

**MONITORING KARAKTERISTIK MOLEKULAR ISOLAT  
*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* PADA IKAN  
BUDIDAYA LAUT DI BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA LAUT  
LAMPUNG**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang  
Ilmu Kelautan pada Fakultas MIPA*



**Oleh :**

**IKA NUR FEBRIANI**

**08051181722015**

**JURUSAN ILMU KELAUTAN  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU  
PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
INDERALAYA  
2021**

**MONITORING KARAKTERISTIK MOLEKULAR ISOLAT  
*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* PADA IKAN  
BUDIDAYA LAUT DI BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA LAUT  
LAMPUNG**

**Oleh :**

**IKA NUR FEBRIANI**

**08051181722015**

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang  
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sriwijaya*

**JURUSAN ILMU KELAUTAN  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU  
PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
INDERALAYA  
2021**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**MONITORING KARAKTERISTIK MOLEKULAR ISOLAT  
*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* PADA IKAN  
BUDIDAYA LAUT DI BALAI BESAR PERIKANAN BUDIDAYA LAUT  
LAMPUNG**

**SKRIPSI**

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang  
Ilmu Kelautan pada Fakultas MIPA*

Oleh :

**IKA NUR FEBRIANI**

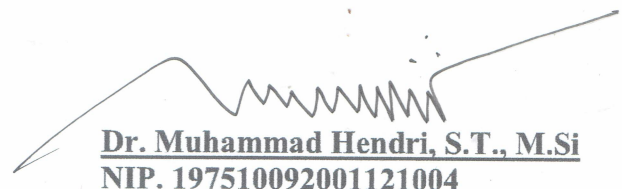
**08051181722015**

**Pembimbing II**



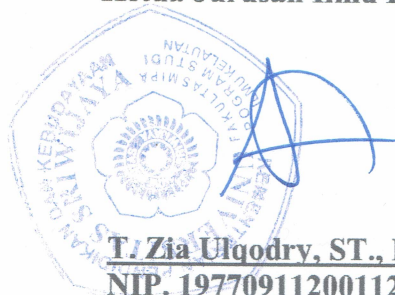
**Margie Brite, S.Pi., M.Sc**  
**NIP. 197803312002122002**

**Indralaya, Januari 2021**  
**Pembimbing I**



**Dr. Muhammad Hendri, S.T., M.Si**  
**NIP. 197510092001121004**

**Mengetahui**  
**Ketua Jurusan Ilmu Kelautan**



**T. Zia Ulqodry, ST., M.Si., Ph.D**  
**NIP. 197709112001121006**

**Tanggal Pengesahan :**

## LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Ika Nur Febriani

NIM : 08051181722015

Judul Skripsi : Monitoring Karakteristik Molekular Isolat *V.alginolyticus*,  
*V.parahaemolyticus* dan *V.vulnificus* pada Ikan Budidaya Laut  
di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

### DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. Muhammad Hendri, M.Si  
NIP. 197510092001121004

(.....)

Anggota : Margie Brite, S.Pi., M.Sc  
NIP. 197803312002122002

(.....)

Anggota : Dr. Riris Aryawati, S.T,M.Si  
NIP. 197601052001122001

(.....)

Anggota : Dr. Wike Ayu Eka Putri, S.Pi., M.Si  
NIP. 197905122008012017

(.....)

Ditetapkan di : Indralaya

Tanggal : Januari 2021

## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya **Ika Nur Febriani, 08051181722015** menyatakan bahwa Karya Ilmiah/Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan Karya Ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun Perguruan Tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam Karya Ilmiah/Skripsi ini yang berasal dari penulisan lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulisan secara benar dan semua Karya Ilmiah/Skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Indralaya, Januari 2021



NIM. 08051181722015

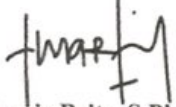
## ABSTRAK

**IKA NUR FEBRIANI, 08051181722015. Monitoring Karakteristik Molekular Isolat *V.alginolyticus*, *V.parahaemolyticus* dan *V.vulnificus* pada Ikan Budidaya Laut di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung (Pembimbing : Dr. Muhammad Hendri, M.Si dan Margie Brite, S.Pi., M.Sc)**

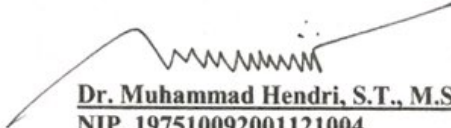
Vibriosis merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh infeksi patogen golongan *Vibrio* yang dapat mengakibatkan kematian ikan mencapai lebih dari 80% pada budidaya ikan. Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis isolat patogen *Vibrio* spp yang menginfeksi ikan budidaya laut dengan beberapa set primer spesifik dan mengidentifikasi jenis bakteri *Vibrio* spp yang menginfeksi ikan laut budidaya di BBPBL Lampung. Koleksi isolat bakteri pada penelitian ini berjumlah 20 sampel isolat dari media selektif *Vibrio* TCBS dan 2 sampel isolat dari medium pengkaya TSB 2% NaCl. Identifikasi secara molekular menggunakan primer 16S rRNA untuk mengidentifikasi bakteri *Vibrio* sp panjang bandnya 700bp, primer Collagenase untuk mengidentifikasi bakteri *V.alginolyticus* panjang bandnya 737bp, primer Tdh untuk mengidentifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* panjang bandnya 373bp, primer Tox R untuk mengidentifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* panjang bandnya 368bp dan primer Vvh untuk mengidentifikasi bakteri *V.vulnificus* panjang bandnya 386bp. Hasil perhitungan prevalensi dari 22 isolat yang diidentifikasi secara molekular menggunakan primer 16S rRNA yaitu 81,82%, primer Collagenase yaitu 27,27%, primer Tdh yaitu 0%, primer Tox R yaitu 9,1% dan primer Vvh yaitu 9,1%.

