



INFEKSI WHITE SPOT SYNDROM VIRUS (WSSV) PADA UDANG WINDU (*Penaeus monodon* Fabr.) YANG DIPELIHARA PADA SALINITAS MEDIA YANG BERBEDA

*The Infection of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Tiger Shrimp (*Penaeus monodon* Fabr.) which was Cultured in Different Salinities*

Hardyta Noviar Rahma, Slamet Budi Prayitno*, Alfabetian Harjuno Condro Haditomo

Program Studi Budidaya Perairan, Jurusan Perikanan

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax.+62247474698

ABSTRAK

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) merupakan komoditas asli Indonesia yang telah dibudidayakan cukup lama. Produksi udang windu pada 10 tahun terakhir diambil alih oleh udang vaname. Hal ini karena produksi dan produksifitas udang windu terus menurun 30,5% selama 5 tahun dari 180.000 ton (1995) menjadi 125.000 ton (2000). Penyebab utama penurunan produktifitas adalah wabah penyakit *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). Penyakit WSSV dapat menyebabkan kematian masal dalam waktu singkat 6-11 hari pasca gejala klinis. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan berbagai salinitas dengan 3 ulangan. Perlakuan salinitas terdiri dari A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), D (25 ppt), dan E (30 ppt). Parameter penelitian yang diamati adalah gejala klinis, mortalitas, dan keberadaan virus WSS. Hewan percobaan yang digunakan adalah gelondongan udang dengan ukuran $2,5 \pm 0,14$ g sebanyak 180 ekor. Infeksi WSSV dilakukan melalui perendaman 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ WSSV selama 3 jam. Pengamatan dilakukan selama 21 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mortalitas tertinggi dan tercepat adalah perlakuan A dengan mortalitas 100% dalam waktu 6 hari dan tidak menunjukkan gejala klinis spesifik WSSV. Demikian pula perlakuan B dan C mengalami mortalitas 100% dan juga tidak ditemukan gejala klinis spesifik WSSV. Gejala klinis spesifik WSSV ditemukan pada perlakuan D dihari ke-9 dengan mortalitas 43,33%. Uji PCR menunjukkan positif WSSV pada perlakuan A, B, C, D dan negatif WSSV pada perlakuan E. Gejala klinis udang windu yang terinfeksi WSSV adalah udang mendekati aerasi, lemah, tidak responsif, penurunan respon pakan, hepatopankreas pucat, tubuh kemerahan, berenang miring hingga berputar, dan bintik putih. Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa pada salinitas 30 ppt infeksi WSSV pada udang windu lebih rendah dibandingkan salinitas 10 ppt, 15 ppt, 20 ppt, dan 25 ppt.

Kata Kunci : Udang windu; *White Spot Syndrom Virus* (WSSV); Salinitas; Mortalitas

ABSTRACT

*Tiger shrimp (*Penaeus monodon* Fabr.) is an endogenous species that has been traditionally cultured by Indonesian fisherman. Production of tiger shrimp in the last 10 years were replaced by white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). This disease has caused several decline shrimp productivity around 30,5% from 180.000 tonnes in 1995 to only 125.000 tonnes in 2000. It was due to disease outbreaks cause by *White Spot Syndrome Virus* (WSSV). WSSV could cause high mortality within 6-11 days after clinical sign was shown. This experimental method used RAL with 5 salinity treatments and 3 replications. Salinity treatments were A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), D (25 ppt), and E (30 ppt). This research was aimed to find out the effect of various salinities concentration to the clinical sign, mortality, and the presence of WSSV in the tested shrimp. The animal tested were 180 tiger shrimps with $2,5 \pm 0,14$ g weight. WSSV infection was done by submerging the tiger shrimp in 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ WSSV for 3 hours. The observation was done for 21 days. The result showed the fastest and highest mortality was found in treatment A with 100% mortality in 6 days and without spesific sign of WSSV. While in treatment B and C showed same with 100% mortality and without clinical sign of WSSV. The spesific clinical sign of WSSV was showed in treatment D in day 9 with 43,33% mortality. The PCR test showed positive WSSV in treatment A, B, C, D and negative WSSV in treatment E. The clinical signs of WSSV infected tiger shrimp were approaching aeration, weak, unresponsive, decreased feeding response, pale hepatopankreas, reddish body, whirling, and white spots. The conclusion was in 30 ppt salinity the infection of WSSV in tiger shrimp was lower than the other salinity treatments (10 ppt, 15 ppt, 20 ppt, and 25 ppt).*

Keyword : Tiger shrimp; *White Spot Syndrom Virus* (WSSV); Salinity; Mortality

**) Corresponding author (Email : sbudiprayitno@gmail.com)*



PENDAHULUAN

Udang windu (*Penaeus monodon* Fabr.) merupakan salah satu komoditi eksport non migas unggulan di sektor budidaya Indonesia (Raya, 2001). Namun produksi udang windu secara nasional masih menurun dari 180.000 ton/tahun di tahun 1995 menjadi 125.000 ton di tahun 2000 (Soetrisno, 2004). Hal ini disebabkan oleh adanya kematian akibat serangan berbagai jenis penyakit, baik yang disebabkan oleh bakteri maupun virus. WSSV adalah virus yang paling sering ditemui. Virus ini merupakan penyebab utama kematian udang windu (Kono *et al.*, 2004).

White spot merupakan penyakit yang paling banyak menimbulkan kerugian secara ekonomi, diperkirakan lebih dari 300 juta dollar AS per tahun (Rukyani, 2000). Penularan WSSV sangat cepat dan menyebabkan kematian 100% dalam waktu 3-10 hari sejak timbul gejala klinis. Virus ini dapat menginfeksi udang pada post larva (PL) sampai ukuran 40 g. Penyebaran WSSV dapat secara vertikal melalui induk menularkan ke larvanya dan secara horizontal melalui air (*waterborne transmission*), kotoran udang yang terinfeksi, kanibalisme, makanan alami/segar jenis krustasea dan hama tambak jenis krustasea (Kono *et al.*, 2004). Dalam sistem budidaya, WSSV dapat ditransmisikan melalui air yang terkontaminasi (Chang *et al.*, 1996).

