

TINGKAT PREVALENSI PARASIT *Perkinsus* sp. TERHADAP KERANG DI TELUK JAKARTA

Armen Nainggolan

Jurusan Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Satya Negara Indonesia

Jln. Arteri Pondok Indah n0.11 Jakarta 12240

E-mail: tufikan@yahoo.com

ABSTRACT: Perkinsiosis is a disease caused by the protozoan parasite *Perkinsus* sp. that can infect shellfish, especially bivalve molluscs, in various parts of the world. Molecular identification and prevalence of *Perkinsus* sp. parasitism in shellfish traded in Jakarta, especially green mussel (*Perna viridis*), blood cockle (*Anadara granosa*) and blood clam (*Anadara inflata*) were collected from TPI Muara Angke, TPI Muara Kamal, TPI Muara Baru and TPI Cilincing. Established from gill and mantle fragment examined with Polymerase Chain Reaction (PCR) test. The primer of *Perkinsus* genus is PerkITS-85 forward 5'CCG GAT TTG CTT TGT CCC 3' and PerkITS-750 reverse 5'ACA TCA CTT GGC CTA ATG ATG 3'. The extraction and amplification reagent used Promega Kit. Results of PCR showed the presence of *Perkinsus* sp. in blood cockle and blood clam from TPI Muara Angke, TPI Muara Kamal, TPI Muara Baru and TPI Cilincing on the 703 bp of electrophoresis product. The highest prevalence of *Perkinsus* sp. in blood clam (*Anadara inflata*) located in TPI Muara Angke are 46 % followed by TPI Muara Kamal 34 %, TPI Muara Baru 34 % and TPI Cilincing 32 %. The highest prevalence of *Perkinsus* sp. in blood cockle (*Anadara granosa*) located in TPI Muara Kamal are 50 % followed by TPI Muara Angke 43 %, TPI Cilincing 32 % and TPI Muara Baru 26 %.

Key words: *Polymerase Chain Reaction, Anadara granosa, Anadara inflata, Perna viridis, Perkinsus* sp.

PENDAHULUAN

Perkinsiosis adalah penyakit kerang yang disebabkan oleh parasit protozoa pada *Perkinsus* sp. Perkinsiosis telah ditemukan pada beberapa jenis kerang tiram (*oyster*), kerang (*clam*), kerang *abalone* dan kerang *scallop*. Insang dan mantel merupakan organ target *Perkinsus* sp. (Choi & Park, 2010) dikarenakan berhubungan langsung dengan air laut dan dilihat dari cara kerang-kerangan mengambil makanannya dengan menyaring partikel-partikel yang ada di dalam air laut atau filter feeder (Nontji, 1987).

Pada tahun 2012, hasil tangkapan perikanan meningkat hingga 92.458.055 ton dan hasil tangkapan kerang-kerangan diperkirakan mencapai 3 % (2.889.006 ton). Sekitar 56 % hasil tangkapan kerang-kerangan dunia berasal dari benua Asia, pada umumnya berasal dari China, Jepang dan Vietnam (FAO, 2014). Produksi tiram mencakup 90 % dari produksi kerang-kerangan yang ada di dunia (Choi & Park, 2010). Faktor lingkungan yang berpengaruh dalam perkembangan parasit *Perkinsus* sp. adalah suhu dan salinitas yang tinggi. Infeksi ini akan semakin meningkat pada akhir musim kemarau di wilayah estuaria (Soniati, 2012).

Persebaran perkinsiosis berada di daerah perairan pantai seluruh dunia, termasuk lautan Atlantik, laut Mediterania dan lautan Pasifik Selatan. Spesies pertama yang berhasil ditemukan pada *Perkinsus* sp. berawal dari sebuah penelitian pada tahun 1946 tentang penyebab kematian massal pada tiram di Louisiana (Teluk Meksiko, Amerika Serikat). Akibat dampak ekonomi yang berimbas pada budidaya moluska ini di mana tingkat kematian massal mencapai 50 % pada tiram dewasa, beberapa peneliti bergabung untuk mencari penyebab kematian massal ini. 2 tahun kemudian, John Mackin, Malcolm Owen dan Albert Collier telah menemukan *Dermocystidium marinum* yang sekarang disebut *Perkinsus marinus* (Villalba, et al., 2004). Di Australia pada survey dari beberapa penyakit parasit dan beberapa species kerang di Australia Barat Utara terhadap penyakit organisme akuatik ditemukan keberadaan *Perkinsus olseni* pada kerang dari *Anadara trapezia* dan banyak jenis molusca lainnya termasuk *Tridacna gigas*, *Tridacna maxima*, *Tridacna crocea* dan *Katelsia rhytiphora* (Australian Government, 2012). Hal ini dipertegas oleh Carnegie & Burreson (2009), bahwa *Perkinsus marinus* menyebabkan kematian massal hingga 97 % pada tahun 2006 – 2008 di wilayah pantai Virginia, Amerika Serikat dengan rincian lebih lengkap dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini:

Kata kunci: *Polymerase Chain Reaction, Anadara granosa, Anadara inflata, Perna viridis, Perkinsus* sp.

Tabel 1. Mortalitas dan prevalensi *Perkinsus marinus* pada kerang di pantai Virginia, Amerika Serikat pada tahun 2006-2008

Tanggal	Mortalitas	<i>Perkinsus marinus</i>	
		Infeksi/Total Sampel	Prevalensi
28 April 2006	0 %	0/24	0 %
06 Juni 2006	1,8 %	5/25	20 %
05 Juli 2006	4,4 %	12/25	48 %
02 Agustus 2006	62,4 %	23/24	96 %
20 September 2006	93,3 %	16/16	100 %
25 April 2007	0 %	1/25	4 %
07 Juni 2007	2,0 %	3/25	12 %
28 Juni 2007	5,1 %	3/25	12 %
09 Agustus 2007	55,6 %	24/25	96 %
05 September 2007	83,1 %	24/24	100 %
11 Oktober 2007	97,4 %	9/9	100 %
30 April 2008	0 %	0/25	0 %
04 Juni 2008	0,6 %	3/25	12 %
02 Juli 2008	3,3 %	13/25	52 %
30 Juli 2008	9,7 %	24/25	96 %
05 September 2008	72,5 %	25/25	100 %
07 Oktober 2008	88,3 %	25/25	100 %

Sumber : Carnegie & Burreson, 2009

Berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor 26/KEPMEN-KP/2013 bahwa *Perkinsus marinus* dan *Perkinsus olseni* merupakan Hama dan Penyakit Ikan Karantina golongan I dimana penyakit ini tidak dapat disuci hamakan atau disembuhkan dari media pembawanya karena teknologi perlakuan belum dikuasai dan wilayah persebarannya hanya ada di Jawa Barat, namun belum dilakukan penelitian untuk wilayah lainnya di Indonesia (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013). Perdagangan yang ada di DKI Jakarta perlu diawasi dan dilakukan monitoring penyakit *Perkinsiosis* ini untuk mencegah masuk dan tersebarnya dari wilayah yang endemik. Di wilayah DKI Jakarta perdagangan kerang paling utama ada di Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Kamal Muara, Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Muara Angke. Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Muara Baru dan Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Cilincing. Komoditi yang dilakukan penangkapan dan dipasarkan secara luas antara lain kerang darah (*Anadara granosa*), kerang hijau (*Perna viridis*) dan kerang bulu (*Anadara inflata*). Pada data statistik FAO tahun 2012, jumlah penangkapan kerang darah di Indonesia mencapai 43,177 ton, kerang hijau 3,353 ton dan kerang bulu 1467 ton (FAO, 2014). Dilihat dari pola penyebaran distribusi penyakit parasit *Perkinsus* sp. di dunia, tidak menutup kemungkinan perairan di Indonesia khususnya di wilayah perdagangan kerang di DKI Jakarta telah terjangkit oleh parasit jenis ini. Hal inilah yang melatarbelakangi penulis untuk melakukan penelitian tentang identifikasi dan prevalensi penyakit *Perkinsiosis* pada berbagai jenis kerang yang diperdagangkan di wilayah DKI Jakarta, khususnya pada kerang darah, kerang bulu dan kerang hijau.