**Kata kunci :** Ikan laut, metode molekular, set primer , vibriosis.

**Pembimbing II**

  
**Margie Brite, S.Pi., M.Sc**  
NIP. 197803312002122002

**Indralaya, Januari 2021**  
**Pembimbing I**

  
**Dr. Muhammad Hendri, S.T., M.Si**  
NIP. 197510092001121004

**Mengetahui**  
**Ketua Jurusan Ilmu Kelautan**

  
  
**T. Zia Ulgodry, ST., M.Si., Ph.D**  
NIP. 197709112001121006

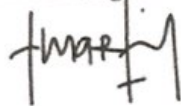
## ABSTRACT

**IKA NUR FEBRIANI. 08051181722015. Monitoring The Molecular Characterization of *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus* in Marine Fish Culture at The Main Center for Marine Aquaculture in Lampung (Supervisors : Dr. Muhammad Hendri, M.Si dan Margie Brite, S.Pi., M.Sc)**

Vibriosis is a disease caused by infection with the *Vibrio sp.* pathogen which can cause fish mortality to reach more than 80% in fish culture. The purpose of this study is to examine and identify isolates of pathogenic *Vibrio* spp that infect marine fish culture with some specific primer sets in Main Center for Marine Aquaculture in Lampung. The collections of bacterial isolates in this study consisted of 20 isolates samples from *Vibrio* TCBS selective medium and 2 isolates samples from TSB 2% NaCl enrichment medium. Molecular identification used 16S rRNA primers to identify *Vibrio* sp bacteria with a band length of 700bp, Collagenase primers to identify *V. alginolyticus* at 737bp band length, Tdh primers to identify *V. parahaemolyticus* at 373bp band length, Tox R primers to identify *V. parahaemolyticus* has a band length of 368bp and primer Vvh to identify *V. vulnificus* with a band length of 386bp. The results of the total prevalence of 22 isolates, identified molecularly using 16S rRNA primers were 81.82%, Collagenase primers were 27.27%, Tdh primers were 0%, Tox R primers were 9.1% and Vvh primers were 9.1%.

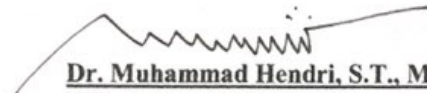
**Keywords :** marine fish, vibriosis, molecular method, identification.

Pembimbing II



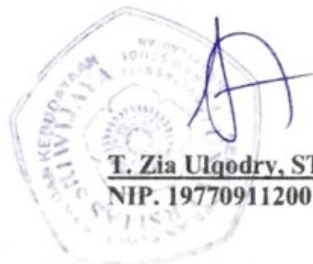
**Margie Brite, S.Pi., M.Sc**  
NIP. 197803312002122002

Indralaya, Januari 2021  
Pembimbing I



**Dr. Muhammad Hendri, S.T., M.Si**  
NIP. 197510092001121004

**Mengetahui**  
**Ketua Jurusan Ilmu Kelautan**



**T. Zia Ulqodry, ST., M.Si., Ph.D**  
NIP. 197709112001121006

## RINGKASAN

**IKA NUR FEBRIANI. 08051181722015. Monitoring Karakteristik Molekular Isolat *V.alginolyticus*, *V.parahaemolyticus* dan *V.vulnificus* pada Ikan Budidaya Laut di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung (Pembimbing : Dr. Muhammad Hendri, M.Si dan Margie Brite, S.Pi., M.Sc)**

Indonesia merupakan negara maritim dimana sektor budidaya ikan laut yang cukup banyak. Intensnya budidaya ikan laut di Indonesia telah menimbulkan dampak penyebaran penyakit, salah satunya penyakit vibriosis yang disebabkan oleh bakteri patogen *Vibrio*. Penyakit vibriosis menyerang hampir semua jenis ikan laut yang dibudidayakan, serangan pada ikan budidaya melibatkan beberapa spesies bakteri seperti *V. alginolyticus*, *parahaemolyticus* dan *V. vulnificus*. Penelitian dilaksanakan pada bulan juli 2020 sampai agustus 2020 di Laboratorium kesehatan ikan dan lingkungan, Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL), Kabupaten Pesawaran, Lampung.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 22 isolat yang didapatkan dari komoditas ikan budidaya di BBPBL (Balai Besar Perikanan Laut) Lampung dan ditambahkan 5 isolat dari udang Vanname (3 isolat dari media TCBS dan 2 isolat dari medium pengkaya (*enrichment*) TSB 2% NaCL yang telah terkonfirmasi sebagai *V.parahaemolyticus* penyebab penyakit *Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease* dengan primer AP4 230 bp.