Hampir semua penyakit WSSV di Taiwan meledak pada musim penghujan, musim panca roba dan musim dingin. Di benua Amerika, kematian *P. vannamei* akibat WSSV paling banyak terjadi pada musim dingin. Hal ini dikarenakan faktor suhu dan salinitas. Salinitas dan suhu menurun secara tiba-tiba dan hal ini menyebabkan stres pada udang, sehingga udang mudah terserang penyakit seperti WSSV (Soetrisno, 2004). Pengaruh langsung salinitas yaitu efek osmotiknya terhadap osmoregulasi dan pengaruh tidak langsung salinitas mempengaruhi organisme akuatik melalui perubahan kualitas air (Lantu, 2010).

Sejauh ini penyakit udang yang disebabkan oleh virus hanya bisa diantisipasi dengan tindakan pencegahan meliputi benih yang unggul, manajemen budidaya yang baik, dan vaksin. Maka pemahaman faktor-faktor lingkungan tertentu yang bernilai strategis akan sangat membantu menahan timbulnya penyakit WSSV pada udang yang sudah sedikit terinfeksi virus WSS (Soetrisno, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor lingkungan berupa salinitas terhadap infeksi WSSV, serta tingkat patogenitasnya pada udang windu. Hal ini diharapkan dapat bermanfaat bagi usaha pencegahan dan pengendalian infeksi WSSV secara lebih efektif melalui pengaturan salinitas media budidaya.

MATERI DAN METODE

Hewan uji yang digunakan yaitu 180 udang windu berukuran $2,5 \pm 0,14$ g dengan usia 35 hari dari hatchery BBPBAP Jepara. Pakan yang diberikan pada udang adalah pakan komersil yang diberikan secara *at satiation* dengan frekuensi 3 kali sehari yaitu pukul 07.00, 12.00, dan 17.00 WIB. Metode penelitian ini adalah eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah A (salinitas 10 ppt), B (salinitas 15 ppt), C (salinitas 20 ppt), D (salinitas 25 ppt), dan E (salinitas 30 ppt). Prosedur penelitian meliputi sterilisasi alat dan bahan, penyesuaian salinitas udang windu, persiapan inokum virus WSS, penginfeksian udang windu dengan WSSV, pengamatan, dan deteksi WSSV dengan PCR.

Sterilisasi alat dan bahan meliputi pencucian wadah dengan detergen, dibilas, lalu diberi kaporit selama 24 jam, dibilas, dan dikeringkan (Priatni, 2006). Sebelum digunakan, air laut disterilkan dengan kaporit 100 ppm selama 5 hari dan dinetralkan dengan Natrium Tiosulfat 50 ppm selama 2 hari. Pasca transportasi udang windu dari Hatchery udang windu di BBPBAP Jepara ke laboratorium MKHA BBPBAP Jepara maka udang di aklimatisasi selama 1 minggu di fiber kapasitas 500 l.

Penurunan salinitas dilakukan selama 10 hari dari salinitas awal 30 ppt menuju salinitas yang dinginkan, yaitu 25 ppt, 20 ppt, 15 ppt, dan 10 ppt. Proses ini menggunakan wadah *box fiber* (kapasitas 100 l) dengan volume 75 l dan kepadatan udang 45 ekor/wadah. Penurunan salinitas untuk tiap perlakuan berbeda-beda. Perlakuan salinitas D (25 ppt), C (20 ppt), dan B (15 ppt) dilakukan penurunan salinitas 1-1,5 ppt per hari. Namun untuk salinitas perlakuan A (10 ppt) dilakukan penurunan salinitas 2 ppt per hari (Aziz, 2010). Setelah salinitas sesuai dengan perlakuan, udang di aklimatisasi selama 1 minggu dalam akuarium 40x25x25 dengan volume air 17 liter dan kepadatan udang 10 ekor/wadah.

Inokulum virus dibuat sesuai dengan metode Hameed *et al.* (1998) yaitu mengambil insang dari *P. monodon* Fabr. yang terinfeksi WSSV sebanyak 1 g dan digerus sampai halus, kemudian disuspensi dalam 9 ml air laut steril, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit pada suhu 4°C dan kecepatan 8000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Semua supernatant yang dihasilkan dimasukkan dalam valcon agar homogen. Sehingga siap diinfeksi pada udang uji.

Proses penginfeksian udang windu dengan WSSV dilakukan dengan metode perendaman pada konsentrasi WSSV sebesar 20 µg/ml selama 3 jam (Depita, 2004). Proses ini menggunakan 5 buah akuarium dengan ukuran 40x25x25 cm, volume air 3 liter/akuarium, jaring penutup akuarium, dan aerasi. Kepadatan udang windu adalah 30 ekor/akuarium. Inokulum WSSV dimasukkan menggunakan sputik suntik kedalam akuarium yang telah berisi air dan udang secara merata. Setelah 3 jam, udang windu ditempatkan kembali dalam akuarium awal dengan ukuran 40x25x25 cm, volume air 17 liter, dan kepadatan 10 ekor/akuarium.

Pengamatan dilakukan selama 21 hari pasca infeksi WSSV (Raj, 2012). Pengamatan dilakukan setiap 24 jam sekali meliputi kualitas air, mortalitas, dan gejala klinis. Bila terjadi kematian selama 21 hari pengamatan,



maka udang disimpan dalam *freezer* -80°C dan diberi kode. Pada akhir masa pemeliharaan, satu sampel udang dari setiap perlakuan difiksasi dalam alkohol 96% untuk kemudian di PCR. Proses deteksi WSSV dengan PCR terdiri atas 3 tahapan utama yaitu ekstraksi DNA, amplifikasi, dan gel elektroforesis (IQ2000™, 2009).