MATERI DAN METODE

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2014 dengan lokasi daerah perdagangan kerang di TPI Pelabuhan Muara Angke, TPI Pelabuhan Muara Baru, TPI Cilincing, dan TPI Muara Kamal. Pengujian berupa pemeriksaan parasit *Perkinsus* sp. dari sampel kerang darah, kerang hijau, dan kerang bulu secara biologi molekuler bertempat di Laboratorium Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas I Jakarta II dengan alamat Jalan Swasembada Timur XIII No. 64, Kelurahan Kebon Bawang, Kecamatan Tanjung Priok, Kotamadya Jakarta Utara, DKI Jakarta. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah kerang darah, kerang hijau, dan kerang bulu hidup dengan organ target insang dan mantel. Setiap ekor sampel kerang uji berukuran panjang rerata 5 cm dan tinggi 2 cm, dengan asumsi prevalensi 10 % berdasarkan Amos (1985). Metode yang digunakan untuk mengambil sampel kerang yang diduga terinfeksi *Perkinsus* sp. adalah menggunakan sampel acak berkelompok (*cluster random sampling*). *Cluster random sampling* adalah pengambilan sampel dilakukan terhadap sampling unit, dimana sampling unitnya terdiri dari

beberapa kelompok (*cluster*). Dalam penelitian ini yang menjadi *cluster* adalah lokasi perdagangan kerang di Jakarta, sedangkan individu adalah kerang uji. Pada setiap lokasi pengambilan sampel dilakukan secara acak sebanyak 30 ekor kerang uji tanpa membedakan jenisnya dengan 3 kali ulangan dengan target organ berupa insang dan mantel. 3 kali ulangan artinya pengambilan sampel dilakukan selama 3 hari. Jumlah sampel yang akan diperoleh adalah sebanyak 90 kerang uji pada setiap lokasi, sehingga total sampel yang diperoleh pada 4 lokasi adalah 360 ekor kerang uji

Deteksi *Perkinsus* sp. secara molekuler dilakukan dengan uji PCR menggunakan bahan-bahan *Nucleus Lysis Solution* (Promega), *RNase Solution* (Promega), *Protein Precipitation Solution* (Promega), Isopropanol, Alkohol 70%, *DNA Rehydration Solution* (Promega), Go Taq® Green Master Mix 2X PCR (Promega), *Nuclease Free Water* (Promega), Primer spesifik Genus *Perkinsus* sp. (Audemard, et al., 2004) *PerkITS-85 forward* 5' CCG CTT TGT TTG GAT CCC 3' , *PerkITS-750 reverse* 5' ACA TCA GGC CTT CTA ATG ATG 3' , *Bovine Serum Albumin Acetylated* (Promega), Agarosa 1,5 %, TAE Buffer 1X % (Qiagen), 100 bp *DNA Ladder* (Gene Ruler™ Fermentas), Sybr®Green (Lonza), Aquades, Parafilm. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain piranti standar laboratorium biologi molekuler, antara lain sebagai berikut Mikropipet P10, P100, P200 dan P1000, Rak mikropipet, Mikrotube 1,5 mL, Mikrotube 0,2 mL, Rak Mikrotube 1,5 mL, Rak mikrotube 0,2 mL, Mikrotip P10, Mikrotip P 200, Mikrotip P 1000, Vortex, *Pestle, Dissecting set, Refrigerated Microcentrifuge, Thermal Cycler, Dry Block Heating Thermostat*, Microwave, Elektroforesis, *UVI Gel Documentation*.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode deskriptif yang bertujuan untuk mendeskripsikan secara sistematis, faktual dan akurat terhadap suatu populasi atau daerah tertentu, mengenai sifat atau faktor tertentu (Sudjana, 2002). Penelitian ini menggunakan tahapan-tahapan analisa sebagai berikut: buka cangkang kerang secara perlahan dengan cara menyisipkan pisau pada bagian anterior cangkang lalu potong bagian aduktor, ambil sample bagian insang dan mantel sebanyak 10-20 mg, lakukan tahapan proses ekstraksi DNA yang bertujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat, DNA yang sudah diekstraksi kemudian dilakukan tahapan amplifikasi yang bertujuan untuk memungkinkan adanya perbanyakan DNA antara dua primer, hanya di dalam tabung reaksi, tanpa perlu memasukkannya ke dalam sel (*in vivo*), DNA yang sudah di amplifikasi akan dilakukan proses elektroforesis yang bertujuan untuk memisahkan sampel DNA berdasarkan atas ukuran (berat molekul) dan struktur fisik molekulnya. Molekul DNA akan terlihat dengan jelas dan berpendar berupa garis putih /band pada alat dokumentasi.

ANALISA DATA

Data hasil identifikasi parasit *Perkinsus* sp. pada kerang menggunakan uji PCR akan dianalisa secara deskriptif. Paramater yang akan dianalisa adalah gejala klinis pada kerang uji, perhitungan prevalensi *Perkinsus* sp. pada setiap lokasi, presentase keberadaan *Perkinsus* sp. pada organ insang dan mantel, presentase kerang yang terinfeksi pada organ insang, mantel atau insang dan mantel, kehadiran pita DNA *Perkinsus* sp. pada organ mantel dan insang di dokumentasi foto dan dibandingkan dengan kontrol positif *Perkinsus* sp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Selama penelitian diperoleh sampel kerang uji sebanyak 360 ekor pada 4 lokasi dengan rincian hasil pada Tabel 2.

