

Pemeriksaan virus white spot syndrom virus (WSSV) pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) di Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu Dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Aceh

[Examination of white spot syndrom virus (WSSV) on the white shrimp at fish quarantine stations for quality control and safety of fishery products (SKIPM) Aceh]

Fauziati, Devi Yulianti

Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Aceh, Indonesia.

*E-mail korespondensi: fauziati19@gmail.com, yuliadevie24640@gmail.com

ABSTRAK

Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan komoditas air payau yang saat ini telah banyak diminati dan menjadi produk unggul sektor perikanan budidaya di Indonesia. Penurunan produksi dan budidaya udang vaname ini disebabkan oleh adanya penyakit WSSV (*White spot Syndrom Virus*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mendeteksi penyakit WSSV pada udang vaname di Unit Usaha Pembudidayaan Ikan PT. Surya Windu Pertiwi. Penelitian ini dilakukan pada Bulan Februari-Maret 2022, bertempat di Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Aceh. Penelitian dilakukan dengan metode observasi skala laboratorium. Sampel yang digunakan adalah benih udang vaname. Metode untuk mendeteksi penyakit WSSV menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel benur udang vaname yang diamati negatif dari virus penyebab penyakit WSSV. Terlihat dari hasil elektroporesis DNA (size 941).

Kata Kunci: *Litopenaeus vannamei*, *Polymerase Chain Reaction*, *White Spot Syndrom Virus*.

ABSTRACT

White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is a product of brackish water, which has been much in demand and has become a superior product in the aquaculture sector in Indonesia. The purpose of this study was to determine the detection of WSSV Virus (*White Spot Syndrom Virus*) in white shrimp at PT. Surya Windu Pertiwi Hatchery. This research was conducted from February to March 2022, and was carried out on a laboratory scale using white shrimp seed. Methods to detect WSSV disease using *Polymerase Chain Reaction* (PCR). The results showed that the sample of white shrimp fry was negative for the virus that causes WSSV disease. It can be seen from the results of DNA electroporesis (size 941).

Key words : *Litopenaeus vannamei*, *Polymerase Chain Reaction*, *White Spot Syndrom Virus*.

PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) merupakan salah satu

komoditas unggulan sekaligus komoditas perdagangan terpenting di Indonesia. Lokasi budidaya udang secara umum tersebar di seluruh daerah yang ada di

Indonesia. Sentra produksi udang terdapat di Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Barat, Jawa Timur, Nusa Tenggara Barat, Kalimantan Timur dan Sulawesi Selatan.

Kontribusi ekspor udang vaname mencapai 45,6% dari keseluruhan nilai perdagangan ekspor komoditas perikanan. Namun penurunan volume ekspor akibat terjadinya penurunan produksi yang sangat drastis salah satu penyebab terjadinya penurunan produksi dan budidaya udang vaname.

Penyakit pada usaha budidaya hewan-hewan akuatik merupakan salah satu mata rantai penyebab kegagalan produksi, termasuk pada budidaya udang vaname. Infeksi viral dan infeksi bakterial adalah penyebab utama terjadinya kematian massal udang vaname, baik pada saat pembenihan maupun pembesaran.

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh virus sehingga terjadi penurunan produksi adalah adanya penyakit WSSV (*White spot Syndrom Virus*). Menurut Alifuddin (2003) dan Witteveldt (2004), serangan penyakit WSSV di Indonesia pertama kali di laporkan pada area pertambakan udang vaname di Tangerang, Serang, dan Karawang pertengahan tahun 1994

(Mahardika, 2004). Penyakit WSSV tersebut juga menyerang tambak tradisional di Bagis, Pasuruan, Jawa Timur pada tahun 1999 dan sampai saat ini belum bisa di atasi.

Penyakit WSSV di perkirakan telah menyebar di berbagai tambak udang di seluruh dunia termasuk di hatchery Unit Usaha Pembudidayaan Ikan PT. Surya Windu Pertiwi Bireun. Sejauh ini, penyakit udang vaname yang di sebabkan oleh virus hanya bisa di antisipasi dengan tindakan pencegahan meliputi benih udang yang unggul. WSSV merupakan pathogen yang sering menginfeksi udang udang vaname. WSSV adalah penyakit viral yang sangat virulen dan dapat menyerang berbagai jenis udang (Lightner, 1996). Penyebaran penyakit WSSV pada udang vaname bisa secara vertikal melalui induk menularkan ke larvanya dan secara horizontal melalui air yang tidak disucihamakan (*waterborne transmission*).