Ekstraksi DNA ini menggunakan prosedur ekstraksi DTAB-CTAB *solution* (IQ2000™, 2009). Pertama-tama insang ditimbang sebanyak 2 mg dan dimasukkan kedalam mikrotube 1,5 ml. Setelah itu ditambahkan 600 µl DTAB *solution*, dihancurkan dengan *pestle* hingga homogen, divortex 20 detik, diinkubasi 75°C selama 5 menit, divortex 20 detik, ditambahkan 700 µl *Chloroform*, divortex 20 detik, dan disentrifugasi 12000 rpm selama 5 menit. Supernatant dipindahkan kedalam tube baru sebanyak 200 µl, ditambahkan 100 µl CTAB *solution* dan 900 µl ddH₂O, divortex 20 detik, diinkubasi 75°C selama 5 menit, disentrifugasi 12000 rpm selama 10 menit dan dibuang supernatantnya, lalu pelet dilarutkan dengan 150 µl *Dissolve Solution*, diinkubasi 75°C selama 5 menit, disentrifugasi 12000 rpm selama 10 menit dan supernatant dipindahkan dalam tube baru, ditambahkan 300 µl ethanol 95%, divortex 20 detik, lalu disentrifugasi 12000 rpm selama 5 menit dan dibuang supernatantnya. Pelet dikeringkan dengan membalik mikrotube selama 10 menit. Terakhir 50 µl ddH₂O ditambahkan untuk melarutkan pelet. DNA siap digunakan untuk proses selanjutnya.

Amplifikasi DNA untuk 1-step PCR pertama-tama membuat campuran first PCR premix 7,5 µl; IQzyme DNA Polymerase 0,5 µl, DNA cetakan 2 µl; kontrol positif WSSV 2 µl dan kontrol negatif (ddH₂O) 2 µl. Hasil campuran dimasukkan ke dalam *tube* 0,5 µl untuk diamplifikasi pada mesin PCR *thermal circle*. Selanjutnya amplifikasi DNA 2-step dilakukan dengan cara membuat larutan PCR dengan kombinasi sebagai berikut: DNA cetakan produk 1-step 2 µl; nested PCR PreMix 14 µl; dan IQzyme DNA Polymerase 1 µl, lalu dimasukkan ke dalam *tube* 0,5 ml dan diamplifikasi (IQ2000™, 2009).

Gel elektroforesis dimulai dengan merendam *agarose gel* 1,5% dalam larutan *buffer elektroforesis* pada bejana elektroforesis. Sebanyak 10 µl sampel hasil amplifikasi 2-step PCR dicampur dengan *Loading buffer* 6x sebanyak 2 µl di atas parafilm dan disuntikkan ke *agarose gel*. Marker yang sudah diketahui berat molekulnya untuk IQ2000™ (848 bp, 630 bp, 333 bp) juga disuntikkan pada *agarose gel*. Dielektroforesis dengan *voltage* 120 V selama 30 menit. *Agarosegel* direndam dalam 100 µl *TAE buffer* 20x dan 5 µl *Ethidium Bromide* selama 5 menit, lalu diamati di atas *UV trans-illuminator* (IQ2000™, 2009).

HASIL

Hasil pengamatan gejala klinis udang windu pasca infeksi WSSV mengalami perubahan morfologi dan tingkah laku. Perubahan tingkah laku meliputi udang mendekati aerasi, lemah, tidak responsif, penurunan respon pakan, dan berenang miring hingga berputar. Perubahan morfologi meliputi hepatopankreas pucat, tubuh kemerahan, dan bintik putih (Tabel 1).

Tabel 1. Perubahan Morfologi dan Tingkah Laku Udang Windu Pasca Infeksi WSSV

Kemunculan (Hari Ke-)	Perlakuan					Kontrol
	A	B	C	D	E	
1	-	-	-	-	-	-
2	-	+	-	-	-	-
3	++	+	++	-	-	-
4	+++	+	++	+	+	-
5	+++	++	++	+	++	-
6	+++	+++	++	++	+	-
7	+++	++	+++	+	-	-
8	+++	+++	+++	+++	++	-
9	+++		++++		++	-
10	+++		++		++	+
11	+++		++		++	+
12			++		+	-
13			++		+	-
14			++		-	+
15			+		+	-
16			+		+	-
17			-		-	-
18			+		-	+
19			+		-	+
20			-		-	-
21			+	+	+	+

Keterangan: Perlakuan A (salinitas 10 ppt); B (salinitas 15 ppt); C (salinitas 20 ppt); D (salinitas 25 ppt); E (salinitas 30 ppt); dan K (Kontrol)

++++ = bintik putih pada karapas

+++ = hepatopankreas pucat, tubuh kemerahan, dan berenang miring/berputar

++ = penurunan respon pakan, penurunan aktifitas (lethargi)

+= mendekati aerasi

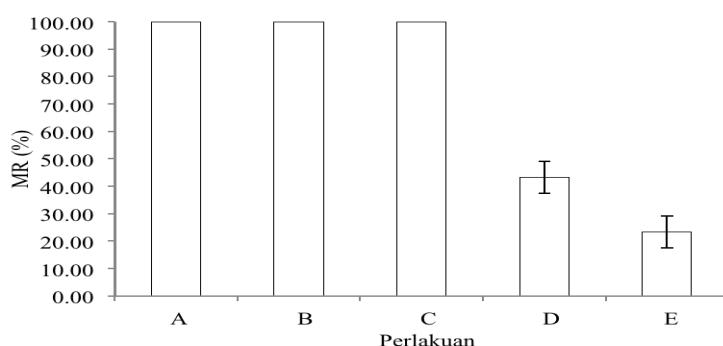
- = normal



Gambar 1. Perubahan morfologi dan tingkah laku udang windu pasca infeksi WSSV.