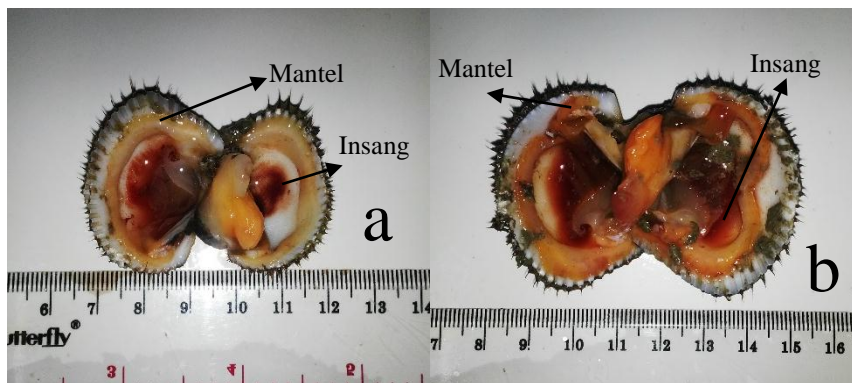
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan PCR terhadap *Perkinsus* sp. pada Kerang Uji Selama Penelitian

Lokasi	Kerang Bulu	Kerang Darah	Kerang Hijau	Jumlah Total
TPI Muara Angke	26	32	32	90
Terinfeksi	12	14	0	26
Tidak Terinfeksi	14	18	32	64
TPI Kamal Muara	29	28	33	90
Terinfeksi	10	14	0	23
Tidak Terinfeksi	19	14	33	67
TPI Muara Baru	29	31	30	90
Terinfeksi	10	8	0	18
Tidak Terinfeksi	19	23	30	72
TPI Cilincing	25	38	27	90
Terinfeksi	8	12	0	20
Tidak Terinfeksi	17	26	27	70
Jumlah Total	109	129	122	360
Terinfeksi	40	48	0	88
Tidak Terinfeksi	69	81	122	272

Sumber: Data Primer, 2014

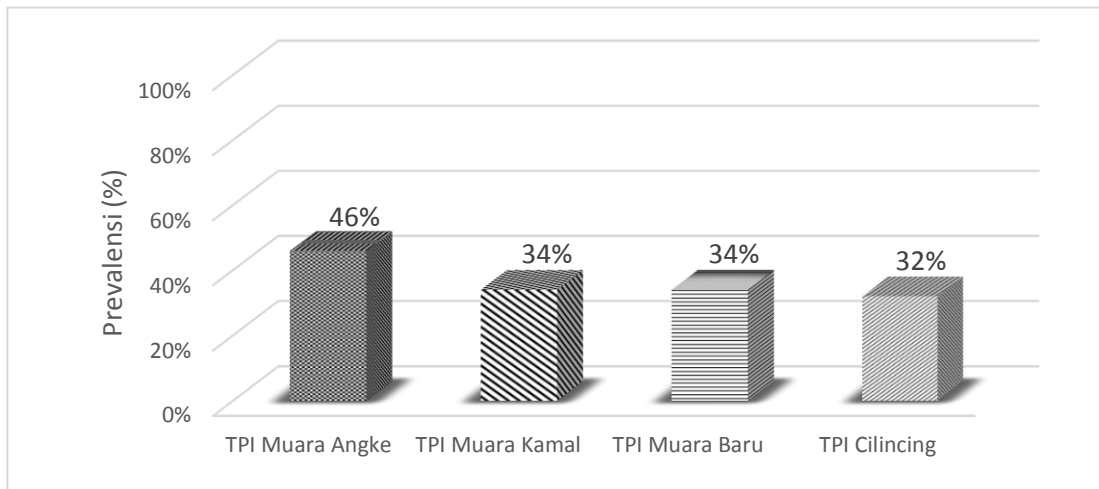
Kerang Bulu (*Anadara inflata*)

Kerang bulu (*Anadara inflata*) yang diperoleh selama penelitian adalah berjumlah 26 ekor di TPI Muara Angke, 29 ekor di TPI Kamal Muara, 29 ekor di TPI Muara Baru, 25 ekor di TPI Cilincing. Kerang bulu yang terinfeksi *Perkinsus* sp. dengan jumlah terinfeksi terbanyak terdapat di TPI Muara Angke, yaitu sebanyak 12 ekor, diikuti oleh TPI Muara Baru dan TPI Kamal Muara sebanyak 10 ekor, dan TPI Cilincing sebanyak 8 ekor (Tabel 2).



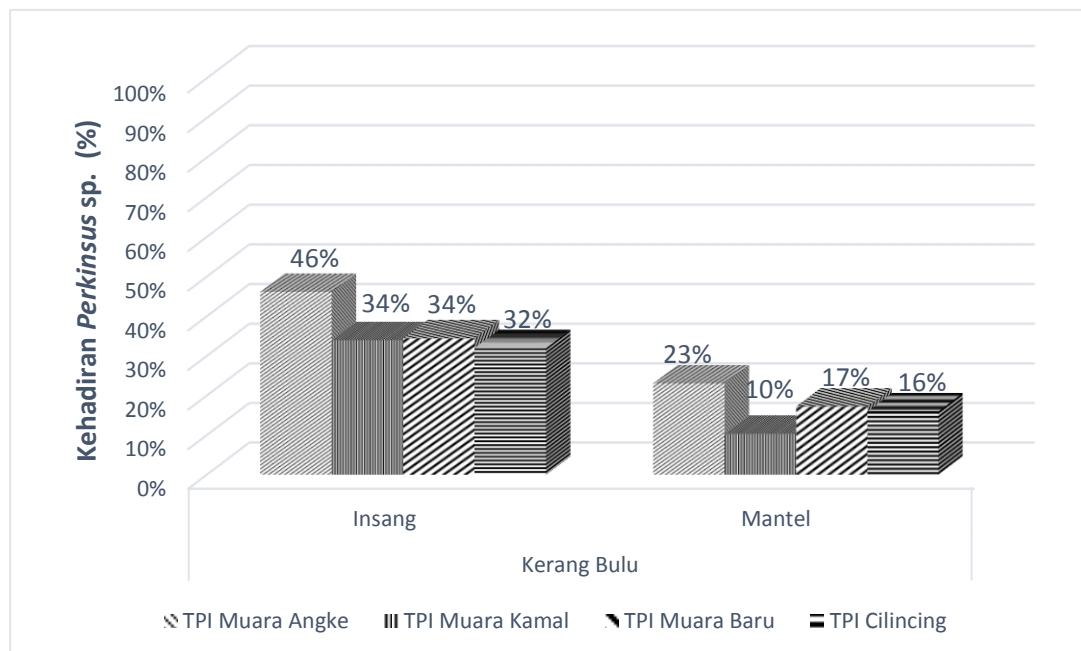
Gambar 1. (a) Kerang yang terinfeksi *Perkinsus* sp. , (b) Kerang yang tidak terinfeksi *Perkinsus* sp. (Data Primer, 2014)

Gejala klinis kerang bulu (*Anadara inflata*) yang terinfeksi *Perkinsus* sp. pada Gambar 1a menunjukkan tanda-tanda seperti, mantel mengkerut serta berwarna pucat dan insang mengalami kerusakan jaringan berupa hilangnya beberapa lembaran insang, sedangkan pada kerang bulu yang tidak terinfeksi memiliki mantel dan insang yang cerah (Gambar 1b).



