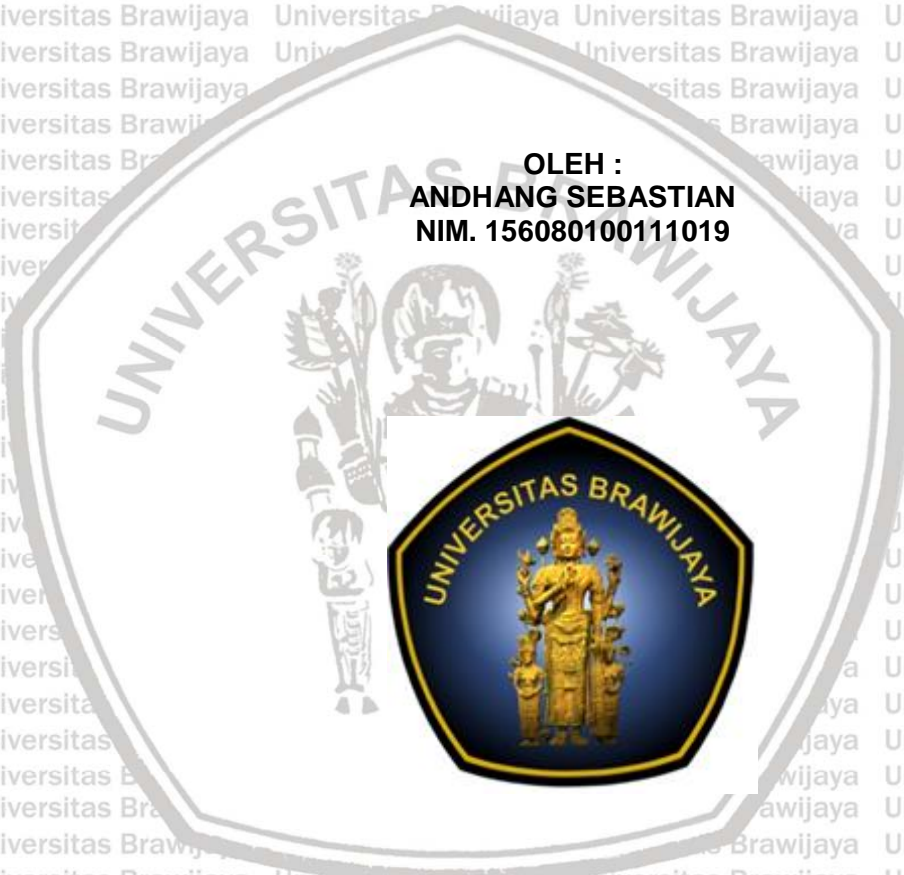


**EKSPRESI GEN MOLT INHIBITING HORMONE (MIH) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN
TAWAR**

TESIS

**OLEH :
ANDHANG SEBASTIAN
NIM. 156080100111019**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT BIOTEKNOLOGI PERAIRAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

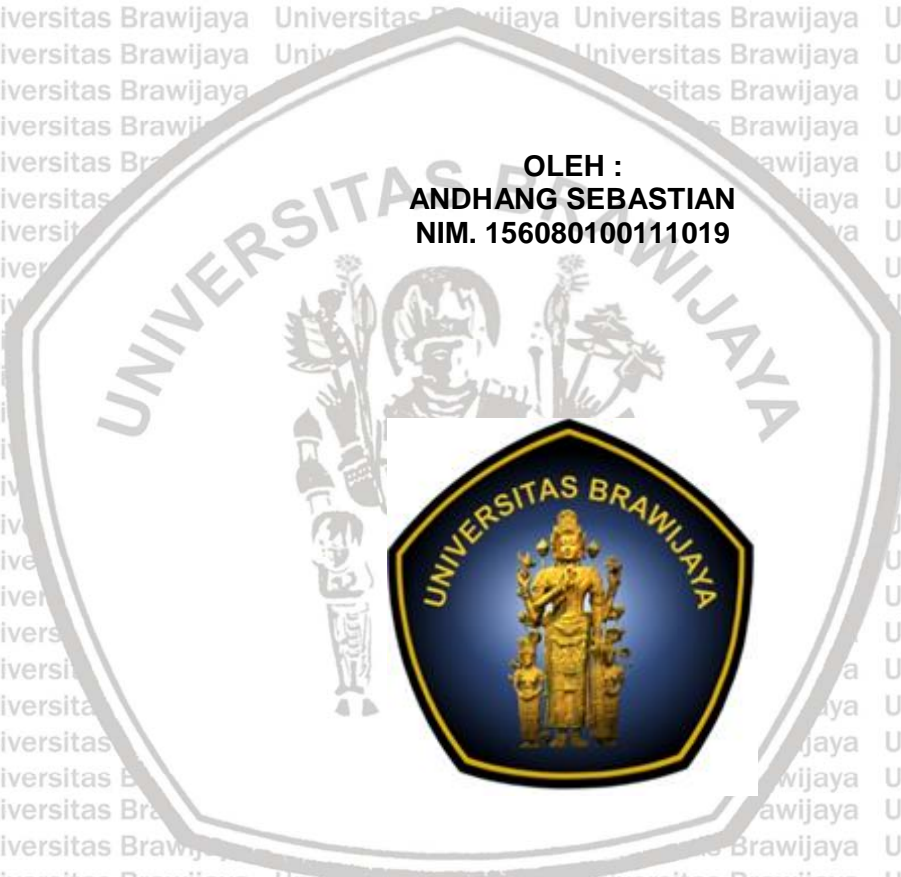


**EKSPRESI GEN MOLT INHIBITING HORMONE (MIH) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN
TAWAR**

TESIS

Disusun Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister Perikanan

**OLEH :
ANDHANG SEBASTIAN
NIM. 156080100111019**



**PROGRAM STUDI BUDIDAYA PERAIRAN
MINAT BIOTEKNOLOGI PERAIRAN**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**



TESIS

EKSPRESI GEN MOLT INHIBITING HORMONE (MIH) PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN TAWAR

OLEH :
ANDHANG SEBASTIAN
NIM. 156080100111019

Telah dipertahankan di depan penguji
Pada tanggal : 1 Juli 2019
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui :

Komisi Pembimbing,

Ketua

Dr. Ir. M. Fadjar, MSc.
NIP. 19621014 198701 1 001

18 JUL 2019

Anggota

Prof. Dr. Ir. Maftuch, MSi.
NIP. 19660825 199203 1 001

18 JUL 2019

Mengetahui :

Dekan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,



Prof. Dr. Ir. Happy Nursyam, MS
NIP. 19660322 198601 1 001

18 JUL 2019

Ketua

Program Magister

Prof. Dr. Ir. Maftuch, MSi.
NIP. 19660825 199203 1 001

18 JUL 2019

JUDUL TESIS

**EKSPRESI GEN *MOLT INHIBITING HORMONE* (MIH) PADA UDANG
VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN
TAWAR**

Nama Mahasiswa : Andhang Sebastian

NIM : 156080100111019

Program Studi : Budidaya Perairan

Minat Ilmu Studi : Bioteknologi Perairan

Komisi Pembimbing

Ketua : Dr. Ir. Mohamad Fadjar, MSc.

Anggota : Prof. Dr. Ir. Maftuch, MSi.

Komisi Penguji

Dosen Penguji 1 : Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., MSc.

Dosen Penguji 2 : Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, MSi.

Tanggal Ujian : 1 Juli 2019

SK Penguji

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur unsur jiplakan, saya bersedia menerima sanksi sesuai yang di sepakati.

Malang, 24 Juli 2019



Penulis

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Andhang Sebastian, dilahirkan di Kabupaten Trenggalek tepatnya di desa Sumberingin Kecamatan Karang pada hari Senin tanggal 8 Juni 1992. Anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Sumaryono dan Sri Winarti, SE., MSi. Penulis pertama kali menempuh pendidikan di TK Dharma Wanita 1 Sumberingin, kemudian melanjutkan ke Sekolah Dasar Negeri (SDN)

1 Sumberingin selama 6 tahun yaitu pada tahun 1998 – 2004. Setelah lulus dari SD pada tahun 2004, penulis melanjutkan ke jenjang sekolah menengah pertama, yaitu SMPN 1 Trenggalek selama 3 tahun dan lulus pada tahun 2007. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Trenggalek selama 3 tahun yaitu dari tahun 2007 – 2010.

Pada tahun 2010, Penulis berkesempatan untuk melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi. Penulis diterima di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Masuk di jurusan S1 Budidaya Perairan. Penulis menempuh pendidikan S1 selama 5 tahun dan dinyatakan lulus pada tanggal 31 Juli 2015 dan memperoleh gelar Sarjana Perikanan (S.Pi). Setelah memperoleh gelar Sarjana Perikanan, penulis melanjutkan pendidikan S2 di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang. Akhir dari penyelesaian pendidikan S2 ini penulis membuat karya ilmiah dengan judul “Ekspresi Gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) Pada Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) di Budidaya Air Laut, Payau, dan Tawar”

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul

“EKSPRESI GEN MOLT INHIBITING HORMONE (MIH) PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN TAWAR”.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tesis ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan laporan ini.

Penulis berharap semoga Tesis ini dapat bermanfaat, memberikan informasi, dan menambah wawasan serta meningkatkan IPTEK.

Malang, Juli 2019

Penulis



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Allah SWT atas berkah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tesis ini. Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan tesis ini tidak terlepas dari dukungan moril dan materil dari semua pihak. Melalui kesempatan ini, dengan kerendahan hati perkenankan penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

- ❖ Kedua orang tua, yang telah memberikan do'a, motivasi, dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
- ❖ Dr. Ir. Mohamad Fajar, MSc dan Prof. Dr. Ir. Maftuch, MSi sebagai dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan saran, bimbingan, arahan, nasehat yang memotivasi penulis selama menempuh tugas akhir.
- ❖ Dr. Yunita Maimunah, S.Pi., MSc dan Dr. Ir. Abd. Rahem Faqih, MSi sebagai dosen penguji ujian komprehensif tesis yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis.
- ❖ Team YOIBCT, Febi Nadhilla Nurin, S.Pi., MP., Galih Ardi Nugroho, S.Pi., MP., Faizal Zakaria, S.Pi., MP., Ayu Azkiyah Azizah, S.Pi., MP., Lik Anatus Sholikah, S.Pi., MP., M. E. S. Danny, S.Pi., MP., Achmad Mufti, S.Pi., Indra Suryawinata, S.Pi.
- ❖ Tim Udang, Liga Insani, S.Pi.,MP., Jefri Anjaini, S.Pi., MP.
- ❖ Teman – teman Pascasarjana Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Malang, Juli 2019

Penulis

RINGKASAN

ANDHANG SEBASTIAN. “EKSPRESI GEN *MOLT INHIBITING HORMONE* (MIH) PADA PERTUMBUHAN UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) DI BUDIDAYA AIR LAUT, PAYAU, DAN TAWAR”. **DIBIMBING OLEH DR. IR. MOHAMAD FADJAR, MSc. DAN PROF. DR. IR. MAFTUCH, MSi.**

Udang putih Pasifik atau udang vaname (*L. vannamei*), merupakan udang laut asli daerah pantai belahan bumi barat, dan kini telah berhasil diperkenalkan dan dibudidayakan di air payau dan di air tawar di daratan Cina. Udang vaname mulai masuk ke Indonesia pada tahun 1999 sebagai alternatif udang budidaya selain spesies udang windu (*Penaeus monodon*) yang sebelumnya mengalami penurunan produksi budidaya karena berbagai hal. Pada tanggal 10 Oktober 2000 Pemerintah Indonesia mengizinkan impor udang putih Pasifik hanya untuk tujuan penelitian. Udang vaname memiliki kemampuan untuk menjaga regulasi osmotik karena berbagai jenis salinitas, spesies ini mampu menghuni perairan dengan salinitas berkisar antara 0,5 sampai 40 ppt. Akan tetapi, perbedaan salinitas dapat mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup udang itu sendiri. Pada budidaya intensif, variasi salinitas dapat merusak homeostasis, menyebabkan stress, pertumbuhan lambat, dan tingkat kelangsungan hidup yang rendah serta cenderung berkulit tipis. Penelitian tentang dampak salinitas yang berbeda terhadap ekspresi gen udang masih banyak yang harus dikaji. Salah satunya adalah tentang ekspresi gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) udang vaname.

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis pola ekspresi gen MIH, laju pertumbuhan udang vaname, serta mutasi yang terjadi pada udang vaname yang dipelihara di budidaya air tawar payau dan laut.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai dengan Januari 2019. Sampel udang vaname (*L. vannamei*) diambil dari Tambak yang ada di Kabupaten Lamongan, Kabupaten Gresik, dan Kabupaten Situbondo. Sampel udang disimpan dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang untuk dilakukan uji PCR. Selama penelitian di lapangan, dilakukan analisis kualitas air, meliputi pH, Suhu, dan oksigen terlarut. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif berdasarkan kajian molekuler.

Karakter Molekuler dari gen MIH udang vaname dari sampel udang vaname yang budidaya di air laut, payau, dan tawar teridentifikasi sebagai gen MIH pada udang vaname dengan *Query cover* antara 95-99%, nilai *identity* antara 99-100 dan *E-value* 0.0. Berdasarkan hasil elektroforesis, gen MIH ditemukan pada *basepair* 212 – 237. *Average Daily Growth* (ADG) tertinggi didapat pada udang vaname laut dengan 0,22 gr/hari dan *Average Body Weight* (ABW) tertinggi didapatkan oleh udang vaname payau dengan 7,65 gram. Terjadi mutasi pada udang yang dipelihara di air laut, payau, dan tawar. Mutasi transisi (satu basa purin menjadi satu basa purin atau satu basa pirimidin menjadi satu basa pirimidin) terletak pada nukleotida ke 58 (Laut, Payau, dan Tawar), dan mutasi transversi (perubahan satu basa purin menjadi satu basa pirimidin atau sebaliknya) terletak pada nukleotida ke 66 (Payau, Tawar), 103 (Laut).

SUMMARY

ANDHANG SEBASTIAN. "MOLT INHIBITING HORMONE (MIH) GENE EXPRESSION OF VANNAMEI SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) IN FRESHWATER AND BRACKISH WATER CULTURE". THE PROMOTORS ARE DR. IR. MOHAMAD FADJAR, MSc. AND PROF. DR. IR. MAFTUCH, MSi.

The Pacific white shrimp (*L. vannamei*), is a sea shrimp native to the western hemisphere coastal region, and has now been successfully introduced and cultivated in brackish water and in freshwater on the Chinese mainland. Vaname shrimp began to enter Indonesia in 1999 as an alternative to cultivated shrimp in addition to the tiger shrimp species (*Penaeus monodon*) which had previously decreased cultivation production due to various things. On October 10, 2000 the Indonesian Government allowed the import of Pacific white shrimp only for research purposes. Vaname shrimp has the ability to maintain osmotic regulation due to various types of salinity, this species is able to inhabit waters with salinity ranging from 0.5 to 40 ppt. However, differences in salinity can affect the survival rate of the shrimp itself. In intensive cultivation, variations in salinity can damage homeostasis, cause stress, slow growth, and low survival rates and tend to be thin-skinned. Research on the effects of different salinity on shrimp gene expression is still much to be studied. One of them is about the expression of the Molten Inhibiting Hormone (MIH) vaname shrimp gene.

The purpose of this study was to analyze the pattern of MIH gene expression, the growth rate of vaname shrimp, and the mutations that occur in vaname shrimp which are maintained in brackish freshwater and marine aquaculture.

This research was conducted from November 2018 to January 2019. Samples of vaname shrimp (*L. vannamei*) were taken from ponds in Lamongan Regency, Gresik Regency and Situbondo Regency. Shrimp samples were taken to the Central Laboratory of Life Sciences, University of Brawijaya Malang for PCR testing. During research in the field, an analysis of water quality was carried out, including pH, temperature, and dissolved oxygen. This study uses descriptive methods based on molecular studies.

Molecular character of MIH from vaname shrimp samples cultivated in seawater, brackish, and freshwater was identified as MIH gene in vaname shrimp with cover queries of 95-99%, identity values between 99-100 and E-value 0.0. Based on the results of electrophoresis, the MIH gene is found in basepair 212-237. The highest average Daily Growth (ADG) is found in sea vaname shrimp with 0.22 gr / day and the highest Average Body Weight (ABW) obtained by brackish vaname shrimp with 7.65 grams . Mutations occur in shrimp that are kept in sea water, brackish, and fresh. Transition mutations (one purine base into one purine base or one pyrimidine base into one pyrimidine base) are located at 58th nucleotide (Sea, Brackish, and Freshwater), and transversion mutations (changes in one purine base into one pyrimidine base) are located at the nucleotide 66 (Brackish, Freshwater), 103 (Sea).



DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	vi
KATA PENGANTAR	vii
UCAPAN TERIMA KASIH	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penulisan	3
1.4. Manfaat Penulisan	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Klasifikasi dan Morfologi udang vaname (<i>L. vannamei</i>)	4
2.2. Habitat dan Siklus Hidup	5
2.3. Perkembangan Stadia Larva	6
2.4. Kualitas Air	7
a. Suhu	7
b. Salinitas	8
c. Derajat keasaman (pH)	8
d. Oksigen Terlarut / <i>Dissolved Oxygen</i> (DO)	9
2.5. <i>Molt Inhibiting Hormone</i>	9
2.6. Peranan <i>Molt Inhibiting Hormone</i>	10
2.7. Mekanisme Kerja <i>Molt Inhibiting Hormone</i>	11
2.8. Analisis Biologi Molekuler	11
2.8.1. Isolasi DNA	11
2.8.2. PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	12
2.8.3. Elektroforesis	15
2.8.4. Sequencing	15
2.8.5. Program Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)	16
2.8.6. Analisis filogenik	17

3. KERANGKA PENELITIAN	18
3.1. Landasan Teori	18
3.2. Kerangka Konseptual Penelitian	19
3.3. Kerangka Operasional Penelitian	20
3.4. Kebaruan Penelitian	21
3.5. Strategi Publikasi	22
3.6. Hipotesis	22
4. MATERI DAN METODE PENELITIAN	23
4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	23
4.2. Alat dan Bahan Penelitian	24
a. Alat – Alat Penelitian	24
b. Bahan – Bahan Penelitian	24
4.3. Metode Penelitian	24
4.4. Prosedur Penelitian	25
4.4.1. Tahap 1	25
a. Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	25
b. Pengamatan Kualitas Air	25
c. Pengukuran <i>Average Body Weight (ABW)</i> dan <i>Average Body Growth (ADG)</i>	25
4.4.2. Tahap 2	26
a. Ekstraksi DNA	26
b. Amplifikasi DNA menggunakan PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)	27
c. Elektroforesis	27
d. Sekuensing DNA	28
e. Analisis Data	28
5. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
5.1. Uji kuantitatif DNA Udang vaname (<i>L. vannamei</i>) yang dipelihara di Air Laut, payau, dan tawar	30
5.2. Identifikasi Gen <i>Molt Inhibiting Hormone (MIH)</i> Udang Vaname (<i>L. vannamei</i>) yang Pelihara pada Air Tawar, Payau dan Laut	31
5.3. Hasil Sekuensing Gen MIH <i>L. vannamei</i>	34
5.4. Karakteristik dan Keragaman Gen MIH udang vaname	37
5.5. Analisis Pertumbuhan Udang Vaname	42
5.5.1 Data Rerata Berat Udang Sampling (<i>Average Body Weight</i> dan <i>Average Daily Growth</i>)	42
5.6. Analisis Kualitas Air	44
a. Suhu	44
b. Derajat Keasaman (pH)	45
c. Oksigen Terlarut	45
d. Salinitas	46
6. KESIMPULAN DAN SARAN	47
6.1. Kesimpulan	47
6.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Studi tentang gen <i>Molt Inhibiting Hormon</i> udang vaname (<i>L. vannamei</i>).	21
2. Strategi Publikasi	22
3. Primer spesifik yang dirancang dan sekuen nukleotidanya.....	27
4. Hasil Uji kuantitatif Gen <i>Molt Inhibiting Hormone</i> pada Udang Vaname	30
5. Hasil Uji Elektroforesis gen MIH udang vaname (<i>L. vannamei</i>)	32
6. Hasil sekuens gen MIH udang vaname	34
7. Identifikasi Sampel Menggunakan Analisis BLAST	36
8. Komposisi Nukleutida udang vaname	37
9. Variasi Genetik Gen MIH pada <i>L. vannamei</i>	38
10. Variasi Jarak Genetik pada Gen MIH Udang vaname	39
11. <i>Average Body Weight</i> dan <i>Average Daily Growth</i> udang vaname laut, payau, dan tawar DOC 1, DOC 30 dan DOC 60	42
12. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Tambak Udang yang Diuji gen MIH.....	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar.