Keterangan: (a) hepatopankreas udang normal, (b) hepatopankreas udang pasca infeksi WSSV, (c) tubuh kemerahan, (d) bintik putih, (e) mendekati aerasi, (f) berenang miring

Hasil pengamatan mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV

Hasil uji T-Test mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV untuk perlakuan D dan E dapat dilihat pada Tabel 2.

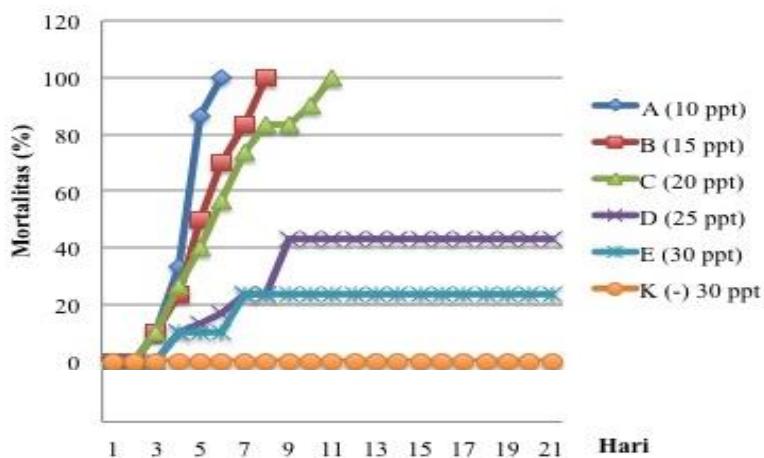
Tabel 2. Uji T-Test Perlakuan D dan E

	Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)			
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference								
				Lower	Upper							
Pair 1 D - E	12.3691	.50635	.29234	11.11118	13.62688	42.310	2		.001			

Keterangan : Sig. (2-tailed) < 0.05 = berbeda nyata

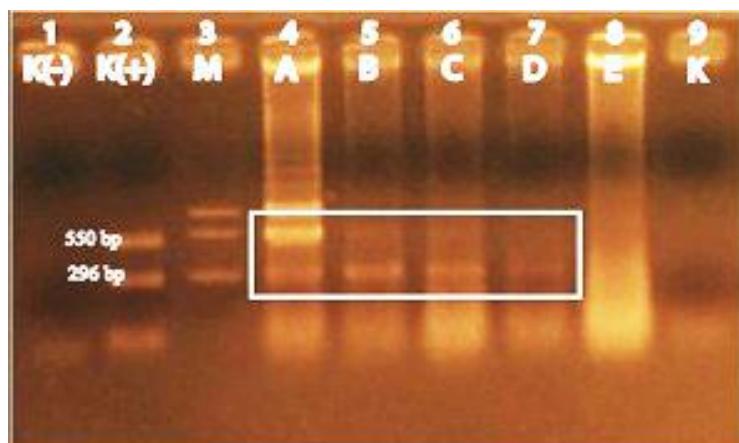
Hasil uji T-Test perlakuan D (salinitas 25 ppt) dan E (salinitas 30 ppt) adalah berbeda nyata. Perlakuan A, B, dan C tidak dilakukan analisis dengan T-Test karena data ketiganya bernilai sama, yaitu mortalitas 100%. Sehingga hasil uji T-Test ini adalah salinitas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap infeksi WSSV pada udang windu.

Total mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV cukup beragam. Perlakuan A mengalami mortalitas 100% pada hari ke-6, perlakuan B pada hari ke-8, dan perlakuan C pada hari ke-11. Perlakuan D mortalitas mencapai 40% dan mortalitas berhenti pada hari ke-9. Perlakuan E mortalitas mencapai 20% dan mortalitas berhenti pada hari ke-7. Kontrol dalam penelitian ini tidak mengalami mortalitas hingga hari ke-21 pengamatan. Hasil pengamatan pola kematian udang windu pasca infeksi WSSV selama 21 hari dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pola kematian udang windu pasca infeksi WSSV

Uji PCR dilakukan setelah 21 hari masa pemeliharaan. Hasil uji PCR menunjukkan 4 sampel positif WSSV, yaitu perlakuan A (salinitas 10 ppt), B (salinitas 15 ppt), C (salinitas 20 ppt), dan D (salinitas 25 ppt). Sampel dikatakan positif WSSV saat muncul pendaran band pada 296 bp dan 550 bp (IQ2000™, 2009). Hasil PCR perlakuan E (salinitas 30 ppt) dan Kontrol negatif (salinitas 30 ppt) adalah negatif WSSV ditandai dengan tidak munculnya pendaran band pada 296 bp dan 550 bp. Hasil uji PCR udang windu pasca infeksi WSSV tersaji pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil PCR udang windu dengan kit IQ2000™ WSSV; Menunjukkan bahwa lane 1 kontrol negatif, lane 2 kontrol positif, lane 3 marker, lane 4 – 9 adalah sampel, dan didapati hasil sampel pada lane 4-7 positif terinfeksi WSSV dan lane 8 dan 9 negatif WSSV.

