TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496

Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

PENGUJIAN *MEGALOCITYVIRUS* PADA SAMPEL IKAN GURAME (*Osphronemus gouramy*) DAN KERAPU (*Epinephelus sp.*) DENGAN METODE PCR DI BALAI KARANTINA HEWAN, IKAN, DAN TUMBUHAN SUMATRA BARAT

Megalocityvirus Testing on Gurame (Osphronemus gouramy) and Grouper (Epinephelus sp.) Fish Samples Using PCR Method at the Animal, Fish, and Plant Quarantine Center of West Sumatra

Shafiah Adilla Putri[1)], Abdul Razak[1)], Windy Pizo Ladufi[1)], Sarben[2),] Mardika Imaputra[2)]

[1)]Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatra Barat.
[2)] Balai Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan Sumatra Barat

Email: shafiyahadila4469@gmail.com

ABSTRAK

Megalocytivirus adalah patogen penting pada ikan laut, ikan air tawar, dan ikan hias, khususnya di kawasan Asia dan Indo-Pasifik. Infeksi Megalocytivirus menyebabkan penyakit *Sleepy Grouper Disease*. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *Megalocytivirus* pada sampel ikan gurame (*Osphronemus goramy*) dan ikan kerapu (*Epinephelus* sp.) menggunakan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) di Balai Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan Sumatra Barat, sebagai upaya mendukung deteksi dini, pengendalian penyakit ikan, serta pencegahan penyebaran patogen melalui lalu lintas perikanan. Hasil analisis *nested* PCR menunjukkan tidak ditemukannya pita DNA berukuran 167 bp pada seluruh sampel ikan uji (S1–S5), yang menandakan bahwa semua sampel ikan gurame dan kerapu negatif terinfeksi *Megalocytivirus*. Kontrol positif memperlihatkan pita yang jelas pada ukuran target, sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan pita, sehingga mengonfirmasi validitas dan keandalan proses PCR. Temuan ini menunjukkan bahwa sampel ikan dari berbagai wilayah di Sumatera Barat berada dalam kondisi sehat dan bebas dari infeksi *Megalocytivirus*, serta aman untuk diedarkan.

Keywords: *Megalocytivirus*, ikan gurame (*Osphronemus gouramy*), ikan kerapu (*Epinephelus* sp.), *nested* PCR, kesehatan ikan, karantina ikan.

Article History
Received: Januari 2026
Reviewed: Januari 2026
Published: Januari 2026

Plagirism Checker No 731
Prefix DOI : 10.8734/trigonometri.v1i2.365
Copyright : Author
Publish by : Tashdiq

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

PENDAHULUAN

Megalocytivirus merupakan genus virus dari famili *Iridoviridae* yang pertama kali diusulkan pada tahun 2003 dan kemudian diterima oleh *International Committee on Taxonomy of Viruses* sebagai genus resmi dalam famili tersebut (Murphy *et al.*, 2003; Chinchar *et al.*, 2009). Infeksi virus ini menyebabkan penyakit yang dikenal sebagai *Sleepy Grouper Disease* dengan gejala klinis berupa perubahan warna tubuh menjadi lebih gelap, anoreksia, anemia berat, perilaku

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

berenang abnormal, *lethargy*, serta mortalitas yang dapat mencapai hingga 90% pada ikan laut dan air tawar (Sudthongkong *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2007).

Megalocytivirus menjadi patogen penting pada ikan laut dan ikan hias di kawasan Asia dan Indo-Pasifik. Virus ini dikenal menyebabkan infeksi sistemik yang ditandai dengan pembesaran sel (megalositosis), kerusakan organ dalam, dan kematian massal pada ikan, terutama pada fase larva dan juvenil (Go *et al.*, 2006; Kurita & Nakajima, 2012). Penyakit ini telah dilaporkan menyebar secara luas di kawasan Asia Tenggara dan menjadi ancaman serius bagi industri perikanan budidaya. Sebagai bagian dari sistem pengawasan karantina, Balai Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan (BKHIT) berperan penting dalam mencegah penyebaran hama dan penyakit ikan karantina (HPIK), termasuk *Megalocytivirus*. Dalam menjalankan fungsinya, BKHIT melakukan pengawasan ketat terhadap lalu lintas media pembawa seperti benih ikan, dengan prosedur karantina berupa pemeriksaan dokumen, tindakan observasi, uji laboratorium, hingga penahanan atau penolakan apabila terbukti terinfeksi (Badan Karantina Indonesia, 2021).

