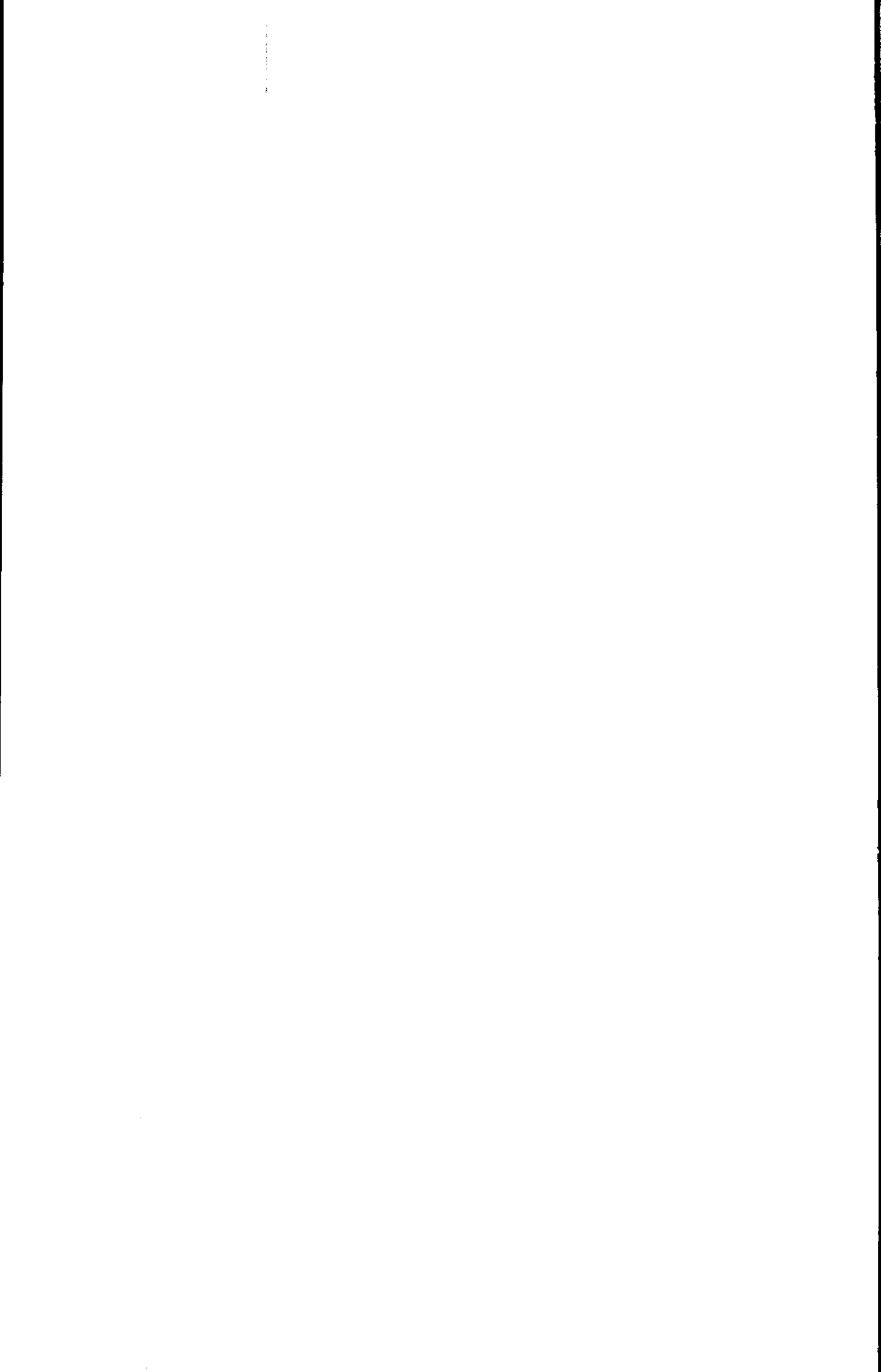


sendiri (Azwar, 1998). Data dapat diperoleh dari data dokumentasi, lembaga penelitian, Dinas Perikanan, pustaka, laporan pihak swasta dan masyarakat.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN



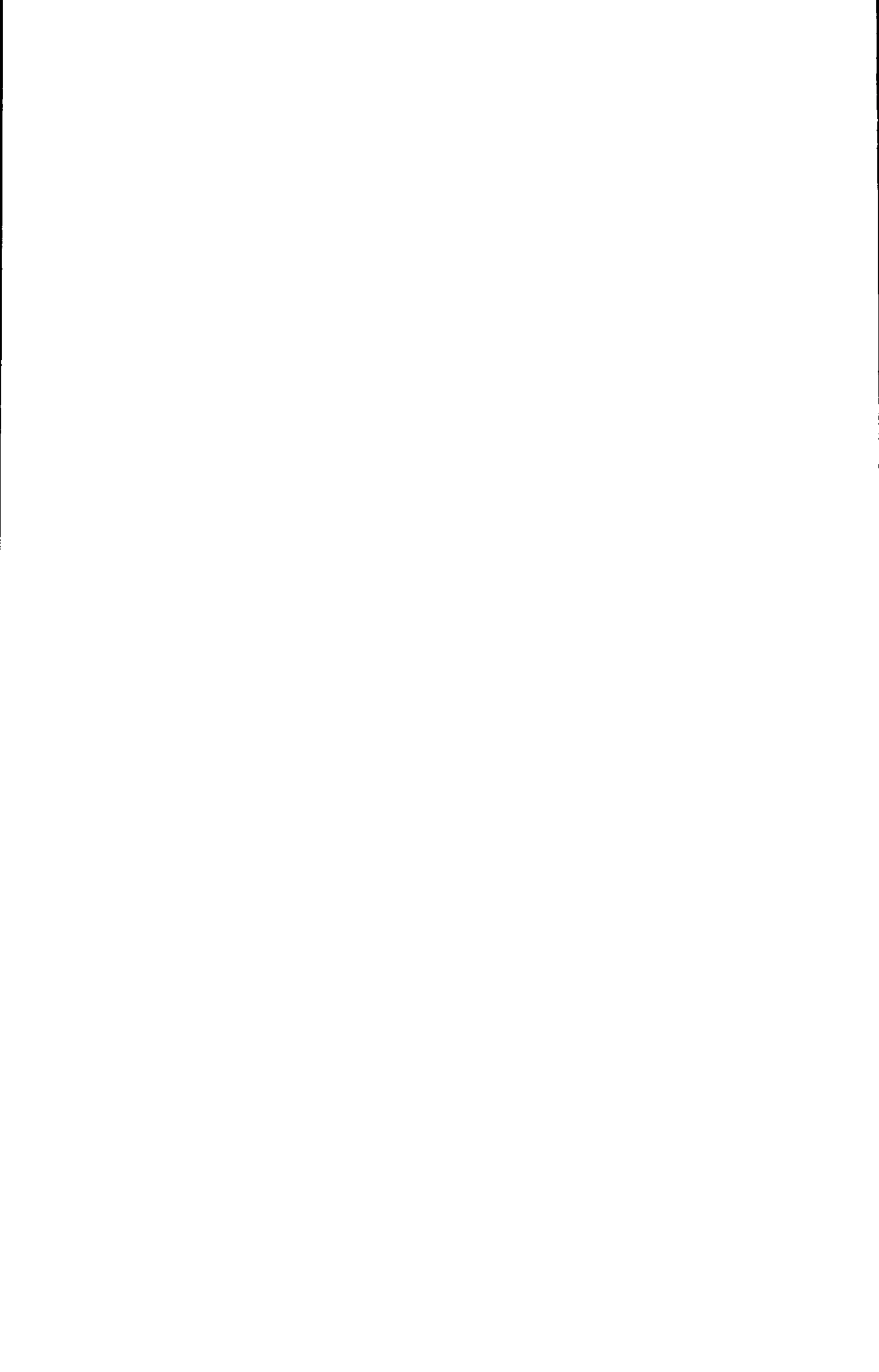
IV HASIL PEMBAHASAN

4.1 Keadaan Umum Lokasi Praktek Kerja Lapang

4.1.1 Sejarah BPBAP Bangil

Balai Pengembangan Budidaya Air Payau (BPBAP) Bangil berdiri dengan bantuan dana APBN dan APBD Jawa Timur tahun anggaran 1977/1978. Berdasarkan keputusan Gubernur Kepala Daerah Tingkat I Jawa Timur No. 23 tahun 1987 tanggal 29 Januari 1987 tentang susunan organisasi dan tata kerja UPT Dinas Perikanan Propinsi Daerah Tingkat I Jawa Timur (Balai Pengembangan Budidaya Air Payau, 2006).

Berdasarkan Surat Keputusan Gubernur Jawa Timur Nomor 48 Tahun 2001 tanggal 14 Desember 2001 tentang Tugas dan Fungsi Unit Pelaksana Teknis Dinas Perikanan dan Kelautan Propinsi Jawa Timur, BPBAP melaksanakan tugas operasional di bidang Pengembangan Budidaya Air Payau dengan tugas pokok melaksanakan pengelolaan, pengadaan dan pendistribusian benih, pengendalian mutu, budidaya ikan serta pelatihan dan keterampilan budidaya air payau. Fungsi dari BPBAP Bangil adalah menyusun rencana dan program kegiatan pengembangan budidaya air payau, pelaksana perbenihan air payau, Pelaksana distribusi/ pemasaran benih dan induk ikan air payau, pelaksana budidaya air payau, pelaksana perawatan dan pemeliharaan bahan, sarana dan prasarana pendukung pengembangan budidaya ikan air payau, pelaksana pengembangan dan penerapan teknologi perikanan air payau, pelaksana pengujian kualitas air, hama dan penyakit ikan air payau, pelaksana pengawasan dan pengendalian standar mutu hasil perikanan air payau, pelaksana pelatihan dan keterampilan pembudidaya air payau, pelaksana ketata usahaan dan rumah tangga dan



pelaksana tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Dinas Perikanan dan Kelautan Propinsi Jawa Timur.

4.1.2 Struktur Organisasi

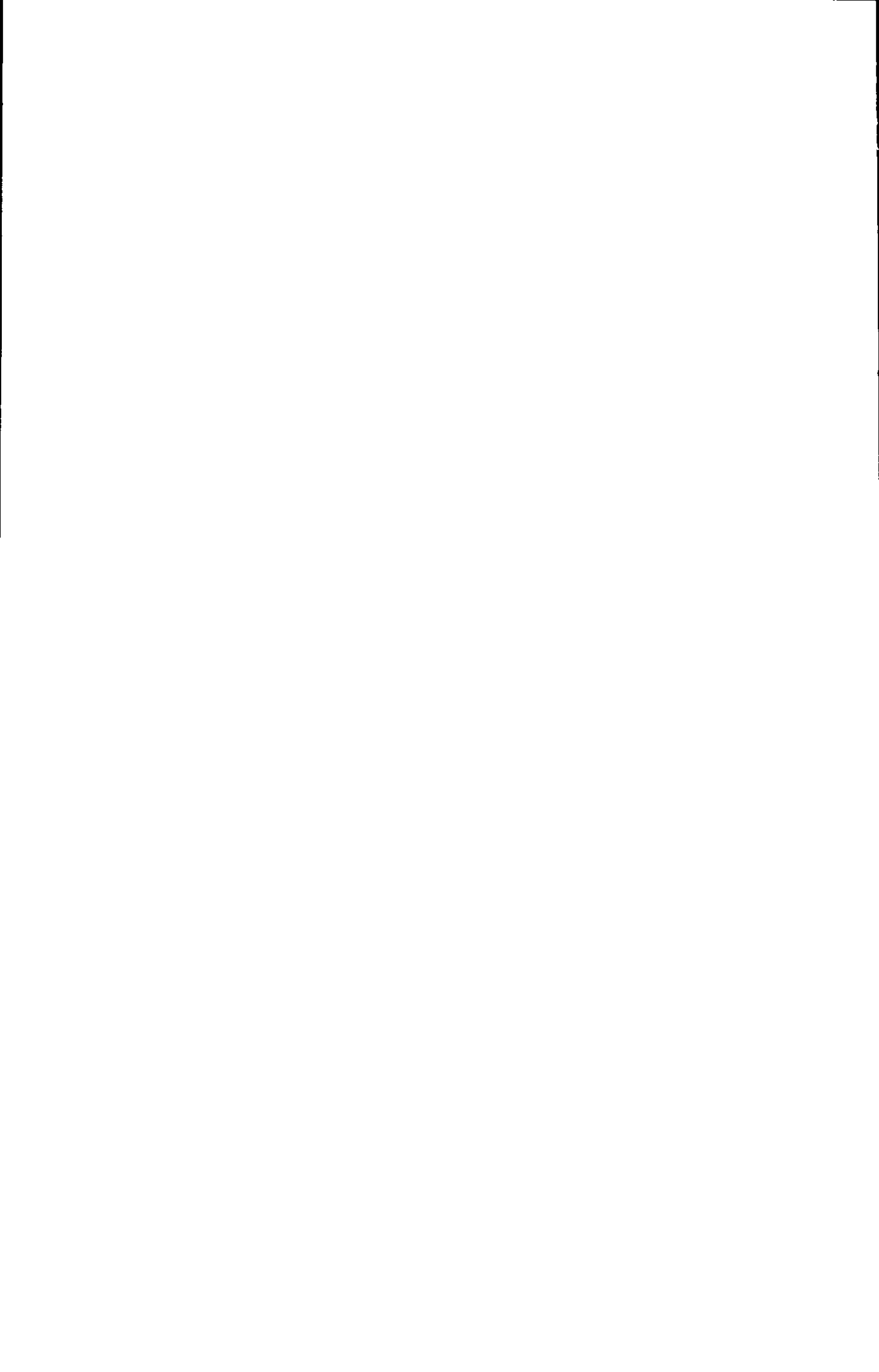
BPBAP Bangil bertanggung jawab kepada Dinas Perikanan Daerah Propinsi Tingkat I Jawa Timur. Susunan organisasi BPBAP Bangil terdiri atas: Kepala Balai, Sub Bagian Tata Usaha, Seksi Perbenihan, Seksi Pengendalian Mutu, Seksi Budidaya, Seksi Pelatihan dan Keterampilan, Kelompok Jabatan Fungsional. Sub Bagian dan masing-masing seksi dipimpin oleh seorang Kepala Sub Bagian dan Kepala Seksi yang berada di bawah dan bertanggung jawab kepada Kepala Balai. Struktur organisasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

Kepala Balai mempunyai tugas memimpin, mengkoordinasikan, mengarahkan, mengawasi dan mengendalikan tugas-tugas unit. Sub Bagian Tata Usaha bertugas melaksanakan pengelola surat menyurat, urusan rumah tangga dan kearsipan, melaksanakan pengelolaan administrasi kepegawaian, melaksanakan pengelolaan administrasi keuangan, melaksanakan pengelolaan perlengkapan dan peralatan kantor dan melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Balai. Seksi Perbenihan bertugas merencanakan kegiatan operasional perbenihan, kebutuhan sarana dan peralatan kerja serta tenaga kerja, melaksanakan operasional perbenihan dan distribusi/pemasaran benih sesuai standar mutu, melaksanakan kegiatan kaji terap teknologi perbenihan, melakukan pemantauan dan evaluasi pelaksanaan operasional perbenihan dan melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Balai. Seksi Pengendalian Mutu bertugas mengumpulkan data dan bahan pengkajian dalam rangka pengendalian mutu, menetapkan sistem jaminan mutu yang diakui, melaksanakan dan memverifikasi



pekerjaan yang berkaitan/mempengaruhi mutu produk, mengidentifikasi dan mencatat setiap masalah yang berkaitan dengan mutu produk, membuat rekomendasi pemanfaatan teknologi untuk penyelenggaraan pelatihan, melakukan kegiatan uji laboratorium untuk kualitas air, hama dan penyakit budidaya air payau untuk memenuhi standar mutu, menyusun tolok ukur dan pedoman standar pengembangan budidaya ikan air payau, melakukan monitoring dan evaluasi hasil pengujian budidaya ikan air payau dan melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Balai.