Hasil pengidentifikasian secara molekular menunjukkan bahwa pengujian molekular menggunakan primer 16S rRNA untuk mengidentifikasi bakteri *Vibrio* sp panjang bandnya 700bp didapatkan 18 isolat yang teridentifikasi, primer Collagenase untuk mengidentifikasi bakteri *V.alginolyticus* panjang bandnya 737bp didapatkan 6 isolat yang teridentifikasi, primer Tdh untuk mengidentifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* panjang bandnya 373bp tidak ada isolat teridentifikasi, primer Tox R untuk mengidentifikasi bakteri *V. parahaemolyticus* panjang bandnya 368bp didapatkan 2 isolat yang teridentifikasi dan primer Vvh untuk mengidentifikasi bakteri *V.vulnificus* panjang bandnya 386bp didapatkan 2 isolat yang teridentifikasi.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah SWT atas semua rahmat dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Monitoring Karakteristik Molekular Isolat *V.alginolyticus*, *V.parahaemolyticus* dan *V.vulnificus* pada Ikan Budidaya Laut di Balai Besar Perikanan Budidaya Laut Lampung”.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu terkait dalam pembuatan skripsi ini, terkhusus kepada Bapak Dr. Muhammad Hendri, M.Si selaku sebagai pembimbing I dan Ibu Margie Brite, S.Pi., M.Sc selaku sebagai pembimbing II sehingga dalam pembuatan skripsi ini dapat berjalan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam pembuatan skripsi ini, baik dari materi maupun dari teknik penyajiannya, mengingat kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi mahasiswa kelautan pada khususnya dan bagi masyarakat luas umumnya.

Akhirnya atas segala bantuan dari semua pihak, penulis mengucapkan banyak terima kasih semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa memberi karunia-Nya kepada kita semua.

Indralaya, 25 Januari 2021



Ika Nur Febriani

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
<b>II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Bakteri Vibriosis.....	6
2.1.1 <i>Vibrio alginolyticus</i> .....	7
2.1.2 <i>Vibrio parahaemolyticus</i> .....	8
2.1.3 <i>Vibrio vulnificus</i> .....	10
2.2 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	11
2.3 Set Primer Molekular .....	12
<b>III METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	15
3.2.1 Alat .....	15
3.2.2 Bahan.....	16
3.3 Metode Penelitian.....	17

3.3.1	Persiapan Sampel .....	17
3.3.2	Ekstraksi DNA .....	18
3.3.3	Amplifikasi .....	18
3.3.4	Elektroforesis .....	22
3.3.5	Pembacaan Hasil .....	23
3.4	Analisis Data .....	23
3.4.1	Perhitungan Prevalensi .....	23
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>24</b>
4.1	Sampel isolat dari media selektif TCBS.....	24
4.2.	Karakteristik Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp.....	26
4.2.1	Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan Primer 16S rRNA.....	26
4.2.2	Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan Primer Collagenase ..	29
4.2.3	Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan Primer Tdh .....	31
4.2.4	Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan Primer Tox R.....	33
4.2.5	Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan Primer Vvh.....	34
<b>V</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>37</b>
5.1	Kesimpulan.....	37
5.2	Saran.....	37
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>38</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>
	<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>49</b>
	<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>60</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal.
1. Kerangka pikir penelitian.....	5
2. <i>V. alginolyticus</i> .....	7
3. <i>V. parahaemolyticus</i> .....	9
4. <i>V. vulnificus</i> .....	10
5. Peta Lokasi Penelitian.....	14
6. Diagram alur penelitian.....	17
7. Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan primer 16S rRNA.....	27
8. Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan primer Collagenase.....	29
9. Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan primer Tdh.....	31
10. Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan primer ToxR.....	33
11. Hasil Pengujian Molekular <i>Vibrio</i> sp dengan primer Vvh.....	34

## DAFTAR TABEL

Tabel	Hal.
1. Alat Pengujian.....	15
2. Bahan Pengujian dengan Kit JetFlex™ Genomic DNA Purification: .....	16
3. Komposisi Coktail Reaksi PCR 16SrRNA .....	19
4. Pengaturan Suhu Thermalcycler PCR 16S rRNA.....	19
5. Komposisi Coktail Reaksi PCR Gen Collagenase .....	20
6. Pengaturan Suhu Thermalcycler PCR Gen Collagenase .....	20
7. Komposisi Coktail Reaksi PCR Gen Tdh .....	20
8. Pengaturan Suhu Thermalcycler PCR Gen Tdh.....	21
9. Komposisi Coktail Reaksi PCR Gen ToxR .....	21
10. Pengaturan Suhu Thermalcycler PCR Gen ToxR .....	21
11. Komposisi Coktail Reaksi PCR Gen Vvh.....	22
12. Pengaturan Suhu Thermalcycler PCR Gen Vvh .....	22
13. Pembacaan Hasil Presumsi Identifikasi Secara Biokimia.....	24

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal.
1. Proses Cara Kerja Molekuler .....	44
2. Alat dan Bahan yang Digunakan.....	46

## I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara maritim yang memiliki keragaman budidaya ikan cukup banyak. Menurut Sembiring *et al.* (2018) peningkatan permintaan produk perikanan di pasar global, berdampak pada semakin tingginya minat pembudidaya untuk budidaya ikan di karamba jaring apung. Pertumbuhan produksi budidaya sangat cepat untuk dekade terakhir, dan telah menyokong secara signifikan persediaan pangan di seluruh dunia, serta mampu meningkatkan pendapatan rata-rata untuk banyak negara. Peningkatan kegiatan budidaya di banyak negara ini telah menimbulkan dampak penyebaran berbagai penyakit dengan cepat, yang mana merupakan salah satu dari faktor penghalang untuk dapat mendukung produksi komoditas perikanan.