Halaman

1. Udang Vaname (<i>L. Vannemei</i>)	4
2. Siklus hidup udang vaname	6
3. Tahapan Reaksi PCR	14
4. Prosedur umum pelaksanaan PCR	14
5. <i>Layout</i> dari website NCBI yang memuat program BLAST	17
6. Kerangka konsep penelitian	19
7. Kerangka Operasional Penelitian	20
8. Denah Lokasi Pengambilan sampel	23
9. Hasil elektroforesis gen MIH udang vaname	32
10. Rekonstruksi Filogenetik Udang Vaname Berdasarkan Gen <i>Molt Inhibiting Hormone</i> (MIH)	41



1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Udang putih Pasifik atau udang vaname (*Litopenaeus vannamei*), merupakan udang laut asli daerah pantai belahan bumi barat, dan kini telah berhasil diperkenalkan dan dibudidayakan di air payau dan di air tawar karena kemampuan osmoregulasinya yang luar biasa, *L. vannamei* dengan cepat menjadi salah satu spesies yang paling menguntungkan dalam budidaya udang. (Zhang *et al.*, 2016).

Udang vaname mulai masuk ke Indonesia pada tahun 1999 sebagai alternatif udang budidaya selain spesies udang windu (*Penaeus monodon*) yang sebelumnya mengalami penurunan produksi budidaya karena berbagai hal. Pada tanggal 10 Oktober 2000 Pemerintah Indonesia mengizinkan impor udang putih Pasifik hanya untuk tujuan penelitian. Atas dasar Keputusan Menteri No. 4/2001 tanggal 14 Juli 2001, impor udang putih Pasifik diizinkan untuk tujuan budidaya. Pada akhir 2007, udang vaname mulai dibudidayakan setidaknya di 17 provinsi di Indonesia (Taukhid dan Nur'aini, 2009). Kedatangan Udang vaname (*L. vannamei*) ke Indonesia ini mampu membangkitkan kembali usaha pertambakan nasional yang sebelumnya sudah mulai lesu (Suwardi dan Nawang, 2012) dan mampu menghasilkan devisa untuk Indonesia (Supriyono *et al.*, 2006).

Udang vaname (*L. vannamei*) yang dibudidayakan di Indonesia berkembang begitu pesat. Termasuk budidaya udang vaname di perairan dengan salinitas rendah. Karena telah menjadi udang budidaya yang menjanjikan untuk dibudidayakan pada salinitas rendah (Gao *et al.*, 2016). Udang vaname dapat bertahan hidup pada salinitas di bawah 0,5 ppt dan di atas 35 ppt (Zhang *et al.*, 2016). Akan tetapi, perbedaan salinitas dapat mempengaruhi tingkat kelangsungan hidup udang itu sendiri. Pada budidaya intensif, variasi salinitas

dapat merusak homeostasis (keadaan tubuh untuk mempertahankan keseimbangan dalam menghadapi kondisi yang dialaminya), menyebabkan stress, pertumbuhan lambat, dan tingkat kelangsungan hidup yang rendah serta cenderung berkulit tipis (Gao *et al.*, 2016).

Faktor yang dipengaruhi perbedaan salinitas tidak hanya berdampak pada kondisi fisik udang itu sendiri, bahkan kemungkinan bisa terjadi perubahan genetik udang juga ada. Beberapa penelitian terkait salinitas dengan ekspresi gen telah dilakukan, termasuk salah satunya tentang pengaruh salinitas pada kinerja pertumbuhan, tingkat kelangsungan hidup dan ekspresi gen pada udang vaname.

Hasilnya menunjukkan bahwa pada salinitas rendah (2 ppt) bobot akhir juvenil udang vaname lebih rendah daripada pada salinitas 30 ppt. Kemudian, tingkat mRNA kimotripsin (enzim yang membantu mengurangi atau membelah protein ke dalam unit yang lebih kecil) turun secara signifikan akibat penurunan salinitas (Gao *et al.*, 2016). Kemudian, juga terdapat informasi dari studi yang telah dipublikasikan berkonsentrasi pada dampak salinitas jangka panjang terhadap perubahan histologis hepatopankreas (organ pada udang yang berfungsi seperti hati dan pankreas pada mamalia. Organ ini memproduksi enzim-enzim pencernaan, membuang sisa penyimpanan sari makanan) (Li *et al.*, 2008), kelangsungan hidup (Li *et al.*, 2007) dan laju pertumbuhan (Silva *et al.*, 2010).

Penelitian tentang dampak salinitas yang berbeda terhadap ekspresi gen udang masih banyak yang harus dikaji. Salah satunya adalah tentang ekspresi gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) udang vaname. MIH merupakan hormon yang menghambat proses molting pada hewan crustacea (Nakatsuji *et al.*, 2009).

Berdasarkan kajian literatur, penelitian mengenai gen MIH ini hanya sebatas kajian karakterisasi molekuler dan pola ekspresi gen MIH udang vaname dengan salinitas yang sama (Chen *et al.*, 2007).

1.2. Rumusan Masalah

Udang vaname adalah salah satu jenis udang yang memiliki kemampuan toleransi salinitas yang luas, sehingga dapat hidup pada salinitas rendah maupun salinitas diatas 35 ppt (Zhang *et al.*, 2016). Walaupun demikian, salinitas merupakan faktor lingkungan yang mendasar yang kemungkinan dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan (Gao *et al.*, 2016), mempengaruhi pola ekspresi gen MIH, bahkan dapat terjadi mutasi genetik.

1.3. Tujuan Penulisan

Berdasarkan uraian dari rumusan masalah diatas, maka tujuan penulisan ini adalah sebagai berikut :

- ❖ Menganalisis karakter molekuler gen MIH udang vaname yang dibudidayakan dalam air laut, payau, dan tawar.
- ❖ Menganalisis laju pertumbuhan udang vaname yang dibudidayakan dalam air laut, payau, dan tawar.
- ❖ Menganalisis terjadinya mutasi genetik pada udang vaname yang dibudidayakan dalam air laut, payau, dan tawar.

1.4. Manfaat Penulisan

Adapun manfaat penulisan yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai ekspresi gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) pada pertumbuhan udang vaname di budidaya air laut, payau, dan tawar. Informasi tersebut dapat dimanfaatkan untuk pengembangan referensi dasar mengenai gen MIH udang vaname.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Klasifikasi dan Morfologi udang vaname (*L. vannamei*)

Adapun klasifikasi udang vaname (Gambar 1) menurut Yang *et al.*, (2015) sebagai berikut :

Filum	: Arthropoda
Subfilum	: Crustacea
Kelas	: Malacostraca
Subkelas	: Eumalacostraca
Superordo	: Eucarida
Ordo	: Decapoda
Subordo	: Dendrobranchiata
Famili	: Penaeidae
Genus	: <i>Litopenaeus</i>
Spesies	: <i>L. vannamei</i>



Gambar 1. Udang vaname (*L. vannamei*) (Wakida-Kusunoki *et al.*, 2011)

Udang vaname berwarna putih transparan dengan wama biru yang terdapat dekat dengan bagian telson dan uropoda. Alat kelamin udang jantan disebut petasma, yang terletak pada pangkal kaki renang pertama. Sedangkan alat kelamin udang betina disebut juga dengan telikum, terbuka dan terletak diantara pangkal kaki jalan ke 4 dan ke 5. Pada jantan dewasa petasma adalah simetris,

semi open, dan tidak bertudung. Betina dewasa mempunyai telikum terbuka dan ini adalah salah satu perbedaan yang paling mencolok pada udang vaname betina (Elovaara, 2001).

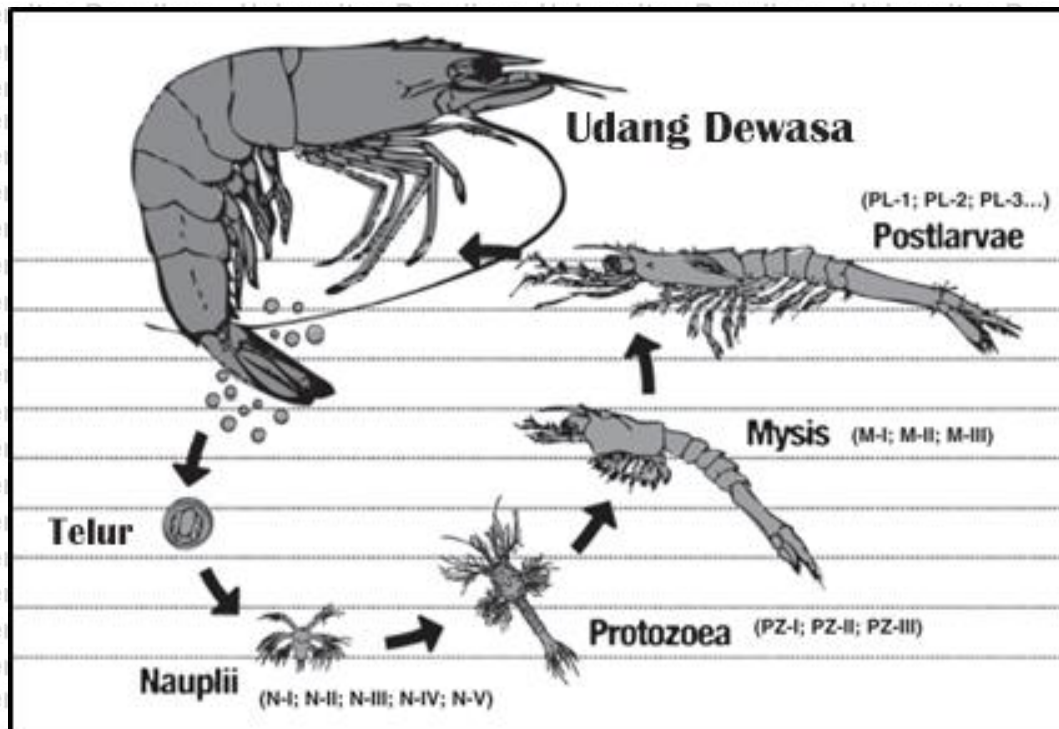
2.2. Habitat dan Siklus Hidup

Udang vaname (*L. vannamei*) merupakan udang laut asli belahan bumi barat yang telah sukses dikenalkan dan dibudidayakan di China (Zhang *et al.*, 2016).

Udang vaname dewasa hidup di laut, sedangkan udang yang masih juvenil hidup di air payau. Udang vaname hidup pada kedalaman 0 – 72 meter pada substrat berlumpur (Wijayanto *et al.*, 2017). Salinitas yang optimal untuk udang vaname berkisar 20 hingga 25 ppt, tetapi dapat bertahan hidup pada salinitas di bawah 0,5 ppt dan di atas 35 ppt (Zhang *et al.*, 2016).

Udang vaname dewasa hidup dan bertelur di laut. Setelah itu telur menetas menjadi *nauplius* (larva udang), kemudian berkembang menjadi *protozoa* setelah 45-60 jam. Setelah 5 hari, *protozoa* berkembang menjadi *mysis*, dan *mysis* berkembang menjadi *post larva* setelah 4-5 hari. Post larva bergerak mendekati pantai dan menetap di dasar perairan payau sampai berkembang menjadi *juvenile* (udang muda). Pergerakan seperti inilah yang menyebabkan pada umumnya post larva ditemukan di sepanjang pantai dan paling banyak di daerah hutan mangrove (Panjaitan, 2012).

Pada perairan payau, kebutuhan larva udang sudah tercukupi karena perairan tersebut kaya akan nutrisi dan kualitas air seperti suhu dan salinitas lebih bervariasi daripada perairan laut dalam. Setelah beberapa bulan di perairan payau, udang dewasa beruaya ke laut, dan akan mengalami matang gonad dan melakukan pemijahan serta melepaskan telurnya (Panjaitan, 2012). Adapun siklus hidup udang vaname di sajikan pada Gambar 2 dibawah ini.



Gambar 2. Siklus hidup udang vaname (Martin *et al.*, 2012)

2.3. Perkembangan Stadia Larva

Pertumbuhan larva udang sangat dipengaruhi oleh suhu pada media hidup larva udang itu sendiri. Larva berkembang menjadi *post larva* selama sekitar sepuluh hari pada kondisi optimal dengan suhu 27 – 29°C. Di Taiwan, larva udang tumbuh optimal pada suhu 33 – 35°C. Pada suhu tinggi, perkembangan stadia larva akan berlangsung cepat dan post larva dapat tercapai dalam waktu tujuh hari dihitung mulai dari telur menetas. Pada saat larva mengalami *molting* dari stadia ke stadia, larva memanfaatkan kuning telur (*yolk sac*) sebagai sumber makanannya. Cadangan kuning telur akan terserap habis ketika *molting*, dan *nauplius* berubah menjadi *protozoa*. Pada stadia *protozoa*, mulai membutuhkan makanan yang berasal dari organisme kecil yaitu fitoplakton (sesuai bukaan mulut). Setelah tiga kali mengalami proses *molting*, *protozoa* berubah menjadi *mysis*. Frekuensi *molting* pada stadia larva ini dapat terjadi antara 30 – 40 jam pada kondisi suhu 28°C (Panjaitan, 2012).

Stadia mysis mengalami tiga kali *molting* sebelum berubah menjadi post larva. Pada stadia post larva, tampak seperti udang dewasa. Berbeda dengan udang saat masih stadia mysis yang bersifat planktonik (mengikuti arus), stadia post larva bersifat benthik (berenang di dasar). Pada saat perubahan ini berlangsung, larva udang berpindah dari laut menuju pantai atau menuju muara dan menetap disana sampai menjadi udang dewasa (Panjaitan, 2012).

2.4. Kualitas Air

Kualitas air yang optimal jelas penting untuk lingkungan perairan. Polusi air yang berbahaya sangat berpengaruh terhadap proses pemijahan hewan akuatik dan juga kelangsungan hidup hewan akuatik. Parameter kimia (Suhu, pH, Oksigen terlarut) yang tidak optimal dan manajemen yang buruk dapat menyebabkan dampak negatif pada pertumbuhan dan bahkan kelangsungan hidup hewan air termasuk udang vaname (Chang *et al.*, 2017; Carbajal-Hernández *et al.*, 2013). Beberapa parameter kualitas air yang dapat menunjang pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang vaname adalah sebagai berikut :

a. Suhu

Suhu merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi berbagai macam aspek biologi udang seperti frekuensi *molting*, reproduksi, dan tingkat konversi pakan (Hernández *et al.*, 2006). Suhu optimal untuk budidaya udang vaname adalah berkisar antara 28 – 33°C (Badan Standarisasi Nasional, 2014). Batas suhu paling tinggi yang dapat ditoleransi udang vaname adalah sekitar 35°C. Diluar suhu optimal, udang tidak akan tumbuh dengan baik bahkan akan mengalami stress (Panjaitan, 2012).

b. Salinitas

Salinitas sangat berpengaruh terhadap proses metabolisme dan kelangsungan hidup udang. Definisi salinitas adalah konsentrasi ion – ion terlarut di dalam air yang dinyatakan dalam satuan permil (‰) atau ppt (*part per thousand*) atau g/l (gram per liter). Definisi lain dari salinitas adalah jumlah padatan dalam gram dari garam – garam yang terlarut dalam satu kilogram air laut. Terdapat 7 ion yang sangat berpengaruh dalam penentuan salinitas suatu perairan, yaitu Na, K, Mg, Ca, Cl, Sulfat, dan Karbonat (Panjaitan, 2012). Beberapa spesies menghabiskan seluruh siklus hidupnya di lingkungan yang sama dimana salinitas hampir konstan atau bahkan berubah – ubah. Dan juga ada beberapa yang bermigrasi selama perkembangan hidupnya, sehingga menunjukkan tahapan perkembangan yang berurutan terhadap salinitas yang berbeda (Varsamos *et al.*, 2005). Udang vaname memiliki kemampuan osmoregulasi yang baik, karena sifatnya yang *euryhaline* (memiliki toleransi terhadap salinitas yang luas). Udang vaname dapat bertahan hidup pada salinitas di bawah 0,5 ppt dan di atas 35 ppt. Akan tetapi udang vaname tumbuh optimal pada salinitas 22 – 25 ppt (Zhang *et al.*, 2016).

c. Derajat keasaman (pH)

Derajat keasaman atau pH adalah istilah yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki oleh suatu larutan. pH merupakan faktor penting yang dapat mempengaruhi kehidupan udang. Pada perairan, tingkat pH dapat berfluktuasi. Mulai dari 6,6 menjadi 10,2 karena adanya proses fotosintesis tumbuhan karena menyeroap karbondioksida pada siang hari dan organisme perairan mengeluarkan (lebih banyak karena fotosintesis terhenti pada malam hari) karbondioksida pada malam hari. Ada juga alasan lain yang menyebabkan nilai pH sangat bervariasi, salah satunya adalah pH dapat menjadi

turun apabila dipengaruhi oleh kondisi saat hujan lebat sehingga sedimen dasar perairan akan bersifat asam (Han *et al.*, 2018).