Seksi Budidaya bertugas merencanakan kegiatan operasional budidaya, kebutuhan sarana dan peralatan kerja serta tenaga kerja, melaksanakan operasional budidaya dan distribusi/pemasaran hasil, melaksanakan pengembangan produktivitas usaha budidaya ikan air payau melalui kaji terap teknologi, melakukan monitoring dan evaluasi peningkatan produktivitas budidaya ikan air payau dan melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Balai. Seksi Pelatihan dan Keterampilan bertugas menyusun rencana program pelatihan dan ketrampilan budidaya air payau, menyusun kurikulum, silabi dan jadwal pelaksanaan pelatihan dan ketrampilan budidaya air payau, menyusun dan menyiapkan materi serta penugasan instruktur sesuai dengan program pelatihan, melakukan administrasi pelatihan ketrampilan dan penyelenggaraan pelatihan budidaya air payau, melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan pelatihan dan ketrampilan budidaya air payau, menyusun laporan pelaksanaan pelatihan dan ketrampilan budidaya air payau dan melaksanakan tugas-tugas lain yang diberikan oleh Kepala Balai.



Berdasarkan Laporan Tahunan BPBAP tahun 2006 Jumlah personil pada tahun 2006 terdiri dari 32 orang yaitu pegawai negeri sipil sebanyak 19 orang, tenaga honorer sebanyak 11 orang dan pendega tambak sebanyak 2 orang.

4.1.3 Letak Geografis dan Keadaan Alam Sekitar Lokasi

Lokasi BPBAP beralamat di Jalan Perikanan No. 746 dan terletak di Desa Kalianyar, Kecamatan Bangil, Kabupaten Pasuruan, Propinsi Jawa Timur. Denah lokasi BPBAP Bangil dapat dilihat pada Lampiran 2. Secara geografis Desa Kalianyar terletak pada $7^{\circ} 15' \text{ LS} - 8^{\circ} 15' \text{ LS}$ dan $112^{\circ} \text{ BT} - 113^{\circ} \text{ BT}$ dengan ketinggian wilayah 4 m dari permukaan laut. Desa Kalianyar sebelah utara berbatasan dengan Selat Madura, sebelah selatan berbatasan dengan Desa Kalirejo, sebelah barat berbatasan dengan Desa Tambakan dan sebelah timur berbatasan dengan Desa Masangan.

Desa Kalianyar terbagi atas 15 RT dan 6 RW. Luas keseluruhan Desa Kalianyar adalah $11.809.150 \text{ m}^2$. Keadaan pantai Desa Kalianyar adalah landai berlumpur, dengan topografi tanahnya adalah datar, rata dan tidak bergelombang. Perbedaan pasang surut berkisar antara 0,5 – 2,0 m, dengan curah hujan 8 mm per tahun dan suhu udara berkisar antara $28 - 32^{\circ} \text{ C}$. Denah lokasi Desa Kalianyar dapat dilihat pada Lampiran 2.

Daerah sekitar lokasi merupakan daerah pemukiman penduduk yang cukup padat dan sebagian besar berupa areal pertambakan (82,34%), sehingga sebagian besar mata pencarian penduduk Desa Kalianyar sebagai petambak. Komoditas yang diusahakan pada umumnya adalah bandeng dan udang windu. Tidak jauh dari lokasi BPBAP Bangil terdapat pasar ikan yang sebagian besar ikan diperoleh dari nelayan dan petambak di wilayah tersebut.



4.1.4 Sarana dan Prasarana

Agar usaha budidaya berjalan dengan lancar maka sangat diperlukan sarana dan prasarana yang menunjang. Sarana berupa alat dan bahan yang diperlukan dalam pemeriksaan virus dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2., selain itu prasarana yang dimiliki BPBAP Bangil dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.2 Kegiatan Uji Laboratoris Virologi

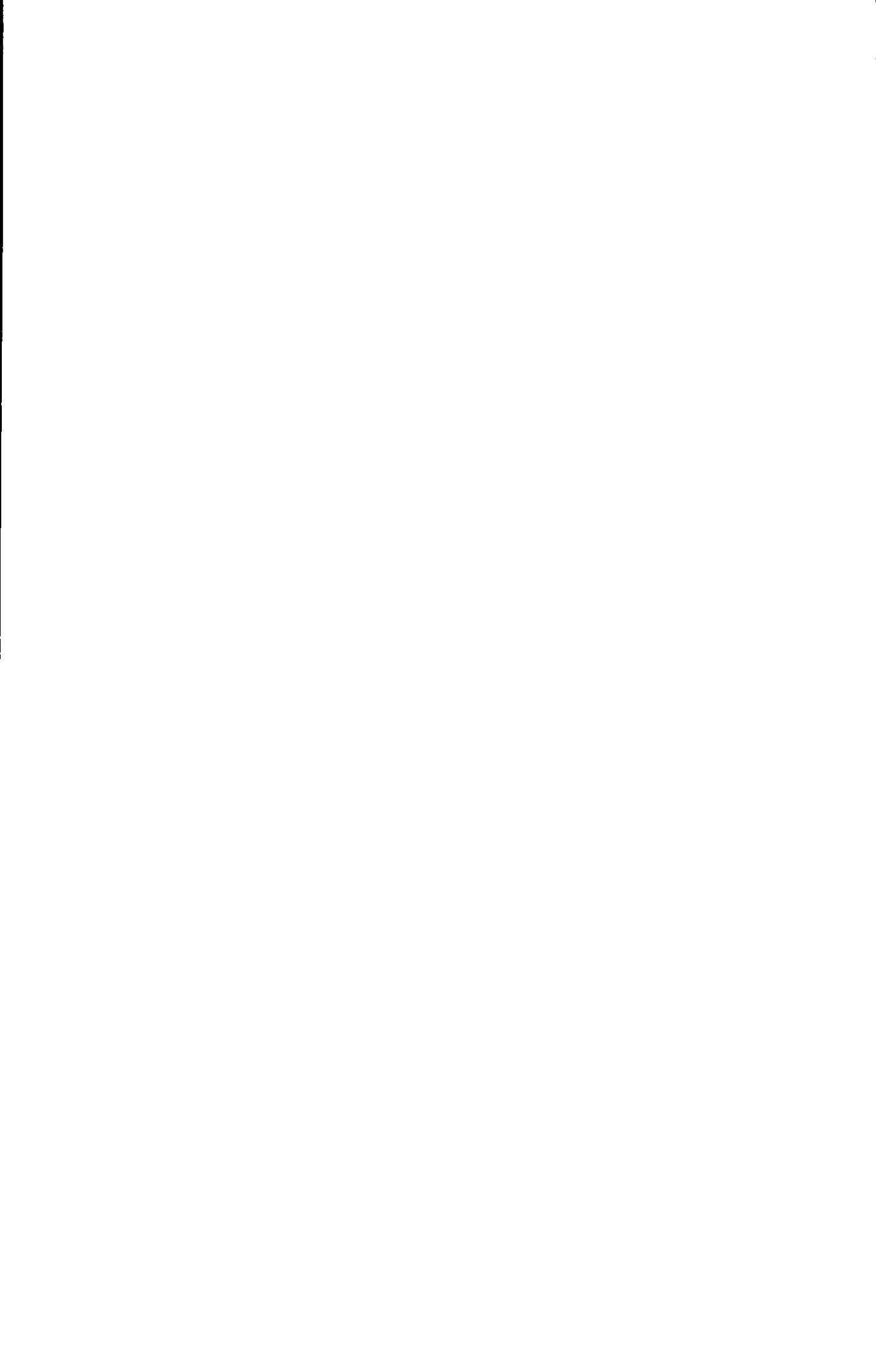
Laboratorium Penyakit Ikan dan Lingkungan pada BPBAP Bangil dalam melaksanakan kegiatannya memiliki visi dan misi. Visi BPBAP Bangil yaitu menjadi laboratorium pengujian terbaik yang senantiasa mengutamakan kepuasan pelanggan dan bertanggung jawab secara hukum dan teknik. Misi BPBAP Bangil yaitu terpercaya, profesional dan senantiasa melakukan perbaikan untuk mencapai harapan.

Lokasi Praktek Kerja Lapang merupakan Balai Budidaya Air Payau, maka kegiatannya banyak dititik beratkan pada komoditas air payau, khususnya udang. Saat melaksanakan Praktek Kerja Lapang, sampel yang diperiksa pada laboratorium pengujian PCR baik sampel dari tambak milik BPBAP Bangil maupun sampel dari luar lebih banyak sampel udang.

4.2.1 Alat dan Bahan

A. Alat

Pemeriksaan virus pada laboratorium penyakit ikan dan lingkungan BPBAP Bangil membutuhkan peralatan dan bahan yang steril. Tabel 1. berikut akan menyajikan sarana berupa peralatan utama yang diperlukan pada proses PCR.



Tabel 1. Sarana berupa alat PCR beserta fungsinya

NO.	ALAT	JUMLAH	FUNGSI
1.	Nampan bedah	1 buah	Membedah sampel
2.	<i>Disetting set</i> (gunting + pinset)	1 set	Mengambil organ sampel
3.	Timbangan analitik	1 buah	Menimbang berat organ yang akan digunakan
4.	<i>Glass Ware</i>	1 buah	Tempat menyimpan sampel organ
5.	<i>Pellet Pestle</i>	1 buah	Membantu menghancurkan sampel organ
6.	<i>PCR Tubes</i> (1,5 ml) dan <i>microtube</i>	1 buah	Tempat sampel
7.	<i>Micropipet</i>	1 buah	Alat untuk mengambil reagen
8.	<i>TIP mikropipet</i> (<i>white tip, blue tip, dan yellow tip</i>)	1 set	Ujung dari mikropipet yang dapat dilepas untuk mengambil dan mencampur reagen
9.	<i>Vortex Mixer</i>	1 buah	Menghomogenkan bahan
10.	<i>Microcentrifuge With</i>	1 buah	Memisahkan antara supernatan dengan endapan
11.	Desikator	1 buah	Mengeringkan pelet
12.	<i>Electrophoresis system</i>	1 buah	Digunakan untuk memisahkan produk PCR
13.	<i>UV transiluminator</i>	1 buah	Membaca hasil band
14.	<i>Thermocycler PCR</i>	1 buah	Proses amplifikasi
15.	<i>Autoclave</i>	1 buah	Sterilisasi alat dan bahan
16.	<i>Laminar Flow</i>	1 buah	Ruang steril untuk menghindari kontaminasi pada sampel
17.	<i>Waterbath</i>	1 buah	Menurunkan suhu secara perlahan saat mendinginkan <i>agarose gel</i>
18.	Kamera Polaroid	1 buah	Mendokumentasikan hasil PCR
19.	<i>Hot plate magnetic stirrer</i>	1 buah	Pemanas dan pelarut saat membuat <i>agrose gel</i>
20.	<i>Biofreezer</i>	1 buah	Tempat penyimpanan sampel dan bahan

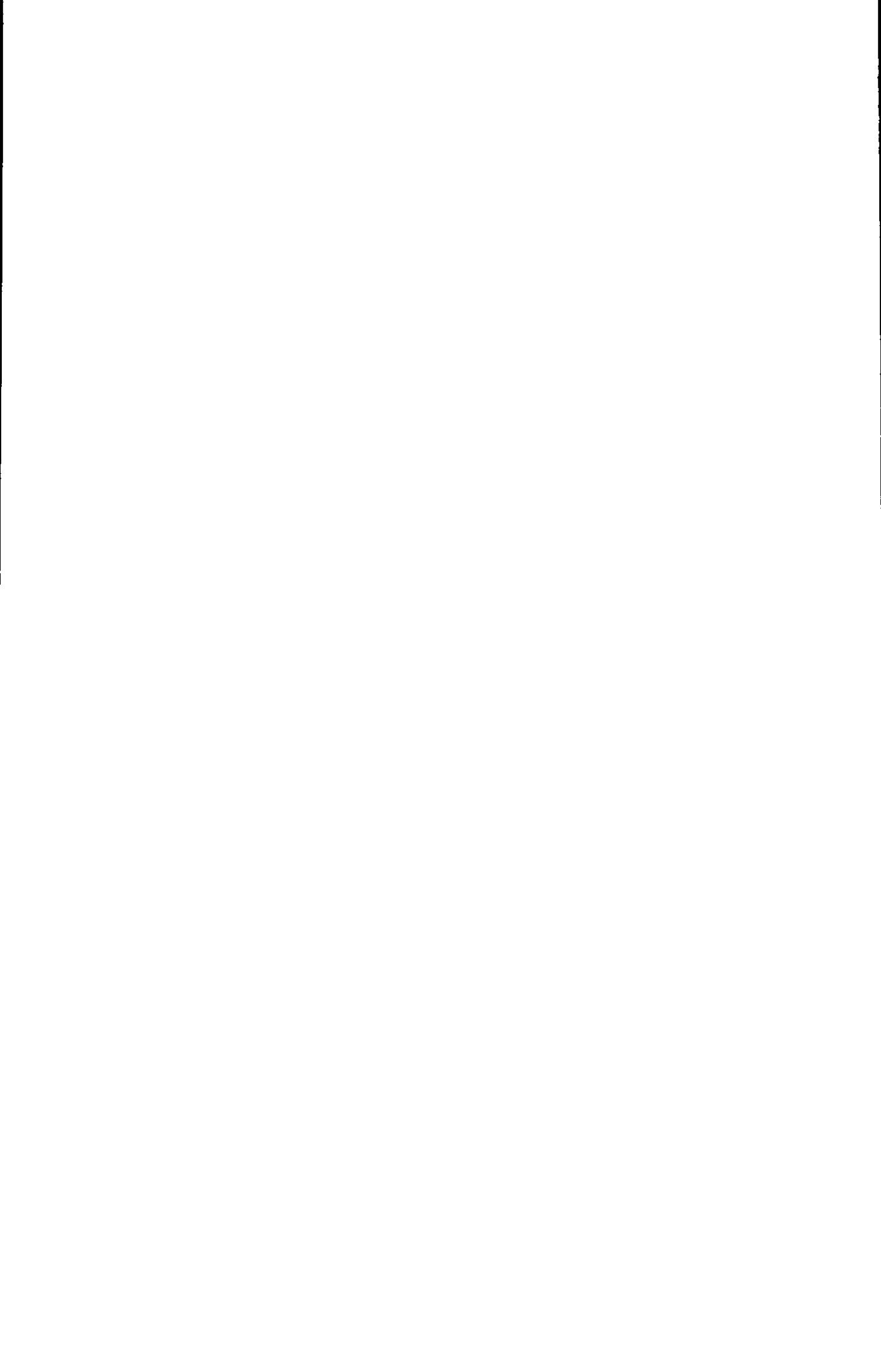
B. Bahan

Bahan yang digunakan pada proses PCR merupakan bahan yang diperoleh dari IQ 2000 kit. Sarana berupa bahan yang digunakan dalam proses PCR di BPBAP Bangil dapat dilihat pada Tabel 2.