Secara global, produksi budidaya ikan laut memiliki kontribusi sebesar 3.1% atau sekitar 1.8 juta ton. Perkembangan budidaya perikanan yang cenderung mengarah kepada sistem intensifikasi telah menimbulkan masalah dengan munculnya penyakit baik yang disebabkan oleh virus, bakteri, parasit, jamur dan mikroorganisme patogen lainnya (Novriadi *et al.* 2015). Menurut Adams dan Thompson, (2006) dalam Novriadi *et al.* (2014) sangat dibutuhkannya kegiatan monitoring dan program pengelolaan kesehatan ikan yang efektif meliputi seluruh aspek kegiatan budidaya termasuk dalam hal identifikasi dan manajemen resiko penyakit ikan dan lingkungan, mengurangi resiko paparan ataupun penyebaran patogen hingga kepada pengelolaan penggunaan obat dan bahan kimia.

Keberadaan penyakit di dalam lingkungan perairan merupakan salah satu kendala di dalam pengembangan subsektor budidaya perikanan. Penyebab penyakit di lingkungan tersebut dapat berupa faktor fisika dan kimia lingkungan, pakan dan metabolisme, stres sebagai bagian reaksi psikologis ikan. Serangan penyakit tersebut dapat berakibat pada terganggunya produktivitas budidaya bahkan dapat menyebabkan kegagalan hingga menimbulkan kerugian. Selain itu kenaikan atau penurunan suhu secara mendadak dapat menyebabkan stres pada ikan. Kepadatan ikan yang tinggi menyebabkan ikan stres sehingga mudah terserang penyakit (Sugianto *et al.* 2017).

Organisme yang paling umum dijumpai di lingkungan akuatik serta memiliki keragaman morfologi, ekologi dan fisiologis yang cukup tinggi adalah bakteri. Sebagian besar bakteri patogen pada budidaya ikan laut memiliki sel berbentuk batang pendek dan bersifat gram negatif. Adapun sebagian bakteri lainnya bervariasi antara lain memiliki sifat gram positif dan memiliki bentuk sel kokus atau batang. Identifikasi 13 kelompok bakteri yang terdiri dari 51 genus, merupakan penyebab utama penyakit infeksi bakterial pada ikan. Genus bakteri tersebut antara lain: *Mycobacterium*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* dan *Vibrio* (Novriadi *et al.* 2014; Hatmanti *et al.* 2008).

Salah satu penyakit yang menyerang budidaya ikan laut yaitu penyakit bakteri vibriosis. Vibriosis merupakan penyakit bakterial yang disebabkan oleh infeksi patogen golongan *Vibrio* dan mengakibatkan kematian ikan mencapai lebih dari 80% pada budidaya ikan. Ada beberapa istilah yang berbeda untuk mengacu pada penyakit vibriosis ini, antara lain *red pest*, *saltwater furunculosis*, *boil disease*, dan *ulcer disease*. Penyakit vibriosis menyerang hampir semua jenis ikan laut yang dibudidayakan, serangan pada ikan budidaya melibatkan beberapa spesies bakteri seperti *V. alginolyticus*, *parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, dan *V. maritimus*, bakteri tersebut umum didapatkan pada ikan budidaya. Bakteri ini bersifat sangat ganas dan sangat berbahaya baik pada budidaya ikan air laut karena bertindak sebagai patogen primer dan sekunder (Ilmiah *et al.* 2012).

Berbagai metode yang digunakan untuk identifikasi dan deteksi saat ini telah dikembangkan, kajian mengenai penyakit vibriosis pada budidaya ikan laut telah banyak mendapat perhatian. Menurut Rinanda, (2011) metode secara konvensional dilakukan melalui metode pembiakan dan dilanjutkan dengan pemeriksaan karakteristik fisiologis dan biokimia. Metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama. Saat ini dikembangkan metode identifikasi berbasis molekuler yang lebih cepat dengan tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi.

Penggunaan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) merupakan suatu metode yang telah banyak digunakan untuk mengidentifikasi dan mendeteksi patogen pada pengelolaan budidaya ikan laut maupun ikan tawar. Metode molekuler menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) juga telah



dikembangkan untuk membedakan dan mendeteksi bakteri patogen pada ikan berdasarkan amplifikasi gen-gen tertentu yang lebih spesifik seperti gen 16S-rRNA (Conejero dan Hedreyeda, 2004).

Pemilihan primer yang baik dan tepat merupakan salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi kualitas deteksi molekuler berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Menurut Rychlic, (1995) dalam Aris, (2011) primer yang digunakan pada proses PCR merupakan *oligonukleotida* yang berperan untuk mengawali proses amplifikasi molekul DNA. Analisis PCR dengan primer spesifik merupakan langkah yang terbaik untuk kepentingan deteksi bakteri patogen karena dapat menghasilkan penentuan secara cepat keberadaan gen target, cukup sensitif dan mudah digunakan dalam kegiatan rutin.

## 1.2 Rumusan Masalah

Keberadaan vibriosis sangat merugikan usaha budidaya ikan laut karena dalam waktu singkat. Bakteri golongan *Vibrio* diketahui sebagai bakteri oportunistik merupakan bakteri yang sangat ganas dan berbahaya pada budidaya ikan karena dapat bertindak sebagai patogen primer dan sekunder. Berbagai spesies *Vibrio* yaitu *V.anguillarum*, *V.alginolyticus*, *V.cholera*, *V.damsela*, *V.salmonicida*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* telah teridentifikasi dari ikan budidaya.

Keberadaan *Vibrio* lebih banyak menginfeksi ikan budidaya dengan konsentrasi *virulensi* tinggi dan untuk mengidentifikasi bakteri secara biokimia butuh waktu yang lama, bahan dan reagensia dalam jumlah banyak sehingga diperlukan konfirmasi secara molekular. Hasil monitoring dapat memetakan spesies *Vibrio* spp yang menyerang ikan budidaya dengan prevalensi tinggi untuk dijadikan kandidat pengembangan vaksin bakteri isolat lokal lebih efektif dan tepat sasaran.