Laboratorium BKHIT yang telah terakreditasi oleh Komite Akreditasi Nasional (KAN) juga dilengkapi dengan metode deteksi molekuler seperti PCR untuk memastikan keberadaan virus secara cepat dan akurat (BKHIT Sumbar, 2024). Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan teknik biologi molekuler yang dikembangkan untuk mengamplifikasi fragmen DNA secara spesifik dan cepat. PCR bekerja berdasarkan siklus berulang yang meliputi tahap denaturasi DNA, penempelan primer (*annealing*), dan pemanjangan rantai DNA (*extension*) menggunakan enzim DNA polimerase yang tahan panas. Melalui proses ini, DNA target yang awalnya berjumlah sangat sedikit dapat diperbanyak hingga jutaan kali, sehingga memungkinkan deteksi materi genetik secara akurat dan efisien (Mullis & Faloona, 1987).

Dalam bidang diagnostik penyakit, khususnya pada kesehatan hewan dan ikan, metode PCR banyak digunakan karena memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang tinggi dibandingkan metode konvensional. PCR mampu mendeteksi patogen bahkan pada tahap awal infeksi ketika gejala klinis belum tampak. Selain itu, pengembangan teknik lanjutan seperti *nested* PCR dan *real-time* PCR semakin meningkatkan kemampuan deteksi, terutama pada sampel dengan konsentrasi DNA target yang rendah. Oleh karena itu, PCR menjadi metode yang direkomendasikan dalam kegiatan surveilans, pengawasan kesehatan, dan karantina untuk mencegah penyebaran penyakit secara luas (Saiki et al., 1988).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif laboratorik dengan pendekatan diagnostik molekuler, yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *Megalocytivirus* pada sampel ikan gurame (*Osphronemus goramy*) dan kerapu (*Epinephelus* sp.). Penelitian dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengamplifikasi materi genetik virus secara spesifik. Pengujian ini mengambil sampel pemantauan tahap 1 pada ikan gurame di Kabupaten 50 Kota, Solok, Pasaman, Tanah Datar, dan Ikan Kerapu di Pesisir Selatan. Pengujian *Megalocityvirus* dengan metode *Nasted* PCR. *Nasted* PCR dilakukan dalam dua tahap amplifikasi PCR yang berurutan.

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

Table 1. Data Sampel Pemantauan Untuk Pengujian

No	Lokasi	Pokdakan	Alamat Pokdakan	Asal Sampel	Jenis Ikan	Gejal Klinis	Panjang (cm)	Berat (g)
1	Lima Puluh Kota	Pokdakan Maju Bersama	Jorong Simpang Tiga Kenanga, Nagari Sungai Antuan	Lima Puluh Kota	Gurame	Luka Pada Tubuh	25	245
2	Solok	Kelompok Tani Kapalo Banda	Jorong Padang Balimbian nagari Koto Sani, Kec. X Koto Singkarak	BPBAT Sungai Gelam, Jambi	Gurame	Normal	4	20
3	Pesisir Selatan	Bapak Afrizal	Kampung Sungai Bungin, Kec. Batang Kapas	Lampung	Kerapu	Normal	25	265,76
4	Pasaman	BBI Bonjol	Jorong Tanjung Bungo, Kec. Bonjol	BPBAT Sungai Gelam, Jambi	Gurame	Normal	10	19,9
5	Tanah Datar	Bapak Nanang Putra	Koto Padang Luar, Kec Rambatan	BBI Sicincin,	Gurame	Normal	6	3,1

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada tanggal 03-17 Juli 2025 di Laboratorium Balai Karantina Hewan, Ikan, dan Tumbuhan Sumatra Barat.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, autoclave, *glassware*, *dissecting set*, mikropipet berbagai rentang volume (0,1–1000 µL), vortex mixer, *laminar air flow cabinet*, *refrigerator*, *centrifuge*, *thermal cycler* (mesin PCR), *gel electrophoresis chamber*, UV Doc, dan *PCR cooler block*. Bahan yang digunakan meliputi sampel ikan dari larutan fiksatif, mikrotub dan mikrotip, agarosa, DNA ladder 100 bp, *GoTaq Green Master Mix*, TE-buffer, *nuclease-free water* (NFW), *SYBR Safe* DNA Gel Stain, kontrol positif *Megalocytivirus*, serta primer spesifik.