Tabel 2. Sarana berupa bahan *PCR* beserta fungsinya.

No.	Bahan	Fungsi
1.	Sampel organ (insang atau bagian tubuh lain)	Sebagai bahan yang akan di uji
2.	<i>Lysis buffer</i> yang terdiri dari 20 mM Tris-HCl pH 7,5, 150 mM NaCl, 1 mM Na ₂ EDTA, 1 mM EGTA, 1% Triton, 2,5 mM sodium pyrophosphate, 1 mM β-glycerophosphate, 1 mM Na ₃ VO ₄ , 1 µg/ml leupeptin)	Digunakan untuk melisis sel sebelum dilakukan denaturasi
3.	Ethanol absolut atau alkohol 95%	Mencuci sisa <i>lysis buffer</i> yang tertinggal pada sampel
4.	<i>First PCR Premix</i> terdiri dari buffer, dNTP dan primer	Digunakan pada proses <i>PCR step 1</i> untuk mempermudah proses sintesis protein DNA
5.	<i>Nested PCR Premix</i> yang terdiri dari buffer, dNTP dan primer.	Digunakan pada proses <i>PCR step 2</i> untuk membedakan tingkat infeksi virus
6.	Iqzyme DNA Polymerase	Enzim untuk memperpanjang primer yang telah menempel pada cetakan atau <i>template</i>
7.	<i>6 X Loading Dye</i>	Penanda agar dapat dibaca pada <i>agarose gel</i>
8.	DNA Marker (848 bp, 630 bp, 333 bp)	Penanda panjang DNA yang akan muncul pada saat pembacaan gel
9.	Agarose gel yang terdiri dari 0,8 mg bubuk agarose, 45 ml TAE 1 x	Gel yang digunakan untuk membaca hasil <i>PCR</i>
10.	Ethidium Bromide	Bahan berpendar yang akan terikat dengan DNA sehingga dapat terlihat pada saat pembacaan hasil
11.	DEPC ddH ₂ O yang terdiri dari 1000 ml H ₂ O, 0,1% Diethylpyrocarbonate (DEPC)	Larutan yang digunakan untuk menyimpan pellet yang telah kering
12.	Larutan Tris-acetate EDTA (TAE) 1 X	Merupakan larutan buffer umum yang digunakan dalam proses elektroforesis
13.	Tris Base dan Glacial acetic acid	Bahan dasar untuk pembuatan larutan Tris-acetate EDTA (TAE)
14.	Ethylenediamine Tetraacetic Acid (EDTA) 0,5 M	Larutan penyangga pada pembuatan larutan Tris-acetate EDTA (TAE) yang mengandung ion metal
15.	<i>Aquadest</i> steril	Bahan pelarut dan pencuci <i>agarose gel</i>



4.2.2 Persiapan Sampel

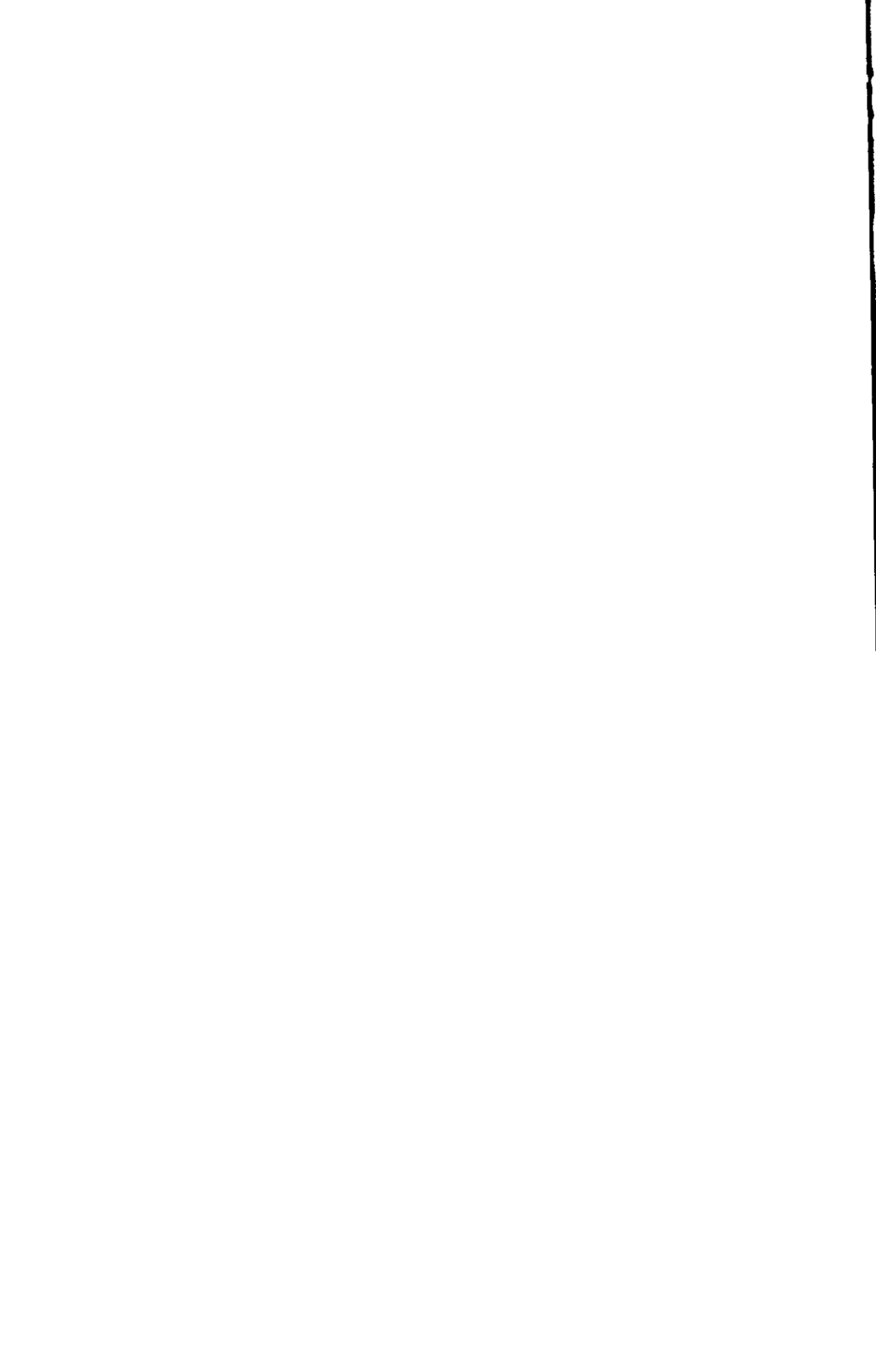
A. Sterilisasi Alat Bahan

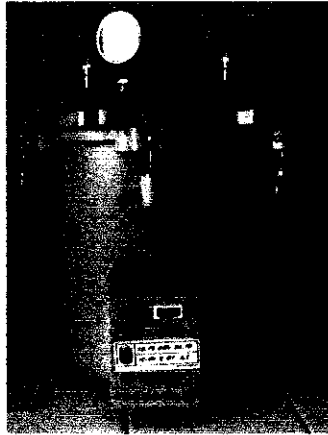
Sterilisasi alat dan bahan dapat dilakukan dengan dua cara yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Irianto (2006) menjelaskan sterilisasi dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu sterilisasi pemanasan basah dengan menggunakan uap air panas, sterilisasi kering dalam tanur dan pembakaran total. Laboratorium BPBAP Bangil menggunakan sterilisasi basah dan sterilisasi kering, yang dilakukan setiap dua hari sekali.

B. Sterilisasi Basah

Sterilisasi basah digunakan untuk peralatan seperti *glass ware*, *pelet pastle*, *tip mikropipet* dan *tube*. Alat yang akan disterilkan dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah kering, alat-alat dibungkus dengan menggunakan kertas. Peralatan seperti *tube* dan *tip micropipet* harus dimasukkan dalam wadah tahan panas seperti erlenmeyer, kemudian bagian atas ditutup dengan *aluminium foil*, sedangkan untuk *pellet pastle* setelah digunakan, direndam dalam larutan *chorine* 5% kemudian dicuci bersih dan dimasukkan dalam wadah tahan panas. Selanjutnya alat-alat yang telah dibungkus disterilkan dengan menggunakan uap dalam tekanan.

Sterilisasi pada lokasi Praktek Kerja Lapang menggunakan *autoclave*, selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm. *Autoclave* dapat dilihat pada Gambar 3. Irianto (2006) menjelaskan sterilisasi dengan uap dalam tekanan dilakukan sekitar 15 – 20 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm. Suhu tersebut semua mikroorganisme, baik vegetatif maupun spora dapat dimusnahkan dalam waktu yang tidak lama.

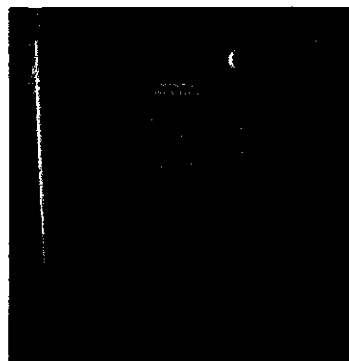




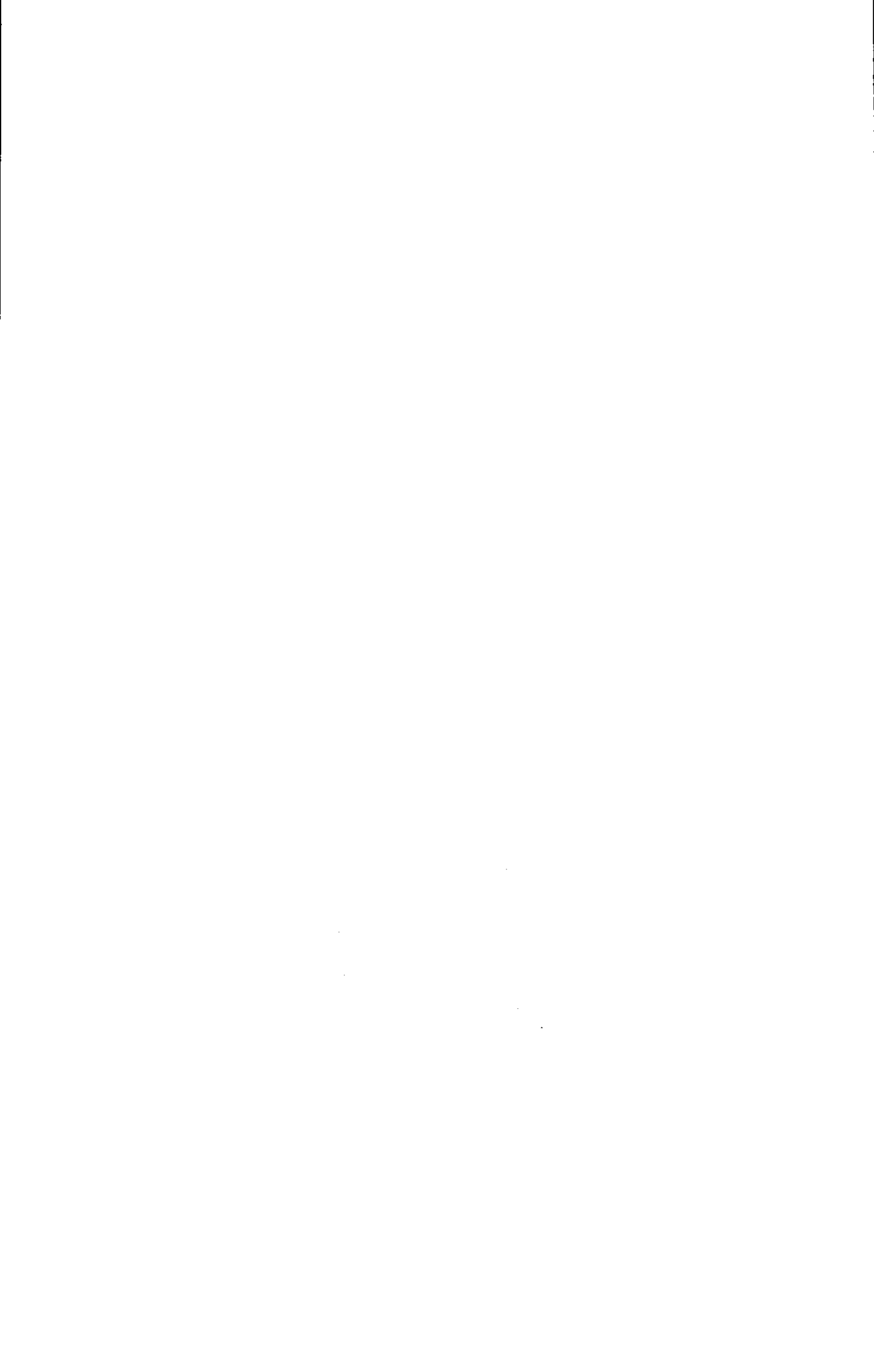
Gambar 3. *Autoclave* untuk sterilisasi basah

C. Sterilisasi Kering

Peralatan seperti *glassware*, *petri disk* dan *disetting set* juga dapat dilakukan dengan sterilisasi kering. Sebagian besar sterilisasi kering menggunakan oven dengan suhu 170° - 180°C selama 2 jam (Suriawiria, 2005). Sebelum dilakukan sterilisasi kering, peralatan harus dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah kering, alat-alat dibungkus dengan menggunakan kertas, kemudian dimasukkan dalam oven. Lokasi Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil, sterilisasi menggunakan oven dengan suhu 160° - 170°C selama 5 jam (Gambar 4).



