

**VIRULENSI *WHITE SPOT SYNDROME VIRUS* (WSSV)  
PADA UDANG PISANG (*Penaeus* sp)****Nurbariah<sup>1)</sup> dan Khairurrazi<sup>2)</sup>**<sup>1,2)</sup>Balai Perikanan Budidaya Air Payau (BPBAP) Ujung Batee, Aceh  
Email: no3r\_97@yahoo.com**ABSTRAK**

Udang pisang (*Penaeus* sp) merupakan komoditas lokal yang memiliki kemiripan ciri morfologis dengan udang windu (*Penaeus monodon*) sedang dikembangkan sebagai upaya diversifikasi komoditas budidaya. Dalam kegiatan budidaya, penyakit merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses produksi terutama penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus. *White Spot Syndrome Virus* (WSSV), dengan daya virulensi yang tinggi dan cakupan inang yang luas, termasuk salah satu virus yang sering menyerang udang budidaya. Udang windu yang terinfeksi WSSV digunakan sebagai sumber virus dalam pengujian penularan WSSV pada udang pisang. Perlakuan penularan WSSV dilakukan menggunakan dua perlakuan inokulum virus (20 mg/ml dan 20 µg/ml) yang diinjeksikan intra muscular (IM) kemudian udang dipelihara selama 5 hari dalam akuarium. Setiap hari dilakukan pengamatan terhadap gejala klinis yang muncul serta diakhir masa pemeliharaan dilakukan pengujian *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mendeteksi WSSV pada sampel uji. Hasil dari pengujian penularan WSSV menunjukkan bahwa inokulum WSSV yang berasal dari udang windu dapat menginfeksi udang pisang dengan kematian pada hari ketiga (perlakuan 2) setelah injeksi dan gejala klinis berupa bintik putih serta warna tubuh kemerahan. Inokulum WSSV dengan konsentrasi yang lebih rendah (perlakuan 2) belum mampu menginfeksi udang pisang selama 5 hari masa pemeliharaan.

**Kata Kunci:** Udang Pisang, WSSV, PCR**PENDAHULUAN**

**U**dang pisang (*Penaeus* sp) adalah udang lokal yang terdapat di wilayah pantai Barat Aceh, udang tersebut memiliki ciri morfologi yang hampir sama dengan udang windu (*Penaeus monodon*) (BPBAP Ujung Batee, 2014). Dalam budidaya udang di tambak, udang pisang selama ini dianggap sebagai udang liar yang masuk ke areal tambak budidaya. Namun dari pengamatan petambak diketahui bahwa udang pisang memiliki ketahanan hidup yang cukup tinggi. Sebagai komoditas liar, pengkondisian udang pisang menjadi komoditas budidaya merupakan usaha domestikasi dengan tujuan diversifikasi komoditas budidaya.

Dalam budidaya udang, penyakit merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi hasil produksi. Penyakit terutama penyakit infeksius yang disebabkan oleh virus menjadi patogen yang sangat penting.

Virus dapat menyerang berbagai stadia pertumbuhan udang dan akibat dari infeksi virus antara lain pertumbuhan lambat, perubahan bentuk tubuh atau kematian. Salah satu jenis virus yang sering menyerang udang adalah *White Spot Syndrome Virus* (WSSV) merupakan virus *double stranded* DNA (ds-DNA), berselubung, memiliki bentuk bundar batang dan memiliki ekor di salah satu bagian ujungnya (Yang *et al.*, 2001). Virus WSSV mempunyai kisaran inang yang luas (Escobedo-Bonilla *et al.*, 2008), daya virulensi yang tinggi dan menyebabkan angka kematian kumulatif mencapai 100% dalam beberapa hari pada kasus budidaya udang Penaeid (Samyukthaa dan Pasupathi, 2013). Dengan daya mortalitas yang cukup tinggi dalam waktu singkat maka WSSV dapat menyebabkan kerugian ekonomi yang cukup besar. WSSV bersifat patogen terhadap banyak hewan akuatik terutama krustasea

termasuk udang laut, udang air tawar, kepiting dan lobster (Reddy *et al.*, 2013). Daya virulensi yang tinggi dan kisaran inang yang cukup luas dari WSSV mungkin dapat mempengaruhi proses produksi budidaya udang pisang, oleh karena itu perlu dilakukan uji penularan WSSV untuk mengetahui virulensi WSSV terhadap udang pisang.