Derajat keasaman yang fluktuatif dapat mempengaruhi naik turunnya daya racun ammonia dan hidrogen sulfida. Pada pH yang tinggi akan lebih banyak ditemukan senyawa ammonia yang bersifat racun bagi udang dan juga dapat mempengaruhi keberadaan pakan alami (Panjaitan, 2012). pH optimal untuk budidaya udang vaname adalah 7,5 – 8,5 (Badan Standarisasi Nasional, 2014).

d. Oksigen Terlarut / *Dissolved Oxygen* (DO)

Oksigen mutlak dibutuhkan oleh organisme tidak terkecuali organisme perairan untuk proses respirasi yang selanjutnya dimanfaatkan untuk proses metabolisme. Kadar oksigen terlarut yang optimal untuk pertumbuhan udang adalah >4 mg/l (Badan Standarisasi Nasional, 2014). Kadar oksigen yang terlalu rendah dapat mematikan larva udang (Panjaitan, 2012).

2.5. *Molt Inhibiting Hormone*

Perkembangan pasca embrio pada hewan krustasea, termasuk siklus molting dan regenerasi, dikendalikan oleh hormon *ecdysteroids*. *Ecdysteroids* disintesis dan disekresikan oleh organ Y, kelenjar endokrin yang berasal dari ektodermal yang terletak di anterior *cephalothorax*. Aktivitas *ecdysteroids* ini diatur (dihambat) oleh *Molt Inhibiting Hormone* (MIH), neuropeptida yang diproduksi di eyestalk pada krustasea (Watson *et al.*, 2001). *Molt Inhibiting Hormone* merupakan pengatur utama dari *steroidogenesis* (proses biologis di mana steroid yang dihasilkan dari kolesterol dan berubah menjadi steroid lainnya) di organ Y (Chen *et al.*, 2007).

Molt Inhibiting Hormone (MIH) diproduksi dalam sel neurosecretory mata (Organ X) dan dikeluarkan melalui syaraf yang terkait dengan kelenjar sinus. Pada tangkai mata terdapat organ X yang terletak pada medulla eksternal, *sinus gland*

yang merupakan pengontrol hormon *molting*. Organ X dan *sinus gland* tersebut merupakan organ-organ dari sistem *neurosecretory* yang menghasilkan hormon MIH berperan menghambat proses *molting* dengan cara menghambat sekresi *ecdisteroids* (Siahainenia, 2008).

Organ X merupakan sumber penghasil bahan-bahan sekresi yang terdapat pada kelenjar sinus. Organ X dan terdiri dari sekelompok sel syaraf penghasil hormon. Pada kelompok natantia (udang-udangan) biasanya terdapat dekat kulit luar dan dekat dengan bagian distal dari medula terminalis. Sebelum dikeluarkan ke dalam cairan tubuh, hasil sekresi dari organ-X akan disimpan di kelenjar sinus. Kelenjar sinus merupakan sekelompok ujung sel syaraf yang telah mengalami perubahan yang kemudian disebut sebagai organ neurohemale (Ismail, 1991).

2.6. Peranan *Molt Inhibiting Hormone*

Molt Inhibiting Hormone (MIH) berperan sebagai hormon penghambat pergantian kulit (*molting*) dan juga berperan dalam meningkatkan dasar dan pertumbuhan kulit saat fase *premolting* pada udang. Selain itu, MIH juga berperan dalam meningkatkan reproduksi dengan pengaruh organ Y pada saat pengelupasan kulit (Ismail, 1991).

Menurut Ohira *et al.* (1999), MIH dianggap menghambat *molting* melalui penekanan sintesis dan / atau sekresi hormon *molting*, *ecdysteroids*, oleh organ Y. Keberadaan hormon tersebut akan menghambat organ Y yang berada pada *cephalotorax* untuk memproduksi *ecdysteroids*. *Ecdysteroids* adalah hormon yang berperan dalam mengontrol *molting* pada *Arthropoda* dan *Crustaceae* (Bakrim, 2008). Peranan utama *ecdysteroids* adalah memacu sintesis protein dengan cara meningkatkan sintesis mRNA, menyebabkan pertumbuhan jaringan tubuh lebih cepat sehingga lebih cepat besar dan merangsang *molting*. Produksi MIH dapat dihentikan atau dihambat dengan melakukan ablasi (pemotongan tangkai mata).

2.7. Mekanisme Kerja *Molt Inhibiting Hormone*

Chen *et al.*, (2007) mengatakan bahwa pada tangkai mata dapat memperlambat atau bahkan dapat menghentikan pelepasan *ecdysteroid*. *Ecdysteroid* ini ada hubungannya dengan *Molt Inhibiting Hormone*. Faktor lingkungan adalah faktor yang dapat mempengaruhi keadaan fisiologis crustacea, apabila stress menyerang crustacea, respon neuron serotonergik pada tangkai mata akan meningkat, kemudian merangsang kompleks sel *neurosecretory* organ X untuk melepaskan MIH. MIH dalam hemolim berikatan dengan permukaan reseptor organ Y yang akan menyebabkan adenilat siklase (AC) aktif dan mengubah ATP menjadi cAMP (siklik AMP). Produksi hormon ecdison akan ditekan oleh cAMP (Chang and Mykles, 2011).

Molt Inhibiting Hormone mengatur agar produksi *ecdysteroid* terhambat dengan cara menghambat ketodiol dan 25-deoxyecdysone yang berikatan pada reseptor epidermis di organ Y. Terhambatnya produksi *ecdysteroid* dari organ Y yaitu dengan mengikatnya *ecdysteroid* pada reseptor siklik cGMP. Pada saat fase premolt, *Molt Inhibiting Hormone* mengalami penurunan, dan akan meningkat pada fase intermolt. Karena produksi kalsium (Ca^{++}) akan meningkat pada saat premolt, dan meningkatkan produksi intraseluler enzim (Proteinkinase C dan Phosphodiesterase). Kedua enzim tersebut akan menstimulasi peningkatan produksi *ecdysteroid* pada saat fase premolt, dan akan berbanding terbalik (mengalami penurunan sekresi *ecdysteroid*) saat fase intermolt dan postmolt (Hosamani *et al.*, 2017).

2.8. Analisis Biologi Molekuler

2.8.1. Isolasi DNA

Isolasi DNA merupakan tahap pertama dari berbagai teknologi analisis DNA. DNA dapat ditemukan baik pada kromosom inti maupun pada organel yaitu pada

mitokondria dan kloroplas. Untuk mengekstrak DNA diperlukan langkah – langkah laboratorium untuk memecahkan dinding sel dan membran inti, dan dilanjutkan dengan pemisahan DNA dari berbagai komponen sel yang lain. Pada saat melakukannya harus dijaga agar DNA tidak rusak dan didapatkan DNA dalam bentuk rantai yang panjang (Fatchiyah, *et al.*, 2009).

Proses pengeluaran DNA dari tempatnya berada (ekstraksi atau lisis) biasanya dilakukan dengan homogenasi dan penambahan buffer ekstraksi atau buffer lisis untuk mencegah DNA rusak. Untuk membantu terjadinya lisis biasanya dilakukan inkubasi pada suhu sekitar 60°C. Dalam proses ini biasa digunakan senyawa – senyawa phenol, *chloroform*, dan *isoamyl alcohol* untuk memaksimalkan proses lisis (Fatchiyah, *et al.*, 2009). Tan dan Yiap (2009) mengatakan bahwa ekstraksi DNA menggunakan prosedur phenol-chloroform. Phenol-chloroform adalah salah satu contoh, yang secara luas digunakan untuk ekstraksi DNA. Untuk ekstraksi RNA sering menggunakan kit daripada metode manual. Chen *et al.* (2007), melakukan ekstraksi RNA menggunakan kit Purescript® RNA Isolation Kit (Gentra). Karena RNA lebih gampang terkontaminasi saat melakukan ekstraksi.

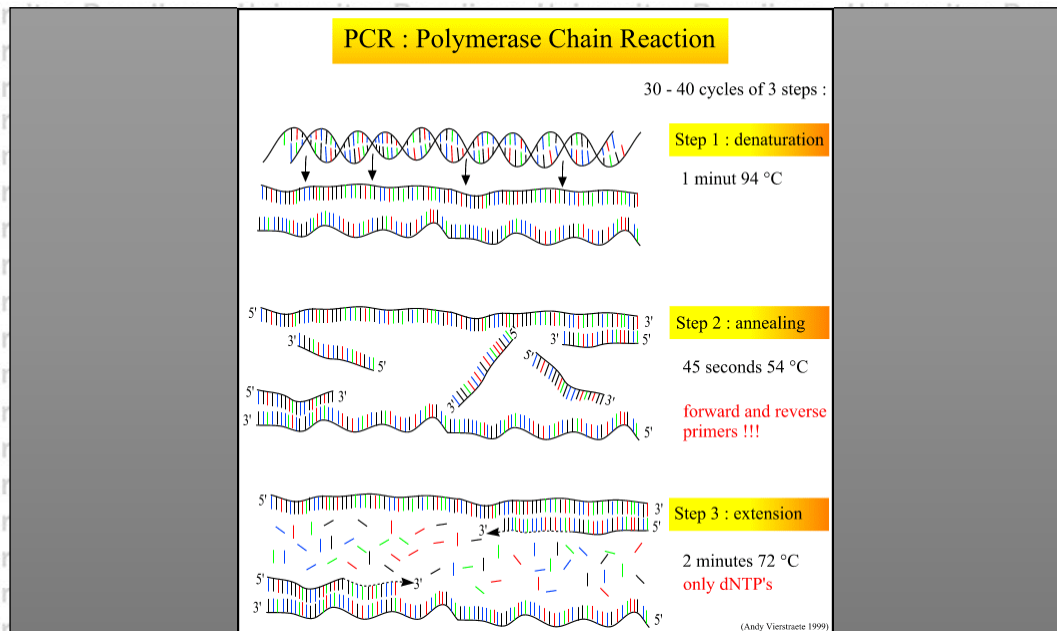
2.8.2. PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Polymerase Chain Reaction (PCR) (Gambar 3) adalah suatu teknik sintesis dan amplifikasi DNA secara *in vitro*. Teknik ini pertama kali dikembangkan oleh Kary Mullis pada tahun 1985. Teknik PCR dapat digunakan untuk mengamplifikasi segmen DNA dalam jumlah jutaan kali, dengan menggunakan DNA *polymerase* (Sambrook dan Russel, 2001). Dengan diketemukannya teknik PCR di samping juga teknik-teknik lain seperti sekuensing DNA, telah merevolusi bidang sains dan teknologi khususnya di bidang diagnosa penyakit genetik, kedokteran forensik dan evolusi molekular. (Fatchiyah, *et al.* 2009)

Metode PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA menjadi ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula. Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya. Setiap siklus akan diperoleh 2^n kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalisir amplifikasi urutan non-target (Fatchiyah *et al.*, 2009).

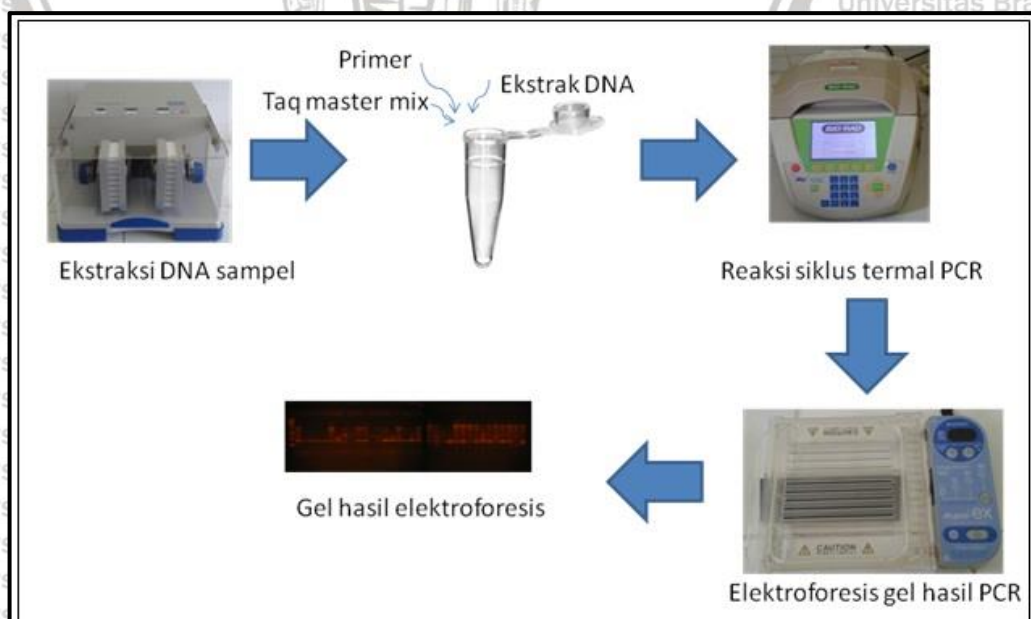
Teknik PCR memerlukan beberapa komponen, yaitu DNA polymerase yang dapat mengamplifikasi untai DNA baru, dua primer oligonukleotida, kation bivalen sebagai aktivator DNA polymerase dan membantu dalam proses *annealing*, buffer PCR untuk menjaga kestabilan pH, kation monovalent, dan cetakan DNA yang mengandung sequence target untuk diamplifikasi (Sambrook dan Russel, 2001).

Proses PCR biasanya terdiri atas 20 sampai 35 siklus dan dilakukan dalam tiga tahap, yaitu denaturasi, *annealing*, dan elongasi (*extension*). Denaturasi terjadi pada suhu 94-96°C selama 1-9 menit, putusanya ikatan hidrogen basa untai ganda DNA menjadi untai tunggal. Tahap *annealing* ditandai dengan pelekatan primer ke cetakan DNA rantai tunggal dan terjadi pada suhu 50-64°C selama 20-40 detik. Elongasi merupakan tahap pemanjangan untai DNA baru yang dimulai oleh pemanjangan primer dengan bantuan DNA polymerase yang terjadi pada suhu 72°C (Fatchiyah *et al.*, 2009).



Gambar 3. Tahapan Reaksi PCR (Sambrook *et al.*, 1989)

Tingkat keberhasilan dari pengujian sampel dengan metode PCR dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti faktor kontaminasi silang, umur reagen atau enzim yang dipakai, jumlah enzim yang dipakai, ketelitian saat proses ekstraksi, serta kondisi larutan buffer dan larutan etidium bromida yang dipakai. Agar kontaminasi silang dapat dihindarkan, sebaiknya operator pengujian PCR harus benar-benar terlatih dan teliti (Suharsono dan Widyastuti, 2006).



Gambar 4. Prosedur umum pelaksanaan PCR (Suharsono dan Widyastuti, 2006).

2.8.3. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk, dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat) (Fatchiyah *et al.*, 2009). Elektroforesis digunakan untuk identifikasi, pemisahan, dan purifikasi fragmen DNA.

Pada prinsipnya molekul DNA yang bermuatan negatif akan bermigrasi ke elektroda positif karena molekul DNA negatif mengandung gugus fosfat (Sambrook dan Russel, 2001). Proses identifikasi lokasi fragmen DNA dilakukan dengan menggunakan 1 µl pewarna etidium bromida yang ditambahkan ke 5 µl DNA dan 2% gel agarose (Reddy, 2013). Etidium bromida digunakan untuk visualisasi DNA dibawah sinar UV (305 nm), karena pita DNA dapat berikatan dengan pewarna tersebut. semakin besar ukuran pita DNA yang terbentuk pada media gel agarose, maka konsentrasi DNA semakin baik.

2.8.4. Sequencing

Sequencing DNA atau pengurutan DNA adalah proses atau teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA. Urutan tersebut dikenal sebagai sekuens DNA, yang merupakan informasi paling mendasar suatu gen atau genom karena mengandung instruksi yang dibutuhkan untuk pembentukan tubuh makhluk hidup. *Sequencing* DNA digunakan untuk menentukan susunan basa (A, T, G, dan C). Metode sequencing pada umumnya menggunakan metode Maxam-Gilbert dan metode Sanger. Metode Maxam-Gilbert merupakan metode sequencing yang menggunakan bahan kimia spesifik untuk memotong untai DNA target. Metode Sanger menggunakan enzim DNA polymerase untuk membentuk salinan komplementer dari fragmen DNA target (Sambrook *et al.*, 1989).

Proses *Sequencing* telah dimodifikasi dan dipermudah dengan menggunakan komputer. Dikenal sebagai *automated DNA sequencing*. Proses tersebut adalah modifikasi dari metode Sanger yang diawali oleh tahap *cycle sequencing*. *Cycle sequencing* adalah metode amplifikasi DNA yang menggunakan satu jenis primer dan dua jenis nukleotida (deoksinukleotida trifosfat (dNTP) dan dideoksinukleotida trifosfat (ddNTP)). Pada saat hasil *cycle sequencing* dijalankan, maka sinar laser yang mengenai ddNTP akan memendar dan dibaca oleh detektor yang terhubung dengan komputer dan akan menghasilkan grafik elektroferogram (Griffiths, *et al.*, 1996).

2.8.5. Program Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

Program *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (Gambar 4) adalah program dari NCBI ([National Center for Biotechnology Information](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) yang digunakan untuk mencari similaritas dari suatu *sequence* nukleotida atau protein dengan *sequence database* yang terdapat pada *GenBank*. Similaritas tersebut digunakan untuk mengetahui fungsi dari suatu gen, memperkirakan anggota baru dari suatu famili, dan mengetahui hubungan kekerabatan (NCBI, 2011).

Gambar 5. Layout dari website NCBI yang memuat program BLAST

2.8.6. Analisis filogenik

Analisis filogenik atau filogenesis adalah kajian mengenai hubungan di antara kelompok-kelompok organisme yang dikaitkan dengan proses evolusi yang dianggap mendasarinya. Pohon filogenik adalah suatu diagram evolusioner yang terdiri atas nodus (unit taksonomi yang merepresentasikan tipe takson yang dapat dibandingkan) dan cabang (garis yang menghubungkan dua nodus dan mendefinisikan hubungan kekerabatan antar *Operational Taxonomic Unit* dalam hubungan turunan (Vandamme, 2003).

Metode pembuatan pohon filogenik dilakukan berdasarkan penggunaan data *distance matrix*. *Distance Matrix* merupakan seluruh nilai jarak evolusi yang mungkin terjadi antara dua subjek. *Distance matrix* lebih banyak digunakan karena proses analisisnya cepat dan memungkinkan sejumlah besar *sequence* dapat dievaluasi (Pearson *et al.*, 1999).

3. KERANGKA PENELITIAN

3.1. Landasan Teori

Udang vaname (*L. vannamei*) merupakan salah satu komoditas perikanan ekonomis penting dikarenakan secara umum peluang usaha budidaya udang vaname tidak berbeda jauh dengan peluang usaha udang jenis lainnya. Sebab pada dasarnya udang merupakan komoditi ekspor andalan pemerintah dalam menggaet devisa (Yustianti, *et al.*, 2013).

Berdasarkan kajian di lapangan udang vaname masih dapat hidup dan tumbuh pada tambak dengan salinitas air mencapai 1 ppt. Hal ini dikarenakan sifat *euryhaline* udang vaname yang artinya memiliki rentang toleransi salinitas yang tinggi. Udang vaname dapat bertahan hidup pada salinitas di bawah 0,5 ppt dan di atas 35 ppt (Zhang *et al.*, 2016). Perbedaan salinitas juga mempengaruhi pertumbuhan pada udang.