Gambar 4. Oven untuk sterilisasi kering

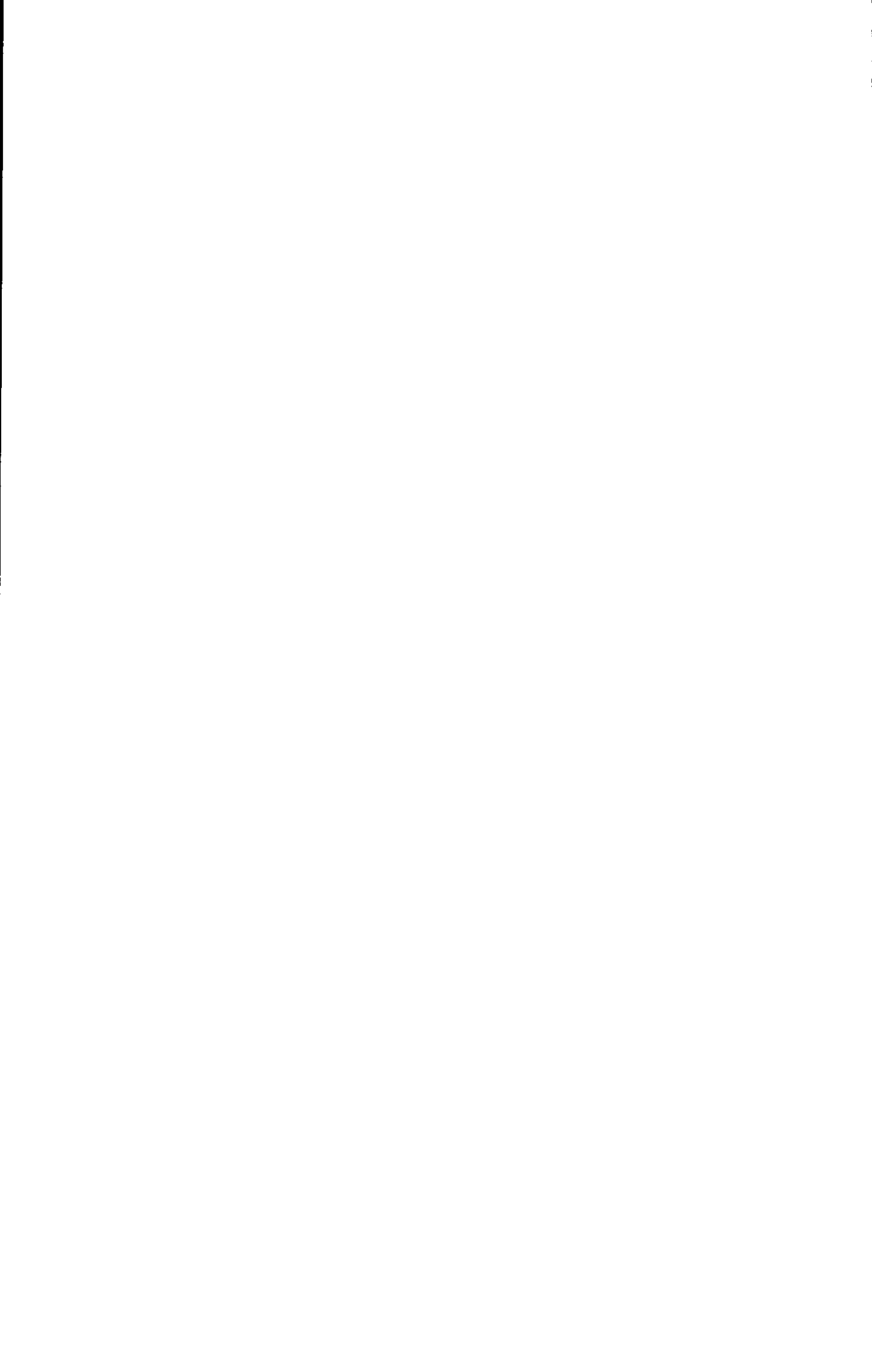


D. Pengolahan Sampel

Jenis dan jumlah sampel serta cara pengambilan dan pengawetannya pada pemeriksaan PCR sangat perlu diperhatikan. Sampel yang telah rusak atau jumlah yang tidak mencukupi akan menyulitkan dalam interpretasi hasil pemeriksaan (Tim BPBAP Bangil, 2003). Seluruh bagian tubuh udang dapat dipakai sebagai bahan untuk pemeriksaan *PCR*, kecuali bagian yang keras (cangkang dan rostrum) dan hepatopankreas. Cangkang dan rostrum tidak digunakan untuk pemeriksaan *PCR* karena bagian ini sangat keras sehingga sulit untuk diekstraksi. Hepatopankreas tidak digunakan sebagai sampel karena organ ini kaya akan enzim yang dapat merusak asam nukleat (DNA/RNA) virus pada saat proses ekstraksi (Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, 2002).

Sampel udang yang berukuran besar diambil bagian insang atau bagian kaki renang untuk diekstraksi. Insang dari satu ekor udang dewasa dapat digunakan untuk dua *PCR tube*. Jika sampel yang digunakan adalah benur, maka yang digunakan sebagai sampel adalah seluruh tubuh benur, satu *PCR tube* dapat diisi dengan 25 – 50 benur. Khusus untuk induk udang, bagian yang digunakan sebagai sampel adalah bagian kaki renang. Bagian kaki renang merupakan bagian yang dapat mewakili bagian tubuh induk udang yang terinfeksi, sehingga induk udang tidak mengalami stres hal ini dilakukan untuk mempertahankan agar induk udang tidak mengalami kematian setelah dilakukan pemeriksaan.

Sampel yang baik digunakan untuk pemeriksaan *PCR* adalah sampel hidup, sedangkan untuk sampel yang telah mati atau sampel yang masih hidup dapat disimpan dalam alkohol 100% atau alkohol 70% dengan volume perbandingan 1 : 10 (Tim BPBAP Bangil, 2003). Setiap sampel diberi label



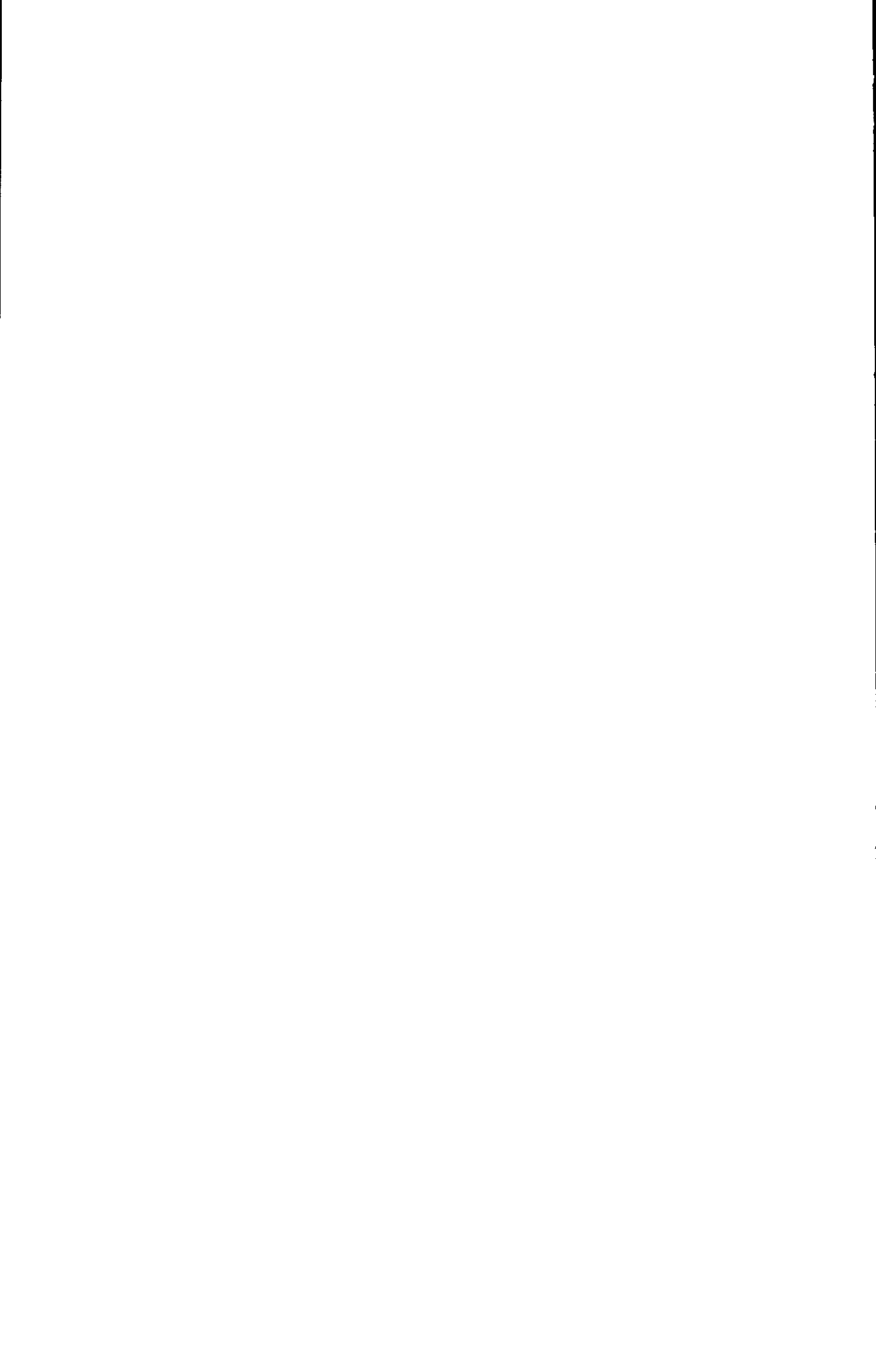
keterangan tanggal pengawetan, asal udang dan diagnosa penyakit sebelum dikirim ke laboratorim.

4.2.3 Prosedur Kerja PCR

Mendeteksi virus pada udang Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil menggunakan metode IQ 2000TM yang diadopsi dari *Farming IntelliGene Tech. Corp*, Taiwan. Virus yang dapat dideteksi adalah *WSSV*, *TSV*, *IHN* dan *IMNV*. Sebelum melakukan pemeriksaan sampel, terlebih dahulu dilakukan persiapan terhadap bahan yang akan digunakan, meliputi pembuatan larutan Tris-acetic EDTA (TAE), pembuatan ethidium bromide dan pembuatan Pembuatan 2% Gel Agarose. Pembuatan larutan stok Tris-acetic EDTA (TAE) 50 x terdiri dari beberapa proses yaitu melarutkan 242 gr Tris Base; 57,1 ml glacial acetic acid ; 100 mL EDTA 0,5 M (pH 8) dengan 800 ml *aquadest* steril dalam *beaker glass* ukuran 1 l, kemudian aduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* sampai tercampur rata. *Aquadest* steril ditambahkan dalam *beaker glass* hingga volumenya menjadi 1 l. Pembuatan 500 ml larutan TAE 1 X (siap pakai untuk elektroforesis), dilakukan dengan melarutkan 1 bagian larutan stok TAE 50 x (10 ml) dengan 49 bagian (490 ml) *aquadest* steril.

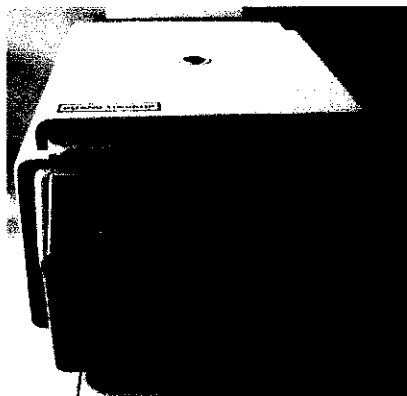
Pembuatan Ethidium Bromide (10 mg/mL) dilakukan dengan menambahkan 1 gr ethidium bromide ke dalam 100 ml *aquadest*, kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* beberapa jam hingga ethidium bromide terlarut. Tabung yang berisi larutan ethidium bromide dibungkus dengan *aluminium foil* atau dipindahkan ke dalam botol gelap dan disimpan pada suhu kamar.

Pembuatan 2% Gel Agarose dilakukan dengan melarutkan 0,8 mg bubuk agarose dengan 45 ml larutan TAE 1 X dalam erlenmeyer ukuran 100 ml, lalu

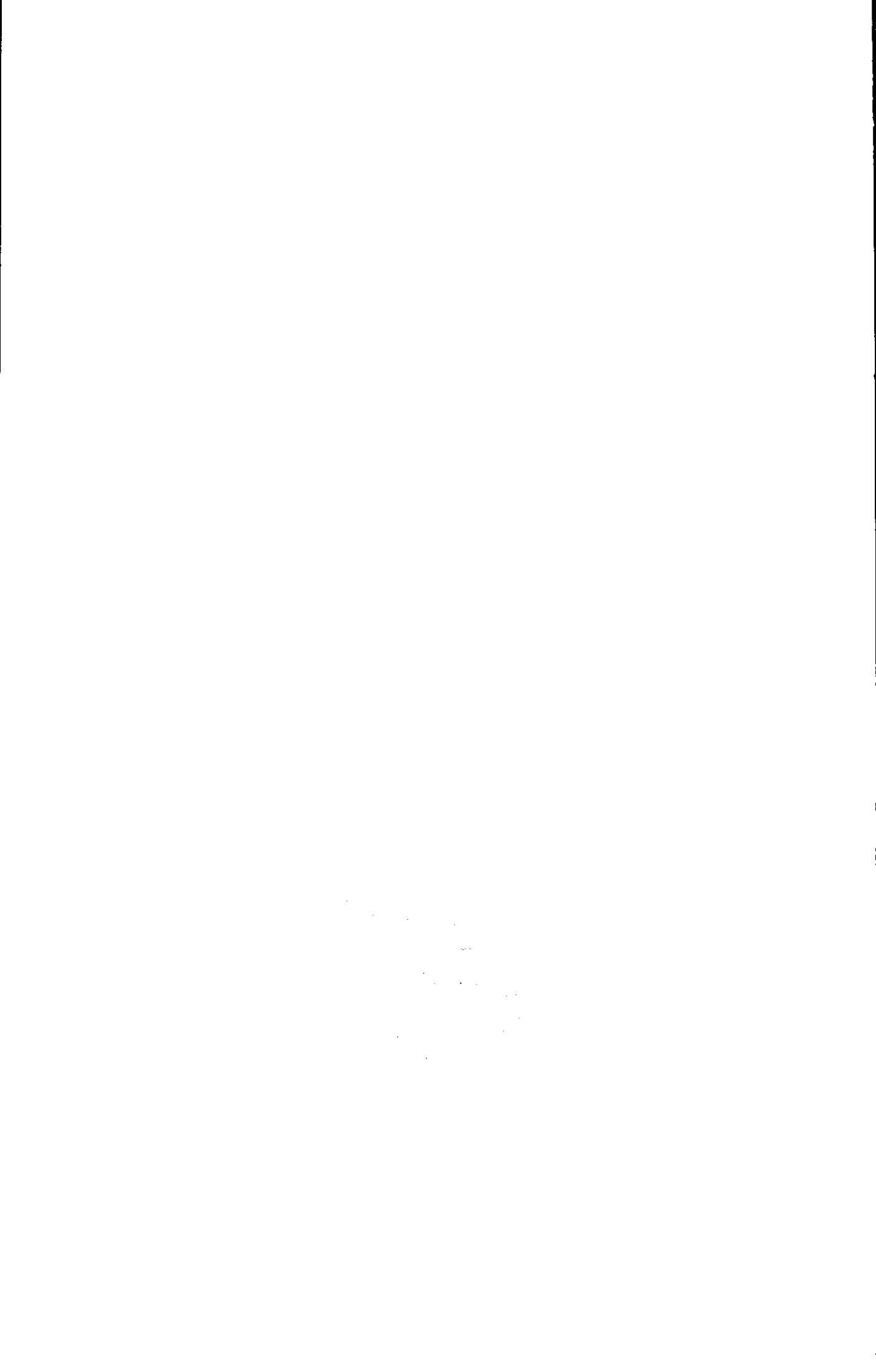


dipanaskan di atas *hot plate* sampai mendidih atau larutan menjadi bening. Larutan yang telah mendidih kemudian diletakkan diatas *water bath* 60° C selama 10 menit. Setelah itu agarose dapat dicetak pada cetakan gel yang sudah dipasang *comb* selama 20 – 60 menit hingga gel membeku dan siap digunakan.