Penyakit WSSV dapat menyebabkan kematian massal pada udang udang vaname sampai 100% selama 2-7 hari baik di panti pembenihan maupun di tambak sehingga produksi menurun. Di dalam sistem budidaya, virus ini dapat ditransmisikan lewat proses kanibalisme udang yang baru mati

atau lewat air yang memang sudah terkontaminasi (Chang *et al.*, 1996). Pendekatan yang dapat dilakukan adalah melalui pemanfaatan teknik *polymerase chain reaction* (PCR) yang bekerja secara spesifik dan sensitive. Teknik PCR dapat digunakan untuk pemeriksaan virus pada udang vaname terutama yang di budidayakan. Keberadaan virus dapat dilacak sejak dini dari DNA/RNA virus yang jumlahnya sedikit dapat dilihat dengan PCR.

METODE PENELITIAN

Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga Maret 2022 di Laboratorium Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Aceh.

Alat dan bahan

Alat yang di gunakan untuk peneltian ini adalah tabung sentrifuge sebagai wadah sampel yang akan di uji, pipet tips sebagai tempat dari sampel yang di campur, elektroforesis untuk visualisasi DNA, mikropipet pengambilan sampel, hotplet untuk tempat pemanasan agaros, elektroforesis pemisahan DNA, *tray* elektroforesis untuk pembentukan atau pencetak agaros,

magnetic stirrer menghomogenkan gel agaros, timbangan analitik untuk menentukan jumlah sampel yang akan di uji dan jumlah agaros yang di gunakan, labu erlenmeyer penyimpanan agaros, Sentrifuge penyimpanan supernatant, Sarung tangan untuk menghindari kontaminasi, dan vortek untuk mencampurkan larutan.

Pengambilan sampel

Untuk mengetahui ciri-ciri naupli yang baik dapat dilihat dari warna naupli yang berwarna oranye kemerahan, fototaksis positif, bergerak aktif dan sifatnya yang mengumpul diatas permukaan (SNI Benih Udang Vaname, 01-7252-2006). Prosedur kerja penelitian ini adalah dengan pengambilan sampel yang diduga terinfeksi WSSV. Sampel yang diambil untuk pemeriksaan WSSV yaitu meliputi seluruh bagian tubuh.

Ekstraksi Virus

Selanjutnya di bawa ke laboratorium untuk dilakukan penimbangan sampel sebanyak 20 mg. Kemudian menghancurkan sampel udang yang telah ditimbang, lalu tambahkan atau campurkan dengan cairan nuclei lysis solution, tambahkan 3 μ L larutan RNasesolution ke dalam larutan nucleid

atau jaringan dan campurkan hingga homogen, lalu inkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C dan kemudian di diamkan pada suhu pendinginan, lalu tambahkan 200 µL larutan protein precipitation solution, vortex dan dinginkan pada es selama 15 menit, sentrifuge pada 13,000-16,000 xg selama 4 menit dan pindahkan supernatant ke dalam tabung baru yang telah berisi 600 µL isopropanol, kemudian campurkan secara perlahan dengan membolak-balik tabung, lalu sentrifugasi pada 13,000-16,00 µL selama 1 menit, kemudian buang supernatant dan tambahkan 600 µL larutan etanol 70% kemudian campurkan hingga merata Sentrifugasi selama 1 menit, Kering-anginkan etanol selama 15 menit lalu kemudian Rehidrasi DNA dalam 100 µL larutan DNA Rehydration solution selama 1 malam pada suhu 65 °C.

Elektroporesis

Penggunaan elektroporesis dimulai dari persiapan gel agarose. Selanjutnya agarose ditimbang sesuai dengan keperluan, kemudian dilarutkan dalam larutan TAE 1 x. Konsentrasi agarose yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1,5%. Dengan menggunakan pemanas (hotplate) agarose dilarutkan sampai mendidih dan jernih kemudian dicetak dalam tray agarose yang telah

dilengkapi dengan sisir dan cairan TAE sebanyak 100 ml dan agades 900 ml untuk membentuk sumur-sumur gel agaros. Setelah agarose dingin, dengan sangat hati-hati sisir tray diangkat kemudian gel dimasukkan kedalam elektroforesis apparatus yang telah diisi dengan TAE 1 x sebagai *buffer* elektroforesis. Running elektroforesis. Untuk mengetahui apakah suatu sampel terinfeksi dengan virus WSSV (*White Spot Syndrome Virus*). Setelah semua hasil PCR diinjeksikan kedalam sumur-sumur gel elektroforesis, selanjutnya elektroforesis dijalankan dengan selama 1 jam. Selanjutnya untuk mengetahui ada tidaknya infeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) terhadap sampel-sampel yang dideteksi makangel hasil elektroforesis diamati menggunakan UVDOCK yang sekaligus dilakukan pengambilan foto.