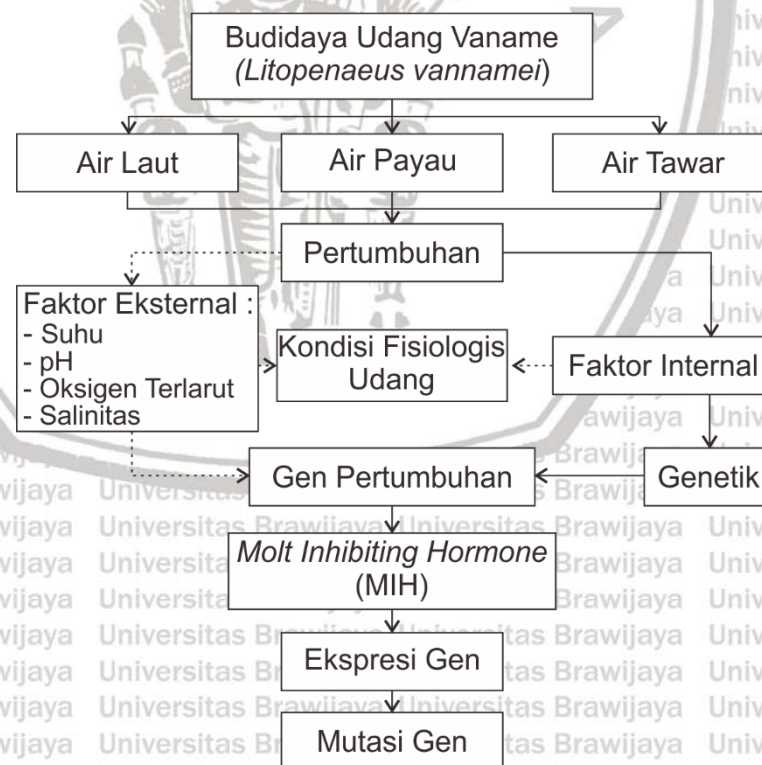
Salah satu indikasi terjadinya pertumbuhan pada udang vaname adalah *molting*. Molting adalah proses pergantian cangkang pada hewan crustacea (udang). *Molting* sangat dipengaruhi oleh faktor eksternal, yaitu kondisi lingkungan, dan faktor internal yaitu *molting* yang dipicu oleh hormon *ecdysteroid* dan dihambat oleh hormon penghambat yaitu *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) (Subaidah *et al.*, 2012). Sehingga dapat dikatakan bahwa MIH merupakan salah satu gen yang mengatur pergantian kulit pada udang vaname.

Proses *molting* terjadi karena gen MIH telah terekspresi. Ekspresi gen oleh sinyal ekstraseluler adalah mekanisme dasar perkembangan, homeostasis, dan adaptasi terhadap lingkungan (Nestler dan Hyman, 2017). Ekspresi dari informasi yang disimpan di dalam bahan genetik merupakan suatu proses yang kompleks. Awal dari proses ekspresi adalah transkripsi dari informasi genetik yang disimpan di dalam molekul DNA. Bahan genetik mempunyai beberapa sifat atau fungsi:

dapat menggandakan diri (replikasi), sebagai penyimpan informasi, dapat mengekspresikan informasi yang dikandungnya, dapat bervariasi melalui mutasi. Mutasi adalah perubahan yang terjadi pada materi genetik sehingga menyebabkan perubahan ekspresi. Perubahan dapat terjadi pada tingkat pasangan basa, tingkat satu ruas DNA (Jusuf 2001). Susan dan William (2007), menambahkan bahwa adanya perubahan satu basa purin menjadi satu basa pirimidin atau kebalikannya merupakan mutasi tranversi, sedangkan satu basa purin menjadi satu basa purin atau satu basa pirimidin menjadi satu basa pirimidin merupakan mutasi transisi.

3.2. Kerangka Konseptual Penelitian

Berdasarkan landasan teori diatas, bisa dibuat suatu kerangka konseptual penelitian seperti yang tersaji pada Gambar 6 dibawah ini :

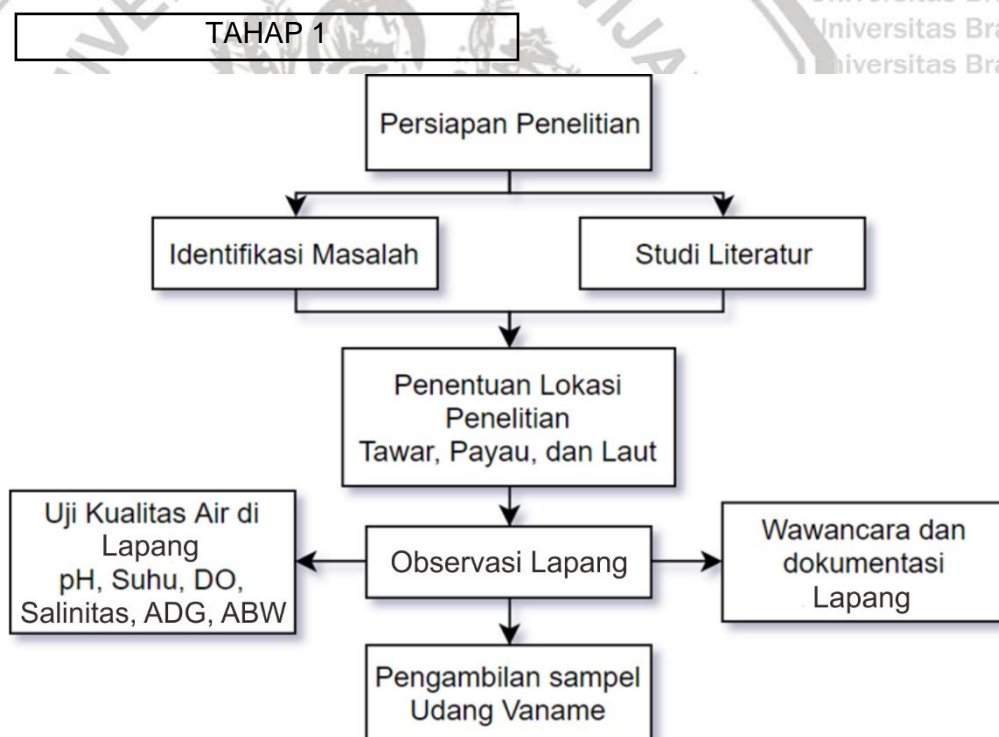


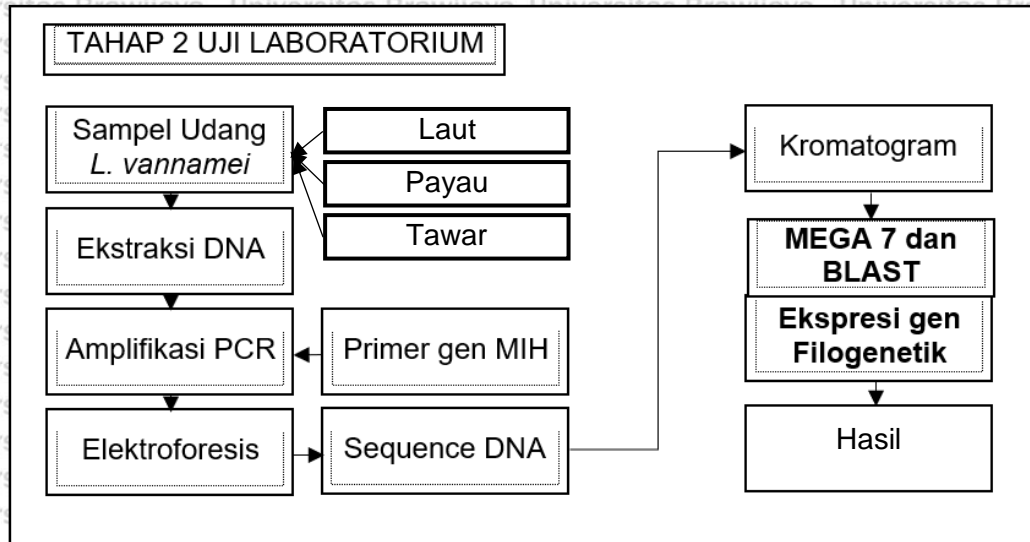
Gambar 6. Kerangka konseptual penelitian

3.3. Kerangka Operasional Penelitian

Kerangka operasional terdiri dari 2 tahapan yang dilakukan selama penelitian. Secara garis besar pada tahap pertama adalah pengambilan sampel di tambak udang vaname laut, payau, dan tawar (DOC 30 dan DOC 60) untuk diuji gen MIH. Selama dilapangan, diambil sampel air untuk di analisis kualitas air. Kualitas air yang diuji meliputi nilai pH, suhu, dan oksigen terlarut. Tahap kedua adalah kegiatan di laboratorium. Meliputi kegiatan analisis gen MIH menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) sampai didapat data ekspresi gen MIH udang vaname.

Secara ringkas tahapan operasional penelitian yang dilakukan seperti pada skema (Gambar 7) dibawah ini:





Gambar 7. Kerangka Operasional Penelitian

3.4. Kebaruan Penelitian

Penelitian tentang gen pertumbuhan udang yang spesifik masih tergolong rendah. Berdasarkan kajian literatur (Tabel 2), penelitian tentang gen MIH ini sudah dilakukan oleh *Chen et al.* (2007), namun udang yang digunakan adalah udang yang salinitasnya sama (payau). Oleh karena itu, kebaruan dari penelitian yang dilakukan ini yaitu ekspresi gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) pada pertumbuhan udang *vannamei* (*L. vannamei*) di budidaya air laut, payau, dan tawar.

Tabel 1. Studi tentang gen *Molt Inhibiting Hormon* udang vaname (*L. vannamei*).

No.	Authors	Title	Journal/literature	Year
1.	Hsiang-Yin Chen, R. Douglas Watson, Jiann-Chu Chen, Hui-Fen Liu, Chi-Ying Lee	Molecular characterization and gene expression pattern of two putative molt-inhibiting hormones from <i>L. vannamei</i>	<i>General and Comparative Endocrinology</i>	2007
2.	Kumaraswamy Naidu, C. Suneetha, Y. Sreenivasula Reddy, P.	Computational analysis of molt-inhibiting hormone from selected crustaceans	<i>Comparative Biochemistry and Physiology, Part D</i>	2013

No.	Authors	Title	Journal/literature	Year
3.	Siti Subaidah, Odang Carman, Komar Sumantadinata, Sukenda, dan Alimuddin	Respons Pertumbuhan dan Imunitas Udang Vaname <i>L. vannamei</i> Terhadap Pemberian Hormon Pertumbuhan Rekombinan Ikan Kerapu Kertang	Jurnal Riset Akuakultur	2012
4.	Sefiani, Majida Le Caer, Jean Pierre Soyez, Daniel	Characterization of hyperglycemic and molt-inhibiting activity from sinus glands of the penaeid shrimp <i>Penaeus vannamei</i>	<i>General and Comparative Endocrinology</i>	1996

3.5. Strategi Publikasi

Publikasi karya ilmiah merupakan tahapan setelah pelaksanaan penelitian.

Publikasi dipersyaratkan pada Pelaksanaan Kurikulum Program Magister

Budidaya Perairan Fakultas Kelautan dan Perikanan Universitas Brawijaya adalah

Jurnal Nasional terakreditasi dan Jurnal Internasional. Publikasi hasil riset ini akan

dibagi 2 tema, untuk jadwal rencana publikasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Strategi Publikasi

No.	Judul	Bulan	Jurnal	Status
1.	<i>Molt Inhibiting Hormone (MIH) gene expression of Vannamei Shrimp (L. vannamei, Boone 1931) in freshwater and brackish water culture</i>	Juni 2019	<i>Research Journal of Life Science.</i>	<i>Under review</i>

3.6. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut :

H_0 = Diduga salinitas budidaya udang vaname tidak berpengaruh terhadap karakter molekuler, pertumbuhan, dan mutasi genetik udang vaname.

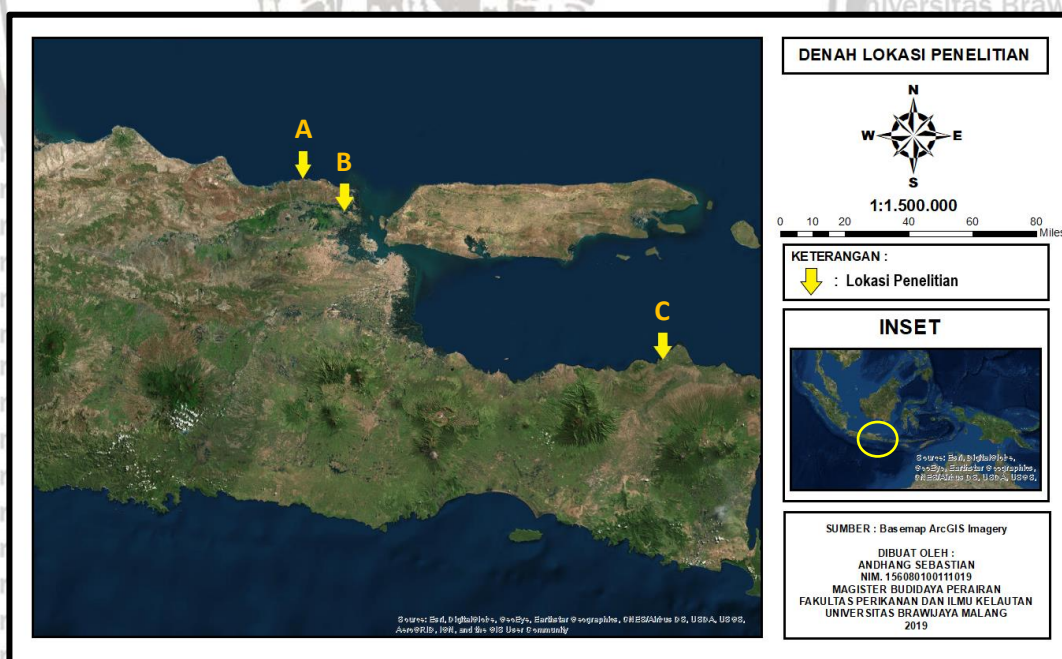
H_1 = Diduga salinitas budidaya udang vaname berpengaruh terhadap karakter molekuler, pertumbuhan, dan mutasi genetik udang vaname.

4. MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Sampel udang vaname (*L. vannamei*) diambil dari Tambak di Desa Kedungkandang, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan (air payau), Desa Raci Tengah, Kecamatan Sidayu, Kabupaten Gresik (air tawar), dan Desa Peleyan, Kecamatan Panarukan, Kabupaten Situbondo (air laut) (Gambar 7).

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2018 sampai bulan Januari 2019, meliputi pengambilan sampel, serta pengujian laboratorium. Wilayah pengambilan sampel tersebut dipilih karena merupakan lokasi budidaya udang vaname yang masih aktif memproduksi. Pengujian laboratorium dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya, Malang dan First Base Laboratories (*Molecular Biology Service*) Malaysia.



Gambar 8. Denah Lokasi Pengambilan sampel di (A) Desa Kedungkandang, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan, (B) Desa Raci Tengah, Kecamatan Sidayu, Kabupaten Gresik, dan (C) Desa Peleyan, Kecamatan Panarukan, Kabupaten Situbondo.

4.2. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat – Alat Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan adalah *cool box styrofoam*, pH meter, botol film, timbangan digital, *waterbath*, *glasswares* (*staining jar*, erlenmeyer, gelas ukur, dll), mikro pipet (200 – 1000 μ l), *blue tip*, *white tip*, rak *white tip*, autoklaf, lemari pendingin, nampan, seperangkat alat *Polymerase Chain Reaction* (PCR) semi kuantitatif real time, seperangkat alat elektroforesis, shaker, dan sarung tangan lateks, timbangan.

b. Bahan – Bahan Penelitian

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini seluruhnya adalah bahan yang digunakan saat pengambilan sampel di lapangan, penyimpanan sampel, dan bahan – bahan yang digunakan saat pengujian di laboratorium. Bahan – bahan tersebut antara lain : sampel udang vaname (*L. vannamei*) lugol, bahan ekstraksi DNA, primer gen MIH (DQ412566.1) (primer spesifik yang dirancang dan sekuen nukleotidanya), *Go Taq Green*, bubuk agarose, dan Tris Borate EDTA (TBE).

4.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif berdasarkan kajian molekuler.

Metode deskriptif adalah metode yang mendeskripsikan fenomena yang terjadi secara alami tanpa adanya intervensi dari sebuah eksperimen atau suatu perlakuan tertentu yang direncanakan, serta dilakukan analisis lebih dalam atau interpretasi lebih dalam ada apa di balik fakta dan data hasil penelitian tersebut (Hamdi dan Bahrudin, 2015). Penelitian ini dilakukan beberapa tahap. Tahap pertama adalah penentuan lokasi pengambilan sampel, tahap dua pengambilan sampel udang vaname, dan pengukuran kualitas air (pH, suhu, oksigen terlarut), tahap tiga yaitu uji laboratorium gen MIH dengan menggunakan PCR dan analisa

sekuensing DNA. Jadi dalam penelitian ini nantinya akan menyajikan gambaran tentang gen MIH udang vaname yang dipelihara dibudidaya air laut, payau, dan tawar secara terperinci dan dibandingkan dengan literatur yang ada tentang gen MIH dari udang vaname.