Pemeriksaan sampel dengan metode IQ 2000™, memerlukan waktu 3 - 5 jam mulai dari persiapan sampel hingga pembacaan hasil. Empat tahapan utama dalam teknik *PCR* adalah ekstraksi, amplifikasi, elektroforesis, pengamatan dan dokumentasi. Tahap ekstraksi (Gambar 6) dimulai dengan pengambilan kaki renang atau insang udang menggunakan pinset dan pisau bedah steril. Tempat dan alat bedah berbeda untuk setiap sampel, untuk menghindari kontaminasi pada sampel. Kaki renang atau insang sebanyak 2 *piece* (20 mg) atau PL 12 sebanyak 25 – 50 ekor diletakkan dalam tabung *PCR tube* ukuran 1,5 ml. Ditambah 500 μ l *lysis buffer* ke dalam *PCR tube* yang berisi sampel kemudian dihancurkan hingga homogen. Diinkubasi pada suhu 95° C selama 10 menit. Selanjutnya disentrifus pada kecepatan 12.000 rpm selama 10 menit. Gambar sentrifus dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Sentrifuse



Supernatan dipindahkan sebanyak 200 μ l ke dalam *PCR tube* baru ukuran 1,5 ml, kemudian ditambah 400 μ l alkohol 95% (perbandingan supernatan dengan alkohol 1 : 2). Larutan supernatan yang telah ditambah alkohol divortex beberapa saat, kemudian disentrifus pada kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Setelah disentrifus alkohol dibuang, *pellet* yang diperoleh dikeringkan dalam desikator. *Pellet* yang telah kering dilarutkan dengan DEPC ddH₂O atau TE Buffer (Volume DEPC ddH₂O untuk benur 200 μ l dan untuk insang 50 μ l). Larutan tersebut siap digunakan untuk proses selanjutnya. Jika tidak digunakan harus disimpan dalam kondisi beku.



Gambar 6. Ekstraksi DNA dari sampel udang

Persiapan yang dilakukan pada tahap amplifikasi adalah mengeluarkan bahan yang baru keluar dari *freezer* kemudian dicairkan dengan cara divortex. Komposisi larutan *PCR* untuk 1 reaksi pada *step 1* atau *first PCR* (10 μ l) dengan mencampurkan 7,5 μ l *first PCR PreMix*, 0,5 μ l Iqzyme DNA Polymerase dan 2,0 μ l *Template DNA*, sedangkan komposisi larutan *PCR* untuk 1 kali reaksi pada *step 2* atau *Nested PCR* (15 μ l) dengan mencampurkan 14 μ l *nested PCR PreMix* dengan 1 μ l Iqzyme DNA Polymerase. Setelah semua

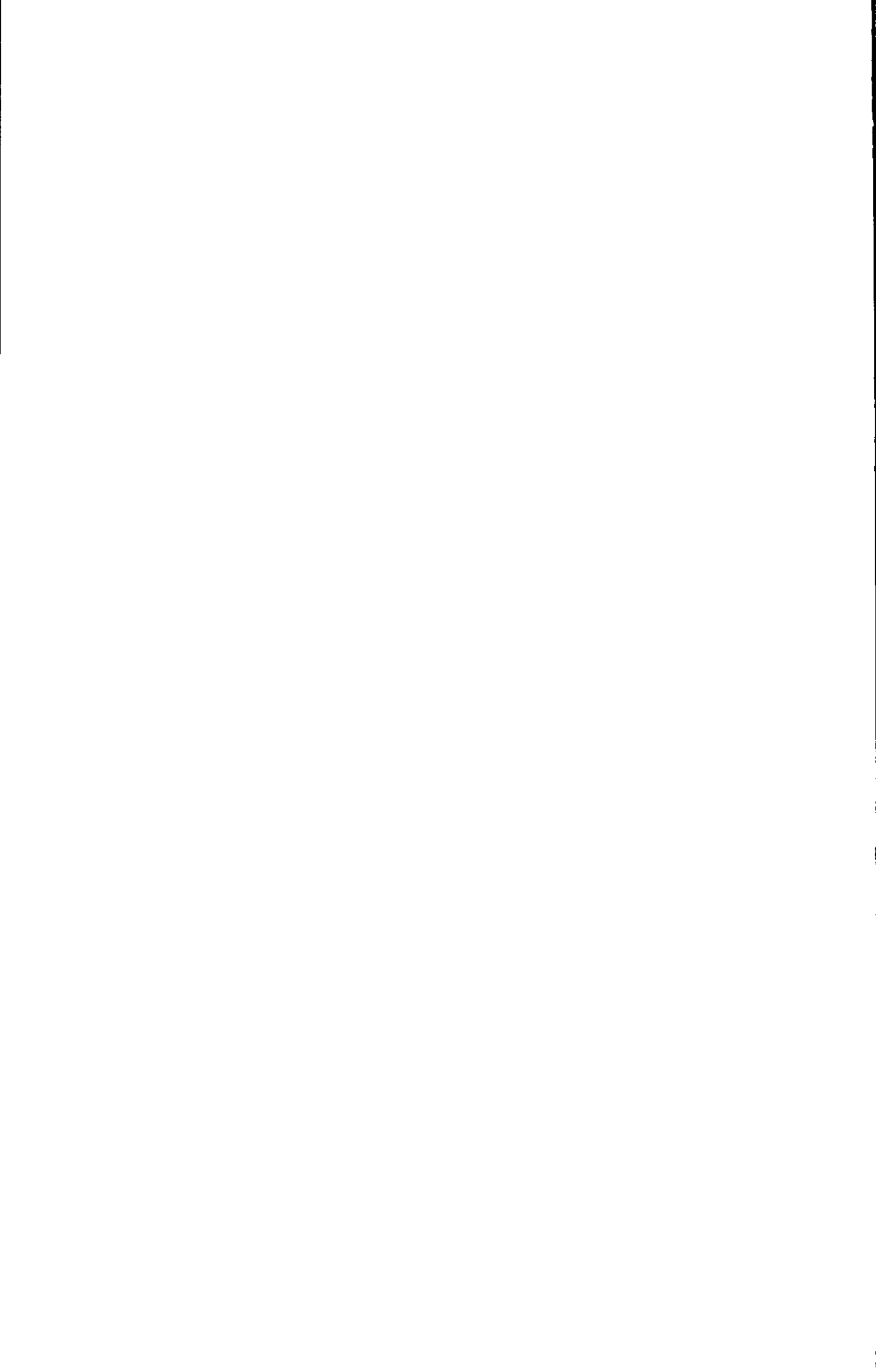


bahan dicampur (kecuali *template* DNA), bahan dibagikan ke dalam *microtube* 0,2 ml dengan volume masing-masing 8 μ l (*step* 1), sedangkan larutan untuk *Nested PCR* pada *step* 2 disimpan dahulu pada suhu 4° C.

Template DNA ditambahkan pada *microtube*, termasuk kontrol positif dan kontrol negatif, masing-masing sebanyak 2 μ l. Sebelum dimasukkan ke dalam mesin *PCR* (Thermocycler) *microtube* yang berisi *template* DNA dan larutan *PCR* divortex terlebih dahulu. Program pada mesin *PCR* (lihat Gambar 7) dijalankan sesuai dengan jenis virus yang akan dideteksi yaitu program *first PCR* (*step* 1). Setelah reaksi *first PCR* (*step* 1) selesai, *microtube* dikeluarkan dari mesin untuk ditambah reagen *Nested PCR* 15 μ l yang sudah disiapkan sebelumnya. Percampuran dilakukan dengan cepat, untuk menghindari kontaminasi. *Microtube* dimasukkan kembali ke dalam mesin *PCR*. Sebelum mesin dijalankan program yang akan dilaksanakan adalah program *Nested PCR*. Setelah proses berakhir, mesin dimatikan dan *microtube* dikeluarkan. Produk siap dijalankan pada elektroforesis.



Gambar 7. Thermocycle, alat amplifikasi DNA



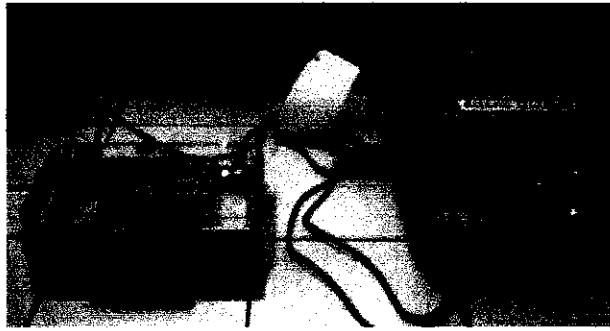
Proses pada tahap elektroforesis dimulai dengan menambahkan produk yang telah diamplifikasi dengan 5 μ l 6 X *Loading dye* pada masing – masing *microtube* dan dicampur hingga homogen. Gel yang telah dicetak diletakkan pada tangki elektroforesis, kemudian tangki diisi dengan larutan TAE 1 X sebanyak 500 ml (sampai gel terendam). Produk *PCR* yang telah ditambahkan *loading dye* dimasukkan ke dalam sumuran gel sebanyak 5 - 10 μ l (Gambar 8). Marker yang telah diketahui panjang DNA (848 bp, 630 bp, 333 bp) sebanyak 5 μ l diletakkan pada awal dan akhir deretan sumuran gel.



Gambar 8. Proses memasukkan produk *PCR* dalam sumuran

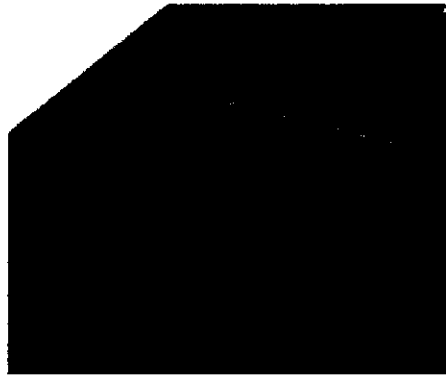
Semua sampel dimasukkan dalam sumuran, elektroforesis ditutup dan mesin dihidupkan dengan voltase 120 V selama 30 menit. Mesin elektroforesis dapat dilihat pada Gambar 9. Setelah proses elektroforesis berakhir, gel diangkat dari tangki dan direndam dalam larutan Ethidium Bromide (EtBr) 0,05 % selama 4 menit. Kemudian dilakukan proses pengamatan dan dokumentasi.





Gambar 9. Mesin elektroforesis

Gel yang telah direndam dalam larutan Ethidium Bromide 0,05 % kemudian gel dimasukkan dalam *aquadest* steril selama 10 menit. Gel diamati di atas *UV Transilluminator* (Gambar 10) dan dokumentasikan dengan kamera Polaroid.



Gambar 10. Pengamatan gel pada *UV Tansilluminator*

4.2.4 Hasil Pembahasan

Selama Praktek Kerja Lapang di Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil, sebagian besar sampel merupakan sampel udang. Jenis virus yang terdeteksi dengan *PCR* merupakan virus yang menyerang pada udang, seperti *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*, *Taura Syndrome Virus (TSV)* dan *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)*.



A. *White Spot Syndrome Virus (WSSV)*

WSSV tergolong dalam virus DNA yang termasuk dalam kelompok baculovirus dengan famili Nimaviridae dan genus Whispovirus. Virus ini memiliki ciri morfologi seperti memiliki amplop, berbentuk lonjong (eliptical), memiliki ekor yang unik, dan berukuran panjang 270 - 290 nm (Lighner, 2004). Bentuk virus *WSSV* dapat dilihat pada Gambar 11.



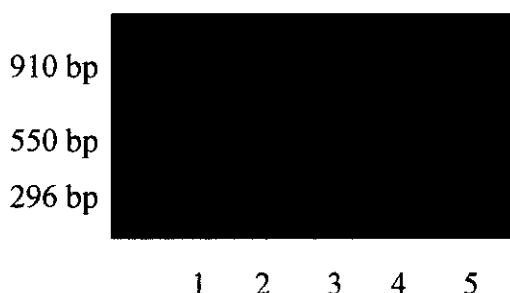
Gambar 11. Bentuk *WSSV* (Sumber: Lightner, 2004)

Hampir semua jenis udang rentan terhadap *WSSV*, antara lain: *Penaeus monodon*, *Penaeus merguensis*, *Penaeus chinensis*, *Penaeus indicus*, *Penaeus japonicus*, *Penaeus penicillatus*, *Penaeus stylirostris*, *Litopenaeus vannamei* dan *Metapenaeus ensis*. Penyakit ini menyerang udang pada semua stadia baik benur maupun udang dewasa. Udang yang terserang penyakit ini mula-mula nafsu makan menurun, berenang ke permukaan air dan menunjukkan bercak putih pada tubuhnya, sehingga dikenal dengan penyakit bercak putih (Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, 2002).

Selama Praktek Kerja Lapangan, sampel yang banyak diuji adalah sampel yang berasal dari tambak milik BPBAP Bangil dalam keadaan hidup. Gejala klinis yang dapat dilihat di lapangan adalah nafsu makan yang menurun, udang



berenang ke permukaan dan berkumpul di sekitar tanggul. Namun setelah dilakukan uji *PCR* diperoleh hasil negatif *WSSV* pada sampel yang berasal dari tambak milik BPBAP Bangil.



Gambar 12. Band hasil *PCR* *WSSV*

Keterangan : 1. Kontrol Positif *WSSV*, 2. Kontrol Negatif, 3. Kontrol Negatif, 4. Positif *WSSV* (sangat ringan), 5. Positif *WSSV* (berat).

Pada metode IQ 2000, hasil positif dapat dilihat hingga tingkatan berat, sedang, ringan dan sangat ringan. Sebelum melakukan pemeriksaan *PCR* terlebih dahulu harus mengetahui band yang muncul pada tiap tingkatan penyakit yang dapat dipelajari melalui buku petunjuk yang dikeluarkan oleh IQ 2000. Band hasil pemeriksaan *PCR* dari sampel *WSSV* dapat dilihat pada Gambar 12.

Sampel yang diperoleh dari salah satu perusahaan swasta menunjukkan tiga band yang sejajar dengan kontrol positif pada sampel ke-5. Sampel ke-4 didapatkan dua band yang muncul, dimana berdasarkan buku manual IQ 2000 band tersebut menunjukkan tingkatan penyakit sangat ringan (*Farming IntelliGene Tech. Corp.*, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa sampel udang yang berasal dari salah satu perusahaan swasta terdeteksi *WSSV* dengan tingkatan berat dan sangat ringan.

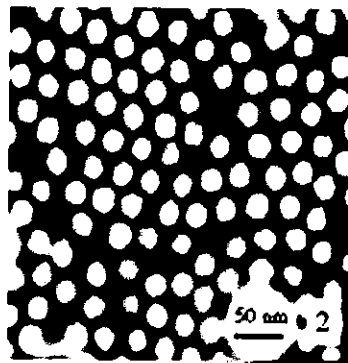
Marker yang digunakan bertujuan untuk mengetahui posisi band yang muncul, sehingga memudahkan dalam pembacaan. Hasil band di atas tidak



menggunakan marker namun menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif dari sampel yang telah terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan *PCR* untuk mempermudah pembacaan band. Kontrol positif (tingkatan berat) ditandai dengan munculnya band pada 296 bp (*base pair*), 550 bp dan 910 bp (*Farming IntelliGene Tech. Corp.*, 2001). Kontrol negatif digunakan ddH₂O sehingga tidak menunjukkan adanya band. Jika band sampel sejajar dengan kontrol positif maka sampel tersebut dinyatakan positif *WSSV*.