Abdelazis *et al.* (2017) telah melakukan monitoring melalui identifikasi molekular spesies *Vibrio* yang menyerang ikan kerapu hitam (*Epinephelus marginatus*), belanak (*Mugil cephalus*) dan *Solea aegyptiaca* selama periode bulan Oktober 2014 hingga Juli 2015 di danau Qorun, Mesir. Hasil konfirmasi uji biomolekular menunjukkan spesies *V. alginolyticus* spesifik terhadap primer

*collagenase gene* pada 737 bp, *V. parahaemolyticus* spesifik terhadap primer ToxR gene pada 366 bp dan spesifik primer Vvh gene dapat mendeteksi *V. vulnificus* pada 387 bp.

Penelitian ini melakukan perekayasa dengan merakit teknologi budidaya ikan yang merupakan teknologi terbaru yang berkembang dan diuji secara berulang-ulang sampai teknologi tersebut mapan dan siap diterapkan pada masyarakat. Kegiatan rekayasa penyiapan standar teknologi pengelolaan keskinling (kesehatan ikan dan lingkungan) budidaya ikan laut mencakup dua tahapan yaitu: pertama, koleksi isolat yang teridentifikasi secara biokimiawi sebagai *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus* serta yang kedua, dilakukannya pengujian dengan amplifikasi menggunakan reagen MyTaq HS Red Mix 2x dan set primer molekular serta mengelompokkan berdasarkan tingkat patogenesisitas.

Pengujian molekular merupakan salah satu cara untuk menentukan keberadaan bakteri *Vibrio* di ikan budidaya. Oleh karena itu, pada penelitian ini difokuskan untuk mengetahui :

1. Bagaimana identifikasi bakteri *Vibrio* spp yang menginfeksi ikan laut budidaya di BBPBL Lampung berdasar karakteristik molekular?
2. Bagaimana memetakan kelompok dan perhitungan prevalensi isolat patogen *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* dan *V. vulnificus*?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dari penelitian ini dapat diuraikan sebagai berikut:

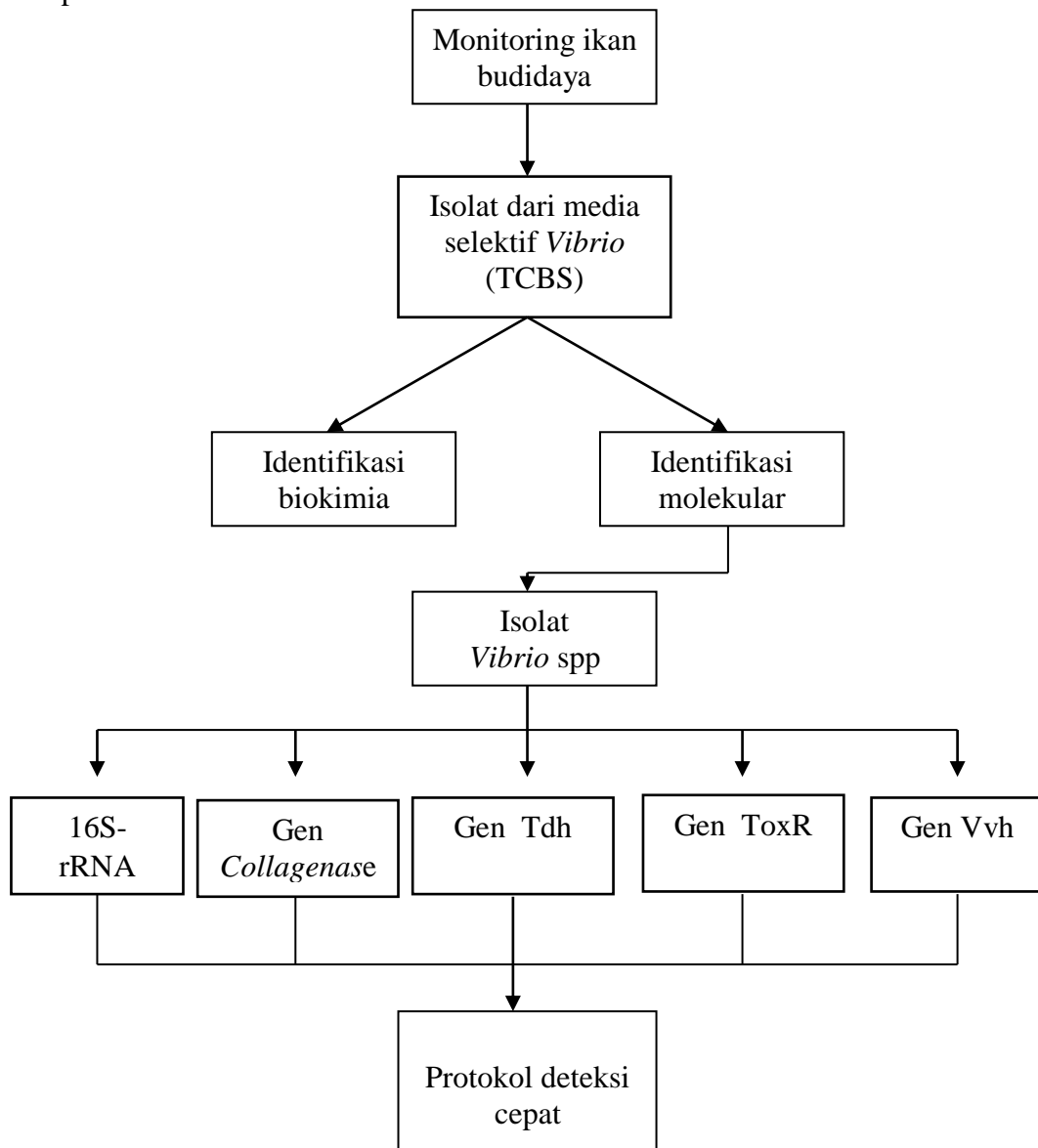
1. Menguji dan menganalisis isolat patogen *Vibrio* spp yang menginfeksi ikan budidaya laut dengan beberapa set primer spesifik.
2. Mengidentifikasi dan menganalisis jenis bakteri *Vibrio* spp yang menginfeksi ikan laut budidaya di BBPBL Lampung.