Parameter kualitas air yang diamati selama masa pemeliharaan adalah suhu, DO (*Dissolve oxygen*), dan pH. Hasil rata-rata pengamatan kualitas air selama 21 hari masa pemeliharaan tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Data Kualitas Air Pasca Infeksi WSSV

Parameter	Kisaran	Rata-Rata	Nilai Optimal	
			Nilai	Acuan
Warna air		Bening		
Suhu air (°C)	26,2 – 29,1	27,5	28 – 32	Wiyoto, 2000
pH	8,11 – 8,5	8,3	7,5 – 8,5	Wiyoto, 2000
DO (mg/L)	6,33 – 7,18	6,9	4,3 – 7	Wiyoto, 2000

Ket : pengukuran dilakukan pukul 10.00 WIB

PEMBAHASAN

Pengamatan gejala klinis pasca infeksi WSSV pada udang windu menampakan perubahan tingkah laku dan morfologi. Hari kedua pasca infeksi WSSV terjadi perubahan tingkah laku pada perlakuan B (salinitas 15 ppt), yaitu udang mendekati aerasi. Hari ketiga pasca infeksi WSSV perlakuan A (salinitas 10 ppt) menunjukkan gejala klinis penurunan respon pakan, mendekati aerasi dan penurunan aktifitas meliputi lemah, tidak responsif dan berenang miring. Hari berikutnya setelah udang mulai berenang miring, udang menunjukkan berenang



berputar-putar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mahardika *et al.* (2004), udang yang terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan tingkah laku yaitu menurunnya aktifitas berenang, berenang tidak terarah, dan sering kali berenang pada salah satu sisinya saja. Selain itu udang cenderung bergerombol di tepi tambak dan berenang ke permukaan. Pada fase akut terdapat bercak-bercak putih pada karapas dengan diameter 0.5-3.0 mm.

Penurunan respon pakan diakibatkan oleh terganggunya fungsi organ tubuh seperti antena dan antenulla yang diakibatkan oleh adanya infeksi udang uji, sehingga menyebabkan perubahan metabolisme tubuh. Hal ini disebabkan oleh udang tidak dapat mendeteksi makanan sehingga energi yang masuk ke dalam tubuh menjadi kurang, dan hal tersebut mempengaruhi aktivitas renang udang yang menjadikannya pasif (Priatni, 2006). Sedangkan tubuh udang uji itu sendiri membutuhkan banyak energi untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dalam melawan serangan infeksi WSSV, akibatnya udang rentan terhadap penyakit.

Ruas tubuh kemerahan dan hepatopankreas pucat mulai terlihat pada hari keempat hingga kedelapan untuk perlakuan A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), dan D (15 ppt). Namun tidak terlihat pada perlakuan E (30 ppt) dan kontrol. Priatni (2006), menyebutkan bahwa infeksi WSSV pada udang akan menyebabkan perubahan pada hepatopankreas dari coklat kemerahan menjadi kuning pucat dan membesar. Gejala klinis yang lainnya yaitu perubahan warna tubuh menjadi coklat pucat atau coklat kemerahan yang merupakan gejala respon udang terhadap infeksi benda asing ke dalam tubuhnya. Udang yang telah terinfeksi WSSV akan mengalami perubahan warna yang disebabkan oleh terjadinya pembesaran kromatofor kutikula. Kromatofor pada udang merupakan salah satu sistem pertahanan tubuh udang. Selain perubahan warna tubuh, sel udang yang terinfeksi WSSV mengalami kerusakan (nekrosis) pada antena, antenulla, rostum, periopod, pleiopod dan ekor yang kerusakannya mencapai 20%.

Bintik putih yang menjadi ciri khas WSSV hanya ditemukan pada perlakuan D di hari kesembilan. Hal ini berarti perlakuan D termasuk kedalam infeksi sub-akut. Edison (2009) menyebutkan bahwa infeksi WSSV pada udang penaeid ada 3 jenis. Tipe I infeksi akut atau sub akut, tingkat keparahan jaringan adalah sedang sampai tinggi, kematian terjadi dalam waktu 7 – 10 hari, dan udang memiliki bintik putih pada karapas. Tipe II (*parachute*) udang tampak memerah, tingkat keparahan jaringan yang terinfeksi sangat tinggi dan terjadi kematian masal dalam waktu 2 – 3 hari. Tipe III (*kronis*) dimana infeksi yang dialami oleh jaringan rendah sehingga bintik putih dan kemerahan pada udang tidak tampak. Kemudian disebutkan pula bahwa kematian akan terjadi lebih lama yaitu 15-28 hari. Sehingga perlakuan E termasuk dalam infeksi kronis.

Organ target utama yang diinfeksi oleh virus WSSV yaitu epitel kulit (kutikula), insang, dan jaringan ikat. Tetapi WSSV cenderung menginfeksi dengan frekuensi yang kecil pada hepatopankreas, kelenjar epitel antennal, sel organ limfoid, syaraf, dan fagosit pada hati (Edison, 2009).

Hasil pengamatan mortalitas udang windu selama 21 hari pemeliharaan pasca infeksi WSSV terlihat jumlah mortalitas kumulatif tertinggi dan tercepat terjadi pada perlakuan A dengan mortalitas 100% pada hari ke-6. Perlakuan A merupakan perlakuan dengan salinitas paling rendah (10 ppt) dalam penelitian ini. Menurut hasil survei yang dilakukan oleh Tendencia *et al.* (2010), infeksi WSSV pada udang windu dipicu oleh fluktasi suhu 3-4 °C, salinitas rendah dibawah 15 ppt, dan jumlah vibrio yang tinggi. Penyesuaian salinitas kecil secara terus menerus dapat meningkatkan replikasi WSSV dalam tubuh udang dan hilangnya kemampuan *self-adaptif* selama terjadi stres.

Terjadi peningkatan mortalitas pada setiap penurunan salinitas. Mortalitas terendah 23,33% terjadi pada perlakuan E (salinitas 30 ppt) dan mortalitas tertinggi dan tercepat 100% pada hari ke-6 terjadi pada perlakuan A (salinitas 10 ppt). Semakin rendah salinitas air pada media pemeliharaan udang windu, maka semakin rentan udang terhadap infeksi WSSV. Hal ini ditandai dengan tingkat mortalitas yang semakin tinggi saat salinitas semakin rendah.

