

Prevalence Analysis of WSSV (*White Spot Syndrome Virus*) in Vaname Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Bengkalis District

Sidiq Malik Akbar^{1*}, Irwan Effendi¹, Feliatra¹, Nanang Muhson²

¹Department of Marine Science, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

²Sultan Syarif Kasim II Class I Fish Quarantine Station, Pekanbaru

Corresponding Author: sidiqmalikakbar@gmail.com

Diterima/Received: 11 August 2022; Disetujui/Accepted: 01 September 2022

ABSTRACT

Vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) is one type of shrimp that is widely cultivated in Indonesia. Vannamei shrimp dominates aquaculture in Indonesia which was previously dominated by tiger shrimp (*Penaeus monodon*). WSSV, a double-stranded circular DNA virus, has become one of the most widespread and fatal diseases in shrimp populations. Therefore, it is necessary to conduct research to detect the WSSV virus that attacks white vaname shrimp and determine the prevalence rate of the WSSV virus that attacks white vaname shrimp in Bengkalis Regency. This study was conducted from February to June 2022. The purpose of this study was to analyze the prevalence rate of the WSSV virus that attacks white shrimp in the Bengkalis Regency. The research method used in this study is a survey method. The results of the morphological examination did not show any clinical symptoms in vaname shrimp. Tests using PCR with specific primers measuring 941 bp showed DNA bands of vaname shrimp samples from 3 locations, namely Bengkalis district, Bukit Batu district and Rupat district. So the prevalence of the research results obtained is 0%.

Keywords: Disease, WSSV, White shrimp

1. PENDAHULUAN

Udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) adalah spesies udang budidaya utama di seluruh dunia dan lebih dari empat juta ton diproduksi setiap tahun. Budidaya spesies ini memainkan peran penting dalam ketahanan pangan dan memberikan kontribusi signifikan terhadap beberapa ekonomi nasional dan merupakan mata pencaharian di negara Asia, Afrika dan Amerika Selatan (Knib *et al.*, 2019).

Udang vaname memiliki keuntungan tumbuh lebih cepat daripada spesies udang lainnya yang memungkinkan untuk ditebar dengan kepadatan tinggi. Selain itu, spesies ini lebih tahan terhadap kondisi lingkungan dan penyakit dibandingkan spesies udang lainnya, dan cukup populer di pasar internasional (Herawati *et al.*, 2020).

Kabupaten Bengkalis, salah satu kabupaten yang terletak di Pesisir Timur Sumatera, mempunyai wilayah yang strategis di Provinsi Riau. Potensi pengembangan budidaya udang vaname atau udang air payau sangat besar di Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau. Lahan tambak di Kabupaten Bengkalis memiliki potensi udang vaname kurang lebih 1.300 hektare. Namun, saat ini yang baru

dimanfaatkan sekitar 100 hektar dengan jumlah pembudidaya sebanyak 61 pengusaha.

Pesatnya ekspansi budidaya udang yang intensif dan terindustrialisasi, berbagai penyakit telah muncul dan menghambat pembangunan berkelanjutan industri budidaya udang. Penyakit selalu menjadi faktor penting yang membatasi perkembangan budidaya udang. Di antara patogen yang menyebabkan berbagai penyakit pada udang, *white spot syndrome virus* (WSSV) diakui sebagai salah satu ancaman paling serius bagi industri udang karena penularannya yang cepat, tingkat kematian yang besar dan kisaran inang yang luas, menyebabkan kerugian ekonomi yang besar setiap tahun (Yang *et al.*, 2019). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi virus WSSV yang menyerang udang vaname dan mengetahui tingkat prevalensi virus WSSV yang menyerang udang vaname.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari-April 2022. Sampel udang vaname diambil dari Kecamatan Rupat, Kecamatan

Bengkalis, dan Kecamatan Bukit Batu Kabupaten Bengkalis, Provinsi Riau. Kemudian pemeriksaan sampel dilakukan di Laboratorium Stasiun Karantina Ikan Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (SKIPM) Pekanbaru.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey. yaitu dengan mengambil sampel udang vaname di lapangan, kemudian dilakukan analisis seperti ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis pada udang vaname dilakukan pada laboratorium.