### **1.4 Manfaat**

Diperolehnya teknik pengendalian penyakit bakteri ikan laut yang meliputi teknik identifikasi bakteri patogen *Vibrio* melalui pengelompokkan karakter molekular yang merupakan dasar untuk deteksi cepat penanganan serangan

vibriosis sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi ikan laut budidaya.

Kerangka pemikiran dari penelitian ini disajikan dalam bentuk diagram alir pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelaziz M, Ibrahim MD, Ibrahim MA, Elala NMA, Moneam DAA. 2017. Monitoring of Different *Vibrio* Species Affecting Marine Fishes in Lake Qarun and Gulf of Suez: Phenotypic and Molekular Characterization. *Journal of Aquatic Research* Vol.43: 141-146
- Abouokada M, Abdelaziz M, Hanna M. 2017. Characterization and Pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* Isolated from Diseased Cultured Gilthead Seabream. *Journal Egypt Vet Med Assoc* Vol.77 (4): 865 – 877
- Aprilia FE, Soewondo A, Widodo, Toha AHA. 2014. Amplifikasi Gen COI dan 16s rRNA dari Invertebrata Laut *Plakobranthus ocellatus*. *Jurnal Biotropika* Vol. 2(5): 276-278
- Aris M. 2011. Identifikasi, Patogenisitas Bakteri dan Pemanfaatan Gen 16S-rRNA untuk Deteksi Penyakit *Ice-Ice* pada Budidaya Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*). [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Aris M, Sukenda, Harris E, Sukadi MF, Yuhana M. 2013. Identifikasi Molekular Bakteri Patogen dan Desain Primer PCR. *Jurnal Budidaya Perairan* Vol.1 (3): 43-50
- Alawiyyah T, Budiharjo A, Supriyadi A. 2017. Isolasi, Enumerasi dan Deteksi Molekuler Gen ToxR pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Tambak Udang *Vannamiae* di Rembang. *Jurnal Biologi* Vol. 6 (3): 96-102
- Ayuningrum D, Kristiana R, Nisa AA, Radjasa SK, Muchlissin SM, Radjasa OK, Sabdono A, Trianto A. 2019. Bacteria Associated with *Tunicate*, *Polycarpa aurata*, from Lease Sea, Maluku, Indonesia exhibiting anti-multidrug resistant bacteria. *Journal of Biodiversitas* Vol.20(4): 956-964
- Bioline. 2017. My Taq™ HS Red Mix. [https://www.bioline.com/downloads/dl/file/id/2687/mytaqhs\\_red\\_mix\\_v5-manual.pdf](https://www.bioline.com/downloads/dl/file/id/2687/mytaqhs_red_mix_v5-manual.pdf). [20 Juni 2020]
- Belas MR, Colwell RR. 1981. Scanning Electron in Microscope Observation of The Swarming Phenomenon of *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Bacteriology* Vol.150(2): 956-959
- Canigral I, Moreno Y, Alonso JL, Gonzalez A, Ferrus MA. 2010. Detection of *Vibrio vulnificus* in Seafood, Seawater and Wastewater Samples from a Mediterranean Coastal Area. *Jurnal Microbiological Research* (165): 657-664