B. *Taura Syndrome Virus (TSV)*

Lightner (2004) menyatakan *TSV* termasuk dalam virus RNA dengan superfamily *Picornaviruses*, famili *Dicistroviridae* dan genus *Cripavirus*, tidak memiliki amplop, berbentuk partikel icosahedral dengan diameter 32 nm. Bentuk *TSV* dapat dilihat pada Gambar 13. Virus ini menginfeksi sel epitelial pada kutikula udang, sehingga mengakibatkan pada tubuh udang timbul menunjukkan bercak hitam.



Gambar 13. Bentuk *TSV* (Sumber: Lightner, 2004)

TSV umumnya menyerang postlarva, juvenil dan udang dewasa dari *L. Vannamei* dengan tingkat mortalitas 40 – 90% dari populasi budidaya udang. *TSV* juga dapat menyerang udang penaeid lainnya, antara lain *Farfantepenaeus*

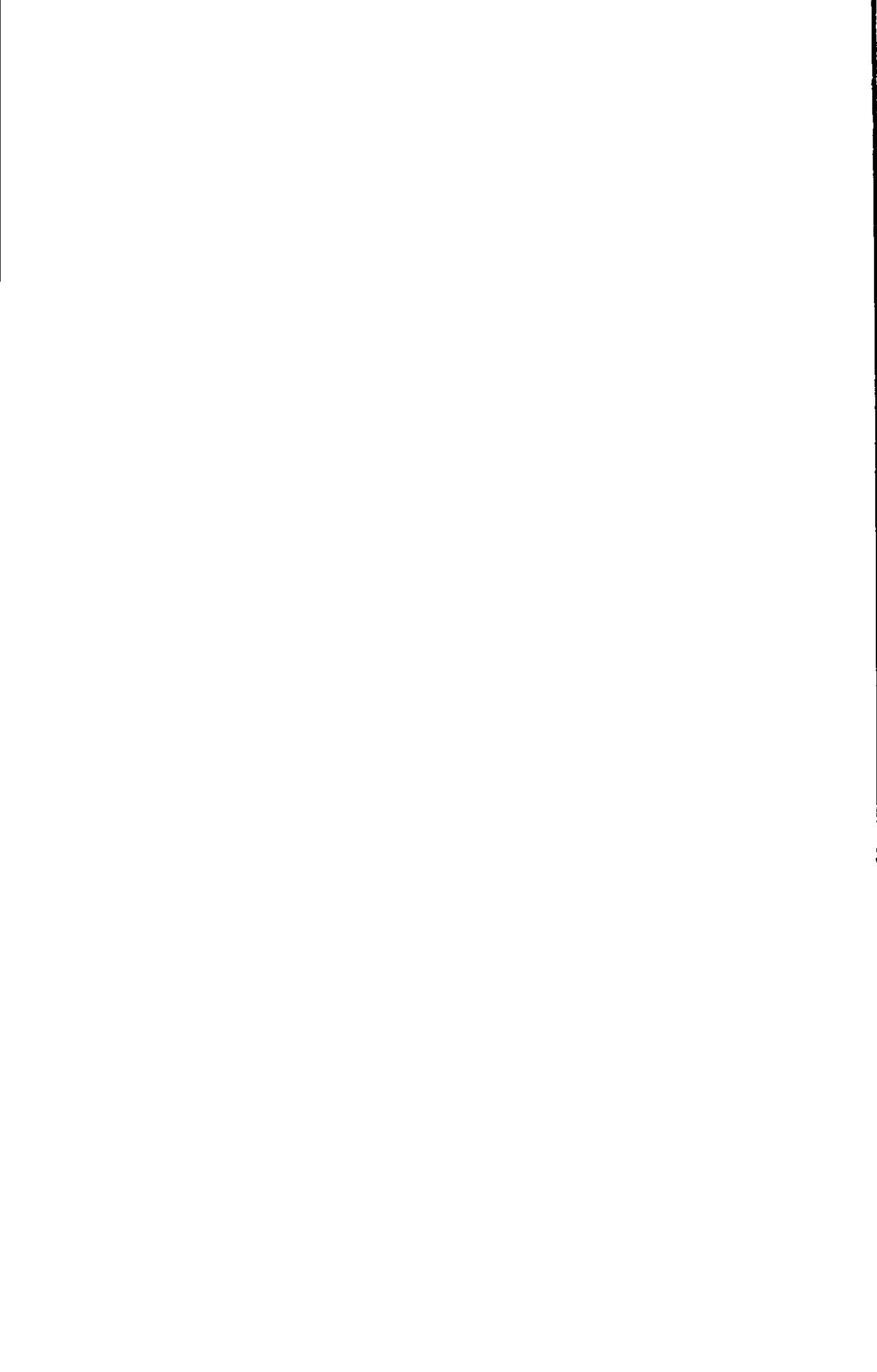


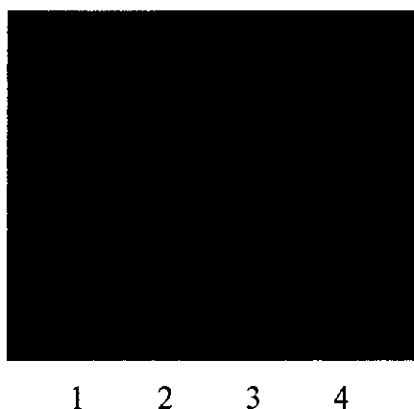
aztecus, *Fa. duorarum*, *Fenneropenaeus chinensis*, *P. monodon* dan *Marsupenaeus japonicus* (Lightner, 2004).



Gambar 14. Sampel udang yang positif berat *TSV*

Gejala klinis dari *TSV* adalah ekor udang berwarna merah, cangkang lembek, usus kosong dan untuk stadia infeksi kronis menunjukkan bercak hitam pada tubuh karena mengalami melanisasi pada kutikula (*Center for Emerging Issue*, 2004). Sampel udang yang terserang *TSV* pada tingkatan berat dapat dilihat pada Gambar 14. Selama Praktek Kerja Lapangan diperoleh beberapa sampel yang positif terdeteksi *TSV* tingkat ringan. Gejala klinis yang dapat dilihat dari sampel udang positif berat yang digunakan sebagai kontrol positif adalah adanya bercak hitam pada tubuh udang, cangkang udang yang lembek dan mudah lepas. Sedangkan gejala klinis yang diperoleh dari sampel lapangan adalah gerakan udang tidak aktif dan cangkang udang lembek.





Gambar 15. Band hasil *PCR TSV*

Keterangan : 1. Kontrol Positif *TSV*, 2. Kontrol Negatif, 3. Positif *TSV* (sangat ringan), 4. Positif *TSV* (sangat ringan).

Band yang muncul pada gel setelah dibaca dengan *UV Transilluminator* dapat dilihat pada Gambar 15. Sampel ke-1 merupakan kontrol positif *TSV* dengan empat band yang muncul dan sampel ke-2 merupakan kontrol negatif yang berisi ddH₂O sehingga tidak menunjukkan adanya band. Pada sampel ke-3 dan ke-4 terdapat dua band yang tidak sejajar dengan kontrol positif. Band yang muncul tersebut masih termasuk dalam tingkatan serangan sangat ringan (*Farming IntelliGene Tech. Corp., 2001*).

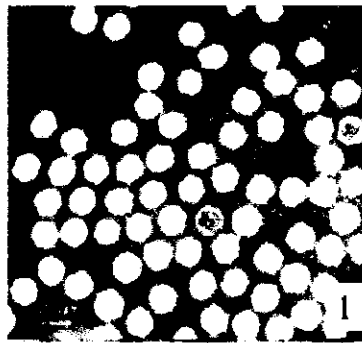
Hasil akhir proses elektroforesis, diperoleh band yang terlihat samar. Hal ini dapat terjadi akibat kurang halus saat melakukan ekstraksi pada sampel jaringan sehingga DNA virus tidak seluruhnya keluar dari jaringan sampel. Selain itu dapat disebabkan oleh jumlah atau konsentrasi DNA yang dimasukkan ke agarose tidak mencukupi.

C. *Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV)*

IHHNV ditemukan pertama kali tahun 1981, dengan tingkat mortalitas 90% pada budidaya udang *Penaeus stylirostris* di Hawaii (Tang *et al.*, 2003).

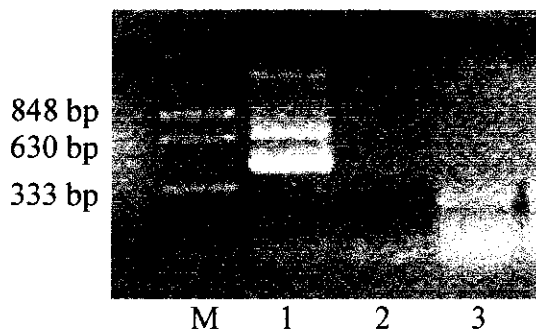


Lightner (2004) menjelaskan bahwa *IHHNV* diklasifikasikan dalam famili *Parvoviridae* dan genus *Brevidensovirus*, tidak beramplop, berbentuk partikel icosahedral dengan diameter 22 nm. Bentuk icosahedral dari *IHHNV* dapat dilihat pada Gambar 16.



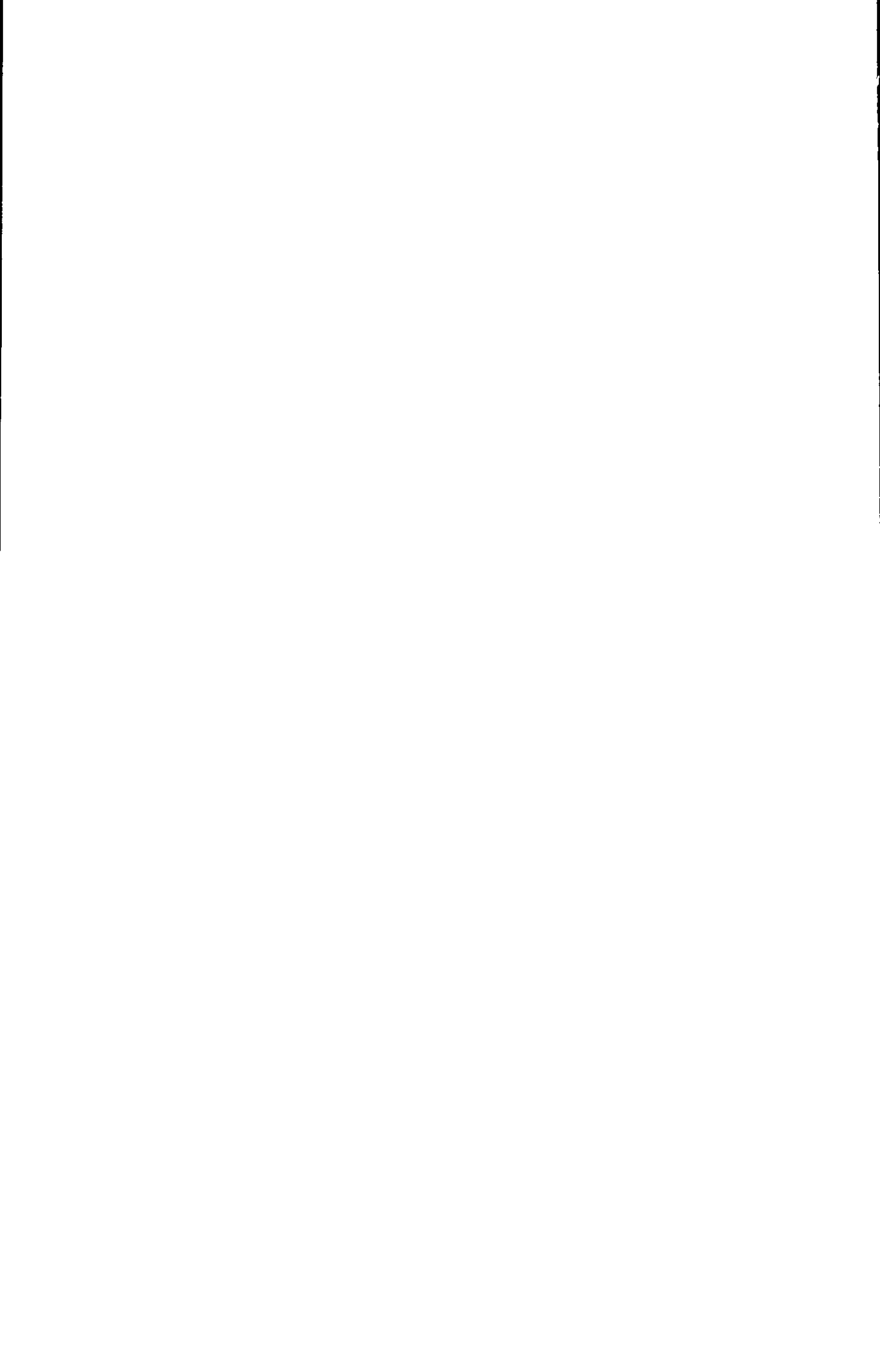
Gambar 16. Bentuk *IHHNV* (Sumber: Lightner, 2004)

Infeksi *IHHNV* pada *L. vannamei* menyebabkan *Runt Deformity Syndrome (RDS)* terjadi penurunan pertumbuhan, kelainan bentuk pada kutikula dan mortalitas pada budidaya udang vannamei (Lightner, 2004). Singhapan *et al.* (2004) menjelaskan bahwa *IHHNV* juga ditemukan pada udang windu (*Penaeus monodon*) namun tidak menimbulkan mortalitas.



Gambar 17. Band hasil *PCR IHHNV*

Keterangan: M: marker, 1. Kontrol Positif, 2. ddH₂O, 3. Negatif *IHHNV*



Selama Praktek Kerja Lapang, hasil *PCR* dari sampel yang diperkirakan terinfeksi *IHHNV* diperoleh hasil negatif *IHHNV* (Gambar 17). Band yang terlihat pada Gambar 17 di atas sampel ke-1 merupakan kontrol positif *IHHNV* yang ditandai dengan munculnya 3 band, sampel ke-2 adalah ddH₂O sehingga tidak muncul band. Sampel ke-3 terdapat sebuah band pada bagian bawah marker 333 bp dan berdasarkan buku petunjuk *PCR IQ 2000* adalah negatif *IHHNV* (*Farming IntelliGene Tech. Corp.*, 2001).



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN



V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

- a) Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil menggunakan metode IQ 2000™ yang diadopsi dari *Farming IntelliGene Tech. Corp*, Taiwan untuk mendeteksi virus pada udang dengan keunggulan dapat menentukan tingkatan serangan (berat, sedang, ringan) dari sampel yang diuji.
- b) Prinsip kerja dari *PCR* terdiri dari 3 tahapan, yaitu Denaturasi, Anneling dan Ekstensi.
- c) Tahap utama dalam pemeriksaan dengan *PCR* adalah ekstraksi, amplifikasi, elektroforesis, pengamatan dan dokumentasi.
- d) Jenis virus yang terdeteksi pada udang selama Praktek Kerja Lapang adalah *White Spot Syndrome Virus (WSSV)* dan *Taura Syndrome Virus (TSV)*.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah dibutuhkan berbagai jenis sampel yang akan dilakukan pemeriksaan dengan *PCR*, sehingga dapat melatih dalam pemahaman kerja dari *PCR*. Dibutuhkan peningkatan akan kebutuhan sumber bacaan yang mendukung Praktek Kerja Lapang.