Prosedur Penelitian

Penanganan Sampel

Sampel udang yang diambil pada saat dilapangan dibawa ke laboratorium virus SKIPM Pekanbaru dengan metode *fiksatif* menggunakan larutan alkohol 70% guna mencegah autolisis dengan meninaktivasi enzim lisosom sehingga struktur baik luar atau dalam sel pada sampel udang tetap terjaga.

Ekstraksi DNA

Proses *Ekstraksi* menggunakan metode DTAB/CTAB. Adapun bagian tubuh udang yang diambil untuk diekstraksi adalah kaki jalan, kaki renang, dan sedikit daging. Sampel udang dikeringkan dengan teliti menggunakan kertas tissue, timbang sampel sebanyak 20 mg, kemudian sampel dimasukkan ke dalam microtube 1,5 mL, ditambahkan 600 µL larutan DTAB. Kemudian sampel digerus menggunakan pestle sampai halus dan diinkubasi pada suhu 75°C selama 5 menit. Setelah selesai, sampel dikeluarkan dan didinginkan pada suhu ruang, ditambahkan 700 µL kloroform, kemudian vortex selama 20 detik hingga larutan homogen. Setelah itu, disentrifugasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang dihasilkan dipindahkan ke microtube 1,5 mL yang baru, ditambahkan 100 µL larutan CTAB, 900 µL DEPC.ddH₂O dan dihomogenkan. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 75°C selama 5 menit.

Setelah selesai, dikeluarkan dan didinginkan sampai suhu ruang. Setelah dingin disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 10 menit, supernatan yang dihasilkan dibuang dan ditambahkan 150 µL *Dissolve Solution*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 75°C selama 5 menit. Setelah selesai dikeluarkan dan didinginkan sampai suhu ruang. Selanjutnya disentrifugasi

pada 12.000 rpm selama 5 menit. Larutan bening yang ada dipindahkan ke microtube 0,5 mL dan ditambahkan 300 µL etanol 96% PA. dihomogenkan menggunakan vortex selama 20 detik. Kemudian disentrifugasi pada 12.000 rpm selama 5 menit, dekantasi supernatan. Pellet dikeringkan dengan cara microtube dibalik dan diletakkan di atas tissue. Kemudian ditambahkan DEPC.ddH₂O sebanyak 50 µL, simpan pada -20°C sampai akan diamplifikasi.

Amplifikasi DNA

Proses amplifikasi dilakukan melalui 2 kali proses amplifikasi yaitu first dan nested, Dipersiapkan *master mix* dengan volume 25 µL per satu reaksi. Dengan membuat *Master Mix* yang merupakan campuran dari primer F sebanyak 1 µL, R sebanyak 1 µL, *Go Taq Green* 12,5 µL dan NFW sebanyak 8,5 µL ditambah 2 kontrol (+) dan kontrol (-), semua komposisi dicampur menjadi 1 tube dihomogenkan dengan divortex lalu di *spindown*. Setelah itu campuran *master mix* ditambahkan 2 µL *template* DNA yang merupakan hasil proses *ekstraksi* di *amplifikasi* dalam mesin PCR. Proses ini dilakukan melalui 2 kali tahapan.

Elektroforesis

Pembuatan gel *agarose* dilakukan untuk mempersiapkan wadah sampel sebelum dilakukan proses elektroforesis. Pembuatan gel agarose ini dimulai dengan menambahkan 75 gr *agarose* dengan 50 ml *TAE Buffer*, kemudian dipanaskan kedalam oven selama kurang lebih 5 menit atau sampai tidak terdapat endapan dan agarose berwarna bening. Setelah itu tambahkan *sybr safe* sebanyak 5 µL. Kemudian dihomogenkan dan tuang kedalam bejana elektroforesis yang telah di pasang sisir. Selanjutnya ditunggu hingga gel agarose menjadi padat. Setelah padat sisir pada bejana elektroforesis dicabut dan ditambahkan *TAE Buffer* hingga menutupi media agar. Kemudian dimasukkan secara berurutan kontrol negatif, amplikon sebanyak 5 sampel, kontrol positif dan marker atau bandsebagai penanda kedalam sumur sebanyak 5 µL. Setelah itu sampel di elektroforesis dengan voltase 100 volt selama 30 menit.