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

Tabel 2. Primer yang digunakan pada Uji *Megalocytivirus*

Amplifikasi	Sequence Primer	Target produk PCR
First	F: C1105 (5'-GGG TTC ATC GAC ATC TCC GCG -3')	430 bp
	R: C1106 (5'-AGG TCG CTG CGC ATG CCA ATC -3')	
Nested	F: C1073 (5'-AAT GCC GTG ACC TAC TTT GC -3')	167 bp
	R: C1074 (5'-GAT CTT AAC AGC CAG CCA CA -3')	

Langkah Kerja

A. Ekstraksi DNA menggunakan DTAB-CTAB

1. Keringkan spesimen (bagian ikan yang terdapat lesi) menggunakan tissue steril.
2. Timbang sejumlah 20 mg.
3. Masukkan ke dalam mikrotube steril berukuran 1,5 ml lalu beri 600 µ reagen DTAB.
4. Haluskan spesimen menggunakan pestle.
5. Inkubasi pada 75°C selama 5 menit, dinginkan pada suhu ruang.
6. Tambahkan 700 µl *chloroform* ke dalam mikrotube, vortex selama 10 detik dan *centrifuge* 12.000 rpm selama 5 menit.
7. Pindahkan 200 µl cairan bening yang terdapat di bagian atas mikrotube ke dalam mikrotube yang baru, tambahkan 100 µl CTAB dan 900 µl ddH2O atau NFW.
8. Vortex selama 10 detik, inkubasi pada 75°C selama 5 menit, setelah selesai turunkan suhu tabung sampai suhu 27°C.
9. *Centrifuge* pada 12.000 g selama 10 menit.
10. Buang supernatan secara hati-hati agar pelet tidak ikut terbuang.
11. Larutkan pelet menggunakan 150 µl reagen Disolve solution.
12. Inkubasi pada 75°C selama 5 menit, setelah selesai turunkan suhu mikrotube sampai 27°C.
13. Centrifuge 12.000 g selama 5 menit.
14. Pindahkan cairan bening di bagian atas mikrotube ke dalam mikrotube baru, tambahkan 300 µl ethanol 95%, vortex 10 detik.
15. *Centrifuge* pada 12.000 rpm selama 5 menit, kemudian bilas pellet dengan 200 µl ethanol 75% spin down, keringkan pellet dan larutkan dalam ddH2O atau buffer sebanyak 100µ.
16. Simpan pada suhu -20°C sampai akan digunakan dalam amplifikasi.

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

B. First Step

1. Buat mastermix berisi campuran primer C1105 (F), C1106 (R), *Go Taq Green*, NFW ditambah 2 kontrol (+/-) untuk *first step*.
2. Beri label pada *microtube* 0,2 ml sesuai dengan kebutuhan sampel dan kontrol.
3. Siapkan volume master mix (n+1, *n = jumlah reaksi*) lebih banyak dari volume yang dibutuhkan dengan formulasi. Komposisi reagen untuk setiap proses amplifikasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 3. Komposisi Mastermix PCR

Komponen	Volume (µl)
10 µM F	1 µl
10 µM R	1 µl
Go Taq Green	12 µl
Template (DNA)*	4 µl
NFW	7 µl
Total per reaksi	25 µl

4. Distribusikan master mix pada tiap tabung reaksi 21 mikroliter.
5. Template DNA dan kontrol negatif berupa NFW dimasukkan sebanyak 4 mikroliter/reaksi, kecuali kontrol positif.
6. Amplifikasi dalam mesin PCR sesuai profil amplifikasi *first step Megalocytivirus*.

C. Nasted

1. Primer C1073 (F), C1074 (R), *Go Taq Green*, dan NFW dicampurkan sama dengan jumlah pada reaksi awal.
2. Beri label pada *microtube* 0.2 ml sesuai dengan kebutuhan sampel dan kontrol.
3. *Master mix* disiapkan dengan volume (n+1, *n = jumlah reaksi*) lebih banyak dari volume yang dibutuhkan kemudian *master mix* didistribusikan ke dalam tabung reaksi 23 µl. Komposisi reagen pada proses amplifikasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 4. Komposisi Mastermix *Nested* PCR