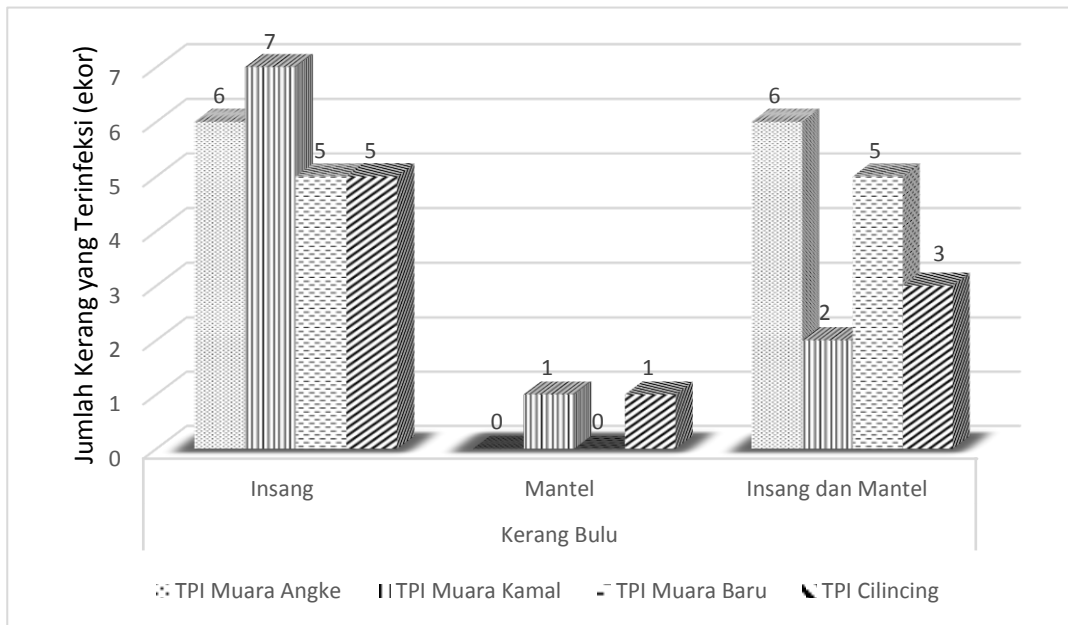
Gambar 2. Prevalensi *Perkinsus* sp. pada Kerang Bulu Selama Penelitian (Data Primer, 2014)

Kerang bulu yang memiliki prevalensi *Perkinsus* sp. tertinggi pada lokasi TPI Muara Angke, yaitu sebesar 46 %, diikuti oleh TPI Muara Baru dan TPI Kamal Muara dengan prevalensi sebesar 34 % dan TPI Cilincing sebesar 31 % (Gambar 2). Adanya perbedaan prevalensi pada setiap lokasi dikarenakan faktor yang mempengaruhinya, yaitu perbedaan kondisi kualitas air pada tiap lokasi penangkapan kerang bulu, penyebaran *Perkinsus* sp. yang menyerang kerang bulu memiliki daya tahan kerang yang berbeda, sehingga kerang yang dalam kondisi sakit akan mudah terserang. Masa inkubasi *Perkinsus* sp. untuk infeksi kerang bulu pada setiap lokasi memiliki masa yang berbeda juga.



Gambar 3. Persentase Kehadiran *Perkinsus* sp. di Kerang Bulu pada Organ Insang dan Mantel (Data Primer, 2014).

Persentase kehadiran *Perkinsus* sp. pada organ insang tertinggi di TPI Muara Angke sebesar 46%, diikuti TPI Muara Baru dan TPI Kamal Muara sebesar 34%, TPI Cilincing 32%. Persentase kehadiran *Perkinsus* sp. pada mantel paling tinggi pada TPI Muara Angke sebesar 23% diikuti TPI Muara Baru sebesar 17%, TPI Cilincing sebesar 16 % dan TPI Kamal Muara sebesar 10% (Gambar 3). Persentase insanglebih tinggi dari persentase pada mante dikarenakan insang merupakan target utamaserangan *Perkinsus* sp. karena sifat kerang mengambil makanannya dengan cara *filter feeder* sehingga air selalu masuk dan tersaring melalui insang.

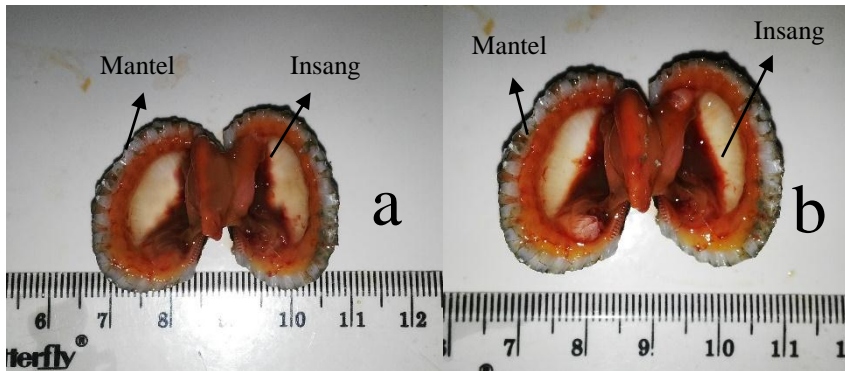


Gambar 4. Hasil Pemeriksaan Kerang Bulu yang Positif *Perkinsus* sp. Menggunakan PCR pada Organ Insang dan Mantel (dalam ekor) (Data Primer, 2014)

Kerang bulu yang terinfeksi *Perkinsus* sp. hanya di bagian insang paling banyak terdapat di TPI Kamal Muara sebanyak 7 ekor diikuti oleh TPI Muara Angke sebanyak 6 ekor TPI Cilincing sebanyak 5 ekor dan TPI Kamal Muara sebanyak 5 ekor. Kerang bulu yang hanya terinfeksi hanya pada organ mantel terdapat di TPI Kamal Muara dan TPI Cilincing saja, yaitu masing-masing sebanyak 1 ekor. Hal ini dikarenakan tingkat sensitivitas dari metode PCR yang mampu mengidentifikasi secara akurat di mana kerang yang terinfeksi pada mantel saja mengindikasikan bahwa *Perkinsus* sp. ini baru memasuki organ mantel dan belum sampai pada organ insang, sehingga pencegahan bisa dilakukan supaya tidak terjadi penyebaran ke organ yang lain. Kerang bulu yang terinfeksi di bagian insang dan mantel paling banyak terdapat di TPI Muara Angke sebanyak 6 ekor, diikuti oleh TPI Muara Baru sebanyak 5 ekor, TPI Cilincing sebanyak 3 ekor dan TPI Kamal Muara sebanyak 2 ekor (Gambar 4).