Visualisasi DNA

Visualisasi DNA dilakukan dengan mengamati sampel yang telah melalui proses PCR. Gel yang telah di elektroforesis ditiriskan lalu diletakkan pada bagian kotak hitam pada

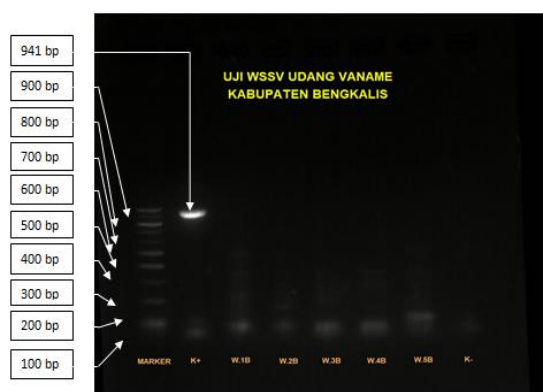
alat UV transiluminator. Setelah itu menutup kaca UV dan menekan tombol ON kemudian hasil gel elektroforesis diamati dan didokumentasikan. Setelah melakukan proses pengamatan dan dokumentasi gel hasil pengamatan dibuang ke tempat yang telah disediakan.

Pengukuran Parameter Kualitas Air

Pengukuran parameter kualitas air yang meliputi pH, suhu dan salinitas. Parameter kualitas air diukur disetiap 3 lokasi berbeda pada Kabupaten Bengkalis.

Analisis Data

Dari hasil deteksi WSSV terhadap sampel yang diperoleh dari lokasi penelitian disajikan dalam bentuk gambar hasil visualisasi DNA kemudian akan dituangkan dalam bentuk grafik non parametrik untuk menggambarkan status tingkat prevalensi pada lokasi penelitian.



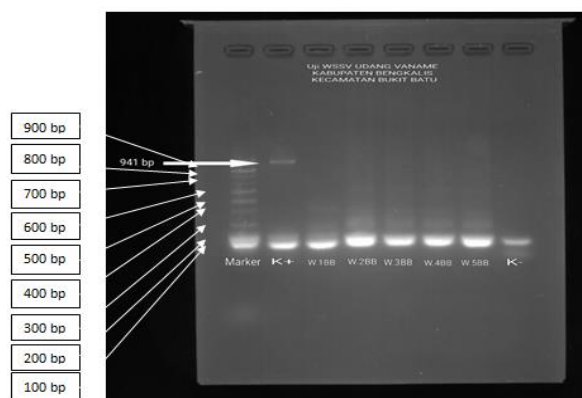
Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Menggunakan PCR Sampel Udang Vaname Kecamatan Bengkalis

Informasi sekunder yang diperoleh dari petani atau pembudidaya akan di kembangkan atau dikaitkan dengan hasil penelitian.

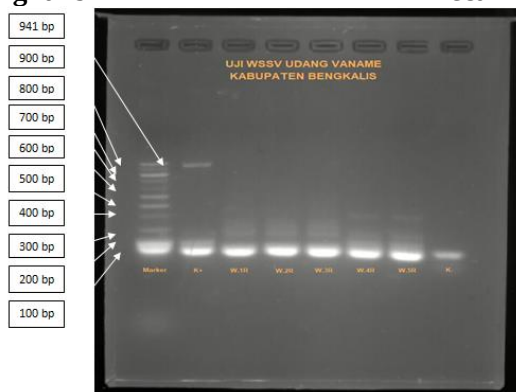
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan secara Morfologi

Hasil pengamatan secara morfologi pada sampel udang tidak menunjukkan adanya serangan WSSV yang mana apabila udang terinfeksi WSSV ditandai dengan bintik-bintik putih di seluruh permukaan karapas. Bintik-bintik putih di permukaan Tubuh udang, merupakan ciri morfologi Adanya infeksi WSSV pada udang (Chang *et al.*, 1998; Hulten *et al.*, 2000; dan Rodriguez *et al.*, 2003). Semua sampel udang vaname yang diamati memiliki anatomi yang normal, memiliki pergerakan yang aktif dan tidak terdapat bintik putih pada bagian karapas.