## METODE PENELITIAN

### Inokulum Virus WSSV

Virus WSSV yang digunakan dalam pembuatan inokulum diperoleh dari udang windu yang diketahui terinfeksi WSSV. Sebanyak 1 gram organ dari sampel udang digerus dan dicampurkan dengan 9 ml *Phospat Buffer Saline* (PBS). Campuran tersebut kemudian disentrifuse pada kecepatan 3000 g selama 30 menit, supernatan yang diperoleh disentrifuse kembali pada kecepatan 8000 g selama 30 menit. Supernatan berikutnya kemudian disaring melewati filter 0,45  $\mu\text{m}$  sehingga didapatkan larutan inokulum virus dengan konsentrasi 20 mg/ml (perlakuan 1). Larutan ini kemudian diencerkan menggunakan PBS (1:9) sebanyak tiga tingkatan sehingga didapatkan konsentrasi inokulum 20  $\mu\text{g/ml}$  (perlakuan 2).

### Uji Penularan WSSV

Inokulum virus sebanyak 0,1 ml diinjeksikan masing-masing pada 5 ekor sampel uji (berat rata-rata 4 gram) melalui jalur intra muscular (IM) di ruas tubuh ketiga. Sampel uji kemudian dipelihara dalam akuarium dan dilakukan pengamatan sampai hari kelima. Selama masa pemeliharaan dilakukan pengamatan terhadap gejala klinis yang muncul berupa perubahan pada tubuh dan tingkah laku serta dilakukan pengambilan sampel untuk pengujian dengan metoda *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

### Deteksi WSSV dengan Metoda PCR

Kaki renang atau insang dari masing-masing sampel uji diambil untuk ekstraksi DNA menggunakan metoda lisis bufer. Hasil ekstraksi

DNA kemudian dilanjutkan ke proses PCR mengikuti metoda pada SNI 7305:2009 yaitu metoda nested PCR dengan primer 146 F1, 146 R1, 146 F2 dan 146 R2 dengan hasil 1447 bp serta 961 bp.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hari pertama setelah penginjeksian inokulum virus belum terlihat gejala perubahan pada sampel uji. Pada hari kedua terlihat perubahan tingkah laku pada sampel uji perlakuan 1 yang diinjeksi dengan inokulum virus 20 mg/ml berupa pengurangan nafsu makan dan terlihat lemah. Terjadi kematian sampel uji perlakuan 1 sebanyak tiga ekor pada hari ketiga dengan tubuh yang terlihat kemerahan dan munculnya bintik putih (Gambar 1), kematian dua ekor sampel uji menyusul terjadi pada sore hari ketiga dengan gejala yang sama. Bintik putih pada karapaks dan perubahan warna tubuh menjadi kemerahan merupakan gejala klinis dari penyakit yang disebabkan oleh WSSV, jika dilakukan analisis secara histologi akan ditemukan hipertropi inti pada sel-sel kutikular epitel, sel-sel jaringan ikat dan hemosit (Lightner, 1996). Bintik putih merupakan gejala yang spesifik pada udang yang terserang WSSV sedangkan letargi seperti penurunan nafsu makan dan aktifitas renang merupakan gejala umum hewan terinfeksi WSSV (Vlak *et al.*, 2002).

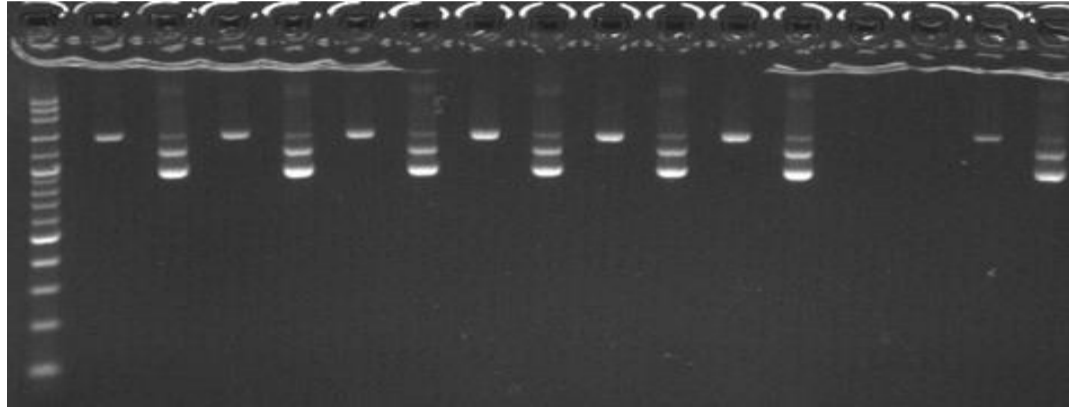


Gambar 1. Bintik putih pada karapaks dan perubahan warna tubuh

Pada hari ketiga setelah injeksi inokulum virus, semua sampel uji pada perlakuan 1 mengalami kematian dengan nilai prevalensi 100% namun sampai dengan hari kelima tidak