Pola kemaitan yang terlihat dalam penelitian ini bisa menjadi gambaran bila suatu sistem budidaya udang windu dengan kualitas lingkungan budidaya yang optimal terserang WSSV. Bila usaha budidaya udang windu menggunakan benih bebas WSSV, memiliki nilai kualitas air yang baik, bebas dari hewan *carrier* WSSV, dan tidak ada penumpukan sisa pakan dan racun, maka pemeliharaan dengan salinitas 25-30 ppt sangat dianjurkan. Hal ini agar udang windu mampu mempertahankan tingkat kelulushidupannya mencapai 76,67 % saat lingkungan budidaya terdeteksi WSSV. Menurut Aziz (2010) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pemeliharaan udang pada salinitas rendah masih belum menunjukkan pertumbuhan dan tingkat kelangsungan hidup yang optimum.

Menurut Saptiani *et al.* (2012) dalam penelitiannya, nilai isosmotik udang windu adalah $22,54 \pm 0,7$ ppt, dengan nilai suhu 28°C , DO 7 mg/l, dan pH $7 \pm 0,2$. Namun hasil penelitian ini menunjukkan pada salinitas 20 ppt (perlakuan C) udang windu mengalami mortalitas 100% pada hari ke-11. Menurut Sumeru dan Anna (1992), berdasarkan toleransinya terhadap salinitas, maka udang windu termasuk ke dalam golongan *euhaline* laut, yaitu hewan laut yang dapat hidup di salinitas rendah. Sehingga yang membedakan tingkat patogenitas WSSV pada berbagai perlakuan salinitas adalah kondisi fisiologis udang windu. Pada salinitas 25 ppt (perlakuan D) dan 30 ppt (perlakuan E) udang berada pada level salinitas sedikit diatas nilai isosmotiknya, namun udang lebih nyaman beradaptasi dengan kondisi ini daripada harus beradaptasi dengan kondisi salinitas dibawah nilai isosmotiknya. Sehingga salinitas rendah lebih rentan terhadap infeksi WSSV.



Hal ini sejalan dengan Poernomo (1989), salinitas yang terlalu tinggi dapat menghambat terjadinya proses ganti kulit (*moultting*) yang merupakan indikasi pertumbuhan udang. Sebaliknya pertumbuhan udang akan lebih cepat pada salinitas rendah, tetapi lebih sensitif terhadap penyakit. Pertumbuhan udang yang semakin cepat membuat udang lebih banyak mengalami *moultting*. Ketika molting, udang sangat rentan terhadap serangan penyakit. Hal ini karena kondisinya masih sangat lemah dan kulit luarnya belum mengeras (Aziz, 2010). Sehingga lapisan kutikula yang merupakan organ pertahanan pertama dalam melawan patogen dan kerusakan fisik belum terbentuk sempurna. Fase ini kemudian menyebabkan WSSV lebih mudah masuk ke tubuh udang hingga menyebabkan infeksi. Hal ini sejalan dengan Tsuzuki *et al.* (2003), salinitas juga berdampak pada pertumbuhan, ketahanan hidup udang, yang berpengaruh terhadap pemanfaatan pakan, konversi energy, dan metabolisme.

Salinitas berhubungan erat dengan tekanan osmotik dan ionik air, baik air sebagai media internal maupun eksternal. Osmoregulasi terjadi karena perbedaan tekanan osmotik antara cairan dalam tubuh dan media (Tsuzuki *et al.*, 2003). Sehingga osmoregulasi merupakan upaya udang untuk mengontrol keseimbangan ion-ion yang terdapat didalam tubuhnya dengan lingkungannya melalui sel permeabel. Pengaturan osmoregulasi ini sangat mempengaruhi metabolisme tubuh hewan perairan dalam menghasilkan energi. Menurut Anggoro (1992), pengaturan keseimbangan ion dilakukan dengan cara pengangkutan aktif ion-ion, sehingga untuk keperluan tersebut diperlukan sejumlah energi yang berasal dari simpanan ATP (adenosine trifosfat). Namun pada kondisi isoosmotik, yaitu konsentrasi cairan tubuh sama atau mendekati konsentrasi cairan media, maka upaya udang untuk mengontrol osmoregulasi (keseimbangan ion-ion) menjadi lebih mudah.

Kematian udang pada masa pemeliharaan diduga akibat daya tahan tubuh udang yang semakin menurun pada salinitas yang semakin rendah hingga menimbulkan stress, dan menyebabkan udang mudah terinfeksi WSSV. Menurut Van de Braak *et al.* (2002) dalam Saptiani (2012), pengaruh stres dapat berdampak pada respon imun udang. Hal ini juga dikarenakan energi untuk pertumbuhan dan menjaga daya tahan tubuh berkurang karena proses osmoregulasi. Kontrol negatif dalam penelitian ini memiliki nilai SR 100%. Hal ini berarti teknik pemeliharaan udang selama proses penelitian dilakukan secara tepat dan tidak ada kontaminasi WSSV. Sehingga udang yang mati selama penelitian bukan berasal dari teknik pemeliharaan yang salah. Hal ini dapat dibuktikan melalui uji PCR.

Hasil PCR sampel perlakuan A (10 ppt), B (15 ppt), C (20 ppt), dan D (25 ppt) adalah positif WSSV, hal ini sejalan dengan gejala klinis yang timbul pada masing-masing perlakuan. Menurut Maharani *et al.* (2005) hal itu sudah mencapai tahap *patent*, yaitu suatu keadaan yang menyebabkan kematian karena virus mereplikasi diri secara berulang-ulang di dalam organ target lainnya. Pada perlakuan E (30 ppt) memperlihatkan bahwa udang uji dalam keadaan terinfeksi *pre-patent*, dimana tanda klinis dari infeksi WSSV yaitu munculnya bintik putih belum tampak. Keadaan *pre-patent* merupakan masa *persistent* atau laten yang dapat berlangsung dalam waktu yang lama. Infeksi *pre-patent* dapat diubah menjadi *patent* karena stres yang dialami larva (Peng *et al.*, 1998 dalam Maharani *et al.*, 2005). Stres tersebut antara lain bisa disebabkan oleh perubahan lingkungan yang drastis.