- Cao J, Zhang J, Ma L, Li L, Zhang W, Li J. 2017. *Identification of Fish Source Vibrio alginolyticus and Evaluation of Its Bacterial Ghosts Vaccine Immune Effects*. China: Anhui Agricultural University
- Conejero. M., Hadreyeda. T. 2004. PCR Detection of Hemolysin (vhh) gene in *Vibrio harveyi*. *Journal Gen. Applied Microbiology* (50): 137-142.
- Croci L, Suffredini E, dan Cozzi L. 2007. Evaluation of Different Polymerase Chain Reaction Methods for the Identification of *Vibrio Parahaemolyticus* Strains Isolated by Cultural Methods. *Journal of Aoac International* Vol.90 (6): 1588-1597
- Dahlia, Suprpto H, Kusdarwati R. 2017. Isolasi dan Identifikasi Bakteri pada Benih Ikan Kerapu Cantang (*Epinephelus* sp.) dari Kolam Pendederan Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Situbondo Jawa Timur. *Journal of Aquaculture and Fish Health* Vol.6 (2): 67-66
- Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA. 2006. An Overview of Streptococcus in Warmwater Fish. *Journal Aquaculture Health International* Vol.7: 10-14.
- Fajriani B, Budiharjo A, Pujiyanto S. 2018. Isolasi dan Identifikasi Molekuler Bakteri Antagonis Terhadap *Vibrio parahaemolyticus* Patogen pada Udang *Litopenaeus vannamei* dari Produk Probiotik dan Sedimen Mangrove di Rembang. *Jurnal Biologi* Vol. 7 (1): 52-63
- Firdaus R. 2013. Antagonisme Bakteri Bacillus sp dan Pseudomonas sp terhadap Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* Patogen pada Udang Windu (*Penaeus monodon* FAB). *Jurnal Dimensi* Vol.2(2): 1-14
- Fitriatin E, Manan. 2015. Pemeriksaan *Viral Nervous Necrosis* (VNN) pada Ikan dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol.7 (2): 149-152
- Hampton CM, Ferreira RCG, Storms RE, Taylor JVYH, Gulig, PA, Wright ER. 2017. The Opportunistic Pathogen *Vibrio vulnificus* Produces Outer Membrane Vesicle in a Spatially Distinct Manner Related to Capsular Polysaccharide. *Journal Microbiology in Frontiers* Vol.8: 1-12
- Harsimi AN, Budiharjo A, Jannah SN. 2017. Deteksi Gen *Tlh* dan *Tdh* pada Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dari Air Tambak Udang Vanname (*Litopenaeus vannamei*) di Kabupaten Rembang. *Jurnal Biologi* Vol.6 (3): 85-95
- Haryanto S, Suratmi S, Ansari M. 2015. Monitoring Kepadatan Bakteri pada Air Laut Permukaan KJA Pembesaran Ikan Tuna Sirip Kuning, *Thunnus albacares* di Teluk Gondol, Bali. *Jurnal Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur* Vol.13(2)

- Hatmanti A, Nuchsin R, Darmayanti Y. 2008. Studi Penyakit Bakterial pada Budidaya Ikan Kerapu dan Bakteri Penghambatnya di Perairan Teluk Lampung. *Jurnal Akuakultur Indonesia* Vol.7 (1): 51-58
- Ilmiah, Sukenda, Widanarni, Harris E. 2012. Isolasi dan Karakterisasi *Vibrio* Patogen pada Ikan Kerapu Macan *Epinephelus fuscoguttatus*. *Jurnal Akuakultur Indonesia* Vol.11 (1): 28-37
- Iqbal M, Buwono ID, Kurniawati N. 2016. Analisis Perbandingan Metode Isolasi DNA Untuk Deteksi *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) Pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan* Vol. 7 (1): 54-65
- Kadriah IAK, Susianingsih E, Sukenda, Yuhana M, Harris E. 2011. Deteksi Gen-Gen Penyandi Faktor Virulensi pada Bakteri *Vibrio*. *Jurnal Ris Akuakultur* Vol.6 (1): 119-130
- Kurniawati MD, Sumaryam, Hayati N. 2019. Aplikasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) Konvensional dan *Real Time* – PCR untuk Deteksi Virus VNN (*Viral Nervous Necrosis*) pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus*). *Jurnal Teknologi Ikan* Vol.3 (1): 19-30
- Kusmarwati A, Hermana I, Yennie Y, Wibowo S. 2016. Keberadaan *Vibrio parahaemolyticus* Patogenik pada Udang Tambak yang Berasal dari Pantai Utara Jawa. *Jurnal Kelautan dan Perikanan* Vol. 11(1) : 41-54
- Mazni, Ramses, Rahmi, Hendrianto. 2018. Sensitivitas Antibakteria Dari Tanaman *Caulerpa* sp. Dan *Enteromorpha* sp. Terhadap Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Simbiosis* Vol.7(1): 9-23
- Montieri S, Suffredini E, Ciccozzi M, Croci L. 2010. Phylogenetic and Evolutionary Analysis of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* Isolates Based on ToxR Gene Sequence. *Journal of Microbiologica* Vol.33: 359-372
- Mustapha S, Mustapha Em, Nozha C. 2013. *Vibrio Alginolyticus*: An Emerging Pathogen of Foodborne Diseases. *International Journal of Science and Technology* Vol.2 (4): 302-309
- Muthalib Y, Malinab AC, Tondok AR, Athirah A. 2019. Efektifitas Ekstrak Jahe Mera (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Terhadap Infeksi Bakteri *Vibrio alginolyticus* pada Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskål, 1775) secara in Vitro. *Journal of Fisheries and Marine Science* Vol.1 (1): 27-31
- Nasihin SR, Rizky WH, Carsono N. 2015. Pengujian Kemurnian Genetik Benih Padi Galur F3 (Pandanwangi x PTB33) Terseleksi Menggunakan Marka

Molekuler *Simple Sequence Repeats* (SSR). *Jurnal Agrikultura* Vol.26 (2): 61-67