4.4. Prosedur Penelitian

4.4.1. Tahap 1

a. Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Identifikasi gen terkait pertumbuhan dilakukan pada udang vaname yang dipelihara dengan menggunakan air tawar payau, dan laut. Sampel udang diambil dari tambak di Kabupaten Lamongan (air payau), kabupaten Gresik (air tawar), dan Kabupaten Situbondo (air laut). Sampel udang dikoleksi secara hidup dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya Malang untuk dilakukan uji dengan menggunakan PCR.

b. Pengamatan Kualitas Air

Selama penelitian dilakukan, kualitas air selama penelitian juga di periksa. Adapun data kualitas air yang diperiksa adalah pH (derajat keasaman), suhu, oksigen terlarut (DO).

c. Pengukuran *Average Body Weight* (ABW) dan *Average Body Growth* (ADG)

Pengukuran ABW dan ADG dilakukan setiap hari supaya diketahui berapa penambahan berat per hari dari udang vaname. ABW adalah berat udang vaname yang didapatkan dengan cara membagi antara total berat sampling dibagi dengan total udang yang disampling, sehingga didapatkan data dengan satuan gram per ekor. Sedangkan ADG adalah data yang diperoleh dengan cara mengurangi berat udang vaname per ekor dikurangi berat awal kemudian dibagi waktu tebar, sehingga didapatkan data dengan satuan gram per hari

4.4.2. Tahap 2

a. Ekstraksi DNA

Teknik isolasi DNA udang vaname dengan menggunakan metode kit (*nucleospin*). Tangkai mata diambil dan ditimbang sebanyak 50 mg (0,05 g), kemudian disiapkan tube 1,5 ml dan ditambahkan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) 1X pH 7,4 sebanyak 100 μ L. Kemudian sampel dimasukkan kedalam tube dan dipotong kecil-kecil dengan menggunakan gunting steril. Ditambahkan buffer T1 200 μ L kemudian di-mix menggunakan *vortex mixer* selama 10 detik lalu ditambahkan 25 μ L pro K kemudian di vortex selama 20 detik. Langkah selanjutnya adalah sampel diinkubasi dengan suhu 56 $^{\circ}$ C dalam inkubator shaker 800rpm selama 1x24 jam. Setelah dilakukan inkubasi langkah selanjutnya sampel di sentrifuge 11000 xg dengan suhu 25 $^{\circ}$ C selama 25 menit. Kemudian supernatant dipindahkan ke dalam tube baru dan ditambahkan 200 μ L buffer B3 dan divortex selama 20 detik untuk menghomogenkan. Kemudian di inkubasi dengan suhu 70 $^{\circ}$ C selama 60 menit dalam inkubator shaker dengan kecepatan 800rpm. Selanjutnya ditambahkan 210 μ L etanol absolute dan divortex 10 detik. Sampel dipindahkan kedalam column DNA disentrifuge 11000xg selama 3 menit dalam suhu 25 $^{\circ}$ C, kemudian column DNA diganti dan ditambahkan 500 μ L buffer BW kemudian di sentrifuge 11000xg selama 2 mnit dalam suhu 25 $^{\circ}$ C. column DNA diganti dan ditambahkan 600 μ L buffer B5 lalu disentrifuge 11000xg selama 3 menit pada suhu 25 $^{\circ}$ C, kemudian dipindah pada tube baru dan dilakukan perlakuan dry silica membrane dengan sentrifuge sampel 11000xg, 3 menit dengan suhu 25 $^{\circ}$ C. kemudian ditambahkan 25 μ L buffer BE hangat (70 $^{\circ}$ C) diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Kemudian sampel disentrifuge 11000xg, selama 5 menit pada suhu 25 $^{\circ}$ C. kemudian didapatkan sampel DNA. Selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin 4 $^{\circ}$ C sampai dilakukan analisis DNA.

Setelah diperoleh DNA, segera dilakukan uji kuantitatif dengan menggunakan UV spektrofotometer Nano Drop 2000. Kalibrasi dilakukan dengan menggunakan Elution Buffer sebagai pelarut stock DNA. DNA dalam keadaan murni apabila memiliki rentangan A 260/280 sebesar 1,8-2.

b. Amplifikasi DNA menggunakan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Sampel udang yang telah diekstrak DNA-nya kemudian dimasukkan ke dalam tabung appendorf (0,2 ml) sebanyak 2 μ l, dan ditambah dengan master mix (Primer F (0,5 μ l), Primer R (0,5 μ l), ddH₂O (2,75 μ l), dan 2 \times *Go Taq Green* PCR (0,25 μ l)). Primer F dan Primer R disajikan dalam Tabel 3. Master mix dimasukkan pada mikrotube 1,5 ml, lalu di homogenkan. Disiapkan mikrotube ukuran 200 μ l dan dimasukkan master mix ke dalam *microtube* dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Ditambahkan DNA template 1 μ l kedalam *microtube*, lalu dimasukkan mikrotube pada *Thermalcycler* yang sudah di setting waktunya. Sampai pada waktu yang sudah ditentukan, diambil *microtube* dari *Thermalcycler* dan disimpan dalam lemari pendingin untuk jangka waktu yang panjang.

Tabel 3. Primer spesifik yang dirancang dan sekuen nukleotidanya.

Primer	Sekuen (urutan 5'-3')	No. Akses	Referensi
MIH-F	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGC	DQ412566.1	Chen <i>et al.</i>
MIH-R	AGAGGCTTGTCCCAACAACACTCAAT		2007

c. Elektroforesis

Gel agarosa 2 % disiapkan, lalu dituangkan ke dalam tangki elektroforesis yang telah dipasang *comb* (sisiran elektroforesis). Setelah larutan agarose mengeras (membentuk gel), kemudian dituangkan larutan TBE buffer pada alat elektroforesis yang datar. Diletakkan agarose pada alat elektroforesis, ditambahkan TBE 1x jika larutan tidak menggenangi agarose setinggi 2 mm. Harus dipastikan letak agarose sudah sesuai. Kemudian larutan yang akan diuji ditambahkan dengan *loading dye* 2 μ L. Larutan ini berfungsi untuk memperberat DNA *template* dan memberi warna. Diambil 10 μ L sampel dan letakkan pada

sumuran gel agarose. Diletakkan menggunakan 2 tangan untuk mencegah *tremor* (gemetar) pada tangan. Sampel harus diletakkan tepat pada sumuran, jika sampel terlalu ke atas maka akan meluap ke agarose dan jika terlalu dalam dikhawatirkan merusak DNA *template*. Setelah itu *marker* yang telah digunakan diletakkan pada ujung dari agarose sebanyak 1 μ L. Ditunggu alat elektroforesis, disambungkan pada *power supply* dan tekan "ON". Tunggu hingga 60 menit untuk prosesnya, diangkat gel agarose. Divisualisasikan agarose dengan menggunakan *Gel Doc* untuk mengetahui berapa panjang tarikan molekul melalui matriks gel dan didapatkan hasil.

d. Sekuensing DNA

Hasil PCR yang telah berhasil di amplifikasi kemudian dikirim ke First Base Co (Malaysia) menggunakan *Big Dye[®] terminator chemistry* (Perkin Elmer), untuk mendapatkan susunan basa yang membentuk DNA atau *sequence* nukleotida. Hasil *sequence* DNA dicocokkan dengan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), yang merupakan program NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) yang digunakan untuk mencari kesamaan *sequence* nukleotida atau protein dengan *sequence* database pada GenBank, sehingga dapat diketahui fungsi suatu gen, mengidentifikasi kemungkinan munculnya spesies baru, dan kemungkinan adanya mutasi pada suatu gen.

e. Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dan dikembangkan menjadi susunan data yang komprehensif dan obyektif. Hasil uji PCR gen MIH pada udang disajikan dalam bentuk gambar, dan data hasil sekuensing di analisis serta di edit menggunakan BioEdit (Hall, 1999). Data sekuens yang diperoleh kemudian dicocokkan dengan data yang tersedia di *GenBank* NCBI secara online (memerlukan kecepatan internet yang stabil) dengan metode BLAST. Hasil analisis sekuens dilakukan menggunakan *software* komputer MEGA ver. 7 dan

kemudian di align dengan data dari *GenBank*. Untuk konstruksi pohon filogenetik, ditentukan menggunakan metoda *Neighbour-Joining* (NJ-tree) (Lemey *et al.*, 2009). Kemudian data sekunder seperti Kualitas Air dan data pertumbuhan juga dianalisis menggunakan Ms Excel.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Uji kuantitatif DNA Udang vaname (*L. vannamei*) yang dipelihara di Air Laut, payau, dan tawar

Sampel gen MIH yang diekstrak dari tangkai mata udang vaname kemudian di ukur kemurnian DNA menggunakan *nanodrop-spectrofotometer UV-Vis*. Iqbal, *et al.* (2016) hasil Kuantitatif DNA gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) pada udang vaname dapat diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kemurnian DNA} = \frac{\text{Panjang Gelombang DNA (260 ng/}\mu\text{L)}}{\text{Panjang Gelombang Protein (280 ng/}\mu\text{L)}}$$

Adapun hasil dari pengukuran kuantitatif gen MIH tercantum pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Hasil Uji kuantitatif Gen *Molt Inhibiting Hormone* pada Udang Vaname

No	Sampel Udang Vaname	Tanggal	Intensitas Ng/ μ L	A260 DNA	A280 Protein	260/280
1	Udang air laut DOC 30 (L1)	20/12/2018	542,39	10,848	5,668	1,91
2	Udang air laut DOC 60 (L2)	20/12/2018	424,48	8,490	4,375	1,94
3	Udang air payau DOC 30 (P1)	20/12/2018	353,36	7,067	3,595	1,97
4	Udang air payau DOC 60 (P2)	20/12/2018	265,25	5,305	2,734	1,94
5	Udang air tawar DOC 30 (T1)	20/12/2018	341,02	6,820	3,405	2,00
6	Udang air tawar DOC 60 (T2)	20/12/2018	129,94	2,599	1,341	1,94

Fatchiyah *et al.*, (2009) menyatakan bahwa DNA murni dapat menyerap cahaya ultraviolet karena terdapat basa purin dan basa pirimidin. DNA yang memiliki pita ganda dapat menyerap cahaya UV pada 260 nm, sedangkan kontaminan dari protein atau phenol akan menyerap cahaya UV pada gelombang

280 nm. Sehingga kemurnian DNA dapat dihitung dengan melihat nilai absorbansi (banyaknya cahaya atau energi yang diserap oleh partikel-partikel dalam larutan)

DNA 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi protein 260 nm (A_{260}/A_{280}), dan nilai kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, dari keenam sampel memiliki kemurnian yang sangat tinggi yaitu diantara range 1,8-2,0. Nilai tersebut sesuai dengan pernyataan Fajriani, *et al.* (2018), bahwa hasil isolasi DNA diuji secara kuantitatif dan kualitatif untuk mengetahui tingkat kemurniannya. Hasil isolasi DNA yang kemurniannya baik memiliki nilai perbandingan A_{260}/A_{280} sebesar 1,8-2,0.

Apabila ditemukan beberapa DNA isolat berada diluar rentang tersebut, kemungkinan disebabkan oleh adanya kontaminasi dari RNA atau protein lainnya.

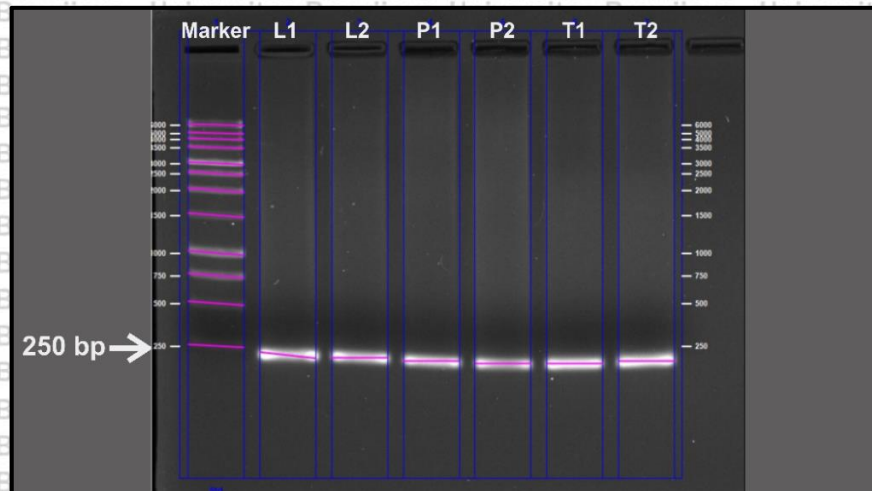
Kontaminasi tersebut biasanya dikarenakan kurangnya perlakuan aseptis serta keadaan sampel yang sudah rusak. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Mulyadi *et al.* (2017), jika nilai kemurnian dibawah 1,8 maka bisa saja disebabkan adanya kontaminasi. Tingkat kemurniannya rendah maka akan mempengaruhi pada penempelan primer.

5.2. Identifikasi Gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) Udang Vaname (*L. vannamei*) yang Pelihara pada Air Tawar, Payau dan Laut

5.2.1. Hasil Elektroforesis

Hasil elektroforesis dari penelitian ini divisualisasikan melalui elektroforegram.

Hasil elektroforegram disajikan dalam Gambar 9 dibawah ini.



Gambar 9. Hasil Elektroforesis gen MIH udang vaname (L1 : Udang air Laut DOC 30; L2 : Udang air Laut DOC 60; P1 : Udang air Payau DOC 30; P2 : Udang air Payau DOC 60; T1 : Udang air Tawar DOC 30; T2 : Udang air Tawar DOC 60)

Berdasarkan gambar elektroforegram diatas, diketahui hasil panjang *basepair* dan ketebalan pita dari sampel udang vaname yang diuji gen MIH dalam

Tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5. Hasil Uji Elektroforesis gen MIH udang vaname (*L. vannamei*)

Sampel	Basepair	Intensitas
Marker (1kb)	250	385020
L1	237,8006	8636300
L2	229,9473	7388492
P1	219,8782	7439881
P2	212,6168	6524527
T1	212,6168	9183154
T2	219,8782	9923504

Keterangan : L1 (Udang Laut DOC 30), L2 (Udang Laut DOC 60), P1 (Udang Payau DOC 30), P2 (Udang Payau DOC 60); T1 (Udang Tawar DOC 30), T2 (Udang Tawar DOC 60).

Berdasarkan Tabel 5 diatas, gen MIH udang vaname yang dibudidaya di air laut, payau, dan tawar ditemukan pada panjang 212,6168 - 237,8006 bp dengan marker 250 bp. Intensitas pita gen MIH udang vaname didapatkan antara 6524527

- 9923504. Intensitas pita DNA hasil amplifikasi oleh setiap primer sangat dipengaruhi oleh kemurnian dan konsentrasi DNA cetakan. DNA cetakan yang mengandung senyawa-senyawa seperti polisakarida dan senyawa fenolik,

serta konsentrasi DNA cetakan yang terlalu kecil sering menghasilkan pita DNA amplifikasi yang redup atau tidak jelas (Weeden *et al.*, 1992)

Gen MIH dapat diidentifikasi dengan mengambil pada bagian tangkai mata (*eyestalk*) udang vaname (*L. vannamei*). MIH diproduksi dalam sel *neurosecretory* mata (Organ X) dan dikeluarkan melalui syaraf yang terkait dengan kelenjar sinus.

Pada tangkai mata terdapat organ X yang terletak pada medulla eksternal, *sinus gland* yang merupakan pengontrol hormon *molting* (Siahainenia, 2008). Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa gen MIH udang vaname berkisar antara 212 – 237 bp dengan marker gen MIH dengan nilai 250 bp. Menurut Chen *et al.* (2007), ketebalan pita gen MIH ketika dianalisis dengan elektroforesis adalah 220 bp – 224 bp (Chen, *et al.*, 2007).

Hasil yang didapatkan pada **Tabel 5** menunjukkan bahwa sampel udang yang dibudidaya di air tawar, payau, dan Laut memiliki ketebalan *Band* yang bervariasi, dimana hasil ketebalan band tertinggi didapatkan pada udang yang dibudidaya di air laut. Sedangkan Udang yang dibudidaya air tawar dan payau memiliki ketebalan *basepair* paling rendah. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil visualisasi DNA (elektroforesis) salah satunya yaitu proses isolasi DNA (ekstraksi DNA). Irmawati (2003) mengatakan bahwa pita DNA yang tebal dan mengumpul (tidak menyebar) menunjukkan konsentrasi yang tinggi dan DNA total yang diekstrak dalam kondisi utuh, sedangkan pita DNA yang terlihat menyebar menunjukkan adanya ikatan antar molekul DNA yang terputus pada saat proses ekstraksi berlangsung, sehingga genom DNA terpotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil.

Berdasarkan hasil ketebalan *band* yang didapat, dapat disimpulkan bahwa sampel udang vaname yang dibudidayakan di air laut, payau, dan tawar yang di uji elektroforesis adalah gen target yaitu gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH).

5.3. Hasil Sekuensing Gen MIH *L. vannamei*

Pada penelitian ini, hasil sekuensing kemudian diolah menggunakan software MEGA 7.0. tidak ditemukan missing data pada sekuens setiap sampel udang vaname. Namun terdapat beberapa variasi genetik pada hasil sekuensing.

Adapun hasil sekuens gen MIH terdapat pada **Tabel 6** berikut :

Tabel 6. Hasil sekuens gen MIH udang vaname

No.	Spesies	Sekuens gen MIH
1	Udang Laut DOC 30	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTGGATATTTGGCTTTTTGCACTT ^T AGTAGCCATCGC AGGGTTGTTTATTTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT
2	Udang Laut DOC 60	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTG ^A AATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCATCGC AGGGTTGTTT ^A TTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT
3	Udang Payau DOC 30	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTGGATATTTG ^T CTTTTTGCACTT ^T AGTAGCCATCGC AGGGTTGTTTATTTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT
4	Udang Payau DOC 60	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTG ^A AATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCATCGC AGGGTTGTTTATTTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT
5	Udang Tawar DOC 30	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTG ^A AATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCATCGC AGGGTTGTTTATTTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT
6	Udang Tawar DOC 60	ATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAG TTTTTTGGAGGTG ^A AATATTTG ^T CTTTTTGCACTTCAGTAGCCATCGC AGGGTTGTTTATTTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTTC TTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGATTGTAGTT GTTGGGACAAGCCTCT

Berdasarkan tabel 6 diatas dapat dilihat bahwa hasil sekuensing udang vaname yang dibudidaya di air laut, payau, dan tawar memiliki urutan DNA yang hampir sama. Terdapat tanda kuning yang ditunjukkan bawa basa dari DNA gen MIH udan vaname mengalami mutasi genetik (perubahan yang terjadi pada materi genetik sehingga menyebabkan perubahan ekspresi) (Jusuf, 2001).

5.3.1. Analisis Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)

Analisis BLAST dari 6 sampel yang diambil dari lokasi yang berbeda (Lamongan, Gresik, dan Situbondo) teridentifikasi sebagai spesies udang vaname (*L. vannamei*) yang diidentifikasi dari *genbank*. Hasil analisis BLAST yang ditunjukkan pada **Tabel 7**. memiliki nilai *Query cover* antara 95-99%, nilai *identity* antara 99-100 dan *E-value* 0.0. Berdasarkan nilai yang diperoleh, artinya sekuen DNA sampel memiliki panjang sekuen yang sama dengan *database* yang ada di *Genbank* 95-99% dengan *E-value* 0.0 dapat disimpulkan bahwa sekuen sampel memiliki tingkat homologi yang sangat tinggi. Informasi dari hasil penelusuran BLAST berupa *Score*, *Query Coverage*, *E-value* dan *Maximum identity*. *Score* adalah jumlah keselarasan semua segmen dari urutan database yang cocok dengan urutan nukleotida. Nilai skor menunjukkan keakuratan nilai penjajaran sekuens berupa nukleotida yang tidak diketahui dengan sekuens nukleotida yang terdapat di dalam *genbank*. Semakin tinggi nilai skor yang diperoleh maka semakin tinggi tingkat homologi kedua sekuens. *Query coverage* adalah persentasi dari panjang nukleotida yang selaras dengan database yang terdapat pada BLAST. *Max identity* adalah nilai tertinggi dari persentasi identitas atau kecocokan antara sekuen *query* dengan sekuen database yang tersejajarkan. Nilai *E-value* merupakan nilai dugaan yang memberikan ukuran statistik yang signifikan terhadap kedua sekuen. Nilai *E-value* yang semakin tinggi menunjukkan tingkat homologi antar sekuens semakin rendah, sebaliknya nilai *E-value* yang semakin rendah menunjukkan tingkat homologi antar sekuens semakin tinggi. Nilai *E-value* bernilai 0 (nol) menunjukkan bahwa kedua sekuens tersebut identik (Claverie dan Notredame, 2003).