Gambar 2. Hasil Pemeriksaan Menggunakan PCR Sampel Udang Vaname Kecamatan Bukit Batu



Gambar 3. Hasil Pemeriksaan Menggunakan PCR Sampel Udang Vaname Kecamatan Rupat
Keterangan : K+ : Kontrol Positif; K-: Kontrol Negatif; W.1R : Sampel 1; W.2R: Sampel 2; W.3R: Sampel 3; W.4R : Sampel 4; W.5R : Sampel 5; M : Marker (941 bp)

Pemeriksaan menggunakan PCR

Pengujian WSSV bernilai positif atau negatif dapat diketahui melalui pemeriksaan

secara molekular dengan menggunakan PCR. Pengujian WSSV setelah melalui tahapan ekstraksi, amplifikasi dan elektroforesis

menunjukkan nilai negatif. Perpendaran pita DNA tidak muncul pada ukuran 941 bp. Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya sampel udang vaname yang terinfeksi virus WSSV yang dapat dilihat pada (Gambar 1-3).

Prevalensi Virus WSSV

Prevalensi digunakan untuk menentukan jumlah total kasus udang vaname yang terinfeksi virus WSSV selama penelitian. Hasil dari prevalensi WSSV yang diidentifikasi akan dihitung dengan menggunakan rumus prevalensi. tingkat prevalensi virus WSSV, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Tingkat Prevalensi Virus WSSV

Kecamatan	Sampel	Positif WSSV	Prevalensi (%)
Bengkalis	5	0	0
Bukit Batu	5	0	0
Rupat	5	0	0
Total	15	0	0

Berdasarkan hasil tersebut didapatkan total keseluruhan prevalensi WSSV pada udang vaname di Kabupaten Bengkalis sebesar 0%. Menurut Elovaara (2001), jika insiden virus (prevalensi) di suatu wilayah kurang dari 50%, insiden virus di wilayah tersebut masih relatif rendah. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa prevalensi WSSV pada udang vaname Kabupaten Bengkalis masih relatif rendah

Parameter Kualitas Perairan

Hasil pengukuran parameter kualitas perairan yang dilakukan di tambak udang di Kecamatan Bengkalis, Kecamatan Bukit Batu dan Kecamatan Rupat pada saat melaksanakan penelitian dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Parameter Kualitas Perairan

Kecamatan	pH	Suhu	Salinitas
Bengkalis	6	28°C	22 ppt
Bukit Batu	6	29°C	24 ppt
Rupat	6	30°C	24 ppt

Pertumbuhan yang baik bagi udang vaname yaitu berada pada kondisi lingkungan air yang optimal berdasarkan syarat standar baku mutu air tambak. Kualitas air tambak akan mempengaruhi proses metabolisme tubuh udang, seperti keaktifan mencari pakan, proses pencernaan, pertumbuhan dan perkembangan

bagi udang. Parameter kualitas perairan tambak pada Kecamatan Bengkalis, Kecamatan Bukit Batu dan Kecamatan Rupat menunjukkan kisaran nilai salinitas yaitu berada pada nilai 22 - 24 ppt. Nilai tersebut menunjukkan bahwa salinitas pada tambak berada pada standar baku mutu air tambak. Hal ini sesuai dengan PERMEN KP No 75 Th. 2016 menyatakan bahwa idealnya salinitas bagi budidaya udang antara (10 – 35 ppt). Kisaran suhu hasil penelitian pada tambak udang vaname di Kecamatan Bengkalis, Kecamatan Bukit Batu dan Kecamatan berada pada kisaran nilai 28-30°C. Menurut (Supriatna *et al.*, 2020) bahwa suhu air optimal bagi pertumbuhan udang vaname berkisar antara (26-32°C). Jika suhu lebih dari angka optimal maka metabolisme dalam tubuh udang berlangsung cepat, namun jika suhu lingkungan lebih rendah dari suhu optimal, maka pertumbuhan udang menurun dengan menurunnya nafsu makan.