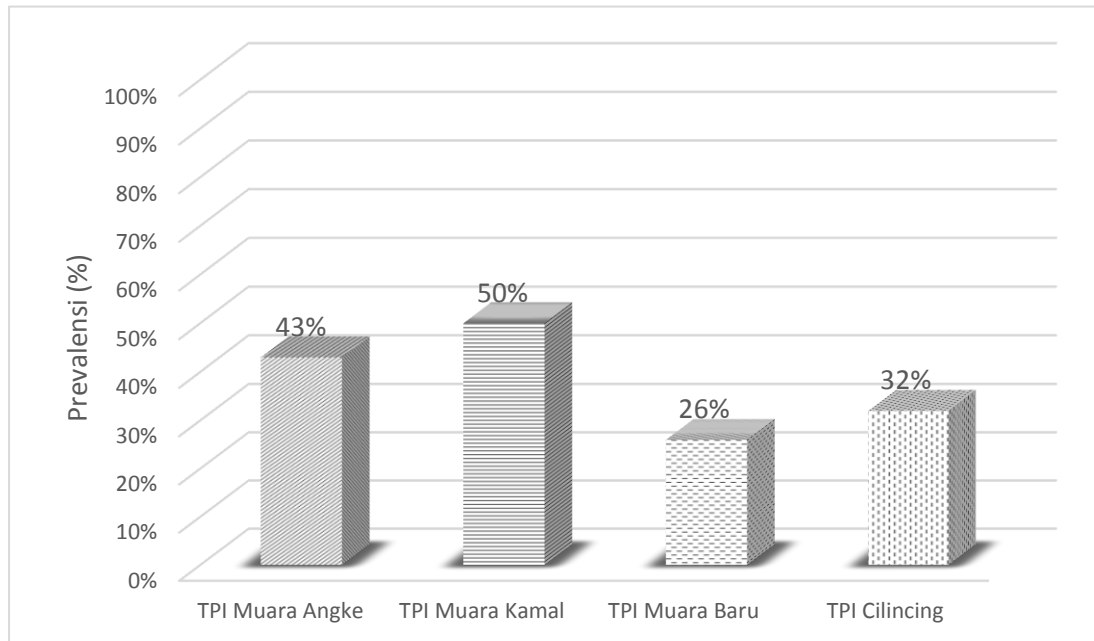
Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah (*Anadara granosa*) yang diperoleh selama penelitian adalah berjumlah 32 ekor di TPI Muara Angke, 28 ekor di TPI Kamal Muara, 31 ekor di TPI Muara Baru, 38 ekor di TPI Cilincing. Kerang darah yang terinfeksi *Perkinsus* sp. dengan jumlah terinfeksi terbanyak terdapat di TPI Muara Angke dan TPI Kamal Muara masing-masing sebanyak 14 ekor, diikuti oleh TPI Cilincing sebanyak 12 ekor dan TPI Muara Baru sebanyak 8 ekor (Tabel 2).



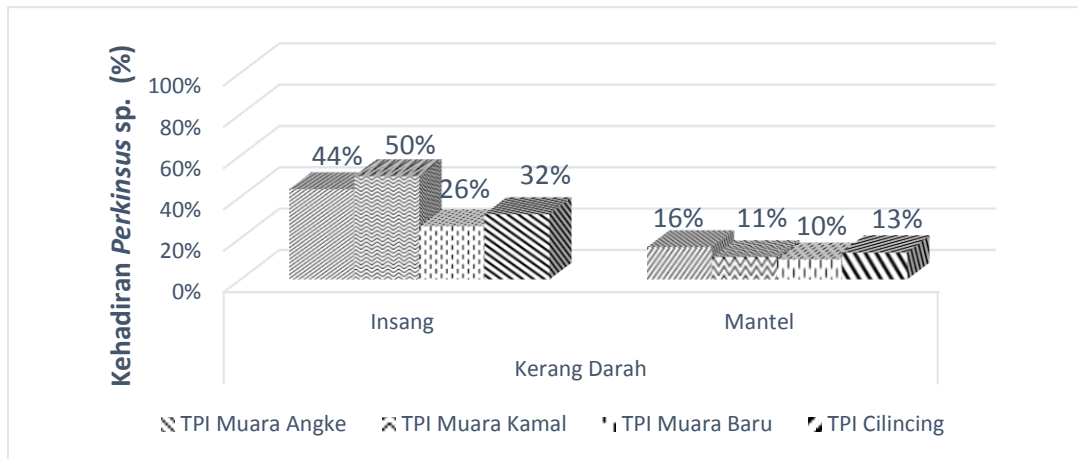
Gambar 5.(a) Kerang yang terinfeksi *Perkinsus* sp. , (b) Kerang yang tidak terinfeksi *Perkinsus* sp. (Data Primer, 2014)

Gejala klinis kerang darah (*Anadara granosa*) yang terinfeksi *Perkinsus* sp. pada Gambar 5a menunjukkan tanda-tanda seperti insang yang geripis dan mantel yang berwarna pucat, sedangkan pada kerang darah yang tidak terinfeksi memiliki mantel dan insang yang cerah serta dalam kondisi utuh (Gambar 5b).



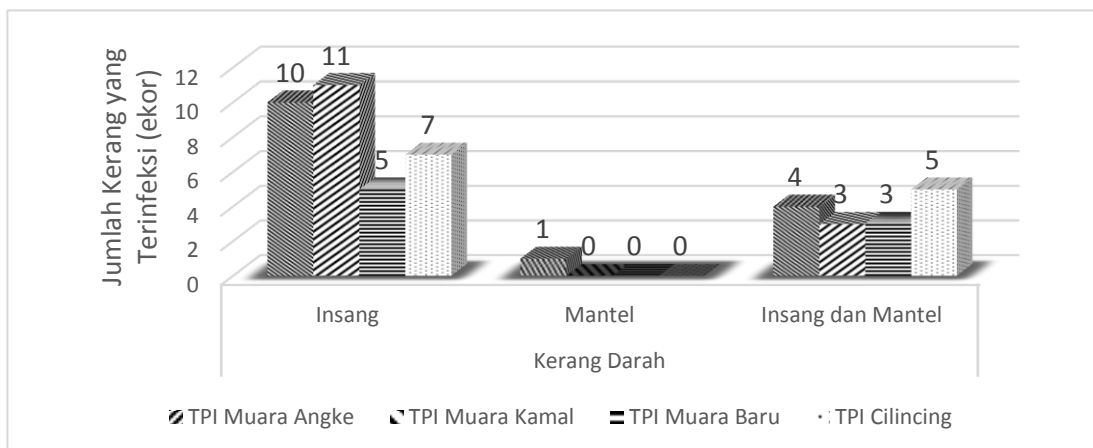
Gambar 6. Prevalensi *Perkinsus* sp. pada Kerang Darah Selama Penelitian (Data Primer, 2014)

Kerang darah yang memiliki prevalensi *Perkinsus* sp. tertinggi pada lokasi TPI Kamal Muara, yaitu sebesar 50 %, diikuti oleh TPI Muara Angke dengan prevalensi sebesar 43 %, TPI Cilincing sebesar 32 % dan TPI Muara Baru sebesar 26 % (Gambar 6). Adanya perbedaan prevalensi pada setiap lokasi dikarenakan faktor yang mempengaruhinya, yaitu perbedaan kondisi kualitas air pada tiap lokasi penangkapan kerang bulu, penyebaran *Perkinsus* sp. yang menyerang kerang darah memiliki daya tahan kerang yang berbeda, sehingga kerang yang dalam kondisi sakit akan mudah terserang. Masa inkubasi *Perkinsus* sp. untuk infeksi kerang darah pada setiap lokasi memiliki masa yang berbeda juga.



Gambar 7. Persentase Kehadiran *Perkinsus* sp. di Kerang Darah pada Organ Insang dan Mantel (Data Primer, 2014)

Persentase *Perkinsus* sp. pada organ insang tertinggi di TPI Kamal Muara sebesar 50% diikuti TPI Muara Angke sebesar 44%, TPI Cilincing sebesar 32% dan TPI Muara Baru sebesar 26%. Persentase *Perkinsus* sp. Pada mantel tertinggi pada TPI Muara Angke sebesar 16%, diikuti TPI Cilincing sebesar 13%, TPI Kamal Muara sebesar 11% dan TPI Muara Baru sebesar 10% (Gambar 7). Persentase insang lebih tinggi dari persentase pada mantel dikarenakan insang merupakan target utama serangan *Perkinsus* sp. karena sifat kerang mengambil makanannya dengan cara *filter feeder* sehingga air selalu masuk dan tersaring melalui insang.