HASIL DAN PEMBAHASAN

WSSV merupakan virus penyebab White spot disease (WSD) pada udang. Virus DNA dari famili Nimaviridea dan genus *Whispovirus* ini dapat hidup di kolam selama 3-4 hari. WSSV menyebabkan perubahan histopatologis, kerusakan hampir semua jaringan, hypertrophy, dan ditemukan badan

inklusi berwarna esinofilik atau basofilik yang dikenal dengan Cowdry Type-A inclusion body (Lightner, 1996).

Beberapa jenis virus lainnya yang termasuk dalam hama dan penyakit ikan karantina menurut Keputusan Menteri No.26/MEN/2013 yang telah mewabah di Wilayah Sulawesi Selatan adalah: *White spot syndrome virus* (WSSV), *Monodon Baculovirus*, *Yellowhead Virus* (YHV) dan *Koi Herpes Virus* (KHV), sedangkan yang telah mewabah di Indonesia adalah *Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus* (IHHNV), *Monodon baculovirus*, *Yellowhead virus* (YHV), *White spot syndrome virus* (WSSV), *Viral nervous necrosis virus* (VNNV), *Herpes Virus Ictaluri*, *Taura Syndrome Virus* (TSV), *Megalocyti Virus*, *Infectious Myinecrotic Virus* (IMNV) dan *Koi Herpes Virus* (KHV).

Sampel yang diambil untuk keperluan pemeriksaan berupa benur udang vaname hidup (Gambar 1). Secara kasat mata benur terlihat gerakan gesit dari benur. Menurut BBL Lampung, (2002), dalam pengambilan sampel mencatat semua data sejarah sampel tersebut yang meliputi: waktu pengambilan sampel, gejala klinis, spesies, umur, berat, sumber atau asal pemeliharaan, asal induk dan lain-lain.

Ini bertujuan untuk mendeteksi sampel pemeriksaan sumber atau asal pemeliharaan. Apabila tidak menunjukkan gejala, sampel ikan diambil secara acak dan jumlah sampel tergantung populasi. Prosedur pengambilan contoh uji untuk pemeriksaan Virus WSSV (*White Spot Syndrom Virus*) dilakukan dengan menggunakan Sistem Pool. Metode pengambilan dengan Sistem Pool digunakan untuk menetapkan status bebas suatu penyakit pada zona / wilayah / kompartemen tertentu. Penentuan besaran contoh uji pada suatu populasi berdasarkan Martin et al. (1987) menggunakan pendekatan tingkat akurasi 95%.

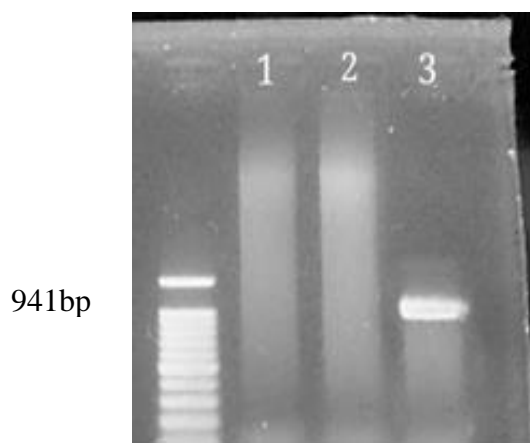


Gambar 1. Sampel benur udang vaname

Target organ pemeriksaan virus pada seluruh tubuh benih udang vaname. Pemeriksaan virus dilakukan dengan metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR). PCR merupakan teknik biologi molecular untuk mereplikasi DNA secara

enzimatis tanpa menggunakan organisme hidup. Teknik ini memungkinkan sejumlah kecil molekul DNA untuk diperbanyak jumlahnya secara eksponensial sehingga analisis dapat dilakukan dengan mudah. PCR digunakan untuk memperbesar bagian (fragmen) tertentu dari rantai DNA dengan panjang rantai yang sangat pendek. Dalam mengkopi DNA, PCR menggunakan enzim polimerase termostabil dengan cepat (Sitohang *dkk*, 2022). Satu duplikat rantai DNA dengan panjang 1 kbp, 1011 rantai duplikatnya dapat dibuat hanya dalam beberapa jam.