Nilai derajat keasaman (pH) di tambak memiliki nilai 6-7. Nilai tersebut baik untuk pertumbuhan udang vaname karena masih berada dalam standar baku mutu kualitas perairan air tambak. Kisaran nilai pH yang optimal untuk budidaya udang vaname berkisar antara 7,0-8,5. Pada kisaran tersebut udang dapat mengalami pertumbuhan optimal. Konsentrasi pH air berpengaruh terhadap nafsu makan udang dan reaksi kimia di dalam air. Selain itu pH yang berada di bawah kisaran toleransi menyebabkan kesulitan ganti kulit dimana kulit menjadi lembek serta sintasan menjadi rendah (Supriatna *et al.*, 2020).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, Hasil pemeriksaan sampel udang vaname secara morfologi tidak memperlihatkan adanya gejala klinis serangan WSSV, pemeriksaan secara molekuler menggunakan PCR pada sampel udang vaname di Kabupaten Bengkalis menunjukkan tingkat prevalensi udang vaname yang terinfeksi virus WSSV adalah 0 % atau tidak ada udang vaname yang terinfeksi WSSV. Parameter kualitas perairan tambak di Kecamatan Bengkalis memiliki derajat keasaman (pH) sebesar 6, suhu 28 oC dan salinitas 22 ppt. Di Kecamatan Bukit Batu memiliki derajat keasaman (pH) sebesar 6, suhu 29°C dan salinitas 24 ppt. Sedangkan pada Kecamatan Rupat memiliki derajat keasaman

(pH) sebesar 6, suhu 30°C dan salinitas 24 ppt.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan maka disarankan untuk penelitian berikutnya mengambil sampel udang dari kecamatan lain dengan usia yang lebih bervariasi serta

disarankan untuk dilakukan pemeriksaan secara menyeluruh dan bertahap kemungkinan kehadiran WSSV di daerah ini melalui eksaminasi faktor-faktor lingkungan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2001). *Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor: KEP. 41/MEN/2001 tentang Pelepasan Varietas Udang Vaname sebagai Varietas Unggul*.
- Chang, P.S., C. Hsiao-Chao, & W. Yu-Chi. (1998). Detection of *white spot syndrome* associated baculovirus in experimentally infected wild shrimp, crab and lobster by in situ hybridization. *Aquaculture* 164: (233-242).
- Elovaara, E.K. (2001). *Shrimp Farming Manual: Practical Technology For Intensive Shrimp Production*. British West Indies: Caribbean Press Ltd.
- Fernando, C.F., J.L Furtado., A.V. Gussev., G. Honek., S.A. Kakonge. (1972). *Methods for The Study of Freshwater Fish Parasites*. University of Waterloo, Canada. Biology Series 12 (2) : 1-44.
- Herawati, V.E., Pinandoyo, Darmanto, Y.S., Rismaningsih, N., Hutabarat, J., Prayitno, S.B., and Radjasa, O.K. (2020). Effect of feeding with *Phronima* sp. on growth, survival rate, and nutrient value content of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Post-larvae. *Aquaculture*, 735674.
- Hulten, M.C.W.V., W. Goldbach, & J.M. Vlak. (2000). Three function diverged major structural proteins of *white spot syndrome virus* evolved by gene duplication. *J. Gen. Viral.*, 81: 2,525-2,529.
- Knibb, W., Giang, C.T., Premachandra, H.K.A., Ninh, N.H., and Domínguez, B.C. (2019). Feasible options to restore genetic variation in hatchery stocks of the globally important farmed shrimp species, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 734823.
- Rodriguez, J., B. Bayot, Y. Amano, Panchana, I. de Blas, V. Alday, & J. Calderon. (2003). *White spot syndrome virus* infection in culture *Penaeus vannamei* (Boone) in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. *J. Fish Dis.*, 26: 439-450.
- Supriatna, M. (2020). Model pH dan Hubungannya dengan parameter Kualitas Air pada tambak Intensif Udang Vaname (*litopenaeus vannamei*) di Banyuwangi Jawa Timur. *JFMR-Journal of Fisheries and Marine Research*, 4(3), 368–374.
- Yang, F., Li, X., Li, S., Xiang, J., & Li, F. (2019). A novel cuticle protein involved in WSSV infection to the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Developmental and Comparative Immunology*, 103491.