terjadi kematian serta tidak muncul gejala klinis pada sampel uji perlakuan 2. Semua sampel uji dari kedua perlakuan kemudian diambil dan diuji dengan menggunakan metoda PCR untuk mendeteksi WSSV. Hasil PCR menunjukkan bahwa semua sampel uji dari perlakuan 1 terdeteksi WSSV dengan terlihatnya pita DNA sampel uji pada 1447 dan 961 bp (Gambar 2). Kedua pita DNA yang terlihat pada dua step PCR menunjukkan bahwa konsentrasi dan

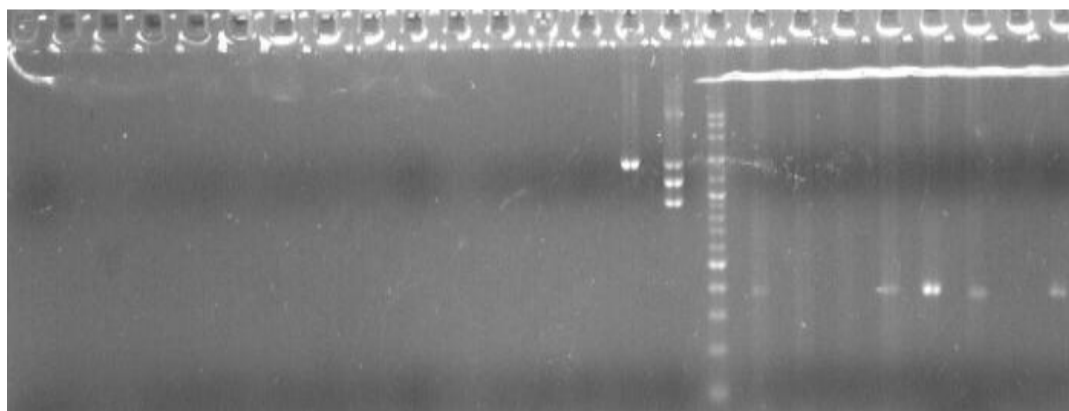
tingkat serangan WSSV pada sampel uji sangat tinggi namun untuk mengetahui jumlah konsentrasi copi virus WSSV harus dilakukan pengujian menggunakan quantitative PCR. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tang dan Lightner (2000) bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi virus dengan keparahan serangan WSSV namun tingkat keparahan tidak menunjukkan secara langsung jumlah virus pada jaringan yang terinfeksi.



Gambar 2. Hasil PCR dari perlakuan 1 (inokulum virus WSSV 20 mg/ml)

Keterangan:

Baris 1) DNA marker (100 bp); Baris 2-6) sampel uji (step 1&2); Baris 7) kontrol positif WSSV step 1 (1447 bp) dan step 2 (961 bp); Baris 8) kontrol negatif



Gambar 3. Hasil PCR dari perlakuan 2 (inokulum virus WSSV 20 µg/ml)

Keterangan:

Baris 1-5) sampel uji (step 1&2); Baris 6) kontrol negatif; Baris 7) kontrol positif WSSV step 1 (1447 bp) dan step 2 (961 bp); Baris 8) DNA marker (100 bp)

Berkebalikan dengan sampel uji perlakuan 1, pada hasil PCR dari sampel uji perlakuan 2 tidak memperlihatkan kemunculan pita DNA dari sampel uji (Gambar 3), hal ini menunjukkan bahwa sampel uji pada perlakuan 2 tidak terdeteksi WSSV walaupun telah dilakukan penginjeksian inokulum virus. Sampel uji pada perlakuan 2 tidak terdeteksi WSSV dimungkinkan karena konsentrasi inokulum virus yang diinjeksikan sangat sedikit sehingga dalam waktu lima hari belum mampu menginfeksi sampel uji. Selain itu ketahanan

tubuh udang pisang mungkin juga dapat menghambat terjadinya infeksi WSSV seperti yang dikemukakan oleh Stanliraj *et al.* (2009) bahwa perbedaan virulensi dari WSSV tidak disebabkan karena perubahan pada virus namun mungkin disebabkan oleh sistem pertahanan udang menghasilkan faktor yang menyebabkan virus tidak menimbulkan kematian.