Berdasarkan hasil elektroporesis PCR WSSV terlihat bahwa sampel udang vaname negatif terinfeksi WSSV. Hal ini dapat dilihat pada (Gambar 2).



Gambar 2. Visualisasi DNA hasil PCR

Keterangan :

1 = Sampel uji

2 = Kontrol Negatif

3 = Kontrol positif

Proses pemeriksaan virus terdiri dari tiga tahapan berupa ekstraksi DNA/RNA dilanjutkan dengan proses amplifikasi dan ditutup dengan proses elektroforesis. Analisa hasil berupa pembacaan foto hasil gel elektroforesis yang telah diwarnai dengan Ethidium Bromide.

Proses ekstraksi DNA menggunakan DNA Lysis Buffer (IQ-2000) sedangkan untuk ekstraksi RNA menggunakan RNA Estration solution (IQ-2000). Hasil ekstraksi diamplifikasi menggunakan primer sesuai jenis penyakit virus yang akan dideteksi. Tahap amplifikasi secara prinsipil terdapat 3 fase yaitu denaturasi atau pemisahan struktur, anealling atau penyambungan dan yang terakhir amplifikasi atau pengkopian.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa sampel udang vanamei yang diamati berdasarkan analisis PCR terdeteksi negatif dari jenis virus *White Spot Syndrome Virus* (WSSV).

DAFTAR PUSTAKA

- Alifuddin, M., Dana, D., Malole, M.B., Pararibu FH. 2003. Pathogenesis infeksi WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) pada Udang Windu (*Penaeus monodon* Fab). *J Akuakultur Indonesia* 2: 85-92.
- Badan Standarisasi Nasional. 2006. SNI Benih udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) kelas benih sebar – SNI 01-7252-2006. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- Balai Buidaya Laut Lampung. 2002. Pengelolaan Kesehatan Ikan Budidaya Laut. Balai Budidaya Laut Lampung. Lampung
- Boyd. 1990. Water Quality In Pond For Aquaculture. Auburn University Alabama.
- Faruza. 2014. Teknik Diognosa Penyakit Ikan. http://www.academia.edu/4876626/teknik_diagnosapenyakit_ikan [5 Maret 2014].
- Haliman, R.W., dan Adijaya, S. 2005. Udang vannamei pembudidayaan dan prospek pasar udang putih yang tahan penyakit. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid, Shrimp World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 p.
- Mahardika, K., Zafran, dan I. Koesharyani. 2004. Deteksi WSSV (*white spot syndrome virus*) pada udang windu (*Penaeus monodon*) di Bali dan Jawa timur menggunakan metode polymerase chain reaction (PCR). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 10 (1): 55-60.
- Sing, CP., D.H. Tasi, C.Y., Huang, C.H., Wang, H.C., Chiang, C.F. Lo. 1996. *Development and Evaluation of Dot Blot Analysis for Detection of White Spot Syndrome Baculovirus (WSVB) in Penaeus monodon.*
- Sing, CP., C. F. Lo, Y.C. Wang. dan G. H. Kou .1996. Identification of white spot syndrome associated baculovirus (WSBV) target organs in the shrimp *Penaeus monodon* by in situ hybridization. *Dis. Aquat. Organ.* 27: 131–139.
- Sing, C.P., H.C. Chen, dan Y.C. Wang. 1998. Detection of White Spot Syndrome Associated Baculovirus in Eksperimentally Infected Wild Shrimp, crab and Lobsters by in Situ Hybridization *Aquacult.* 164: 233-242.
- Sitohang, S., Prasetyo, D., Noer, Z., dkk. Pengantar Bioteknologi. Tohar Media. Makassar. Pp 209.
- Sulistinaro, D. 2008. Manajemen Pemeliharaan Budidaya Udang Berwawasan Lingkungan. Balai Budiday. Air Payau, Jepara.
- Suyanto, S.R, dan A. Mujiman. 2003. *Budidaya Udang Windu.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Tricahyo, E., 1995. Biologi dan Kultur Udang Winduh (*Panaeus monodon* FAB). Akademika Persindo. Jakarta.
- Wittefeldt, J., Cifuentes, C.C., Vlak, J.M., Van Hulsten, M.C.W. 2004. Protection of *Penaeus monodon* Against WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) by Oral Vaccination. *Journal Virology* 78: 2057-2061.