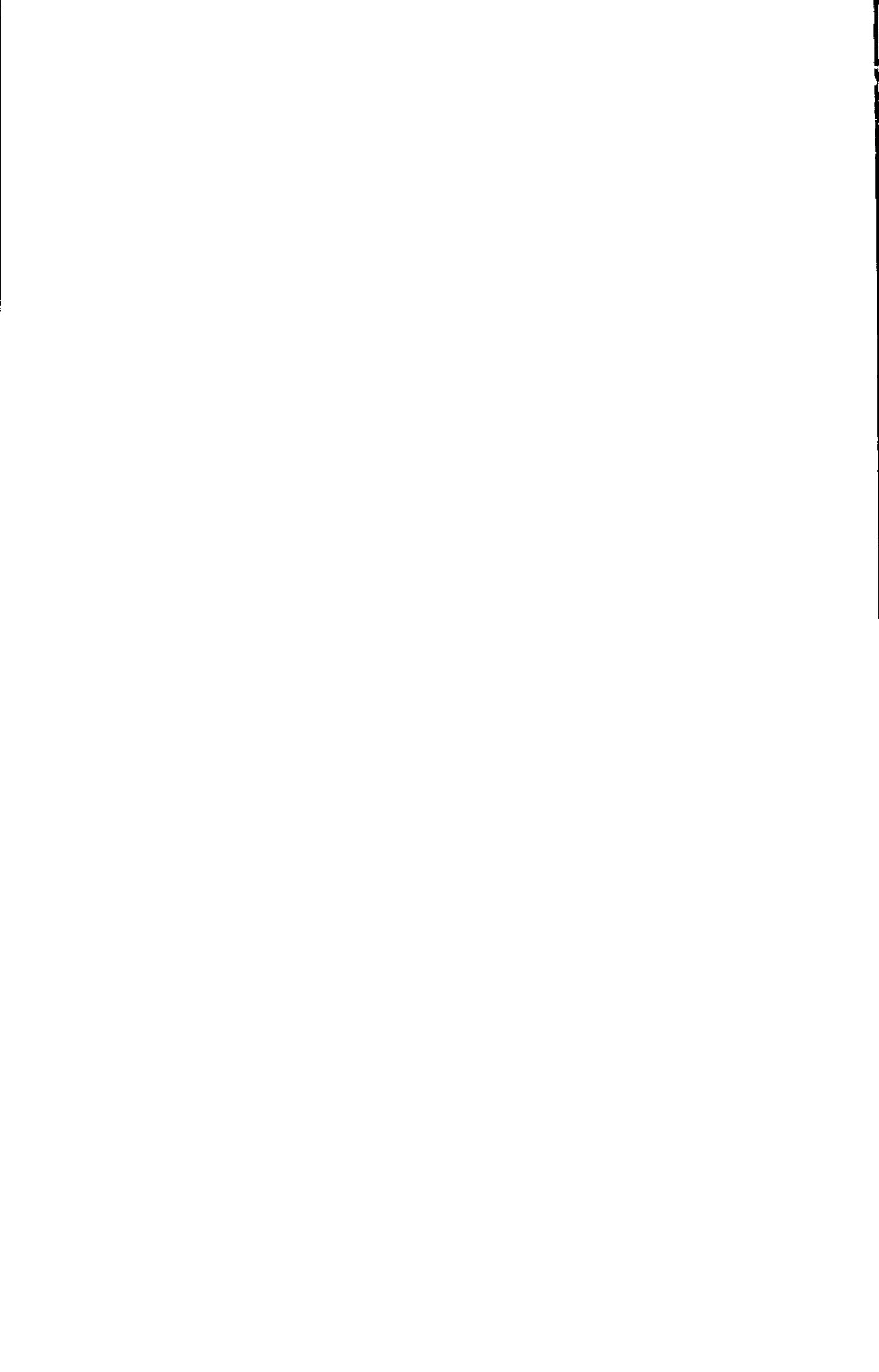


DAFTAR PUSTAKA



DAFTAR PUSTAKA

- Azwar, S. 1998. Metode Penelitian. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. hal. 36.
- Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil. 2006. Laporan Tahunan Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil 2006. Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil Dinas Perikanan dan Kelautan Propinsi Jawa Timur, Bangil. 66 hal.
- Campbell, N. A., J. B. Reece and L. G. Mitchell. 2002. Biologi Edisi Kelima – Jilid 1. Penerbit Erlangga. Jakarta. hal 341 - 364.
- Center for Emerging Issues. 2004. Taura Syndrome Virus, United States June 10, 2004 Impact Worksheet. Center for Emerging Issues, Center for Epidemiology and Animal Health. Animal and Plant Health Inspection Service, USDA. Texas. <http://www.aphis.usda.gov>. 1 September 2007. 4 pp.
- Davidson, M. W. 2005. Virus Structure. Florida State University. <http://www.micro.magna.fsu.edu>. 5 April 2008. 4 pp.
- Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan. 2002. Petunjuk Teknis Prosedur *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Untuk Diagnosa Cepat Penyakit Bercak Putih Pada Udang. Direktorat Jendral Perikanan Budidaya, Laboratorium Riset Kesehatan Ikan, Pusat Riset Perikanan Budidaya, Badan Riset Kelautan dan Perikanan. Jakarta. 19 hal.
- Doerder, P. 2007. Virus. the Cleveland State University. <http://en.wikipedia.org>. 17 Juli 2007. 20 pp.
- Farming Intelligene Technology Corp. 2001. Your Partner for Viral Detection and Prevention. Typical Diagnostic Results Generated by IQ 2000™ Detection and Prevention System. Taiwan. <Http://www.iq2000kit.com>. 19 Desember 2007. 6 pp.
- Fenner, J. F., P. J. Gibbs, F. A. Murphy, R. Rott, M. J. Studdert, and D. O. White. 1995. Virologi Veteriner. Edisi kedua. *Terjemahan*: D. K. Harya Putra. Academic Press Inc. California. hal. 3 – 65.
- Handajani, H. dan S. Samsundari. 2005. Parasit dan Penyakit Ikan. UMM Press. Malang. hal. 187.
- Irianto, K. 2006. Mikrobiologi Menguk Dunia Mikroorganisme. Yrama Widya. Bandung. hal. 188 – 206.
- Karantina Ikan Juanda. 2002. Penyebar-luasan Informasi Karantina Ikan. Stasiun Karantina Ikan Juanda. Surabaya. 9 hal.



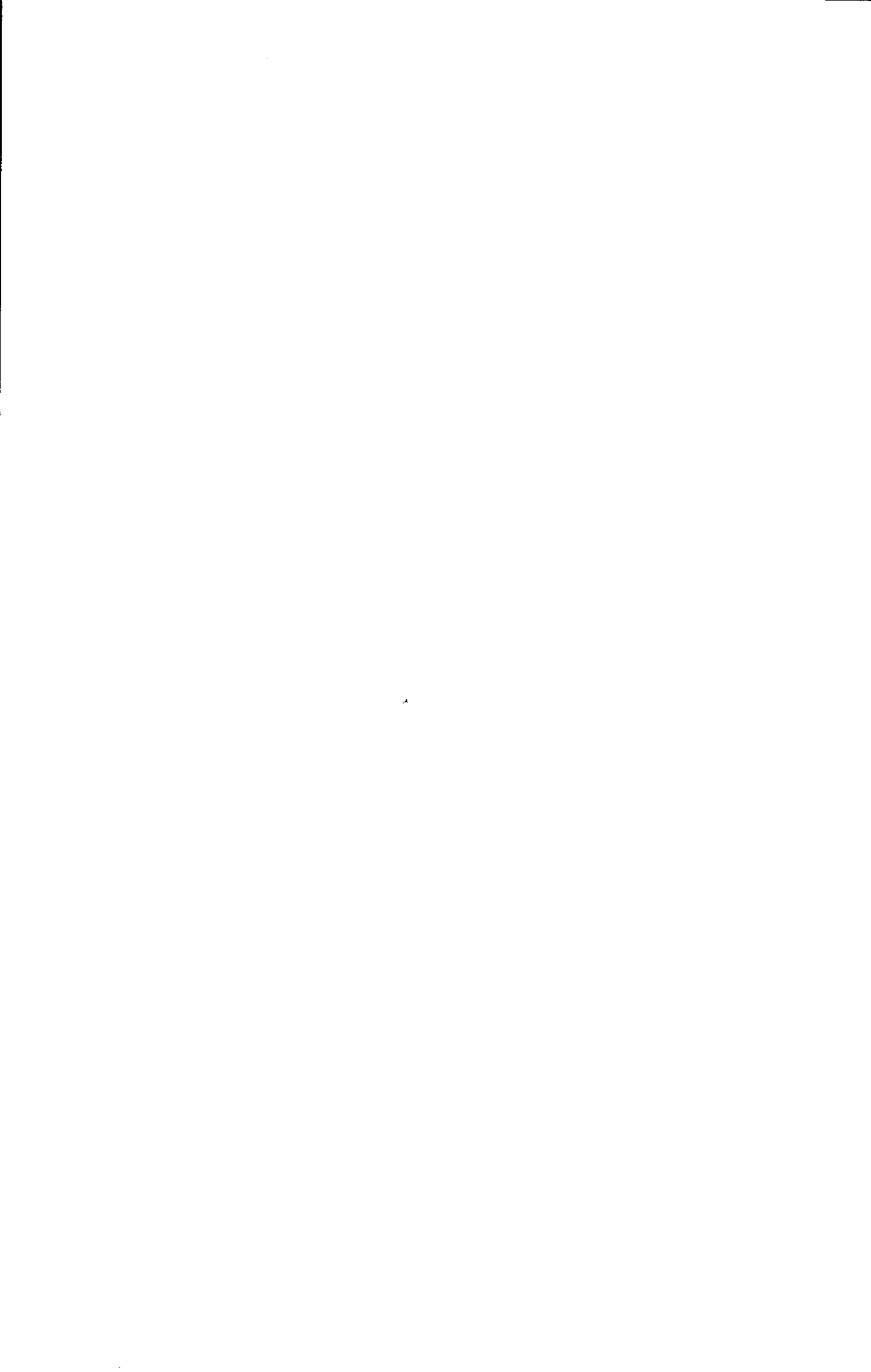
- Klinger, R. E. and R. Francis-Floyd. 2002. Introduction to Viral Disease of Fish. Series of the Fisheries and Aquatic Sciences Departmen, Florida Cooperative Extention Service. University of Florida. <http://adis.ifas.ufl.edu>. 17 Juli 2007. 3 pp.
- Lightner, D. V. 2004. The Penaeid Shrimp Viral Pandemics Due to IHNV, WSSV, TSV, and YHV: History in the Americas and Current Status. Department of Veterinary Science and Microbiology University of Arizona, Tucson. <http://www.lib.noaa.gov>. 5 September 2007. 20 pp.
- Marzuki, 1983. Metode Penelitian. Gramedia. Jakarta. hal. 75.
- Murdjani, M., Y. Lestari dan G. Triastutik. 2003. Peran PCR Sebagai Alat Deteksi Dini Infeksi Penyakit Viral pada Budidaya Ikan dan Udang. Makalah disampaikan pada Pelatihan Jabatan Fungsional Pengendalian Hama dan Penyakit Ikan di Cisarua, Bogor. 27 – 29 Januari 2003. 19 hal.
- Narbuko, C. dan A. Achmadi. 2007. Metodologi Penelitian. Bumi Aksara. Jakarta. hal. 72 - 83.
- Rahajanto, D. 2006. Profil Stasiun Karantina Ikan Kelas I Tanjung Perak Surabaya. Pusat Karantina Ikan Departemen Kelautan dan Perikanan. Surabaya. 15 hal.
- Rukyani, A. dan A. Sunarto. 1997. Diagnosis, Pencegahan dan Penanggulangan Penyakit Viral pada Udang Windu di Tambak dan Hatchery. Makalah pada Kursus Singkat di Universitas Airlangga. Surabaya, 5 – 7 Agustus 1997. 20 hal.
- Sevilla, C. G., J. A. Ochave, T. G. Punsalan, B. P. Regala and G. G. Uriarte. 2006. Pengantar Metode Penelitian. *Terjemahan: Alimuddin Tuwu*. Universitas Indonesia. Jakarta. hal. 71 – 73.
- Singhapan, J., C. Limsuwan and N. Chuchird. 2004. Effect of Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) on Growth, Survival Rate and Histopatological Changes of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. <http://www.intres.com>. 5 April 2008. 5 pp.
- Suriawiria, Prof. H. Unus. 2005. Mikrobiologi Dasar. Paps Sinar Sinanti. Jakarta. hal. 74.
- Tang, K. F.J., B. T. Poulos, J. Wang, R. M. Redman, Hsiu-Hui Shih and D. V. Lightner. 2003. Geographic Variations among Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) Isolates and Characteristics of their Infection, vol 53: 91-99. Diseases of Aquatic Organisms. <http://www.int-res.com>. 1 Desember 2007. 10 pp.



Tim BPBAP Bangil, 2003. Pengantar Analisis PCR. Balai Pengembangan Budidaya Air Payau Bangil, Dinas Kelautan dan Perikanan Propinsi Jawa Timur. Bangil. 9 hal.

