

**PENGARUH PEMBERIAN VAKSIN *WHOLE CELL KILLED VIRUS*
TERHADAP SINTASAN UDANG VANNAMEI
(*Litopenaeus vannamei*) YANG DIINFEKSI
WHITESPOT BACULOVIRUS (WSBV)**

**THE INFLUENCE OF WHITESPOT BACULOVIRUS (WSBV)
INFECTION IN *Litopenaeus vannamei* BY GIVING
WHOLE CELL KILLED VIRUS VACCINE
ON SURVIVAL RATE.**

Hari Suprpto, Angga Bahtera Siswanto dan Boedi Setya Rahardja

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

Abstract

Shrimp are susceptible to a wide variety of pathogens, one of each were viruses. *Whitespot Baculovirus* (WSBV) is one of virus attack in vannamei. Shrimp had been infected by WSBV will showed high mortality. One of Strategies for prophylaxis and control of WSBV is enhancement of disease resistant by using vaccines. Recently, quasi-immune response have been reported by which *Penaeus japonicus* surviving from WSBV infections possess a resistance against challenge WSBV (Venegas *et al.*, 2000). This study was used *Litopenaeus vannamei* that been vaccination with inactivated-formaline WSBV virus cell or it called *Whole Cell Killed Virus* (WCKV) to know its responses to WSBV. The aim of this study was to know the effect *Whole Cell Killed Virus* vaccine to survival rate vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) infected by *Whitespot Baculovirus* (WSBV). This study used descriptive study. The efficacy of vaccines made of inactivated WSSV with different dose. The dose are P1 (dose 0,01 µg/ml each shrimp), P2 (dose 0,02 µg/ml each shrimp), P3 (dose 0,03 µg/ml each shrimp) dan P4 (non-vaccine (kontrol) injected by PBS). Primary parameter was survival rate (%). Secondary parameter was water quality which of temperature, pH, salinity and dissolved oxygen. The result showed that survival rate of *L. Vannamei* with different dose of WCKV vaccines was increases.

Key words : *Litopenaeus vannamei*, vaccination, WCKV

Pendahuluan

Udang vannamei memiliki kelebihan diantaranya pertumbuhannya cepat, dapat dibudidayakan dengan kepadatan yang tinggi dan harga pasar cukup tinggi (Nur'aini dkk., 2007). Ekawati (2008) menyatakan berdasarkan data pemerintah kapasitas produksi udang jenis *vannamei* dalam negeri mencapai 270 ton per tahun. Dalam budidaya sering timbul berbagai kendala yang salah satunya adalah adanya serangan penyakit.

Udang sangat rentan terhadap serangan penyakit yang disebabkan oleh parasit, jamur, protozoa, bakteri dan virus (Astuti, 2009). Sekitar 40% dari produksi udang hilang akibat infeksi penyakit, terutama penyakit yang disebabkan oleh serangan virus. Salah satu jenis virus yang menyerang udang vannamei yaitu *Whitespot Baculovirus* (WSBV) atau lebih dikenal dengan nama *white spot syndrome* (WSS) (Wittevelldt, 2006). Udang yang telah terinfeksi WSBV akan menunjukkan kematian yang

tinggi dan rata-rata kematian sampai 100% dalam jangka waktu 3-10 hari (Liu *et al.*, 2009).

Penanganan penyakit yang disebabkan oleh virus yang menyerang udang belum banyak dilakukan. Strategi pencegahan dan kontrol terhadap serangan WSBV adalah dengan meningkatkan kekebalan tubuh terhadap penyakit, salah satunya dengan menggunakan vaksin (Namikoshi *et al.*, 2003). Udang tidak mempunyai respon imun spesifik dengan immunoglobulin, tetapi akhir-akhir ini dilaporkan adanya *quasi-immune response* pada *Penaeus japonicus*. Penelitian yang dilakukan oleh Namikoshi *et al.* (2003) terdapat proteksi dari infeksi WSBV terhadap *Penaeus japonicus* yang telah di vaksin dengan WSSV yang telah dimatikan (*inactivated* WSBV). Pada penelitian ini menggunakan *Litopenaeus vannamei* yang di vaksinasi dengan sel virus WSBV yang dimatikan dengan formalin atau disebut *Whole Cell Killed Virus* (WCKV) untuk mengetahui adanya respon terhadap infeksi WSBV.

Materi dan Metode Penelitian

Persiapan udang uji

Udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*) yang digunakan berumur 2 bulan dengan berat tubuh berkisar antara 20-25 gram sebanyak 80 ekor yang kondisinya sehat dan tidak ada indikasi infeksi penyakit baik secara pengamatan visual maupun keterangan dari tempat asal.