Menurut Drancourt *et al.* (2000), homologi urutan yang $\geq 99\%$ menunjukkan bahwa spesies yang dibandingkan merupakan spesies yang sama, sedangkan

homologi $\geq 97\%$ dapat dinyatakan bahwa isolat yang dibandingkan berada pada genus yang sama dan homologi antara 89-93% menunjukkan famili yang berbeda.

Tabel 7. Identifikasi Sampel Menggunakan Analisis BLAST

Sampel	Species outcome	Access code of NCBI	BLAST		
			Query Cover (%)	E-value	Identity (%)
Udang Laut DOC 30	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	99	0,0	100
Udang Laut DOC 60	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	97	0,0	99
Udang Payau DOC 30	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	98	0,0	99
Udang Payau DOC 60	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	95	0,0	99
Udang Tawar DOC 30	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	98	0,0	99
Udang Tawar DOC 60	MIH <i>L. vannamei</i>	DQ412566.1	98	0,0	98

Penggunaan primer spesifik gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH) dalam penelitian ini berhasil mengidentifikasi MIH pada spesies udang vaname (*L. vannamei*) yang dibudidayakan di air laut, payau, dan tawar. Nilai *query cover* dari setiap spesies pada *GenBank* yang memiliki tingkat kesamaan tertinggi dengan sampel penelitian. Hal ini menunjukkan bahwa, *query* dari spesies yang diidentifikasi dalam *GenBank* mencakup seluruh bagian *query* dari sampel penelitian. Berdasarkan hasil penelusuran tersebut, gen target pada *GenBank* yang memiliki tingkat kemiripan tertinggi dengan sekuens sampel penelitian (Untu *et al.*, 2015). Bila kandungan DNA homolog berkisar 60–100% dianggap spesies yang sama, bila memiliki DNA homolog berkisar 20–60% dianggap spesies yang berkerabat dekat, sedangkan bila DNA homolog kurang dari 20% dianggap spesies berbeda (Johnson, 1984). Suatu sekuens DNA dikatakan identik apabila memiliki nilai 91–100% (Yuliani *et al.*, 2017).

Hasil identifikasi ini menemukan bahwa sampel udang vaname berasal dari lokasi yang berbeda, dan teridentifikasi sebagai gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH). Sesuai dengan tujuannya aplikasi molekuler dapat memberikan informasi

yang akurat untuk mengidentifikasi spesies secara molekuler, memberikan informasi taksonomi, dan dapat mengkonfirmasi penamaan spesies (Teletchea, 2009).

5.4. Karakteristik dan Keragaman Gen MIH udang vaname

Gen MIH pada udang vaname dari hasil penelitian menggunakan primer primer spesifik (Chen *et al.*, 2007) menghasilkan panjang sekuen antara 220-250 bp (*base pairs*). Hasil penelitian berbeda dengan MIH *L. vannamei* yang menghasilkan panjang sekuen antara 250-288 bp. Beberapa perbedaan panjang sekuen DNA yang diamplifikasi dikarenakan jenis primer yang digunakan, komposisi dasar primer, ukuran panjang primer, kualitas DNA ditemukan, makanan, keturunan dan lingkungan (Shizuka dan Lyon 2008).

Menurut Chen *et al.*, (2007), fragmen sepanjang 250 bp menggunakan gen MIH udang vaname dapat digunakan sebagai identifikasi spesies, sehingga total sekuen pada sampel penelitian (*L. vannamei*) telah memenuhi syarat untuk identifikasi spesies dan analisis lebih lanjut karena mempunyai panjang sekuen diatas 230 bp. Identifikasi spesies dipengaruhi oleh perbedaan nukleotida, sehingga analisis nukleotida (**Tabel 8**) sangat diperlukan dalam penelitian karena merupakan penyusun sekuen DNA.

Adapun komposisi nukleotida dari Gen MIH pada udang vaname yang diperoleh dari lokasi yang berbeda dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Komposisi Nukleotida udang vaname

<i>MIH L. vannamei</i>	Basa (%)			
	T(U)	C	A	G
Udang Laut DOC 30 (L1)	40,0	16,1	21,5	22,4
Udang Laut DOC 60 (L2)	40,5	16,1	21,5	22,0
Udang Payau DOC 30 (P1)	41,0	15,6	21,0	22,4
Udang Payau DOC 60 (P2)	40,0	16,1	21,5	22,4
Udang Tawar DOC 30 (T1)	40,5	15,6	21,0	22,9
Udang Tawar DOC 60 (T2)	39,5	16,1	22,0	22,4

Hasil analisis komposisi nukleotida pada MIH *L. vannamei* menunjukkan bahwa jumlah rata-rata adenin dan timin ditemukan paling tinggi. sehingga gen MIH dari spesies udang vaname dikategorikan sebagai kelompok kaya A-T (A-T rich). Ikatan hidrogen A-T terdiri dari 2 ikatan hidrogen yang bersifat lebih lemah dibandingkan dengan ikatan hidrogen G-C yang memiliki 3 ikatan hydrogen, sehingga kemungkinan terjadinya mutasi spesies lebih tinggi (Jusuf 2001). Lee and Luo (1997) menyatakan untuk hasil sekuens DNA digambarkan menggunakan alfabet dimana A = adenin, T = timin, C = sitosis dan G = guanin. Terdapat ikatan antar nukleotida dimana untuk ikatan kuat digambarkan G-C karena memiliki 3 ikatan hidrogen, sedangkan untuk ikatan lemah digambarkan A-T dikarenakan hanya memiliki 2 ikatan hidrogen. Dari pernyataan tersebut, dapat disimpulkan bahwa hasil yang didapat kemungkinan terjadinya mutasi gen MIH lebih tinggi.

Tabel 9. Variasi Genetik Gen MIH pada *L. vannamei*

Udang Vaname	Posisi Nukleotida			
	58	66	79	103
GenBank	G	G	C	T
Laut DOC 30 (L1)	.	.	T	.
Laut DOC 60 (L2)	A	.	.	A
Payau DOC 30 (P1)	.	T	T	.
Payau DOC 60 (P2)	A	.	.	.
Tawar DOC 30 (T1)	A	.	.	.
Tawar DOC 60 (T2)	A	T	.	.

Hasil analisis variasi genetik, gen MIH pada udang vaname (*L. vannamei*) yang dibudidaya pada media yang berbeda memiliki basa nukleotida yang berbeda. Pada **Tabel 9** menunjukkan terdapat beberapa pola variasi genetik, yaitu terdapat perubahan sebagian pada pasangan basa nukleotida seperti Guanin menjadi Adenin (G-A), Guanin menjadi Timin (G-T), Cytosin menjadi Timin (C-T), Timin menjadi Adenin (T-A), adanya perubahan basa – basa tersebut diduga terjadi karena suatu mutasi. Berdasarkan sumbernya mutasi yang ditemukan dapat digolongkan menjadi mutasi alami. Mutasi alami adalah mutasi yang terjadi akibat lingkungan yang berubah, tanpa adanya pengaruh dari manusia (Warisno,

1998). Susan dan William (2007), menyatakan bahwa adanya perubahan satu basa purin menjadi satu basa pirimidin atau kebalikannya merupakan mutasi tranversi, sedangkan satu basa purin menjadi satu basa purin atau satu basa pirimidin menjadi satu basa pirimidin merupakan mutasi transisi. Kemudian hal yang sama juga diungkapkan oleh Morihito *et al.* (2017), bahwa transisi merupakan pergantian adenin dengan guanin atau timin dengan sitosin dan tranversi merupakan pergantian adenin dan guanin dengan sitosin dan timin atau sebaliknya.

Berdasarkan pemaparan diatas, didapatkan hasil bahwa terjadi mutasi transisi dan tranversi dimana sampel udang vaname air laut, payau, dan tawar DOC 30 dan DOC 60 dibandingkan dengan sekuens gen MIH udang vaname yang didapatkan dari *GenBank* NCBI dengan kode akses DQ412566.1. Mutasi transisi terletak pada nukleotida ke 58 (L2, P2, T1, T2), 79 (L1, P1), dan mutasi tranversi terletak pada nukleotida ke 66 (P2, T2), 103 (L2).

Perubahan molekul DNA akan menyebabkan organisme berevolusi dan beradaptasi dengan lingkungan baru. Secara alami, perubahan molekul DNA dari organisme dapat terjadi melalui dua cara, yaitu: melalui mutasi dan melalui pertukaran informasi genetik atau DNA antar organisme sejenis melalui peristiwa reproduksi seksual (Morihito *et al.*, 2017).

Semakin besar perbedaan antar spesies mengakibatkan jarak antar spesies semakin jauh. Jarak genetik pada gen MIH udang vaname (*L. vannamei*) dari hasil penelitian dalam bentuk matriks data (**Tabel 10**).

Tabel 10. Variasi Jarak Genetik pada Gen MIH Udang vaname

Udang Vaname	1	2	3	4	5	6
LT DOC 30						
LT DOC 60	0,015					
PY DOC 30	0,005	0,020				
PY DOC 60	0,010	0,005	0,015			
TW DOC 30	0,010	0,005	0,015	0,000		
TW DOC 60	0,015	0,010	0,010	0,005	0,005	

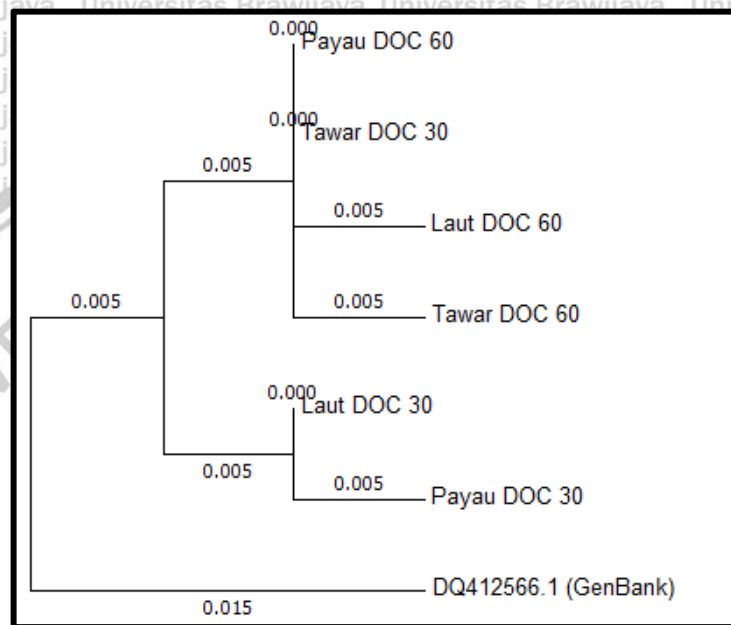
Berdasarkan Tabel 10, jarak genetik pada udang vaname paling tinggi adalah antara udang vaname air laut DOC 60 dan payau DOC 30 yaitu 0,020; dan diikuti oleh udang vaname air laut DOC 60 dan tawar DOC 30 dengan nilai 0,015. Kemudian jarak genetik terdekat diperoleh oleh udang vaname air laut DOC 30 dan air payau DOC 30 dengan nilai sebesar 0,005. Hal tersebut dapat artikan bahwa setiap 1000 pasang basa nukleotida terdapat 5 basa yang berbeda. Menurut Tamura *et al.*, (2011), jarak genetik 0.010-0.099 termasuk dalam kategori rendah, 0.1-0.99 termasuk kedalam kategori sedang dan jarak genetic 1.00-2.00 termasuk ke dalam kategori tinggi.

Dari hasil BLAST gen MIH pada udang vaname memiliki nilai *Query cover* antara 95%-99%, nilai *Identity* antara 99%-100% dan *E-value* 0.0. Berdasarkan hasil analisis BLAST, maka dapat disimpulkan bahwa sekuen DNA gen MIH pada *L. vannamei* memiliki tingkat kemiripan yang sangat tinggi dengan sekuen MIH *L. vannamei* pada *GenBank* dengan kode akses DQ412566.1. Wahyuningsih (2014), mengemukakan bahwa dengan tingkat kemiripan 99-100% dapat dikatakan bahwa spesies identik dan dapat diidentifikasi sebagai spesies tersebut. Claverie dan Notredame (2003) mengemukakan bahwa sekuen DNA dapat dikatakan memiliki homologi jika *E-value* lebih kecil dari $e^{-0.4}$.

Data-data dari matriks jarak genetik pada gen MIH udang vaname digunakan untuk analisis hubungan kekerabatan berdasarkan pohon filogenik. Pohon filogenetik pada penelitian ini digunakan untuk menggambarkan hubungan kekerabatan udang vaname yang dibudidayakan pada media hidup yang berbeda (Situbondo, Lamongan, dan Gresik) yang terbentuk terdiri dari sejumlah nodus (*nodes*) dan cabang (*branches*). Nodus-nodus tersebut mewakili unit-unit taksonomi sedangkan cabang-cabang mewakili hubungan antar unit yang menggambarkan hubungan keturunan dan leluhur. Pola percabangan yang terbentuk dari satu pohon disebut sebagai topologi. Panjang cabang

menggambarkan jumlah perubahan evolusioner yang terjadi antara dua nodus.

Unit-unit taksonomi yang direpresentasikan oleh nodus dapat berupa spesies populasi atau individu. Rekonstruksi filogenetik berdasarkan gen MIH pada udang vaname yang dibudidayakan pada lokasi yang berbeda menggunakan metode Maximum Likelihood Trees model Kimura-2 parameter dan nilai bootstrap 10000 (Tamura *et al.*, 2013) ditunjukkan pada **Gambar 10**.



Gambar 10. Rekonstruksi Filogenetik Udang Vaname Berdasarkan Gen *Molt Inhibiting Hormone* (MIH).

Pohon filogenetik membentuk 3 percabangan. Salah satu percabangan mempunyai nilai 100 yang menunjukkan dengan 10000x *bootstrap* (pengulangan) 100% nya akan membentuk percabangan yang benar. Menurut Brinkman dan Leipe (2002), percabangan pohon filogenetik yang lebih dari 70% merupakan percabangan yang memiliki kebenaran dengan selang kepercayaan 95%.

Hasil dari Pohon filogenetik *Maximum Likelihood* (ML) (Gambar 10) dapat disimpulkan bahwa setelah 60 hari masa pemeliharaan, terjadi perubahan gen MIH pada udang vaname yang dibudidayakan di air laut dan payau, dan sedikit mengalami perubahan gen MIH pada udang vaname yang dipelihara di air tawar.

Menurut Nei (1972), jarak genetik antara 0.010-0.099 termasuk kedalam kategori

jarak genetik yang rendah. Walaupun demikian, telah terjadi perbedaan jarak genetik. Hal tersebut dapat dikatakan bahwa terjadinya mutasi pada udang vaname menyebabkan jarak genetik semakin jauh. Jarak genetik yang terjadi dikarenakan kondisi lingkungan yang berbeda – beda, asal induk yang berbeda serta kondisi organisme lain yang mempengaruhi aktivitas organisme tersebut (Dewi *et al.*, 2013).

5.5. Analisis Pertumbuhan Udang Vaname

5.5.1 Data Rerata Berat Udang Sampling (*Average Body Weight* dan *Average Daily Growth*)

Sampling udang merupakan kegiatan yang harus dilakukan dalam kegiatan budidaya udang. Kegiatan sampling dilakukan karena segala tingkah laku, kondisi dan pertumbuhan udang didalam tambak tidak dapat diamati secara langsung karena terhalang oleh perairan yang menjadi habitatnya. Menurut Cuéllar-Anjel *et al.* (2010), sampling pada budidaya udang vaname dilakukan secara berkala untuk memperkirakan pertumbuhan dan kelangsungan hidup udang serta untuk memperkirakan biomass tambak saat itu. Ada beberapa istilah mengenai kegiatan sampling dalam budidaya udang vaname, yaitu *Average Body Weight* (ABW) (berat rata – rata udang vaname per ekor (gr)), dan *Average Daily Growth* (ADG) (pertambahan berat udang harian dalam satu periode) (Darmawan, 2008).

Berdasarkan data hasil penelitian di lapang, udang vaname yang dibudidaya di 3 tempat berbeda mendapatkan hasil seperti yang terdapat pada **Tabel 11**.

Tabel 11. *Average Body Weight* dan *Average Daily Growth* udang vaname laut, payau, dan tawar DOC 1, DOC 30 dan DOC 60

No.	Umur	Media Budidaya					
		Laut (L)		Payau (P)		Tawar (T)	
		ADG**	ABW*	ADG**	ABW*	ADG**	ABW*
1	DOC 1	0,30	0,30	0,28	0,28	0,20	0,20
2	DOC 30 (1)	0,30	6,45	0,28	6,37	0,20	6,1
3	DOC 60 (2)	0,30	11,21	0,28	11,15	0,20	10,17

*dalam satuan gram

** dalam satuan gr/hari

Berdasarkan Tabel 11 diatas, *Average Daily Growth* (ADG) dan *Average Body Weight* (ABW) udang vaname yang di budidaya di 3 media yang berbeda menunjukkan hasil yang bervariasi. Hasil ADG tertinggi didapat oleh udang vaname laut dengan 0,30 gr/hari dan ABW tertinggi tertinggi didapatkan oleh udang vaname laut dengan 11,21 gram. Hasil yang ditunjukkan dapat dikatakan bahwa udang vaname tumbuh dan berkembang dengan baik. Rata – rata ADG budidaya udang vaname adalah 0,12 – 0,3 gr/hari dan hasil ABW bervariasi berdasarkan jumlah udang vaname yang ada di tambak dan usia udang di tambak yang terus bertambah (Darmawan, 2008; Arsad *et al.*, 2017)

Poin penting dalam budidaya udang vaname adalah dengan memperhatikan lingkungan dalam tambak udang vaname. Karena lingkungan (kualitas air budidaya) sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan udang vaname. Berdasarkan Tabel 11, nilai pertumbuhan paling tinggi adalah udang air laut dan paling rendah adalah udang air tawar. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Araneda *et al.* (2008), bahwa udang vaname yang dibudidayakan di air tawar memiliki laju pertumbuhan yang relatif lebih rendah daripada udang vaname air laut. Atwood *et al.* (2003) dan Sowers *et al.* (2005) menambahkan bahwa udang vaname yang dibudidayakan di air tawar tidak tumbuh seefisien yang di air laut. Kemudian Van Wyk *et al.* (1999), melaporkan bahwa salinitas kurang dari 0,5 ppt membuat udang vaname pada batas fisiologisnya dan menyebabkan sebagian besar energinya digunakan dalam osmoregulasi, sehingga membatasi pertumbuhan dan mencegahnya mencapai ukuran komersial. Perbedaan salinitas tersebut juga mempengaruhi kondisi internal dari udang vaname. Mutasi yang terjadi dapat mempengaruhi laju pertumbuhan udang vaname. Satu saja basa nitrogen yang berubah, dapat mempengaruhi ekspresi gen dalam DNA. Menurut Jusuf (2001), perubahan yang terjadi pada materi genetik sehingga menyebabkan perubahan ekspresi.