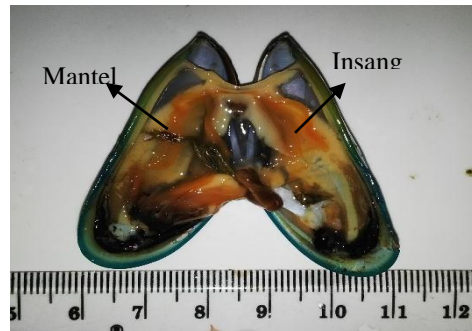


Gambar 8. Hasil Pemeriksaan Kerang Darah yang Positif *Perkinsus* sp. Menggunakan PCR pada Organ Insang dan Mantel (dalam ekor) (Data Primer, 2014)

Kerang darah yang terinfeksi *Perkinsus* sp. hanya di bagian insang paling banyak terdapat di TPI Kamal Muara sebanyak 11 ekor diikuti oleh TPI Muara Angke sebanyak 10 ekor, TPI Cilincing sebanyak 7 ekor dan TPI Muara Baru sebanyak 5 ekor. Kerang darah yang terinfeksi pada organ mantel saja hanya terdapat di TPI Muara Angke, yaitu sebanyak 1 ekor. Kerang darah yang terinfeksi di bagian insang dan mantel paling banyak terdapat di TPI Cilincing sebanyak 5 ekor, diikuti oleh TPI Muara Angke sebanyak 4 ekor TPI Muara Baru sebanyak 3 ekor dan TPI Kamal Muara sebanyak 3 ekor (Gambar 8).

4.1.3 Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Kerang hijau (*Perna viridis*) yang diperoleh selama penelitian adalah berjumlah 32 ekor di TPI Muara Angke, 33 ekor di TPI Kamal Muara, 30 ekor di TPI Muara Baru, 27 ekor di TPI Cilincing (Tabel 2).



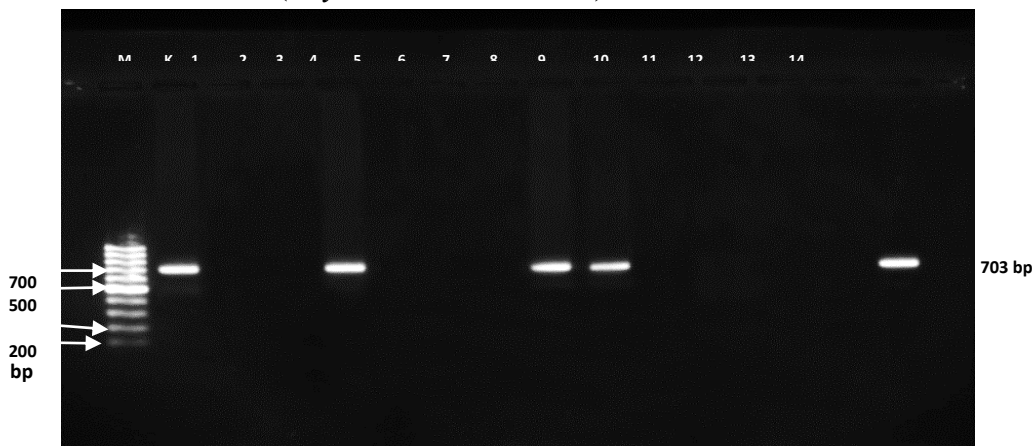
Gambar 9. Kerang Hijau (*Perna viridis*) yang sehat (Data Primer, 2014)

Seluruh kerang hijau yang diambil sampelnya tidak menunjukkan terinfeksi *Perkinsus* sp.. Hal ini juga didukung oleh gejala klinis pada Gambar 9 bahwa kerang hijau memiliki kondisi insang dalam keadaan yang baik dan cerah serta kondisi pada mantel yang berwarna cerah.

4.1.4 Pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Pada penelitian ini dapat dideteksi keberadaan *Perkinsus* sp. pada setiap lokasi perdagangan kerang di wilayah DKI Jakarta, meliputi TPI Muara Angke, TPI Kamal Muara, TPI Muara Baru dan TPI Cilincing ditunjukkan dengan adanya pita positif pada besaran 703 bp dari hasil foto gel agarose yang sudah di elektroforesis. Keberadaan *Perkinsus* sp. di TPI Muara Angke dapat dilihat pada Gambar 10.

Pemeriksaan PCR (*Polymerase Chain Reaction*)



Gambar 10. Hasil Pemeriksaan PCR Menggunakan Primer Spesifik genus *Perkinsus* yang kemudian Dielektroforesis dari Sampel Kerang Uji di TPI Muara Angke

Keterangan :

- M : Penanda DNA
- K : Kontrol Positif *Perkinsus* sp.
- 1 dan 2 : Insang dan Mantel K.1.MA.I
- 3 dan 4 : Insang dan Mantel K.2.MA.I
- 5 dan 6 : Insang dan Mantel K.3.MA.I
- 7 dan 8 : Insang dan Mantel K.4.MA.I
- 9 dan 10 : Insang dan Mantel K.5.MA.I
- 11 dan 12 : Insang dan Mantel K.6.MA.I
- 13 dan 14 : Insang dan Mantel K.7.MA.I

Pembahasan

Dari hasil yang diperoleh selama penelitian, pada gejala klinis kerang darah dan kerang bulu yang terinfeksi *Perkinsus* sp. menunjukkan insang dan mantel yang mengkerut dan berwarna pucat. Hal ini sesuai dengan Petty (2010) yang menyatakan bahwa inang yang terinfeksi kemungkinan mulutnya menganga, warna pucat pada saluran pencernaan, mantel pada inang terlepas, namun pada dasarnya gejala klinis pada inang yang terinfeksi tidak spesifik dan hanya bisa dilakukan konfirmasi pada uji PCR untuk menentukan ada tidaknya parasit *Perkinsus* sp. ini. Baker, *et al.* (2007) juga mengungkapkan hal yang sama bahwa kerang yang terinfeksi memiliki tanda-tanda cangkang yang tidak dapat menutup, lecet pada permukaan kulit bagian dalam, produksi lendir berlebihan, daging terlihat berair, gelap, pucat, atau daging berubah warna, luka atau borok pada mantel, otot aduktor, kaki, mantel mengkerut atau tepi mantel membengkak. Gejala klinis ini seringkali tidak menunjukkan inang yang terinfeksi, kemungkinan bisa berhubungan dengan penyakit non infeksi dan perubahan pada lingkungan. Kerang hijau yang telah dilakukan pengamatan gejala klinis dan secara PCR tidak menunjukkan keberadaan *Perkinsus* sp. hal ini dikarenakan kerang hijau memiliki sistem kekebalan tubuh yang lebih baik daripada kerang bulu dan kerang darah. Hal ini sesuai dengan Wang, *et al.* (2012) di mana ketika terjadi kenaikan suhu dan salinitas, sistem peredaran darah / hemosit pada kerang hijau akan meningkat, sehingga penyakit yang akan menyerang peredaran darah difagosit oleh sel darah pada kerang hijau.