Komponen	Volume (µl)
10 µM F	1
10 µM R	1
Go Taq Green	12
Template (DNA)*	2

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

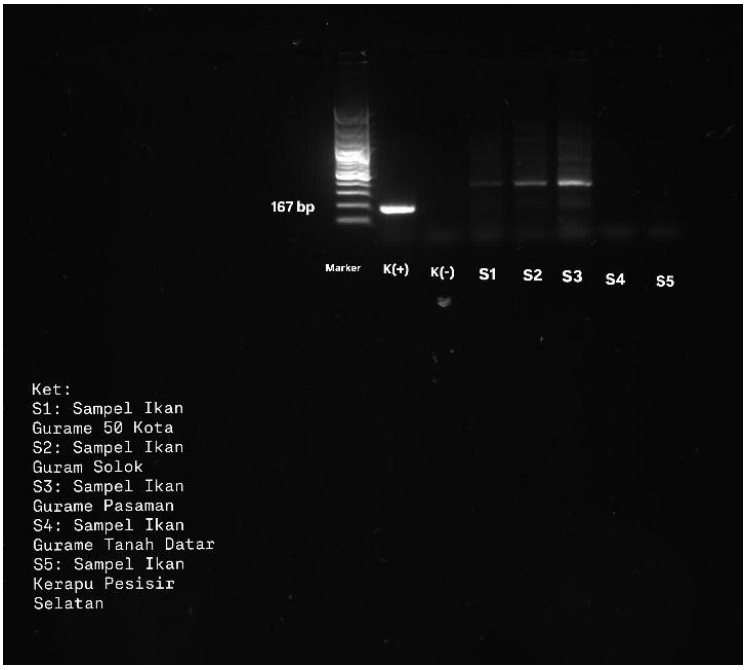
Komponen	Volume (µl)
NFW	9
Total per reaksi	25

4. Amplicon pada reaksi awal dimasukkan sebanyak 2 µl.
5. Amplifikasi dalam mesin PCR sesuai profil amplifikasi *nested Megalocytivirus* selama 108 menit.

D. Deteksi Produk PCR

1. Konsentrasi agarose 1,5% w/v dalam TAE 1×. Tambahkan pewarna (*SYBR Safe DNA / SYBR green*) sebelum agar dituangkan/dicetak.
2. Masukkan secara berurutan *marker/ladder*, kontrol +/-, dan amplikon sampel, ke dalam sumur gel sebanyak 8-10 µl secara perlahan. Volume disesuaikan dengan dalamnya lubang sumur.
3. Elektroforesis dilakukan dengan kekuatan listrik 120 V selama ±30 menit.
4. Amati gel agar di bawah sinar UV untuk melihat visualisasi pita DNA.
5. Bandingkan berat molekul target dengan marker yang digunakan.
6. Dokumentasikan dengan UV Doc.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Hasil PCR

Megalocityvirus merupakan DNA virus beruntai ganda dan memiliki ukuran partikel relatif besar dengan bentuk ikosahedral. Infeksi ini sering dikaitkan dengan penyakit sistemik yang ditandai oleh pembesaran sel secara abnormal (*megalositosis*) pada jaringan target. Ikan yang terinfeksi biasanya menunjukkan

TRIGONOMETRI
ISSN 3030-8496
Jurnal Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Vol 8 No 2 Tahun 2026
Prefix DOI : 10.3483/trigonometri.v1i1.800

gejala klinis seperti letargi, nafsu makan menurun, perubahan warna tubuh, serta pembengkakan pada limpa dan ginjal.

Berdasarkan hasil elektroforesis pada gambar, analisis PCR dengan metode *nested PCR* yang melalu proses preparasi, ektraksi DNA, first step, dan *Nested* menunjukkan bahwa tidak ditemukan pita DNA pada ukuran 167 bp untuk seluruh sampel ikan uji (S1 hingga S5), yang menandakan bahwa seluruh sampel negatif terhadap keberadaan *Megalocytivirus*. Pada kolom kontrol positif (K+), tampak jelas pita tunggal pada posisi 167 bp, yang mengonfirmasi bahwa reaksi PCR berhasil mendeteksi virus bila ada. Sementara pada kontrol negatif (K-), tidak tampak pita, menunjukkan tidak adanya kontaminasi silang dalam proses reaksi PCR. Hasil ini menegaskan bahwa semua sampel ikan gurame dan kerapu yang diuji dari berbagai daerah di Sumatera Barat (Lima Puluh Kota, Solok, Pasaman, Tanah Datar, dan Pesisir Selatan) bebas dari infeksi *Megalocytivirus*.

Kegiatan pengujian ini dilakukan sebagai bagian dari program pengawasan kesehatan ikan yang dilakukan oleh Laboratorium Karantina Ikan Sumatera Barat. Metode yang digunakan adalah PCR, teknik molekuler yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi keberadaan patogen secara langsung dari sampel jaringan ikan. Selain itu, dilakukan pula pengamatan gejala klinis secara visual untuk mendukung hasil molekuler. *Megalocytivirus* merupakan patogen virus yang sangat berbahaya dan diketahui dapat menyebabkan kematian massal pada ikan budidaya, khususnya ikan gurame dan kerapu, yang memiliki nilai ekonomi tinggi.