5.6. Analisis Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air dilakukan langsung di Lapang. Pengukuran parameter kualitas air dilakukan terhadap tambak budidaya udang vaname di 3 media yang berbeda mendapatkan hasil seperti yang terdapat pada **Tabel 12**. Kualitas air merupakan parameter penting dalam budidaya udang vaname. Menurut Putra dan Abdul (2014), apabila lingkungan (kualitas air) optimal (sesuai dengan kisaran hidup udang) maka pertumbuhan udang akan cepat dan akhirnya tercipta produksi yang maksimal. Untuk hasil lengkap terdapat pada lampiran 2.

Tabel 12. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Air Tambak Udang yang Diuji gen MIH

No.	Parameter Kualitas Air	Desa Peleyan, Kecamatan Panarukan, Kabupaten Situbondo (Laut)	Desa Kedungkandang Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan (Payau)	Desa Raci Tengah, Kecamatan Sidayu, Kabupaten Gresik (Tawar)
1	Suhu (°C)	29,3 – 30,8	28 – 31,1	28,3 – 30,1
2	pH	6,3 – 8,4	6,8 – 8,3	6,1 – 8,0
3	Oksigen terlarut (mg/l)	3,6 – 6	3,7 – 6,36	3,6 – 6,3
4	Salinitas (ppt)	29,8 – 31	15 – 20	0,2 – 2

a. Suhu

Berdasarkan hasil penelitian tentang suhu di lapang, suhu antara tambak di Situbondo, Lamongan, dan Gresik berkisar antara 26,8°C – 31,1°C. Pada saat pengukuran suhu di tiga lokasi penelitian, cuaca sedang cerah tidak tertutup awan.

Suhu tersebut dapat dikatakan suhu optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan udang vaname.

Menurut Badan Standarisasi Nasional (2014), suhu optimal untuk budidaya udang vaname adalah berkisar antara 28 – 33°C. Batas suhu paling tinggi yang dapat ditoleransi udang vaname adalah sekitar 35°C. Diluar suhu optimal, udang tidak akan tumbuh dengan baik bahkan akan mengalami stress (Panjaitan, 2012).

b. Derajat Keasaman (pH)

Berdasarkan hasil penelitian tentang derajat keasaman (pH) di 3 lokasi pengambilan sampel udang vaname, menunjukkan bahwa pH berada dibawah persyaratan pH untuk budidaya udang vaname, yaitu antara 6,3 – 7,4. Menurut Badan Standarisasi Nasional (2014), pH optimal untuk budidaya udang vaname adalah 7,5 – 8,5.

Derajat keasaman (pH) memiliki peranan penting bagi kehidupan udang.

Derajat keasaman perairan dapat berpengaruh terhadap proses dan kecepatan reaksi kimia dalam air dan reaksi biokimia dalam tubuh udang (Suwarsih *et al.*, 2016). Nilai pH dalam perairan dapat berubah – ubah. Mulai dari 6,6 menjadi 10,2 karena adanya proses fotosintesis tumbuhan karena menyerap karbondioksida pada siang hari dan organisme perairan mengeluarkan (lebih banyak karena fotosintesis terhenti pada malam hari) karbondioksida pada malam hari. (Han *et al.*, 2018).

c. Oksigen Terlarut

Peran oksigen dalam tambak udang sangatlah penting. Apabila kebutuhan oksigen dalam tambak tidak tercukupi, maka kemungkinan terburuk adalah mengalami kematian massal. Seperti yang telah diketahui, udang merupakan organisme dengan kebutuhan oksigen yang tinggi. Pada tambak tersebut telah menerapkan sistem budidaya intensif dengan padat tebar tinggi dan pemberian pakan yang tinggi. Oksigen pada tambak udang vaname tersebut tetap pada nilai optimal karena dibantu oleh kincir air. Keberadaan kincir air sangat penting khususnya pada tambak intensif agar suplai oksigen tetap terjaga.

Pada penelitian ini, kadar oksigen terlarut pada masing – masing tambak sudah memenuhi persyaratan minimum (tercukupi) dengan nilai 3,6 – 6,36 mg/l. Menurut Badan Standarisasi Nasional (2014), bahwa kadar oksigen terlarut yang optimal untuk pertumbuhan udang adalah >3,5 mg/l.

d. Salinitas

Berdasarkan hasil penelitian, salinitas pada tambak di Situbondo memiliki nilai 29,8 – 31 ppt, tambak di Lamongan memiliki nilai kisaran 15 – 20 ppt, dan tambak di Gresik memiliki nilai 0,5 – 2 ppt. Udang vaname diketahui memiliki rentang toleransi salinitas yang luas, oleh karena itu pada salinitas rendah udang vaname dapat bertahan hidup. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Zhang *et al.*, (2016), bahwa udang vaname memiliki kemampuan osmoregulasi yang baik, karena sifatnya yang *euryhaline* (memiliki toleransi terhadap salinitas yang luas).

Udang vaname dapat bertahan hidup pada salinitas di bawah 0,5 ppt dan di atas 35 ppt. Akan tetapi udang vaname tumbuh optimal pada salinitas 22 – 25 ppt.

Salinitas pada tambak berpengaruh terhadap frekuensi *molting* pada udang vaname. Menurut Buwono (1993), salinitas yang terlalu tinggi dapat menghambat terjadinya moulting udang. Sebaliknya, salinitas antara 5-10 mg/l dapat mempercepat *molting*, akan tetapi udang sensitif terhadap serangan penyakit.

6. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- Karakter Molekuler dari gen MIH udang vaname dari sampel udang vaname yang budidaya di air laut, payau, dan tawar teridentifikasi sebagai gen MIH pada udang vaname dengan *Query cover* antara 95-99%, nilai *identity* antara 99-100 dan *E-value* 0.0. Berdasarkan hasil elektroforesis, gen MIH ditemukan pada *basepair* 212 – 237.
- *Average Daily Growth* (ADG) tertinggi didapat pada udang vaname laut dengan 0,30 gr/hari dan *Average Body Weight* (ABW) tertinggi tertinggi didapatkan oleh udang vaname laut dengan 11,31 gram.
- Terjadi mutasi pada udang yang dipelihara di air laut, payau, dan tawar. Mutasi transisi terletak pada nukleutida ke 58 (Laut, Payau, dan Tawar), dan mutasi transversasi terletak pada nukleutida ke 66 (Payau, Tawar), 103 (Laut).

6.2. Saran

Adapun saran yang dapat diberikan adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai gen MIH udang vaname. Penelitian menggunakan ruangan dan wadah yang terkontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Arsad, S., A. Afandy, A. P. Purwadhi, B. Maya, D. K. Saputra, N. R. Buwono. 2017. Studi Kegiatan Budidaya Pembesaran Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Dengan Penerapan Sistem Pemeliharaan Berbeda. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 9 (1): 1-14 (ISSN: 2085-5842)
- Badan Standarisasi Nasional. 2014. Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931). SNI 8037.1: 1–11.
- Brinkman, F. S. and Leipe, D. D. 2002. Phylogenetic Analysis. In *Bioinformatics* (eds A. D. Baxeavanis and B. F. Ouellette). doi:10.1002/0471223921.ch14
- Buwono, I. D. 1993. *Pedoman Udang Windu Sistem Pengelolaan Berpola Intensif*. Kanisius, Yogyakarta
- Carbajal-Hernández, J.J., Sánchez-Fernández, L.P., Villa-Vargas, L.A., Carrasco-Ochoa, J.A. dan Martínez-Trinidad, J.F. 2013. *Water quality assessment in shrimp culture using an analytical hierarchical process. Ecological Indicators*.
- Chang, X., Li, E., Liu, Y., Wang, X., Qin, J.G. dan Chen, L. 2017. Comparative proteome analysis of the hepatopancreas from the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* under long-term low salinity stress. *Journal of Proteomics*, 162: 1–10.
- Chang, E dan Mykles, D. 2011. Regulation of crustacean molting: A review and our perspectives. *General and comparative endocrinology*. 172. 323-30. 10.1016/j.ygcen.2011.04.003.
- Claveire, J.M. and C. Notredame. 2003. *Bioinformatics for Dummies*. Wiley Publishing, Indianapolis.
- Chen, H.Y., Douglas Watson, R., Chen, J.C., Liu, H.F. dan Lee, C.Y. 2007. Molecular characterization and gene expression pattern of two putative molt-inhibiting hormones from *Litopenaeus vannamei*. *General and Comparative Endocrinology*, 151(1): 72–81.
- Darmawan, B. D. 2008. Pengaruh Pemupukan Susulan Terhadap Kualitas Media Dan Proses Budidaya Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Pada Tambak Tradisional Plus. *Akuatik-Jurnal Sumberdaya Perairan*. 4 (2) ISSN 1978 -1652
- Dewi, I.S., Y. Arisanti., B. S purwoko., Hariyadi dan M. Syukur. 2013. Keragaman Genetik Beberapa Genotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Berdaya Hasil Tinggi Berdasarkan Karakter Morfologi, Agronomi, dan Isozim. *Jurnal Agrobiogen*. 9(1): 28-38
- Drancourt M., C. Bollrt, A. Carlioz, R. Martelin, J.P. Gayral, and Rault. 2000. 16S Ribosomal DNA Sequence Analysis of Enviromental and Clinical Unidentifiable Bacterial Isolates, *Journal Clinical Microbiology*, pp. 3623-3630.
- Fajriani, B., A. Budiharjo dan S. Pujiyanto. 2018. Isolasi dan identifikasi molekuler bakteri antagonis terhadap *Vibrio parahaemolyticus* patogen pada udang *L. vannamei* dari produk probiotik dan sedimen mangrove di Rembang. *Jurnal Biologi*. 7(1): 52-63.

- Fatchiyah, E. L., Arumiagtyas, S. Widyarti, S. Rahayu. 2009. Dasar – dasar analisa Biologi Molekuler. Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya Malang. 235 hlm
- Gao, W., Tian, L., Huang, T., Yao, M., Hu, W. dan Xu, Q. 2016. Effect of salinity on the growth performance, osmolarity and metabolism-related gene expression in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Reports*, 4: 125–129. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.09.001>.
- Hamdi, A. S. dan E. Bahrudin. 2015. Metode Penelitian Kuantitatif: Aplikasi dalam Pendidikan. Deepublish Yogyakarta. 168 hlm.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Han, S. yin, Wang, B. jie, Liu, M., Wang, M. qiang, Jiang, K. yong, Liu, X. wei dan Wang, L. 2018. *Adaptation of the white shrimp L. vannamei to gradual changes to a low-pH environment. Ecotoxicology and Environmental Safety.*
- Hernández, M., Bückle R., L.F., Palacios, E. dan Barón S., B. 2006. Preferential behavior of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) by progressive temperature-salinity simultaneous interaction. *Journal of Thermal Biology*, 31(7): 565–572.
- Hosamani, N., S. B. Reddy, and R. P. Reddy. 2017. Crustacean molting: Regulation and effect of environmental toxicant. *Journal of Marine Science: Research and Development*. 7(5): 1-8
- Irmawati. 2003. Perubahan Keragaman Genetik Ikan Kerapu Tikus Generasi Pertama Pada Stok *Hatchery*. Thesis. Bogor: IPB.
- Ismail A. 1991. Pengaruh rangsangan hormon terhadap perkembangan gonad individu betina dan kualitas telur udang windu *Penaeus monodon*. *Disertasi*. Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Iqbal, M., I. D. Buwono dan N. kurniawati. 2016. Analisis perbandingan isolasi DNA untuk deteksi white spot syndrome virus (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Perikanan Kelautan*. 7(1):54-65.
- Johnson, S.K. 1995. Handbook of Shrimp Diseases. Departemen of Wildlife and Fisheries Science Texas A&M University. p 20.
- Jusuf, M. 2001. Genetika I: Struktur dan Ekspresi Gen. Jakarta (ID): Sagung Seto
- Kumaraswamy Naidu, C., Suneetha, Y. dan Sreenivasula Reddy, P. 2013. Computational analysis of molt-inhibiting hormone from selected crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part D: Genomics and Proteomics*, 8(4): 292–299. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbd.2013.08.004>.
- Lee, W and Luo L. 1997. Periodicity of base correlation in nucleotide sequence. *Physical Review E*. 56. 848-851.
- Lemey, P., Marco, S., Anne, M. V. 2009. The phylogenetic handbook: A practical approach to phylogenetic analysis and hypothesis testing. United States of America: Cambridge University Press.

- Li, E., Chen, L., Zeng, C., Chen, X., Yu, N., Lai, Q. dan Qin, J.G. 2007. *Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, L. vannamei, at different salinities. Aquaculture*, .
- Martin, L., Castillo, N.M., Arenal, A., Rodriguez, G., Franco, R., Santiesteban, D., Sotolongo, J., Forrellat, A., Espinosa, G., Carrillo, O. dan Cabrera, H. 2012. *Ontogenetic changes of innate immune parameters from eggs to early postlarvae of white shrimp L. vannamei (Crustacea: Decapoda). Aquaculture*, .
- Morihito, R. V. S. A., S. E Chungdinata and T. A. Nazareth. 2017. Identification of changes of dna structures on cancer cell form using graph decomposition. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17 (2): 153-160.
- Mulyadi, G. K., I. B. D. Buwono, dan U. Subhan. 2017. Analisis kekerabatan genetik hibrid ikan nilem (*Osteochilus hasselti*) dan ikan mas (*Cyprinus carpio* L) menggunakan PCR-RAPD. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*. 8(1): 42- 47.
- Nakatsuji, T., Lee, C.Y. dan Watson, R.D. 2009. Crustacean molt-inhibiting hormone: Structure, function, and cellular mode of action. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 152(2): 139–148. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.10.012>.
- NCBI. 2011. The BLAST sequence analysis tool. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Ohira, T., Nishimura, T., Sonobe, H., Okuno, A., Watanabe, T., Nagasawa, H., Kawazoe, I. dan Aida, K. 1999. *Expression of a recombinant molt-inhibiting hormone of the kuruma prawn Penaeus japonicus in Escherichia coli. Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, Tersedia di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10540746>.
- Panjaitan, A.S. 2012. *Pemeliharaan Larva Udang Vaname (L. vannamei, Boone 1931) dengan Pemberian Jenis Fitoplankton yang Berbeda*. Program Magister Ilmu Kelautan dan Perikanan. Universitas Terbuka.
- Sambrook, J., and Russell, R.W. 2001. *Molecular cloning: A laboratory manual*, 3rd ed. Cold spring harbor laboratory press, cold spring harbor, N.Y.
- Sefiani, M., Le Caer, J.P. dan Soyez, D. 1996. Characterization of hyperglycemic and molt-inhibiting activity from sinus glands of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. *General and Comparative Endocrinology*, .
- Siahainenia L, 2008. *Bioteknologi Kepiting Bakau (Scylla serrata) di Ekosistem Mangrove Kabupaten Subang Jawa Barat. Disertasi*. Institut Pertanian Bogor : Bogor.
- Silva, E., Calazans, N., Soares, M., Soares, R. dan Peixoto, S. 2010. *Effect of salinity on survival, growth, food consumption and haemolymph osmolality of the pink shrimp Farfantepenaeus subtilis (Pérez-Farfante, 1967). Aquaculture*, .
- Shizuka, D. and B.E. Lyon. 2008. Improving the reliability of molecular sexing using a W-specific marker. *Molecular Ecology Resources* (8): 1249-1253

Subaidah, S., Carman, O., Sumantadinata, K., Sukenda, S. dan Alimuddin, A. 2012. *Respons pertumbuhan dan ekspresi gen udang vaname, L. vannamei setelah direndam dalam larutan hormon pertumbuhan rekombinan ikan kerapu kertang*. *Jurnal Riset Akuakultur*, Tersedia di <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/jra/article/view/820>.

Suharsono dan Widyastuti. 2006. *Pelatihan Singkat Teknik Dasar Pengklonan Gen*. Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi – Lembaga Penelitian Dan Pemberdayaan Masyarakat IPB Dengan DIKTI – DIKNAS. Bogor.

Supriyono, E., Purwanto dan Utomo, N.B.P. 2006. *Produksi tokolan udang vaname (Litopenaeus vannamei) dalam hapa dengan padat penebaran yang berbeda*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 5: 57–64.

Susan, L. E. dan Wiliam, D. S. 2007. *Genetika Edisi Keempat*. Penerbit Erlangga. Jakarta. 20 hlm.

Suardi, T. dan Nawang, A. 2012. *Respons Yuwana Udang Vaname (L. vannamei) Pada Tingkat Salinitas Yang Berbeda*. *Prosiding Indoaqua*,

Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.

Tan, S. C., dan Yiap, B. C. 2009. Review : DNA, RNA, and Protein Extraction: The past and the present. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* : 10p.

Taukhid dan Yani Lestari Nur'aini 2009. *Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) in Pacific white shrimp (L. vannamei) in Indonesia*. *The Israeli Journal of Aquaculture*,

Teletchea, F. 2009. Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. *Rev Fish Biol Fisheries*. 19:265–293.

Untu, P., I. F.M. Rumengan and E. L. Ginting. 2015. Identification of the co-exist microbial with ascidian *Lissoclinum patella* by using 16S rRNA gene sequences. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2 (1) :23-33.

Van Wyk, P., M. Davis-Hodgkins, R. Laramore, K.L. Main, J. Mountain, and J. Scarpa. 1999. *Production of Marine Shrimp in Freshwater Recirculating Aquaculture Systems*, Florida Department of Agriculture and Consumer Services. Bob Crawford. Tallahassee, Florida. 220 pages

Varsamos, S., Nebel, C. dan Charmantier, G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 141(4 SPEC. ISS.): 401–429.

Warisno. 1998. *Jagung Hibrida*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 41 hlm.

Watson, R.D., Lee, K.J., Qiu, S., Luo, M., Umphrey, H.R., Roer, R.D. dan Spaziani, E. 2001. Molecular Cloning, Expression, and Tissue Distribution of Crustacean Molt-inhibiting Hormone. *Oxford Journals*, 41: 407–417.

Weeden, N.F., Timmerman, G.M., Hemmat, M., Kneen, B.E., and Lodhi, M.A. 1992. Mapping in woody plants with RAPD markers: Application to breeding in forestry and horticulture. *In*: Application of RAPD Technology to Plant Breeding. Joint Plant Breeding Symposia Series, November 1, 1992, Minneapolis, MN. Crop Science Society of America, Madison, WI. pp. 41-43

Wijayanto, D., Nursanto, D.B., Kurohman, F. dan Nugroho, R.A. 2017. Profit maximization of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) intensive culture in Situbondo Regency, Indonesia. *Aquaculture, Aquarium, Conservation dan Legislation Bioflux*, 10(6): 1436–1444. Tersedia di <http://www.bioflux.com.ro/docs/2017.1436-1444.pdf>.