Inokulum virus WSSV yang digunakan dalam uji penularan WSSV ini berasal dari udang windu yang terinfeksi WSSV. Inokulum virus dari udang windu tersebut ternyata mampu

menginfeksi udang pisang berdasarkan gejala klinis yang muncul dan hasil uji PCR, hal ini mungkin karena udang pisang masih sama berada dalam satu famili Penaeid dan strain isolat WSSV udang windu tersebut mampu menginfeksi udang pisang. Dari hasil uji penularan WSSV ini memberikan informasi bahwa diperlukan penerapan biosecurity dan manajemen budidaya yang baik sehingga tidak terjadi penyebaran penyakit terutama WSSV antar tambak pemeliharaan karena sifat dari WSSV yang memiliki kemampuan virulensi tinggi serta cakupan inang yang cukup luas.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Bakhtiar, Kesumawati E, Hidayat T dan Rahmawati M (2011) Karakterisasi plasma nutfah padi lokal Aceh. *Agrista* 15 (3): 79-86.
- Balai Perikanan Budidaya Air Payau (Bpbap) Ujung Batee. 2014. *Petunjuk Teknis Pembenihan Udang Pisang*.
- Escobedo-Bonilla C.M., V Alday-Sanz, M Wille, P Sorgeloos, M B Pensaert, H J Nauwynck. 2008. A Review On The Morphology, Molecular Characterization, Morphogenesis And Pathogenesis Of White Spot Syndrome Virus. *Journal Of Fish Disease* 31:1-18.
- Hameed A.S.S., M. Anilkumar, M.L.S.Raj. K. Jayaraman.1998. Studies On The Pathogenicity Of Systemic Ectodermal Mesodermal Baculovirus And Its Detection In Shrimp By Immunological Methods. *Aquaculture* 160 : 31- 45.
- Lightner D.V. 1996. *A Handbook Of Shrimp Pathology And Diagnostic Procedures For Diseases Of Cultured Penaeid Shrimp*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, La, Usa.
- Reddy A.D., Geevaretnam J., Robinson J.S. 2013. Morphogenesis, Pathogenesis, Detection And Transmission Risks Of White Spot Syndrome Virus In Shrimps. *Fisheries And Aquaculture Journal*, Vol. 2013: Faj-66.
- Samyukthaa D., Pasupathi R. 2013. On Field Detection Of White Spot Syndrome Virus (Wssv) Infected Shrimp Using Loop Mediated Isothermal Amplification. *Research Journal Of Biotechnology* Vol. 8 (6) June.
- SNI 7305:2009. *Metode Polymerase Chain Reaction (Pcr) Untuk Identifikasi White Spot Syndrome Virus (Wssv) Dan Invectious Hypodermal And Haematopietic Necrosis Virus (Ihnhv)*
- Stalinraj V., Koyadan K.V., Mohandas S., Changaramkumarth P.B., Shankar V.A., Thairiyam C.S. 2009. Virulence Status, Viral Accomodation And Structural Protein Profile Of White Spot Syndrome Virus Isolates In Farmed Penaeus Monodon From The Southeast Coast Of India. *Aquaculture Research* 40:129-138.
- Tang K.F.J., Donald V.L. 2000. Quantification Of White Spot Syndrome Virus Dna Through A Competitive Polymerase Chain Reaction. *Aquaculture* 189: 11-21.
- Vlak J.M., Jean-Robert B., Tim W.F., Guang-Hsiung K., Donald V.L., Chu-Fang L., Philip C.L., Peter J.W. 2002. A New Virus Family Infecting Aquatik Invertebrates. *Xiith International Congress Of Virology*. Paris.
- Yang, F., He, J., Lin, X., Li, Q., Pan, D., Zhang, X., Xu, X., 2001. Complete genome sequence of the shrimp white spot bacilliform virus. *J. Virol.* 75, 11811-11820.

#### KESIMPULAN

Inokulum virus WSSV yang berasal dari udang windu mampu menginfeksi udang pisang dan konsentrasi tinggi inokulum virus WSSV akan menyebabkan kematian yang cepat dalam waktu singkat. Inokulum virus WSSV dengan konsentrasi rendah memerlukan waktu untuk menginfeksi udang pisang sehingga aplikasi manajemen budidaya yang baik diperlukan untuk menghambat penularan virus atau mengurangi kematian akibat serangan WSSV.