Media pemeliharaan

Akuarium yang akan digunakan sebanyak 4 buah berukuran 40x 25x 25 cm yang telah disterilisasi. Menggunakan air payau dengan salinitas 31 ppt dari pengenceran air laut 33 ppt kemudian diencerkan menggunakan rumus pengenceran $M1.V1=M2.V2$.

Pembuatan Vaksin WCKV

Pembuatan Vaksin *Whole Cell Killed Virus* berdasarkan Suprpto dan Rahardja (2003) terdiri dari 3 langkah. Adapun langkah-langkah pembuatannya sebagai berikut:

Pertama sampel udang yang terinfeksi WSBV (*White Spot Baculovirus*) dikumpulkan berasal dari tambak udang di daerah Jawa Timur. Udang yang terinfeksi virus WSBV dengan berat 10 gram digerus dan ditambahkan PBS hingga cair. Hasilnya dimasukkan ke dalam tabung appendof, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifus yang berupa supernatan ditambahkan PEG (*Poly Ethylene Glycol*) sebanyak 2 ml. Kemudian dilakukan sentrifus lagi dengan kecepatan 3800 rpm selama 30 detik. Hasil sentrifus yang berupa endapan dan ditambahkan STE Buffer diforteks sampai kedua bahan menjadi larut. Setelah itu dilakukan sentrifus dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Endapannya dipindah ke tabung sentrifus ultra kemudian disentrifus dengan ultra sentrifus yang berkecepatan 18500 G selama 150 menit. Hasil endapan yang telah disentrifus tersebut langsung disimpan pada freezer dengan suhu -4°C.

Langkah kedua pembuatan sukrose gradien 50 % dengan cara 1 gram sukrose gradien dalam 2 ml air, pembuatan sukrose gradien 35 % dengan cara 0,7 gram sukrose gradien dalam 2 ml air dan pembuatan sukrose gradien 20 % dengan cara 0,4 gram sukrose gradien dalam 2 ml air.

Langkah ketiga adalah ketiga bahan pada langkah kedua, masing-masing diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung sentrifuse dengan hati-hati agar tidak tercampur dan secara berurutan mulai dari dasar tabung sentrifuse yaitu sukrose gradien 50 %, 35 %, 20 %. Kemudian pada bagian paling atas

ditambahkan bahan yang sudah dibuat pada langkah 1 dengan diambil endapannya dan ditambahkan STE Buffer diforteks sampai kedua bahan menjadi larut. Selanjutnya dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 80.000 G selama 90 menit. Kemudian hasil sentrifuse akan tampak terpisah antara bagian atas, tengah dan bawah tabung sentrifuse, dimana pada bagian atas dan bawah tampak bening sedangkan bagian tengah tampak buram. Bagian tengah yang tampak buram diambil dengan menggunakan jarum suntik dan dipindahkan ke tabung yang berbeda. Hasil yang sudah diambil, kemudian disentrifuse 150.000 G selama 60 menit dengan suhu 4°C. Hasil sentrifuse tersebut diambil bagian endapannya dan ditambahkan STE buffer. Selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 43.000 G selama 30 menit.

Pemberian vaksin WCKV

Kegiatan yang dilaksanakan pada tahap ini adalah memasukkan udang vannamei yang telah diaklimatisasi selama satu minggu pada akuarium pemeliharaan sebanyak 10 ekor. Setelah itu dilakukan vaksinasi terhadap udang vannamei. Vaksinasi dilakukan dengan cara suntikan menggunakan spuit 1 ml. Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan yaitu vaksinasi dengan *Whole Cell Killed Virus* dengan dosis 0,01 µg/ml per ekor udang (P1), vaksinasi dengan *Whole Cell Killed Virus* dengan dosis 0,02 µg/ml per ekor udang (P2), vaksinasi dengan *Whole Cell Killed Virus* dengan dosis 0,03 µg/ml per ekor udang (P3) dan tanpa vaksinasi (kontrol) diinjeksi dengan PBS (P4). Setelah satu minggu pemberian vaksin, dilakukan booster dengan dosis yang sama.