Perlakuan E menunjukkan hasil yang negatif dalam PCR konvensional. Hasil yang tampak pada perlakuan E bukan tanpa pendaran band, melainkan seperti *smear* (materi ikutan lain). Menurut Dwinanti (2006), hasil PCR konvensional negatif yang salah dapat disebabkan karena jumlah kopian DNA yang tidak mencukupi dan tingkat infeksi yang terlalu rendah sehingga pita DNA berpendar redup atau bahkan tidak berpendar. Hasil negatif palsu pada PCR konvensional baru bisa diketahui saat di uji dengan *real time* PCR. Menurut Pranawaty *et al.* (2012), jumlah kopi WSSV 19-27 *copies* tergolong sangat rendah sehingga tidak dapat di deteksi oleh PCR konvensional.

Menurut IQ2000™ (2009), hasil uji PCR negatif menunjukkan bahwa sampel tidak terinfeksi WSSV atau tingkat infeksi WSSV lebih rendah dari batas deteksi. Menurut Haq *et al.* (2012), konsentrasi virus yang terinfeksi harus mencapai 10 – 100 kali lipat dari batas deteksi untuk terjadi WSSV. Virus WSSV pada udang menginfeksi pada tingkat rendah dan beberapa tingkatan. Infeksi rendah jika DNA virus hanya ada pada pendaran band pada 296 bp yang berarti 20 *copies*. Infeksi sedang pada band 650 bp dan 296 bp yang berarti 200 *copies*. Infeksi WSSV pada tingkatan berat terdapat pendaran band pada 910, 650, dan 296 bp yang berarti 2000 *copies*.

Menurut Hastuti *et al.* (1987) salinitas optimal bagi pemeliharaan larva udang windu adalah 25-35 ppt. Menurut Poernomo (1989), salinitas yang baik untuk pemeliharaan udang adalah 20 – 30 ppt. Hal ini sejalan dengan hasil pengamatan mortalitas dan keberadaan virus melalui PCR konvensional pada udang windu pasca infeksi WSSV, menunjukkan mortalitas yang rendah pada perlakuan D (salinitas 25 ppt) dan E (salinitas 30 ppt).

Pengukuran kualitas air dilakukan setiap 24 jam. Hal ini karena penelitian dilakukan di dalam ruangan dengan sistem aerasi yang baik, pencahayaan dimalam hari, serta penyipahan sisa pakan dan penggantian air 30-50% setiap harinya. Sehingga tidak terjadi perbedaan signifikan antara kondisi kualitas air di siang hari dan malam hari.

Pengamatan kualitas air selama penelitian menunjukkan bahwa parameter kualitas air berupa oksigen terlarut (DO) dan pH berada pada kondisi optimal dalam budidaya udang windu. Berdasarkan hasil pengukuran



kualitas air media pemeliharaan udang windu diperoleh rata-rata kadar oksigen terlarut 6,9 mg/l. Menurut Poernomo (1989), kandungan oksigen terlarut dalam air yang dapat mendukung kehidupan udang minimum 3 mg/l, sedangkan untuk pertumbuhan yang normal bagi udang yaitu 4-7 mg/l. Pada kadar oksigen terlarut 3 mg/l, walaupun tidak memperlihatkan gejala abnormal tetapi sebenarnya bepengaruh pada pertumbuhan udang (Poernomo, 1989).

Menurut Wiyoto (2000) kisaran suhu optimum budidaya udang windu antara 28 – 32°C. Sedangkan suhu rata-rata selama 21 hari masa pemeliharaan udang windu pasca infeksi WSSV adalah 27,5°C. Hal ini menyebabkan kondisi yang kurang optimal, namun masih dapat ditolerir oleh udang windu. Menurut Granja *et al.* (2003) dalam Edison (2009), suhu tinggi berperan penting terhadap menurunnya prevalensi WSSV. Di Ekuador dan Thailand, prevalensi WSSV di tambak serta pembibitan menurun seiring dengan datangnya musim yang lebih hangat. Hal ini berpengaruh terhadap replikasi WSSV.

Kualitas air selama penelitian menunjukkan kisaran yang masih bisa ditoleransi oleh udang windu, sehingga ketahanan tubuhnya tidak dipengaruhi oleh kualitas air.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat diambil adalah sebagai berikut:

1. Perlakuan salinitas yang berbeda berpengaruh nyata terhadap infeksi WSSV pada udang windu. Mortalitas udang windu pasca infeksi WSSV perlakuan E (23,33%), D (43,33%), C (100%), B (100%) dan A (100%).
2. Uji PCR menggunakan IQ2000™ menunjukkan perlakuan A (salinitas 10 ppt), B (salinitas 15 ppt), C (salinitas 20 ppt) dan D (salinitas 25 ppt) positif WSSV dan perlakuan E (salinitas 30 ppt) negatif WSSV.
3. Gejala klinis udang windu yang terinfeksi WSSV adalah udang mendekati aerasi, lemah, tidak responsif, penurunan respon pakan, hepatopankreas pucat, tubuh kemerahan, berenang miring hingga berputar, dan bintik putih.