Prevalensi *Perkinsus* sp. pada TPI Kamal Muara memiliki prevalensi tertinggi bila dibandingkan dengan TPI Muara Baru. Perbedaan prevalensi pada setiap lokasi dikarenakan perbedaan masa inkubasi *Perkinsus* sp. pada kerang yang terinfeksi, selain itu perbedaan kondisi kualitas perairan pada lokasi penangkapan kerang secara tidak langsung berpengaruh terhadap penyebaran *Perkinsus* sp. ini, di mana media air merupakan perantara tersebarnya zoosporangia *Perkinsus* sp. antar kerang dari kerang yang sakit menuju kerang yang sehat. Hal ini diperkuat oleh pendapat Australian Government (2014), bahwa masa inkubasi *Perkinsus* sp. berlangsung selama 3 hari pada suhu 28 °C. Satu ekor parasit yang berada dalam jaringan kerang akan berkembang selama 3 hari melakukan pembelahan secara biner dengan merusak sel darah merah pada kerang dan akan menghasilkan ratusan zoospora yang akan menginfeksi kerang, setelah kerang mati zoospora tersebut akan meninggalkan inangnya dan akan mencari inang yang sehat untuk diinfeksi.

Persentase *Perkinsus* sp. hasil pemeriksaan pada kerang darah dan kerang bulu pada jaringan insang selalu lebih tinggi dibandingkan pada organ mantel baik pemeriksaan di TPI Muara Angke, TPI Kamal Muara, TPI Muara Baru dan TPI Cilincing. Hal tersebut sesuai dengan Choi & Park (2010), bahwa insang selalu merupakan target utama serangan *Perkinsus* sp. karena sifat kerang mengambil makanannya dengan cara *filter feeder* sehingga air selalu masuk dan tersaring melalui insang. Hal ini sesuai dengan pendapat Allam, *et al.* (2013) bahwa sel *Perkinsus* sp. yang berenang bebas di perairan akan dipompa ke dalam rongga pallial dan ditangkap pada insang, pada organ insang *Perkinsus* sp. akan berkembang dan mengalami inkubasi selama 3 hari, kemudian akan menginfeksi jaringan lainnya, sel parasit juga masuk ke rongga pada mantel yang selanjutnya berkembang dan infeksi, sisa-sisa parasit yang tidak tertelan akan dibuang sebagai feses melalui anus. Sisa feses ini yang kemudian akan bersifat infeksi dan menular bagi kerang yang sehat lainnya. Pada kerang yang terinfeksi akan mengalami kematian dan membusuk, sehingga pada akhirnya sisa-sisa jaringan yang terdapat parasit *Perkinsus* sp. ini akan menular ke perairan. Timbulnya penyakit pada kerang mempunyai hubungan yang erat dengan keadaan lingkungan, dimana kerang itu hidup. Hubungan erat antara kerang, patogen, lingkungan harus seimbang agar tidak timbul penyakit. Kerang hidup di lingkungan air maka bila terjadi perubahan sedikit saja dari lingkungan dapat menyebabkan stress pada kerang, sedangkan kerang yang dalam keadaan stress akan mudah terkena penyakit. Organisme penyebab penyakit itu sendiri (patogen) telah ada dalam perairan, tetapi dalam kondisi yang seimbang patogen tersebut tidak menyebabkan kerang menjadi sakit. Jika kondisi yang seimbang tersebut terganggu misalnya adanya perubahan lingkungan maka patogen yang ada dalam air dapat menyebabkan kerang menjadi sakit.

Pada pemeriksaan PCR diperoleh hasil dokumentasi pita DNA *Perkinsus* sp. dengan ketebalan yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh proses PCR sudah berjalan tetapi kurang optimal sehingga proses perbanyak molekul DNA tidak berjalan dengan sempurna. Kekurang optimalan proses PCR ini bisa terjadi karena kurang sesuai suhu *annealing*, proses ekstraksi DNA tidak mendapatkan DNA yang murni atau adanya kontaminasi. Pada penelitian ini gambaran DNA positif *Perkinsus* sp. pada kerang darah dan kerang bulu yang didapat di TPI Muara Angke, TPI Kamal Muara, TPI Muara Baru dan TPI Cilincing pada besaran amplifikasi 703 bp sesuai dengan target primer universal yang digunakan oleh peneliti seperti yang di terbitkan oleh Audemard, *et al.* (2004).

Dari hasil penelitian diperoleh data bahwa DKI Jakarta merupakan wilayah yang sudah terdapat parasit *Perkinsus* sp.. Keberadaan parasit *Perkinsus* sp. di DKI Jakarta sangat dimungkinkan jika dilihat dari peta penyebarannya di dunia yang telah meliputi 5 benua, Indonesia sendiri adalah negara yang diapit oleh dua benua yaitu benua Asia dimana telah terdeteksi keberadaan *Perkinsus* sp. di negara Korea, Jepang, China pada kerang Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*) dan juga benua Australiayang menemukan keberadaan *Perkinsus* sp. pada kerang Abalone dan Oyster. Keberadaan *Perkinsus* sp. pada jenis kerang darah dan kerang bulu di Indonesia khususnya pada wilayah DKI Jakarta juga sangat dimungkinkan mengingat penelitian sebelumnya pernah dilakukan di Australia pada survey dari beberapa penyakit parasit dan beberapa spesies kerang di Australia Barat Utara terhadap penyakit organisme akuatik ditemukan keberadaan *Perkinsus olseni* pada kerang dari genus yang sama yaitu *Anadara trapezia* dan banyak jenis molusca lainnya termasuk *Tridacna gigas*, *Tridacna maxima*, *Tridacna crocea* dan *Katelsia rhytiphora*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan dari hasil penelitian adalah sebagai berikut prevalensi tertinggi kerang bulu (*Anadara inflata*) yang terinfeksi *Perkinsus* sp. terdapat di TPI Muara Angke sebesar 46 % diikuti TPI Kamal Muara sebesar 34 %, TPI Muara Baru 34 % dan TPI Cilincing 32 %. Prevalensi tertinggi kerang darah (*Anadara granosa*) yang terinfeksi *Perkinsus* sp. terdapat di TPI Kamal Muara sebesar 50 % diikuti TPI Muara Angke 43 % , TPI Cilincing 32 % dan TPI Muara Baru 26 %, Persentase kehadiran *Perkinsus* sp. pada organ insang tertinggi di TPI Muara Angke sebesar 46%, diikuti TPI Muara Baru dan TPI Kamal Muara sebesar 34%, TPI Cilincing 32%. Persentase kehadiran *Perkinsus* sp. pada mantel paling tinggi pada TPI Muara Angke sebesar 23% diikuti TPI Muara Baru sebesar 17%, TPI Cilincing sebesar 16 % dan TPI Kamal Muara sebesar 10%. Persentase *Perkinsus* sp. pada organ insang tertinggi di TPI Kamal Muara sebesar 50% diikuti TPI Muara Angke sebesar 44%, TPI Cilincing sebesar 32% dan TPI Muara Baru sebesar 26%. Persentase *Perkinsus* sp. pada mantel tertinggi pada TPI Muara Angke sebesar 16%, diikuti TPI Cilincing sebesar 13%, TPI Kamal Muara sebesar 11% dan TPI Muara Baru sebesar 10%, kerang bulu (*Anadara inflata*) dan kerang darah (*Anadara granosa*) ada yang terinfeksi hanya pada organ insang dan mantel saja serta ada yang terinfeksi pada kedua organ insang dan mantel.