Uji tantang dengan WSBV

Udang vannamei dipelihara selama 7 hari kemudian diberi perlakuan vaksin *Whole Cell Killed Virus*. 1 minggu setelah udang vannamei divaksin, dilakukan booster dengan dosis yang sama dengan perlakuan. Kemudian 1 hari setelah dilakukan booster, diuji tantang dengan diinfeksi WSBV melalui intra muscular. Dosis virus yang diberikan adalah LD 50 yang didapat dari penelitian sebelumnya sebesar 0,03 µg/ml/ekor udang (Suprpto dan Raharja, 2003). Selanjutnya udang diamati selama 2 minggu setelah uji tantang dan kemudian dilakukan perhitungan jumlah ikan yang masih hidup untuk menghitung sintasan.

Penghitungan Sintasan

Penghitungan sintasan udang vannamei yaitu persentase jumlah udang vannamei yang masih hidup setelah dilakukan uji tantang. Sintasan dicantumkan

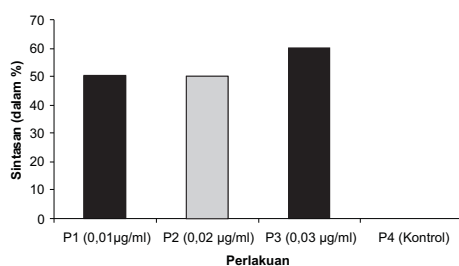
dalam bentuk persentase (%) dihitung satu kali pada saat akhir penelitian. Zonneveld *et al.* (2001) merumuskan sintasan (%) sebagai berikut:

$$\text{Sintasan} = \frac{\text{Jumlah udang yang hidup}}{\text{Jumlah populasi}} \times 100\%$$

Pengamatan data-data kualitas air sebagai data penunjang meliputi suhu dengan menggunakan termometer, pH dengan menggunakan kertas pH, salinitas dengan menggunakan refraktometer, DO (oksigen terlarut) dengan menggunakan DO *test-kit*.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan selama penelitian tidak terdapat kematian pada *Litopenaeus vannamei* saat divaksin dengan *Whole Cell Killed Virus* (WCKV) dan sebelum dilakukan uji tantang dengan *Whitespot Baculovirus* (WSBV). Hasil Penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh vaksin *Whole Cell Killed Virus* terhadap sintasan (dalam %) udang *vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) yang diinfeksi *Whitespot Baculovirus* (WSBV)

Hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa awal kematian *L. vannamei* terjadi pada hari ke 3 dan ke 4 setelah dilakukan uji tantang pada semua perlakuan. Persentase sintasan *L. vannamei* setelah diuji tantang dengan WSBV menunjukkan bahwa *L. vannamei* yang divaksin mengalami peningkatan nilai sintasan dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan P1 (WCKV 0,01 µg/ml) dan perlakuan P2 (WCKV 0,02 µg/ml) memiliki nilai sintasan yang sama sebesar 50%. Nilai sintasan pada perlakuan P3 (WCKV 0,03 µg/ml) adalah 60% dan perlakuan P4 semua hewan uji mati (nilai sintasan 0%). Hasil pengamatan kualitas air terlihat bahwa kondisi media pemeliharaan masih dalam kisaran ideal untuk pemeliharaan *L. vannamei*. Tabel 2 menunjukkan selama penelitian suhu pemeliharaan *L. vannamei* adalah berkisar antara 28 – 31°C, pH berkisar antara 7 – 7,4, salinitas berkisar antara 30 – 31 ppt dan oksigen terlarut berkisar antara 5 – 6 ppm.

Penggunaan *Whole cell* sebagai vaksin, merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh infeksi patogen yaitu bakteri dan virus (Nindarwi, 2006). Namikoshi *et al.* (2003) menyatakan bahwa udang tidak mempunyai respon imun adaptif dengan imunoglobulin, tetapi saat ini respon quasi imun telah dilaporkan tentang udang kuruma (*Penaeus japonicus*) yang mampu bertahan dari infeksi WSSV karena mempunyai resistensi melawan serangan WSSV.

Berdasarkan hasil penelitian persentase sintasan meningkat menjadi 60% pada perlakuan P3. Pada perlakuan P2 dan P3 nilai sintasan sama yaitu 50%. Hal ini diduga bahwa kandungan hemosit pada udang yang telah divaksin dengan WCKV meningkat, sehingga muncul adanya respon pertahanan diri terhadap infeksi virus. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Namikoshi *et al.* (2003) bahwa penggunaan WSBV yang di inaktifkan dengan menggunakan formalin dapat meningkatkan kekebalan tubuh udang melawan WSBV. Udang tidak melindungi dari infeksi tetapi melindungi diri terhadap keganasan serangan virus (Johnson *et al.*, 2008).