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah budidaya udang windu sebaiknya dilakukan pada salinitas 30 ppt. Kelemahan pada penelitian ini adalah belum diketahuinya jumlah virus yang menginfeksi dalam tubuh udang windu, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan deteksi keberadaan virus melalui metode *quantitative PCR (real-time PCR)*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Prof. Dr. Ir. Slamet Budi Prayitno, M.Sc yang telah membantu sebagian dana penelitian ini, serta drh. Retna H., M.Si dan Haris Y.P., S.Pi. yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini. Tidak lupa terima kasih disampaikan pula kepada Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau Jepara serta Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggoro, S. 1992. Efek Osmotik Berbagai Tingkat Salinitas Media terhadap Daya Tetas dan Vitalitas Larva Udang Windu (*Penaeus monodon*) Fabricus [Disertasi]. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor, 131 hlm.
- Aziz, R. 2010. Kinerja Pertumbuhan dan Tingkat Kelangsungan Hidup Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada salinitas 30 ppt, 10 ppt, 5 ppt, dan 0 ppt [Skripsi]. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 31 hlm.
- Chang, P.S., 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*.
- Depita, F. 2004. Peran *Artemia* sp. dalam penularan *White Spot Syndrome Virus* pada Udang Windu dengan Berbagai Perlakuan [Skripsi]. Departemen Budidaya Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 27 hlm.
- Dwinanti, S.H. 2006. Keberadaan WSSV, TSV, IHHNV di Tambak Intensif Udang Vannamei *Litopenaeus vannamei* di Bakauheni, Lampung Selatan. [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Edison, D.P. 2009. Pengaruh Suhu, pH, dan Salinitas yang Berbeda terhadap Aktifitas Biologis Imunoglobulin Y Anti WSSV (IgY Anti-WSSV) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. 23 hlm.
- Hameed, A.S.S, M. Anilkurmar, M.L.S.Raj and K. Jayaraman. 1998. *Studies on The Phatogeneticity of Sytemic Ectodermal Mesodermal Baculovirus and Its Detection in Shirmp By Immunological Methods*. Aquaculture 160:31-45.
- Hastuti, S.W., C. Kokarkin dan Made L. Nurdjana. 1987. Teknologi Pemeliharaan Larva. INFIS Manual Seri No. 52.



- Haq, M.A.B., V. Prabhuraj, R. Vignesh, V Sedhuraman, M. Srinivasan, and T. Balasubramanian. 2012. *Occurrence of White Spot Syndrome Virus in Shrimp Culturing Waters and Its Brunt in Specific Pathogen Free Litopenaeus vannamei with Particular Allusion to Molecular Verdicts*. Elsevier Asian Pasific Journal of Tropical Disease. 2(6): 431-436.
- IQ2000TM. IQ2000TM WSSV Instruction Manual. 2009. GeneResearch Biotechnology Corp. Taiwan. 19 hlm.
- Kono, T., R. Savan, and T. Itami. 2004. *Detection of White Spot Sindrome Virus in Shrimp by Loop-Mediated Isothermal Amplification*. J. Virol. Methods. 115 :59-65.
- Lantu, S. 2010. Osmoregulasi pada Hewan Akuatik. Jurnal Perikanan dan Kelautan. 6(1): 46-50.
- Maharani, R.I., Suranto, dan Zafran. 2005. Sensitifitas Berbagai Stadia Kepiting Bakau (*Scylla paramamosain Estandapador*) terhadap White Spot Syndrome Virus. Bioteknologi 2 (1): 27-33, ISSN: 0216-6887. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Mahardika, K., Zafran, dan I. Koesharyani. 2004. Deteksi White Spot Syndrome Virus (WSSV) Pada Udang Windu (*Penaeus monodon*) di Bali dan Jawa Timur Menggunakan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia, 10 (1): 55-60.
- Poernomo, A. 1989. Faktor Lingkungan Dominan pada Budidaya Udang Intensif. Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Pranawaty, R.N., I. D. Buwono, dan E. Liviawaty. 2012. Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time PCR untuk Deteksi WSSV pada Kepiting. Jurnal Perikanan dan Kelautan. Vol.3 No.4 61-74.
- Priatni, D. 2006. Pengaruh Pemanasan pada Temperatur Berbeda Selama 30 Menit terhadap Patogenitas Udang Windu. Jurnal Aquaculture Indonesia. Institut Pertanian Bogor.
- Raj, S., K. K. Vijayan, S. V. Alavandi, C. P. Balasubramanian, and T. C. Santiago. 2012. *Effect of Temperature and Salinity on the Infectivity Pattern of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in Giant Tiger Shrimp Penaeus monodon* (Fabricius, 1837). Indian Journal Fisheries, 59(3): 109-115.
- Raya, R. 2001. Model Pertumbuhan Udang Windu (*Penaeus monodon*) Untuk Menentukan Pemanenan Optimum. *Paradigma* 15(2): 113-123.
- Rukyani, A. 2000. Masalah Penyakit Udang dan Harapan Solusinya. Sarasehan Akuakultur Nasional. Bogor.
- Saptiani, G., S.B. Prayitno dn S. Anggoro. 2012. Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Jeruju (*Acanthus ilicifolius*) terhadap Pertumbuhan *Vibrio harveyi* Secara in vitro. Jurnal Veteriner 13(3): 257-262.
- Soetrisno, C.K. 2004. Mensiasati Penyakit WSSV di Tambak Udang. Aquacultura Indonesiana 5(1): 19-31. ISSN 0216-0749.
- Sumeru, S.U. dan S. Anna. 1992. Pakan Udang Windu (*Penaeus monodon*). Kanisius. 94 hal.
- Tendencia, E.A. dan Verreth J.A.J. 2010. *Temperature Fluctuation, Low Salinity, Water Microflora: Risk Factors for WSSV Outbreaks in Penaeus monodon*. The Israeli Journal of Aquaculture. 7 hlm.
- Tsuzuki, M., Y. Ronaldo, O. Cavally, and A. Bianchini. 2003. *Effect of Salinity on Survival, Growth and Oxygen Consumption of The Pink Shrimp Farfantepenaeus paulensis*. Journal of Shellfish Research, 22(2): 555-559.
- Wiyoto. 2000. Gambaran Patologis Udang Windu (*Penaeus monodon* Fabr.). Akademika Pressindo. Jakarta. 43 Hal.