- Nitimulyo KH, Isnansetyo A, Triyanto, Istiqomah I, Murdjani M. 2005. Isolasi Identifikasi dan Karakterisasi *Vibrio* spp. Patogen Penyebab Vibriosis pada Kerapu di Balai Budidaya Air Payau Situbondo. *Jurnal Perikanan* Vol.7 (2): 80-94
- Novriadi R, Agustatik S, Bahri S, Sunantara D, Wijayanti E. 2014. Distribusi Patogen dan Kualitas Lingkungan pada Budidaya Perikanan Laut di Provinsi Kepulauan Riau. *Jurnal Depik* Vol.3 (1): 83-90
- Novriadi R, Agustatik S, Dwi T. 2015. Identifikasi Keberadaan *Nervous Necrosis Virus* dan *Iridovirus* pada Budidaya Ikan Laut di Wilayah Kerja Balai Perikanan Budidaya Laut Batam. *Jurnal Omni Akuatika* Vol.14 (20): 54 – 62
- Novriadi R, Agustatik S, Hendrianto, Pramuanggit R, Hariwibowo A. 2014. *Penyakit Infeksi pada Budidaya Ikan Laut di Indonesia*. Batam: Balai Perikanan Budidaya Laut Batam
- Nursyirwani, Asmara W, Wahyuni AETH, Triyanto. 2015. Histopatologi Ikan Kerapu Macan yang Diimbuhi Bakteri Asam Laktat dan Diuji Tantang *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Veteriner* Vol.16 (4): 505-512
- [OIE] Office International des Epizooties. 2020. Listed Diseases, Infections and Infestations. [www.oie.int](http://www.oie.int). [2 Januari 2021]
- Oktaviani E, Harpeni E, Wardiyanto. 2019. Fitofarmaka Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) untuk Meningkatkan Imunitas Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscoguttatus* Forsskal 1775) Terhadap Serangan Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Kelautan* Vol.12 (1): 52-64
- Panicker G, Bej AK. 2005. Real-Time PCR Detection of *Vibrio vulnificus* in Oysters: Comparison of Oligonucleotide Primers and Probes Targeting *vvhA*. *Journal Applied and Environmental Microbiology* Vol.71 (10): 5702–5709
- Purnama R, Melki, Putri WAE, Rozirwan. 2011. Potensi Ekstrak Rumput Laut *Halimeda renchii* dan *Euchema cattoni* sebagai Anti Bakteri *Vibrio* sp. *Jurnal Maspari* (2): 82-88
- Qomariyah N, Suprpto H, Sudarno. 2017. Pemberian Vaksin Formalin Killed Cell (FKC) *Vibrio alginolyticus* untuk Meningkatkan *Survival Rate* (SR), Titer Antibodi Dan Fagositosis Leukosit Pada Kerapu Cantang (*Epinephelus* sp.) Setelah Uji Tantang Bakteri *Vibrio alginolyticus*. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan* Vol.9 (1): 15-24

- Rahmanto SP, Sarjito, Chilmawati D. 2014. Karakterisasi dan Uji Postulat Koch Bakteri Genus *Vibrio* yang Berasal dari Media Kultur Massal Mikroalga. *Journal of Aquaculture Management and Technology* Vol.3 (4): 230-237
- Rinanda T. 2011. Analisis Skuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* Vol.11(3): 172-177
- Sarjito, Apriliani M, Afriani D, Haditomo AHC. 2015. Agenia Penyebab Vibriosis Pada Udang Vaname (*Litopenaus gariepinus*) yang Dibudidayakan Secara Intensif Di Kendal. *Jurnal Kelautan Tropis* Vol.18 (3): 189–196
- Sembiring SBM, Wibawa GS, Mahardika K, Widiastuti, Haryanti. 2018. Prevalensi Infeksi *Viral Nervous Necrosis* (VNN) dan *Iridovirus* pada Hatcheri dan Budidaya Ikan Laut. *Jurnal Media Akuakultur* Vol.13 (2): 83-90
- Sugianto S, Masfiah I, Fairwandari I, Hidayati SN. 2017. Identifikasi Bakteri pada Ikan Air Laut di Balai Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas Ingurah Rai Denpasar, Bali. *Journal of Aquaculture and Fish Health* Vol 6 (3): 135-140
- Suprobowati OD, Kurniati I. 2018. *Virologi*. Jakarta: Pusat Pendidikan Sumberdaya Manusia Kesehatan
- Takeuchi H, Shibano Y, Morihara K, Fukushima J, Inami S, Keil B, Gilles AM, Kawamoto S, Okuda K. 1992. Structural Gene and Complete Amino Acid Sequence of *Vibrio alginolyticus* Collagenase. *Journal Biochem.* Vol.281: 703-708
- Tisson DL, Kelly MT. 1986. Virulence of *Vibrio vulnificus* Strains from Marine Environments. *Journal Applied and Environmental Microbiology* Vol.51(5): 1004-1006
- Tompo A, Idris APS. 2016. Prevalensi dan Identifikasi Penyebab Penyakit yang Menghambat Penetasan Telur Udang Windu (*Penaeus monodon Fabr*) di Hatcheri Kabupaten Takalar. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian* Vol. 2: 129-134
- Widowati R. 2008. Keberadaan Bakteri *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang yang Dijual di Rumah Makan Kawasan Pantai Pangandaran. *Jurnal Vis Vitalis* Vol.1 (1): 9-14
- Vaniana D, Putri DH. 2019. Analysis Internal Primer Of Genes 16S rRNA Endophytic Bacteria Producing Compound Antimicrobial For Sequencing. *Jurnal Bio Sains* Vol.4 (1):54-62
- Yanuhar U. 2019. *Budi Daya Ikan Laut “Si Cantik Kerapu”*. Malang: Ub Press



- Yennie Y, Hariyadi RD, Poernomo A. 2015. Prevalensi Gen tdh dan trh *Vibrio parahaemolyticus* pada Udang *Vaname* di Wilayah Indramayu, Jawa Barat. *Jurnal JPB Kelautan dan Perikanan* Vol.10 (1): 61–70
- Yustinadewi PD, Yustiantara PS, Narayani I. 2018. Teknik Perancangan Primer untuk Sekuen Gen MDR-1 Varian 1199 pada Sampel *Buffy Coat Pasien* Anak dengan LLA. *Jurnal Metamorfosa* Vol.1: 105-111