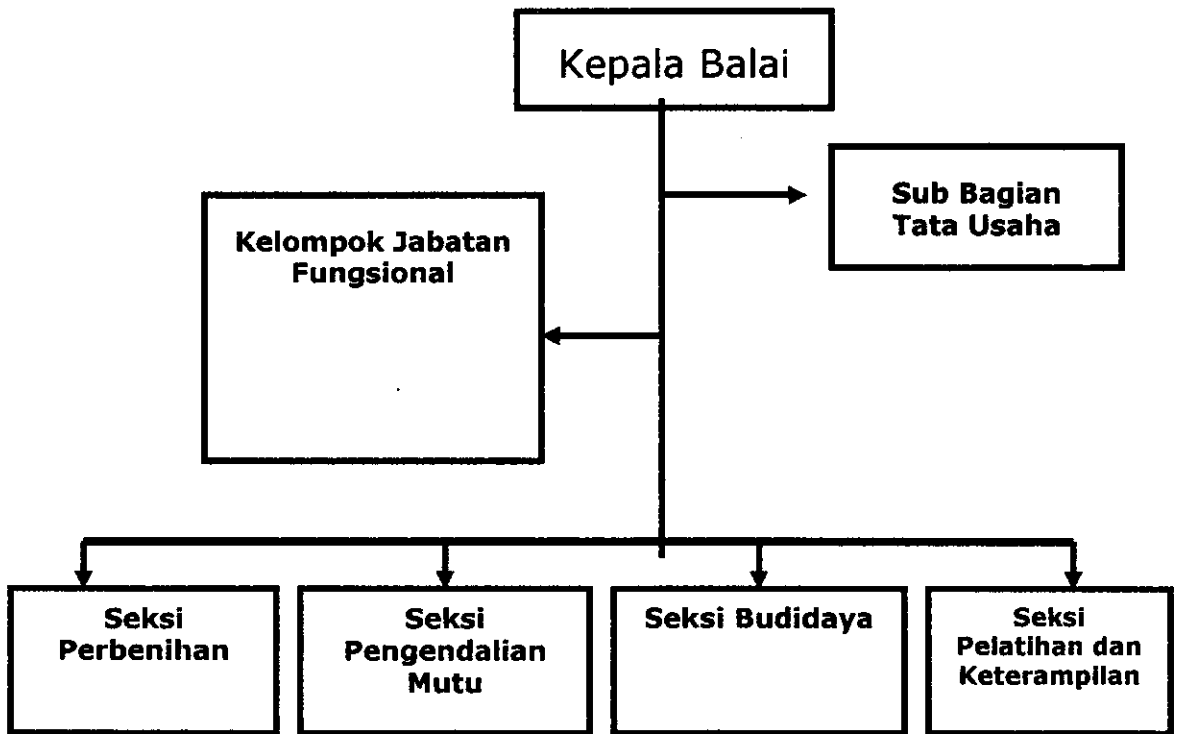


LAMPIRAN



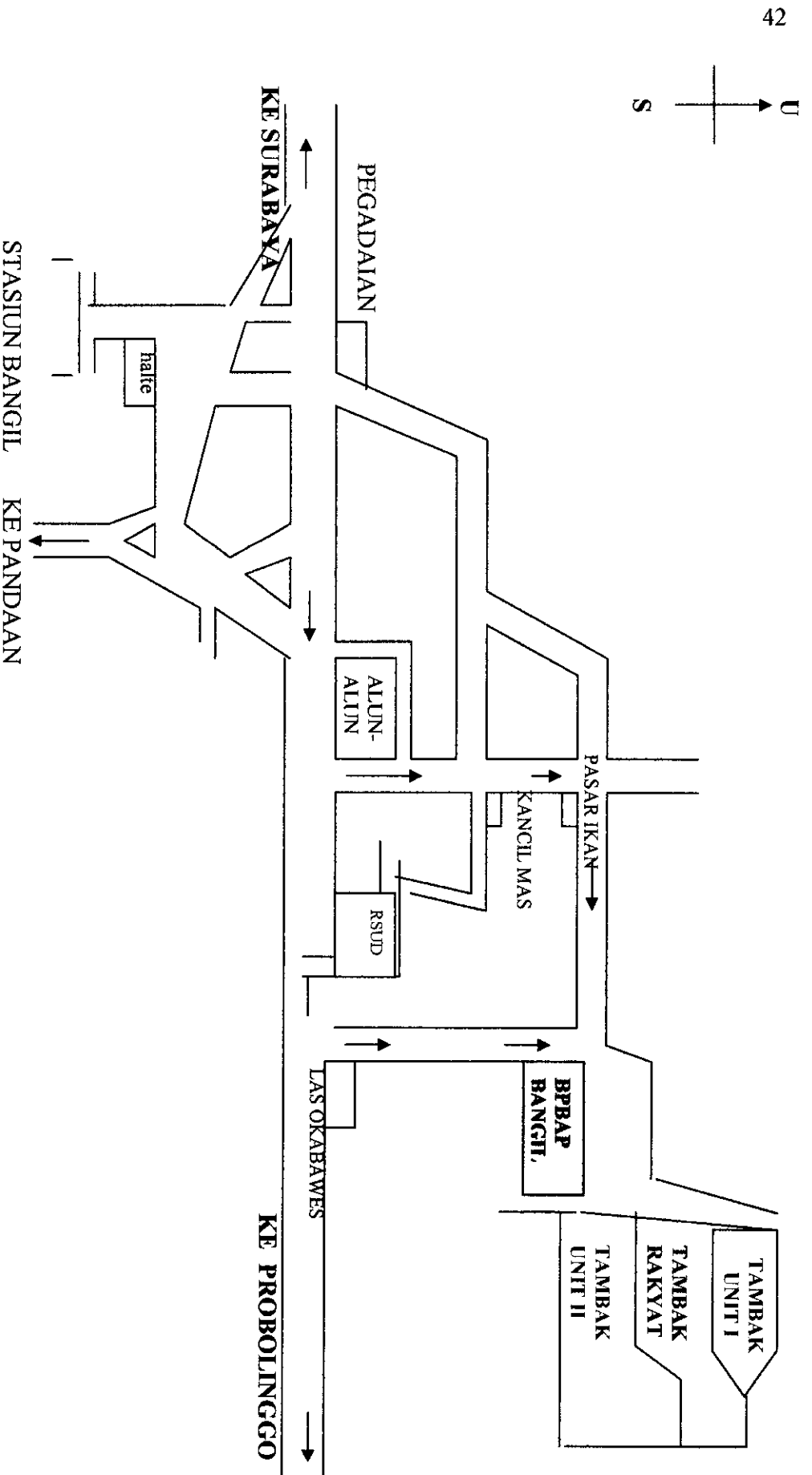
LAMPIRAN

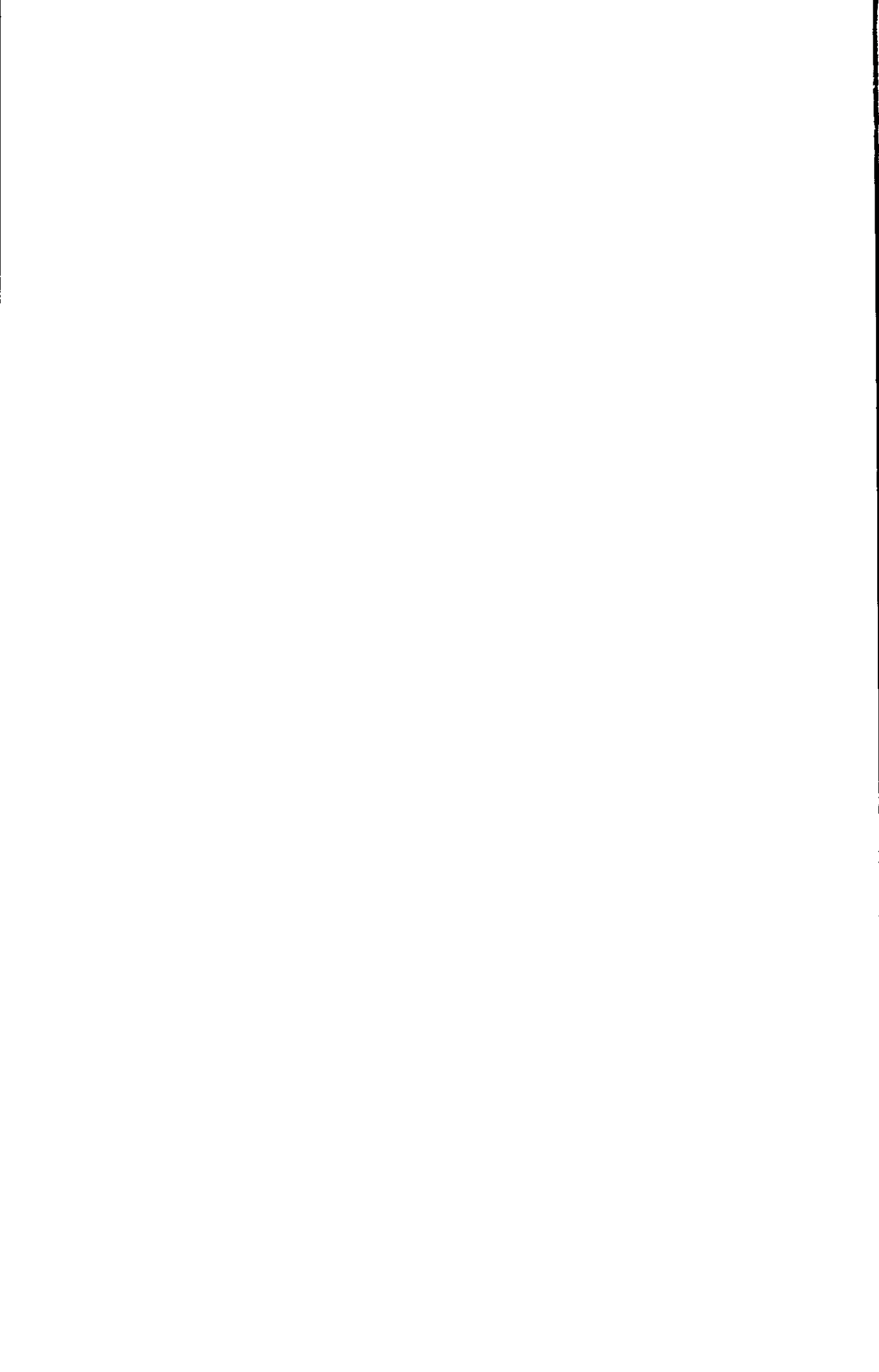
Lampiran 1. Bagan Struktur Organisasi BPBAP Bangil





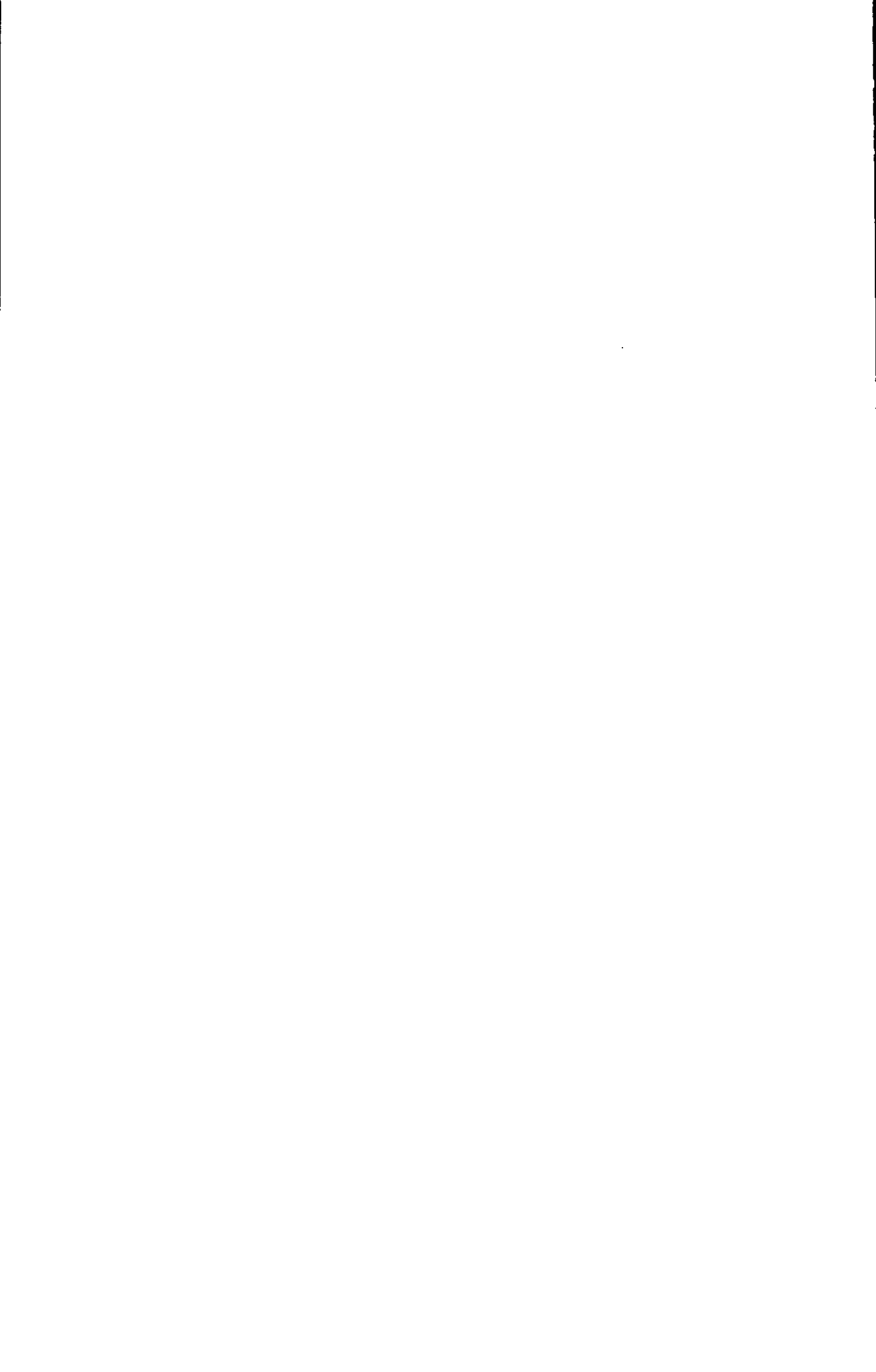
Lampiran 2. Denah Lokasi BPBAP Bangil





Lampiran 3. Prasarana yang terdapat di BPBAP Bangil

NO.	JENIS PRASARANA	LUAS (m ²)
	Unit Perkantoran :	
1.	Kantor	208 m ²
2.	Asrama	200 m ²
3.	Ruang Makan	100 m ²
4.	Ruang Genset	12 m ²
5.	Work Shop/R. Kelas	70 m ²
6.	Pagar Tembok Selatan	137,55 m ²
7.	Pagar Tembok Barat	167,47 m ²
8.	Pagar Tembok Utara	21,25 m ²
9.	Pagar Kawar Ram Utara	116,2 m ²
10.	Pagar Tembok Kawat Duri Timur	66 m ²
11.	Garasi	20 m ²
12.	Rumah Pompa Air Tawar	6 m ²
13.	Menara Air/Tower	3,25 m ²
14.	Gudang + K. Mandi	36 m ²
15.	Menara Air+Bak Tandon	5 m ²
16.	Balai Pertemuan	150 m ²
17.	Guest House	70 m ²
18.	Musholla	24 m ²
	Unit Perumahan :	
1.	Rumah Dinas	C – 70
2.	Mess Operator	D – 50
3.	Mess Instruktur	D – 50
4.	Rumah Dinas	D – 50
5.	Rumah Dinas	D – 50
6.	Rumah Penjaga	E – 36
	Unit Laboratorium :	
1.	Gedung Laboratorium I	200 m ²
2.	Gedung Laboratorium II	150 m ²
	Unit Perbenihan :	
1.	Bangsai Perbenihan Udang Windu	153 m ²
	8 buah bak	16 ton
	4 buah bak	2 ton
2.	Bangsai Pembenihan Udang Galah	153 m ²
	12 buah bak	7,5 ton
	4 buah bak	2 ton
	Unit Industri Glondongan :	
1.	2 bak pengendapan	12,5 m ²
2.	5 bak PL	12,5 m ²
3.	8 bak PL	10 m ²
4.	1 Unit Instalasi Blower	-
5.	1 Unit Perlengkapan aerator	-
6.	Bangsai kerja	30 m ²



Lampiran 3. Prasarana yang terdapat di BPBAP Bangil (lanjutan)

NO.	JENIS PRASARANA	LUAS (m ²)
7.	Atap Industri glondongan	250 m ²
8.	Filter air	14,10 m ²
	Unit Tambak :	
1.	Rumah Genset	36 m ²
2.	Rumah Jaga Tambak	36 m ²
3.	Jembatan Kayu	2 m ²
4.	Lahan Tambak Unit I	5,7 Ha
	- Saluran Penampung air	5.000 m ²
	- TP. 1	981 m ²
	- TP. 2	865 m ²
	- TP. 3	1.061 m ²
	- TP. 4	969 m ²
	- RP. 1	7.067 m ²
	- RP. 2	8.600 m ²
	- RP. 3	3.800 m ²
	- RP. 4	3.800 m ²
	- RP. 5	9.150 m ²
	- RP. 6	8.800 m ²
	- RP. 7	2.780 m ²
	- RP. 8	2.720 m ²
5.	Lahan Tambak Unit II	6 Ha