Dengan tidak ditemukannya indikasi infeksi pada sampel yang diuji, maka dapat disimpulkan bahwa ikan-ikan dari wilayah tersebut saat ini berada dalam kondisi sehat dan aman untuk diedarkan ke pasar. Hasil ini penting untuk mendukung kelangsungan usaha budidaya ikan dan menjamin keamanan produk perikanan bagi konsumen, serta menghindari kerugian ekonomi akibat wabah penyakit ikan yang dapat menular dengan cepat.

KESIMPULAN

Hasil analisis elektroforesis PCR menggunakan metode nested PCR, tidak ditemukan pita DNA pada ukuran target 167 bp pada seluruh sampel ikan uji (S1 hingga S5), sehingga semua sampel dinyatakan negatif terhadap *Megalocytivirus*. Keberhasilan metode PCR yang digunakan ditunjukkan oleh munculnya pita DNA tunggal berukuran 167 bp pada kontrol positif, sedangkan tidak ditemukannya pita pada kontrol negatif menegaskan bahwa tidak terjadi kontaminasi selama proses pengujian. Hasil ini menunjukkan bahwa ikan gurame dan kerapu yang berasal dari berbagai wilayah di Sumatera Barat, yaitu Lima Puluh Kota, Solok, Pasaman, Tanah Datar, dan Pesisir Selatan, berada dalam kondisi sehat dan bebas dari infeksi *Megalocytivirus*. Dengan demikian, ikan-ikan tersebut dinyatakan aman untuk diedarkan dan dikonsumsi, serta mendukung keberlanjutan usaha budidaya ikan dan upaya pencegahan kerugian ekonomi akibat wabah penyakit ikan.

SARAN

Pengujian menunjukkan bahwa seluruh sampel ikan uji bebas dari *Megalocytivirus* namun, pengawasan kesehatan ikan perlu tetap dilakukan secara rutin dan berkelanjutan dengan memanfaatkan metode molekuler yang sensitif seperti PCR. Pengujian sebaiknya dikombinasikan dengan pengamatan gejala klinis serta diperluas pada jumlah sampel, dan lokasi. Selain itu, penerapan biosekuriti yang ketat di tingkat pembudidaya dan penguatan peran laboratorium karantina

sangat disarankan guna mencegah masuk dan menyebarnya penyakit ikan yang berpotensi menimbulkan dampak ekonomi yang besar di masa yang akan datang.

REFERENSI

BKHI Sumatera Barat. (2024). *Profil Laboratorium Karantina Ikan Terakreditasi KAN*. Padang: BKHI Sumbar.

Chinchar, V. G., Hyatt, A., Miyazaki, T., & Williams, T. (2009). Family *Iridoviridae*: Poor viral relations no longer. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 328, 123–170. https://doi.org/10.1007/978-3-540-68618-7_5

Go, J., Lancaster, M., Deece, K., Dhungyel, O., & Percival, S. (2006). *Comparison of two Megalocytivirus isolates from fish using histology, immunohistochemistry and electron microscopy*. *Journal of Fish Diseases*, 29(10), 649–655. https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00762.x

Kurita, J., & Nakajima, K. (2012). Megalocytiviruses. In Woo, P.T.K., & Bruno, D.W. (Eds.), *Fish Diseases and Disorders: Viral, Bacterial and Fungal Infections* (Vol. 3, pp. 150–175). *CABI Publishing*.

Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). *Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction*. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350.

Murphy, F. A., Fauquet, C. M., Bishop, D. H. L., *et al*. (2003). *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses*. *Academic Press*.

OIE (World Organisation for Animal Health). (2019). *Infection with Megalocytivirus*. In *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*. OIE, Paris.

Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). *Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase*. *Science*, 239(4839), 487–491. https://doi.org/10.1126/science.239.4839.487

Sudthongkong, C., Miyata, M., & Miyazaki, T. (2002). Viral DNA sequences of piscine iridovirus detected in grouper (*Epinephelus* sp.) with sleeping disease. *Diseases of Aquatic Organisms*, 51, 1–7. https://doi.org/10.3354/dao051001

Wang, C. S., Shih, H. H., Ku, C. C., & Chen, S. N. (2007). *Studies on the occurrence of megalocytivirus infection in cultured marine fish in Taiwan*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **75**(3), 217–225. https://doi.org/10.3354/dao075217