Johnson *et al.* (2008) menyatakan, pemberian virus yang diinaktifkan dengan formalin sebagai vaksin diberikan melalui injeksi secara intramuskular atau melalui pakan menunjukkan adanya respon imun udang. Hemosit udang memiliki peranan yang penting pada respon imun meliputi mengenali sel asing, fagositosis, melanisasi, sitotoksik dan komunikasi antar sel. Udang yang sehat memiliki jumlah hemosit yang lebih tinggi dibandingkan dengan udang yang terinfeksi virus (Yeh *et al.*, 2008).

Persentase sintasan yang rendah pada kontrol disebabkan karena rendahnya respon imun pada tubuh *L. vannamei*. Hal ini menyebabkan kurangnya kemampuan untuk merangsang antibodi dalam tubuh, sehingga saat dilakukan uji tantang dengan *White Spot Baculovirus* (WSBV) mekanisme pertahanan tubuh *L. vannamei* rendah. Yeh *et al.* (2008) menyatakan, infeksi WSSV dapat menyebabkan kematian hingga 100%.

Boyd (1989) menyatakan bahwa kandungan oksigen terlarut yang aman bagi kehidupan ikan dan udang adalah lebih dari 5 ppm dan kisaran pH yang normal antara 7 - 9. Kandungan oksigen terlarut selama penelitian pada tahap aklimatisasi dan tahap vaksinasi *L. vannamei* adalah 6 ppm. Pada tahap uji tantang kandungan oksigen menurun menjadi 5 ppm, hal ini disebabkan konsumsi oksigen meningkat sehingga menyebabkan kandungan oksigen menurun. Nindarwi (2006) menyatakan bahwa kandungan oksigen yang

menurun menyebabkan kandungan CO₂ meningkat sehingga suasana menjadi lebih asam (pH menurun). Berdasarkan hasil pengukuran kandungan oksigen dan pH air selama penelitian pada tahap uji tantang masih dalam batasan aman untuk pemeliharaan *L. vannamei*.

Kesimpulan

Terjadi peningkatan sintasan *L. vannamei* yang divaksin WCKV (*Whole Cell Killed Virus*) hingga 50% dengan dosis 0,01 µg/ml dan 0,02 µg/ml dan mencapai 60% dengan dosis 0,03 µg/ml.

Daftar Pustaka

- Astuti, S. M. 2009. Penyakit Parasiter pada Udang. <http://www.tambak.org>
- Azwar, S. 2004. Metode Penelitian. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. 145 hal.
- Boyd, C. E. 1989. Water Quality Management and Aeration in Shrimp Farming. Fisheries and Allied Aquaculture Departmental Series No 2. Alabama Agriculture Experiment Station. Auburn University. USA. 79 hal.
- Johnson, K. N., M. C. W. van Hulst and A. C. Barnes. 2008. Vaccination of Shrimps Against Viral Pathogens: Phenomenology and Underlying Mechanism. *Vaccine* 26:4885-4892.
- Liu, H., K. Soderhall and P. Jiravanichpaisal. 2009. Antiviral Immunity in Crustaceans. *Journal Fish and Shellfish Immunology* xxx (2009) 1-10.
- Namikoshi A., J. L. Wu, T. Yamashita, T. Nishizawa, T. Nishioka, M. Arimoto and K. Muroga. 2003. Vaccinations Trials With *Penaeus japonicus* to Induce Resistance to White Spot Syndrome Virus. *Aquaculture* 229 (2004) 25-35.
- Nindarwi, D. N. 2006. Studi Perbandingan Penggunaan Whole Cell dan Extraceluller Product dari *Vibrio alginolyticus* sebagai Vaksin secara Oral Terhadap Sintasan Benih Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus fuscogutatus*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga. Surabaya 56 hal.
- Nur'aini, Y. L., H. Bambang, S. Subyakto, dan T. Gemi. 2007. Active Surveillance of Infectious Myonecrosis Virus (IMNV) in Pond-Cultured White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in East Java and Bali. *Jurnal Perikanan UGM*. IX (1): 25-31.
- Witteveldt, J. 2006. On the Vaccination of Shrimp Against White Spot Syndrome Virus. Thesis Wageningen University. 129pp.
- Yeh, S., Y. Chen, S. Hsieh, W. Cheng and C. Liu. 2008. Immune Response of White Shrimps, *Litopenaeus vannamei*, After A Concurrent Infection With White Spot Syndrome Virus and Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus. *Fish and Shellfish Immunology*, 26 (2009):582-588.
- Zonneveld, N., E. A. Huisman and J. H. Boon. 2001. Prinsip-prinsip Budidaya Ikan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 317 hal.