Yuliani, Y., A. Yuniaty dan A. H. Susanto. 2017. Variasi sekuens DNA yang diamplifikasi menggunakan primer atpB-rbcL pada beberapa kultivar kacang tanah. *Scripta Biologica*. 4(1): 11-14.

Zhang, D., Wang, F., Dong, S. dan Lu, Y. 2016. De novo assembly and transcriptome analysis of osmoregulation in *Litopenaeus vannamei* under three cultivated conditions with different salinities. *Gene*, 578(2): 185–193. Tersedia di <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2015.12.026>.



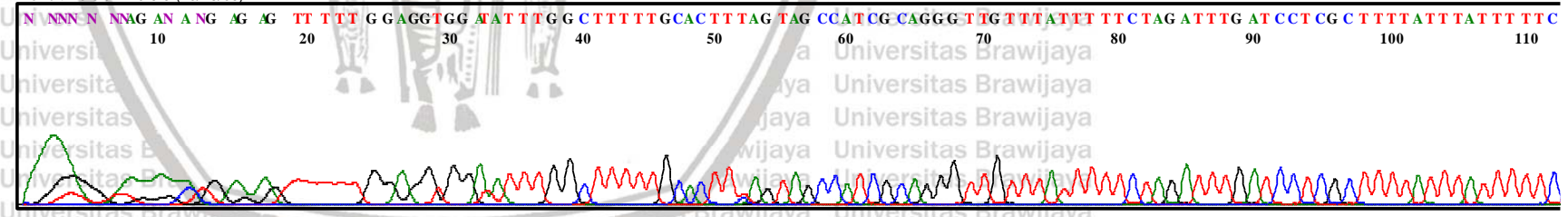
Lampiran 1
Kromatogram udang vaname laut DOC 30



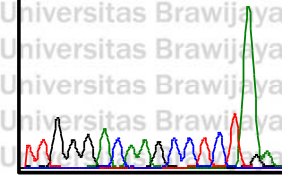
BioEdit Version 7.0.5.3 (10/28/05)

Model 3730 File: 1st_BASE_3426998_C6_C_F.ab1
 KB.bcp BIF
 6258000-04 6258002-04 6258003-04 6258005-00
 Lane 91

Signal G:1103 A:1129 T:1475 C
 KB_3730_POP7_BDTv3.mob
 ?? no 'MTXF' field
 Points 1919 to 18361



TTGGG ACAAG CCTCTAA
 60 170



TTATTATACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGGATATTTGGCTTTTTGCACTTTAGTAGCCA
 TCGCAGGGTTGTTTATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTCTTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
 TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

LAMPIRAN

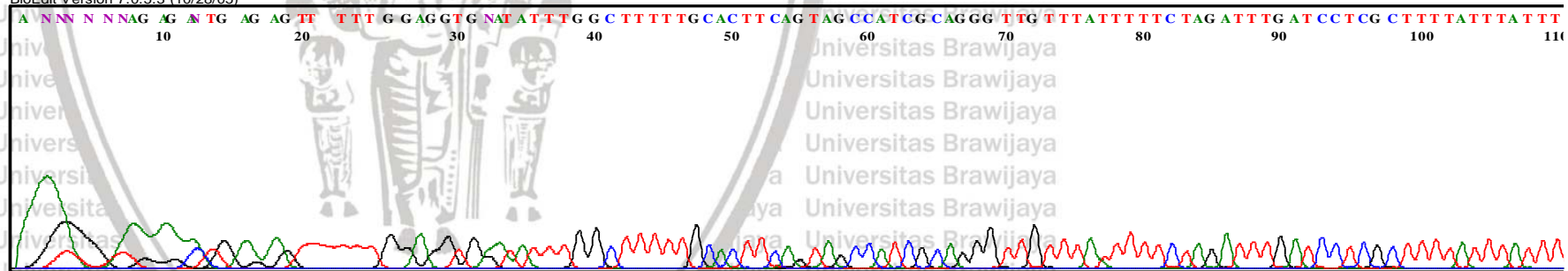
Kromatogram udang vaname laut DOC 60



BioEdit version 7.0.5.3 (10/28/05)

Model 3730
KB.bcp
6258000-04 6258002-04 6258003-04 6258005-00
File: LAUT DOC 60.ab1
BIF
Lane 40

Signal G:2430 A:2531 T:4046 C
KB_3730_POP7_BDTv3.mob
?? no 'MTXF' field
Points 1987 to 18361



T T G T T G G G A C A A G C C T C T A
160 170



TTATTATACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGAATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCA
TCGCAGGGTTGTTTAATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTCTTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

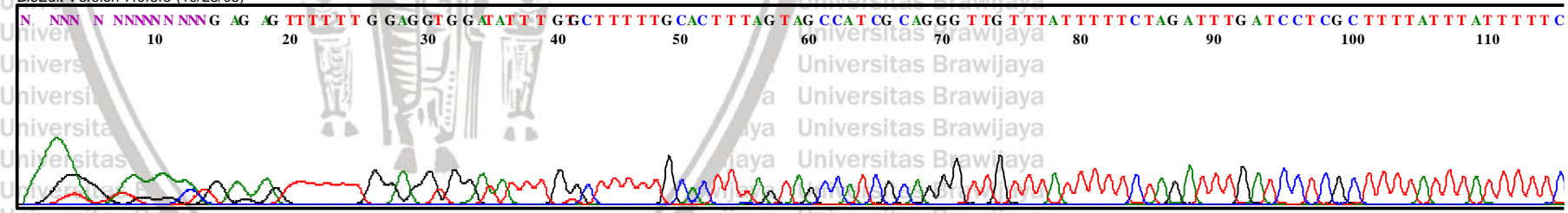
Kromatogram udang vaname payau DOC 30



Model 3730
KB.bcp
6258000-04 6258002-04 6258003-04 6258005-00
Lane 80

File: 1st_BASE_3427002_C8_C_F.ab1

Signal G:522 A:564 T:562 C:35
KB_3730_POP7_BDTv3.mob
?? no 'MTXF' field
Points 1895 to 16768



G T T G G G A C A A G C C T C T A A
170

TTATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGGATATTTGTCTTTTTGCACTTTAGTAGCCA
TCGCAGGGTTGTTTATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTATTTATTTTCTTCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

Kromatogram udang vaname payau DOC 60

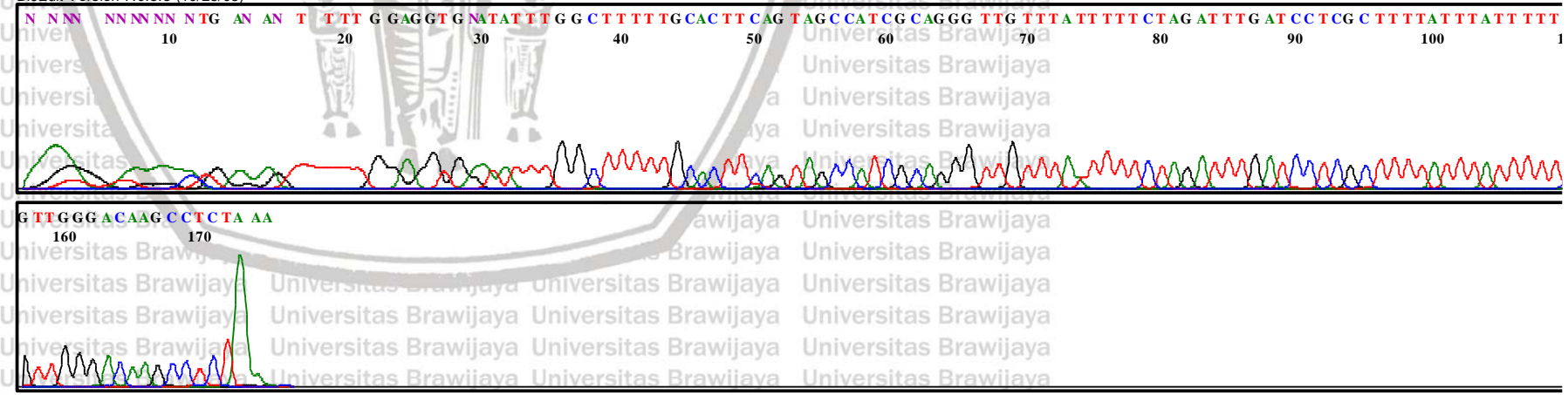


BioEdit version 7.0.5.3 (10/28/05)

Model 3730
 KB.bcp
 6258000-04 6258002-04 6258004-04 6258005-00
 Lane 96

File: 1st_BASE_3427004_C9_C_F.ab1
 BIF

Signal G:1689 A:1287 T:1862 C
 KB_3730_POP7_BDTv3.mob
 ?? no 'MTXF' field
 Points 2009 to 18361



TTATTATACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGAATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCA
 TCGCAGGGTTGTTTATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTATTTATTTTCTTCCTCTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
 TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

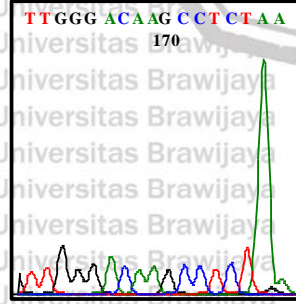
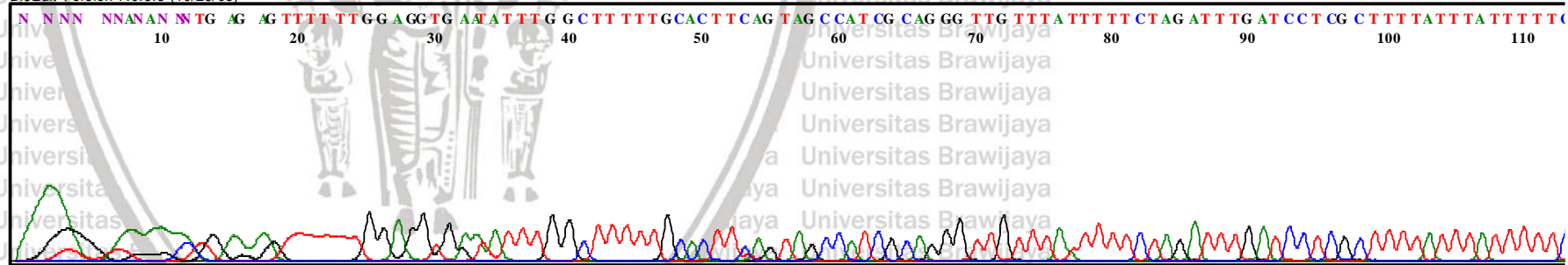
Kromatogram udang vaname tawar DOC 30



BioEdit version 7.0.5.3 (10/28/05)

Model 3730 File: 1st_BASE_3427006_C10_C_F.ab1
 KB.bcp BIF
 6258000-04 6258002-04 6258006-04 6258005-00
 Lane 92

Signal G:1668 A:1496 T:2062 C
 KB_3730_POP7_BDTV3.mob
 ?? no 'MTXF' field
 Points 1972 to 18361



TTATTATACACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGAATATTTGGCTTTTTGCACTTCAGTAGCCA
 TCGCAGGGTTGTTTATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTCTTCTCCTCTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
 TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

Kromatogram udang vaname tawar DOC 60

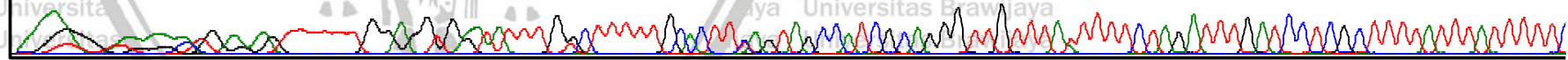


BioEdit version 7.0.5.3 (10/28/05)

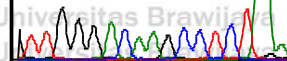
Model 3730 File: 1st_BASE_3427008_C11_C_F.ab1
 KB.bcp BIF
 6258000-04 6258002-04 6258003-04 6258005-00
 Lane 88

Signal G:937 A:762 T:1057 C:6
 KB_3730_POP7_BDTv3.mob
 ?? no 'MTXF' field
 Points 1921 to 18361

C N NNN NANN NN A NG AG AG TTTT T T G GAGGTG NATAT T T G C T T T T T G C A C T T C A G T A G C C A T C G C A G G G T T G T T T A T T T T C T A G A T T T G A T C C T C G C T T T T A T T T A T T T T T C



TTGGG ACAAG CCTCTAA
 170



TTATTATACTCATGTATCGGCTGGCAATGGTAAGAGACTGAGAGTTTTTTGGAGGTGAATATTTGTCTTTTTGCACTTCAGTAGCCA
 TCGCAGGGTTGTTTATTTTCTAGATTTGATCCTCGCTTTTATTTATTTTTCTTCCTCTTCGTTGCAGAAGACATGGCTAGCTATAGTGA
 TTGTAGTTGTTGGGACAAGCCTCTAA

LAMPIRAN 2

Data Kualitas Air

- Tambak Udang Air Tawar

Hari ke	pH	Suhu	DO
1	7	4,3	27,6
2	7,6	4,4	27,5
3	7,2	4,5	26,9
4	6,6	5	26,8
5	6,8	5,6	28,1
6	6,7	5,7	28,5
7	6,9	4,7	28,7
8	7,4	5,6	28,5
9	7,4	4,7	28,7
10	7,2	4,7	28,7
11	7,2	4,5	28,5
12	6,4	4,9	28,8
13	6,7	5,2	28,7
14	7,4	4,5	29,2
15	6,8	4,6	28,9
16	6,5	4,5	29
17	7,3	4,4	29,4
18	7,2	3,9	29,4
19	6,1	3,8	29,2
20	6,4	4	29,6
21	6,8	4,5	28,5
22	7,1	4,7	29,3
23	6,1	3,6	28,8
24	7,1	3,9	28,6
25	7,1	4,4	29
26	6,9	3,9	28,9
27	7	3,9	28,7
28	7	3,9	28,5
29	6,9	3,6	29,3
30	6,8	3,6	28,9

Hari ke	pH	Suhu	DO
31	7,1	4,9	29
32	7,3	4,4	29
33	7,2	5,8	29,8
34	7,6	3,8	29,4
35	7,6	4,6	28,6
36	6,9	4,6	28,7
37	7,2	6,3	29
38	7,6	3,6	28,2
39	6,9	4,5	29
40	7	3,6	28,4
41	7,2	3,6	28,7
42	7,2	5,1	28,7
43	7,5	3,9	28,8
44	6,9	3,8	28,1
45	6,8	3,8	27,6
46	6,4	3,6	27,7
47	6,9	4,6	28,5
48	6,7	4,8	28,5
49	6,4	3,9	28,3
50	7	3,7	28,5
51	6,4	4,4	28,1
52	7,5	4,7	27,6
53	7,1	5	28,1
54	7	4,8	28,6
55	7,2	4,6	27,6
56	7	4,1	29,7
57	7,3	3,9	27,5
58	8	3,9	28,5
59	7	4	30,1
60	7	5	30

- Tambak Udang Air Payau

Hari ke	pH	Suhu	DO
1	6,8	5,46	27,6
2	7,6	4,04	27,3
3	6,7	5,12	27
4	6,8	5,89	26,7
5	6,9	5,23	26,6
6	6,9	5,36	27,9
7	6,9	5,12	28,8
8	7	5,52	28,7
9	7,3	6,36	28,4
10	7,3	5,43	28,1
11	7,5	5,89	28,7
12	6,7	5,49	28,5
13	7,1	5,38	28,2
14	7,8	4,7	28,8
15	7,3	4,8	28,9
16	7	4,5	28,9
17	7,3	5	28,9
18	7,9	5,1	29,1
19	6,8	3,9	29,3
20	6,5	3,99	29,5
21	7,3	5	29,5
22	7,2	4,4	29,5
23	6,5	4,1	28,7
24	7,5	4,6	28,1
25	7,6	4,6	28,6
26	7,1	3,7	28,8
27	7,2	3,9	28,6
28	7,4	4,8	28,7
29	6,9	3,7	29,6
30	7	3,7	29,2

Hari ke	pH	Suhu	DO
31	7,3	4,7	28,8
32	6,7	4,5	28,2
33	7,4	5,8	29,7
34	8,2	3,8	29,5
35	8,3	4,8	28,7
36	7	4,1	29,1
37	7,5	5,52	29,7
38	7,5	4,5	28
39	6,5	4,8	28,9
40	6,8	4	28,4
41	6,9	4,8	28,7
42	6,9	5,4	28,7
43	7,4	4,3	29,2
44	7,2	3,9	28,2
45	7,6	4,71	27,7
46	6,3	3,8	27,7
47	6,8	5,3	28,6
48	6,9	4,4	28,7
49	6,9	3,9	28,3
50	7,1	4,4	28,4
51	6,9	3,8	28,9
52	8,1	3,8	27,6
53	7,4	5,6	28,2
54	7	4,4	28,1
55	7,2	4,3	27,5
56	7	4,3	27,5
57	7,4	4,71	28,7
58	7,6	3,8	27,5
59	7,1	4,4	28,6
60	7,7	5,52	28,7

- Tambak Udang Air Laut

Hari ke	pH	Suhu	DO
1	7	3,9	27,8
2	7,2	4,2	27,6
3	6,6	4,3	27,1
4	6,6	5,3	26,9
5	6,8	5,1	27
6	6,9	5,3	28,3
7	7,1	5	28,9
8	7,1	5,3	28,9
9	7,5	5,4	29,1
10	7,6	4,7	28,9
11	7,1	5,2	28,9
12	6,7	5,2	28,6
13	6,8	5,5	28,2
14	7,4	4,7	29,1
15	6,8	5	28,8
16	6,6	4,6	28,9
17	7,4	4,9	29,3
18	7,1	6	28,9
19	6,3	5,2	29,7
20	6,5	4,2	29,8
21	6,6	4,6	28,9
22	7,3	4,3	2,9
23	6,5	4	28,4
24	7,2	4,6	28,9
25	6,6	4,1	28,7
26	6,9	3,9	29,1
27	7,3	3,6	28,3
28	6,6	4,3	28,9
29	6,8	4,6	29,4
30	7	4,6	29,2

Hari ke	pH	Suhu	DO
31	6,9	5,4	28,7
32	6,5	4,8	28,7
33	7,2	5,6	29,4
34	7,4	4,3	29
35	6,4	5,4	28,1
36	6,7	3,9	28,6
37	7,6	5,5	28,8
38	7,5	4,3	28,4
39	7	4,3	29,4
40	6,8	3,6	28,5
41	6,8	4,3	28,8
42	7,1	4,5	28,6
43	7,5	3,6	29,2
44	6,9	3,9	28,1
45	6,7	3,7	27,6
46	6,4	3,9	27,9
47	7,1	4,3	28,8
48	7	4,4	29,3
49	6,4	4	29,9
50	6,8	4	30,2
51	6,4	4,4	28,5
52	7,3	3,9	27,8
53	7,2	5,1	27,8
54	7	5	28,4
55	7,2	5,1	28,3
56	6,4	3,9	27,8
57	6,6	3,9	28,9
58	8,4	4,3	28,1
59	7,4	4,5	28,6
60	6,6	4,5	28,7