Berdasarkan hasil penelitian ini maka beberapa saran dapat diberikan perlu dilakukan penelitian keberadaan parasit *Perkinsus* sp. pada berbagai jenis kerang yang ada dan pada lokasi yang berbeda di Indonesia agar diketahui jenis-jenis kekerangan apa saja yang sudah terinfeksi parasit *Perkinsus* sp. dan diketahui daerah mana saja yang sudah terinfeksi sehingga perlu dilakukan pengawasan, Perlu dilakukan penelitian terhadap parasit *Perkinsus* sp. pada tingkat spesies untuk memudahkan dalam pengawasannya dan pencegahannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Allam, B. *et al.*, 2013. Early host-pathogen interactions in marine bivalves: Evidence that the alveolate parasite *Perkinsus marinus* infects through the oyster mantle during rejection of pseudofeces. *Journal of Invertebrate Pathology*, Volume 113, pp. 26-34.
- Amos, K. H., 1985. *Procedures for detection and identification of certain fish pathogen*. 3rd Edition penyunt. Oregon: Fish Health Section American Fisheries Society.
- Audemard, C., Reece, K. S. & Burreson, E. M., 2004. Real-Time PCR for Detection and Quantification of the Protistan. *Applied and Enviromental Microbiology* Vo.70, pp. 6611-6618.
- Australian Government, 2012. Infection with *Perkinsus marinus*. *Aquatic Animal Disease Significant to Australia*, Volume Vol. 4.
- Australian Government, 2014. *Aquatic Animal Diseases Significant to Asia-Pacific Identification Field Guide*. [Online] , <http://library.enaca.org/Health/FieldGuide/html/mp050per.htm>[13 Agustus 2014].
- Baker, S. *et al.*, 2007. *Introduction to Infectious Diseases in Hard Clams*, Florida: University of Florida.
- Barnes, R. D., 1982. *Coasts and Estuaries*. London: Hodder & Staughton.
- Carnegie, R. B. & Burreson, E. M., 2009. *Status of The Mayor Oyster Diseases in Virginia 2006-2008*, Virginia: Virginia Institute of Marine Science The College of William and Mary Gloucester Point.
- Carpenter, K. E. & Niem, V. H., 1998. *FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. The Living Marine Resources of the Western Central Pacific..* Volume 1: Seaweeds, corals, bivalves and gastropods penyunt. Rome: Food And Agriculture Organization Of The United Nations.

- Choi, K. S. & Park, K. I., 2010. Review on The Protozoan Parasite *Perkinsus olseni* (Lester and Davis 1981) Infection in Asian Waters. *Coastal Environmental and Ecosystem Issues of The East China Sea*, pp. 269-281.
- Colosimo, S. L., 2007. *Comparison of Perkinsus Marinus Infection and Oyster Condition in Southeastern North Carolina Tidal Creeks*, North Carolina: Department of Biology and Marine Biology University of North Carolina Wilmington.
- Department of Agriculture, Fisheries and Forestry Australian Government, 2012. Aquatic Animal Diseases Significant to Australia: Identification Field Guide. *Infection With Perkinsus olseni*, Volume 4th Edition, pp. 190-195.
- FAO, 2014. FAO Fisheries and Aquaculture Department. [Online]. <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en>, [02 Mei 2014].
- Hine, M., 2009. The Distribution of *Perkinsus olseni* in New Zealand Bivalve Mollusc, Wellington: National Centre for Disease Investigation.
- Joseph, S. J. *et al.*, 2010. The Alveolata *Perkinsus marinus*: Biological Insights from EST Gene Discovery.
- Kastoro, W., 1988. *Budidaya Jenis-Jenis Kerang (Bivalvia)*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2013. *Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan NOMOR 26/KEPMEN-KP/2013 tentang penetapan jenis-jenis hama dan penyakit ikan karantina, golongan, media pembawa, dan sebarannya*. Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kim, H. J. *et al.*, 2012. Ultrastructure of *Perkinsus olseni* zoospores parasitizing the Manila clam *Ruditapes philippinarum* in Korea. *The Korean journal of malacology*, Volume 28, pp. 65-71.
- Mahmuddin, 2010. *Mahmuddin Belajar dan Berbagi*. [Online] Available at: <http://mahmuddin.wordpress.com/2010/08/31/polymerase-chain-reaction-pcr/> [Diakses 12 06 2014].
- Menteri Negara Lingkungan Hidup, 2004. *Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 51 Tahun 2004 Tentang Baku Mutu Air Laut*. Jakarta: Menteri Negara Lingkungan Hidup.
- Nasution, R., 2013. *Teknik Sampling*. [Online], <http://library.usu.ac.id/download/fkm/fkm-rozaini.pdf> [25 Juni 2014].
- Nontji, 1987. *Laut Nusantara*. Jakarta : Penerbit Djambatan.
- Nybakken, J. W., 1992. *Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Page, *et al.*, 1998. *Basic Epidemiological Methods and Biostatistics*. London: s.n.
- Petty, D., 2010. *Perkinsus Infections of Bivalve Molluscs*. *Series of the Fisheries and Aquatic Sciences Department, UF/IFAS Extension*.
- Retnoningrum, D. S., 1997. *Penerapan Polymerase Chain Reaction (PCR) untuk Diagnosis Penyakit Infeksi*. Bandung: Jurusan Farmasi FMIPA ITB.
- Robert, D. *et al.*, 1982. *Shallow Water Marine Molluscs of North-West Java*. Jakarta: Lembaga Oseanologi Nasional.
- Sudjana. 2002. *Metode Statistika*. Bandung: Tarsito.
- Soniat, T. M., 2012. Levels of the parasite *Perkinsus marinus* in populations of oysters from the Louisiana Public Seed Grounds: Summer 2012, Louisiana: Louisiana Department of Wildlife and Fisheries.
- Sunila, I., 2008. *Dermo Disease, Connecticut: Connecticut Departement of Agriculture*.
- Universitas Gajah Mada, 2013. *Teknik Budidaya Bivalvia*, Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Villalba, A. *et al.*, 2004. Perkinsosis in molluscs: A review. *Aquatic Living Resources*, pp. 411-432.
- Wang, Y. *et al.*, 2012. Immune paramater changes of hemocytes in green lipped mussel *Perna viridis* exposure to hypoxia and hyposalinity. *Aquacultur*, Volume 356-257, pp. 22-29.
- Wijayalath, W. *et al.*, 2014. Humanized HLA-DR4 Mice Fed with the Protozoan Pathogen of Oyster *Perkinsus marinus* (Dermo) Do Not Develop Noticeable Pathology but Elicit Systemic Immunity. *Plos One*, 9(1).